

Efecto de la biofumigación con repollo sobre el control de *Fusarium oxysporum* en suelo

IRIARTE, L.E.²; SOSA, M.C.¹; REYBET, G.E.¹

RESUMEN

La biofumigación es un método alternativo al uso del Bromuro de Metilo (BrMe) para el control de patógenos del suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la incorporación de *Brassica oleracea* var. *capitata*, sobre la población de *Fusarium oxysporum*, patógeno de cebolla. Se usó un DCA con un arreglo factorial (3*3*3). Los factores utilizados fueron dosis (0, 3 y 5 kg m⁻² de *B. oleracea*), concentraciones de patógeno (3,3x10², 6,6x10³ y 6,6x10⁴ conidios g⁻¹ de suelo) y fechas de biofumigación (abril/07, agosto/07 y diciembre/07). La variable respuesta fue el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) g⁻¹ de suelo. Para su recuento se utilizó el método de dilución en placa. Estadísticamente, se detectó interacción entre los tres factores. La fecha presentó la mayor variabilidad. Las dosis presentaron diferencias significativas cuando el nivel de inóculo era de 3,3x10² conidios g⁻¹ de suelo. En abril, la aplicación de 3 y 5 kg m⁻² de biofumigante redujo la población del patógeno con respecto al testigo, en un 71 y 82% respectivamente. En agosto no se detectaron diferencias significativas entre las dosis con ninguna concentración de inóculo. En diciembre, las dosis de 3 y 5 kg m⁻² disminuyeron la población del patógeno en 39 y 64%, respectivamente, respecto al testigo. En mayo, utilizando la menor concentración de inóculo, ambas dosis de biofumigante redujeron la población del patógeno, alcanzando el 83% con 3 kg m⁻². La aplicación de repollo al suelo, como biofumigante, permite reducir la población de *Fusarium oxysporum* cuando la concentración de inóculo no es superior a 3,3x10² conidios g⁻¹ de suelo.

Palabras claves: cebolla, *Brassica*, podredumbre basal

ABSTRACT

The biofumigation is an alternative control method to methyl bromide use against soil-borne pathogens. The aim of this research was to assess the effect of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) incorporated into the soil against an onion pathogen population of *Fusarium oxysporum*. A completely randomized design with a factorial arrangement (3 x 3 x 3) was used. The factors were dosage (0, 3 and 5 kg of cabbage.m⁻²), pathogen concentration (3,3x10², 6,6x10³ y 6,6x10⁴ *F. oxysporum* conidia.g⁻¹ of soil) and biofumigation date (april/07, august/07 and december/07). The number of colony forming units (CFU).g⁻¹ of soil was chosen as response variable. CFUs were counted using the plate-dilution technique. The three factors presented interaction. Biofumigation date showed the greatest variability. Dosages showed significant differences with lowest inoculum level (3,3x10² conidia.g⁻¹ of soil). In April, 3 and 5 kg m⁻² of biofumigant reduced the pathogen population by 71 and 82%, respectively, in comparison with the control treatment. Significant reductions in the populations of *F. oxysporum* were not observed in August, but were observed in December (39% and 64%, with 3 and 5 kg m⁻² biofumigant dosages, respectively). Incorporation into soil of 3 kg m⁻² biofumigant dosage against the lowest inoculum concentration reduced the pathogen population at 83% in May. Cabbage showed biofumigant capacity and can be an alternative or supplement for reduce *F. oxysporum*, when inoculum population is not higher than 3,3x10² conidia.g⁻¹ of soil.

Keywords: onion, organic amendment, *Brassica*, bulb rot

1 Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Comahue Cinco Saltos. CC85. (8303) Río Negro.
Mail: gracielaireybet@jetband.com.ar

2 Laboratorio de Servicios Agrícolas y Forestales. Provincia de Neuquén (8300). Neuquén.

Recibido 02 de diciembre de 2010 // Aceptado 07 de julio de 2011 // Publicado online 14 de septiembre de 2011

INTRODUCCIÓN

La cebolla (*Allium cepa*) es uno de los principales cultivos hortícolas de la provincia de Neuquén (Senasa, 2009). Entre las enfermedades más importantes que afectan tanto al cultivo como a la calidad del bulbo durante el almacenamiento, se destaca la "podredumbre basal" causada por *Fusarium oxysporum* Sch. Fr. f. sp. *cepae* (Snyder & Hans) (Brayford, 1996; Kiehr *et al.*, 1996).

