

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



**BIOFUMIGACIÓN CON ACOLCHADO PLÁSTICO E
INCORPORACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y
ORGANISMOS ANTAGÓNICOS PARA EL MANEJO
ECOLOGICO DE PLAGAS**

CASO DE ESTUDIO

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: AGROPLASTICULTURA

PRESENTA:

ING. BIANCA LUCERO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

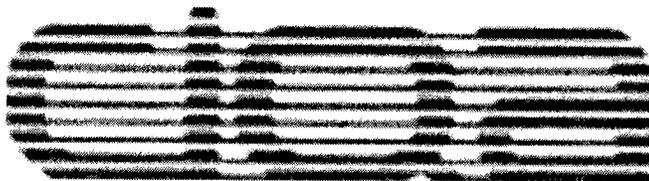


26 OCT 2007

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

RECIBIDO AGOSTO 2007.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



HACE CONSTAR QUE EL CASO DE ESTUDIO TITULADO:

**BIOFUMIGACIÓN CON ACOLCHADO PLÁSTICO E
INCORPORACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y
ORGANISMOS ANTAGÓNICOS PARA EL MANEJO
ECOLOGICO DE PLAGAS**

PRESENTADO POR:

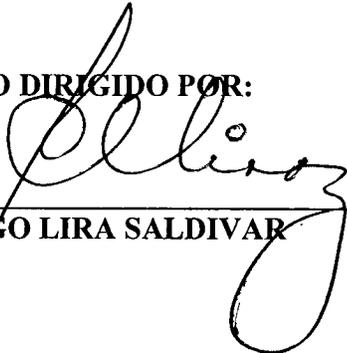
ING. BIANCA LUCERO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: AGROPLASTICULTURA

HA SIDO DIRIGIDO POR:

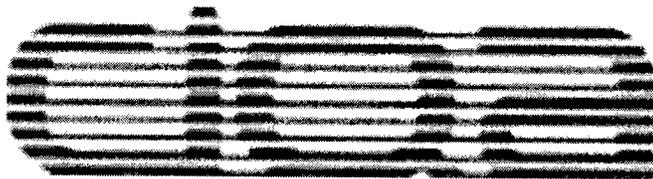


Dr. R. HUGO LIRA SALDIVAR

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

AGOSTO 2007.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



A TRAVES DEL JURADO EXAMINADOR HACE CONSTAR QUE EL CASO DE ESTUDIO

BIOFUMIGACIÓN CON ACOLCHADO PLÁSTICO E INCORPORACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y ORGANISMOS ANTAGÓNICOS PARA EL MANEJO ECOLOGICO DE PLAGAS

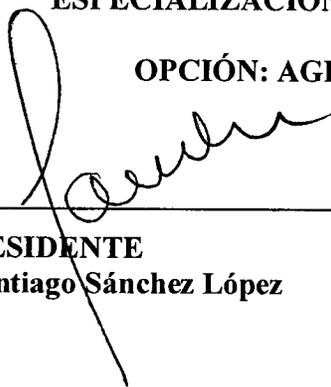
QUE PRESENTA:

ING. BIANCA LUCERO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

HA SIDO ACEPTADO COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: AGROPLASTICULTURA



PRESIDENTE
M.C. Santiago Sánchez López



VOCAL
Dra. Hortensia Ortega Ortiz

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

AGOSTO 2007.



ÍNDICE GENERAL

	Páginas
Índice de Cuadros	ii
Índice de Figuras	iii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General	3
Objetivos Específicos.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Definición del Concepto de Biofumigación	4
Bases de la biofumigación para el manejo ecológico de plagas	6
Tipos de materia orgánica usada como biofumigante, su efecto y características	7
Beneficios de la materia orgánica adicionales a la biofumigación	9
Glucosinolatos e isotiocianatos y su efecto como biofumigante.....	11
Factores que pueden influenciar la liberación de los compuestos tóxicos en especies de <i>Brassicaceas</i>	15
Acolchado plástico y solarización como elemento básico de la biofumigación	17
Anaerobiosis y su asociación con la biofumigación de suelo	20
Manejo de Algunas Plagas Patógenas del Suelo.....	22
Manejo de insectos mediante el uso de la biofumigación.....	22
Efecto de la biofumigación en nemátodos	23
Manejo de hongos del suelo con abonos verdes y extractos con efecto biofumigante ..	26
Efecto de la biofumigación en el banco de semillas del suelo y en las malezas.....	28
Preservación de las Bacterias Benéficas y el Control de Bacterias Fitopatógenas	29
Microorganismos Antagonistas Usados en la Biofumigación	30
Mecanismo de acción de los antagonistas.....	33
Plantas Antagónicas Usadas para Biofumigar	36
ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO	42
ÁREAS DE OPORTUNIDAD	47
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
LITERATURA CITADA	57



Índice de Cuadros

	Páginas
Cuadro 1. Compuestos con acción biofumigante liberados durante la descomposición de la materia orgánica	10
Cuadro 2. Rangos de concentraciones ($\mu\text{mol/g}$) de diferentes glucosinolatos para <i>Brassicaceas</i> en floración sembradas en otoño (Matthiessen, 1996).....	12
Cuadro 3. Patógenos vegetales de origen fúngico, bacteriano y otros microorganismos controlados por isotiocianatos (Kirkegaard <i>et al.</i> 2000).	12
Cuadro 4. Daño foliar por <i>Alternaria solani</i> en plantas de jitomate asociado con cempazúchitl (C-J) o con alegrías (A-J), y jitomate sin asociar (J), a las 10 y 12 semanas después del transplante (STD) del jitomate.....	38
Cuadro 5. Humedad relativa (HR) mínima, número de horas diarias (NHD) con una HR mayor o igual al 92% en el dosel de las plantas de jitomate asociado con cempazúchitl (C-J) o con alegría (A-J), y sin asociar (J).....	39
Cuadro 6. Grosor foliar y presencia de almidón en folíolos de plantas de jitomate asociados con cempazúchitl (C-J) o Alegría (A-J) y sin asociar (J).....	39
Cuadro 7. Grosor de diferentes estratos de hoja de jitomate asociados con cempazuchitl (C-J) o alegría (A-J) y sin asociar (J), 10 semanas después del transplante del jitomate.....	40
Cuadro 8. Porcentaje de cortes foliares con hifas de <i>A. solani</i> y con daño celular a las 12, 24 y 48 h después de la inoculación en folíolos de jitomate	40



Índice de Figuras

	Páginas
Figura 1. Acumulación térmica a 15 cm de profundidad del suelo durante los días de mayor temperatura en parcelas solarizadas y no solarizadas	20
Figura 2. Principales productos cultivados en México de 1989 a 1996 en base a una superficie sembrada de 20,031 millones de hectáreas (SAGARPA, 1998).....	49
Figura 3. Participación por Estados de la producción de hortalizas en el año de 1998 (SAGARPA, 1998).....	50
Figura 4. Promedio anual de la superficie nacional destinada a la producción de hortalizas en base a una superficie total de 500,000 ha (SAGARPA, 1998-1995).....	51
Figura 5. Países proveedores de hortalizas para EUA en el 2006 (% valor) (a) y Países proveedores de frutas para EUA en el 2006 (% valor) (b).....	52

INTRODUCCIÓN

En la agricultura moderna, se ha soslayado la sustentabilidad de la producción agrícola, ya que el uso de agroquímicos sintéticos ha permitido obtener incrementos substanciales en la producción; no obstante, sus efectos adversos están impactando de manera significativa la sustentabilidad de la agricultura. La práctica del monocultivo y la contaminación por el uso indiscriminado de pesticidas han reducido la biodiversidad de los agroecosistemas, causando la inestabilidad de los mismos, lo cual se manifiesta, en una mayor incidencia de plagas y enfermedades en los cultivos, entre otros efectos nocivos. Esto y los problemas de seguridad y salud pública inherentes a la fabricación y uso excesivo de agroquímicos como el bromuro de metilo (BM) han conducido a la búsqueda y establecimiento de alternativas de manejo de plagas y enfermedades. Así surge el interés por el control ecológico que puede definirse como: “cualquier forma de control que reduce la incidencia o severidad de la enfermedad, o incrementa la producción del cultivo, aun cuando no haya aparentemente un efecto significativo en la reducción de la enfermedad o inóculo, y su impacto nocivo en el ambiente sea mínimo o nulo” (Zavaleta-Mejía, 2003).

El BM ha sido el producto químico más ampliamente comercializado para la fumigación de suelos ya que se considera que es un producto económico debido a sus propiedades como gas fumigante de alta eficacia y rápida actuación en el control de enfermedades de origen edáfico, mostrando un amplio espectro de actividad frente a los patógenos. Sin embargo el BM no se retiene en su totalidad en el suelo, sino que entre 50 a 95% pasa en forma de emisiones gaseosas a la estratosfera, donde se liberan átomos de bromo que reaccionan con el ozono y otras moléculas estables que contienen cloro, dando lugar a una reacción en cadena que contribuye a la disminución de la capa de ozono, e incrementa el paso de rayos ultravioleta, además de que una de las principales desventajas de este producto radica en su toxicidad, reduciendo la biodiversidad del suelo y provocando problemas de fitotoxicidad y contaminación que afectan a humanos y ecosistemas Brechelt (2001).

Por tal motivo con base en el Protocolo de Montreal el BM deberá ser eliminado del mercado mundial en el año 2015. Por esta razón, es urgente desarrollar técnicas como la biofumigación, que sean amigables con los ecosistemas y que permitan eliminar las plagas del suelo y maleza basados en los principios biológicos y físicos. Este tipo de tecnologías son la que habrán de predominar en el futuro y las que serán alentada para usarse en programas de agricultura orgánica y sustentable en México y todo el mundo (Lira-Saldivar *et al.*, 2004).

En lo referente a la biofumigación como alternativa al BM, la materia orgánica a través de sus procesos de biodegradación supone una prometedora alternativa en la regulación de los patógenos del suelo. La biodegradación de la materia orgánica está basada en los mismos principios de los biofumigantes que el BM, la única diferencia se encuentra en que la biofumigación utiliza los gases y otros productos resultantes de la biodegradación de la materia orgánica y residuos agroindustriales.

Por otra parte, la efectividad de la biofumigación es similar a la de otros pesticidas convencionales, pero al mismo tiempo mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Cuando se emplea la biofumigación, la acción de los microorganismos sobre la materia orgánica produce una gran cantidad de productos químicos durante su descomposición, entre los que se encuentran: amonio, nitritos, ácido sulfhídrico, un gran número de sustancias volátiles y ácidos orgánicos (Bello *et al.*, 2003).

En los últimos años la técnica de biofumigación de suelos se ha venido utilizando cada vez más en diversas regiones del mundo como un método ecológico para la prevención y control de organismos fitopatógenos del suelo, la cual utiliza la solarización con acolchado de polietileno transparente y la incorporación al suelo de residuos de especies de plantas de la familia de las *Brassicaceas*, las cuales debido a las altas temperaturas generadas con la solarización del suelo liberan diversos compuestos tóxicos con propiedades biocidas.

OBJETIVO GENERAL

Revisar la literatura para caracterizar la biofumigación y sus efectos benéficos al utilizar un acolchado plástico y diversos tipos de materia orgánica de origen vegetal y/o animal, así como los microorganismos antagónicos para el manejo ecológico de las plagas del suelo.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Establecer cuales son los subproductos de los cultivos agrícolas que contienen metabolitos secundarios o fitoquímicos con propiedades biocidas para emplearse en la biofumigación.
- Determinar cuales abonos orgánicos de origen animal contienen mayor cantidad de biocompuestos que puedan liberar gases, que resulten ser tóxicos para los microorganismos patógenos del suelo.
- Precisar las ventajas o desventajas de cada producto orgánico de origen animal o vegetal que puedan tener un mayor efecto en el proceso de biofumigación.
- Indicar cual sería la fauna benéfica (hongos y bacterias) de la rizosfera del suelo que puedan tener potencial para emplearse como microorganismos antagónicos promotores de un efecto sinérgico en tratamientos de biofumigantes.

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

Definición del Concepto de Biofumigación

Las líneas de investigación existentes sobre la biofumigación, aun en el año 2000 centran sus enfoques teóricos en confundir biofumigación con MO, solarización, inundación y anaerobiosis, proponiendo técnicas complejas que son difíciles de asumir por los agricultores. Por ello, es necesario establecer las diferencias entre biofumigación y las otras técnicas relacionadas con el control de los patógenos del suelo como la MO, solarización, inundación y anaerobiosis, resaltando que la biofumigación es: “la acción de los gases producidos de la biodescomposición de la materia orgánica”, concepto que es clave para su aplicación correcta y obtener una mayor eficiencia en el control de los patógenos (Bello *et al.*, 2003).

La biofumigación ha sorprendido al mundo académico, ya que en los últimos años ha centrado su potencial investigador en el campo de la agrobiotecnología, a través de la aplicación de las técnicas de la biología molecular en la agricultura, resultándole difícil de aceptar que viejos métodos basados en la aplicación de la materia orgánica (MO) sea una alternativa actual y de futuro en la agricultura, muy pocos programas académicos de protección vegetal han incluido, por el momento, la biofumigación como alternativa no química de control.

El término biofumigación es un concepto de uso reciente en el control de los patógenos vegetales con abonos verdes de *Brassicaceas*. Matthiessen y Kirkegaard (1993) aparentemente fueron los primeros autores que emplearon el término biofumigación al tratar de sustituir el uso del metam sodio en el control de *Graphognathus* spp. conocido en Australia como el picudo de la papa; ya que este producto tiene un amplio espectro de actividad, no sólo contra los organismos causantes de plagas y enfermedades, sino también sobre muchos organismos benéficos.

Las *Brassicaceas* contienen compuestos conocidos como glucosinolatos (Kjaer, 1976) que cuando se hidrolizan por la acción de la enzima mirosinasa dan lugar a isotiocianatos. Los

glucosinolatos son inactivos contra los microorganismos, pero los productos de la hidrólisis son biocidas muy eficaces contra los nemátodos, las bacterias, los hongos, los insectos y la germinación de las semillas (Brown y Morra, 1997).

El concepto de biofumigación ha estado más relacionado con los organismos patógenos de origen edáfico, siendo nueva la idea de que también puede controlar insectos; ya que Elberson *et al.* (1996), Borek *et al.* (1997) Noble y Sams (1999) encontraron que la biofumigación con concentraciones altas de *Brassica juncea* puede controlar larvas de diferentes especies de insectos del suelo, incorporando una biomasa de entre 4 y 8% de MO.

Kirkegaard y Sarwar (1998) revisaron el efecto de la biofumigación con abonos verdes de *Brassicaceas* y la definieron como "la supresión de organismos del suelo patógenos de plantas y por compuestos biocidas originados de la hidrólisis de los glucosinolatos producidos durante la descomposición de los abonos verdes de *Brassicaceas*". La biofumigación también ha sido definida como la acción fumigante de las sustancias volátiles producidas durante la biodegradación de la MO (mejoradores orgánicos, residuos agroindustriales, etc.), en el control de patógenos de las plantas, incrementándose su eficacia cuando se incluyen en un sistema integrado de producción de cultivos (Bello *et al.*, 1999).

Villeneuve y Lepaumier (1999) estudiaron el efecto de la incorporación de la MO en el control de los hongos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotium*, *Verticillium dahliae* y en los nemátodos *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp., indicando que estos organismos patógenos resultan sensibles al tratamiento que ellos denominan biodesinfectación, pero, si se considera que esta técnica permite la reducción del empleo de los fumigantes, están hablando de biofumigación.

La biofumigación es el resultado de la selección de la microflora benéfica. La actividad inhibitoria depende de la desactivación térmica, de la liberación de compuestos volátiles biotóxicos tales como amonio, metil isotiocianatos y otros compuestos de azufre. También son liberados estimulantes de los antagonistas saprofiticos del suelo, entre los que se señalan los aldehídos, los alcoholes y las toxinas alelopáticas (Braga *et al.*, 2003).

La acción de la materia orgánica está directamente relacionada con el aumento de la actividad de los organismos antagónicos como hongos, bacterias y otros, aunque no es más eficaz que las fumigaciones con nematicidas (Costa y Prata, 2000). El empleo de estiércoles vacuno, de oveja y de carnero, gallinaza y cascarilla de arroz junto a prácticas culturales como rotación de cultivos, uso de cubiertas de vegetales y variedades de tomate resistentes, redujeron las poblaciones de *M. incognita* así como el uso de agroquímicos (Leon *et al.*, 2000, Bello *et al.*, 2003).

Bases de la Biofumigación para el manejo ecológico de plagas

La biofumigación se basa en la acción biofumigante de las sustancias volátiles procedentes de la biodescomposición de la MO y de los residuos agroindustriales en el control de los patógenos de los vegetales. Su efectividad se incrementa cuando se incorpora en un sistema de manejo integrado, prolongando su efecto en el tiempo mediante la rotación de cultivos, uso de barbechos, variedades resistentes, injertos, solarización, empleo de sustratos naturales y artificiales, uso de agentes de control biológico e incluso la adición de bajas dosis de pesticidas (MBTOC, 1998; Bello *et al.*, 2000a,b).

La función de la MO en la regulación de los fitopatógenos mediante la acción de los gases resultantes de los procesos de biodescomposición, es una alternativa basada en los mismos principios que los biofumigantes convencionales, con la única diferencia de que los gases obtenidos son el resultado de la biodescomposición de la MO, y no se conoce que ocasionen efectos negativos sobre el ambiente y la salud. Tampoco tiene limitaciones de uso dentro de los reglamentos de producción integrada o de agricultura orgánica o sustentable.

La producción agrícola obtenida con la aplicación de las técnicas de biofumigación puede tener precios altamente competitivos, debido al aprovechamiento de residuos agroindustriales. El gran problema que potencialmente puede tener es la alta variabilidad de los mejoradores orgánicos, ya que algunos biofumigantes pueden acumular compuestos peligrosos e incrementar los niveles de algunos patógenos. Por ello es necesario diseñar

metodologías para la caracterización fitosanitaria y agronómica de los materiales a emplear, así como desarrollar técnicas correctas de su aplicación en el campo (Bello, 1998).

La biofumigación estimula la actividad microbiana en el suelo, actuando además como biomejorador del suelo. Cuando se añade la MO, se produce una secuencia de cambios microbiológicos, con la proliferación inicial de microorganismos que depende de los recursos orgánicos incorporados al suelo. Los descomponedores de la MO son una fuente de nutrición, al mismo tiempo que favorecen la proliferación de hongos nematófagos y nemátodos de vida libre, lo cual incrementa el número de nemátodos depredadores y microartrópodos, nemátodos omnívoros, hongos, protozoos, algas y otros organismos del suelo. Además, el incremento de la actividad microbiana produce un aumento de los niveles de enzimas en el suelo (Bello *et al.*, 2003).

Tipos de materia orgánica usada como biofumigante, su efecto y características

La adición de MO al suelo para mejorar la fertilidad y controlar las plagas y enfermedades es una práctica casi tan antigua como la agricultura. Se han realizado ensayos sobre una amplia variedad de materiales como mejoradores al suelo para controlar nemátodos, hongos fitoparásitos, malezas e insectos. Estos materiales incluyen el estiércol de ganado y residuos de industrias papelera y forestal, residuos de industrias pesqueras y de mariscos, numerosos subproductos de la agricultura, la alimentación y otras industrias, así como los residuos de plantas con efectos alelopáticos. La eficiencia de los mejoradores orgánicos contra los nemátodos y otros patógenos del suelo depende de su composición química y propiedades físicas, que viene determinada por el tipo de microorganismos implicados en su descomposición en el suelo y ha sido recientemente revisado por Bello *et al.* (2000a,b).

Se han investigado como mejoradores de suelo para el control de nemátodos y otros patógenos de plantas, materiales con alto contenido de nitrógeno que generan amoníaco, el cual actúa como nematicida en el suelo (Canullo *et al.*, 1992a,b). La adición al suelo de biopolímeros como la quitina o materiales quitinosos obtenidos de crustáceos no solo genera amoníaco, sino que también estimula la actividad de la microflora quitinolítica en el suelo, ya

que muchos microorganismos quitinolíticos son efectivos en la destrucción de huevecillos de nemátodos y micelio de algunos hongos fitopatógenos (Rodríguez-Kábana *et al.*, 1990).

