



**Alternativas para la disminución del uso de
agroquímicos en el control de malezas en cultivos
hortícolas en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén**

ADRIANA PIA BUSTAMANTE

Director: M. Sc. Graciela Emilce Reybet

Tesis presentada para optar por el título de Magíster en Intervención Ambiental
con orientación Ingeniería Ambiental.

Facultad de Ciencias Agrarias

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

MARZO 2016

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a mi directora, Graciela Reybet, por su dedicación y acompañamiento para la realización de esta tesis. En el marco del Proyecto de Investigación bajo su dirección es que fue posible contar con los elementos y financiación necesarios para concretar este trabajo.

Al personal de campo de la Facultad de Ciencias Agrarias, por su colaboración en la realización de los ensayos.

Al Ingeniero Carlos Forquera por su buena predisposición para facilitarme la información climatológica necesaria.

Y finalmente, a mi hijo Sebastián, por comprenderme y apoyarme en mis proyectos personales.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
INDICE	II
ABREVIATURAS.....	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT	VII
Capítulo I	VI
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1. PROBLEMÁTICA DEL USO DE AGROQUÍMICOS	2
1.1. Aparición de resistencia	3
1.2. Resurgimiento de plagas.....	4
1.3. Efectos sobre organismos no deseados.....	5
1.3.1. Predadores y Polinizadores	5
1.3.2. Humanos.....	6
1.3.3. Efectos sobre el ambiente.....	8
2. PROBLEMÁTICA DE MALEZAS EN LA PRODUCCIÓN HORTÍCOLA.....	10
2.1. Malezas	12
2.2. Interacción de las malezas con los cultivos	14
2.3. Control de malezas	15
2.3.1. Prácticas culturales	15
2.3.2. Métodos mecánicos	16
2.3.3. Métodos físicos	17
2.3.4. Control químico.....	18
3. ALTERNATIVAS NO-QUÍMICAS PARA EL CONTROL DE MALEZAS.....	19
Hipótesis de trabajo	21
Objetivo general.....	22
Objetivos específicos.....	22
4. BIBLIOGRAFÍA.....	22
Capítulo II	31
APTITUD DE DISTINTOS BIOFUMIGANTES PARA EL CONTROL DE MALEZAS EN CONDICIONES DE LABORATORIO	31
1. INTRODUCCIÓN.....	32
Hipótesis	38

Objetivo general.....	39
Objetivos específicos.....	39
2. MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.1. Materiales	39
2.1.1. Obtención de los biofumigantes.....	39
2.1.2. Selección y obtención de malezas indicadoras.....	40
2.1.3. Preparación del sustrato:	40
2.2. Desarrollo del ensayo	41
2.2.1. Primer ensayo: Productos, dosis y estado del biofumigante.....	41
2.2.2. Segundo ensayo: Duración del tratamiento	43
2.3. Análisis estadístico.....	44
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
3.1. BIOENSAYO 1: Productos, Dosis y Estado del biofumigante.....	44
3.1.1. Efecto de los productos y estado de los biofumigantes sobre la germinación de malezas 44	
3.1.2. Efecto de la dosis sobre la germinación	47
<u> </u> Aplicación de 3 kg/m ² :.....	47
<u> </u> Aplicación de 5 kg/m ² :.....	48
<u> </u> Aplicación de 8 kg/m ² :.....	49
3.1.3. Efecto de la Biofumigación sobre las malezas indicadoras.....	52
3.1.3.1. Efecto sobre <i>Setaria verticillata</i>	54
3.1.3.2. Efecto sobre <i>Chenopodium album</i>	56
3.2. BIOENSAYO 2: Efecto de la duración del tratamiento.....	57
3.2.1. Productos aplicados en estado fresco	59
3.2.1.1. Efecto sobre <i>Setaria verticillata</i>	60
3.2.1.2. Efecto sobre <i>Chenopodium album</i>	61
3.2.2. Productos aplicados en estado deshidratado	62
3.2.2.1. Efecto sobre <i>Setaria verticillata</i>	64
3.2.2.2. Efecto sobre <i>Chenopodium album</i>	65
4. CONCLUSIONES.....	67
5. BIBLIOGRAFÍA.....	68
Capítulo III	77
EFFECTO DE LA BIOFUMIGACIÓN CON RESIDUOS DE REPOLLO (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>) SOBRE LA POBLACIÓN DE MALEZAS A CAMPO.....	77
1. INTRODUCCIÓN.....	78

Hipótesis	81
Objetivos específicos	81
2. MATERIALES Y MÉTODOS	81
2.1. Primer ensayo	81
2.2. Segundo ensayo	85
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	85
3.1. Biofumigación estival	85
3.1.1. Efecto sobre la Biomasa.....	85
3.1.2. Efecto sobre la comunidad de malezas	87
3.2. Biofumigación invernal.....	89
3.2.1. Efecto sobre la Biomasa.....	89
3.2.2. Efecto sobre la comunidad de malezas	92
4. CONCLUSIONES.....	94
5. BIBLIOGRAFIA.....	95
Capítulo IV.....	99
CONSIDERACIONES FINALES	99
ANEXOS	102
ANEXO 1	103
MODELOS ESTADÍSTICOS	103
ANEXO 2	104
TEMPERATURAS MEDIAS DIARIAS DURANTE LA BIOFUMIGACIÓN EN LABORATORIO.....	104
ANEXO 3: TEST DE SIGNIFICANCIA BIO-PRODUCTO-ESTADO	104
ANEXO 4: MODELO ESTADÍSTICO ENSAYO A CAMPO	105
ANEXO 5: TEMPERATURAS DIARIAS DURANTE LA BIOFUMGACIÓN EN LAS DOS FECHAS DEL ENSAYO A CAMPO	106
ANEXO 6: DATOS DE LA ESTACIÓN METEOROLOGICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS CORRESPONDIENTES AL MES DE SEPTIEMBRE DE 2015.	107

ABREVIATURAS

GLS: Glucosinolatos

ITC: Isotiocianatos

ppm: partes por millón

µg/L: microgramos por litro

RESUMEN

En el Alto Valle de Río Negro y Neuquén la producción hortícola representa la segunda actividad agrícola de la región. Tradicionalmente el control de malezas en estos cultivos se ha basado en el uso de herbicidas, con una incidencia importante en los costos de producción y ha llevado a un aumento de la contaminación ambiental y el eventual desarrollo de poblaciones de malezas resistentes. Es necesario desarrollar técnicas que dañen lo menos posible al ambiente, siendo a la vez eficaces y económicamente viables. En este estudio se evaluó el potencial biofumigante de tres Brassicáceas: Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea var capitata (repollo). En laboratorio se midió el efecto de la dosis, condición de humedad del material y duración del tratamiento, sobre la capacidad germinativa de Chenopodium album y Setaria verticillata seleccionadas como indicadoras. Los tres biofumigantes afectaron la germinación de las malezas, con reducciones de entre 7,5 a 93% respecto al testigo, y mayor efecto al ser aplicados en estado deshidratado. Con Eruca vesicaria se alcanzaron las mayores reducciones en el porcentaje de germinación. La duración del tratamiento no tuvo efecto. En el campo, se comparó el efecto de la biofumigación con repollo con la aplicación de herbicida en dos momentos diferentes, agosto y diciembre. El momento de aplicación afectó la biomasa, las especies presentes y la cobertura total, siendo muy eficaz durante el período estival, con resultados equivalentes a los obtenidos con el control químico.

Palabras clave: Biofumigación - Herbicidas - Contaminación ambiental - Flora arvense

Alternatives for reducing the use of agrochemicals in weed control in vegetable crops in the Upper Valley of Río Negro and Neuquén

ABSTRACT

In the Alto Valle de Rio Negro y Neuquén horticulture production represents the second agriculture activity in the region. Traditionally, weed control in these crops has been based in herbicides use, implying high incidence in production cost, a raise in environmental contamination and the eventual development of resistance. It's necessary to develop environmental-friendly techniques, with high efficiency and economically viable. In this study the biofumigant potential of three brassicáceas: Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia and Brassica oleracea var capitata (cabbage) was assessed in the laboratory. The effect of doses, material humidity condition, and the treatment length was measured over germination capacity of Chenopodium album and Setaria verticillata selected as indicators. The three biofumigants affected germination, with reductions from 7,5 to 93% compared with control. With Eruca vesicaria the largest reductions were achieved in the percentage of germination. The higher effect was observed when dried materials were applied. The treatment length had no effect. In the field, the effect of biofumigation with cabbage was compared to herbicide on two different moments, August and December. The time of application affected biomass, species present and full coverage, resulting very effective during the summer, with results equivalent to those obtained with herbicide application.

Key words: Biofumigation - Herbicides - Environmental pollution - Weeds

Capítulo I

INTRODUCCIÓN

GENERAL

1. PROBLEMÁTICA DEL USO DE AGROQUÍMICOS

Con base en la evidencia, la población mundial está aumentando en un estimado de 97 millones de personas por año y se espera que alcance casi 10 mil millones en 2050 (Saravi & Shokrzadeh, 2011). Por esta razón uno de los objetivos más importantes de todos los países es el aumento de la producción de alimentos. La búsqueda de incrementar la producción agrícola ha ido acompañada por un aumento constante en el uso de agroquímicos, de tal manera que herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, fertilizantes y enmiendas del suelo están siendo utilizados en mayores cantidades que en el pasado (Butinof et al., 2014; Harsimran & Garg, 2014). Se ha estimado que a nivel mundial casi 38 mil millones de dólares se gastan en plaguicidas cada año (Pan-Germany, 2012, en Harsimran & Garg, 2014).

En el caso de Argentina, si se toma como base el año 1996, donde se utilizaban cerca de 30 millones de litros de agrotóxicos, se llega al año 2007 donde se aplicaron cerca de 270 millones de litros. Esto pone en evidencia un claro incremento ligado a varios factores, como son: la expansión de la superficie agrícola - ya sea por deforestación como por el reemplazo de actividades -, la expansión de los cultivos transgénicos y la aparición de resistencias en hierbas silvestres e insectos (Souza Casadinho, 2009).

El modelo de agricultura extensiva del país, basado en el cultivo de soja transgénica resistente al glifosato, sin labranza, y el uso intensivo de fertilizantes y plaguicidas, es altamente dependiente de las tecnologías modernas (Lantieri et al., 2011). En Argentina, la legislación relativa al registro, comercialización y aplicación de plaguicidas es incompleta, permisiva y obsoleta. Por un lado existen serias deficiencias en el registro; por ejemplo, no existe participación del Ministerio de Salud en la aprobación de los plaguicidas de uso agrícola. También se da el caso de plaguicidas prohibidos o restringidos en los países de origen cuyo uso en Argentina está permitido – el caso del Fipronil, retirado del mercado en Alemania por su probado efecto contra la supervivencia de las abejas (Souza Casadinho, 2009). Además, la debilidad en el cumplimiento de las normas que regulan la actividad de aplicación de

agroquímicos destaca como uno de los factores que aumenta el riesgo para la salud de los trabajadores agrícolas y de la población en general (Butinof et al., 2014).

Entre los problemas ligados al uso excesivo de agroquímicos se pueden puntualizar:

1.1. Aparición de resistencia

La resistencia puede ser definida como “un cambio heredable en la sensibilidad de una población de plaga, que se refleja en la falla repetida de un producto para alcanzar el nivel esperado de control cuando es usado de acuerdo a la recomendación de la etiqueta para esas especies de plagas” (IRAC, 2013, en Harsimran & Garg, 2014).

La aplicación continua de los mismos principios activos de plaguicidas lleva a que estos generen resistencia en los organismos que pretenden controlar. En este caso las dosis normales de productos químicos no poseen el efecto inicial sobre ellos. Por lo general en una población los individuos resistentes tienden a ser poco frecuentes, pero el uso indiscriminado de productos químicos puede eliminar las sub-poblaciones susceptibles de la población original, proporcionando de ese modo a los individuos resistentes una ventaja selectiva en presencia de un plaguicida. Como la aparición de resistencia se transmite de generación en generación, en unos pocos años toda la población - de insectos, hongos o malezas - será resistente.

Stuart (2003), reportó resistencia a los plaguicidas en 520 especies entre insectos y ácaros, 150 especies de patógenos de plantas y 273 especies de malezas. En Argentina el sorgo de Alepo fue la primera maleza resistente al glifosato detectada en 2005 y según la red de conocimiento en malezas resistentes (REM) coordinada por Aapresid (Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa), recientemente se confirmó su resistencia a graminicidas, específicamente al Haloxifop R metil, de gran uso en la actualidad. Otro ejemplo es Amaranthus hybridus importante maleza de hoja ancha, en la que se ha determinado la existencia de biotipos resistentes en

sitios con repetidas aplicaciones de herbicidas de los grupos sulfonilureas e imidazolinonas en los primeros años de la década de 1990. En soja, las pérdidas de rinde por la falta de control de esta maleza pueden ser totales, ya que no solo compite con el cultivo por los recursos, sino que en casos extremos puede impedir la cosecha por su grueso tallo leñoso y gran porte (Tuesca & Nisensohn, 2001).

Ante la proliferación de individuos resistentes, la actitud asumida comúnmente por los productores es aumentar la dosis del producto utilizado. Un caso documentado para Argentina es el del glifosato donde de una sola aplicación de 3 litros por hectárea, llevada a cabo a fines de los años '90, se pasa a mediados de la década del 2000 a más de 3 aplicaciones de más de 12 litros por ha y por año (Arias, 2005). Respecto al herbicida 2,4 D se amplían año tras año las cantidades utilizadas debido no solo a la expansión del cultivo de soja sino por la aparición de tolerancia y resistencia en las plantas silvestres a las dosis "normales" del herbicida glifosato (Souza Casadinho, 2009).

- **Tolerancia**

La tolerancia es la habilidad inherente de una especie a sobrevivir y reproducirse luego del tratamiento aún con dosis altas de un herbicida. No hay un proceso de selección de la especie no controlada por el herbicida, como ocurre en el caso de la resistencia. En el país se han citado muchas especies de malezas tolerantes al glifosato, aunque el nivel de tolerancia es muy variable entre las mismas. Entre ellas se cuentan Anoda cristata (Puricelli *et al.*, 2004; Puricelli & Faccini, 2005), Commelina erecta (Nisensohn & Tuesca, 2001), Oenothera indecora (Puricelli *et al.*, 2005), Parietaria debilis (Papa & Puricelli, 2003), Rumex crispus (Faccini *et al.*, 2005) y Trifolium repens (Puricelli *et al.*, 2004), entre otras.

1.2. Resurgimiento de plagas

El aumento de la cantidad y frecuencia de las aplicaciones de pesticidas ha planteado un reto importante para las plagas objetivo del control, obligándolas ya sea a dispersarse a nuevos ambientes y/o adaptarse a las nuevas condiciones (Meyers & Bull, 2002; Cothran *et al.*, 2013). Además de la

aparición de especies resistentes a pesticidas, esto ha dado como resultado un aumento en la incidencia de reaparición de plagas. El resurgimiento se refiere a la rápida reaparición de una población plaga en números perjudiciales después de la aplicación de plaguicidas. Esto se debe a que, en ocasiones, la eliminación de una plaga primaria ofrece condiciones favorables para que las plagas secundarias logren convertirse en plagas primarias o clave (Dhaliwal et al., 2006).

1.3. Efectos sobre organismos no deseados

La mayoría de los pesticidas no son específicos y pueden matar a organismos que son inofensivos o útiles para el ecosistema. Se ha estimado que sólo el 10 por ciento de los plaguicidas aplicados alcanza el organismo objetivo, por lo que un alto porcentaje se deposita en áreas no objetivo (suelo, agua, sedimentos) y, así como afecta a la salud pública, impacta organismos no objetivo, como la vida salvaje (Ortiz-Hernández et al., 2011, en Butinof et al., 2014). Por ejemplo, se ha informado que el glifosato, el herbicida más utilizado a nivel mundial, puede tener efectos de largo alcance sobre los anfibios no objetivo (Relyea, 2012). En estudios realizados en condiciones naturales en estanques al aire libre en Estados Unidos, este herbicida provocó una alta mortalidad de los renacuajos larvales (3 especies diferentes de América del Norte) y ranas juveniles (Relyea, 2005).

A diferencia de las plagas, la resistencia a los plaguicidas en los enemigos naturales no es común debido a su menor exposición a los pesticidas (Khalil Talebi et al., en Stoytcheva, 2011).

Los siguientes son ejemplos de organismos no objetivo que han sido impactados negativamente por pesticidas.

1.3.1. Predadores y Polinizadores

Los predadores son organismos que viven a partir de otros organismos y juegan un papel muy importante en mantener las poblaciones de plagas bajo control. Estos organismos benéficos son también una parte importante del "control biológico". En estudios llevados a cabo para investigar los efectos de

los productos químicos sobre los artrópodos del suelo en una zona agrícola cerca del Parque Nacional de los Everglades, en EE.UU., se encontró un mayor número de artrópodos (incluyendo depredadores como coccinélidos y arañas) presentes en los campos no pulverizados en comparación a los campos fumigados con insecticidas y herbicidas (Amalin et al., 2009).

Los plaguicidas también pueden afectar el comportamiento de los depredadores y sus parámetros de historia de vida, incluyendo la tasa de crecimiento, el tiempo de desarrollo y otras funciones reproductivas. En estudios realizados en el este de EE.UU. se comprobó que los herbicidas a base de glifosato afectan el comportamiento y la supervivencia de las arañas y escarabajos de tierra, afectando la dinámica de la comunidad de artrópodos que pueden influir en el control biológico en un agroecosistema (Evans et al., 2010). Del mismo modo, en Calabria, Italia, se demostró que el Dimetoato produce una disminución significativa en el tamaño del cuerpo, en los recuentos de hemocitos y en parámetros morfométricos en escarabajos carábidos (Giglio et al., 2011).

Por otra parte los polinizadores son agentes bióticos que desempeñan un papel muy importante en el ecosistema. Sin embargo el uso de plaguicidas causa la pérdida directa de insectos polinizadores y pérdidas indirectas a los cultivos debido a la falta de poblaciones adecuadas de polinizadores (Fishel, 2011 en Harsimran & Garg, 2014). Por esta razón muchas veces estos organismos pueden ser utilizados como bioindicadores de los procesos ecosistémicos ya que sus actividades se ven afectados por el estrés ambiental causado por parásitos, competidores, enfermedades, depredadores, plaguicidas y las modificaciones del hábitat (Kevan, 1999).