En las áreas productoras de cebolla de la región se ha reportado una alta incidencia de esta enfermedad (Ruiz, *et al.*, 2004). En suelos altamente infestados, *F. oxysporum* persiste en el suelo y en restos de cosecha. Tradicionalmente se ha usado el Bromuro de Metilo (BrMe), biocida de amplio espectro de acción y alta efectividad, como método de desinfección del suelo de los almácigos de cebolla (Lacy y Roberts, 1982; Kiehr *et al.*, 1996).

La preocupación creciente por la acumulación de iones de bromo y aluminio en las plantas y en la cadena alimentaria y su efecto sobre la salud humana, así como las emisiones del gas y la destrucción de la capa de ozono, ha conducido a la búsqueda de alternativas de reemplazo del BrMe, centradas en el desarrollo de sistemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Ellis *et al.*, 1995; Thomas, 1996; Giuffrè *et al.*, 2000). Sin embargo, las alternativas deben tener eficacia similar al BrMe, no impactar sobre el medio ambiente, y ser económica y socialmente viables.

La biofumigación se propone entre los métodos de desinfección de suelos amigables con el ambiente (MBTOC, 1998) y consiste en la incorporación al suelo de materia orgánica rica en glucosinolatos, en estado fresco o seco (Kirkegaard y Sarwar, 1998). Kirkegaard (2004) reportó la actividad de la enzima mirosinasa en la hidrólisis de los glucosinolatos a isotiocianatos, derivados que resultan biocidas muy eficaces contra hongos y otros microorganismos (Brown y Morra, 1997; Rosa y Rodríguez, 1999).

En el mundo existen antecedentes del control de *F. oxysporum* mediante la biofumigación. En tal sentido, Zhou (2004) reportó la reducción en la incidencia de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* en sandía (54-69%) con restos de *Vicia villosa*; mientras Ramírez Villapudua y Muneke (1988) observaron que la población de *F. oxysporum* f.sp. *conglutinans* disminuyó un 20% con 8 t.ha⁻¹ de repollo cortado y seco.

En numerosos trabajos se ha demostrado que los efectos de la biofumigación varían según la humedad, la temperatura, el pH y la textura del suelo, la especie vegetal, la dosis y el modo de aplicación (Brown y Morra, 1997; Kirkegaard, 2004). La humedad y la temperatura del suelo afectan la actividad de la mirosinasa la cual se incrementa en el rango de 20-40 °C, con una temperatura óptima de 37 °C a pH 7 (Alturki y Dick, 2003; Stoin *et al.*, 2009). Por otro lado, entre las especies vegetales, el género *Brassica* se destaca por la alta eficacia de los isotiocianatos volátiles que libera (Angus *et al.*, 1994; Brown y Morra, 1997; Zurera *et al.*, 2007).

Teniendo en cuenta que: i) la biofumigación se plantea como un método alternativo para el control de patógenos de

suelo, ii) la podredumbre basal de la cebolla representa el principal problema en la región, iii) *Brassica* sp. presenta una alta eficiencia como biofumigante; se propuso el presente estudio cuyo objetivo fue evaluar el efecto biofumigante del repollo a diferentes dosis y momentos de aplicación sobre *Fusarium oxysporum*, patógeno de cebolla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el período 2007-2008, en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue (Cinco Saltos, provincia de Río Negro, República Argentina).

Aislamiento, identificación y selección del patógeno.

Los aislamientos de *Fusarium* sp. se realizaron en agar papa dextrosa (APD) a partir de trozos de tejidos afectados, extraídos desde la zona de avance de la podredumbre de plantas y bulbos procedentes de un cultivo del Departamento Confluencia de la provincia de Neuquén. Los cultivos se mantuvieron a 28 °C. Para la identificación de la especie de *Fusarium* se enviaron cultivos monospóricos de cada aislamiento al laboratorio de Fitopatología de la Unidad Integrada INTA Balcarce. La identificación se realizó por características culturales y microscópicas según Booth (1971). A efectos de seleccionar el aislamiento de *Fusarium* más virulento para los ensayos, se evaluó la patogenicidad (porcentaje de semillas y plántulas afectadas) mediante la técnica descrita por Valdez *et al.*, (2004). Además, la virulencia de los aislamientos de *Fusarium* sp., se mantuvo mediante el mismo procedimiento anteriormente citado (Valdez *et al.*, 2004).

Efecto de la biofumigación sobre *F. oxysporum* en suelo

El suelo a utilizar en los experimentos se esterilizó en autoclave para eliminar microorganismos (Askey *et al.*, 1963; Windels y Kommedahl, 1975); se dejó estacionar durante un mes para evitar los gases tóxicos producidos por la degradación de la materia orgánica (Armstrong y Armstrong, 1975; Escande, 2007, com pers) y luego se incorporó a contenedores de 25x10x10 cm.