Existen muchos trabajos sobre el uso de mejoradores para el control de patógenos de origen edáfico (Cook y Barker, 1983; Hoitink, 1997). Estos tratamientos pueden contribuir al control de enfermedades del suelo particularmente cuando se combinan con otras alternativas; por ejemplo, se ha estudiado la incorporación al suelo de mejoradores complementados con solarización, determinando que ofrece un potencial considerable de incremento de la eficiencia contra los patógenos; además reduce las cantidades necesarias de MO por hectárea (Gamliel y Stapleton, 1993).

El mayor problema en el uso de los mejoradores orgánicos es la heterogeneidad en la composición de las materias utilizadas. Por ejemplo, el contenido de nitrógeno en la gallinaza, puede variar enormemente dependiendo de las condiciones de almacenamiento, humedad, temperatura, etc. Se puede señalar que la función de la microflora y microfauna que se origina por la incorporación de MO al suelo es doble, ya que pueden ser parásitos o depredadores, o ser generadores de enzimas o toxinas capaces de dañar a los patógenos (Stirling, 1991).

Frecuentemente se ha sugerido para explicar los efectos adversos que los mejoradores orgánicos tienen sobre los fitopatógenos del suelo y en general la incorporación de cualquier tipo de MO, que los productos de descomposición resultantes durante la degradación de los residuos en el suelo, tienen un efecto nocivo sobre los patógenos, consecuentemente se incrementan las poblaciones de organismos antagonistas contra fitopatógenos del suelo (Zavaleta-Mejía *et al.*, 2003).

Papavizas y Lumsden (1980) mencionan que los mejoradores orgánicos tienen los siguientes efectos y/o acciones sobre los fitopatógenos del suelo:

- a) Estimulan la germinación de hongos, anulando la fungistasis seguida por lisis, lo cual reduce el número de propágulos.
- b) Inactivación temporal o permanente de los propágulos en el suelo (incremento de fungistasis).

- c) Inmovilización de nitrógeno y otros nutrimentos, lo cual favorece la competencia de los microorganismos antagonicos.
- d) Sirve como base alimenticia o sustrato para la producción de antibióticos o producción de materiales nocivos a los fitopatógenos, tanto volátiles como no volátiles.
- e) Favorece el hiperparasitismo o antagonismo en general, al permitir el incremento de la microflora del suelo (el concepto de antagonismo, lo consideramos aquí en el sentido más amplio, es decir, cualquier efecto nocivo ejercido por un organismo hacia otro; así podemos tener un antagonismo directo: hiperparasitismo, o un antagonismo indirecto: antibiosis, lisis, y competencia por nutrimentos) (Zavaleta-Mejía *et al.*, 2003).

En Florida, U.S.A., Kim *et al.* (1996a,b) estudiaron el uso de compostas y la MO como alternativa al control de *Phytophthora capsici* en el cultivo del pimiento, encontrando que el quitosán (bioproducto obtenido de residuos de crustáceos) y la pulpa de cítricos con melaza, fue efectivo para el control de la enfermedad, incrementando además la actividad biológica del suelo, pudiendo actuar como una alternativa al BM; estos autores señalan que dicho efecto se debe a la producción de lacasas y peroxidasas, la acumulación de 1,3- β -glucanasa y quitinasa, de fenoles por la actividad sinérgica entre 1,3- β -glucanasa y quitinasa.

En la literatura se reporta que la MO la funcione adecuadamente como un biofumigante y cumplir con ciertos requisitos que se asocian a diversos parámetros. Los principales factores son: un elevado contenido de humedad; que se encuentre en el proceso de descomposición; que tenga una relación C/N entre 12 y 25, además debe proceder de recursos locales con la finalidad de abaratar los costos de transporte (Magunacelaya, 2005).

Beneficios de la materia orgánica adicionales a la biofumigación

Algunos beneficios físicos y químicos de la MO adicionales a la práctica de la biofumigación se resumen a continuación: mejora las propiedades físicas del suelo debido a que beneficia la estructura del suelo al formar enlaces con las superficies reactivas de las partículas minerales, uniéndolas y formando agregados más estables en el agua; aumenta la capacidad de retención de agua en el suelo, al aumentar los poros de mayor diámetro retienen el agua con menor energía, siendo de mayor accesibilidad para las plantas; también al

aumentar la infiltración del agua se aumenta la conductividad hidráulica (K). La MO también mejora las propiedades químicas del suelo debido a que aumenta la capacidad de intercambio catiónico (CIC); incrementa la disponibilidad de N, P, S y de los micronutrientes como el Ca y Mg; aumenta la capacidad tampón del suelo y disminuye la pérdida de nutrientes por lixiviación. La MO también mejora las propiedades biológicas del suelo debido a que aumentan los niveles de las bacterias, los hongos, los ácaros, los nemátodos depredadores, los entomopatógenos, así como diversos ácidos orgánicos y otros compuestos (Cuadro 1), los que aumentan en general la eficacia del control biológico del suelo, así como la presencia de enzimas en el suelo (Bello *et al.*, 1999).

Cuadro 1. Compuestos con acción biofumigante liberados durante la descomposición de la materia orgánica.

Ácidos	Otros
Ácido propiónico	Amonio
Ácido butírico	Nitratos
Ácido sulfhídrico	Etanol
Ácidos hidroxámicos	Metano
Ácido fumárico	Isotiocianatos (en Brassicaceas)
Ácido málico	
Ácido succínico	
Ácidos fenólicos	
Ácido cítrico	

Organismos que descomponen la MO. Son muchos organismos, pero los principales son: bacterias, hongos, actinomicetos, algas, protozoos, nemátodos, artrópodos, anélidos, etc. (Magunacelaya, 2005).

Glucosinolatos e isotiocianatos y su efecto como biofumigante

Estos fitoquímicos o metabolitos secundarios son un grupo de compuestos azufrados generados naturalmente por las plantas de la familia de las crucíferas. Existen aproximadamente 100 diferentes glucosinolatos que han sido identificados y descritos. Su hidrólisis por parte de la enzima mirosinasa libera iones sulfato y glucosa; también compuestos biológicamente activos como isotiocianatos (ITC), nitrilos y tiocianatos. La formación de isotiocianatos es favorecida en condiciones de pH alcalino o neutro, mientras que a un pH ácido se generan nitrilos, los cuales poseen un efecto inhibitor menor que los primeros (Kirkegaard *et al.*, 2000).

Una colección de más de 100 especies diferentes de Brassicaceas cultivadas en condiciones ambientales heterogéneas, tejidos de tallos y raíces fueron analizados por la técnica de HPLC. Se encontró que el contenido de glucosinolatos disminuye con la madurez de la planta y pueden variar entre e intra especies, entre partes de una misma planta, el estado de desarrollo de la planta, así como también con el ambiente (Cuadro 2). Durante el crecimiento y el desarrollo de las plantas los glucosinolatos son exudados de las raíces. También se ha determinado que la época del año influye en la concentración de estos fitoquímicos; la canola de invierno ha presentando mayor contenido de glucosinolatos que la de primavera (Smolinska *et al.*, 2003).

Los isotiocianatos tienen un amplio espectro de acción, su actividad resulta de la interacción irreversible con los grupos sulfhidrilos, puentes disulfuro y grupos amino de las proteínas para formar productos estables. Existen numerosos reportes de la acción de estos compuestos sobre los patógenos vegetales de origen fúngico y bacteriano y otros microorganismos, así como contra nemátodos de diferentes especies (Cuadro 3).

Cuadro 2. Rangos de concentraciones ($\mu\text{mol/g}$) de diferentes glucosinolatos para *Brassicaceas* en floración sembradas en otoño (Matthiessen, 1996).

Especies	Tallos			Raíces	
	Propenil	Butenil	Pentenil	Feniletil	Benzil OH
<i>B. napus</i> Aceite	0	0-3	0-8	2-19	0
<i>B. napus</i> Forraje	0	1-9	1-5	7-20	0
<i>B. juncea</i> Aceite	0-19	0-8	0	3-13	0
<i>B. nigra</i>	11-26	0	0	1-3	0
<i>S. alba</i>	0	0	0	0-4	3-4
Nabo silvestre	0	35	1	26	0

Cuadro 3. Patógenos vegetales de origen fúngico, bacteriano y otros microorganismos controlados por isotiocianatos (Kirkegaard *et al.* 2000).

Patógenos de origen fúngico	
<i>Alrenaria brassica</i>	<i>Leptosphaeriaculans</i>
<i>Aphenomices euteiches</i>	<i>Monilinia laxa</i>
<i>Aspergillus alliaceas</i>	<i>Mucor piriformis</i>
<i>Aspergillus Níger</i>	<i>Micosphaerella brassicicola</i>
<i>Bipolares sorokiniana</i>	<i>Penicilium glaucum</i>
<i>Botrys cinerea</i>	<i>Penicilium cyclopium</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Peronospora parasitica</i>
<i>Colletotrichum circinans</i>	<i>Phytophthora spp.</i>
<i>Colletotrichum coccodes</i>	<i>Pyeronopeziza brassicae</i>
<i>Didymella brionae</i>	<i>Phytium irregulare</i>
<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Phytium ultimum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Fusarium sambucinum</i>	<i>Rhizopus orizae</i>
<i>Gaeumannomycesn graminis var. Tritici</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>
<i>Gibberella saubinetii</i>	<i>Thielaviopsis basicola</i>
<i>Gigaspora gigantea</i>	<i>Verticillium albo- atrum</i>
<i>Glomus moseae</i>	<i>Verticillium dahliae</i>
Patógenos de origen bacteriano	
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphilococcus albus</i>
<i>Pseudomonas flourencens</i>	<i>Staphilococcus aureus</i>

Los cultivos que generalmente han sido utilizados para biofumigar son: *Brassica nigra* (mostaza), *Sinapsis alba* (mostaza blanca), *B. juncea* (mostaza china), *B. oleracea* (repollo), *B. napus* (nabo), *B. oleracea* var. *itálica* (brócoli), *B. oleracea* var. *cauliflora* (coliflor), *Raphanus sativus* (rábano); *Eruca sativa* (roqueta), pero también se han obtenido buenos resultados con *Ipomoea batatas* (camote) y *Sorghum* spp. (sorgo).

Se han realizado numerosos estudios sobre la estructura química de los productos de la hidrólisis de los glucosinolatos, se conoce que la capacidad biocida de estos compuestos depende de la estructura química de la cadena lateral que contiene su molécula, la característica común de los compuestos más tóxicos es su hidrofobicidad, que podría estar relacionada con la penetración en la membrana celular de las células. Kirkegaard y Sarwar (1998) mencionan que dentro de los más activos se encuentran los glucosinolatos tio funcionales (glucoiberin, glucocherirolin, glucoerucin, glucorafenin) los alquenil glucosinolatos (sinigrin, glucocaparín) y los bencil glucosinolatos (glucotropaeolin, gluconasturtin).

Se ha encontrado que cereales tratados con residuos de *Brassica napus* y *B. juncea* se controlan los hongos del suelo (Kirkegaard y Sarwar, 1998); señalaron que la eficacia de la biofumigación depende de varios factores, pero fundamentalmente de la Brasicacea empleada, pero además de la eficacia en la incorporación de los abonos verdes, la actividad enzimática de la mirosinasa que es responsable de la hidrólisis de los glucosinolatos, a las pérdidas por volatilización, la absorción por la arcilla, la pérdida por percolación y la degradación microbiana (Brown y Morra, 1997).

Sarwar y Kirkegaard (1998) también estudiaron las implicaciones del ambiente en la optimización de la biofumigación, encontrando que es eficaz de entre 12 y 20°C en condiciones de invernadero, el contenido de glucosinolatos aparece relativamente constante a las diferentes condiciones ambientales y estados de crecimiento de la planta, disminuyendo el contenido de estos desde el inicio de la floración, no se encontraron grandes diferencias entre las raíces y la parte aérea, la excepción fue que *Brassica campestris* tiene una mayor cantidad de glucosinolatos durante la floración. Además, se observa que el ambiente influye sobre el

desarrollo fenológico y la producción de la biomasa puede interferir en la eficacia de la biofumigación, de ahí la importancia de conocer la influencia del ambiente.

El abono verde de *Brassicaceas* se ha considerado como supresor de los organismos productores de plagas y enfermedades cuando se incorpora al suelo (Mojtahedi *et al.*, 1991). Este efecto se atribuye por lo general a compuestos biocidas como los glucosinolatos que al hidrólizarlos pueden producir sustancias como los isotiocianatos, que se han considerado como los productos más tóxicos (Brown y Morra, 1997).

La biofumigación en el control de los fitopatógenos vegetales con abonos de *Brassicaceas* se considera una alternativa al BM y al dibromuro de etileno para eliminación de hongos patógenos (Kirkegaard *et al.*, 1996). Se ha encontrado que la luminosidad y la temperatura influyen en la fenología de la planta y en la producción de biomasa (Nanda *et al.*, 1996).

De acuerdo con Smolinska *et al.* (2003), en un estudio sobre las características y la concentración de los glucosinolatos en distintas especies ha llevado a la selección de variedades para ser usadas como biofumigantes, ya que producen altas cantidades de los glucosinolatos más tóxicos para plagas y patógenos, en algunos casos las concentraciones de isotiocianatos liberados al suelo después de la incorporación de estos materiales pueden ser iguales o mayores que las aplicadas con los fumigantes sintéticos (1500 nmoles/g suelo).

Haidar *et al.* (2000) realizó estudios de campo en Líbano para investigar el efecto del período de solarización (0-6 semanas) con o sin gallinaza para eliminar las semillas de la maleza *Orobanche crenata* a varias profundidades del suelo (0-10 cm) y dirigidas a malezas que afectan el cultivo de col y repollo. Estos autores reportaron que los tratamientos de solarización solo mataron semillas de *Orobanche* en la profundidad de 0-10 cm, pero no tuvo ningún efecto significativo sobre las semillas de *Orobanche* a mayor profundidad. La solarización asociada con la gallinaza eliminó las semillas de *Orobanche* a todas las profundidades, la solarización durante 2-6 semanas con o sin gallinaza, redujo considerablemente el crecimiento de las malezas y la infestación en el cultivo de col, así

mismo, el estudio concluyó que la gallinaza, aumentó considerablemente el rendimiento de la col.

Carranza (2004) determinó el efecto biofumigante de diferentes fuentes y mezclas de materias orgánicas en el cultivo de tomate (*L. esculentum*) bajo condiciones de invernadero; sus resultados concluyeron que la biofumigación en el cultivo de tomate de mesa bajo esas condiciones, pueden superar el rendimiento hasta en un 27% respecto al testigo. Los elementos como Cu, Zn, Ca, K, Mg, Mn y P, adicionados debido a la incorporación de MO fueron los elementos que contribuyeron al incremento de los rendimientos. Gallinaza y gallinaza más residuos de brócoli fueron los productos que incrementan los géneros no parasíticos de nemátodos como *Rhabditis* (saprófago) y el género *Dorilaimus*, responsable de controlar algunos virus del suelo.

Marín *et al.* (2004) evaluaron la acción biofumigante de la materia orgánica sobre la recuperación de árboles de guayabo, crecidos en un campo infestado con *Meloidogyne incognita*, así mismo registraron los cambios fenológicos ocurridos. Los resultados obtenidos indicaron que la utilización de materia orgánica favorece el aumento de la fase reproductiva de los árboles, lo anterior representa una estrategia a incluir en el manejo integrado de nemátodos en los sistemas de producción frutícola.

Factores que pueden influenciar la liberación de los compuestos tóxicos en especies de *Brassicaceas*.

Mitidieri (2005) menciona algunos factores que influyen la efectividad de la biofumigación; entre estos se encuentran el patógeno a ser controlado, el nivel de infestación, el contenido y tipo de glucosinolatos e isotiocianatos que contiene la MO aplicada, la preparación del mejorador orgánico (fresco o seco), la cantidad de MO aplicada, el método de aplicación, así como el tiempo que duren incorporados. Estudios recientes indican que el método de incorporación de los mejoradores orgánicos puede ser el factor más importante para lograr un efecto de control sobre los patógenos. La eficiencia en la liberación de los isotiocianatos puede ser menor al 5%, si no se toman las medidas adecuadas al momento de la incorporación.

Los residuos de *Brassicaceas* pueden ser incorporados frescos o secos, siempre que se evite el daño y la hidrólisis endógena directa por medio de la enzima mirosinasa antes de ser aplicados. La disponibilidad de los isotiocianatos en el suelo depende de la naturaleza del material vegetativo incorporado, ya que los grupos amino y sulfhidrilo de estos compuestos reaccionan de manera irreversible con las partículas de arcilla y de la MO. El alto contenido de glucosinolatos en las raíces puede mejorar el control de algunas enfermedades del suelo, particularmente altos niveles de 2-feniletíl isotiocianatos (Walker, 1997). El efecto tóxico de los isotiocianatos puede ser mayor al permitir la destrucción de los tejidos a nivel celular para permitir la reacción de la enzima mirosinasa y los glucosinolatos.

De acuerdo con resultados consignados por Mitidieri (2005), el picado de los tejidos previo a la incorporación aumentó en 10 veces la liberación de los isotiocianatos y su maceración aunada a la aplicación del riego la aumentó en 100 veces. La incorporación rápida al suelo y el sellado con plástico para evitar el escape de gases tóxicos aumentó aún más la eficiencia de ésta técnica de biofumigación.

Ventajas de la biofumigación. Se han reportado numerosas ventajas entre las que destacan algunas que son muy importantes para implementar programas de agricultura sustentable (Magunacelaya, 2005).

- La solarización, que es el elemento base de ésta técnica aumenta la temperatura a más de 70°C, potenciando su efecto letal sobre los microorganismos del suelo.
- Estimula el crecimiento radical de las plantas.
- Estimula el control biológico, ya que promueve el desarrollo de una amplia gama de organismos como bacterias, hongos y nemátodos, depredadores de patógenos.
- Mejora las características físicas, químicas y biológicas del suelo.
- Resulta ser una técnica de control muy prometedora para quienes se dedican a la producción orgánica ya que se puede emplear en pequeñas y grandes áreas de cultivo.

- No tiene efectos negativos sobre el medioambiente y la salud.
- No tiene limitaciones de uso dentro de los reglamentos de producción integrada o de agricultura orgánica y ecológica.
- Su costo es mínimo ya que se pueden emplear una amplia variedad de materiales como mejoradores orgánicos para controlar los hongos, los nemátodos fitoparásitos, las malezas y los insectos, entre estos materiales se encuentran el estiércol de ganado y residuos de industrias papeleras, forestales, pesqueras y de mariscos, así como numerosos subproductos de la agricultura y la alimentación y otras industrias, así como residuos de plantas con efecto alelopático.

Acolchado plástico y solarización como elemento básico de la biofumigación

Uno de los trabajos pioneros en el campo de la solarización y la biofumigación fue el realizado por Katan *et al.* (1975). Ellos describen que el método de solarización consiste en cubrir un suelo húmedo con una película de plástico de polietileno transparente durante al menos cuatro semanas en los meses de mayor calor. Su principio está basado en un proceso hidrotérmico, donde las temperaturas pueden alcanzar en el día valores mayores a 50°C a una profundidad de 30 cm, la cual puede resultar letal para los patógenos del suelo. Un trabajo posterior (Katan, 1981) sugiere que la adición de residuos orgánicos al suelo podía incrementar la eficacia de la solarización. De manera paralela, Pullman *et al.* (1981) reportaron que la solarización redujo la población del hongo *Verticillium dahliae* a profundidades de 70-120 cm; estos autores consideraron que ese efecto se debió a los gases liberados durante el proceso de solarización, puesto que a esa profundidad la temperatura producida por el calentamiento del suelo debido a la solarización no tiene efecto letal.

Horiuchi *et al.* (1982) observaron que la eficacia de la solarización fue mayor cuando se incorporaron abonos verdes de nabo. Por su parte, Kodama y Fukui (1982) señalaron la conveniencia de añadir almidón soluble en una proporción de 25 a 30 g·kg⁻¹ de suelo seco, para aumentar el efecto letal de la solarización. Munnecke (1984) señaló que la solarización fue más eficaz para el control de *Fusarium oxysporum*, cuando se añadieron residuos de coles o repollos, debido a los gases fitotóxicos que se producen durante su descomposición.