1.3.2. Humanos

La incidencia de intoxicación por plaguicidas en entornos agrícolas incluye la exposición no intencional de niños, la exposición ocupacional de los jóvenes trabajadores del campo, la exposición para-ocupacional de los trabajadores agrícolas, sus familias y la comunidad adyacente, y la exposición a plaguicidas prohibidos (Ministerio de Salud. Secretaría de Ambiente y Desarrollo

Sustentable, en Butinof et al., 2014). Argentina informó uno de los más altos índices de accidentes agrícolas en el trabajo (94,8‰), con una tasa de mortalidad de 195 casos por millón de trabajadores, sólo superado por el sector de la construcción (229‰) (Ministerio de Salud de la Nación. Boletín Epidemiológico Anual, 2009). Hay varios factores que intervienen en la aparición de estos altos niveles de accidentes. El mayor consumo de plaguicidas (kg/año), la toxicidad y la diversidad de los productos agroquímicos aplicados, la extensión de las zonas de rociado, la laxitud de la vigilancia del Estado, las condiciones climáticas imperantes y, sobre todo, las condiciones de trabajo cotidianas de los aplicadores, se encuentran entre las principales variables que determinan los patrones de exposición ocupacional a pesticidas (Butinof et al., 2014).

Los agroquímicos pueden entrar en el cuerpo humano por contacto directo con los productos químicos, a través de los alimentos, especialmente frutas y verduras, agua contaminada o aire contaminado. Enfermedades tanto agudas como crónicas surgen de la exposición a plaguicidas. Así, la exposición continua a cantidades subletales de plaguicidas durante un período prolongado de tiempo (años a décadas), se traduce en enfermedades crónicas en los seres humanos (Pan Germany, 2012). El Paraquat, por ejemplo, es un herbicida no selectivo de amplio espectro que actúa por contacto y es tóxico para los mamíferos, incluido el ser humano. Causa el síndrome de trastorno respiratorio para el cual no existe un antídoto específico. También ha sido implicado en la inducción de la enfermedad de Parkinson (Song et al., 2010). Para el caso del Endosulfán las investigaciones dan cuenta de la aparición de diarreas, mareos, dolor de cabeza, náuseas, llagas, dolor de garganta y cuadros de asma (Bejarano González, 2008). Otro ejemplo es el Glifosato, el cual en las intoxicaciones agudas puede producir síntomas como: irritación de los ojos y de la piel, daños en el sistema respiratorio y a nivel pulmonar, mareos, descenso de la presión sanguínea, dolor abdominal, destrucción de glóbulos rojos y fallas renales (Revista Enlace, 2008). Lo más grave es la aparición de enfermedades de tipo crónico: desarrollo neurológico anormal (Garry et al., 2002), incremento en la incidencia del linfoma no – hodking (De Roos, 2003), afección en la placenta humana con probable incidencia en el desarrollo de abortos (Yoke

Heong, 2005). También puede actuar en la división celular con una posible incidencia en la aparición de cáncer (Revista Enlace, 2008). Recientemente la Agencia Internacional para la Investigación y el Cáncer (IARC) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha etiquetado al glifosato como "probablemente cancerígeno para los seres humanos". Este herbicida es actualmente el de mayor uso en nuestro país, de tal manera que en el año 2014, se aplicaron 79 millones de litros de este producto en soja y otros cultivos.

El estudio realizado por Butinof et al. (2014) mostró que la población rural tenía una baja percepción de peligro en relación con el uso de herbicidas y fungicidas y una percepción más alta respecto al grupo de los insecticidas.

1.3.3. Efectos sobre el ambiente

Una fracción importante de los plaguicidas que se utilizan para la agricultura y otros propósitos se acumula en el suelo. Los plaguicidas que llegan al suelo pueden afectar negativamente el crecimiento y la diversidad microbiana del mismo. Se informó que los herbicidas del tipo sulfonilureas produjeron una reducción en el crecimiento de algunas cepas de bacterias antagonistas como las Pseudomonas fluorescentes que fueron aisladas de un suelo agrícola (Boldt & Jacobson, 1998). Otro aspecto relacionado con la complejidad del uso de agroquímicos es su persistencia en el suelo, la cual puede afectar los cultivos siguientes en la rotación como resultado de los residuos que permanecen en el suelo. Esto sucede especialmente en cultivos hortícolas donde las rotaciones son muy rápidas e intensivas y la fitotoxicidad de los plaguicidas utilizados puede afectar el cultivo siguiente si el ciclo del cultivo anterior fue muy breve (Zaragoza, 2001). Un ejemplo es la Atrazina, usada para el control de malezas principalmente en cultivos de maíz, caña de azúcar y sorgo, que puede tener una persistencia en el suelo de 2 a 6 meses, según el tipo de suelo, la dosis aplicada y la cantidad de lluvia caída, por lo que no se aconseja la siembra de cultivos sensibles (hortalizas, soja, maní, papa, etc.) antes de que hayan transcurrido 4 a 6 meses desde la aplicación. El uso de este herbicida está restringido en los Estados Unidos de América y ha sido prohibido en varios países de la Comunidad Europea debido a que se asocia con una

relativamente elevada toxicidad crónica y potencial de acumularse como sustancia recalcitrante en agua superficial y subterránea (Hansen et al., 2013). También se ha reportado la influencia de los agroquímicos sobre la mineralización de la materia orgánica del suelo, que es una propiedad clave que determina la calidad y productividad de este. Por ejemplo, se encontró una reducción significativa de la materia orgánica del suelo después de la aplicación de cuatro herbicidas (atrazina, primeextra, paraquat y glifosato). Por otra parte, hay cada vez más interés en los productos de transformación de plaguicidas, ya que pueden estar presentes en niveles más altos en el suelo que el propio progenitor. Por ejemplo el ácido aminometilfosfónico, AMPA, el principal metabolito del glifosato, es más estable que éste (Grossbard & Atkinson, 1984; Franz et al., 1997). En algunos casos, los productos de transformación son más tóxicos, por lo que representan un mayor riesgo para el medio ambiente que la molécula parental.

Las partículas de los plaguicidas pueden alcanzar las fuentes de agua, ya sea por las aplicaciones directas sobre las mismas como por la percolación entre las partículas del suelo llegando a las napas de agua (Davies, 1990, en Souza Casadinho, 2009). El impacto de los plaguicidas dentro de un ambiente acuático está influenciado por su solubilidad en agua y la capacidad de absorción dentro de un organismo (Pereira et al., 2013). Por ejemplo la clomazona es un herbicida ampliamente utilizado, particularmente soluble en agua, propiedad que incrementa su probabilidad de contaminación de aguas superficiales y subterráneas. A su vez, la naturaleza hidrofílica de este plaguicida lo hace menos disponible en los tejidos grasos del organismo (Pereira et al., 2013). La atrazina se considera ligeramente tóxica para la vida acuática (Graymore et al., 2001) y es un inductor de hermafroditismo en ranas, en concentraciones tan bajas como 0,1 µg/L (Hayes et al., 2002). Asimismo, la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) determinó que existe evidencia de carcinogenicidad de este herbicida en animales, aunque no en seres humanos (USEPA 2003, en Hansen et al., 2013).

Es importante tener en cuenta no solo la toxicidad específica del producto químico utilizado, sino también sus características físico-químicas, que

determinan su comportamiento en el ambiente luego de la aplicación. Entre las propiedades más importantes a tener en cuenta están la solubilidad, su adhesión a las partículas del suelo, la capacidad de evaporarse, su vida media en el ambiente y su acumulación en las cadenas tróficas.

2. PROBLEMÁTICA DE MALEZAS EN LA PRODUCCIÓN HORTÍCOLA

Argentina es uno de los principales productores de cultivos en América Latina, siendo la exportación de cereales y oleaginosas uno de los ejes principales de la economía nacional. Esta producción extensiva de cereales y oleaginosas para el mercado internacional coexiste con la horticultura intensiva y la agricultura familiar, con amplia distribución geográfica, sobre todo cerca de los centros urbanos, y la diversidad de especies cultivadas, que ocupa un área de cerca de 230.000 hectáreas, dando una producción anual de más de 10 millones de toneladas, principalmente para el consumo interno (Butinof et al., 2014).

En la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén la producción hortícola, aunque es mucho menor que la frutícola en cuanto a volumen de producción y superficie cultivada, es muy importante y representa la segunda actividad agrícola de la región (Ohaco, 2008; Villegas Nigra et al., 2011). Constituye una actividad secundaria de la fruticultura y se encuentra diferenciada por distintos niveles de desarrollo. Por su importancia económica y tecnológica se destacan las producciones especializadas de cebolla, papa, zapallo anquito y tomate para industria. En los valles irrigados se realiza además una producción diversificada de hortalizas (de hoja, de tallo, de raíz y de fruto) (Ley 2669 Copade- Plan Hortícola Provincial).

En la última década se ha registrado una constante evolución de la actividad hortícola en esta región, estimándose en la actualidad unas 8.000 ha cultivadas. Los Valles Medio (Choele Choel, Lamarque, Pomona) e Inferior (Viedma, Gral. Conesa) son las áreas más importantes con casi 80% de la producción hortícola de la región. Las principales especies cultivadas son tomate para industria y consumo fresco, cebolla y zapallo tipo Butternut que ocupan 70% de la superficie cultivada con hortalizas, mientras el 30% restante

corresponde a papa y otras 20 especies que se producen durante todo el año para abastecimiento local y del sur de la Patagonia. La producción de tomate para industria es la principal actividad hortícola, ocupando unas 2.000 a 2.500 ha. La cebolla es el segundo cultivo hortícola, con una expansión importante en los últimos años debido a las posibilidades de exportación con destino a Europa (Bélgica, Italia) y a Brasil. La superficie cultivada en la región abastece sólo alrededor del 30% del consumo local de hortalizas, el resto proviene de otras zonas hortícolas como Mendoza y Buenos Aires. En el Alto Valle hay en la actualidad unas 20 ha de cultivo bajo invernadero, con un fuerte incremento en los últimos años y con tendencia de crecimiento, siendo el tomate la principal hortaliza cultivada en este sistema de producción (Fernández Lozano, 2012).

En los cultivos hortícolas el manejo de malezas requiere un enfoque particular; sólo unos pocos de ellos son buenos competidores ya que tienen la capacidad de cubrir el suelo rápidamente tapando las malezas, como por ejemplo el repollo o el alcaucil, mientras que muchas de las hortalizas como las Aliáceas, las zanahorias o el maíz dulce, crecen lentamente y cubren poco el suelo sufriendo una fuerte competencia no solo por agua, nutrientes y luz, sino incluso por espacio, por lo que si el control de malezas no se lleva a cabo en forma oportuna probablemente no haya producción (Zaragoza, 2004).

Hay muchos ejemplos de problemas de reducción de rendimiento de los cultivos que indican la gran sensibilidad de las hortalizas a la competencia temprana de las malezas y la necesidad de controlarlas en las primeras etapas de crecimiento (Labrada, 1996; Zaragoza, 2001), (Figs. 1.1 y 1.2).

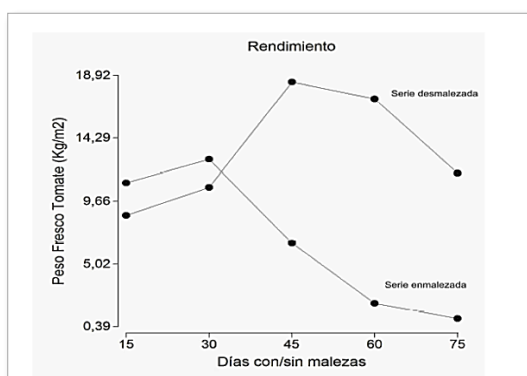


Figura 1.1. Rendimiento del cultivo de tomate con diferentes períodos de enmalezado (Extraído de D'Antoni et al 2012)

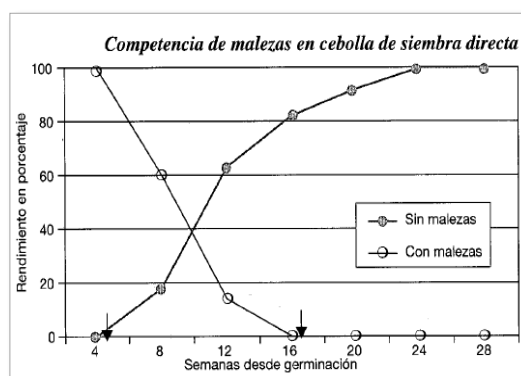


Figura 1.2. Rendimiento del cultivo de cebolla de siembra directa con y sin malezas (Campeggia, 1997)

La competencia de las malezas es particularmente seria en el caso de los cultivos hortícolas de siembra directa. El período crítico de la competencia (o sea, el período durante el cual debe ser hecho el control de las malezas) es por lo general mayor en las siembras directas que en los cultivos trasplantados. Por ejemplo, si en un cultivo de pimientos trasplantados las malezas deben ser controladas entre la segunda semana hasta el tercer mes después del trasplante para prevenir una pérdida del 10 %, en el caso de siembra directa de pimiento este control debe ser hecho durante los cuatro primeros meses después de la emergencia para prevenir la misma pérdida (Medina, 1995).

Aparentemente algunas técnicas tradicionales incrementan la competitividad del cultivo (p. ej., trasplante, camas levantadas). Obviamente, las condiciones del tiempo y la densidad de las malezas tienen una gran influencia en la duración de los períodos críticos. Por ejemplo, una ola de frío que afecte a algunos cultivos de hortalizas en su etapa inicial, puede provocar un crecimiento lento, una mayor competencia por parte de las malezas y mayor pérdida de rendimiento (Zaragoza, 2004). Esto trae dos implicancias al control de malezas en este tipo de cultivos: primero, que es fundamental asegurar baja presión de las poblaciones de malezas durante las primeras etapas de crecimiento del cultivo para que éste logre establecer dominancia sobre aquéllas, y segundo, que es muy importante controlar la producción de propágulos y su almacenamiento en el suelo, pues se trata de especies caracterizadas por dejar descendencia en gran cantidad, lo que las vuelve cada vez más invasoras y de más difícil eliminación (Portela, 2008).

2.1. Malezas

Las malezas pueden definirse como plantas que crecen en sitios no deseados por el agricultor e interfieren de manera negativa con los cultivos u otras actividades humanas (Bello et al., 2003). No constituyen un grupo botánico sino una categoría artificial de carácter antropocéntrico dentro del reino vegetal, lo que hace que prácticamente cualquier planta pueda ser considerada maleza si crece en un lugar en el que no es deseable. Este criterio tiene poco que ver con

los fenómenos naturales de carácter biológico y ecológico que en última instancia son responsables de la existencia de una planta en un lugar determinado (Fernández, 1979).

Las malezas forman parte de un ecosistema altamente perturbado y permanentemente en estado de etapa inicial de la sucesión secundaria (Radosevich et al., 1997). El enmalezamiento posee además características diferenciales de la sucesión secundaria convencional, dado que:

- Existe un subsidio de energía al sistema (fertilizantes, combustibles, agroquímicos);
- Hay recurrencia y cierta periodicidad en las perturbaciones (labranzas, etc.);
- El sistema produce información (modificaciones del ambiente térmico o lumínico) que es captada y almacenada por el banco de propágulos del suelo (Rodríguez Lagreca, 2003).

Cultivos y malezas comparten características taxonómicas y orígenes evolutivos comunes, de tal manera que de las 30 familias botánicas que incluyen a las especies de malezas más agresivas a nivel mundial, cinco de ellas -Poáceas, Solanáceas, Convolvuláceas, Euforbiáceas y Fabáceas- también suministran el 75% del alimento mundial. Por ello, las malezas están adaptadas al ambiente agrícola y poseen una serie de estrategias que maximizan un rápido crecimiento y una reproducción prolífica en hábitats perturbados (Rodríguez Lagreca, 2003).

Su capacidad de persistencia se relaciona con la elevada producción de semillas, largo periodo de viabilidad, germinación escalonada y resistencia fisiológica. La germinación escalonada se debe al fenómeno de dormición, que es una característica muy variable, aún entre semillas de una misma planta y es considerado como el factor primario que contribuye a la presencia continuada de semillas de malezas en los suelos agrícolas. Como contraste, la dormición ha sido eliminada por mejoramiento genético en la mayoría de las especies cultivadas, de manera tal que ocurra una germinación y emergencia sincrónica. Otra característica importante de las especies consideradas malezas es su plasticidad genética que les confiere adaptabilidad, es decir la

capacidad de subsistir frente a diferentes situaciones o métodos de control, ya que dentro de una población pueden encontrarse individuos mejor adaptados, más tolerantes o resistentes frente a algún factor, por ejemplo un herbicida, que van a ser los que sobrevivan y se multipliquen mientras perdure esa presión selectiva.

2.2. Interacción de las malezas con los cultivos

Las malezas posiblemente constituyen el componente económico más importante del total del complejo de adversidades biológicas que afectan a los cultivos, el que incluye insectos, ácaros, nematodos y patógenos de plantas. Las malezas compiten con las plantas cultivadas por los nutrientes del suelo, agua y luz, sirven de hospederas a insectos y patógenos dañinos de las plantas cultivadas, obstruyen el proceso de cosecha y aumentan los costos de tales operaciones. Además, al momento de la cosecha las semillas de las mismas contaminan la producción obtenida.

Menos conocidos son los fenómenos de interferencia a nivel del sistema radical, en los que pueden intervenir mecanismos relacionados con la disponibilidad del oxígeno en el suelo. Hay que tener en cuenta que el desarrollo radical de una planta, es decir el volumen de suelo explorado por las raíces, disminuye cuando crece en vecindad con otra. Además, existen otros fenómenos de interferencia relacionados con la excreción de sustancias de desecho nocivas para otras plantas. Estos productos, conocidos habitualmente como sustancias alelopáticas, pueden presentar efectos inhibitorios e incluso tóxicos en algunos casos (Bello et al., 2003). Un tipo especial de interacción es el de las plantas parásitas que viven a expensas de otros vegetales, como la cuscuta (Cuscuta sp.) y Orobanche spp. Estas plantas, desprovistas de clorofila, toman del huésped los hidratos de carbono necesarios para su supervivencia (García Torres, 1993).

En cuanto a la relación entre la flora arvense y los organismos causantes de plagas y enfermedades de los cultivos, por un lado pueden ser hospedantes y multiplicadoras de distintas patologías, agravando con frecuencia la acción de algunas plagas y enfermedades. Por el contrario, junto a estos organismos

fitófagos pueden encontrarse en la flora espontánea un gran número de artrópodos beneficiosos, que son depredadores y parasitoides de los anteriores y colaboran a mantener las plagas en niveles de población más aceptables, (Bello et al., 2003).

Las malezas poseen además cualidades beneficiosas que no por ignoradas son menos importantes: actúan como estabilizadoras del suelo controlando la erosión, contribuyen al mantenimiento de la fertilidad de los suelos agrícolas, ya que son capaces de asimilar excesos de abonos químicos que a veces se aportan a los cultivos y que, de otra manera, podrían lixiviarse y contaminar los acuíferos o bien salinizar los suelos, crean microclimas favorables para los microorganismos del suelo, suministran materia orgánica, constituyen hábitats adecuados de insectos, aves, etc., algunas también son indicadoras del tipo de suelo o clima (Valera et al., 1999).