Experimentos 2007

Inoculación del patógeno. El suelo se inoculó con una suspensión acuosa de conidios, siguiendo el método empleado por Fisher *et al.*, (1983). Conidios de cultivos en APD con 21 días de edad del aislamiento de *Fusarium* de mayor virulencia se cosecharon por rastrillado, se colocaron en agua estéril y se filtraron. La suspensión se ajustó a la concentración deseada mediante recuento de conidios con la cámara de Thoma (Abawi y Lorbeer, 1972). Se incorporó uniformemente 50 ml de la suspensión de conidios en cada contenedor a la concentración determinada.

Aplicación del biofumigante. Se dejó transcurrir un día entre inoculación del patógeno y aplicación del biofumigante. El repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) al estado de madurez comercial, se incorporó fresco y triturado

a cuchillo entre 2 y 3 cm de profundidad en cada contenedor. Se selló con polietileno cristal de 50 μm de espesor para evitar la difusión de los gases producidos y aumentar la temperatura del suelo (Askey *et al.*, 1963; Blok *et al.*, 2000). Los contenedores fueron colocados en cámara con fotoperíodo constante de 12 horas de luz. La temperatura se monitoreó con un "datta logger" (Supco Model D1dt Dual Temperature). La duración de la experiencia fue de 30 días.

Evaluación del experimento. De cada contenedor se extrajeron dos muestras de suelo entre 3-5 cm profundidad, con dos réplicas. Las mismas se secaron a temperatura ambiente, molieron y tamizaron con una malla de 80 mesh. Las muestras se procesaron con el método de dilución en placa descrito por Tello *et al.*, (1991) en el medio de cultivo de Nash y Snyder, selectivo para *Fusarium*.

Diseño estadístico

El diseño estadístico fue completamente aleatorizado (DCA), con 4 repeticiones y arreglo factorial (3x3x3), con factores:

Dosis:

3 kg m^{-2} de repollo (Blok *et al.*, 2000)

5 kg m^{-2} de repollo (Kirkegaard y Matthiessen, 1999)

Testigo: 0 kg m^{-2} de repollo (suelo estéril con inóculo)

Concentración de patógeno:

Bajo: 2×10^4 conidios ml^{-1} , (Wade, 2001)

Medio: $5,2 \times 10^5$ conidios ml^{-1}

Alto: $5,2 \times 10^6$ conidios ml^{-1} (Stadnik y Dhingra, 1994).

Fechas de biofumigación: abril, agosto y diciembre de 2007.

Los factores: dosis de repollo y concentración del patógeno se seleccionaron según bibliografía debido a la falta de datos regionales. Con dichas concentraciones se obtuvo una población de inóculo inicial en el suelo de: $3,3 \times 10^2$; $6,6 \times 10^3$ y $6,6 \times 10^4$ conidios g^{-1} de suelo, respectivamente.

Al finalizar la biofumigación se analizó la variable UFC del patógeno. Cada contenedor constituyó la unidad experimental. Para poder cumplir con los supuestos (distribución normal y homocedasticidad), los datos se transformaron mediante $\log(10)$ (1+número de colonias). Se realizó ANOVA y comparación de medias mediante el Test de Tukey con $\alpha = 0,05$ (Infostat).

Experimento 2008

A partir de los resultados obtenidos en el experimento anterior, se planteó un estudio en mayo/2008, en que se evaluó el efecto de las dosis de biofumigante detalladas anteriormente sobre la menor concentración de inóculo ($3,3 \times 10^2$ conidios g^{-1} de suelo). El diseño fue DCA con tres

repeticiones. El método de preparación de suelo, inoculación del patógeno, aplicación del biofumigante y evaluación del experimento, correspondió al descrito para el año 2007.

RESULTADOS

Aislamiento, identificación y selección del patógeno

En todos los aislamientos (5) se identificó a la especie *Fusarium oxysporum* como agente causal de podredumbre basal en cebolla en la zona de Neuquén. El aislamiento FO 3161 resultó el más patogénico. El mismo presentó una incidencia del 60% (semillas y plántulas afectadas), mientras que los otros aislamientos no superaron el 40% (datos no presentados).

Efecto de la biofumigación sobre *F. oxysporum* en suelo

Se detectó interacción triple significativa (dosis x concentración de patógeno x fecha de biofumigación). Debido a que se registró un comportamiento diferencial según la fecha, el análisis estadístico de los datos se realizó por fecha.