Posteriormente en California, Stapleton y DeVay (1986) reportaron que la reducción de los nemátodos a profundidades entre 46 a 91 cm se debe a otros factores diferentes a la temperatura, sugiriendo esto que la MO de ciertas especies de *Brassicaceas* liberan gases que resultan ser tóxicos para los microorganismos fitopatógenos.

Garibaldi y Gullino (1991) revisaron el empleo de la solarización en los países del sur de Europa, indicando que este tratamiento biofísico crea un vacío microbiológico y no hay eficacia en aquellas capas donde no llega la radiación solar (30-40 cm), puesto que la solarización se basa en el calentamiento del suelo y éste sólo ocurre en los primeros 30 cm. Por esas épocas DeVay y Katan (1991) señalaban muchas preguntas sobre la solarización que no tenían respuestas, tales como el control de los organismos fitoparásitos era posible a profundidades de 60 a 120 cm en suelos solarizados, si la temperatura total necesaria no se alcanza a esa profundidad y la posible función de las sustancias volátiles en la reducción de los patógenos.

Años después, Eleftherohorinos y Giannopolitis (1999) reportaron que la eficacia de la solarización puede estar relacionada con el balance de los compuestos gaseosos (O_2 , CO_2 y otros). Bello *et al.* (2000a) señalaron que existen diferencias entre los conceptos de solarización y biofumigación en el control de los nemátodos en los cultivos extensivos de la zanahoria, ya que no es necesario hacer la aplicación de plástico para promover las altas temperaturas, aunque ambas técnicas pueden ser complementarias. Por su parte Blok *et al.*, (2000), señalaron que el control de estos patógenos no está relacionado solo con la temperatura, ya que se diferencia claramente de la solarización y puede emplearse en lugares donde la solarización y el encharcamiento no pueden ser aplicados; debido a esto consideraron que la biofumigación es un método nuevo de control, al cual denominaron “desinfectación biológica del suelo”.

La solarización es un método que por si solo no es eficaz, especialmente cuando se trata de controlar organismos móviles como los nemátodos que por acción del calor se desplazan a zonas más profundas, siendo incorporados de nuevo a la superficie del suelo

después de realizar labores culturales. En los casos donde la solarización ha sido eficaz, se trata por lo general de suelos con contenido alto de MO (solarización más biofumigación), o de suelos poco profundos. De acuerdo con algunos autores la solarización es más eficaz cuando se combina con biofumigación, durante dos meses, a una temperatura ambiental superior a 40°C (Lacasa *et al.*, 1999), aunque se recomienda un período de 30 a 45 días durante los meses de julio y agosto, que es cuando la temperatura del suelo alcanza temperaturas superiores a 50°C en algunas zonas de alta radiación solar.

Combinando la solarización con el estiércol de establo a una dosis de 40 ton /ha, se ha logrado en el cultivo de pepino reducir la infestación del nemátodo *M. javanica* en un 83% y del hongo *Phytophthora drechsleri* en 96%. Además, se disminuyeron en casi el 100% todas las malezas a excepción de *Cyperus rotundus* y *Sonchus asper* que se redujeron en un 59 y un 44%, respectivamente (Nasr, 2000). Por otra parte, en un estudio de dos años de duración, fue menor el índice de agallas en las raíces provocadas por *Meloidogyne* spp. y el rendimiento aumentó notablemente (Pokharel, 2000).

Con una adecuada proporción costo-beneficio en comparación con el BM y Metam Sodio (Salles, 2001). La solarización del suelo podría ser un método ideal para semilleros o almácigos de climas tropicales, resultando también ser muy eficaz cuando se combina con dosis bajas de los fumigantes comerciales, reduciendo así el impacto ambiental de éstos pesticidas sintéticos, siendo además una buena alternativa para diversos cultivos hortícolas. La combinación de la solarización con los fumigantes como el metam sodio a dosis muy reducidas ($100 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$), es una práctica bastante frecuente en España. Los resultados son equiparables a los obtenidos con el fumigante BM (Bolívar, 1999, Romero, 2000), el cual de acuerdo con el Protocolo de Montreal deberá ser erradicado de su uso agrícola en todo el mundo para el año 2015. Un trabajo reciente sobre la biofumigación reportado por Lira-Saldivar *et al.* (2004) mencionan el incremento en la temperatura de suelo solarizado y no solarizado, (Figura 1).

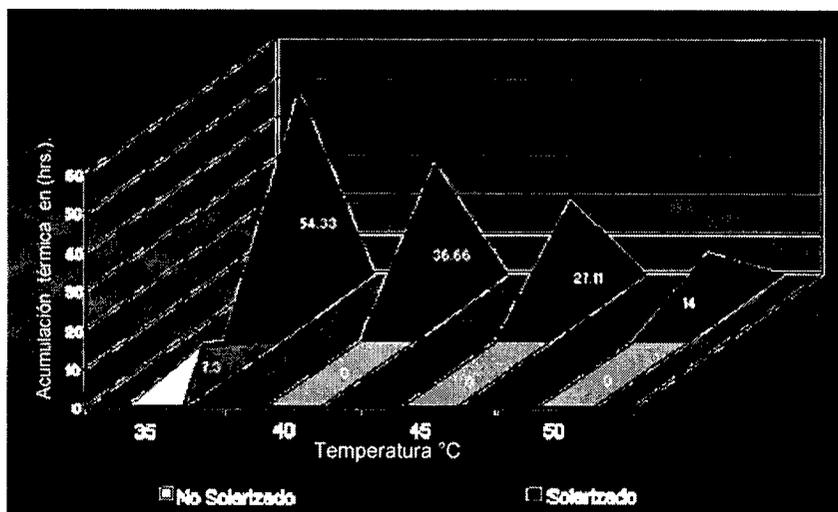


Figura 1. Acumulación térmica a 15 cm de profundidad del suelo durante los días de mayor temperatura en parcelas solarizadas y no solarizadas.

En esta figura se muestra que en las parcelas solarizadas la acumulación térmica por arriba de 35°C fue de 54.33 horas, mientras que para las temperaturas de 40, 45 y 50°C, esta acumulación fue de 36.66, 27.11 y 14.0, respectivamente. En la literatura se informa también que para muchos microorganismos termófilos (hongos y bacterias) el aumento en la temperatura por arriba de los 35°C resulta ser letal y no logran sobrevivir.

Anaerobiosis y su asociación con la biofumigación de suelos

Stolzy *et al.* (1960) demostraron que los nemátodos en condiciones anaerobias pueden adquirir el estado de quiescencia y no morir. Así mismo, reportan que al combinar la inundación con la solarización se reducen las poblaciones de *M. arenaria*, ya que el principal beneficio de la MO no resultó ser una buena alternativa para el control de nemátodos. Por su parte, Hollis y Rodríguez-Kábana (1966) han demostrado el efecto letal para los nemátodos de productos como los ácidos butíricos, propiónicos y sulfhídrido producidos por las inundaciones de suelos con alto contenido de MO. Por su parte, Stapleton y DeVay (1984) en sus estudios pioneros analizaron el efecto de la solarización del suelo sobre las bacterias, demostrando el efecto benéfico en las especies termófilas de los géneros *Actinomices*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, las cuales resultan ser productoras de antibióticos que reducen las

poblaciones de los hongos en el suelo, aumentando así la cantidad de bacterias pectolíticas que favorecen la anaerobiosis.

Allen *et al.* (1997) señalaron que las fuertes lluvias producidas durante el verano en Florida producen inundaciones y dan lugar a fenómenos de anaerobiosis que pueden actuar en el control de los nematodos después de doce semanas de producirse la inundación, por lo que podría utilizarse como una alternativa al BM. Además, señalan que los nematodos no sobreviven después de dos semanas en condiciones de anaerobiosis, aunque realizaron un experimento sometiendo a los nematodos al efecto del agua en estas condiciones y fueron capaces de sobrevivir.

Sotomayor *et al.* (1999) evaluaron el efecto sobre *Meloidogyne arenaria* usando los tratamientos de inundación, solarización y MO, e incluso estudiaron el efecto en el cultivo del arroz durante el período de inundación en Florida. Encontraron que un período de 6 a 12 semanas de inundación fue suficiente para la reducción de las poblaciones de nemátodos, debido a que mueren por asfixia.

Blok *et al.* (2000), reportaron un experimento de campo de dos años donde utilizaron para biofumigar *B. oleracea* y *Lolium perenne* en parcelas experimentales cubiertas con plástico y sin plástico, evaluando su efecto sobre los hongos *F. oxysporum f. sp. Aspargi*, *Rizoctonia solani* y *Verticilium dahliae* a 15 cm de profundidad en un suelo franco arenoso con pH de 6.1 y un contenido de MO del 3.1%. Se aplicaron 135 kg de N, 240 kg de K₂O y 160 kg de MgO ha⁻¹; en este experimento se incorporó el primer año plantas de cuatro semanas con un peso fresco de 3.8 kg·m⁻² para las *Brassicaceas* y 4 kg·m⁻² para *Lolium*, se incorporaron con un rotavator a una profundidad de 20-25 cm, se regó con un aspersor durante toda la noche y se cubrió con el plástico. En el segundo año el suelo presentó un pH de 6.5 el contenido de la MO fue de 3.4% y se incorporaron 3.4 y 4.0 kg·m⁻² de peso fresco para el brócoli y *Lolium* respectivamente, actuando con la misma metodología que el año anterior. Después de 15 semanas se determinó el efecto de biofumigación, encontrando una alta eficiencia en el control de los hongos del suelo, pero no hallaron un efecto claro en el control de *Globodera pallida*, aunque se observó una reducción en las poblaciones de *Pratylenchus penetrans* y *M. fallax*,

atribuyeron que este control fue debido a condiciones de anaerobiosis creadas por la aceleración del metabolismo en el suelo con la incorporación de la MO durante el proceso de fermentación; concluyendo que el efecto de control no se debe a las sustancias tóxicas volátiles desprendidas durante la descomposición, ya que no se presentó control de los hongos al incorporar el brócoli sin el plástico, reconocieron que las sustancias volátiles se producen pero no permanecen en el suelo el tiempo suficiente para que actúen en el control de los patógenos. Por último, concluyeron que la incorporación de la MO puede ser importante pero es inconsistente, señalando que los mecanismos de control están relacionados con la disminución del oxígeno y la toxicidad de los productos químicos formados en condiciones de anaerobiosis, lo anterior indica que no es necesario que se produzcan glucosinolatos para el control de los patógenos y que las diferencias de un año a otro se deben a la cantidad de MO incorporada al suelo.

Manejo de Algunas Plagas Patógenas del Suelo

Manejo de insectos mediante el uso de la biofumigación

Hace más de 10 años que Matthiessen y Kirkegaard (1993) emplearon el término biofumigación al tratar de sustituir en Australia el uso del metam sodio para el control del picudo de la papa (*Graphognathus* spp.), puesto que este producto tiene un amplio espectro de actividad no sólo sobre los organismos causantes de plagas y enfermedades sino también sobre muchos organismos beneficiosos. Estos efectos negativos les hacen dudar de la sustentabilidad del metam sodio a largo plazo. Por otro lado, indicaron que el metam sodio es muy caro y debe ser aplicado cuidadosa y correctamente. Estos autores señalaron que su componente activo es el metil isotiocianato, un compuesto volátil que se produce sintéticamente por la industria química, sin embargo, existen otras fuentes naturales, no solo del metil isotiocianato, sino de otras formas de isotiocianatos. Estas fuentes de ITC se encuentran principalmente en diferentes especies y variedades de *Brassicaceas*, entre ellas la col, la coliflor, la mostaza y el nabo.

Los estudios realizados han demostrado que los ITC producidos por las *Brassicaceas* tienen efecto repelente sobre el "gusano de alambre", aumentado su eficacia cuando estos insectos están en fases tempranas de su crecimiento, puesto que tienen menor tamaño y son más susceptibles a los tóxicos. Cuando los huevecillos del insecto *Graphognathus* spp. eclosionan, en el Este de Australia después de las primeras lluvias de otoño, son muy pequeños (1 mm de longitud), en lugar de crecer y desarrollarse rápidamente, las larvas permanecen en el primer estadio durante muchas semanas debido a las bajas temperaturas del invierno. El crecimiento sólo aparece en primavera cuando aumenta la temperatura. Por esta razón las larvas de este insecto pueden ser controladas por biofumigación antes de sembrar las papas. En otros casos, las *Brassicaceas* pueden actuar como repelentes de insectos plaga.

García y Poot (1997) utilizaron estiércol de vaca en el control de las enfermedades del aguacate en México, encontrando que esa materia orgánica puede tener un buen potencial para trabajos de biofumigación. Kirkegaard y Sarwar (1998) revisaron la biofumigación con abonos verdes de *Brassicaceas*, definiéndola como la eliminación de organismos patógenos del suelo de las plantas y de otros patógenos por compuestos biocidas originados de la hidrólisis de los glucosinolatos producidos durante la descomposición de los abonos verdes de *Brassicaceas*.

Efecto de la biofumigación en los nemátodos

La MO produce durante su descomposición una gran cantidad de productos químicos que pueden actuar en el control de los patógenos del suelo. El amonio, los nitratos y el ácido sulfhídrico y un gran número de sustancias volátiles y ácidos orgánicos pueden producir acción nematicida directa o afectar la eclosión de los huevecillos o la movilidad de los nemátodos juveniles; los fenoles y los taninos son también nematicidas a ciertas concentraciones aunque es difícil determinar con exactitud que sustancia es la responsable de la muerte de los nemátodos (Mian *et al.* 1982).

De todos los productos químicos obtenidos durante la descomposición de la MO por la actividad de los microorganismos que pueden tener acción nematicida, el amonio ha sido el más estudiado, aunque es difícil afirmar que un solo componente sea responsable de la

mortalidad de los nemátodos. La actividad nematicida del amonio fue reconocida por Eno *et al.* (1995), cuando realizaron una serie de trabajos sobre el empleo de amoniaco anhidro como fertilizante nitrogenado, encontraron al aplicarlo por inyección a las concentraciones de 300 a 900 mg·kg⁻¹ de suelo reduce los problemas de nemátodos. Experimentos posteriores con urea, que se convierte en amonio por acción de la ureasa existente en el suelo, mostró que es un buen nematicida si se aplica en cantidades superiores a 300 mg de N·kg⁻¹ de suelo (Huebner *et al.*, 1983).

El nitrógeno forma parte de casi toda la MO que se usa como enmienda en el suelo. La cantidad de amonio producido varía según los niveles de nitrógeno de un sustrato orgánico determinado, y existiendo además una relación entre el contenido de nitrógeno de una enmienda y su efecto nematicida. El estiércol de origen animal, los abonos verdes y los restos de leguminosas tienen un buen efecto nematicida. El contenido de nitrógeno no es el único factor considerado cuando la MO es utilizada como nematicida, el carbono es también importante, puesto que de él depende la metabolización del nitrógeno por los microorganismos para convertirlos en proteínas y otros compuestos. En ausencia de fuentes de carbono, el amonio y los nitratos se pueden acumular y causar fitotoxicidad. Materiales como la quitina, la urea, algunos residuos de oleaginosas y neem tienen una proporción de C/N baja, pudiendo afectar a las plantas. Se ha demostrado que la MO con una relación C/N entre 8 y 20 tiene actividad nematicida sin efecto fitotóxico (Rodríguez-Kábana, 1987).

El efecto nematicida del amonio está restringido, ya que el amonio tiene una difusión pobre en el suelo y se mueve sólo unos pocos centímetros desde el punto de aplicación (Eno *et al.*, 1995). El pH del suelo tiene también efecto sobre la eficacia del amonio; a concentraciones altas. El amonio es más activo en suelos ácidos que en los suelos alcalinos (Duplessis y Koontje, 1964). Desafortunadamente las dosis efectivas de nitrógeno para el control de los nemátodos pueden además ser fitotóxicas o contribuir a la contaminación de las aguas subterráneas (Stapleton *et al.*, 1989).

El caparazón de diversos crustáceos como los camarones, los cangrejos, las langostas, etc., así como la cutícula de los nemátodos consiste de un material biopolimérico llamado

quitina, el cual mediante un proceso de desacetilación se convierte en quitosán; las enzimas de mayor interés para esta conversión son las enzimas proteolíticas y quitinolíticas. La actividad de la quitinasa aumenta cuando se añaden al suelo mejoradores que contienen quitina por su parte las bacterias quitinolíticas tienen la capacidad de dañar la cubierta de los huevecillos de los nemátodos (Parker *et al.*, 1998). En otro estudio Galper *et al.* (1991) indicaron que la adición de colágeno estimula el desarrollo de enzimas que actúan sobre la cutícula de los nemátodos.

La quitina es uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza, tanto como la celulosa en residuos de fermentación industrial (Gooday, 1990). Se ha demostrado el efecto de la quitina cuando se aplica al 1% (Culbreath *et al.*, 1985). Su acción se debe principalmente a la producción de amonio durante su descomposición. La quitina es un material que contiene nitrógeno y se degrada por hidrólisis, convirtiéndose en ácido acético y glucosamina, el amonio se libera de este último compuesto. Uno de los problemas es su fitotoxicidad, pero esto se puede resolver añadiendo hemicelulosa y paja, que inmovilizan el exceso de nitrógeno, también se considera que estimula el desarrollo de la microflora antagonista, incrementando los actinomicetos.

Taylor y Rodríguez-Kábana (1999) presentaron un biofumigante que tenían en proceso de patentar, el cual controla *M. incognita* y maleza; por su parte Bello *et al.* (1999) aplicaron con eficacia la biofumigación en el control de *M. incognita* y *Rotylenchulus reniformis* en Guatemala. Arias *et al.* (1999) estudiaron como una alternativa al uso del BM la rotación de cultivos de pepino-aceituna afectados por *M. incognita* en invernaderos de la región de Madrid, utilizando composta de champiñón (5 kg·m⁻²), observaron una disminución de las poblaciones del nematodo y un aumento de la producción en las parcelas tratadas con la composta. Bello *et al.* (1999a) señalaron la eficacia del empleo de la biofumigación en el control de los nemátodos en Guatemala y Uruguay; por su parte Quiroga-Madrigal *et al.* (1999) estudiaron el efecto de las especies vegetales de canavalia, crotalaria y mucuna sobre la actividad enzimática del suelo. Por su parte, Rubiano-Rodríguez y Vargas-Ayala (2001) utilizaron en Puerto Rico *Mucuna deeringiana* en el control de *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Radopholus*.

En México Yañez-Juárez *et al.* (2001) reportaron que al rotar e incorporar los residuos de cempazuchitl o al asociar este cultivo con chile o jitomate, se obtiene una reducción significativa en el agallamiento radical ocasionado por los nemátodos *Nacobbus aberrans* y *M. incognita*. De igual manera, Tun *et al.* (1997) reportaron haber controlado nemátodos fitoparásitos en el pepino con la incorporación de residuos de plantas de cempazúchitl (*Tagetes erecta*).

Existen antecedentes de que algunas especies de leguminosas del género *Catalaria* ejercen un efecto negativo sobre las poblaciones de nemátodos (Huang *et al.*, 1981; Zen-ichi y Kazutoshi, 1986), ya que cuando se incorporaron residuos de chipilin (*C. longirostrata*) en suelo infestado con *M. incognita* y *M. arenaria* se redujo de manera significativa el agallamiento radical inducido por estos nemátodos en tomate. Además, se encontró que la incorporación de los residuos fue más efectiva que la asociación de chipilin, esto se atribuyó a la liberación de sustancias tóxicas, más que por su efecto de cultivo trampa, pues los exudados radicales del chipilin tuvieron un efecto nematostático sobre las larvas (J2) de *Meloidogyne* (Villar y Zavaleta-Mejía, 1990).