2.3. Control de malezas

Tradicionalmente, el problema de las malezas ha sido enfocado desde el punto de vista de su exclusión del cultivo, de tal manera que existe toda una serie de métodos para controlarlas, que van desde prácticas culturales a medidas mecánicas, físicas, uso de herbicidas e incluso el control biológico.

2.3.1. Prácticas culturales

El control cultural se puede definir como cualquier práctica de manejo que aumente la capacidad de los cultivos para competir con las malezas (Burrill & Shenk, 1986). Las prácticas culturales engloban una serie de aspectos, tales como: prevención, preparación del terreno, período de plantación, enmiendas del suelo, manejo del agua, rotación de cultivos, acolchados, etc. (Gupta & Lambda, 1978; Anderson, 1983; Koch & Kunisch, 1989).

Las labores preparatorias del terreno tienen gran influencia sobre la emergencia de malezas. El tipo de labor es esencial, favoreciendo las más profundas a unas especies (de semillas grandes o longevas) mientras perjudica a otras (las de germinación más superficial o de corta longevidad, como Bromus) (Bello, 2003).

La rotación es la sucesión programada de cultivos durante un cierto período en la misma parcela o campo. Es un método fundamental de control para reducir la infestación de malezas en los cultivos de hortalizas. Se basa en que ciertas malezas tienden a asociarse con determinados cultivos, por lo que si se desarrolla un mismo cultivo continuamente durante varios años, esas especies pueden alcanzar altas poblaciones. El cambio a un cultivo diferente interrumpe este ciclo y cambia la presión de selección por determinadas especies. Esta práctica fue considerada durante largo tiempo como un elemento básico para obtener cultivos sanos y de buenos rendimientos, aunque fue erróneamente abandonada con el uso de mayores cantidades de agroquímicos (Zaragoza, 2004).

Otra acción importante desde el punto de vista del manejo, es evitar que los ejemplares de malezas que aparecen hacia finales de los ciclos de plantación y entre cultivos lleguen a completar su desarrollo, produciendo semillas o madurando nuevos órganos de reserva (Akobundu, 1987; Koch & Kunisch, 1989). La prevención de la producción de semillas durante varios años podría reducir con efectividad la población de malezas.

Entre los métodos culturales también se menciona el uso de cubiertas que inhiben la germinación de las semillas de malezas y retardan el crecimiento y desarrollo de muchas especies, reducen la temperatura y la erosión del suelo y conservan su humedad. El uso de acolchados de polietileno, relativamente costoso, está comúnmente restringido a cultivos de alto valor, al igual que las cubiertas plásticas biodegradables (Shenk, 1996; Cirujeda et al., 2012; Towa et al., 2013). La principal desventaja de esta técnica es la generación de desperdicios.

2.3.2. Métodos mecánicos

La escarda manual es el método más antiguo de control de malezas y, sin embargo, continua siendo actualmente necesario en muchas ocasiones, independientemente de las técnicas de cultivo, labores o tratamientos herbicidas realizados.

La escarda mecánica, para algunas especies hortícolas y técnicas de cultivo, puede ofrecer un excelente control de flora arvense. Como complemento a otras técnicas, permite restringir la utilización de herbicidas o acolchados con polietileno, limitándolos a las líneas de cultivo, lo que permite reducir su posible impacto ambiental y evitar la selección de las malezas más problemáticas para otros tipos de control.

2.3.3. Métodos físicos

Los métodos físicos, tales como el empleo de altas temperaturas, habitualmente asociadas al uso de vapor de agua o gas con llama directa, son poco usados actualmente. El costo de los equipos y, especialmente, el consumo energético que requieren, son las principales causas para que este tipo de desinfecciones del suelo sea económicamente insostenible para la mayoría de los cultivos hortícolas (Bello, 2003). El principio de acción es la coagulación de las proteínas al sobrepasar temperaturas de 70°C con el consiguiente estallido de células vegetales. Este método fue muy experimentado en USA en los años 60 y cayó en desuso a medida que se fue extendiendo el uso de herbicidas (Lacasta Dutoit, 2003).

Otro método de control físico es la solarización que consiste en cubrir el suelo con una lámina de polietileno transparente durante el periodo de mayor temperatura y luminosidad, para producir un incremento en la temperatura del suelo suficiente para reducir la población de malezas, hongos fitopatógenos y nematodos (Katan & Devay, 1991). Es un método de espectro amplio, simple, económicamente viable y respetuoso del ambiente. No afecta las propiedades del suelo y por lo general los cultivos sucesivos producen mayores rendimientos (Campiglia *et al.*, 2000). Tiene como inconveniente el no ser adecuado para las altas latitudes frías o los lugares nubosos. Además algunas especies pueden tolerar la solarización, por ejemplo, algunas malezas leguminosas de semillas grandes y las especies perennes de raíces profundas como Sorghum halepense, Cyperus rotundus, Equisetum spp. (Zaragoza, 2004).

2.3.4. Control químico

La introducción de los herbicidas en la agricultura cambió la percepción sobre las malezas, comenzando a vérselas como un problema secundario de fácil solución en lugar de un componente importante y decisivo en el diseño de sistemas de producción (Bastiaans et al., 2000).

El empleo de herbicidas constituye en estos momentos una de las bases fundamentales del control de malezas para muchos cultivos hortícolas. Su correcta utilización ofrece una de las más importantes herramientas con que cuenta la agricultura. Sin embargo, no hay productos perfectos capaces de controlar todas las especies que pueden afectar una plantación, y al mismo tiempo, respetar íntegramente al cultivo.

Los herbicidas son, por definición, productos capaces de inhibir o interferir la germinación o el desarrollo de algunas plantas. Su inocuidad hacia el cultivo que nos interesa depende muchas veces de la dosis que es capaz de tolerar, de su posicionamiento en el suelo, de las aplicaciones dirigidas o del estado fenológico. Por lo tanto, cualquier factor que permita que el cultivo reciba o disponga de mayor cantidad de producto del que es capaz de tolerar, o cualquier debilitamiento del cultivo por aspectos nutricionales, fisiológicos o patológicos, puede provocar daños más o menos importantes.

El creciente énfasis en el uso de herbicidas ha resultado a veces en menor rotación de cultivos y en el abandono de técnicas alternativas de control de malezas, lo que a su vez ha conducido al uso aún más intenso de los herbicidas (Martínez-Ghersa et al., 2000).

A pesar de todos los problemas que produce su utilización, la opinión generalizada es que sin el uso de herbicidas la agricultura no puede ser ni sostenible ni económicamente viable (Lacasta Dutoit, 2003).

Como ejemplo, es posible puntualizar que dentro del mercado de productos fitosanitarios en Argentina los herbicidas lideran el volumen de ventas, representando un 59% del total, con una alta incidencia en los costos de producción (Moltoni, 2012).

3. ALTERNATIVAS NO-QUÍMICAS PARA EL CONTROL DE MALEZAS

Se han propuesto distintas alternativas tecnológicas que plantean nuevos sistemas de manejo que eliminen o al menos reduzcan la manifestación de los inconvenientes relacionados al uso de agroquímicos antes enunciados. Como regla general, las nuevas alternativas tecnológicas intentan la obtención de niveles de producción similares o algo inferiores a los actuales, sostenibles en el largo plazo, y con una sustancial reducción en el uso de agroquímicos, combustibles y labranzas.

Entre las alternativas no químicas para el manejo de la sanidad en cultivos hortícolas se mencionan: cultivos sobre sustratos, utilización de variedades resistentes, uso de vapor de agua, control biológico, solarización y biofumigación (Bello et al., 1999).

La biofumigación se basa en la acción fumigante de las sustancias volátiles resultantes de la biodescomposición de la materia orgánica, para el control de los organismos patógenos del suelo. Al igual que la solarización implica el uso de plástico para retener, durante al menos dos semanas, los gases producidos en la biodegradación de la materia orgánica (Bello et al., 2003). Las críticas a éstos métodos se basan en las desventajas referidas al uso de plástico impermeable, necesidad de mejoramiento de la técnica de aplicación y la valoración técnico-económica. Desde el punto de vista ecológico, el uso del polietileno no deja de tener sus inconvenientes, debido tanto a su origen, ya que procede del petróleo, como a la dificultad de su reciclado (Guzman & Alonso, 2001).

La biofumigación es una técnica que utiliza las sustancias volátiles resultantes de la biodegradación de enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales en el control de malezas (Al-Katib et al., 1997; Bello et al., 1999) y de patógenos (Cebolla et al., 1993; Angus et al., 1994). El biofumigante utilizado debe estar en vías de descomposición y se debe asegurar al menos dos semanas la permanencia de los gases en el suelo (Bello et al., 2000). Se han ensayado diversos materiales, que incluyen estiércol de ganado, residuos industriales de papeleras y forestales, numerosos subproductos de la agricultura y residuos de

plantas con compuestos alelopáticos (Hoitink, 1988; Bello, 1998; Bello et al., 1999, 2000).

Originariamente el término biofumigación fue empleado para referirse a la utilización de productos químicos volátiles (aleloquímicos) que se originan a partir de tejidos dañados de plantas de la familia Brassicáceas para suprimir los patógenos del suelo, malezas y plagas (Kirkegaard et al., 1993). Las Brassicáceas o Crucíferas contienen compuestos conocidos como glucosinolatos que cuando se hidrolizan por acción de la enzima mirosinasa dan lugar a isotiocianatos (ITC's), (Kjaer, 1976). Los glucosinolatos no actúan directamente, pero sus derivados son biocidas muy eficaces contra nemátodos, hongos, bacterias, insectos y la germinación de semillas (Brown & Morra, 1996, 1997; Mitidieri, 2005; Gimsing & Kirkegaard, 2009). Los ITC's liberados por las Brassicáceas son similares al producto de degradación activa (metil ITC) de los fumigantes sintéticos metam sodio, metam potasio y dazomet (Mattner et al., 2008). Además, las enmiendas con Brassicáceas pueden aumentar las poblaciones de *Pythium* spp. en el suelo (Mazzola et al., 2006), suprimiendo así las malas hierbas a través de dumping-off pre- y post-emergente (Hoagland et al., 2008). Se debe considerar un tiempo de carencia de entre 10 y 15 días antes de la siembra o transplante del cultivo.

La biofumigación no tiene efectos negativos sobre la salud de los consumidores ni el medio ambiente. No tiene limitaciones de uso dentro de los reglamentos de producción integrada y la producción agrícola bajo esta técnica puede tener precios competitivos si se usan residuos agroindustriales de bajo costo. En suelos arcillosos es posible obviar la utilización de plástico con riegos frecuentes que provocan la formación de una costra capaz de mantener sellada la superficie, impidiendo que se formen grietas con la consecuente pérdida de gases (Bello et al., 2003). Se recomienda efectuar la biofumigación cuando la temperatura sea superior a 20 °C. Esto es porque la temperatura del suelo es uno de los factores que afectan la actividad de la enzima mirosinasa (Al-Turki & Dick, 2003; Stoin et al., 2009). Se ha demostrado que el incremento de la actividad de la enzima se produce desde los 20 °C hasta los 40 °C, temperatura en que comienza a declinar, con una temperatura óptima de acción de 37 °C a pH 7 (Al-Turki & Dick, 2003).

Desde el año 1998 en la región del Comahue, en la Patagonia Argentina, se han realizado estudios sobre métodos de desinfección de suelo alternativos al bromuro de metilo y de bajo impacto ambiental, como la solarización y la biofumigación. En el primer caso se obtuvieron buenos resultados en la reducción del banco de semillas de malezas (Bustamante et al., 2001; Bustamante et al., 2003), aunque uno de los inconvenientes de este método reside en la necesidad de mantener el suelo cubierto con polietileno durante un periodo de entre 4 y 8 semanas que coincide con la época de mayor utilización por parte de los productores hortícolas.

Respecto a la biofumigación se han ensayado una variedad de materiales como biofumigantes para controlar nemátodos, hongos fitoparásitos y flora arvense (Azpilicueta et al., 2006; Iriarte et al., 2008; Bustamante et al., 2008). Los materiales ensayados como biofumigantes hasta ahora fueron estiércol de gallina ponedora en diferentes concentraciones, con y sin cobertura de polietileno, y hojas de repollo (Brassica oleracea var capitata), habiéndose obtenido reducciones de entre un 63 a 74% en la emergencia de malezas (Bustamante et al., 2008). Sin embargo, estos buenos resultados no se mantuvieron en experiencias posteriores, lo que indica la necesidad de seguir investigando a los fines de ajustar esta técnica en cuanto a dosis y duración del tratamiento, de acuerdo al grado de enmalezamiento que se presente en cada situación. También es necesario continuar la exploración respecto a otros productos con posible efecto biofumigante, sobre todo de recursos locales por el costo del transporte de los materiales orgánicos.

En función del problema planteado respecto al uso excesivo de agroquímicos y la necesidad de reemplazar el control químico por alternativas inocuas al medio ambiente y efectivas desde el punto de vista económico y social, se propuso:

Hipótesis de trabajo

- a- Es posible disminuir la población de malezas mediante la utilización de residuos de Brasicáceas como biofumigantes.
- b- Es posible adaptar la técnica de biofumigación a las condiciones de producción de hortalizas en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

c- La biofumigación permite disminuir el uso de herbicidas.

Objetivo general

Evaluar a la biofumigación como técnica para el control de malezas en cultivos hortícolas y de esta manera contribuir al desarrollo de un sistema de agricultura sustentable.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la aplicación de residuos de distintas especies de Brassicáceas sobre la población de malezas.
- Ajustar la técnica de biofumigación en cuanto a dosis y duración del tratamiento para la disminución de la población de malezas.
- Evaluar la eficiencia de la biofumigación respecto al control químico.

4. BIBLIOGRAFÍA

AKOBUNDU, I.A., 1987.- Weed science in the tropics. Principles and practices. John Wiley & Sons, Chichester. 522 pp.

AL-KATIB, K.; LIBBEY, C. & BOYDSTON, R., 1997.- Weed suppression with Brassica green manure crops in green pea. *Weed Science* 45: 439 - 445.

AL-TURKI, AHMAD & DICK, W., 2003.- Myrosinase activity in soil. *Soil Science Society of America Journal* 67:139 -145.

AMALIN, D.M.; PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.; LEAVENGOOD, J.& KOPTUR, S. 2009.- Effects of pesticides on the arthropod community in the agricultural areas near the Everglades National Park. *Proceedings of Florida State Horticultural Society* 122: 429 - 437.

ANDERSON, W.P., 1983.- *Weed Science Principles*. 2nd. edition West Publishing Company, St-Paul. 655 pp.

ANGUS, J. F.; GARDNER, P. A.; KIRKEGAARD, J. A. & DESMARCHELIER, J. M., 1994.- Biofumigation: Isothiocyanates released from Brassica roots inhibit growth of the takeall fungus. *Plant and Soil* 162: 107-112

ARIAS, S., 2005.- Transformaciones en la estructura agraria de la región pampeana causadas por el proceso de agriculturización de la década del '90. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. UBA

AZPILICUETA, C.; MAERO, E.; REYBET, G. & ESCANDE, A., 2006.- Efecto de la Biofumigación sobre una población de Meloidogyne en cultivo de avena y almácigo de cebolla en Neuquén. *Revista Horticultura Argentina*. Volumen 25, Nº 59, Pág., 49.

BASTIAANS, L.; KROPFF, M.J.; GOUDRIAAN, J. & VAN LAAR, H.H., 2000.- Design of weed management systems with reduced reliance on herbicides poses new challenges and prerequisites for modeling crop-weed interactions. *Field Crops Research* 67: 161-179.

BEJARANO GONZÁLEZ, F., 2008.- El Endosulfan y sus alternativas en América Latina. IPEN – RAPAL. Santiago de Chile.

BELLO, A., 1998.- Biofumigation and integrated pest management. In: A. Bello; J. A. González; M. Arias; R. Rodríguez Kábana (Eds). *Alternatives to methyl Bromide for the Southern European Countries*. Phytoma-España, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 99-126.

BELLO, A.; LÓPEZ-PÉREZ, J. A.; DÍAZ-VIRULICHE, L.; SANZ, R. & ARIAS, M., 1999.- Bio-fumigation and local resources as methyl bromide alternatives. Abstracts 3rd International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries", 7-10, December, Heraclion, Creta, Grecia, 170 pp.

BELLO, A.; LÓPEZ-PÉREZ, J. A.; SANZ, R.; ESCUER, M. & HERRERO, J., 2000.- 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.; LOPEZ-PEREZ, A. & GARCIA ALVAREZ, A., 2003.- Biofumigación en agricultura extensiva de regadío. Ediciones Mundi Prensa, Parte 2: 341-400.

BOLDT, T.S. & JACOBSEN, C.S., 1998.- Different toxic effects of the sulphonyl urea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonas isolated from an agricultural soil. *FEMS Microbiology Letters* 161: 29-35.

BROWN, P. & MORRA, M., 1996.- Hydrolysis products of glucosinolates in Brassica napus tissues as inhibitors of seed germination. Plant and Soil 181: 307-316.

BROWN, P. & MORRA, M. J., 1997.- Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. Advances in Agronomy 61: 167-231.

BURRILL, L. & Shenk, M., 1986.- Instructor's Manual for Weed Management. FAO Training Series No. 12. Food and Agriculture Organization of The United Nations, Roma. 149 pp.

BUSTAMANTE, A. P.; SUÁREZ, A.; REYBET, G.; BUCKI, P.; DELAVAUT, M.; STICKAR, W. & ESCANDE, A., 2000.- Efecto de la solarización en el control de malezas y rendimiento de tomate a campo en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. XXIII Congreso Argentino de Horticultura. Pág. 62. Mendoza. Argentina.

BUSTAMANTE, A.; CONTICELLO, L.; REYBET, G.; SUÁREZ, A.; STARIK, C. & ESCANDE, A., 2001.- Efecto de la solarización sobre el banco de semillas de malezas en cultivos hortícolas. XXV Congreso Argentino de Horticultura. Encuentro Virtual de las Ciencias Hortícolas.
<http://www.asaho.com.ar/cahorticultura/intran/hortirama.htm>

BUSTAMANTE, A.; REYBET, G.; BUCKI, P.; SUÁREZ, A. & ESCANDE, A., 2003.- Efecto de la solarización sobre malezas de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. AGROSUR 31(2): 15-23. ISSN 0304-8802.