Experimentos 2007

Abril

La temperatura promedio en el suelo durante todo el período de realización de este ensayo permaneció en 22 ± 2 °C (figura 1).

Se detectó interacción dosis por concentración de patógeno. Cuando la concentración fue de $3,3 \times 10^2$ conidios g^{-1} de suelo existieron diferencias significativas entre las dosis de repollo y el testigo, y no entre dosis. La aplicación de 3 y 5 kg m^{-2} de biofumigante redujo el número de UFC de *F. oxysporum* en un 71 y 82%, respectivamente (figura 2).

En las concentraciones de patógeno de $6,6 \times 10^3$ y $6,6 \times 10^4$ conidios g^{-1} de suelo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las dosis de biofumigante. Sin embargo, se observó una reducción en la población de *F. oxysporum* del 48% y 38%, con 3 y 5 kg m^{-2} de repollo, respectivamente. Siempre fue menor la población del patógeno en los suelos biofumigados en relación al testigo (figura 2).

Agosto

Si bien la biofumigación provocó una disminución de la población de *F. oxysporum* respecto al testigo, no hubieron diferencias significativas en el efecto de las dosis de repollo sobre las concentraciones de patógeno evaluadas. El porcentaje de reducción del número de UFC del patógeno con las dosis de 3 y 5 kg m^{-2} de repollo fue del 37-41% en la concentración de patógeno baja; 45-54% en la media y del 45-37% en la alta, respectivamente (figura 3). El registro de temperaturas del suelo permitió observar una disminución de

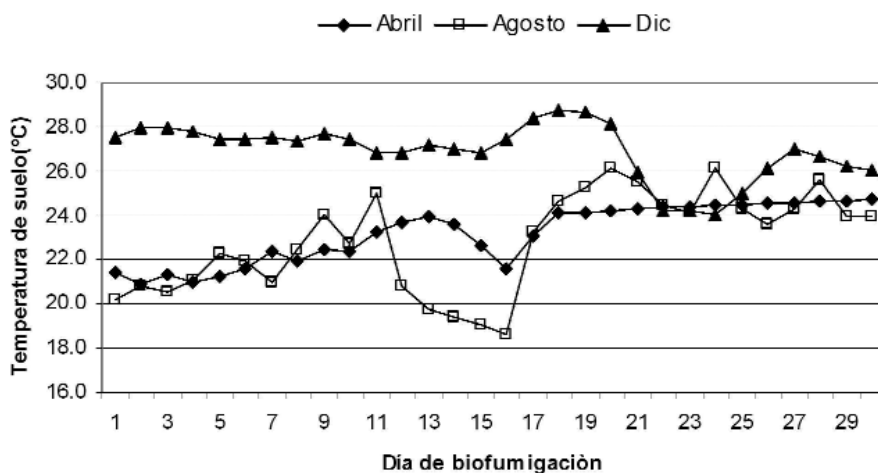


Figura 1. Temperaturas medias del suelo durante la biofumigación registradas en abril, agosto y diciembre de 2007.

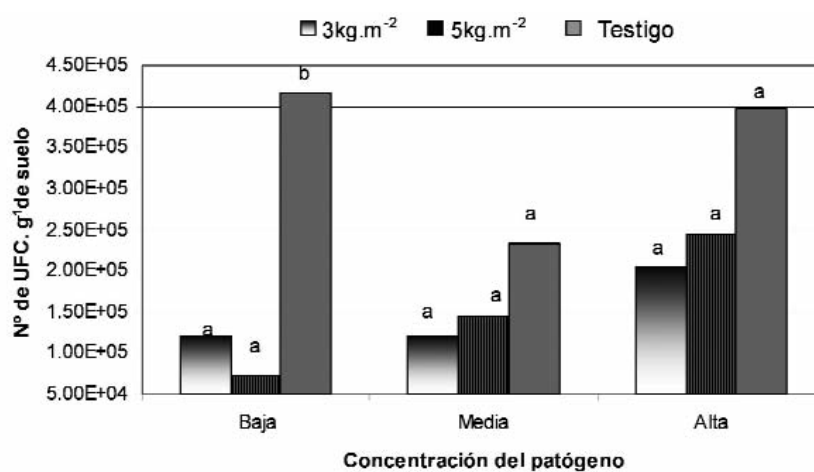


Figura 2. Efecto de la biofumigación sobre el número de UFC de *F. oxysporum* en Abril de 2007. Concentración de patógeno: baja $3,3 \times 10^2$, media $6,6 \times 10^3$ y alta $6,6 \times 10^4$ conidios g^{-1} de suelo. Letras distintas dentro de una misma concentración de patógeno representan diferencias significativas por el test de Tukey con $\alpha=0.05$.