Manejo de los hongos del suelo con abonos verdes y extractos con efecto biofumigante

En esta línea de investigación destacan principalmente los trabajos que han venido realizando investigadores del CSIRO de Australia desde 1993 para el control de los hongos, los abonos verdes y los residuos agroindustriales y su relación con los hongos del suelo es muy abundante. Por ejemplo, Angus y Kirkegaard *et al.* (1994) demostraron que las sustancias volátiles de las *Brassicaceas* inhiben el crecimiento del hongo del trigo *Gaeumannomyces graminis*, demostrando que el efecto biofumigante se debe a los isotiocianatos.

Kirkegaard y Sarwar *et al.* (1998) investigaron el efecto de la biofumigación usando *Brassicaceas* sobre el crecimiento de 5 patógenos de los cereales: *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia solani*, *F. graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* y *Pythium irregulare*. De ellos, *Gaeumannomyces* es el más sensible a los tratamientos, seguido por *Rhizoctonia* y

Fusarium, siendo los menos sensibles *Bipolaris* y *Pythium*. Demostrando con estos resultados el efecto de la biofumigación en el control de los hongos de los cereales.

Bowers y Locke (1997) estudiaron el efecto de los extractos de trébol, el neem, el pimiento y la cassia sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, encontrando que una emulsión 10% reduce la densidad del hongo, para los extractos con neem e incluso al 5%. También presentaron una eficacia del 99.9 % para pimiento, 97.5% para el trébol y 96.1% para la cassia, a los tres días de su aplicación, aunque el hongo se recuperó rápidamente.

Hunter *et al.* (1997) utilizaron composta del champiñón en el control de *Cylindrocladium scoparium* en viveros forestales. Tjamos (1999) en Grecia, al estudiar la solarización como alternativa al BM, señalan que ésta puede mejorarse cuando se añade MO, al utilizar 1 kg·m⁻² de gallinaza encontraron que combinando la solarización y la biofumigación podía controlar *Sclerotinium cepivorum*.

Elena, *et al.* (1999) utilizaron como abono verde *Lolium perenne* y *Triticum vulgare* en el control de *F. proliferatum* y *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* en Grecia, considerando que el control de estos hongos se debía a los fenómenos de la anaerobiosis. Villeneuve y Lepaumier (1999) estudiaron el efecto de la incorporación de la MO en el control de *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*, *R. solani*, *S. sclerotium*, *Verticillium dahliae*, *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp., los cuales resultaron ser sensibles al tratamiento, que ellos denominan biodesinfectación, pero, si se considera que esta técnica permite disminuir el empleo de los fumigantes, se puede decir que es biofumigación. En este trabajo señalan que la fermentación de la MO provoca una modificación de la atmósfera del suelo incrementando el CO₂ y disminuyendo el O₂, dando lugar a la anaerobiosis, lo que conlleva a la reducción de patógenos en un 90 a 100% .

Blok *et al.* (1998) reportan que la biofumigación es más eficaz cuando se emplea *Brassicaceas* y gramíneas al mismo tiempo, así como los microorganismos exógenos al suelo. Cuando el suelo se cubre con plástico transparente ya que las *Brassicaceas* producen isotiocianatos volátiles los cuales son más eficaces que los metil-isotiocianatos que se producen en la degradación del metam sodio (Brown y Morra 1997). Otras plantas de interés

para la biofumigación son algunas especies de sorgo (*Sorghum bicolor* o *S. sudanense*), ya que contienen compuestos derivados del ácido cianhídrico; se ha determinado que los factores ambientales influyen sobre la calidad y la cantidad de los glucosinolatos y los compuestos cianhídricos.

Duniway *et al.* (1999) al trabajar con fresas en California encontraron que la MO con contenido alto de nitrógeno como los restos de sangre, las plumas y los desechos de pescado, a razón de 8, 4 y 8 toneladas respectivamente, reducen la incidencia de *V. dahliae* cuando se incorporan 7 semanas antes de plantar. Otara y Ndalut (1999) encontraron que un extracto de hojas de *Conyza floribunda* (Asteraceae) controla *in vitro* a *F. oxysporum*. Gamliel *et al.* (1999) reportaron que los propágulos de *F. oxysporum* f. sp. *basilici*, *S. ralfsii* y *Pythium ultimum* se reducen en más del 95% cuando se someten a la solarización y la adición de MO con contenido alto de nitrógeno, mejorándose el control de los patógenos cuando se combina el tratamiento del suelo con una rotación de trigo.

Efecto de la biofumigación en el banco de semillas del suelo y en las malezas

La aplicación de las técnicas de biofumigación para el control de las malezas no han tenido el mismo desarrollo que para los nemátodos, los hongos y los insectos. Sin embargo, son muchos los trabajos existentes sobre alelopatía y su interés en el control de la maleza, que hasta cierto punto tienen que ver con la biofumigación, pero, sobre todo, cuando se revisan los Weed Abstracts fundamentalmente en el apartado de técnicas culturales, se encuentran algunos trabajos sobre el uso de la MO y los abonos verdes, los cuales nos permiten afirmar que la biofumigación puede ser una alternativa eficaz para el control de las malezas.

Al-Khatib *et al.* (1997) encontraron un efecto supresor en el control de la maleza usando los abonos verdes de las *Brassicaceas* (*B. hirta*), así como de las gramíneas de centeno o trigo en cultivos de chícharo, donde las *Brassicaceas* incorporadas al suelo en dosis de 20 g por 400 g de suelo seco disminuyen la emergencia de *Capsella bursa-pastoris*, *Kochnia scoparia* y *Sestaria viridis* en un 97, 54 y 49% , respectivamente. Por su parte, Ciuberkis (1997) también encontró que los abonos verdes redujeron las poblaciones de la maleza en Lituania.

Edwards y Walker (1997) estudiaron el uso de los residuos orgánicos, incluidos los urbanos en el control de la maleza en algodón en E.U.A. Kim Kilung y Park Kwangho (1997) revisaron los componentes alelopáticos aislados de las plantas cultivadas que presentan un potencial alto para el control de la maleza, especialmente en el arroz, la remolacha, el maíz, el trigo, la avena, el chícharo, la cebada, el centeno y el pepino. Li Shanlin *et al.* (1997) estudiaron en China el efecto herbicida de los extractos de trigo, donde sugieren que este efecto se debe a varias sustancias entre ellas el etanol.

Anju Kamra y Gaur (1998) encontraron que la solarización aplicada en un período de tres a seis semanas combinada con estiércol reduce los problemas de los nemátodos, los hongos y las malezas a excepción del coquillo (*Cyperus rotundus*). Dhanapal *et al.* (1998) utilizaron extractos de neem, *Ricinus communis* y mostaza para el control de *Orobanche*. Eberlein *et al.* (1998) estudiaron el efecto supresor de la maleza en varios cultivares con el uso de *Brassica napus* como abono verde debido a los glucosinolatos existentes en sus raíces, los cuales actúan como biofumigantes, encontrando además que la eficacia depende del cultivar.

Preservación de las Bacterias Benéficas y el Control de las Bacterias Fitopatógenas

En este apartado se presentan algunos datos sobre la posible aplicación de la biofumigación para el control de las bacterias que se viene desarrollando en los últimos años. La aplicación de la MO produce un incremento de los nemátodos saprófagos, que reducen la incidencia de las bacterias patógenas en las hortalizas. Así mismo, Kirkegaard *et al.* (1996) estudiaron el efecto de la incorporación de las plantas de mostaza y los residuos de tabaco en la reducción de *Ralstonia solanacearum* en tomate. Por su parte, Michel y New (1996) encontraron que la MO y la urea ($200 \text{ kg}\cdot\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}$) y CaO ($5,000 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), reduce las poblaciones de *R. solanacearum* dependiendo del tipo de suelo, siendo efectivo en suelos calcáreos. Michel *et al.* (1997) reportaron que el abono verde de soya, frijol o residuos de cebolla con $200 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de nitrógeno ureico y $500 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de CaO redujeron las poblaciones de *R. solanacearum* en tomate; suponiendo que el efecto inhibitorio se produce durante la transformación de la urea en presencia de CaO.

Lazarovits *et al.* (1997) encontraron que los residuos orgánicos con alto contenido de nitrógeno reducen las poblaciones de *Verticillium dahliae*, la bacteria *Streptomyces scabies*, los nemátodos y las malezas en papa, sin embargo puede producir efectos fitotóxicos en el primer cultivo, aunque el estiércol de cerdo, vaca y algunos compostas sólo disminuyen la bacteria, lo cual indica que este efecto depende de la especificidad del suelo y de la dosis aplicada. Se han encontrado resultados similares en tomates y frutales, considerando que la MO es un buen candidato para reemplazar el BM, especialmente en suelos arenosos, su capacidad biocida persistiendo varios años y es más económico que el BM, al mismo tiempo que aumenta los microorganismos del suelo.

Microorganismos Antagonistas Usados en la Biofumigación

Existe un grupo importante de hongos y bacterias que presentan efectos antagonísticos con otros microorganismos esta acción puede ser aprovechada como una forma de control biológico. El uso de agentes de control biológico puede definirse como: “el uso de uno o más procesos biológicos para disminuir la biomasa del patógeno inoculado o reducir sus actividades patogénicas” (Nigam y Mukerji 1998). En esta definición se incluyen tanto las plantas superiores, las prácticas culturales, que crean un ambiente favorable para la estimulación de la microflora antagonista residente, las cepas no patogénicas u otros microorganismos benéficos, la protección cruzada, y los microorganismos antagonistas (control biológico clásico), entre otros.

Entre los microorganismos más importantes se encuentran las bacterias de los géneros, *Pseudomonas* y *Bacillus* y los hongos de los géneros *Fusarium*, *Gliocladium* y *Trichoderma*. Este último es el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo. El efecto principal de *Trichoderma* es por hiperparasitismo, aunque algunas especies y cepas pueden producir metabolitos bioactivos que incrementan su acción. (Fernández-Larrea, 2001). Mientras que Zavaleta-Mejía *et al.*, (2003) reportaron bacterias de los géneros *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Streptomyces* y especies de hongos de los géneros *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium* y *Trichoderma*. Los hongos del género *Trichoderma* han sido muy estudiados como antagonistas de patógenos de suelos como *R. solani*, *S. rolfsii* y *S. cepivorum*.

Las bacterias del grupo *Pseudomonas fluorescens* y las del género *Bacillus* son consideradas las más eficaces para controlar enfermedades foliares y de las raíces.

Dada la diversidad genética en el género *Bacillus*, tanto en el suelo como en la rizosfera, se considera a estos microorganismos como los colonizadores más eficaces. Las potencialidades del género *Bacillus* sobre *P. fluorescens* han sido señaladas por Kim *et al.* (1997), en el cultivo de trigo encontraron mayor emergencia y control de patógenos cuando utilizaron este género. Se determinó el efecto de *Bacillus sp.* sobre la germinación y el desarrollo de las semillas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporum* var. *cubensis* (Brada *et al.*, 1995); también se realizaron pruebas *in vitro* con *Pseudomonas sp.* y *B. subtilis* aislados de plátano y arroz respectivamente (Torres *et al.*, 2001). Estos microorganismos mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos fitopatógenos del suelo, tales como *Fusarium oxysporum*, *f. s. lycopersici*, *Phytophthora ultimatium*, *R. solana*, *S. rolfssi*, *Phytophthora nicotinae*, *F. moniliforme* y *F. solana*.

Castellanos *et al.*, (1995) evaluaron *B. subtilis* para el control de *Alternaria porri* en las plantas de cebolla, alternando aplicaciones del producto biológico con las de los fungicidas maneb y oxiclورو de cobre, determinándose que los tratamientos que consistían en la combinación de fungicidas sintéticos y biológicos mostraron mejor control que el resto de los tratamientos. Asimismo uno de los usos de *B. subtilis* como agente de control biológico mediante el tratamiento de las semillas o en forma individual, no se debe exclusivamente al antagonismo con los patógenos sino que influye positivamente en la germinación, el desarrollo y el rendimiento del cultivo debido a la producción de las sustancias promotoras de crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas.

El uso de los agentes de control biológico debe ser combinado con otras medidas. Mediante el uso de los microorganismos antagonistas se evitan efectos perjudiciales a los sistemas agroecológicos que los agroquímicos sintéticos han ocasionado. Los antagonistas requieren del conocimiento de los diferentes factores del suelo que influyen en su desarrollo y en la eficacia del control de la plaga. Entre ellos se pueden señalar la humedad, el pH, la temperatura y el potencial matricial (Vannaci y Gullino 2000).

El control biológico se realiza a través de dos estrategias:

- 1) Tomando ventaja de los antagonistas residentes o nativos, partiendo del hecho de que en la naturaleza existen infinidad de enemigos naturales de los patógenos; y
- 2) Mediante la introducción de antagonistas.

En la primer estrategia se trata de proporcionar condiciones adecuadas mediante la modificación del ambiente (por ejemplo en el caso de los fitopatógenos que se originan en el suelo, inundado o incorporando MO al suelo) para que los antagonistas nativos manifiesten el máximo de su potencial antagónico contra los fitopatógenos (Zavaleta-Mejía *et al.* 2003).

La introducción de los antagonistas es la estrategia que más atención a recibido; sin embargo, su introducción en estudios no tratados generalmente es difícil y la dificultad estriba, en que se está tratando de establecer, un microorganismo extraño en una comunidad biológicamente estable.

En contraste el establecimiento de los antagonistas introducidos en los suelos fumigados donde se ha eliminado la biota nativa, es mucho más fácil debido a que el organismo introducido está prácticamente invadiendo un vacío biológico, no obstante otras prácticas culturales menos radicales como la reducción de la cantidad de plaguicidas, la solarización, la adición de nutrimentos y mejoradores orgánicos, pueden ayudar en el establecimiento y la proliferación de microorganismos antagonistas. Los antagonistas también pueden ser inoculados en las semillas o cualquier otro material propagativo de la planta hospedante. La aplicación directa de esos microorganismos les proporciona ciertas ventajas competitivas sobre los patógenos. (Zavaleta-Mejía *et al.* 2003). En el mundo biológico existe una interacción continua entre los patógenos potenciales y sus antagonistas, de tal forma que estos últimos contribuyan a que, en la mayoría de los casos no se desarrolle la enfermedad bajo condiciones naturales de los microorganismos que están en un equilibrio dinámico en la superficie de las plantas.

Algunos de los factores de gran importancia para el biocontrol con antagonista son: las pruebas de eficacia, las pruebas de seguridad para el usuario, el ambiente y la biota no patógena, el análisis de la recuperación de la invasión, las pruebas de campo, y como parte fundamental también es de gran importancia conocer los mecanismos de acción de los agentes de biocontrol. (Zavaleta-Mejía *et al.* 2003).

Mecanismos de acción de los antagonistas

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de los patógenos. Algunos de estos son la antibiosis, competencia por el espacio o por los nutrientes, las interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) y la inducción de resistencia. No es fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos en la planta. En general, los antagonistas no tienen un modo único de acción y la multiplicidad de éstos es una característica importante para su selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno. Este riesgo de resistencia también se reduce mediante el uso de combinaciones de antagonistas con diferente modo de acción.

La competencia constituye un mecanismo de acción antagónico muy importante. Puede definirse como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es la escasez o limitación de un elemento porque si hay exceso no hay competencia. (Fernández-Larrea 2001).

Competencia por los nutrientes

La competencia más común es por los nutrientes, el oxígeno o el espacio. *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* son dos hongos de poscosecha típicamente dependientes de los nutrientes, como los hongos necrotrofos sus esporas requieren de estas sustancias para germinar y comenzar el crecimiento de las hifas antes de penetrar al sustrato. Esos nutrientes

se encuentran en las heridas de las frutas y es allí donde la competencia microbiana actúa inhibiendo el desarrollo de estos patógenos.

Competencia por el espacio

Este tipo de competencia también ha sido evaluado. Las levaduras son eficaces colonizadoras de la superficie de las plantas donde producen materiales extracelulares (especialmente polisacáridos) que restringen el espacio para la colonización por otros microorganismos.

Interacción directa con el patógeno

Un tipo de interacción directa entre los antagonistas y los patógenos es el parasitismo (Lecuona 1996).

El parasitismo es la acción de un microorganismo parasitando a otro y puede ser definido como una simbiosis antagónica entre organismos, lo cual consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente, están implicadas las enzimas extracelulares tales como la quitinasa, la celulasa, 1,3- β -glucanasa y la proteasa, que rompen las estructuras de los hongos parasitados. Los ejemplos más conocidos de hongos hiperparásitos son *Trichoderma* y *Gliocadium*. Ambos ejercen su acción mediante varios mecanismos, entre los cuales tiene un rol importante el parasitismo.

En México son pocas las investigaciones que se han realizado sobre los fitopatógenos mediante el uso de los microorganismos antagonistas. Con la aplicación de *Verticillium lecani* (1×10^{10} conidios mL^{-1}), se obtuvo una reducción de hasta un 56 % la severidad de la roya blanca (*Puccinia horiana*) en el cultivar "spider" de crisantemo, en Villa Guerrero, México (Rodríguez-Navarro, *et al.*, 1996). Asimismo Torres-Barragán *et al.*, (1996) al micorrizar plántulas de cebolla con *Glomus sp* Zac 19, lograron retardar el inicio de la pudrición blanca inducida por (*Sclerotium cepivorum*) y obtuvieron una reducción significativa de de la enfermedad durante las primeras 11 semanas después del tranplante; asimismo, la micorrización de la cebolla estuvo asociada con un incremento de 22% en la producción de bulbos.

Hernández *et al.* (2006). Evaluaron la actividad antagonista de las especies *T. viride*, *T. atroviride*, *T. aureoviride* y *T. harzianum* (cepas A-34 y A-53) del género *Trichoderma* sobre *Phytophthora nicotianae*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium subglutinans*, fitopatógenos de vitroplantas de la piña en la fase de aclimatación. También determinaron el porcentaje de inhibición mediante la medición del diámetro de las colonias. Sus valores se analizaron mediante el análisis de varianza. Los porcentajes de inhibición resultantes fueron del 50% para *P. nicotianae*, por efecto de *T. viride* con diferencias significativas de las demás especies antagonistas, excepto al compararlas con *T. atroviride* y *T. aureoviride*, que causaron una inhibición del 41% sin diferencias entre ellas. *R. solani*, con 53 y 58% ante *T. harzianum* (A-34) y (A-53) respectivamente, que se señalaron como las más eficientes sobre este fitopatógeno y *F. subglutinans* con un porcentaje de inhibición del 48% ante *T. atroviride* y *T. harzianum* (A-53), sin diferencias significativas entre ellas pero con diferencias ante los restantes fitopatógenos.

García *et al.* (2006) desarrollaron un fungicida biológico a base del hongo *Trichoderma harzianum* para el control de varias enfermedades fúngicas del suelo que afectan cultivos agrícolas en Mérida, Venezuela. La formulación se obtuvo a partir de una cepa aislada de un suelo proveniente del municipio de Rivas Dávila de este estado, ubicado a 2 200 msnm con temperatura promedio de 18°C. La cepa mostró en laboratorio y campo alta capacidad antagonista contra los hongos *R. solani*, *S. cepivorum*, *S. rolfsii*, *Fusarium sp.*, *Plasmodiophora brassicae* y *Phytophthora sp.*, y logró reducciones de la incidencia de las enfermedades superiores al 25%, dependiendo de ellas y de las condiciones ambientales. Experiencias en ensayos de validación con el uso de este antagonista para el manejo de *Rhizoctonia solani* mostraron un control de la enfermedad que pueden llegar hasta el 98%.

El producto se obtuvo mediante la fermentación sólida en forma artesanal y formulado en polvo humectable, a una concentración de 2×10^{12} ufc con un peso total de 150 g, para una proporción del 25% de este ingrediente activo y 75% del material inerte, suficiente para aplicarse sobre una hectárea de cultivo, con una pureza del 100% y una viabilidad de esporas del 95%. Esta cepa se ha probado con éxito en cultivos de papa y otras solanáceas, el ajo, las

crucíferas, las leguminosas, el plátano, el café y el tabaco, entre otros, además en siembras ubicadas a diferentes altitudes que oscilan de 5 000 a 3 000 msnm, dependiendo de su capacidad y manteniéndose la capacidad antagónica.