BUSTAMANTE, A., G. REYBET, J. ARANDO, A. & ESCANDE, A., 2008.- Efecto de la biofumigación con residuos orgánicos para el control de malezas. Horticultura Argentina 27(64): pág. 66. Sep.-Dic. 2008

BUTINOF, M.; FERNÁNDEZ, R.; LANTIERI, M.J.; STIMOLO, M.I.; BLANCO, M.; MACHADO, A.L.; FRANCHINI, G.; GIECO, M.; PORTILLA, M.; EANDI, M.; SASTRE, A. & DÍAZ, M.P., 2014.- Pesticides and Agricultural Work Environments in Argentina. Chapter 5. En Pesticides -Toxic aspects. Soloneski, Sonia (Ed.). <http://dx.doi.org/10.5772/57178>

CAMPEGLIA, O. 1997. Control de malezas. En Galmarini, C., 1997.- Manual del cultivo de la cebolla. Agro de Cuyo Manuales 16 INTA. Centro Regional Cuyo, Editar. San Juan.

CAMPIGLIA, E.; TEMPERINI, O.; MANCINELLI, R.; SACCARDO, F.; STOFFELLA, P.; CANTLIFFE, D. & DAMATO, G. 2000.- Effects of soil solarization on the weed control of vegetable crops and on cauliflower and

fennel production in the open air. 8th Int. Symp. on Timing of Field Production in Vegetable Crops. Bari, Italia. Acta Horticulturae, n° 533: 249-255.

CEBOLLA, V.; MARTINEZ, P. F.; DEL BUSTO, A. & CASES, B., 1993.- Control de Fusarium oxisporum f. sp. dianthi mediante solarización combinada con fumigantes a bajas dosis. Actas de Horticultura 9: 552-557.

CIRUJEDA, A.; AIBAR, J.; ANZALONE, A.; MARTIN-CLOSAS, L.; MECO, R.; MORENO, M.; PARDO, A.; PELACHO, A.M.; ROJO, F. ARITZ-ROYO, E. SUSUO, M.L. & ZARAGOZA, C., 2012.- Biodegradable mulch instead of polyethylene for weed control of processing tomato production. Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 32 (4):889-897.

COTHRAN, R.D.; BROWN, J.M. & RELYEA, R.A., 2013.- Proximity to agriculture is correlated with pesticide tolerance: evidence for the evolution of amphibian resistance to modern pesticides. Evolutionary Applications 6: 832-841.

D'ANTONI, M. J.; VENTO, B.; MORENO, G. & PORRA, C., 2012.- Determinación del período crítico de interferencia de malezas en el cultivo de tomate (Lycopersicon esculentum), San Juan, Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata, Vol. 111 (1): 23-30.

DE ROOS, A. J.; ZAHM, S. H.; CANTOR, K. P.; WEISENBURGER, D. D.; HOLMES, F. F.; BURMEISTER, L. F.; & BLAIR, A., 2003.- Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. Occupational and Environmental Medicine. 60 (9):11.USA.

DHALIWAL, G.S.; SINGH, R. & CHILLAR, B.S., 2006.- Essentials of agricultural entomology. Kalyani Publishers, New Delhi, India.

EVANS, S.C.; SHAW, E.M. & RYPSTRA, A.L., 2010.- Exposure to a glyphosate-based herbicide affects agrobiont predatory arthropod behavior and long-term survival. Ecotoxicology 19: 1249-1257.

FACCINI, D.; PURICELLI, E.; VERGARA, E. & TENAGLIA, M., 2005.- Control de Plantago tomentosa, Rumex crispus y Urtica urens con distintas dosis de herbicidas preemergentes. AAPRESID 76: 30-32.

FERNÁNDEZ, O., 1979.- Las Malezas y su evolución. Ciencia e Investigación 35: 49-60.

FERNÁNDEZ LOZANO, J., 2012.- La Producción de Hortalizas en Argentina. <http://www.mercadocentral.gob.ar/>

FRANZ, J. E.; MAO, M. K. & SIKORSKI, J. A., 1997.- Glyphosate A Unique Global Herbicide. Washington, DC: American Chemical Society. 653 pp

GARCÍA TORRES, L., 1993.- Biología y Control de Especies Parásitas. Ed. Agrícola Española S.A. Madrid. pp. 94.

GARRY, V.; HARKINS, M.; ERICKSON, L.; LONG-SIMPSON, L.; HOLLAND, S. & BURROUGHES, B., 2002.- Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the red River valley of Minnesota. Environmental Health Perspectives 110 (3): 441–449.

GIGLIO, A.; GIULIANINI, P.G.; ZETTO, T. & TALARICO, F., 2011.- Effects of the pesticide dimethoate on a non-target generalist carabid, Pterostichus melasitalicus (Dejean, 1828) (Coleoptera: Carabidae) –Italian Journal of Zoology Volume 78: 471-477.

GIMSING, A. L. & KIRKEGAARD, J.A., 2009. Glucosinolates and biofumigation: fate of glucosinolates and their hydrolysis products in soil. Phytochemistry Reviews 8: 299-310.

GRAYMORE, M.; STAGNITTI, F. & ALLINSON, G., 2001.- Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. Environment International 26: 483-495.

GROSSBARD, E. & ATKINSON, D., 1984.- The Herbicide Glyphosate. London: Butterworth-Heinemann Ltd. 490 pp

GUPTA, O.P. & LAMBA, P.S., 1978.- Modern Weed Science. Today and Tomorrow's Printers & Publishers, New Delhi. 481 pp.

HANSEN, A. M.; TREVIÑO-QUINTANILLA, L. G.; MÁRQUEZ-PACHECO, H.; VILLADA-CANELA, M.; GONZÁLEZ-MÁRQUEZ, L. C.; GUILLÉN-GARCÉS, R. A. & HERNÁNDEZ-ANTONIO, A., 2013.- Atrazina: un herbicida polémico. Rev. Internacional de Contaminación Ambiental 29: 65-84.

HARSIMRAN, K. G. & GARG, H., 2014. Pesticides: Environmental Impacts and Management Strategies. Chapter 8. En LARRAMENDY & SOLONESKI, Eds. Agricultural and Biological Sciences, “Pesticides – Toxic Aspects”. <http://dx.doi.org/10.5772/57399>

HAYES, T.B.; COLLINS, A.; LEE, M.; MENDOZA, M.; NORIEGA, N.; STUART, A. & VONK, A., 2002.- Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. PNAS 99, 5476-5480.

HOAGLAND, L., CARPENTER-BOGGS, L., REGANOLD, J. & MAZZOLA, M., 2008.- Role of native soil biology in Brassicaceae seed meal induced weed suppression. Soil Biol. Biochem (In Mattner et al., 2008).

HOITINK, H. A., 1988.- Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. Annd8-987-24373-0-51e Fitopatología. Pág. 233. ISBN 97. Rev. Phytopathol. 24: 93 – 114.

IRIARTE, L.; SOSA, M. C., REYBET, G. & ESCANDE, A., 2008.- Evaluación de la Biofumigación con repollo sobre la población de Fusarium oxysporum en cebolla. Libro de resúmenes Primer Congreso de Fitopatología. Pág. 233. ISBN 978-987-24373-0-51

KEVAN, P.G., 1999.- Pollinators as bioindicators of the state of the environments: species, activity and diversity. Agriculture, Ecosystems and Environment 74: 373-393.

KIRKEGAARD, J.A.; GARDINER, P.A.; DESMARCHELIER, J.M. & ANGUS, J.F., 1993.- Biofumigation using Brassica species to control pests and diseases in horticulture and agriculture. In: Proceedings of the Ninth Australian Research Assembly on Brassicas. Agricultural Research Institute, Wagga, Australia, 72-82.

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.

KOCH, W. & KUNISCH, M., 1989.- Principles of Weed-management. PLITS 7 (2). Universitat Hohenheim, Stuttgart. Josef Margraf, Weikersheim. 85 pp.

LABRADA, R., 1996.- Manejo de malezas en hortalizas. En Labrada, R., Caseley, J.C., Parker, C. Manejo de malezas para países en desarrollo. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal 120. FAO, Roma. pp. 298-308.

LACASTA DUTOIT, C., 2003.- Alternativas al uso de herbicidas. Fundamentos de Agricultura Ecológica 2003. Colección Ciencia y Técnica nº 41. Ediciones de la Universidad de Castilla La Mancha: 175-193.

LANTIERI, M.J.; BUTINOF, M.; FERNÁNDEZ, R.; STIMOLO M.; BLANCO, M. & DÍAZ M., 2011.- Work Practices, Exposure Assessment and Geographical Analysis of Pesticide Applicators in Argentina. Rijeka: In Tech; 2011.
<http://www.intechopen.com/books/pesticides-formulations-effects-fate>

Ley 2669, 2009.- Plan Productivo Provincial. Documento Sectorial Integral. Horticultura. 296-308

MARTÍNEZ-GHERSA, M. A; GHERSA, C. M. & SATORRE, E. H., 2000.- Coevolution of agricultural systems and their weed companions: implications for research. Field Crop Research 67: 181–190.

MATTNER, S. W.; PORTER, I.J. ; GOUNDER, R.K.; SHANKS, A.L.; WRENB, D.J. & ALLEN, D., 2008.- Factors that impact on the ability of biofumigants to suppress fungal pathogens and weeds of strawberry. Crop Protection 27: 1165–1173.

MAZZOLA, M., HOAGLAND, L., CARPENTER-BOGGS, L., ABI-GHANEM, R. & COHEN, M.F., 2006.- Contribution of resident soil microorganisms to Brassicaceae seed meal induced disease and weed suppression. In: Proceedings of the Second International Biofumigation Conference, Moscow, ID, USA, 26–28 June 2006, 57pp.

MEDINA, A., 1995.- Estudio de la flora arvense y su competencia en los cultivos de transplante y siembra directa de pimiento (Capsicum annuum L.), pp. 209. Escuela T.S. de Ingeniería Agraria. Univ. de Lérida, España. (Tesis Ph.D.)

MEYERS, L.; BULL, J. 2002.- Fighting change with change: adaptive variation in an uncertain world. Trends in Ecology and Evolution, 17: 551-557.

MINISTERIO DE SALUD DE LA NACIÓN. Boletín Epidemiológico Anual., 2009. www.msal.gov.ar/htm/site/sala_situacion/PANELES/boletines/BEPANUAL_2009.pdf

MITIDIERI, M., 2005.- La biofumigación en el marco del manejo integrado de plagas y enfermedades de cultivos hortícolas. Revisión bibliográfica [en línea]. [<http://www.inta.gov.ar/sanpedro/info/doc/2005/mm0507htm>].

MOLTONI, L., 2012.- Evolución del mercado de herbicidas en Argentina. Economía y Desarrollo Agroindustrial. INTA. Volumen 1, Nº 2. 5 pp.

NISENSOHN, L. & TUESCA, D., 2001.- Especies de malezas asociadas al nuevo modelo productivo de la región: Commelina erecta. Revista Agromensajes. Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, 5: 10-11.

OHACO, P., 2008.- Saber Cómo. Publicación mensual de INTI - Nro. 64 - Abril 2008.

ORTIZ-HERNÁNDEZ M.L.; SÁNCHEZ-SALINAS E., OLVERA-VELONA A., FOLCH-MALLOL J.L., 2011.- Pesticides in the Environment: Impacts and its Biodegradation as a Strategy for Residues Treatment. Rijeka: In Tech; 2011. <http://www.intechopen.com/books/pesticides-formulations-effects-fate>

PAN-GERMANY., 2012.- Pesticide and health hazards. Facts and figures. 2012; 1-16 (www.pan-germany.org/download/Vergift_EN-201112-web.pdf).

PAPA, J.C. & PURICELLI, E., 2003.- Control de Parietaria debilis con distintas dosis de herbicidas postemergentes. Revista Facultad de Ciencias Agrarias, UNR 4: 61-68.

PEREIRA, L.; FERNANDES, M.N. & MARTINEZ, C.B., 2013.- Hematological and biochemical alterations in the fish Prochilodus lineatus caused by the herbicide clomazone. Environmental Toxicology and Pharmacology 36: 1-8.

PORTELA, J.A., 2008.- Control de malezas en cultivos hortícolas: ¿una cuestión de factores o de procesos? Horticultura Argentina 27 (62): 28-34.

PURICELLI, E. & FACCINI, D., 2005.- Effect of soybean spatial arrangement and glyphosate dose on Anoda cristata demography. Crop Protection, 24: 241-249.

PURICELLI, E.; D. FACCINI; M. TENAGLIA & VERGARA, E., 2004.- Control de Trifolium repens con distintas dosis de herbicidas. Siembra Directa. AAPRESID 70: 39-40.

PURICELLI, E.; FACCINI, D.; TENAGLIA, M. & VERGARA, E., 2005.- Control de Oenothera indecora y Oenothera affinis con distintas dosis de herbicidas postemergentes. Agromensajes. Facultad de Ciencias Agrarias UNR. Año 3, 15: 3-4.

RADOSEVICH, S., J. HOLT, & C. GHERSA., 1997.- Weed ecology: implications and management. Second Ed. John Wiley & Sons. 589pp.

RELYEA, R.A., 2005.- The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians. Ecological Applications 15: 1118-1124.

RELYEA, R.A., 2012.- New effects of Roundup on amphibians: predators reduce herbicide mortality; herbicides induce antipredator morphology. Ecological Applications 22: 634-647.

REVISTA ENLACE., 2008.- Plaguicidas con prontuario, el Glifosato. Revista de la Red de Acción en plaguicidas y sus alternativas para América Latina Nº 80: 20-25. Santiago de Chile. Chile

RODRÍGUEZ LAGRECA, J., 2003.- Las malezas y el agroecosistema. En: Producción orgánica, aportes para el manejo de sistemas ecológicos en Uruguay. Montevideo: PREDEG. pp. 255 – 272.

SARAVI, S. & SHOKRZADEH, M., 2011.- Role of pesticides in human life in the modern age: a review. In: Stoytcheva M (ed.) Pesticides in the modern world-risks and benefits. In-Tech: 4-11.

SCHENK, M.D., 1996.- Prácticas culturales para el manejo de malezas. Cap. 8. En LABRADA, R.; CASELEY, J.C, & y PARKER, C. Manejo de malezas para Países en Desarrollo (Estudio FAO Producción y Protección Vegetal - 120).

SONG, C.; KANTHASAMY, A.; ANANTHARAM, V.; SUN, F. & KANTHASAMY, A.G., 2010.- Environmental neurotoxic pesticide increases histone acetylation to promote apoptosis in dopaminergic neuronal cells: relevance to epigenetic mechanisms of neurodegeneration. Molecular Pharmacology 77: 621-632.

SOUZA CASADINHO, J., 2009.- ¿Es sólo el glifosato? Acerca de la utilización e impacto de los plaguicidas en la agricultura argentina. Ecoportal.net.

www.produccion-animal.com.ar

STOIN D.; PIRSAN, P. & RADU, F., 2009.- Studies regarding the myrosinase enzymatic activity from black mustard (Brassica nigra) seeds. Journal of Food Agriculture & Environment 7(1): 44-47.

STOYTICHEVA, M., 2011.- Pesticides in the modern world - risks and benefits. www.intechopen.com. DOI: 10.5772/949. 572 pp.

STUART, S., 2003.- Development of resistance in pest populations. The University of Notre Dame. <http://www.nd.edu/~chem191/e2.html>

TOWA, J. J.; GUO, X. & ZHEN, B., 2013.- Effects of water management and mulching on weed control and rice grain yield under water saving irrigation model. Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.11 (1): 538-544.

TUESCA, D. & NISENSOHN, L., 2001.- Resistencia de Amaranthus quitensis H.B.K. a imazetapir y clorimurón-etil. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 36 (4): 601-606.

VALERA, F.; REY, P.; MARTINEZ, A. & ALCANTARA, J., 1999.- El uso de herbicidas y la conservación del medio ambiente: efectos sobre la flora y la fauna. Control integrado de malas hierbas. Ed. Fernández Quintanilla, Garrido y Zaragoza, 23-35.

VILLEGAS NIGRA, H.; PASAMANO, H.; FRETES, H. & ROMERA, N., 2011.- Sistemas Hortícolas en la provincia de Río Negro (República Argentina). Revista Pilquen-Sección Agronomía - Año XIII - N° 11.

YOKE HEONG, C., 2005.- Nuevas pruebas del peligro del herbicida Round – Up. Revista bioseguridad N° 160.

ZARAGOZA, C., 2001.- Uso de herbicidas en cultivos hortícolas. En: Uso de Herbicidas en la Agricultura del Siglo XXI, editado por De Prado, R. & Jarrín, J., Cap.15: 169-182. Servicio de Publicaciones. Universidad de Córdoba, España.

ZARAGOZA, C. 2004.- Manejo de malezas en los cultivos de hortalizas. En LABRADA, R. Manejo de malezas para países en desarrollo. Addendum I. Estudio FAO en Producción y Protección Vegetal 120.

.

Capítulo II

APTITUD DE DISTINTOS BIOFUMIGANTES PARA EL CONTROL DE MALEZAS EN CONDICIONES DE LABORATORIO

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas pueden producir compuestos, denominados aleloquímicos, que directa o indirectamente afectan a su entorno biológico. Una razón del interés en estos productos es su potencial para ser usados en sistemas alternativos de manejo de plagas. El uso en las prácticas agrícolas de los aleloquímicos producidos por algunas plantas podría minimizar el uso de pesticidas sintéticos, reducir el riesgo potencial de contaminación del medio ambiente y contribuir a un sistema agrícola más sostenible.

Amplios estudios sobre varios cientos de especies de la familia Brassicáceas indican que prácticamente todas son capaces de producir glucosinolatos (GLS) (Kjaer, 1976). Estos compuestos desempeñan un papel importante en el sistema de defensa contra agresiones externas y como fuente de azufre para la planta (De Haro-Bailón et al., 2013).

Las especies que contienen GLS tienen la aptitud de afectar a las comunidades vegetales cercanas o sucesivas. Así por ejemplo, se observó que los rendimientos de lino disminuían si estaban presentes especies de Camelina como malezas (Grümmer & Beyer, 1960); del mismo modo, el rastrojo de canola fue más inhibitorio de la emergencia de Avena sterilis (“avena loca”) que el trigo o la arveja (Jones, 1992). Campbell (1959) demostró que fragmentos de raíces de Brassica oleracea colocados en una placa de Petri con semillas de trébol (Trifolium repens) produjeron una inhibición de la germinación, sugiriendo la participación directa de los compuestos liberados por las plantas de Brassica. Con residuos de brócoli (Brassica oleracea var italica) agregados como enmienda al suelo se han obtenido retrasos en la germinación y el crecimiento de lechuga por 10 a 21 días (Patrick et al., 1963).