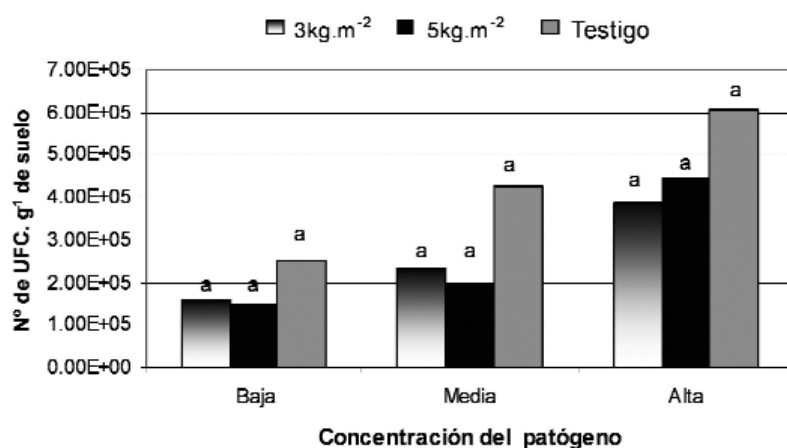


Figura 3. Efecto de la biofumigación sobre el número de UFC de *F. oxysporum* en agosto de 2007. Concentración de patógeno: baja $3,3 \times 10^2$, media $6,6 \times 10^3$ y alta $6,6 \times 10^4$ conidios/g de suelo. Letras distintas dentro de una misma concentración de patógeno representan diferencias significativas por el test de Tukey con $\alpha=0.05$.

la temperatura a partir del décimo día de iniciado el proceso de biofumigación y se mantuvo durante 5 días (Figura 1).

Diciembre

En esta fecha se alcanzaron temperaturas del suelo mayores a las obtenidas en las fechas anteriores, con un promedio de 26 ± 2 °C (figura 1). Se detectaron diferencias significativas entre dosis de repollo cuando la concentración de patógeno fue de $3,3 \times 10^2$ conidios g^{-1} de suelo. El mayor control (64%) de la población de *F. oxysporum* se alcanzó con 5 $kg\ m^{-2}$ de biofumigante, respecto del testigo. Con la dosis de repollo de 3 $kg\ m^{-2}$, el control fue del 39%. En las concentraciones media y alta de patógeno no hubo diferencias significativas entre las dosis, observándose menores valores de reducción de UFC (5 y 33%) (figura 4).

Experimento 2008

Mayo

Al evaluar el efecto de las dosis del biofumigante solo sobre la concentración baja del patógeno ($3,3 \times 10^2$ conidios g^{-1} de suelo), se observaron diferencias significativas. La disminución de la población de *F. oxysporum* fue del 83 y 49% cuando se aplicaron 3 y 5 $kg\ m^{-2}$, respectivamente en relación al testigo (figura 5).

DISCUSIÓN

En este estudio se demostró el efecto de la biofumigación mediante la incorporación de repollo (*Brassica oleracea* var.

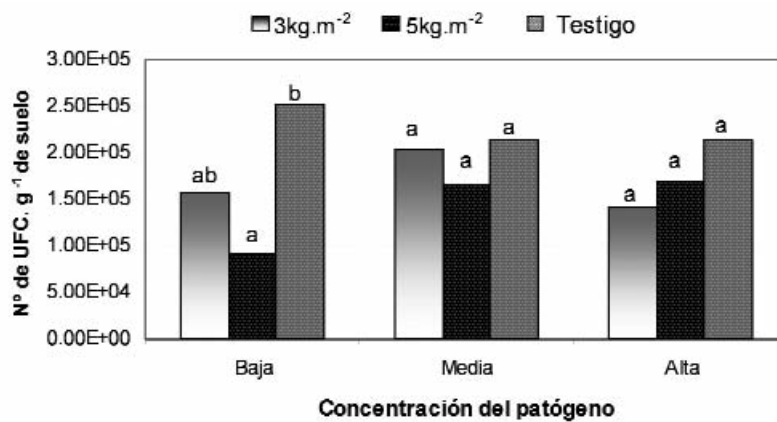


Figura 4. Efecto de la biofumigación sobre el número de UFC de *F. oxysporum* en diciembre de 2007. Concentración de patógeno: bajo $3,3 \times 10^2$, medio $6,6 \times 10^3$ y alto $6,6 \times 10^4$ conidios g^{-1} de suelo. Letras distintas dentro de una misma concentración de patógeno representan diferencias significativas por el test de Tukey con $\alpha=0.05$.