Plantas Antagónicas Usadas para Biofumigar

En la naturaleza existe una gama muy amplia de plantas que producen una diversidad de metabolitos secundarios tóxicos, tal característica les permite a estas plantas actuar como antagonistas de patógenos bióticos y plagas. Su potencial antagonista lo podemos explotar asociándolas o rotándolas con los cultivos o incorporando sus residuos al suelo. Otra forma de aprovechar dicho antagonismo es mediante la preparación de polvos, extractos o infusiones a partir de sus tejidos (Montes *et al.*, 1997). *Tagetes erecta* (“cempazuchitl” o “flor de muerto”), es una de las plantas que ha sido ampliamente reconocida como la poseedora de propiedades fungicidas, nematocidas e insecticidas; sus propiedades antagonistas se deben a la presencia de compuestos terpenos en sus tejidos. (Zavaleta-Mejía *et al.*, 2003).

Por otro lado, aplicando la asociación de cempazúchitl-jitomate ha habido una reducción significativa en el daño por el hongo *Alternaria solani* en el follaje y el fruto del jitomate (Zavaleta-Mejía y Gómez, 1995) (Cuadro 4). Cuando se trato de entender cómo podría explicarse la protección obtenida contra el tizón foliar, se encontró que la asociación de los cultivos (jitomate asociado con cempazuchitl o *Amarantus hypochondriacus*) redujo la humedad relativa (HR) en el dosel del jitomate (Cuadro 5). En el jitomate sin asociar se registraron los valores más altos en el número de conidios de *A. solani* atrapados, el daño foliar, la temperatura foliar, la Hr en un 92%.

La Hr alta pudo haber favorecido a una mayor germinación y a una esporulación más temprana del hongo, y consecuentemente a una mayor colonización y daño foliar en comparación con el jitomate asociado. Ambos cultivos asociados con el jitomate funcionaron como barrera física en la diseminación de los conidios del hongo; sin embargo la asociación con el cempazuchitl proporcionó una protección mayor, que se atribuye a su efecto antagónico (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2003). Los folíolos de las planta de jitomate no asociadas presentaron un incremento significativo en el grosor de: la cutícula y la pared de la epidermis

superior e inferior, la epidermis superior e inferior, el parénquima en empalizada y el parénquima esponjoso; asimismo presentaron un mayor número de células en el parénquima esponjoso; (Cuadro 6 y 7). Al comparar el proceso infectivo de *A. solani* (Cuadro 8); la infección por el hongo fue similar en los folíolos de las plantas de jitomate asociadas y sin asociar (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2001).

Tales resultados contrastaron con lo observado en el campo, sugiriendo que la menor severidad del tizón observada en el campo en las plantas de jitomate asociado, no se explica por las modificaciones anatómicas foliares que presentan las hojas de jitomate debidas al efecto del sombreado. El uso de las plantas antagónicas tiene gran potencial como estrategia ecológica para el manejo de las enfermedades, sin embargo, para manipular las plantas antagónicas de manera racional y eficaz, es de importancia fundamental determinar que los factores y/o las condiciones favorecen la expresión máxima del antagonismo, así como los mecanismos responsables del control.

Cuadro 4. Daño foliar por *Alternaria solani* en plantas de jitomate asociado con cempazúchitl (C-J) o con alegrías (A-J) y jitomate sin asociar (J), a las 10 y 12 semanas después del transplante (STD) del jitomate.

Tratamiento	Daño Foliar (%) ^a	
	10 SDT ^b	12 SDT ^c
C-J	19.5 b	20.0 a
A-J	27.9 a	20.0 a
J	33.1 a	27.1 a
C.V. (%)	21.8	22.7

^aPorcentaje de daño foliar en los tres folíolos terminales, promedio de 62 folíolos de 12 plantas/tratamiento. ^bEvaluación en la 5^a y 7^a hoja, ^cEvaluación en la 3^a y 5^a hoja. En cada columna cifras con la misma letra no son significativamente distintas (*t*-Student, P=0.05). C.V.= Coeficiente de variación. (Fuente: Gómez-Rodríguez *et al.*, 2003).

Cuadro 5. Humedad relativa (HR) mínima, número de horas diarias (NHD) con una HR mayor o igual al 92% en el dosel de las plantas de jitomate asociadas con cempazúchitl (C-J) o con alegría (A-J), y sin asociar (J).

Tratamiento	Humedad Relativa (%)					
	Mínima		Máxima		Nhd Con Hr \geq 92%	
	1997	1999	1997	1999	1997	1999
C-J	24.71 a	32.46 b	89.09 c	86.40 b	2.9 b	6.2 b
A-J	26.56 a	40.11 a	94.95 b	86.96 b	6.8 a	6.9 b
J	26.62 a	39.42 a	97.65 a	91.71 a	7.9 a	8.9 a
C.V. (%)	11.3	11.0	2.7	1.9	34.0	13.9

En cada columna cifras con la misma letra no son significativamente distintas (t-Student, P=0.05).C.V.= Coeficiente de variación. (Fuente: Gómez-Rodríguez *et al.*, 2003).

Cuadro 6. Grosor foliar y presencia de almidón en folíolos de plantas de jitomate asociados con cempazúchitl (C-J) o Alegría (A-J) y sin asociar (J).

Tratamiento	Grosor (μ m) ^a		% C- ^{Almidón}
	1997 ^c	1999 ^d	1999
		12 SDT	10 STD
C-J	226.7 c	202.5 b	22.7 b
A-J	277.6 b	210.2 b	50.4 a
J	424.4 a	313.2 a	85.7 a
C.V. (%)	21.2	22.4	49.2

^aLecturas en ambos lados de la nervadura central del foliolo Terminal de la cuarta hoja a partir del ápice. ^bPorcentaje de cortes con presencia de almidón (yoduro de potasio y ácido periódico-reactivo de Schiff), promedio de 600 cortes de 12 plantas/tratamiento. ^cPromedio de cuatro plantas/tratamiento y ^dpromedio de 10 plantas/tratamiento, en un total de 105 cortes /tratamiento. En cada columna cifras con la misma letra no son significativamente distintas (t-Student, P=0.05).C.V.= Coeficiente de variación. (Fuente:Gómez, 2001).

Cuadro 7. Grosor de diferentes estratos de hoja de jitomate asociados con cempazúchitl (C-J) o alegría (A-J) y sin asociar (J), 10 semanas después del transplante del jitomate.

Tratamiento	Grosor (μm) ^z						Lámina foliar	C-PS
	C-E		Epidermis		mésófilo			
	SUP	INF	SUP	INF	PE	PS		
C-J	2.5 b	2.3 b	24.2 c	17.3 b	41.6 c	109.2 b	202.5 b	5 b
A-J	2.6 b	2.3 b	25.3 b	17.5 b	51.9 b	106.6 b	210.2 b	5 b
J	4.1 a	2.5 a	30.5 a	21.0 a	83.0 a	162.a	313.3 a	6 a
C.V. (%)	22.8	18.6	14.2	17.4	37.7	30.6	22.4	10.1

C-E=cutícula y pared de la epidemis; C-PS = número promedio de las células en el parénquima esponjoso; INF = superficie abaxial o inferior de la hoja; PE = parénquima empalizada; PS = parénquima esponjosa; SUP = superficie adaxial o superior de la hoja. ^zCada cifra representa el promedio de las lecturas en ambos lados de la nervadura central del foliolo Terminal de la 4ª hoja a partir del ápice de la planta (105 cortes de 10 plantas/tratamiento). En cada columna cifras con la misma letra no son significativamente distintas (*t*-Student, $P=0.05$). C.V.= Coeficiente de variación. (Fuente: Gómez-Rodríguez *et al.*, 2001).

Cuadro 8. Porcentaje de cortes foliares con hifas de *A. solani* y con daño celular a las 12, 24 y 48 h después de la inoculación en foliolos de jitomate.

Tratamiento	% de Cortes con					
	<i>A. solani</i>			Daño Celular		
	12 h	24 h	48 h	12 h	24 h	48 h
C-J	3.3	31.6	33.3	75	85	86
A-J	3.3	33.3	46.0	84	85	92
J	3.3	23.3	31.6	68	83	85
C.V. (%)	54.7	21.4	69.5	32.0	20.3	24.8

Cada cifra representa el promedio de 600 cortes/tratamiento. Sin diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba (*t*-Student, $P \leq 0.05$). C.V.= Coeficiente de variación. (Fuente: Gómez-Rodríguez *et al.*, 2001).

Munakata (1983) comprobó que la mayor parte de estas sustancias naturales nematocidas, que pueden tener una actividad sistémica al ser transportadas por la savia, son degradables y no contaminantes. Además pueden utilizarse como base para la síntesis de nuevos nematocidas. Algunos trabajos realizados en Brasil, pero especialmente los desarrollados en la India son un buen ejemplo de lo anterior, especialmente cuando se trata de ejemplificar algunos resultados obtenidos con productos del árbol de neem (*Azadirachta indica*). Estuvieron ensayando *in vitro* extractos acuosos, alcohólicos y grasos de diferentes tejidos de estas especies nematocidas sobre los huevecillos y las larvas de diferentes nemátodos, principalmente de *Meloidogyne* sp. Algunas moléculas como la azadiractina o los alcaloides y terpenoides extraídos del neem, tienen estructuras moleculares tan complejas que no pueden sintetizarse fácilmente.

Diferentes investigadores han probado en el campo, determinados extractos acuosos o alcohólicos de raíces, tallos, hojas y flores, o moléculas purificadas, para determinar las dosis mínimas activas y no fitotóxicas (Sukul *et al.*, 2001). Este es el caso, por ejemplo, de los extractos de neem utilizados en el peletizado de semillas (Gokte y Swarup, 1988; Siddiqui y Alam, 1988), así como del espárrago cuyos extractos a su vez se utilizan en el riego o pulverizados sobre el follaje (Takasugi *et al.*, 1977). Lo mismo ocurre con las moléculas purificadas: la azadiractina y la neembina extraídas del neem, son eficaces frente a *Meloidogyne*, *Rotylenchulus* y *Tylenchorynchus* y no son fitotóxicas para los cultivos del tomate, la berenjena, las coles o la coliflor a dosis de 1.0 g·L⁻¹ (Siddiqui y Alam, 1989). La serpentina extraída de *Catharethus roseus* es eficaz a 0.5% contra *Meloidogyne* en el cultivo de tomate (Chandravadana *et al.*, 1993).

Walia *et al.* (1994) según lo citado por Bello *et al.* (2003) estudiaron el efecto de los residuos del neem (*Azadirachta indica*) y del bambú en el control de *M. incognita* que reduce sus poblaciones, y el neem además de disminuir los hongos de *Rhizoctonia bataticola* y *R. solani*. Oliveira *et al.* (1996) encontraron que fracciones proteicas obtenidas de *Cannavalia ensiformis* inhiben el crecimiento de los hongos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Sclerotium rolfsii*. En Bélgica, Vulsteke *et al.* (1996) señalaron el efecto

benéfico del abono verde en el control de *Pythium violae* en zanahoria, considerándolo además responsable de la mancha interna de la remolacha. Candole y Rothrock (1997) encontraron que el abono verde de *Vicia villosa* en un cultivo de algodón reduce a *Thielaviopsis basicola* encontrando que aplicando *in vitro* y en campo, la supresión se debe al amonio a un producto volátil, , que se produce a los 3-7 días después de la incorporación, siendo más sensible al amonio de *T. basicola* que de *Rizoctonia solani* o *Pythium ultimum*.

López-Perez *et al.* (2003) estudiaron la influencia de la incorporación al suelo de restos de composta de champiñón y de la desinfestación del suelo con metam sodio o BM sobre las poblaciones de nemátodos en una rotación de pepino-acelga bajo invernadero. El tratamiento con composta mostró una eficacia en el control de los nemátodos fitoparásitos similar a la del metam sodio y BM. La composta de champiñón incrementó los nemátodos omnívoros y depredadores, los cuales prácticamente desaparecieron en el tratamiento con el bromuro de metilo. La producción de pepino resultó ser similar en el tratamiento con la composta y el bromuro de metilo aunque el costo del tratamiento con la composta fue inferior a la del BM.

ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

La literatura más reciente sobre este tópico, como parte de la agricultura sustentable, ha venido utilizando la solarización como el concepto base aunado a la incorporación de los residuos de la MO de diversas especies de plantas entre las que destacan: *Brassica nigra* (mostaza), *Sinapsis alba* (mostaza blanca), *B. juncea* (mostaza china), *B. oleracea* (repollo), *B. napus* (nabo), *B. oleracea* var. *itálica* (brócoli), *B. oleracea* var. *cauliflora* (coliflor), *Raphanus sativus* (rábano); *Eruca sativa* (roqueta), pero también se han obtenido buenos resultados con *Ipomoea batatas* (camote) y *Sorghum* spp. (sorgo), pertenecientes a la familia de las *Brassicaceas* productoras de isotiocianatos. Por otro lado, diversos investigadores han venido utilizando la incorporación de microorganismos benéficos antagonistas como las bacterias *Bacillus* spp, *Gliocladium*, *Trichoderma*, etc., mientras que, algunos otros autores reportan el uso del estiércol de ganado bovino, caprino y de aves. También se encuentran en la literatura reportes sobre la disminución del uso de fumigantes sintéticos como el metam sodio, la cloropicrina, el telone al incorporar las plantas antagonicas como *Tagetes erecta* y extractos de las plantas con propiedades biocidas como la *Larrea tridentata* que han sido incorporadas al suelo para realizar la biofumigación.

El concepto de la biofumigación del suelo con residuos de cosecha o materia verde de *Brassicaceas* incorporadas al suelo se ha venido desarrollando en los últimos años, como una alternativa de bajo impacto ambiental que ofrece un buen control en el manejo de los microorganismos fitopatógenos. Los glucosinolatos (GSL) que se encuentran en el tejido de las especies hortícolas como brócoli, coliflor, repollo y mostazas, tienen una limitada actividad biológica, pero en presencia de la enzima mirosinasa se degradan en isotiocianatos (ITC) y otros productos bioactivos. Un análisis cronológico sobre este tema nos indica que los ITC tienen propiedades insecticidas (Lichtenstein, 1964), fungicidas (Papavizas y Lewis, 1971) y nematocidas (Mojtahedi *et al.*, 1991). El ITC de metilo, es el componente principal de los pesticidas sintéticos como el metam sodio o el metam potasio, que es uno de los productos de la hidrólisis de los GSL de la mostaza, el cual se considera a menudo como una toxina primaria responsable de la supresión de las plagas. Sin embargo, existe evidencia que otras moléculas bioactivas que contienen azufre, formadas después de la degradación de los GSL,

causados por los subproductos del cultivo de la mostaza que pueden también ser responsables de los efectos de supresión de enfermedades (Bending, 1999). Además, algunos ITC derivados de la mostaza resultan ser aun más tóxicos que el ITC de metilo (Demarchelier y Vu, 1998; Matthiessen y Warton, 2002).

Opciones no químicas como la rotación de los cultivos y la biofumigación es considerada una parte importante del manejo integrado de las plagas (Ajwa *et al.*, 2003). La biofumigación mediante la utilización de tejido de plantas de la familia *Brassicaceae* se ha investigado como una alternativa natural a los fumigantes sintéticos y pesticidas, reduciendo la incorporación de estos en los suelos, así como los subsecuentes riesgos de contaminación de los acuíferos y la atmósfera. Informes consignados en la literatura muestran los efectos beneficiosos potenciales de especies de mostaza utilizados para biofumigar al suelo. Sin embargo, permanecen inciertas las cantidades requeridas de concentraciones de los aleloquímicos derivados de las *Brassicaceas* para controlar las malezas y los patógenos del suelo y a que nivel estos fitoquímicos pueden ser tóxicos para las cultivos que posteriormente se van a sembrar en el campo.

De acuerdo con reportes reciente sobre la biofumigación en California, Daugovish (2007) señala que la mostaza amarilla y oriental (*Sinapis alba* y *Brassica juncea*, respectivamente) son especies de la familia *Brassicaceae* que ya se volvieron populares como cultivos de cobertera que permiten incorporar nitrógeno al suelo (y por lo tanto, reducen la lixiviación) entre ciclos de hortalizas que fueron abonadas con grandes dosis de fertilizantes. Las raíces de esas especies de mostaza, permiten mejorar la estructura de los suelos, reducen la compactación, y proporcionan un control de la erosión. Adicionalmente, las mostazas compiten muy bien contra diversas malezas y pueden evitar la producción de semillas de las hierbas nocivas y la reinfestación de los suelos.

Las especies de mostaza amarilla también pueden soportar una alta diversidad de los insectos enemigos naturales (trips predadores, chinche pirata *Orius* spp., escarabajos y diversos parasitoides); mientras que la mostaza oriental no es un buen hospedero de enemigos naturales (Daugovish y Oevering, 2003). Los cultivos de cobertera pueden servir como depósitos de los enemigos naturales de donde pueden emigrar hacia otros cultivos en campos cercanos o

después de que haya terminado la cosecha de cobertera, lo cual puede permitir un buen manejo de los insectos plaga.

El uso de las plantas antagonicas también es de gran utilidad, así *Taraxacum officinale* (diente de león) y *Tagetes erecta* (flor de muerto) exhalan gas etileno inhibiendo el crecimiento de las plantas vecinas, por lo que pueden utilizarse para evitar las malezas en el huerto, en tanto que *Calendula officinalis* sirve para controlar los nemátodos del suelo (Chemonics, 2003). Gapasin *et al.* (2006) en su investigación sobre las plantas antagonicas sobre el manejo de los nemátodos en la raíz del cultivo de arroz señalan que las plantas de diversas especies de *Tagetes*, incluida *T. erecta*, se comportan como plantas antagonicas o como plantas repelentes, por ello, han sido utilizadas para controlar *Meloidogyne spp.* y sobre todo para *Pratylenchus penetrans*.

Murga-Gutiérrez (2007) en Perú determinó los géneros de los nemátodos fitoparásitos asociados al cultivo de *Tagetes erecta*, los resultados indican que podría ser utilizado como un cultivo de rotación en campos infestados con *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, teniendo un efecto benéfico sobre las cosechas, siempre y cuando los agricultores le proporcionen un manejo adecuado al cultivo de esta especie vegetal, ya que los nemátodos parecen ser incapaces de completar su ciclo de vida y su capacidad para producir huevecillos es nula o escasa.

Por otro lado, los residuos de materia orgánica vegetal de diversas plantas también se ha utilizado con éxito para evitar enfermedades causadas por *Pythium spp.*, en cultivos de pepino y algodón (Dissanayake y Hoy, 1999). Abbasi y sus colaboradores (2002) demostraron que los agentes de control biológico aumentaron en la rizósfera de las plantas de tomate y se redujo la severidad de las enfermedades causadas por los patógenos del suelo, al utilizar la materia orgánica compuesta de desperdicios orgánicos, desperdicios municipales y estiércol de aves. También se mejoró el drenaje y la retención de agua de los suelos enmendados y se liberaron más nutrientes para la planta. Los efectos beneficiosos de estas enmiendas orgánicas dependen de una adecuada aplicación sino, pueden ser fitotóxicas y reducen la producción.

Los altos niveles de la actividad microbiana son el principal factor en el control de las enfermedades (Boulter *et al.*, 2002). La explotación de las actividades antagonistas de los microorganismos que descomponen la materia orgánica, puede ser una de las mejores herramientas en las prácticas de biocontrol, para el manejo de los nemátodos parásitos de plantas (Chavarría Carvajal, 2001). Boulter *et al.*, (2002), realizaron estudios utilizando diferentes tipos de composta para controlar *Sclerotinia homoecarpa* en grama. Los autores encontraron que al incorporar la composta al suelo se redujo la severidad y la incidencia de la enfermedad. Además, observaron un aumento de las poblaciones microbianas que son beneficiosas al ejercer los mecanismos de competencia y antagonismo con las poblaciones de patógenos.

La biofumigación utilizando microorganismos antagonistas de fitopatógenos representa una buena opción para realizar un manejo ecológico en cultivos agrícolas. El hongo *Penicillium* spp. durante el proceso de descomposición de la materia orgánica produce penicilina, la cual es una sustancia antibiótica. Algunas especies de *Penicillium* son versátiles debido a la producción de una variedad de enzimas extracelulares. Las quitinasas son enzimas con actividad hidrolítica específica directa contra el homopolímero de quitina y podría tener un rol en la virulencia de algunos patógenos que infectan insectos vía membrana peritrófica (Liu *et al.*, 2002). Giambattista y colaboradores (2001), caracterizaron la actividad quitinolítica de *P. janthinellum* y concluyeron que el uso de las enzimas quitinolíticas es una estrategia posible contra los patógenos de alimentos lo que permitiría reducir el uso de los fungicidas.