Existen numerosos reportes de la acción de estos compuestos sobre las malezas. Ramírez-Villapudua & Munnecke (1987) observaron que las parcelas tratadas con enmiendas de repollo y solarización se mantuvieron libres de malezas por meses. Investigadores en Suecia demostraron que la harina de semillas de Sinapis alba (mostaza blanca) aplicada al suelo, suprimió la emergencia de las malezas (Ascard & Jonasson, 1991; Johansson, 1992;

Oleszek *et al.*, 1994). Igualmente la harina de mostaza o "torta" incorporada en el interfilar de un cultivo de repollo con el objetivo de atraer enemigos de la mosca de la raíz, también produjo una reducción en el número de varias malezas anuales (Ascard & Jonasson, 1991). En ensayos de invernadero, el abono verde de esta especie redujo la emergencia hasta un 97% y proporcionó una efectiva supresión de malezas en arveja. En otro estudio, la enmienda del suelo con rábano silvestre (*Raphanus raphanistrum* L.) impactó negativamente sobre la producción de tubérculos y rizomas de *Cyperus eragrostis* (Norsworthy, 2003; Norsworthy & Meehan, 2005c). En el cultivo de cebolla, se ha alcanzado hasta un 91% de control en la emergencia de malezas empleando harina de semillas de *Sinapis alba* (Boydston *et al.*, 2011).

La toxicidad no se atribuye a los glucosinolatos en forma directa, sino a los productos biológicamente activos liberados tras la degradación enzimática producida en presencia de agua. Los GLS son hidrolizados por la enzima mirosinasa (tioglucósido glucohidrolasa) endógena, para producir Isotiocianatos (ITC's), tiocianatos y nitrilos, dependiendo de la estructura de la cadena lateral de la molécula y de las condiciones de la hidrólisis (Gimsing & Kirkegaard, 2009; Cortés Arias, 2011) (Fig. 2.1). La degradación también se produce térmicamente o por hidrólisis ácida (Kjaer, 1976; MacLeod *et al.*, 1981).

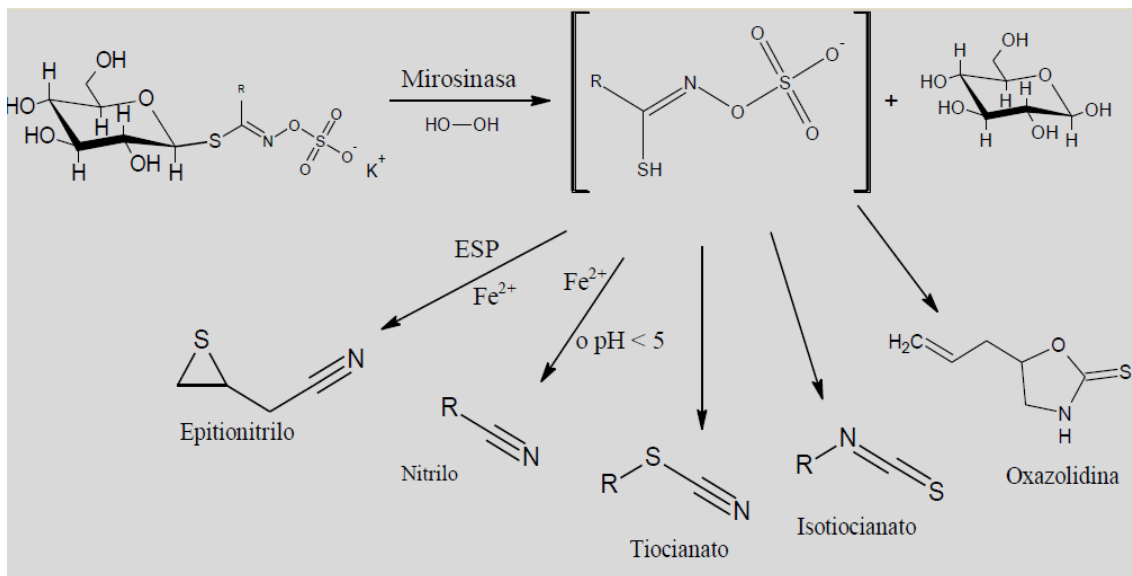


Figura 2.1. Hidrólisis de los GLS y posibles productos (Cortés Arias, 2011)

Los glucosinolatos y la mirosinasa están separados unos de otros en los tejidos vegetales intactos. Los primeros están contenidos en las vacuolas de diversos tipos de células (Grob & Matile 1979; Pocock et al., 1987), mientras que la enzima está contenida dentro de estructuras llamadas granos de mirosina, en células especializadas (idioblastos) que se distribuyen entre otras células de los tejidos de la planta (Thangstad et al., 1991; Höglund et al., 1992). La rotura de los tejidos permite que ambos entren en contacto produciéndose entonces la hidrólisis y la rápida liberación de productos de degradación: iones sulfato y glucosa, además de los compuestos biológicamente activos, como isotiocianatos, nitrilos y tiocianatos (Rosa & Rodríguez, 1999). Por lo tanto, la ruptura celular completa y el agua son factores importantes para maximizar la transformación de GLS en ITC's. Estos últimos se han considerado históricamente como los productos "normales" de ruptura de los glucosinolatos. A menudo son volátiles, con sabores u olores picantes, por lo que también son llamados aceites de mostaza.

Una técnica que ha sido estudiada e incorporada a un manejo integrado de la sanidad de los cultivos es la biofumigación, que consiste en la incorporación en el suelo de grandes cantidades de materia orgánica (principalmente estiércoles o residuos de Brassicáceas), junto con la aportación de grandes cantidades de agua (Bello et al., 2000). El material biofumigante se debe distribuir uniformemente e incorporar inmediatamente al suelo, el que posteriormente es regado hasta producir la saturación y es cubierto con polietileno para retener, durante al menos dos semanas, los gases producidos en la biodegradación de la materia orgánica (Tello, 1999). La acción de los microorganismos sobre la materia orgánica durante su descomposición produce una gran cantidad de productos químicos, entre los que se encuentran amonio, nitratos, ácido sulfhídrico y un gran número de sustancias volátiles y ácidos orgánicos. Para la aplicación de esta técnica se han ensayado diversos materiales, que incluyen estiércol de ganado, residuos industriales de papeleras y forestales, numerosos subproductos de la agricultura y residuos de plantas con compuestos alelopáticos (Hoitink, 1988; Bello, 1998; Bello et al., 2000).

Dada la capacidad para producir isotiocianatos citotóxicos (ITC's) muchas especies de la familia Brassicáceas o Crucíferas son adecuadas para la biofumigación del suelo (Fahey et al., 2001). El efecto supresor de las Brassicáceas sobre patógenos del suelo, malezas y nematodos fitoparásitos se ha demostrado en numerosos estudios de laboratorio, invernadero y de campo (Edwards & Ploeg, 2014).

Muchas variables contribuyen a los distintos grados de fitotoxicidad que presentan, una de ellas es la especie, y a veces el cultivar, que se utilice (Mason-Sedun et al., 1986; Boydston et al., 2011). Existen especies con muy pocos glucosinolatos y otras en las que se puede encontrar mayor variabilidad en el contenido y proporción relativa de GLS. Dentro de cada planta hay GLS que son más abundantes en determinados órganos de la misma, como la gluconasturtina que se localiza preferentemente en las raíces o glucobrassicina en las hojas. La concentración varía de acuerdo al estado fenológico de la planta y la concentración de nutrientes (azufre en particular) disponibles por la planta (Jiracek et al., 1974; Bell et al., 2015).

El contenido también puede estar influido por el estado de los tejidos vegetales utilizados. Se han obtenido mayores inhibiciones en el crecimiento de trigo con residuos de Brassicáceas apenas deshidratados que con residuos más viejos (Mason-Sedun et al., 1986). También las especies varían en la tolerancia a los aleloquímicos (Kasting et al., 1974; Oleszek, 1987; Mason-Sedun et al., 1986), así por ejemplo, los plantines de tomates transplantados en suelo enmendado con repollo parecen particularmente sensibles, marchitándose en 24 horas (Ramírez-Villapudua & Munnecke, 1988). En una experiencia realizada por Stiehl & Bible (1989), utilizando concentraciones cercanas a las que podrían encontrarse en situaciones naturales al incorporar un cultivo de cobertura, el porcentaje de germinación de 39 especies y cultivares hortícolas fueron semejantes a los controles, aunque el crecimiento de 22 de las especies se vio afectado negativamente. También se observó inhibición del crecimiento temprano de algunas plantas en bioensayos realizados por Park et al., (1983). La enmienda del suelo con canola (Brassica napus L.), semilla de colza (Brassica napus L.), y mostaza blanca (Sinapis alba L) redujo el establecimiento de una amplia gama de especies de cultivos y de malezas, del

23 al 34%, y retrasó su aparición en aproximadamente 2 días (Haramoto & Gallandt, 2005).

La supresión de la germinación puede en parte estar relacionada con el tamaño de la semilla, siendo las más pequeñas más susceptibles (Vera et al., 1987). No siempre hay correlación entre la inhibición de la germinación y la del crecimiento, por ejemplo la aplicación de extractos acuosos de Abutilon theophrasti tuvo poco efecto sobre la germinación de tomate, pero inhibió severamente el crecimiento después de la germinación (Gressel & Holm, 1964).

Dependiendo del órgano de la planta, la etapa de crecimiento, u otras condiciones, extractos de una misma especie vegetal pueden ser inhibidores o estimuladores de la especie objetivo (Jiménez-Osornio & Gliessman, 1987, en Brown & Morra, 1997). Muchas semillas de malezas mueren mientras están latentes, una capacidad que distingue a los ITC's de otros herbicidas. Aunque no se conocen los mecanismos exactos de inhibición de la germinación por ITC's, se cree que las concentraciones más altas pueden inhibir completamente la germinación de semillas mediante la interacción negativa con enzimas clave implicadas en la glicólisis y la respiración, mientras que bajas concentraciones pueden inducir latencia secundaria en semillas tratadas (Drobnica et al., 1977; Petersen et al., 2001).

Los efectos de los ITC's volátiles son de corta duración. En bioensayos de germinación de semillas, el 50% del metil-ITC desapareció en un lapso de 1 a 2 días, y el resto desapareció casi por completo en 5 a 7 días (Teasdale & Taylorson, 1986). El aumento del contenido de agua incrementa la longevidad de los ITC's en el suelo. Así, condiciones de humedad continua, especialmente combinada con bajas temperaturas, podrían provocar un aumento en la vida útil de los ITC's y quizás un mayor potencial para el control de plagas y enfermedades resultante de los tiempos de exposición más largos. Esto también podría extender los riesgos de efectos residuales sobre la implantación de cultivos posteriores (Brown & Morra, 1997).

Existen diferentes formas de incorporación de residuos en el suelo, tales como material fresco o polvoseco, usado en el momento más apropiado (Ramírez Villapudua & Munnecke, 1988; Rice et al., (2007), en Samtani et al., 2011). Según Dale (1986), el bencil ITC fue muy eficaz en la inhibición de la germinación de malezas cuando las semillas se colocaron en medio fresco; sin embargo, cuando las semillas fueron colocadas en medios con dos días de preparados, se observó muy poca diferencia respecto al control. Tejidos enteros pueden liberar productos más lentamente que los perturbados físicamente antes de la enmienda, ya sea por trituración, secado al aire, secado por congelación o molienda. A partir de tejidos enteros se producen concentraciones máximas más bajas, pero el periodo de liberación es potencialmente más largo. Las investigaciones indican que la maceración de los tejidos es de hecho necesaria para maximizar la liberación de ITC's (Morra & Kirkegaard, 2002).

Además del modo de incorporación, la eficacia de la biofumigación depende de diversos factores, tales como temperatura, pH, textura del suelo y fundamentalmente la especie empleada (Brown & Morra, 1997). La temperatura del suelo durante el proceso de biofumigación tiende a elevarse en relación a un suelo testigo sin tratamiento (Carrasco & Riquelme, 2004). Las temperaturas altas incrementan la fase de vapor y la dispersión de los isotiocianatos en el suelo (Brown & Morra, 1996). Las temperaturas inferiores a 15 °C provocan la disminución de la actividad enzimática y una menor degradación de los glucosinatos (Al-Turki & Dick, 2003; Stoin et al., 2009). Al parecer, a pH bajo se favorece la producción de nitrilos por los cultivos biofumigantes en lugar de ITC's (Van Etten & Tookey, 1979; Borek et al., 1994). Aunque los nitrilos producidos como productos de hidrólisis de GLS's son generalmente menos tóxicos para los agentes patógenos que sus correspondientes ITC's (Matthiessen & Kirkegaard, 2006), pueden persistir más tiempo en el suelo (Borek et al., 1995). Respecto a la especie empleada como biofumigante, en algunas el contenido de glucosinatos disminuye al inicio de la floración, no encontrándose grandes diferencias entre las raíces y la parte aérea, aunque hay especies como Brassica campestris que tiene mayor cantidad de GLS durante la floración (Fendwik et al., 1983).

Otros factores a tener en cuenta son la especie a ser controlada, el nivel de infestación, la forma de acondicionamiento y cantidad de biofumigante empleado y el tiempo de exposición al mismo. El nivel de supresión de malezas está ligado a las concentraciones de ITC's tóxicos liberados y su tiempo de permanencia en el suelo (Morra & Kierkegaard, 2002; Norsworthy et al., 2005a, b.). Las pérdidas por volatilización de los ITC's pueden reducirse sellando el suelo a través del riego o cubriendo el suelo enmendado con una película de polietileno de baja permeabilidad (Yates et al., 2002; Austerweil et al., 2006).

Respecto al tiempo de tratamiento, Lewis y Papavizas (1971) mostraron en contenedores sellados que las concentraciones que fallan para matar microorganismos en 2 días podrían matarlos en 4 a 6 días. La evidencia indica resultados similares con insectos y semillas (Pieczarka & Warren, 1960; Lichtenstein et al., 1962, 1964). Semillas latentes que componen el banco de semillas en el suelo y se exponen a exudados de las raíces durante cierto período de tiempo podrían ser más susceptibles a la inhibición que semillas introducidas expuestas a exudados de las raíces por un corto tiempo (Brown & Morra, 2005).

Teniendo en cuenta los antecedentes bibliográficos, la biofumigación aparece como una alternativa interesante para disminuir la incidencia de malezas, fundamentalmente por el hecho de ser ecológicamente inocua. Sin embargo, dado que son numerosos los factores que inciden sobre los resultados de la misma, es necesario seguir investigando a los fines de ajustar esta técnica de acuerdo a las distintas situaciones que pueden presentarse en cuanto al grado de enmalezamiento y especies que componen la población de malezas. También es necesario continuar la exploración respecto a productos con posible efecto biofumigante, sobre todo de recursos locales.

A partir de estas consideraciones se planteó:

Hipótesis

La utilización de diferentes especies de Brasicáceas como biofumigantes permite disminuir la abundancia de malezas presentes en cultivos hortícolas.

Objetivo general

Evaluar la aptitud potencial de distintas especies de Brassicáceas como biofumigantes para el control de malezas, en condiciones de laboratorio.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto biofumigante de tres especies de Brassicáceas (Brassica oleracea var capitata, Eruca vesicaria y Diplotaxis tenuifolia) sobre la capacidad germinativa de malezas indicadoras.
- Determinar la dosis, condición de los materiales empleados y duración de la biofumigación para una mayor eficacia en el control de malezas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron ensayos en el período 2013-2014, en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue (38° 56' S y 67° 59' O; 250 msnm). En condiciones de laboratorio se evaluó la capacidad potencial de tres especies de Brassicáceas para actuar como biofumigantes. En un primer ensayo se probaron estos materiales en tres dosis (3, 5 y 8 kg/m²) y dos estados, (fresco y deshidratado). A partir de los resultados obtenidos, se seleccionó el mejor tratamiento para la realización de un segundo ensayo en el que se evaluó el efecto de la duración del tratamiento.

2.1. Materiales

2.1.1. Obtención de los biofumigantes

Como biofumigantes se seleccionaron tres especies de Brassicáceas: “repollo” (Brassica oleracea var capitata), “roqueta” u “oruga” (Eruca vesicaria) y “flor amarilla” (Diplotaxis tenuifolia).

El repollo, además de ser un producto comercial que ya había sido probado en anteriores investigaciones en la región (Bustamante, et al., 2008; Iriarte et al., 2011), es una hortaliza cultivada comúnmente por los productores de la zona,

por lo que existe disponibilidad tanto de material fresco como de residuos posteriores a la cosecha (Iriarte et al., 2011). En este caso se trabajó fundamentalmente con residuos correspondientes a la parte aérea de la planta, constituidos por hojas y cabezas enteras. Eruca vesicaria y Diplotaxis tenuifolia son especies que se comportan como malezas, principalmente ruderales, naturalizadas y ampliamente extendidas en la región (Conticello & Bustamante, 2001; Conticello et al., 2008).

Las plantas de E. vesicaria y D. tenuifolia fueron colectadas en primavera, cuando las especies se hallaban en inicio de floración. De acuerdo a Kirkegaard & Sarwar (1998), la etapa de floración corresponde al momento en que el contenido de glucosinolatos, precursores de los ITC's, es máximo en las plantas, sin que se presenten diferencias significativas de contenido entre la raíz y la parte aérea. El material estuvo constituido principalmente por hojas y tallos tiernos, ya que estos representan el mayor volumen de la planta, acompañados por algunas pocas inflorescencias.

2.1.2. Selección y obtención de malezas indicadoras

La selección de las malezas indicadoras, Chenopodium album y Setaria verticillata, se realizó según los criterios de frecuencia y abundancia de las mismas en los cultivos hortícolas (Conticello & Bustamante, 2001). Estas especies corresponden a dos grandes grupos: Dicotiledóneas o latifoliadas y Monocotiledóneas o plantas de hoja estrecha, respectivamente. Además, en cuanto al ciclo, C. album es de ciclo otoño-invernal mientras que S. verticillata es de ciclo estival.

Las semillas de estas especies fueron colectadas entre los años 2012 y 2013 en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y forman parte de la colección de semillas de la cátedra de Botánica Agrícola Sistemática.

2.1.3. Preparación del sustrato:

Como sustrato para la realización de los bioensayos se utilizó arena de río, la que se pasó por un tamiz de 16 mesh para evitar la presencia de semillas de

malezas de otra procedencia. El sustrato no se esterilizó con la finalidad de simular condiciones similares a las que realmente se presentan en el campo y además por el rol que se sabe juegan los microorganismos del suelo en los resultados de esta técnica.

2.2. Desarrollo del ensayo

2.2.1. Primer ensayo:

Productos, dosis y estado del biofumigante

Se evaluó la capacidad potencial de los distintos materiales biofumigantes, utilizando una cantidad conocida de semillas de las dos especies seleccionadas como indicadoras (Setaria verticillata y Chenopodium album).