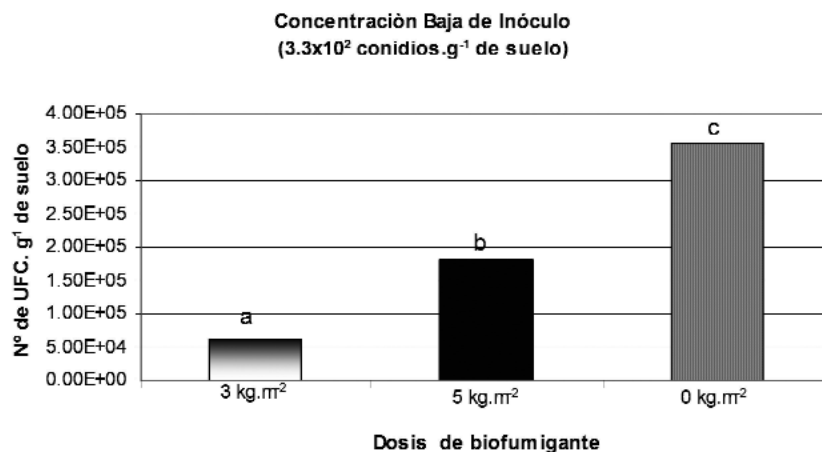


Figura 5. Efecto de la biofumigación sobre el número de UFC de *F. oxysporum* en mayo de 2008 para la concentración de patógeno baja. Letras distintas representan diferencias significativas por el Test de Tukey con $\alpha=0,05$.

Concentración de patógeno (conidios.g ⁻¹ suelo)	Reducción de la población de <i>Fusarium oxysporum</i> (%)					
	DOSIS					
	Abr-07		Ago-07		Dic-07	
	3*	5*	3*	5*	3*	5*
Bajo: 3,3 x 10 ²	70	82	37	41	39	64
Medio: 6,6 x 10 ³	48	38	45	54	5	32
Alto: 6,6 x 10 ⁴	54	45	45	37	33	21

* Dosis de repollo: kg. m² de suelo

Tabla 1. Porcentaje de reducción de unidades formadoras de colonias de *F. oxysporum* en las tres fechas de biofumigación y en las dos dosis ensayadas.

capitata) al suelo, sobre la población de *F. oxysporum*, causal de la podredumbre basal de la cebolla. Una alta variabilidad en el efecto de la biofumigación se observó en los experimentos según la fecha de aplicación (tabla1). Con ambas dosis de biofumigante, en el mes de abril se consiguió el mayor control (71 a 82%) del patógeno; en el mes de agosto, no se observaron reducciones significativas en la población; mientras que en diciembre, existieron diferencias en el efecto de las dosis (5 a 64%). Estas variaciones en los diferentes experimentos probablemente se debieron a la temperatura del suelo, factor importante para alcanzar una mayor eficacia en la biofumigación (Al-Turki y Dick, 2003 y Stoin *et al.*, 2009).

En nuestros experimentos, la temperatura de la cámara de cría fue afectada por las condiciones ambientales externas. Las temperaturas registradas en abril y diciembre se ubicaron en el rango de temperatura descripta para la actividad de la mirosinasa (Brown y Morra, 1997; Sarwar *et al.*, 1998). Esto habría posibilitado la hidrólisis de los glucosinolatos presentes en el repollo y la producción alta de isotiocianatos, responsables del control del hongo en el suelo. Por el contrario, durante la biofumigación de agosto, la temperatura promedio del suelo por debajo de 20 °C pudo haber interferido en la actividad de la mirosinasa, en la degradación de los glucosinolatos y en la liberación de isotiocianatos, disminuyendo el efecto supresor sobre la población del hongo. Este efecto negativo de temperaturas bajas sobre la biofumigación ya había sido reportado por Al-Turki y Dick, en el 2003.

Por otro lado, en las tres fechas de biofumigación, se demostró que los mayores porcentajes de control de *F. oxysporum* en suelo se alcanzaron con la concentración más baja de inóculo inicial (3,3x10² conidios g⁻¹ de suelo). Esto quedó nuevamente evidenciado en el experimento realizado en mayo de 2008, en que la biofumigación con 3 kg m⁻² de repollo, actuó sobre la concentración más baja del patógeno reduciendo su población en un 83%.