Varias especies de *Bacillus* como *B. megaterium*, *B. subtilis* y *B. cereus* han demostrado efecto inhibitor al ser supresores de los hongos patógenos o las poblaciones bacterianas del suelo. *Bacillus thuringiensis* tiene efecto antibiótico en los organismos procarióticos como *Micrococcus luteus*, *M. aurantiacus*, *Erwinia caratovora* y *Streptomyces chysommallus* (Ferreira *et al.*, 2003). *Trichoderma* spp. es un hongo que posee acción enzimática a través de las quitinasas, las cuales degradan la quitina, componente presente en los huevecillos de los nemátodos (Sharon *et al.*, 2001). *Trichoderma* spp., parasita el micelio

de los hongos patógenos como *Rhizoctonia* spp. y *Sclerotium* spp., inhibe el crecimiento de *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp. y *Herobasidium* spp., reduciendo las enfermedades causadas por esos patógenos (Han, 2000). Además, *Trichoderma harzianum*, es un agente biocontrolador de *Meloidogyne javanica* a través de la actividad proteolítica (Sharon, *et al.*, 2001). En un estudio realizado por Stevens y colaboradores (2003), se observó que al incorporar *Trichoderma virens* al suelo luego de remover el plástico hubo una reducción en la incidencia de *Sclerotium rolfsii* en tomate. También, se combinó en el estudio la materia orgánica (gallinaza) y la solarización, encontrándose una disminución de 60 % a 100 % de esclerocios viables, lo cual puede estar relacionado con un aumento en la flora microbiana antagonista.

Con base en todo lo antes señalado queda claro que el estado actual del conocimiento sobre la biofumigación del suelo utilizando acolchado plástico transparente o de otro color para solarizar resulta ser una estrategia adecuada para prevenir y controlar malezas, hongos, nemátodos, insectos y bacterias del suelo que reducen el crecimiento de las plantas, así como el rendimiento y la calidad de las cosechas. Para aplicar en el campo esta técnica moderna de manejo integrado de plagas del suelo se utilizan residuos de cosecha con metabolitos secundarios bioactivos, estiércoles de bovinos, caprinos y aves; así como microorganismos antagonistas de fitopatógenos que también resultan ser promotores del crecimiento.

ÁREAS DE OPORTUNIDAD

El descubrimiento de los métodos de control contra los organismos dañinos en los cultivos dio como resultado la llamada “Revolución Verde”, que presentó mayores índices de producción y evitó las hambrunas por el crecimiento desmedido de la población. Esta etapa tecnológica desencadenó un uso indiscriminado, y mal manejo de los agroquímicos como los insecticidas, los fertilizantes, los reguladores de crecimiento que están afectando el equilibrio ecológico y la salud de los productores y los consumidores. Esta situación se está manifestando como un rechazo hacia la agricultura extensiva que está afectando al medio ambiente y la población.

Debido a los problemas antes señalados sobre la contaminación han surgido los conceptos de agricultura sustentable, agricultura ecológica, orgánica y natural, etc. Este tipo de sistemas de producción agrícola amigables con el medio ambiente tienen el propósito de apoyar y reforzar los procesos biológicos, sin sustituirlos, utilizando medios técnicos para adoptar un enfoque preventivo de la lucha contra las malezas, las plagas y las enfermedades. Por consiguiente, en este tipo de agricultura, no se permite el uso de agroquímicos sintéticos, o son minimizados al máximo.

En México las áreas de oportunidad para la utilización de la biofumigación están representadas por las zonas productoras de hortalizas que utilizan una gran cantidad de fumigantes sintéticos para prevenir y controlar las malezas, los hongos y las bacterias fitopatógenas, con el consecuente daño que estos agroquímicos ocasionan a la población y a los ecosistemas.

La superficie nacional dedicada a los cultivos agrícolas asciende en total a 20,031 millones de hectáreas). El 67% de esa superficie se dedica a los granos, mientras que los cultivos hortícolas se siembran solamente en una superficie que oscila del 9%; correspondiendo el 3% para hortalizas y el 6% para los frutales (Figura 2).

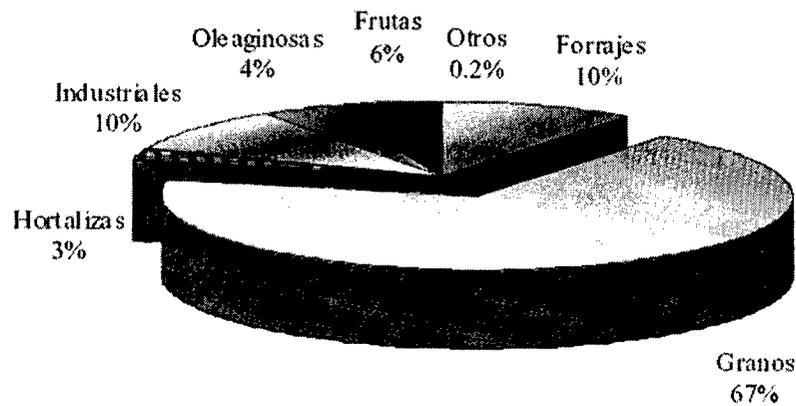


Figura 2. Principales productos cultivados en México de 1989 a 1996 en base a una superficie sembrada de 20,031 millones de hectáreas (SAGARPA, 1998).

De las 49 especies hortícolas que se producen a nivel comercial en México, el 57% se concentra en los estados de Sinaloa, Guanajuato, Sonora, Querétaro, Estado de México, Baja California, Jalisco y Morelos (Figura 3).

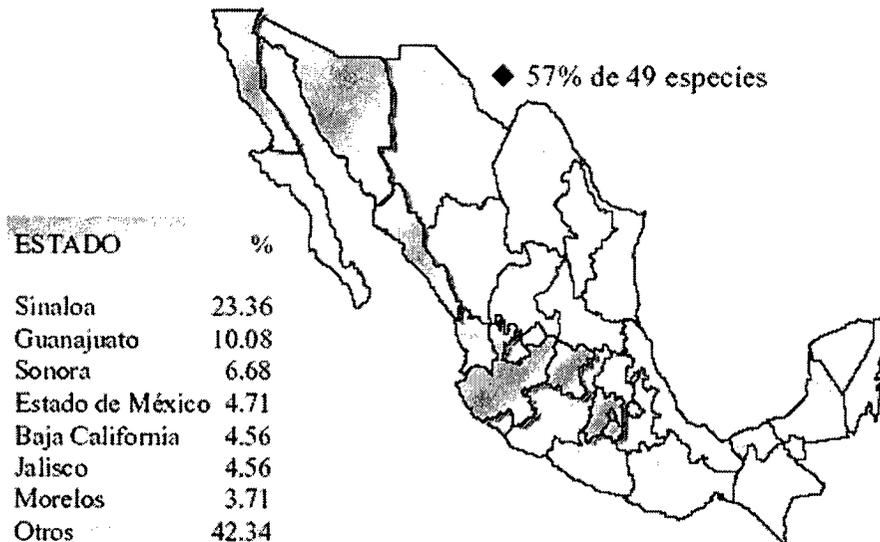


Figura 3. Participación por Estados de la producción de hortalizas en el año de 1998 (SAGARPA, 1998).

En México, se siembran alrededor de 512,000 hectáreas de hortalizas, lo que equivale a un 3.5% de la superficie agrícola nacional y se obtiene una producción de 8 millones de toneladas, o sea el 9.4% de la producción del sector. Debido a la diversidad de los microclimas y los tipos de suelo que se tienen en nuestro país existen condiciones favorables para producir hortalizas, es posible obtener estos productos durante todo el año; particularmente cultivos como papa, tomate, cebolla y chile, productos de mayor consumo a nivel nacional al igual que en otros países. Las principales hortalizas que se cultivan en nuestro país son las mismas que tienen importancia en el ámbito mundial.

Entre los doce principales productos hortícolas que se cultivan en México, se cosechan del tomate 1.41 millones de toneladas, de papa 1.21 millones de toneladas, de chile 0.87 millones de toneladas, de cebolla 0.67 millones de toneladas y de melón 0.49 millones de toneladas. Estos productos por sí solos representan más del 60% de la producción total hortícola. Analizando las tendencias entre el período de 1989 a 1995 de la superficie cultivada de hortalizas en el país, es posible observar que los tres primeros lugares corresponden al cultivo del tomate que representa el 13% de la superficie nacional dedicada al cultivo de hortalizas, le siguen los chiles verdes y la papa con el 15% y el 11%, respectivamente (Figura 4).

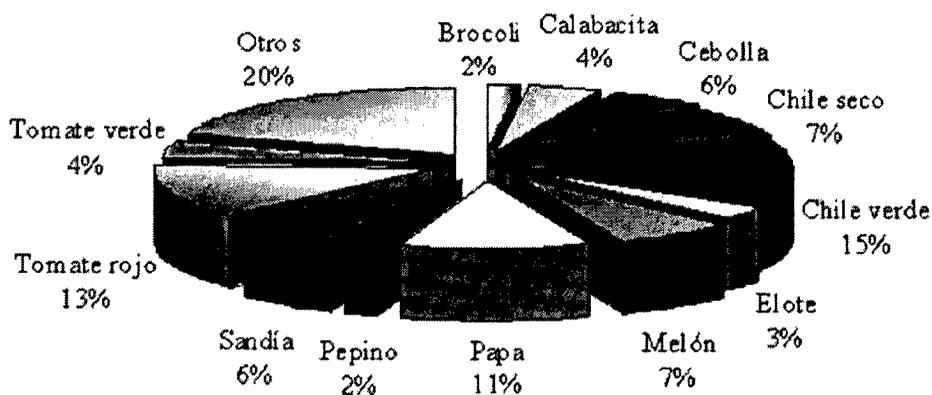


Figura 4. Promedio anual de la superficie nacional destinada a la producción de hortalizas en base a una superficie total de 500,000 ha (SAGARPA, 1998-1995).

Países proveedores de frutas y hortalizas para EUA en el 2006

México se ha convertido en un país dinámico exportador de frutas y hortalizas dirigidas hacia Estados Unidos de América (E.U.A.). Las hortalizas mexicanas y las frutas tienen una gran aceptación en ese país. Por muchos años México ha sido el mayor proveedor de hortalizas para E.U.A; lo que representó en el 2006 el 65% de las hortalizas importadas por E.U.A., además este porcentaje ha sido constante en los últimos tres años. De acuerdo a los estudios conducidos por el Departamento de Agricultura de los E.U.A. el abastecimiento de un gran número de hortalizas provenientes de México se ha duplicado más que en los últimos 15 años (Figura 5a y b).

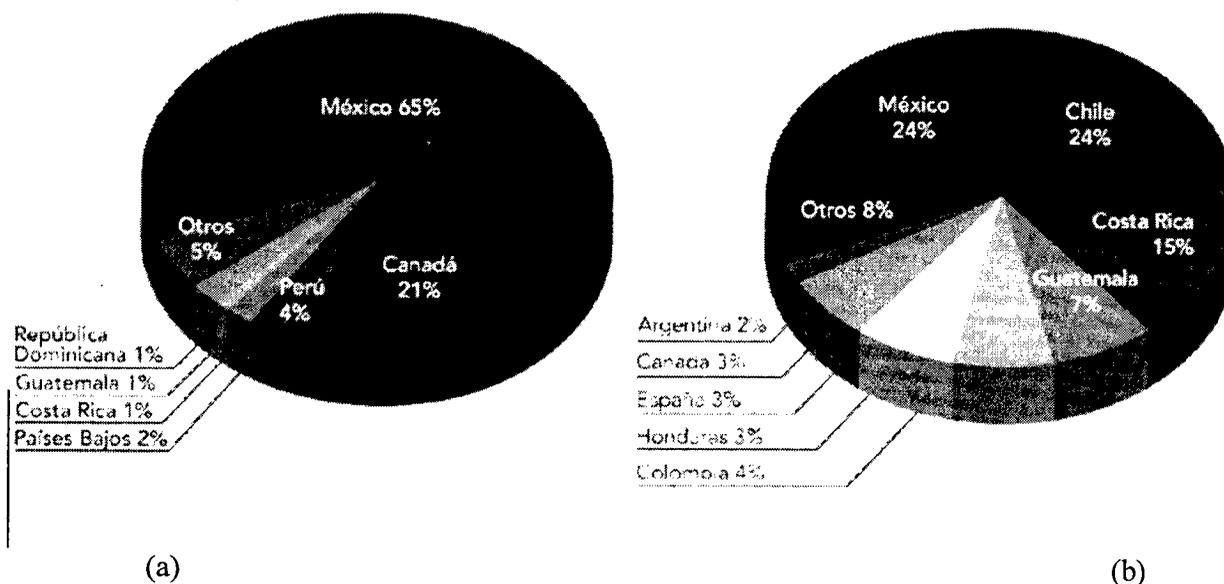


Figura 5. Países proveedores de hortalizas para EUA en el 2006 (% valor) (a) y Países proveedores de frutas para EUA en el 2006 (% valor) (b).

Con el uso de las técnicas de la biofumigación y la solarización es posible el producir productos orgánicos de valor agregado, lo cual es de gran importancia para nuestro país, ya que es posible aumentar las exportaciones a los Estados Unidos y otros países de la Comunidad Europea y Asia. Por lo anterior es importante resaltar algunos datos con los que se cuenta actualmente sobre la producción de productos orgánicos en México, así como los países que los consumen.

Algunos estados productores de productos orgánicos hortofrutícolas

Los estados con mayor producción de productos orgánicos son Chiapas, Oaxaca, Querétaro, Guerrero y Tabasco. Los principales productos orgánicos en México son: café, hierbas aromáticas, hortalizas (tomate, lechuga, calabaza, chiles, pimientos) cacao, uva, coco, agave tequilero y mezcalero, nopal silvestre, nopal (tuna, verdura y xoconostle) lechuguilla, maíz, aguacate y otros productos como miel de abeja, mango, piña, plátano, naranja, manzana, ajonjolí, leche, huevo, sábila y plantas medicinales y alimenticias y se empiezan a identificar algunos productos procesados como el café molido y tostado e incluso saborizado, jugos, mermeladas, galletas, azúcar, quesos, yogurts, entre otros.

Algunos países consumidores de productos orgánicos

El consumo de los productos orgánicos se concentra principalmente en 10 países: Alemania, Francia, Reino Unido, Países Bajos, Suiza, Suecia, Dinamarca, Austria, Estados Unidos. En este último, México obtiene por exportaciones más de 70 millones de dólares. Las razones del crecimiento en este sector productivo obedecen principalmente a que la demanda por alimentos con mayor sanidad e inocuidad está en aumento en el mundo, en particular en los países con más desarrollo económico y que están respondiendo a los cambios de patrones de consumo ocasionados por varios factores:

- Mayor conocimiento de los consumidores: relación dieta/salud (alimentos libres de residuos químicos, inocuidad y certificación).
- Protección contra el eventual desarrollo de nuevas enfermedades por el consumo de alimentos orgánicos.
- Desarrollo armónico en el medio ambiente.
- Solidaridad con los grupos sociales menos favorecidos.
- Percepción y desarrollo de los agronegocios emergentes.

La agricultura orgánica se caracteriza por no utilizar ningún agroquímico. Se desarrolla bajo un sistema de insumos naturales y se instrumentan buenas prácticas agrícolas para proteger al medio ambiente, con el fin de generar un sistema de producción autosustentable en el largo plazo y de obtener productos libres de residuos tóxicos, es por ello que estos agroalimentos tienen un mayor precio que los cultivados con otros sistemas.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Según el Protocolo de Montreal el bromuro de metilo es un fumigante nocivo que deberá ser eliminado del mercado mundial en el año 2015; por lo tanto, es urgente desarrollar técnicas como la biofumigación basadas en principios biológicos y fisico-químicos, que sean amigables con los ecosistemas y que permitan eliminar, las plagas y las malezas del suelo sin necesidad de agroquímicos sintéticos. Por lo anterior, este tipo de tecnologías serán las que habrán de predominar en el futuro y las que serán alentadas para usarse en los programas de agricultura orgánica y sustentable en México y todo el mundo. El uso generalizado de los plaguicidas químicos en el mundo como forma dominante en el control de las plagas es parte de la estrategia comercial de las grandes corporaciones que dominan la industria química, y de la aplicación de estrategias de especialización productiva de los ecosistemas en monocultivos extensivos con una concepción no sostenible de la productividad agrícola, que transfiere los costos sociales, ambientales y de salud pública deteriorando la calidad de vida y los derechos humanos de los afectados.

El uso intensivo de los plaguicidas químicos agrícolas se puede reducir aplicando una estrategia integrada, con un control agroecológico de plagas que integra una variedad de técnicas, tales como el control biológico (con el uso de una amplia gama de agentes biológicos, incluyendo los insectos predadores y parasitoides, y los hongos), de control cultural, de la selección de variedades resistentes, del uso de insecticidas botánicos, de una fertilización biológica; estrategias que implican un cambio en la concepción de la productividad para armonizar la búsqueda de la rentabilidad con la protección de la biodiversidad y un máximo de calidad ambiental. Así mismo numerosos estudios han demostrado que la efectividad de la biofumigación es similar a la de otros pesticidas convencionales, pero al mismo tiempo con su efecto fumigante mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.

En los últimos años la biofumigación de los suelos se ha venido utilizando cada vez más en diversas regiones del mundo como un método ecológico para la prevención y el control de los microorganismos fitopatógenos y las malezas, la cual utiliza la solarización con

acolchado de polietileno transparente y la incorporación al suelo de residuos de especies de plantas de la familia *Brassicaceae*, las cuales debido a las altas temperaturas generadas con la solarización del suelo liberan diversos compuestos tóxicos con propiedades biocidas para los microorganismos fitopatógenos.

La técnica de biofumigación es sin duda una opción para la desinfección de suelos, ya que consiste en aprovechar las sustancias tóxicas y el calor que emanan de la descomposición de distintas materias orgánicas, que tienen propiedades como biocida, tal es el caso de las *Brassicaceas*, en especial la col o el repollo y el brócoli. Las hojas que quedan de la cosecha de estas plantas se entierran en el suelo, se esperan aproximadamente dos semanas para que las hojas se descompongan, tiempo necesario para controlar los nematodos, los patógenos, los insectos, etc. en el suelo. Es muy importante que las hojas queden enterradas, para garantizar que los gases no se escapen y actúen más eficientemente. El proceso se acelera con el riego al cubrir el suelo con polietileno transparente.

Asimismo se concluye que al incorporar diferentes tipos de MO algunas serán más eficientes que otras dependiendo del contenido químico, así como del estado de descomposición en el que se incorpore al suelo y el tiempo que duren en degradarse. Pero si a la incorporación de la MO se le añade una cubierta con acolchado plástico, la biofumigación será más eficaz ya que se evitara la pérdida de compuestos tóxicos por volatilización y consecuentemente se tendrá un mejor control de los microorganismos fitopatógenos del suelo.

Al incorporar microorganismos antagonistas a un suelo que se le incorpore materia orgánica, el cual puede o no estar cubierto con acolchado plástico, el efecto que se tendrá en el control de los diversos fitopatógenos con origen en el suelo se verá potenciado y aumentará la microflora benéfica del suelo.

Recomendaciones

Para que la técnica de biofumigación sea más eficiente es necesario que después de la cosecha, se incorporen inmediatamente los residuos a través del barbecho y el rastreo. Cuando la siembra se hace con el objetivo de incorporar al suelo y así biofumigar, es necesario conocer la etapa en que el contenido de los biocompuestos sea el más alto. En suelos infestados y zonas templadas es conveniente realizar siembras de *brassicaceas* en invierno e incorporarlas al término de esta estación pudiendo acolchar o no, ya que los cultivos de esta familia son las más efectivas.