Se empleó un diseño estadístico completamente aleatorizado (DCA), con arreglo factorial (3x3x2) y 4 repeticiones. Los factores fueron: **Biofumigante:** Brassica oleracea var capitata (repollo), Diplotaxis tenuifolia (flor amarilla) y Eruca vesicaria (roqueta u oruga); **Dosis:** 3, 5 y 8 Kg/m² de las especies biofumigantes y **Estado:** fresco y deshidratado. Para los ensayos con material deshidratado, las mismas cantidades empleadas en fresco se dispusieron sobre papel absorbente dentro de un invernadero con ventilación natural donde se mantuvieron hasta peso constante. Para cada uno de los estados ensayados (fresco y seco) se agregó un control sin tratar para comprobar la capacidad germinativa de las malezas y la eficacia de los biofumigantes durante el ensayo. Los tratamientos control sólo recibieron riego con agua destilada.

El ensayo se condujo en recipientes plásticos de 10 cm de diámetro y 9 cm de profundidad, con tapa, a los que se les agregó 350 g de arena tamizada (Fig. 2.2). Se analizó la capacidad de retención del sustrato para calcular el volumen de agua de riego a incorporar en cada muestra para llevarlo a capacidad de campo. Los materiales biofumigantes, previamente trozados con cuchillo, se incorporaron al sustrato en las distintas dosis y estados.



Figura 2.2. Aspecto general de los contenedores utilizados para los bioensayos, ubicados en la cámara de crecimiento.

Las semillas de malezas fueron seleccionadas bajo un microscopio estereoscópico (Leica ES2) para descartar las que se presentaran dañadas o poco turgentes, utilizando como criterio para definir la condición de viabilidad el estado intacto de las cubiertas seminales y la resistencia a una ligera presión ejercida con una pinza histológica de punta mediana (Ball y Miller, 1990). En cada recipiente se sembraron 20 semillas de cada una de las especies utilizadas como indicadoras y se regó con 56 ml de agua destilada, cantidad calculada previamente para llevarlas a capacidad de campo. Cuando se trabajó con material fresco el riego se redujo a 45 ó 50 ml, correspondiéndole la menor cantidad a la mayor dosis de material fresco a incorporar. Las bandejas se taparon y se sellaron con film plástico para evitar la pérdida de gases. Luego se dispusieron en forma aleatoria en mesadas ubicadas en la cámara de crecimiento, donde fueron expuestas a condiciones controladas de temperatura ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), con un régimen de luz/oscuridad de 12 horas durante 4 semanas. Se monitoreó la temperatura del aire con un datalogger EM5b (Decagon Device, USA). Transcurrido ese tiempo se procedió a destapar los recipientes y se suministraron riegos periódicos para favorecer la emergencia

evitar la desecación del sustrato. Cada tres días se realizó el recuento y remoción de las plántulas emergidas (Forcella et al., 2004).

La variable de respuesta analizada fue la capacidad germinativa, la cual se midió durante un lapso de 30 días posteriores a la biofumigación. Los resultados se expresaron en porcentaje de germinación.

2.2.2. Segundo ensayo: Duración del tratamiento

En esta etapa se procedió a evaluar el efecto de la duración del tratamiento sobre la capacidad germinativa de las especies usadas como indicadoras. Se utilizó una única dosis, equivalente a 8 kg/m², para cada producto y estado. Se optó por analizar separadamente los estados fresco y seco al comprobar un comportamiento diferencial de acuerdo a la condición de humedad del producto aplicado. El diseño estadístico fue completamente aleatorizado (DCA), con 4 repeticiones y arreglo factorial (3x3), con factores: producto y duración del tratamiento.

Los Niveles del factor Producto fueron:

1. Eruca vesicaria
2. Diplotaxis tenuifolia
3. Brassica oleracea var capitata

Los niveles del factor Duración del tratamiento:

- a) 2 semanas de biofumigación
- b) 3 semanas de biofumigación
- c) 4 semanas de biofumigación

Se realizó además una prueba control, sin agregado de biofumigante, para comprobar la capacidad germinativa de las semillas usadas como indicadoras. El tratamiento de biofumigación se realizó en cámara de crecimiento siguiendo la misma metodología descrita en el apartado 2.2.1. Al finalizar cada uno de los tiempos de tratamiento ensayados se procedió a destapar los recipientes, que se mantuvieron en las mismas condiciones de temperatura y con riegos periódicos por un período de 30 días. Los resultados se expresaron en porcentaje de germinación.

2.3. Análisis estadístico

Dado que la variable respuesta tiene un carácter binomial, para cumplir con los supuestos del ANOVA, a los porcentajes de germinación se les aplicó la transformación angular (arcoseno). Esta transformación mejoró la normalidad de la distribución de los datos. La comparación de medias se realizó mediante el Test de Tukey con un nivel de significancia de 0,05 ($\alpha=0,05$). El paquete estadístico utilizado fue "Statistica 7" (Anexo 1).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. BIOENSAYO 1: Productos, Dosis y Estado del biofumigante

Las temperaturas medias registradas durante la realización de este ensayo permanecieron por encima de los 26 °C durante la mayor parte del mismo, con una leve disminución de dos días hacia la mitad de la prueba, aunque siempre se mantuvieron por encima de los 22 °C (Anexo 2). Estas temperaturas se encuentran dentro del rango indicado para la actividad de la enzima mirosinasa responsable de la degradación de los glucosinolatos (Al-Turki & Dick, 2003).

3.1.1. Efecto de los productos y estado de los biofumigantes sobre la germinación de malezas

Todos los productos ensayados afectaron la capacidad germinativa de las malezas usadas como indicadoras, siendo los productos deshidratados los que presentaron el mayor efecto (Figs. 2.3 y 2.4). En todos los casos, al incrementar la cantidad de producto se logró una menor germinación de malezas.

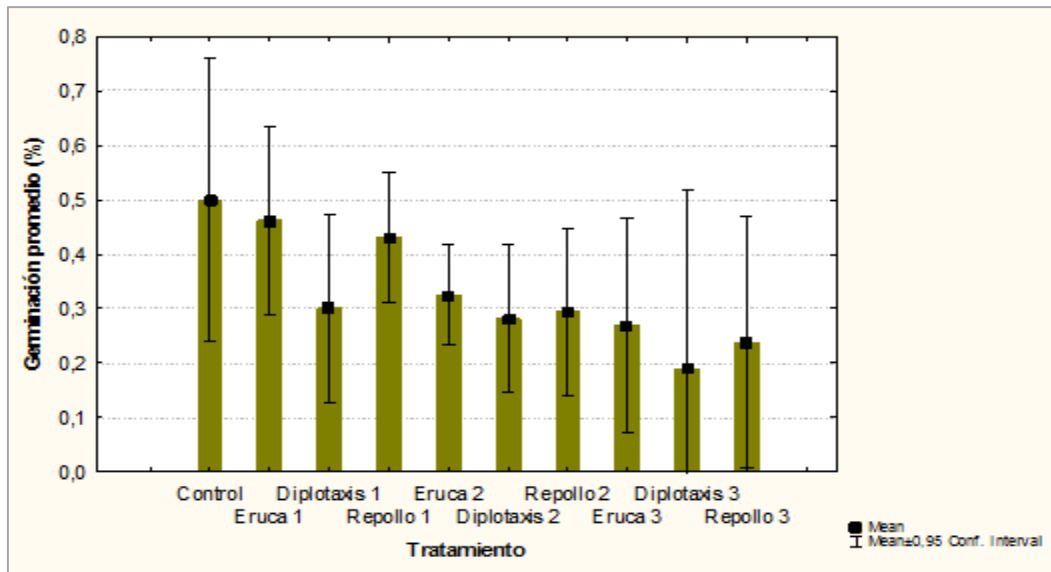


Figura 2.3. Efecto de la Biofumigación con *Eruca vesicaria*, *Diplotaxis tenuifolia* y *Brassica oleracea* aplicados en estado fresco sobre malezas indicadoras.1, 2 y 3 representan las dosis de 3, 5 y 8 Kg/m², respectivamente.

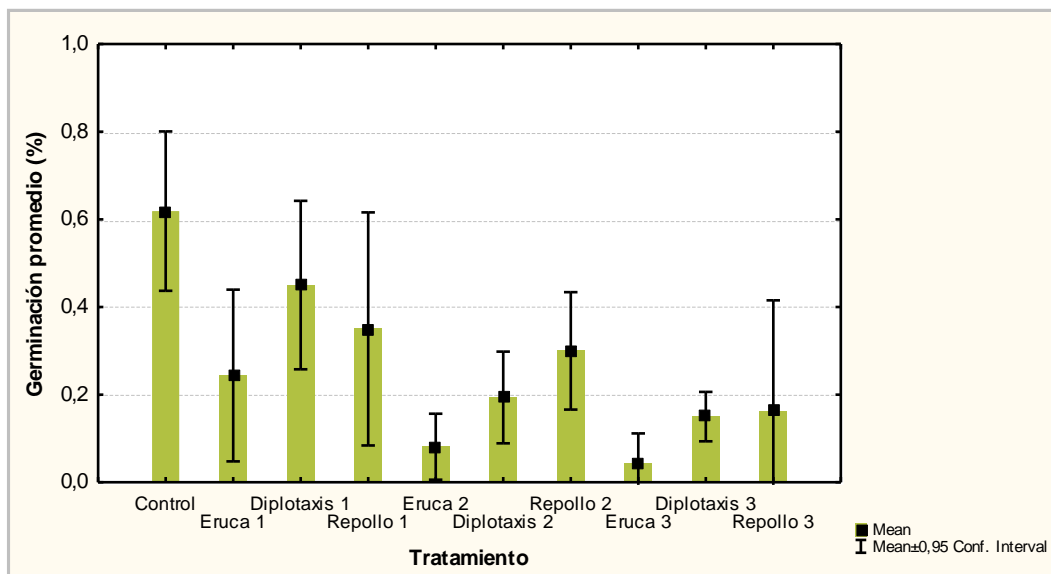


Figura 2.4. Efecto de la Biofumigación con *Eruca vesicaria*, *Diplotaxis tenuifolia* y *Brassica oleracea* aplicados en estado deshidratado sobre malezas indicadoras.1, 2 y 3 representan las dosis de 3, 5 y 8 Kg/m², respectivamente.

Dado que la interacción de los tres factores (producto, dosis y estado) no fue significativa, como tampoco las interacciones dosis-estado ni dosis-producto, se analizó por separado la interacción producto vs. estado y como factor aditivo a la dosis (Anexo 3).

Al analizar la interacción producto-estado es claro que la combinación más efectiva fue Eruca vesicaria en estado seco respecto de las demás combinaciones. Es decir, con la aplicación de este producto en seco se obtuvo un porcentaje de germinación significativamente menor que el obtenido con Diplotaxis y repollo aplicados tanto en seco como en fresco, como así también del obtenido con el mismo producto aplicado en fresco (Fig. 2.5).

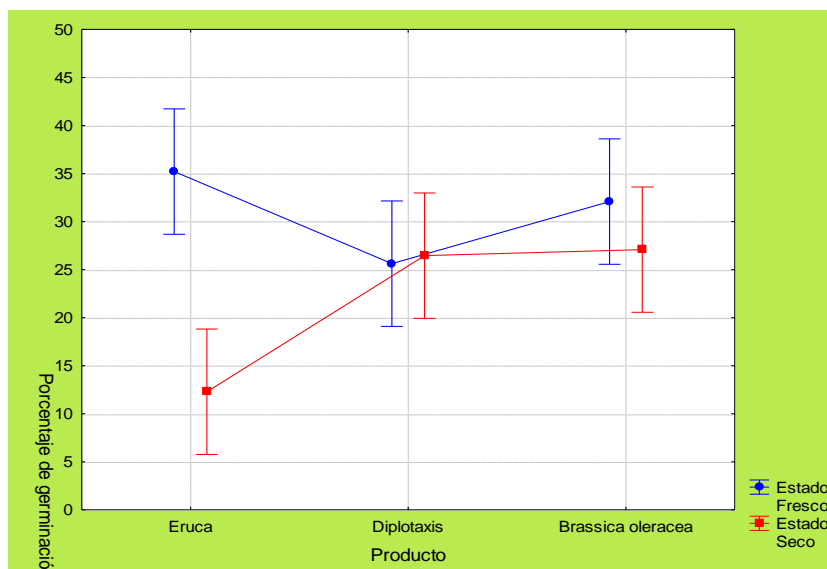


Figura 2.5. Efecto de los productos biofumigantes Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea aplicados en estados fresco y seco sobre el porcentaje de germinación total de las semillas de malezas. Las barras indican el desvío (o error) estándar de la media (n=4).

De la figura 2.5 surge que, con la incorporación en estado deshidratado de E. vesicaria, el porcentaje de germinación resultante (12,3%) representó aproximadamente la tercera parte del obtenido con el mismo producto en estado fresco (35,2%). En el caso de D. tenuifolia prácticamente no hay diferencia entre ambos estados, mientras que en el caso del repollo, con la aplicación del producto en estado seco se obtuvo un 27% de germinación frente al 32% obtenido con la aplicación en fresco, lo que representa una disminución del 16%, que no es significativa estadísticamente.

3.1.2. Efecto de la dosis sobre la germinación

Al analizar el efecto de las distintas dosis sobre el porcentaje de germinación total se observa que la dosis de 3 kg/m² se diferencia significativamente de las dosis de 5 y 8 kg/m² ($p= 0,00018$). Entre estas últimas, aunque el efecto es mayor con la dosis de 8 kg/m², no se observan diferencias estadísticas (Fig. 2.6).

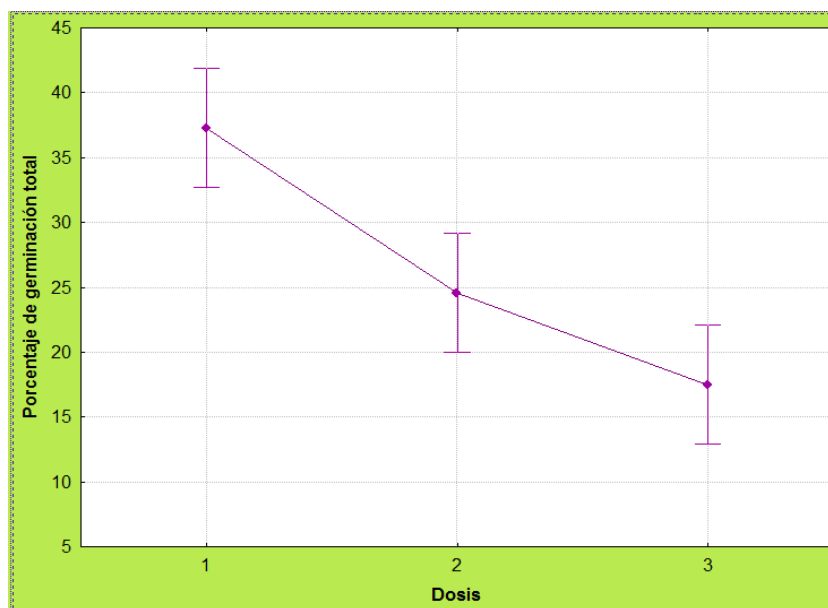


Figura 2.6. Efecto de las distintas dosis de los productos biofumigantes sobre el porcentaje de germinación total de las malezas. 1, 2 y 3 representan las dosis de 3, 5 y 8 kg/m², respectivamente. Las barras indican el desvío (o error) estándar de la media (n=4).

A partir de estos resultados se realizó la comparación de los distintos productos para cada dosis aplicada por separado, tomando en cuenta el control sin tratar. Sólo con la dosis de 3 kg/m² se observó interacción entre producto y estado, mientras que con las dosis de 5 y 8 kg/m² los productos siempre tuvieron mayor efecto al ser aplicados en seco.

Aplicación de 3 kg/m²:

En estado **fresco**, con la dosis de 3 kg/m² los porcentajes de germinación obtenidos con los tratamientos no se diferenciaron del control, si bien este

último siempre mostró una mayor emergencia. A pesar de no registrarse diferencias significativas estadísticamente, con la aplicación de D. tenuifolia se obtuvo una germinación 40% inferior al control. En estado **seco**, en cambio, se registraron diferencias significativas entre el control y E. vesicaria, que produjo una germinación 60,6% más baja que éste. Por su parte con la incorporación de D. tenuifolia y B. oleracea, si bien las diferencias no fueron significativas, los porcentajes de germinación obtenidos fueron 27,3% y 43,4% más bajos que los del control (Fig. 2.7).

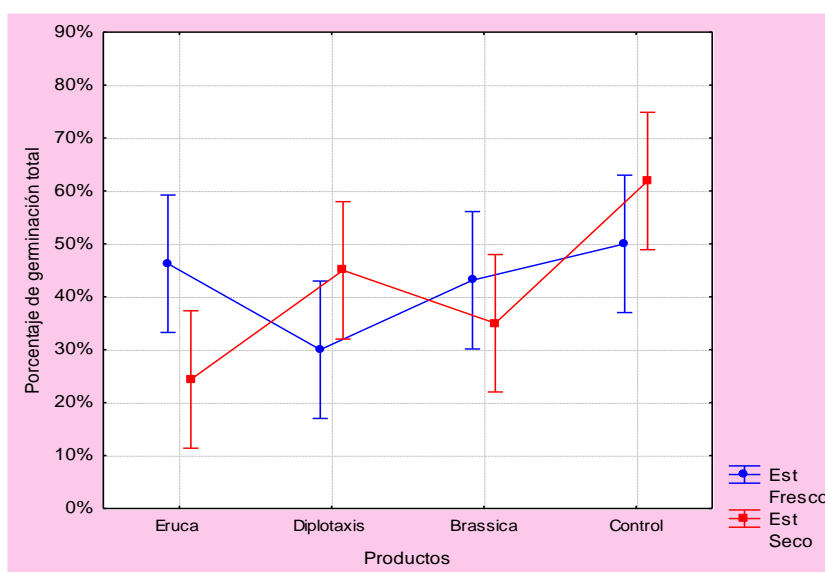


Figura 2.7. Efecto de los distintos productos biofumigantes aplicados a razón de 3 kg/m², sobre el porcentaje de germinación total de las especies indicadoras. Las barras indican el desvío (o error) estandar de la media (n=4).

Aplicación de 5 kg/m²:

Con esta dosis, no hubo interacción producto-estado, por lo que los resultados se presentan para cada estado por separado para su mejor interpretación. Cuando los productos fueron aplicados en **fresco**, no hubo diferencias significativas respecto al control. Con D. tenuifolia y B. oleracea los porcentajes de germinación fueron de 28,13% y 29,36% respectivamente, valores que representan reducciones del 43,75 y 41,25% respecto al control. En el caso de Diplotaxis estuvo al límite del valor de significancia para la prueba de Tukey (p=0,059387). Con E. vesicaria el porcentaje de germinación que se obtuvo representó una disminución de 35% respecto al control.