Probablemente, en suelos de cultivos de cebolla históricamente afectados que presenten una mayor presión de inóculo, se requerirán dosis de biofumigante superiores a las utilizadas en este estudio. En este sentido, Diez Rojo y López Cepero (2008) demostraron que se necesitaron 10 kg m⁻² de biofumigante en una primera fase ante graves problemas de patógenos de suelo. Sin embargo, una vez regulada la población, las dosis se pudieron reducir a 5 kg m⁻² e, incluso, a dosis inferiores (Al-Turki and Dick, 2003; Stoin *et al.*, 2009).

Hasta el momento, no se han publicado estudios con las mismas características y condiciones de los experimentos realizados en este trabajo. La mayor reducción de la población de *F. oxysporum* obtenida en estos estudios, 82% (2007) y 83% (2008), con la incorporación al suelo de 5 kg m⁻² y 3 kg m⁻² de repollo fresco, respectivamente, fue superior a la reportada en California (20%) con 0,8 kg m⁻² de repollo seco (Ramírez Villapudua y Muneke, 1988).

CONCLUSIONES

- La aplicación de repollo al suelo como biofumigante redujo la población de *F. oxysporum*, patógeno de cebolla.
- La fecha de aplicación de la técnica de biofumigación afectó su eficacia. Mayores temperaturas de suelo permitieron un mayor control de la población de *F. oxysporum*.
- La dosis aplicada de biofumigante presentó un comportamiento diferente según la fecha de efectuada la biofumigación.

En las condiciones expuestas se podría considerar a la biofumigación con repollo como práctica de desinfección de suelo para almácigos de cebolla con variedades tempranas o denominadas de día corto en otoño.

Dada la importancia de la "podredumbre basal" por *F. oxysporum* en cebolla, se propone estudiar la carga de inóculo en los suelos de las áreas de producción y la dosis de biofumigante óptima, a efectos de proponer a la biofumigación como estrategia de control sola y/o en combinación con otras tecnologías alternativas para el tratamiento de suelos contra este patógeno.