Al implementar la técnica de biofumigación del suelo con materiales orgánicos de origen vegetal o animal trae consigo ventajas y desventajas que limitarán o realzarán el uso de algunos de estos, los cuales pueden ser compostados o sin compostar:

1. La incorporación de los residuos vegetales liberan gases y compuestos tóxicos para los microorganismos patógenos directamente en el suelo infestado. Sin embargo no existe una producción de especies vegetales exclusivamente para usarse en la biofumigación, sólo se usan residuos de cosechas de las cuales algunas de las cuales se usan como alimento para ganado, lo cual reduce la cantidad de residuos que se pudieran emplear en la biofumigación
2. El uso de los residuos vegetales de la industria pesquera, tienen buen potencial en la biofumigación, sólo que el acceso a ellos puede ser limitado.
3. La biofumigación con material vegetal compostado facilita su manejo e incorporación de los mismos, sin embargo la emisión de los gases y la liberación de compuestos tóxicos es reducida en el suelo donde se incorporó, esto debido a que su emisión y liberación se presentó en el lugar donde se hizo la composta. No obstante contendrá microorganismos benéficos que se desarrollarán y colonizarán el suelo donde se incorpore.
4. En ambos casos la incorporación de material compostado y no compostado trae consigo un incremento en el contenido de materia orgánica del suelo, una mejora en las condiciones microambientales que favorecen el desarrollo de los microorganismos

benéficos. Ambos productos fomentan el control de los microorganismos fitopatógenos y las semillas de malezas en el suelo, asimismo cuando sea incorporado un vegetal alelopático, también mejora la estructura y el contenido mineral del suelo.

Ventajas y desventajas de biofumigar con materiales de origen animal:

1. La eficiencia de la biofumigación con estos materiales dependerá del grado de descomposición que presente en el momento en que se incorporó al suelo. La incorporación de un material no compostado tal vez sea más eficiente en cuanto a la liberación de los gases y los compuestos generados, sin embargo el tiempo que pudiera llevarse en descomponerse y poder sembrar será mayor y pudirá resultar tóxico para el cultivo siguiente si este no se ha degradado completamente.
2. Los residuos de animales al ser compostados pudieran perder parte de su efectividad para el control de los microorganismos patógenos, no obstante pueden tener un buen contenido de microorganismos benéficos y la siembra de algún cultivo puede realizarse poco tiempo después de su incorporación.
3. La incorporación de estos residuos ya sea compostado y no compostado, aumentarán el contenido de materia orgánica, la cantidad de los microorganismos benéficos y la reducción de los patógenos, las plagas y las semillas de malezas que se encuentren en el suelo, a su vez mejorará la estructura y el contenido de los nutrientes utilizados por las plantas.
4. Una gran ventaja es que estos residuos se encuentran más disponibles y en mayor cantidad que los residuos vegetales, pudiendo o no compostarse.
5. El residuo de los crustáceos en la industria pesquera tiene gran potencial para la biofumigación, sin embargo su disponibilidad está limitada a algunas zonas.

Para la selección del uso de los estiércoles de animales o residuos de cosechas vegetales será necesario tomar en cuenta las ventajas y desventajas de cada uno de estos abonos y dependerá además del patógeno o el microorganismo que se desee eliminar o controlar.

En la rizosfera del suelo pueden emplearse microorganismos antagónicos y sinergistas como:

- Hongos: géneros *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Glomus sp* Zac 19, *Trichoderma*, *Verticillium lecani*.
- Bacterias: géneros *Actinomices*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Streptomices*.
- Nemátodos: géneros *Rhabditis* (saprófago) y *Dorilaimus*, responsable de controlar algunos virus del suelo y de la descomposición de materia orgánica.

Asimismo los esfuerzos por buscar la sustentabilidad de los cultivos y preservar el ambiente demandan una visión interdisciplinaria en la concepción y el diseño de nuevas estrategias de manejo de las enfermedades. La diversidad ecológica de nuestro país, el hecho de que nuestros sistemas agrícolas se encuentran relativamente poco perturbados, y la composición socioeconómica y cultural de los productores mexicanos, hacen que la técnica de biofumigación sea una opción amigable con futuro.

Hay que recordar además que el lento pero constante crecimiento de la agricultura orgánica en el mundo y en nuestro país nos demuestra que las dificultades para reducir y hasta eliminar el uso de los plaguicidas químicos, más que de carácter técnico son de orden comercial y político.

LITERATURA CITADA

- Abbasi, P. A., S. F. Dalhmani, H. A. Höitink y S. A. Miller. 2002. Effects of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic productions systems. *Plant Disease*. 86; 156-161.
- Ajwa, H.A., S. Klose, S.D. Nelson, A. Minuto, M.L. Gullino, F. Lamberti, and J.M. Lopez-Aranda. 2003. Alternatives to methyl bromide in strawberry production in the United States of America and the Mediterranean region. *Phytopathol. Mediterr.* 42; 220-244.
- Akiew, S.; P. R. Trevorrow; J. A. Kirkegaard. 1996. Mustard green manure reduces bacterial wilt. ACIAR Bacterial Wilt Newsletter 13, 5-6.
- Al-Katib, K.; C. Libbey; R. Boydston. 1997. Weed suppression with *Brassica* green manure crops in green pea. *Weed Science* 45; 439-445.
- Allen, L. H.; D. R. Sotomayor; D. W. Dickson; Z. Chen. 1997. Soil flooding during the off-season as an alternative to methyl bromide. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 94, 1-2.
- Angus, J. F; P. A. Gardner; J. A. Kirkegaard; J. M. Desmarchelier. 1994. Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant and Soil*. 162; 107-112.
- Anju Kamra; H. S. Gaur. 1998. Control of nematodes, fungi and weeds in nursery beds by soil solarization. *International Journal of Nematology* 8, 46-52.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Zavaleta-Mejía, E., García-Espinoza, R., Osada-Kawasoe, S. y Valenzuela-Ureta, J. G. 2002. Frecuencia de campos infestados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en Sinaloa, México y su control. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 20; 1-7.
- Arias, M.; J. A. López-Pérez; R. Sanz; M. Escuer. 1999. Alternatives to methyl bromide to control nematodes in a cucumber-swiss chard rotation in greenhouses. Abstract of XXXI Annual Meeting ONTA. 21-25 June, 1999, San Juan, Puerto Rico. *Nematropica* 29, 115.
- Akem C, Ahmed S, Bayaa B, Bellar M, Trabulsi N 2000 Effect of soil solarization on populations of chickpea nematodes. *International Chickpea and Pigeonpea-Newsletter* 7; 13-14.
- Boulter, J. I., G. J. Boland y J. T. Trevors. 2002. Evaluation of compost for suppression of dollar spot (*Sclerotinia homoeocarpa*) of Turgrass. *Plant Disease*. 86; 405-410.
- Bending G. 1999. Does biofumigation arise from both GLS and amino acid derived volatile sulfur compounds? Horticulture Biofumigation Update 10:1. *CSIRO Entomology*, PO Wembley, WA 6014, Australia.
- Brada, I. E.; Quintana, E.; Pelaya, E.; Araujo, T. 1995 Efecto de *Bacillus* sp. sobre la germinación y desarrollo de semillas de tomate (*Lycopersicum esculentum* M.) infestadas con *Fusarium oxysporum* Schl.var. *cubensis* Smith. Resúmenes Bioplag 95. (1995, Ciudad Habana, Cuba). INIFAT p. 11.

- Braga R, Labrada R, Fornasari L, Fratini N 2003 Manual para la capacitación de trabajadores de extensión y agricultores. Alternativas al bromuro de metilo para la fumigación de los suelos. FAO-PNUMA. 74 pp.
- Bello, A., M. Escuer; J. Tello. 1999. Problemas nematológicos de los cultivos de Guatemala y su manejo agronómico. Abstracts of the XXXI Annual Meeting ONTA, June 21-25, 1999, San Juan, Puerto Rico. *Nematropica*. 29; 116-117.
- Bello A., J. A. González, M. Arias, R. Rodríguez-Kábana. 1998. Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. Phytoma-España, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 404 pp.
- Bello, A.; J. A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; L. de León; R. Sanz; M. Escuer. 1999a. Local resources as methyl bromide alternatives in nematodes control. Abstracts of the XXXI Annual Meeting ONTA, June 21 25, San Juan, Puerto Rico. *Nematropica* 29, 116.
- Bello, A. J. A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; R. Sanz; M. Arias. 2000a. Biofumigation and local resources as methyl bromide alternatives. *Nematropica*. 29; 116-117.
- Bello, A.; J. A. López-Pérez; R. Sanz; M. Escuer; J. Herrero. 2000b. Biofumigation and organic amendments. *Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries*, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, 113-141.
- Bello A, J. A., López-Pérez García-Alvarez A. 2003. Biofumigación en agricultura extensiva de regadío CSIC -Caja Rural de Alicante, Mundi-Prensa, Madrid 670 pp.
- Blok, W. J.; J. G. Lamers; A. J. Termorshuizen; G. T. Bollen. 2000. Control of soil-borne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology*. 90; 253-259.
- Blok, W. J.; C. P. Slomp; A. J. Termorshuizen; J. A. Lamers. 1998. Control of soil-borne pathogens by inducing soil anaerobiosis. *Phytoparasitica* 26, 244.
- Borek, V.; L. R. Elberson; J. P. McCaffrey; M. J. Morra. 1997. Toxicity of rapeseed meal and methyl isothiocyanate to larvae of the black vine weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entom.* 90; 109-112.
- Bowers, J. H.; J. C. Locke. 1997. Effect of botanical extracts on soil populations of *Fusarium* and other soil-borne pathogens. *International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 2, 1-4.
- Brown, P. D.; M. J. Morra. 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advan. Agron.* 61; 167-231.
- Colborn, T., Dumanoski, D. y Myers, J. P. 1997. Our stolen future: Are we threatening our fertility, intelligence and survival? A scientific detective story. Penguin Books. U.S.A. Inc., New York. 1997. 316 p.
- Canullo, G. H.; R. Rodríguez-Kábana; J. W. Kloepper. 1992a. Changes in populations of microorganisms associated with the application of soil amendments to control *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Plant and Soil*. 144; 59-66.
- Canullo, G. H.; R. Rodríguez-Kábana; J. W. Kloepper. 1992b. Changes in soil microflora associated with control of *Sclerotium rolfsii* by furfuraldehyde. *Biocontrol Science and Technology*. 2; 159-169.

- Carson, R. Silent spring. Houghton Mifflin, Massachusetts, U.S.A. 1962. 368 p.
- Carranza Bassin H. E., Técnico Investigador, ICTA, CIAL, Chimaltenango, Frenando González Rodríguez, Tesista de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Universidad Rafael Landívar, Guatemala. 2004.
- Castellanos, J. J.; Oliva, P.; Izquierdo, E.; Morales, N. 1995. Evaluación de *Bacillus subtilis* como biocontrol del patógeno *Alternaria porri* (Ell). Cif en cebolla. In Bioplag 95. (1995, Ciudad Habana, Cuba). INIFAT. p. 21.
- Chavarría Carvajal, J. A., R. Rodríguez Kabana, J. W. Klopper y G. Morgan Jones. 2001. Changes in populations of microorganism associated with organic amendments and benzaldehyde to control plant-parasitic nematodes. *Nematropica*. 31; 165-180.
- Chandravadana M.V., Nidiry E. S. J., Khan R. M., Rao M. S. 1994. Nematicidal activity of serpentine against *Meloidogyne incognita*. *Fond. Appl. Neem.*, 17; 185-186.
- Chew M. J., Zavaleta-Mejía E., Delgadillo S. F., Valdivia R. A., Peña M. R. y Cárdenas S. E. 1995. Evaluación de algunas estrategias de control de la virosis en el cultivo del chile (*Capsicum annum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 30; 74-84.
- Ciuberkis, S. 1997. Ecological significance of long term fertilization with farmyard manure and soil reaction on weed flora. In Integrated Plant Protection: Achievements and Problems. Proceedings of the Scientific Conference Devoted to the 70th Anniversary of Plant Protection Science in Lithuania, Dotnuva-Akademija, Lithuania, 7-9 September 1997; 184-187.
- Coghlan, A. Exposure to pesticides can cause Parkinson's. *New Scientist* N° 2501, 26 May 2005.
- Cook, R. J.; K. R. Barker (Eds). 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. St. Paul American Phytopathological Society, pp. 539.
- Costa D. C., Prata C. H. 2000. Nematóides e seu controle. *Frutas do Brasil*. Abacaxi Produção EMBRAPA. 7; 51-55.
- Culbreath, A. K.; R. Rodríguez-Kábana; G. Morgah-Jones. 1985. The use of hemicellulosic waste matter for reduction of the phytotoxic effects of chitin and control of root-knot nematode. *Nematropica* 15; 49-75.
- Daugovish, O. and P. E. Oevinger. 2003. Cover crop evaluation for biomass production, weed competitiveness and as hosts for beneficial insects. Proceedings of the American Society of Argonomy, Annual Meeting, Denver, Colorado.
- Demarchelier, J. M. and L. T. Vu. 1998. Determination of effective fumigant concentrations in different soil types for methyl bromide and other fumigants. Final RIRDC Report. Project PWD 38. CSIRO, Canberra, Australia.
- De Vay J. E.; J. Katan. 1991. Mechanism of pathogen control in solarized soil. In: J. Katan, J. E. De Vay (Eds). Solarization. CPR Press Boca Raton Ann Arbor Boston, London, UK, 87-101.
- Dhanapal, G. N.; P.C: Struik; P. C. J. M. Timmermans; S. J. ter Borg. 1998. Postemergence control of broomrape with natural plant oils. *Journal of Sustainable Agriculture*. 11; 5-12.

- Dissanayake, N. y J. W. Hoy. 1999. Organic material soil amendment on root rot and sugarcane growth and characterization of the materials. *Plant Disease*. 83; 1039-1046.
- Duniway, J. M.; C. L. Xiao; H. Ajiwa; W. D. Gubler. 1999. Chemical and cultural alternatives to methyl bromide fumigations of soil for strawberry. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, 1999, San Diego, California, 2, 2 pp.
- Duplessis, M. C. F.; W. Kroontje. 1964. The relationship between pH and ammonia equilibrium in soil. *Proc. Soil Sci. Soc. America*. 28; 751-754.
- Eberlein, C. V.; M. J. Morra; M. J. Guttieri; P. D. Brown; J. Brown. 1998. Glucosinolate production by five field-grown Brassica napus cultivars used as green manures. *Weed Technology*. 12; 712-718.
- Edwards, J. H.; R. H. Walker. 1997. Using organic residuals on highly erodible soil. *BioCycle*. 38; 56-57.
- Elberson, L. R.; V. Borek; J. P. McCaffrey; J. Morra. 1996. Toxicity of rapeseed meal-amendment soil to wireworms, *Limonius californicus* (Coleoptera: Elateridae). *J. Agric. Entomol.* 13; 323-330.
- Eleftherohorinos, I. G.; C. N. Giannopolitis. 1999. Alternatives to methyl bromide for the control of weeds in greenhouses and seed beds. Proceedings of International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries", Heraklio, Creta, Grecia, 34-36.
- Elena, K.; E. J. Paplomatas; N. Petsikos-Panayotarou. 1999. Bio-disinfestation: an alternative method to control soil pathogens. Proceedings of International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries", Heraklio, Creta, Grecia, 81-82.
- Eno, C. F.; W. G. Blue; J. M. Jr. Good. 1955. The effect of anhydrous ammonia on nematodes, fungi, bacteria, and nitrification in some Florida soils. *Proc. Soil Science Society of America*. 19; 55-58.
- Ferreira, L. H. P. L., J. C. Molina, C. Brasil y G. Andrade. 2003. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticidal proteins effects on soil microorganisms. *Plant and Soil*. 256; 161-168.
- Fernández-Larrea O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 62 p96-100.
- Galper S., E. Cohn, Y. Spiegel, Y. Chet. 1991. A collagenolytic fungus, *Cunninghamella elegans*, for biological control of plant parasitic nematodes. *Journal Nematology* 23; 269-274.
- Gamliel A.; M. Austerweil; G. Kritzman, I. Pérez. 1999. Combined organic amendments with soil heating to control soil-borne plant pathogens. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, 1999, San Diego, California, 27, 1-2 pp.
- Gamliel, A.; J. J. Stapleton. 1993. Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. *Phytopathology*. 83; 99-105.

- García, S.; F. Romero; J. J. Sáez; A. de Miguel; C. Monzó; V. Demófilo; M. Escuer; A. Bello. 1999. Problemática de la replantación de melocotoneros en terrenos arenosos en la comarca de La Rivera (I). *Comunitat Valenciana Agraria*. 13; 43-49.
- García, R.; J. E. Poot. 1997. Cropping systems and soil-borne diseases in México. XXIX Annual Meeting, June 29th to July 4th, Cancún, México, 23 p.
- García R., Riera R., Zambrano C. y Gutiérrez L. 2006. Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región andina venezolana. *Revista de Fitosanidad* Vol. 10, no.2, Junio 2006.
- Garibaldi, A.; M. L. Gullino. 1991. Soil solarization in Southern European countries, with emphasis on soilborne diseases control of protected crops. In: J. Katan; J. E. de Vay (Eds). *Solarization*. CRC Press Boca Raton Ann Arbor Boston, London, UK, 227-235.
- Giambattista, R. F. Federici, M. Petruccioli y M. Fenice. 2001. The chitinolytic activity of *Penicillium janthinellum* Pg; purification, partial characterization and potential applications. *Journal of Applied Microbiology*. 91; 498-505.
- Gómez-Rodríguez O., Zavaleta-Mejía E., González-Hernández V. A. Livera- Muños M. and Cárdenas-Soriano E. 2003. Allelopathy and microclimatic modification of intercropping with maigold on tomato early blight disease development *Field Crops*.
- Gómez-Rodríguez O., Zavaleta-Mejía E., Cárdenas-Soriano E., González-Hernández V. A. y Valdovino-Ponce G. 2001. Hispatología de *Alternaria solani* en jitomate asociado con cempazuchil (*Tegetes erecta* L.) y alegría (*Amaranthus hypochondriacus*). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19; 182-190.
- Gooday, G. W. 1990. The ecology of chitin degradation. In: K. C. Marshall (Eds). *Advances in Microbial Ecology*, Vol. II. Plenum Press, New York, USA, 387-430.
- Gokte N, Swarup G. 1988. Effect of neem (*Azadiractina indica*) seed kernel powder treatment on penetration and development of *Anguina tritici* on wheat. *Indian Journal Nematology*. 18; 149-153.
- Han, D. Y., D. L. Coplin, W. D. Bauer y H. A. Höitink. 2000. A rapid bioassay for screening rhizosphere microorganisms for their ability to induce systematic resistance. *Phytopathology*. 90; 327-332.
- Haidar M. A. and Sidahmed M. M. 2000. Soil solarization and chicken manure for the control of *Orobanche crenata* and other weeds in Lebanon. *Crop Protection*. 19 (3); 169-173.
- Hernández M. A. A., Sierra Peña A. y Carr Pérez A. 2006. Evaluación *in vitro* del antagonismo de especies de *trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) *Revista de Fitosanidad* 10 (2); Junio.
- Hoitink, H. A. 1997. Disease suppressive composts as substitutes for methyl bromide. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California. 1, 1-2.
- Hollis, J. P.; R. Rodríguez-Kábana. 1966. Rapid kill of nematodes in flooded soil. *Phytopathology*. 56; 1015-1019.
- Horiuchi, S.; M. Hori; S. Takashi; K. Shimuzu. 1982. Factors responsible for the development of clubroot-suppressing effect in soil solarization. *Bull.Chugoku Nat. Agric Exp. Stn. E*. 20, 25.