Cuando se aplicaron en estado **deshidratado**, todos los productos se diferenciaron significativamente del control. Eruca vesicaria produjo el mayor efecto, con una disminución del porcentaje de germinación de malezas del 86,8%, seguido de D. tenuifolia, con 68,7% y por último B. oleracea, con el que se obtuvo una merma del 51,5% (Fig. 2.8).

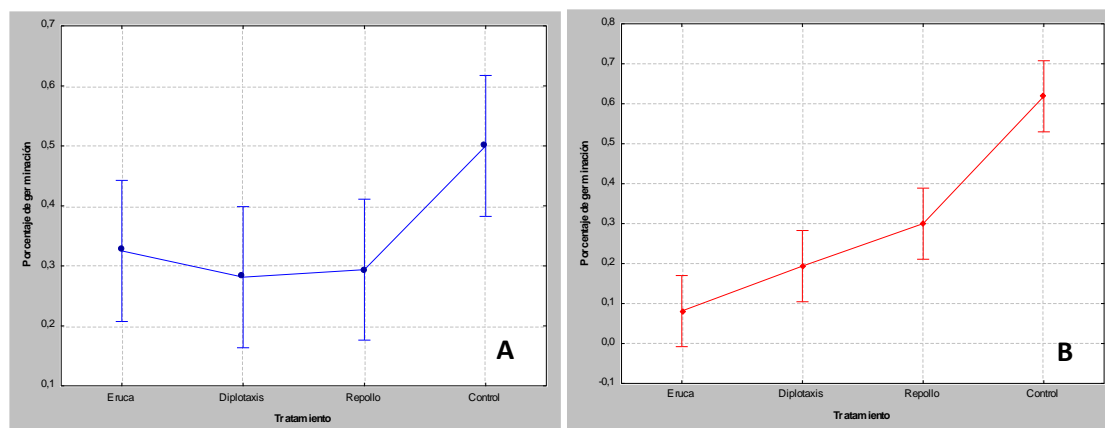


Figura 2.8. Efecto de los distintos productos biofumigantes aplicados a razón de 5 kg/m², sobre el porcentaje de germinación total de las especies indicadoras. A: productos aplicados en fresco; B: productos aplicados en estado deshidratado. Las barras indican el desvío (o error) estandar de la media (n=4).

Aplicación de 8 kg/m²:

Al igual que con la dosis de 5 kg/m² no hubo interacción producto-estado y cuando los productos se aplicaron en **fresco** sólo D. tenuifolia mostró diferencias significativas, con una reducción en la germinación de malezas del 62,5%, respecto al control.

Cuando fueron aplicados en estado **seco**, todos los productos mostraron diferencias significativas respecto al control, al igual que con la dosis de 5 Kg/m². Con la incorporación de E. vesicaria el porcentaje de germinación se redujo en un 93% respecto al control, mientras que con D. tenuifolia y B. oleracea se obtuvieron valores similares, con reducciones de 76 y 74%, respectivamente (Fig. 2.9).

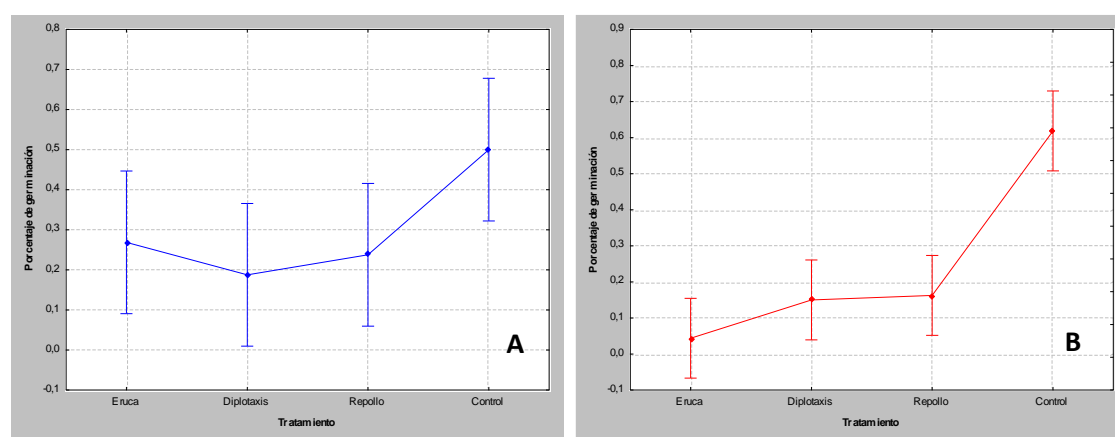


Figura. 2.9. Efecto de los distintos productos biofumigantes aplicados a razón de 8 kg/m², sobre el porcentaje de germinación total de las especies indicadoras. A: productos aplicados en fresco; B: productos aplicados en estado deshidratado. Las barras indican el desvío (o error) estandar de la media (n=4).

En resumen, con la incorporación de los distintos biofumigantes, tanto en estado fresco como seco, se obtuvieron porcentajes de germinación que representaron disminuciones de entre un mínimo de 7,5 y un máximo de 93%, respecto al testigo (Tabla I).

Tabla I. Reducción promedio en el porcentaje de germinación de las malezas indicadoras respecto al testigo, por producto, dosis y estado del material ensayado.

Estado del producto	Reducción de la germinación de malezas (%)								
	Productos								
	<i>Eruca vesicaria</i>			<i>Diplotaxis tenuifolia</i>			<i>Brassica oleracea var capitata</i>		
	Dosis (Kg/m ²)								
	3	5	8	3	5	8	3	5	8
Fresco	7,5	35	46,25	40	43,8	62,5*	13,8	41,3	52,5
Seco	60,6*	86,9*	92,9*	27,3	68,7*	75,8*	43,4	51,5*	73,7*

Con el símbolo *se indican las diferencias significativas

Estos resultados están en el mismo rango de los valores de hasta 79% de supresión informados por Norsworthy et al. (2007), en el control de Digitaria sanguinalis o el 85% de reducción de yuyo colorado (Amaranthus sp.) logrado por Vaughn & Boydston (1997) y superan el rango de control informado por Haramoto & Gallandt (2005), quienes reportan una reducción de entre 23 y 34% en el porcentaje de germinación de semillas de cultivos y de malezas por efecto de la enmienda con Brassica napus y Sinapis alba. El nivel de reducción en la germinación alcanzado, principalmente con Eruca vesicaria, fue cercano al informado por Pereyra et al. (2008), quienes con productos orgánicos de origen diferente a Brasicáceas alcanzaron un nivel de eficiencia superior al 95%. En la realización de estos bioensayos sólo se emplearon tallos y hojas, pero se sabe que las raíces pueden jugar un rol importante en la actividad biocida de las especies de Brasicáceas cuando son usadas como abono verde (Eberlein et al., 1998) y de acuerdo a Sarwar & Kirkegaard (1998) representan en promedio el 24% del contenido total de glucosinolatos de la planta.

Respecto a las dosis ensayadas, la utilización de 5 y 8 kg/m² permitió obtener una reducción en el porcentaje de germinación que resultó significativamente menor respecto al obtenido en el control sin tratar. Con el empleo de una dosis similar (5,5 toneladas por hectárea) de residuos de Brasicáceas, Mason-Sedun et al. (1986), obtuvieron reducciones en la densidad y rendimiento de trigo.

En cuanto a la condición del material utilizado, en esta experiencia se obtuvieron mejores resultados cuando los productos fueron aplicados en estado deshidratado. De acuerdo con Mohn et al. (2007), la mirosinasa, responsable de la hidrólisis de los glucosinolatos se mantiene estable dentro de los tejidos vegetales secos hasta el momento de la hidrólisis, que ocurre cuando el material se pone en contacto con el agua. Sin embargo, existen antecedentes (Mason-Sedun et al., 1986; Jiménez-Osornio & Gliessmann, 1987; Vera et al., 1987) en los que se ha señalado que generalmente las plantas y tejidos frescos tienen un efecto más supresor sobre la germinación de malezas que los tejidos maduros y la paja u hojarasca seca. Vera et al. (1987) atribuyen este hecho a que posiblemente se haya producido el lavado o rápida descomposición de los materiales en esa condición. También Papavizas (1966)

(en Brown & Morra, 2005), manifiesta que arvejas plantadas tres semanas después de la enmienda con repollo mostraron cierta reducción del crecimiento cuando se utilizaron hojas frescas, pero no cuando se utilizaron hojas secadas al aire.

3.1.3. Efecto de la Biofumigación sobre las malezas indicadoras

Las dos especies de malezas elegidas como indicadoras experimentaron una inhibición en su germinación por efecto de los tratamientos de biofumigación. En el caso de Chenopodium album se observó además un mayor retraso en la aparición de plántulas, como puede apreciarse en las Figuras 2.10, 2.11 y 2.12, que ilustran el comportamiento de ambas especies al finalizar los tratamientos de biofumigación, con la mayor dosis de biofumigante (8 Kg/m²) y la máxima duración del tratamiento (4 semanas). En la mayoría de los casos esta especie alcanzó su máximo porcentaje de germinación con posterioridad a lo que lo hizo Setaria verticillata.

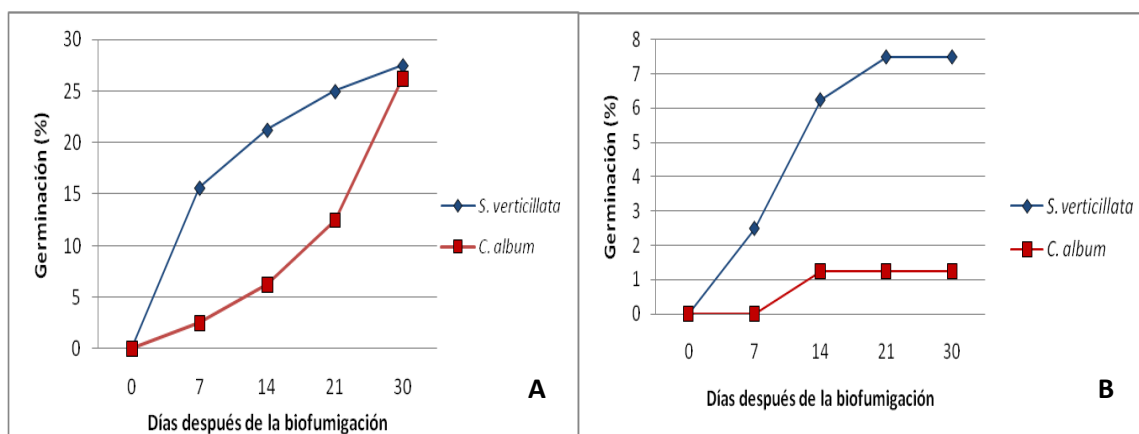


Figura 2.10. Germinación de Setaria verticillata y Chenopodium album luego de 4 semanas de biofumigación con Eruca vesicaria en la dosis de 8 Kg/m². A, en fresco; B, deshidratado.

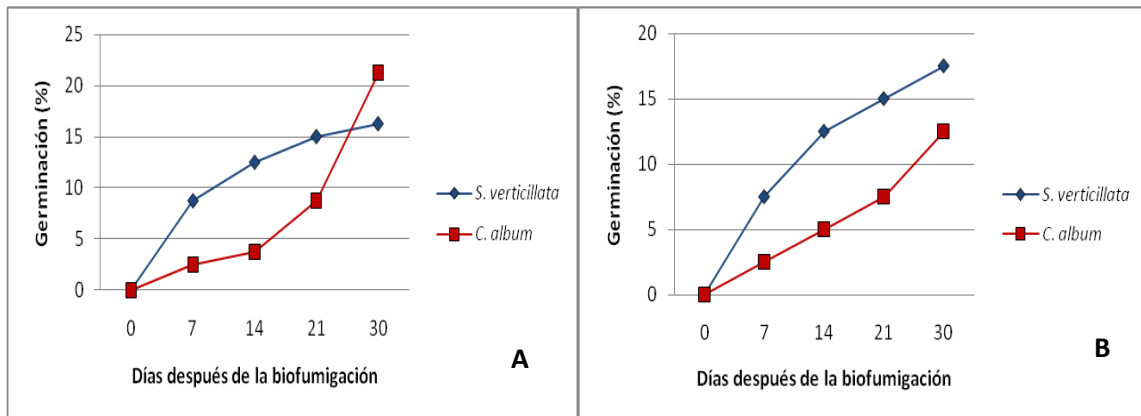


Figura 2.11. Germinación de *Setaria verticillata* y *Chenopodium album* luego de 4 semanas de biofumigación con *Diplotaxis tenuifolia* en la dosis de 8 Kg/m². A, en fresco; B, deshidratado.

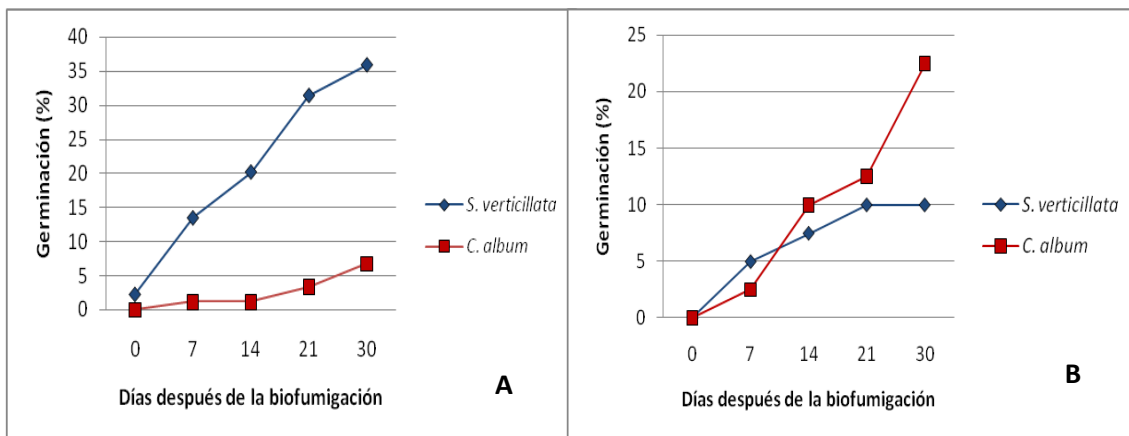


Figura 2.12. Germinación de *Setaria verticillata* y *Chenopodium album* luego de 4 semanas de biofumigación con *Brassica oleracea* var *capitata* en la dosis de 8 Kg/m². A, en fresco; B, deshidratado.

Se ha señalado que el efecto del tratamiento depende tanto de las especies empleadas como biofumigantes como de las especies que integran la comunidad de malezas (Oleszek, 1987). En el caso de las malezas utilizadas en esta experiencia *Chenopodium album* es una dicotiledónea con semillas de entre 1 a 1,5 mm de diámetro, mientras que *Setaria verticillata* es una Poácea cuyas “semillas” son en realidad cariopses (frutos), con una longitud promedio de 1,6 mm y un ancho 1,2 mm, que se dispersan protegidos por el antecio floral (lemma y pálea). Vera *et al.* (1987) mencionan que las dicotiledóneas, si llegan

a germinar, frecuentemente mueren al cabo de 4 a 6 semanas. Estos mismos investigadores dan cuenta de la influencia del tamaño de las semillas, siendo las más pequeñas más susceptibles. En la experiencia de Mattner et al. (2008), en cambio, la supresión de la germinación obtenida por efecto de los biofumigantes volátiles no se relacionó con el tamaño de las semillas.

Tanto C. album como S. verticillata experimentaron un incremento en el tiempo medio de germinación, ya que al momento de destapar las bandejas ninguna presentaba ejemplares emergidos, siendo más marcado este efecto sobre Chenopodium album. Esto coincide con Park et al., (1983) quienes observaron inhibición en el crecimiento temprano de algunas plantas por efecto de la biofumigación. En bioensayos de germinación de lechuga, trigo y Echinochloa crusgalli tratadas con diversas Brasicáceas, el efecto fue diferente de acuerdo a la especie empleada como biofumigante y a la especie objetivo, siendo más afectadas las semillas de menor tamaño (Oleszek, 1987). Haramoto & Gallandt (2004, 2005) también señalan que los isotiocianatos producidos por hidrólisis de glucosinolatos pueden producir inhibición y retraso en la germinación. Kunz et al. (2016), encontraron que semillas de malezas, incluida C. album, prolongaban hasta un 54% el tiempo de germinación al ser tratadas con extractos de biofumigantes.

3.1.3.1. Efecto sobre Setaria verticillata

Cuando analizamos por separado el efecto de los tratamientos sobre la germinación de Setaria verticillata la modelación es similar al caso general, habiéndose registrado efecto de la dosis e interacción entre producto y estado.

El mayor efecto sobre la germinación de esta especie indicadora se obtuvo con los productos aplicados en seco. Nuevamente la interacción producto-estado mostró que Eruca vesicaria aplicada en estado seco tuvo mayor significancia, con una reducción en la germinación del 63,5 % respecto al mismo producto aplicado en fresco. Al igual que en el caso general, con D. tenuifolia, prácticamente no hubo diferencias entre ambos estados, mientras que con B. oleracea la aplicación en seco representó un porcentaje de germinación 20% menor respecto al obtenido con la aplicación en fresco (Fig. 2.13).

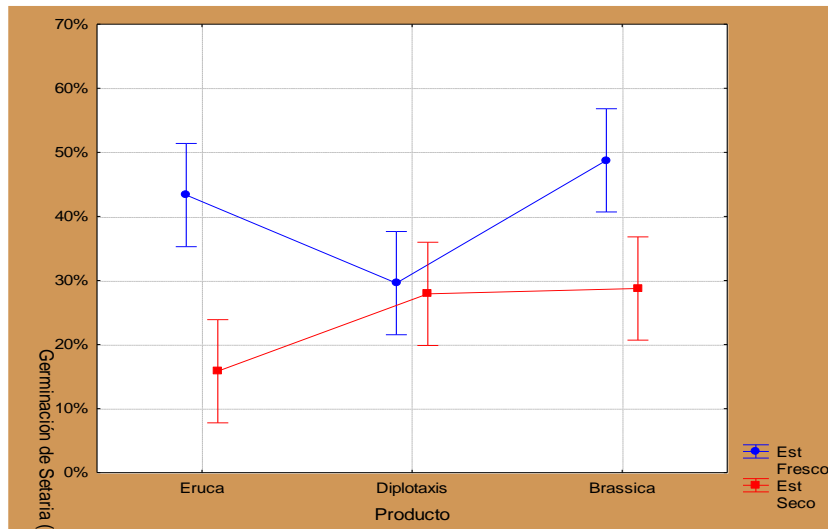


Figura 2.13. Efecto de Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea (repollo), aplicados en estados fresco y seco sobre el porcentaje de germinación de la especie indicadora Setaria verticillata. Las barras indican el desvío (o error) estandar de la media (n=4).