BIBLIOGRAFÍA

- ABAWI, G.; LORBEER, J. 1972. Several aspects of the ecology and pathology of *Fusarium oxysporum* f. s. cepae. *Phytopath.* 62: 870-876.
- AL-TURKI, A.; DICK, W. 2003. Myrosinase Activity in Soil. *SCI. Soc. Am. J.* 67:139-145.
- ANGUS, J.; GARDNER, P.; KIRKEGAARD, J.; DESMARCHÉ-LIER, J. 1994. Biofumigation: Isothiocyanates release from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plants and Soil.* 162: 107-112.
- ARMSTRONG, G.; ARMSTRONG. 1975. Reflections on the wilt *Fusarium*. *Ann. Rev. Phytopath.* 13: 95-103.
- ASKEY, M.; LEIGH, B.; LLOYD, L. 1963. The action of metham-sodium in soil. *J. Sci. Food Agric.* 14:153-161.
- BLOK, W.; LAMERS, J.; TERMORSHUIZEN, A.; BOLLEN, G. 2000. Control of soilborne plant pathogens by incorporation fresh organic amendements followed by tarping. *Phytopath.* 90:253-259.
- BOOTH, C. 1971. The genus *Fusarium*. *Comm. Mycol. Inst. Kezw, Surrey, England.* 237p.
- BRAYFORD, D. 1996. IMI descriptions of fungi and bacteria: *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae. *Mycopath.* 133: 39-40.
- BROWN, P.; MORRA, M. 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advan. Agron.* 61: 167-231.
- DIEZ ROJO, M.; LÓPEZ CEPERO, J. 2008. Ecological key elements in the management agrosystems. *Arbor CLXXXIV.* 729: 19-29.
- ELLIS, J.; WATSON, D.; VARVEL, G.; JAWSON, M. 1995. Methyl bromide soil fumigation after plant element concentration. *Soil Sci Am J.* 59:848-852.
- FISHER, N.; BURGESS, L.; TOUSSON, T.; NELSON, P.; LOPEZ, P. 1983. Estudios de diferentes aislamientos del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp.. (<http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevisitasCientificaAgronomiatropical>, verificado: mayo 2007).
- GIUFFRÉ, L.; ALCONADA, M.; WISNER, V.; MITIDIÉRI, M.; SANGIACOMO, M. 2000. Alternativas al uso de bromuro de metilo: Alternativas químicas. En: Seminario de cierre de Alternativas al uso de bromuro de metilo, Buenos Aires, Argentina. p. 68.
- KIEHR, M.; DELHEY R.; FRAYSSINET, S.; ANDERSON, F.; AZ-PILICUETA, A. 1996. Enfermedades de cebolla en el Valle Bonaerense del Río Colorado, Argentina. *Hort. Arg.* 15:33-8.
- KIRKEGAARD, J.; SARWAR, M. 1998. Biofumigation potential of Brassicas: I. variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown Brassicas. *Plant and Soil* 201: 71-89.
- KIRKEGAARD, J.; MATHIESSEN, J. 1999. Biofumigation research-beyond empiricism. *Proc. P. Australasian Soilborne Disease Symposium.* R. C. Magarey (ed.). Bureau of Sugar Experiment Stations, Brisbane. 155:157.
- KIRKEGAARD, J. 2004. Evaluating biofumigation for soil-borne disease management in tropical vegetable production. *ACIAR Review report.* 30 p.
- LACY, M.; ROBERT, D. 1982. Yields onion cultivars in Midwestern organic soil infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae and *Pyrenochaeta terrestris*. *Plant Dis.* 66:1003-1006.
- MBTOC (Methyl Bromide Technical Option Committee). 1998. Assessment of alternatives to Methyl Bromide. *UNEP, Nairobi.* Kenya. 354 p.
- RAMÍREZ VILLAPUDUA, J.; MUNNEKE, D. 1988. Effects of solar heating and soil amendements of cruciferous residues on *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* and other organisms. *Phytopath.* 3(78): 289-295.
- ROSA, E.; RODRÍGUEZ, P. 1999. Towards a more sustainable agriculture system: the effect of glucosinolates on the control of soil-borne diseases. *J. of Hort. Sc. & Biotech.* 74(6):667-674.
- RUIZ, C.; VEGA, M.; ZANETTA, V. 2004. Situación Hortícola Regional. Ministerio de Producción y Turismo. Neuquén, Argentina. p. 27-28.
- SARWAR, M.; KIRKEGAARD, J.; WONG, P.; DESMARCHÉ-LIER, J. 1998. Abstract: biofumigation potential of Brassicas in vitro toxicity of Isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant Soil* 201(1): 103-112.
- SENASA. 2009. Anuario Estadístico 2009 del Centro Regional Patagonia Norte. (<http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File3566-anuario-2009crpn-senasa.pdf> verificado: agosto de 2010.).
- STADNIK, M.; DHINGRA, O. 1994. Resistencia de cultivares de cebolla a la tombamento de plantulas causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae. Departamento de fitopatología/UFV. *Hort. Brás.* 12 (2):139-143.
- STOIN, D.; PIRSAN, P.; RADU, F.; POIANA M.A.; ALEXA E., DOGARU D. 2009. Studies regarding the myrosinase enzymatic activity from black mustard (*Brassica nigra*) seeds. *J. of Food Agr. & Environ.* 7 (1): 44-47.
- TELLO, J.; VARES, T.; LACASA, A. 1991. Análisis de muestras. En: Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos bacterias y nematodos fitopatógenos. Ed: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación Madrid. p. 39-72.
- THOMAS, W. 1996. Methyl bromide Effective pest management tool and environmental threat. *Suplement to Journal of Nematology.* 28: (4 S) 586-589.
- VALDEZ, J.; MAKUCH, M.; MARINI, G. 2004. Patogenicidad de aislamientos de *Fusarium* spp en plántulas de cebolla (*Allium cepa*). *Hort. Arg.* 23:90
- WADE, E. 2001. Influence of Inoculum Density of *Fusarium oxysporum* f. sp. cyclaminis and Sodium Chloride on Cyclamen and the Development of *Fusarium* wilt. *Plant Dis.* 86:389-393.
- WINDELS, C.; KOMMEDHAL, T. 1975. Population differences in indigenous *Fusarium* species bay corn culture of prairie soils. *Amer. J. Bot.* 61:141:145.
- ZHOU, X. 2004. Suppression of *Fusarium* wilt of watermelon by soil amendment with Hairy vetch. *Plant Dis.* (88)12:1357-1365.
- ZURERA, C.; ROMERO, M.; PORRAS, M.; BARRAU, C.; ROMERO, F. 2007. Efecto biofumigante de especies de *Brassica* en el crecimiento de *Phytophthora* spp *in vitro*. XI Congreso SECH. Albacete, España. *Actas de Hort.* 48:306-309.