- Huang C. S., Tenente R. C., Dasilva F.C. V. and Lara R. J. A. 1981. Effect of *Crotalaria spetabilis* ant two nematicides on numbers of *Meloidogyne incognita* and *Helicotylenchus dihystra*. *Nematropica*. 27; 1-5.
- Huebner, R. A.; R. Rodríguez-Kábana; R. M. Patterson. 1983. Hemicellulosic waste and urea for control of plant parasitic nematodes: effects on soil enzyme activities. *Nematropica*. 13; 37-45.
- Hunter, B. B.; T. Hall; M. T. Lyons; T. K. Bell. 1997. Field application of sewage and spent mushroom compostas in conjunction with Basamid, a fumigant, to control the root pathogen, *Cylindrocladium scoparium*, in forest nursery soils. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 45; 1-4.
- Katan J., 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Annu. Rev. Phytopathol.* 19; 211-236.
- Katan J., Greenberger A, Alon H, Grinstein A. 1975. Increasing soil temperature by mulching for the control of soilborne diseases. *Phytoparasitica* 3; 59-70.
- Kim, K. D.; S. Nemeč; G. Musson. 1996a. Control of *Phytophthora* stem rot of pepper with compostas and soil amendment in the greenhouse. International Research Conference on Methyl Bromide, Alternatives and Emissions Reductions. Methyl Bromide Alternatives Outreach, US Dept. of Agriculture, Florida, USA 100, 1-3.
- Kim, K. D.; S. Nemeč; G. Musson. 1996b. Effect of compostas and soil amendments on soil microflora and *Phytophthora* stem rot of pepper. International Research Conference on Methyl Bromide, Alternatives and Emissions Reductions. Methyl Bromide Alternatives Outreach, US Dept. of Agriculture, Florida, USA 101, 1-3.
- Kim, D. S.; Cook, R. J.; Weller, D. M. 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root disease of wheat grown with reduced tillage. *Phytopathology* 87; 551-558.
- Kim Kilung; Park Kwangho. 1997. Weed management using a potential allelopathic crop. *Korean Journal of Weed Science*. 17; 80-93.
- Kirkegaard, J. A.; J. F. Angus; P. A. Gardner; H. P. Cresswell. 1993a. Benefits of brassica break crops in the Southeast wheatbelt. Proc. 7th Aust. Agron. Cons. Adelaide, 19-24 Sept. 282-285.
- Kirkegaard, J. A.; J. Gardner; J. M. Desmarchelier; J. F. Angus. 1993b. Biofumigation using Brassica species to control pest and diseases in horticulture and agriculture. In: N. Wrather; R. J. Mailes (Eds). Proc. 9th Australian Research Assembly on *Brassicac* (Wagga Wagga). 77-82.
- Kirkegaard, J. A.; M. Sarwar. 1998. Biofumigation potential of brassicas: I. variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil*. 201; 71-89.
- Kirkegaard, J. A.; P. T. W. Wong; J.M. Desmarchelier. 1996. *In vitro* supression of fungal root pathogens of cereals by Brassica tissues. *Plant Pathology*. 45; 593-603.
- Kirkegaard, J. A., Sarwar, M., Wong, P. T. W., Mead, A., Howe, G., Newell, M. 2000. Field studies on the biofumigation of take-all by brassica break crops. *Australian Journal of Agricultural Research*. 51 (4); 445-456.

- Kjaer, A. 1976. Glucosinolates in cruciferae. In: J. G. Vaughan, A. J. Macleod, B. M. G. Jones (Eds). *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, Academic Press, London, 207-219.
- Kodama, T.; Fukui. T. 1982. Application of solar heating with plastic-film mulching in the outdoor field for control of Fusarium wilt of strawberries. *Ann. Phytopatol. Soc. Jpn.* 48; 699-699.
- Lacasa A., P. Guirao, M. M. Guerrero, C. Ros, J. A. López-Pérez, A. Bello, P. Bielza. 1999. Alternatives to methyl bromide for sweet pepper cultivation in plastic greenhouses in south east. 3rd International Workshop Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. 7-10 December, Creta (Greece), 133-135.
- Lazarovits, G.; K. Conn; G. Kritzman. 1997. High nitrogen containing organic amendments for the control of soilborne plant pathogens. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 3, 1-2.
- Lecuona, RE. Ed. 1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Argentina. 338 p.
- Leon L de, Banchemo L, Lopez J. A., Bello A 2000. Control de Meloidogyne incognita en cultivo de tomate en Uruguay. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*. España. 26(3);401-407.
- Leoni, L .M. O. Manici. (2004). Biocidal plant dried pellets for biofumigation. *L.L. Industrial Crops and Products*. 20; 59-65.
- Lichtenstein, E. P., D. C. Morgan, and C. H. Muller. 1964. Naturally occurring insecticides of cruciferous crops. *J. Agr. Food. Chem.* 12; 158-161.
- Liu, M., Q. X. Cai, H. Z. Liu, B. H. Zhang, J. P. Yan y Z. M. Yuan. 2002. Chitinolytic activities in *Bacillus thuringiensis* and their synergist effects on larvicidal activity. *Journal of Applied Microbiology*. 93; 374-379.
- Lira-Saldivar, R. H., Salas, M. A., Cruz, J., Coronado, A., Hernández, F. D. Guerrero, E., y Gallegos, G. 2004. Solarization and goat manure on weeds management and melon yield. *PHYTON. International Journal of Experimental Botany*. 2004; 205-211.
- Li Shanlin; You Zhenguó; Liang; Duxiang; Li Sunrong; Wang Nanjin. 1997. Extraction and separation of allelochemicals in wheat and its herbicidal efficacy on *Imperata cylindrica*. *Acta Phytologica Sinica*. 24; 81-84.
- López-Pérez J. A., M. Arias, R. Sanz, y M. Escuer. 2003. Alternativas al bromuro de metilo para el control de *Meloidogyne incognita* en cultivos de pepino. *Nematropica* 33(2); 189-196.
- Lopez-Medina J, Lopez-Aranda J. M, Medina J. J, Miranda L, Flores F. (2003). Chemical and non-chemical alternatives to methyl bromide fumigation of soil for strawberry production. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 78; 597-604.
- Magunacelaya, J. C. 2005. Control de nemátodos fitoparásitos mediante uso de materia orgánica. Santiago, Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.
- Marín M., Casassa-Padrón A., Pérez-Pérez E., González-Palmar C., Chirinos D., González C. y Sandoval L. 2004. Enmiendas orgánicas para la recuperación de árboles de guayabo

- (*Psidium guajava* L.) infestados con *Meloidogyne incognita*. I. Variación de características fenológicas. Rev. Fac. Agron. (LUZ). **1**(21); 129-136.
- Matthiesen, J. N.; J. A. Kirkegaard. 1993. Biofumigation, a new concept for 'clean and green' pest and disease control. Western Australian Potato Grower October, 14-15.
- Matthiessen, J. 1996. Glucosinolate analysis of Brassica collection completed. Biofumigation Update. No. 4. Junio 1996.
- Matthiessen J. and B. Warton. 2002. Plant maceration and moisture hold the key to the biofumigation success. Horticulture Biofumigation Update 15; 1-2. *CSIRO Entomology*, PO Wembley, WA 6014, Australia.
- MBTOC. 1998. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. Assessment of Alternatives to Methyl Bromide, UNEP, Nairobi, Kenia, 354 pp.
- Mian, I. H.; G. Godoy; R. Rodríguez-Kábana; G. Morgah-Jones. 1982. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12; 71-84.
- Michel, V. V.; T. W. New. 1996. Effect of a soil amendment on the survival of *Ralstonia solanacearum* in different soils. *Phytopathology* **88**; 300-305.
- Michel, V. V.; J. F. Wang; D. J. Midmore; G. L. Hertman. 1997. Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. *Plant Pathology* 46; 600-610.
- Mitidieri, M. S.; Brambilla, M. V.; Gabilondo, J.; Saliva, V. y Piris, M. 2005. Efectos de la solarización y biofumigación sobre la incidencia de podredumbres radiculares en cultivo de tomate bajo cubierta. XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. 19-22 de abril de 2005. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. Libro de Resúmenes, pag. 519.
- Mojtahedi, H; G. S. Santo; A. N. Hang; J. H. Wilson. 1991. Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. *Journal Nematology*. 23; 170-174.
- Montes B. R., Carvajal M., Figueroa B. R. y Méndez I. 1997. Extractos sólidos, acuosos y hexánicos de plantas para el combate de *Aspergillus flavus* Link en maíz. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 15; 26-30.
- Munakata K. 1983. Nematocidal natural products, En: Whitehead DL, Browers WS. Natural Products for Innovative Pest Management. Pergamon Press, Oxford, 299-310.
- Munnecke, D. E. 1984. Establishment of microorganisms in fumigated avocado soil to attempt to prevent reinvasion of the soils by *Phytophthora cinnamomi*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83, 287.
- Murga-Gutiérrez, S. N. 2007. Nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de *Tagetes erecta* en el Distrito Virú, La Libertad, Perú. *Neotropical Helminthology*. **1**(1); 15-20.
- Nanda, R.; S. C. Bhargava, D .P. S. Tomar; H. M. Rawson. 1996. Phenological development of Brassica campestris, B. juncea, B. napus and B. carinata grown in controlled environments and from 14 sowing dates in the field. *Field Crops Res.* 46; 93-103.

- Nasr E. M.; Akhiani A.; Fatemi R.; Hassan P. H. 2000. Soil solarization effects on soil-born fungal diseases, nematodes and weeds in autumn cucumber fields. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 4(3); 111-123.
- Nigam N. and Faull J. L. 1989. Biological control-Concepts and practices. Pp. 1-13. in: K. Mukerji and K. L. Grag Eds.) *Biocontrol of Plant Diseases*. Vol. L. Boca Raton, Fl. CRC Press.
- Noble, R. R. P.; C. E. Sams. 1999. Biofumigation as an alternative to methyl bromide for control of white grub larvae. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, San Diego, California, 92, 3 pp.
- Orieta F. y Larrea V. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 62; 96-100.
- Otara, C. O.; P. K. Ndalut. 1999. Application of *Conyza floribunda* extractives to control soil pathogens in tomato fields. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, 1999, San Diego, California.
- Papavizas G. C. and J. A. Lewis. 1971. Effect of amendments of fungicides on *Aphanomyces* root rot of peas. *Phytopathology*. 61; 215-220.
- Papavizas G. C. and Lumsden R. D. 1980. Biological control of soil-borne fungal propagules. *Annual Review of Phytopathology*. 18; 389-413.
- Parker, N.; A. C. Haywards; G. R. Stirling. 1988. Effect of chitinolytic soil bacteria on root-knot nematode eggs. Fifth International Congress of Plant Pathology Abstracts of Paper, Kyoto, 157.
- Pokharel R. R. 2000. Effect of organic manures, fertilizers, and nematode [nematicide] on the control of root-knot nematode and yield in chickpea. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*. 7; 18-19.
- Pullman G. S., J. E. De Vay, R. H. Garber, A. R. Weinhold. 1981. Soil solarization effects of *Verticillium* wilt on cotton and soilborne populations of *Verticillium dahliae*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, and *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology*. 71; 954.
- Quiroga-Madriral, R., R. Rodríguez-Kábana, D. G. Robertson, C. F. Weaver, and P. S. King. 1999. Nematode populations and enzymatic activity in rhizospheres of tropical legumes in Auburn, Alabama. *Nematropica*. 29(2); 129.
- Ramírez-Villapudua J. R. 1996. La solarización del suelo: Un método sencillo para controlar patógenos y malas hierbas. Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, México. 68pp.
- Rodríguez-Navarro J. A., Zavaleta- Mejía E. y Alatorre-Rose R. 1996. Epidemiología y manejo de la roya blanca (*Puccinia horiana* P. Henn.) del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) *Fitopatología*. 31; 122-132.
- Rodríguez-Kabána, R., G. Morgah-Jones, Y. Chet. 1987. Biological control of nematodos: soil ammendmenta and microbial antagonists. *Plant and Soil*. 100; 237-247.
- Rodríguez-Kabána, R., D. Boube, R. W. Young. 1990. Chitinous materials from blue crab for control of root- know nematode. II. Effect of soybean meal. *Nematropica*. 20; 153-168.

- Salles L. A. 2001. Effective alternatives to methyl bromide in Brasil. En: Labrada R, Fornasari L (eds.) Global report on validated alternatives to the use of methyl bromide for soil fumigation. *FAO plant production and protection paper*. 166; 13-24.
- Serrano, L., C. Flores, M. Patiño, M. Ortiz, V. Albitzer, M. Caro, R. Allende, A. Carrillo, E. Galindo (2003), "Desarrollo de bioprocesos para la producción de agentes de control biológico: experiencias de escalamiento y pruebas de campo", Memorias del X Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Puerto Vallarta, Jalisco.
- Sharon, E., M. Bar Eyal, A. Herrera Estrella, O. Kleifeld y Y. Spiegel. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*. 91; 687-693.
- Siddiqui M. A., Alam M. M. 1988. Effect of root- exsudates of Neem and Persian lila con plant parasitic nematodes. *Anz Schddliigskde Pflanzenschutz Umweltschutz*. 62; 33-35.
- Smolinska, U., Morra, M. J., Knudsen, G. R., y James, R. L. 2003. Isothiocyanates produced by Brassicaceae species as inhibitors of *Fusarium oxysporum*. *Plant Disease*. 87; 407-412.
- Sotomayor D., L. H. Allen, Z. Chen, D. Dickson. T. Hewlett. 1999. Aerobic soil management practices and solarization for nematode control in Florida. *Nematropica*. 29; 153-170.
- Stapleton J. J., J. E. De Vay. 1984. Thermal components of soil solarization as related to changes in soil and root microflora and increased plant growth response. *Phytopathology*. 74; 55-259.
- Stapleton J. J., J. E. De Vay. 1986. Soil solarization a nonchemical approach for management of plant pathogens and pest. *Crop Protection*. 5,190.
- Stapleton J. J., J. E. De Vay, B. Lear. 1989. In Vitro effect of ammonium phosphate fertilizar and soil root gallina of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Early Park 7) by *Meloidogyne incognita*. *Journal Nematology*. 12. 589.
- Stevens, C., V.A. Khan, R. Rodríguez-Kabana, L. D. Ploper, P. A. Backman, D. J. Collins, J. E. Brown, M. A. Wilson y E. C. Igwegbe. 2003. Integration of soil solarization with chemicals, biological, control for the management of soilborne disease of vegetables. *Plant and Soil*. 253; 493-506.
- Sritling G. R. (Ed.). 1991. Biological Control of Plant Parasitic Nematodos: Progress, Problem and Prospects. CAB International, Wallingford, Oxon, 282 pp.
- Stolzy L. H., S.D. Van Gundy, J. Itezo. 1960. Oxygen tolerantes of four plant parasitic nematodos. *Phytopathology*. 50, 656.
- Sukul N. C., Sinhababu SP, Dalla S. C, Nandi B., Sukul A. 2001. Nematotoxic effect of *Acacia auriculiformis* and *Artemisia nilagirica* against root-knot nematodes. *Allelopathy Journal*, 8:65-71.
- Takagusi M, Ioda H, I. akagusi Y, Masamume I, Kegasawa K 1977. The relation between structure of Asparagusic Acid-related compounds and their nematicidal activity. *Res. Bull. Hokkaido NATL. Agric. Sta.*, 118. 105.
- Taylor, C.R., and R. Rodríguez-Kabana. 1999. Optimal rotation of peanuts and cotton to manage soil-borne organisms. *Agric. Syst*. 61; 57-68.

- Tjamos E. C., Antoniou P. P. and Tjamos S. E. 1999. Soil solarisation and control of soilborne pathogens in plastic houses. Agricultural University of Athens, Department of Plant Pathology, Votanikos 11855, Athens, Greece.
- Torres, L. A.; Wong, W; Miguel, A; Fernández, A; Amat, Z. 2001. Actividad antagónica de especies de *Bacillus* spp contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. *Revista Fitosanidad*. Aceptado para publicación.
- Torres-Barragán A., Zavaleta-Mejía E., González-Chávez. M. C. and Ferrera-Cerrato R. 1996. The use of arbuscular mycorrhizae to control onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) under field condition. *Micorrhiza*. 6; 253-257.
- Tun., Navarrete A., Quiroz J. y Soria M. 1997. Forma y dosis de cempazuchitl (*Tagetes patula* L.) aplicado al suelo como nematicida en pepino (*cucumis sativus* L.). in: Memorias del XXIV Congreso Nacional de Fitopatología. Cd. Obregón Sonora, México. Resúmenes 84.
- Vargas-Ayala, R. and R. Rodriguez-Kábana. 2001. Bioremediative management of soybean nematode population densities in crop rotations with velvetbean, cowpea and winter crops. *Nematropica*. 31(1); 37-46.
- Vannaci G, Gullino ML 2000. Use of biocontrol agents against soil-borne pathogens: Results and limitations. En: Gullino ML, Katan J, Matta A (eds.) Proceedings of the Fifth International Symposium on Chemical and Non-Chemical Soil and Substrate Disinfestation *Acta Horticulturae*. 532; 79-87.
- Villar E. M. J. y Zavaleta- Mejía E. 1990. Efecto de *Crotalaria longirostrata* Hook y arnott sobre nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 8; 38-41.
- Villeneuve F.; Lepaumier B. 1999. Efecto de la incorporación de de la materia orgánica para el control de los hongos *Fusarium Oxisporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotium*, *Verticilium dahliae* en nemátodos como *Meloidogyne* spp y *Pratylenchus* spp., (eds.) Proceedings of the Fifth International Symposium on Chemical and Non-Chemical Soil and Substrate Disinfestation, *Acta Horticulturae*. 532; 65-70.
- Walker G. 1997. Brassicas active against citrus nematode. Horticulture Biofumigation Update 6:2. CSIRO Entomology, PO Wembley, WA 6014, Australia.
- Yañez- Juarez J. M. A., Zavaleta- Mejía, E., Flores-Revilla, J., Chávez- Alfaro, J. 2001. Managament of Wilting (*Phytophthora capsici* Leo) root gallina (*Nacobbus aberrans* Thorne and Allenb). And virosis in pepper (*Capsisum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19; 40-47.
- Zavaleta-Mejía E. and Gómez R.O. 1995. Effect of *Tegetes erecta* L. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) intercropping on some tomato pests. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 30; 35-46.
- Zavaleta-Mejía, E., Rojas-Martínez, R.I., y Ochoa-Martínez, D.L. 2003. Manejo ecológico de enfermedades. CP. Instituto de Fitosanidad. P. 114.
- Zen- ichi S.; and Kazutoshi N. 1986. Histopatological responses of three leguminous enemy plants to the penetration and development of *Meloidogyne incognita* .Jpn. *Journal of Nematology*. 16; 48-55.

Páginas de Internet Revisadas

- Brechelt A. 2001. Bromuro de Metilo pesticida que amenaza el medio ambiente y la salud humana. Fundación Agricultura y Medio Ambiente (FAMA) *Revista Inter- Forum*.
(visitado el 20 de febrero de 2007). Disponible en:
http://www.revistainterforum.com/espanol/articulos/artvegano_031801.html
- Chemonics Internacional 2003. Reporte de Evaluación y Plan de Acción para Uso más Seguro de Plaguicidas. Colombia Alternative Development. (visitado el 11 de abril de 2007).
Disponible en: [http://www.fundacad.org.co/uploads/\(2\)PERSUAP.pdf](http://www.fundacad.org.co/uploads/(2)PERSUAP.pdf)
- Daugovish O., D. Thill, and B, Shafii. 2007. The many Roles of Cover Crops in Organic Crop Production (visitado el 26 de febrero de 2007). Disponible en:
http://ceventura.ucdavis.edu/oleg/organic/cov_cro_fit_8_05_frame.htm
- Gapasin, R. M, Ranchez, C. V., Gergon, E. B., Judal, M.L., Pile, C.V. & Miller, S. A. 2006. Antagonistic plants for the management of rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) in rice-onion system. (visitado el 20 de diciembre de 2006). Disponible en:
<http://www.ag.vt.edu/IPMCRSP/presentations/Antagonistic%20poster%20US%202003.pdf#search=%22Antagonistic%20Tagetes%20spp%22>.
- Romero, J. R. (2000). El agujero de la capa de ozono crece pese a disminuir el uso de CFCs. El Mundo Digital. (visitado el 18 de mayo de 2007). Disponible en:
<http://www.elmundo.es/elmundo/2000/10/03/ciencia/970570022.html>.
- Siller-Cepeda 2004. Situación actual de la industria hortofrutícola en México. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (visitado el 12 de abril de 2007).
Disponible en:
http://www.uaaan.mx/academic/Horticultura/Memhort03/Ponencia_04.pdf.