En la Fig. 2.14 se representa el efecto de la dosis sobre la germinación de esta especie, dondenuevamente la dosis de 3 kg/m² es estadísticamente distinta a lasde 5 y 8 Kg/m², que no difieren entre sí aunque el efecto es mayor al aumentar la dosis aplicada.

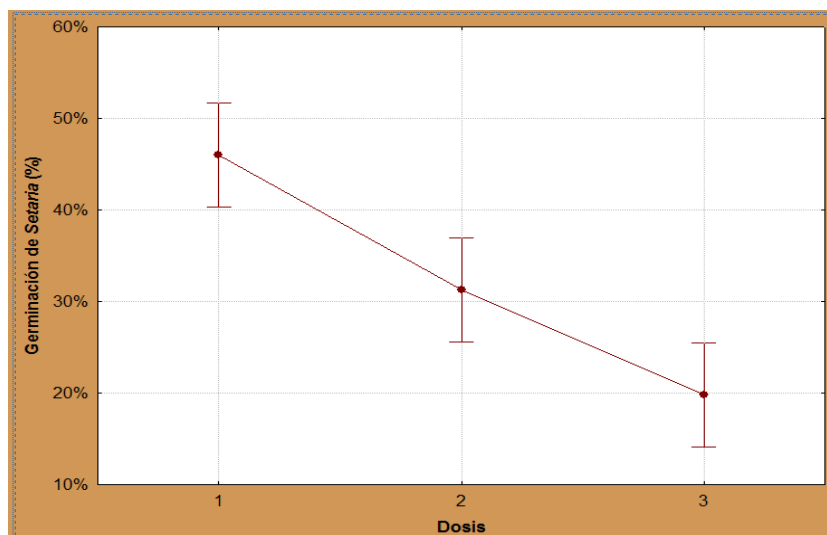


Fig. 2.14. Efecto de las distintas dosis de los productos biofumigantes sobre el porcentaje de germinación de Setaria verticillata. 1, 2 y 3 representan las dosis de 3, 5 y 8 kg/m², respectivamente. Las barras indican el desvío (o error) estandar de la media (n=4).

3.1.3.2. Efecto sobre Chenopodium album

En este caso tampoco hubo diferencias estadísticas entre productos, pero sí efecto de la dosis e interacción entre producto y estado.

El análisis de la interacción producto-estado muestra nuevamente que la aplicación de E. vesicaria en estado seco produjo la mayor reducción sobre la germinación de esta especie indicadora, con un valor de 8,75%, que difiere significativamente y representa la tercera parte del porcentaje obtenido con la misma especie aplicada en estado fresco (27,08%). A diferencia del caso anterior, con D. tenuifolia y B. oleraceae obtuvieron mejores resultados cuando se aplicaron en fresco. El porcentaje de germinación se redujo 13,3% con Diplotaxis y 39,34 % con Brassica, comparados con la incorporación en seco aunque, como puede apreciarse en la Fig. 2.15, estas diferencias no fueron significativas.

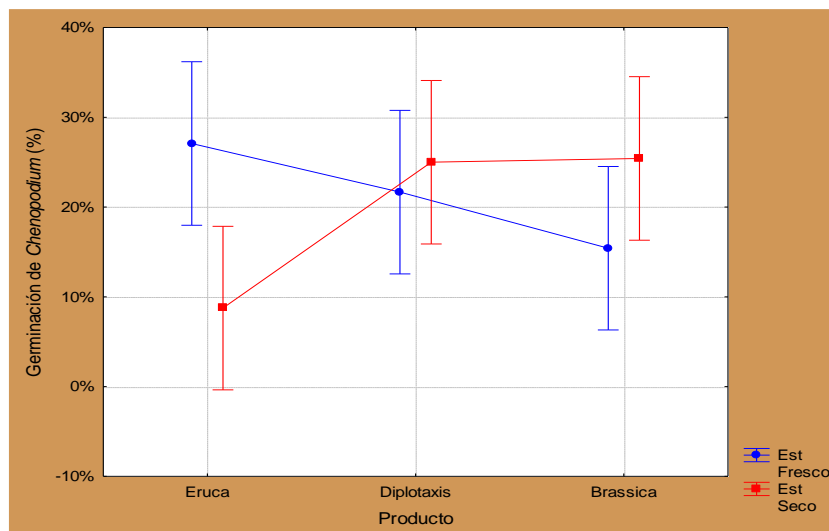


Figura 2.15. Efecto de los productos biofumigantes Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea aplicados en estados fresco y seco sobre el porcentaje de germinación de la especie indicadora Chenopodium album. Las barras indican el desvío (o error) estándar de la media (n=4).

En cuanto al efecto de la dosis sobre la germinación de C. album y a diferencia de lo que sucede con S. verticillata, los resultados indican que no hay diferencia entre aplicar 3 o 5 Kg/m², aunque sí existen diferencias significativas entre las dosis de 3 y 8 Kg/m² (Fig. 2.16).

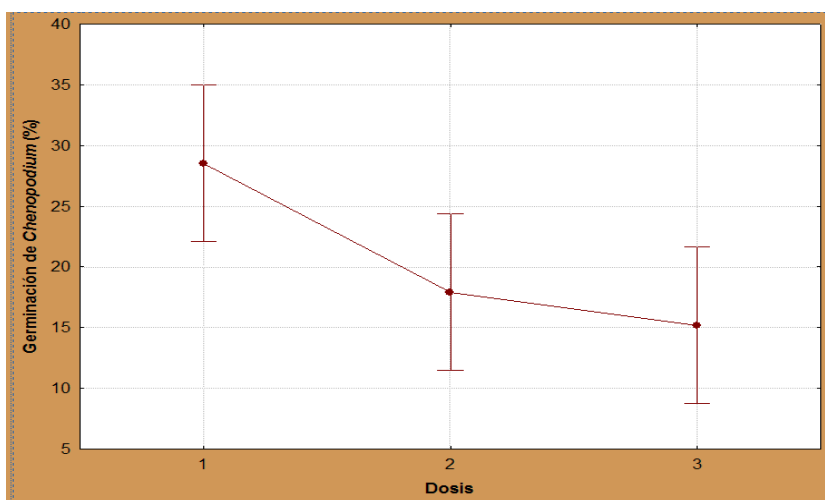


Figura 2.16. Efecto de las distintas dosis de los productos biofumigantes sobre el porcentaje de germinación de Chenopodium album. 1, 2 y 3 representan las dosis de 3, 5 y 8 kg/m², respectivamente. Las barras indican el desvío (o error) estándar de la media (n=4).

3.2. BIOENSAYO 2: Efecto de la duración del tratamiento

Todos los productos mostraron diferencias significativas respecto al control, en los tres períodos de tratamiento ensayados. Entre productos en cambio, las mayores diferencias se dieron en relación a la condición fresco o deshidratado en que se aplicó el material (Figs. 2.17 y 2.18).

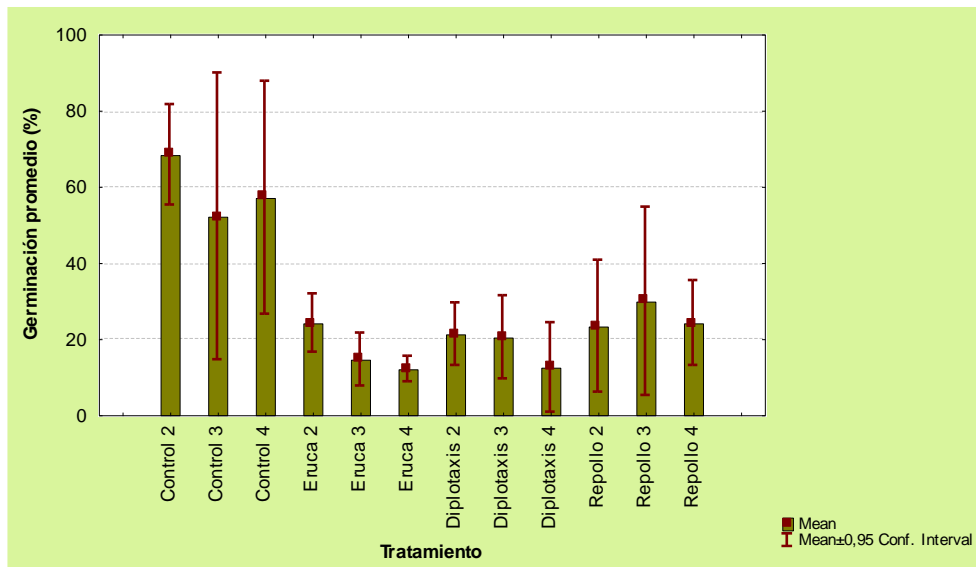


Figura 2.17. Efecto de la duración del tratamiento de Biofumigación con *Eruca vesicaria*, *Diplotaxis tenuifolia* y *Brassica oleracea*, aplicados a razón de 8 kg/m², en estado fresco, sobre el porcentaje de germinación de las especies indicadoras. 2, 3 y 4 indican la duración del tratamiento en semanas.

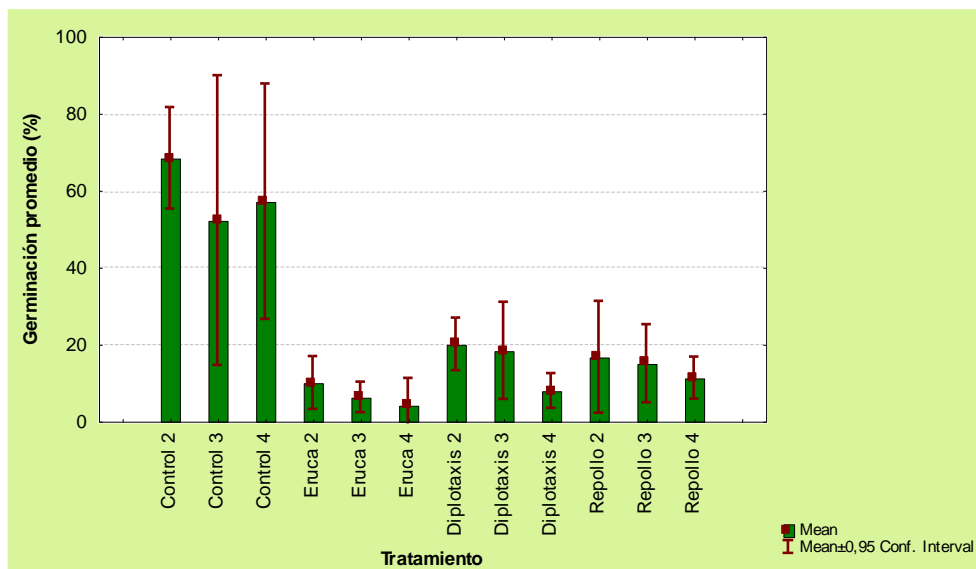


Figura 2.18. Efecto de la duración del tratamiento de Biofumigación con *Eruca vesicaria*, *Diplotaxis tenuifolia* y *Brassica oleracea*, aplicados a razón de 8 kg/m², en estado deshidratado, sobre el porcentaje de germinación de las especies indicadoras. 2, 3 y 4 indican la duración del tratamiento en semanas.

3.2.1. Productos aplicados en estado fresco

Cuando los productos se aplicaron en estado fresco, los resultados no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de germinación obtenidos con las distintas duraciones del tratamiento, para ninguno de los productos ensayados. Sin embargo, se advierte una tendencia hacia la disminución del porcentaje de germinación cuando la biofumigación tuvo mayor duración (Fig. 2.19).

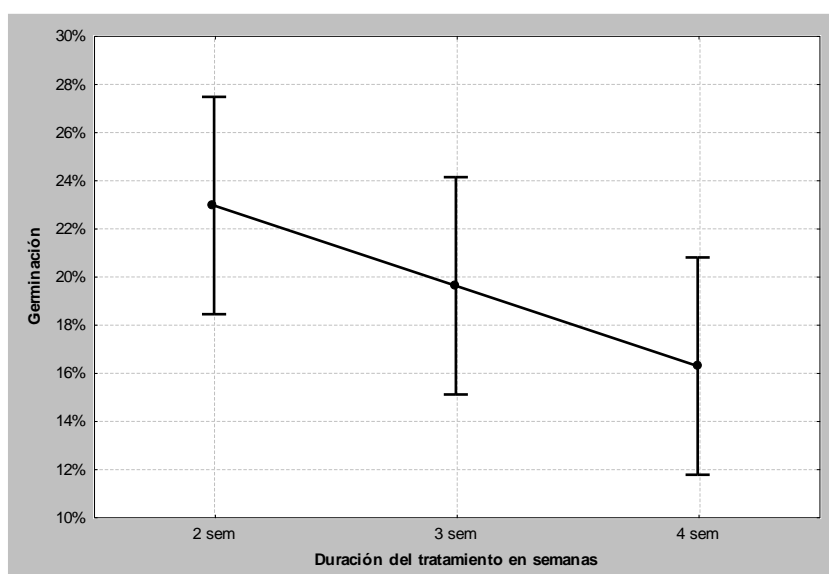


Figura 2.19. Efecto de la duración del tratamiento de Biofumigación sobre el porcentaje de germinación total de las especies indicadoras con los productos aplicados en estado fresco.

Con la aplicación de Eruca vesicaria la mayor disminución en la germinación de malezas se produjo entre las 2 y 3 semanas de biofumigación en que el porcentaje de germinación bajó de 24,2 a 14,6% (-9,6%). Con Diplotaxis tenuifolia, la diferencia más marcada (-7,9%) se presentó entre las 3 y 4 semanas de tratamiento, en que el porcentaje de germinación bajó de 20,42 a 12,5%. Al cabo de 4 semanas, con ambos productos se obtuvieron resultados similares, de alrededor de 12% de germinación. En el caso de Brassica

oleracea los resultados fueron prácticamente iguales en los 3 períodos ensayados, con un promedio de germinación del 24% (Fig. 2.20).

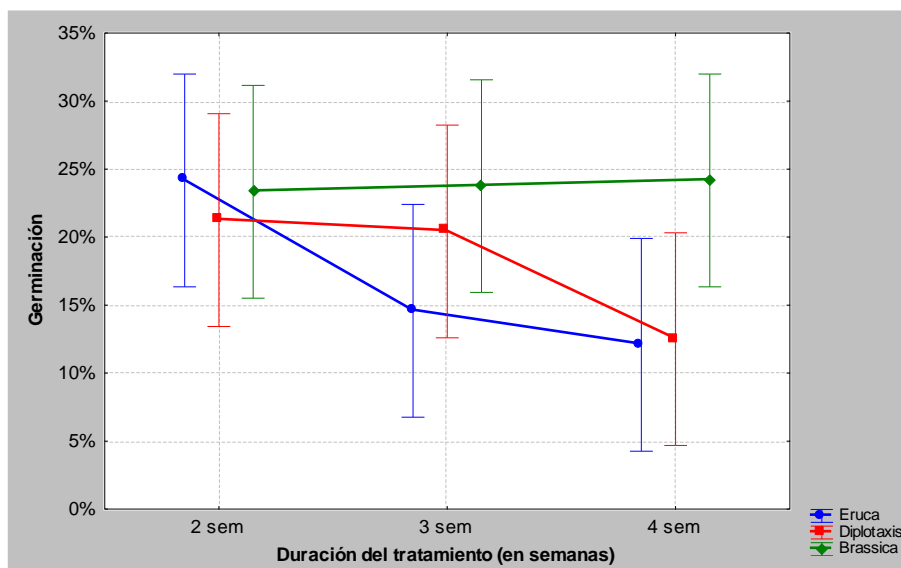


Figura 2.20. Efecto de la aplicación en estado fresco de Erucavesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassicaoleracea sobre el porcentaje de germinación total de las especies indicadoras luego de 2, 3 y 4 semanas de duración del tratamiento de biofumigación.

3.2.1.1. Efecto sobre Setaria verticillata

Al analizar la germinación de la especie Setaria verticillata, los resultados son similares al caso general. No hay diferencias significativas entre los porcentajes de germinación alcanzados luego de 2, 3 o 4 semanas de biofumigación, para ninguno de los productos ensayados. Con la aplicación de E. vesicaria, el porcentaje de germinación se mantiene constante a partir de las 3 semanas de biofumigación (19%). En el caso de D. tenuifolia la mayor disminución en la germinación se alcanza a las 4 semanas, con un valor similar al obtenido con Eruca (17,5%). Con B. oleracea, a diferencia del caso general, el menor porcentaje de germinación de S. verticillata (27,5%) se obtuvo cuando el tratamiento tuvo una duración de 3 semanas (Fig. 2.21).

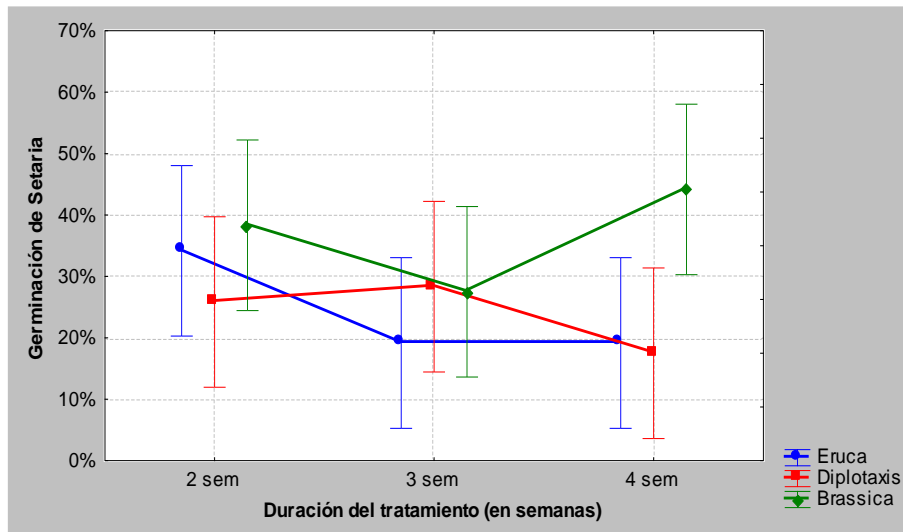


Figura 2.21. Efecto de la aplicación en estado fresco de *E. vesicaria*, *D. tenuifolia* y *B. oleracea* sobre el porcentaje de germinación de *Setaria verticillata* luego de 2, 3 y 4 semanas de duración del tratamiento de biofumigación.

3.2.1.2. Efecto sobre *Chenopodium album*

A diferencia del caso general y de *Setaria*, para *C. album* el análisis mostró efecto duración del tratamiento, siendo la biofumigación con *Brassica oleracea* durante 4 semanas el tratamiento con el que se obtuvo el menor valor de germinación de esta maleza, con un 4,2%. Este tratamiento además, mostró diferencias significativas respecto a la biofumigación con el mismo producto por un período de 3 semanas. Al cabo de 4 semanas los valores de germinación alcanzados son muy similares para los tres productos (Fig. 2.22).

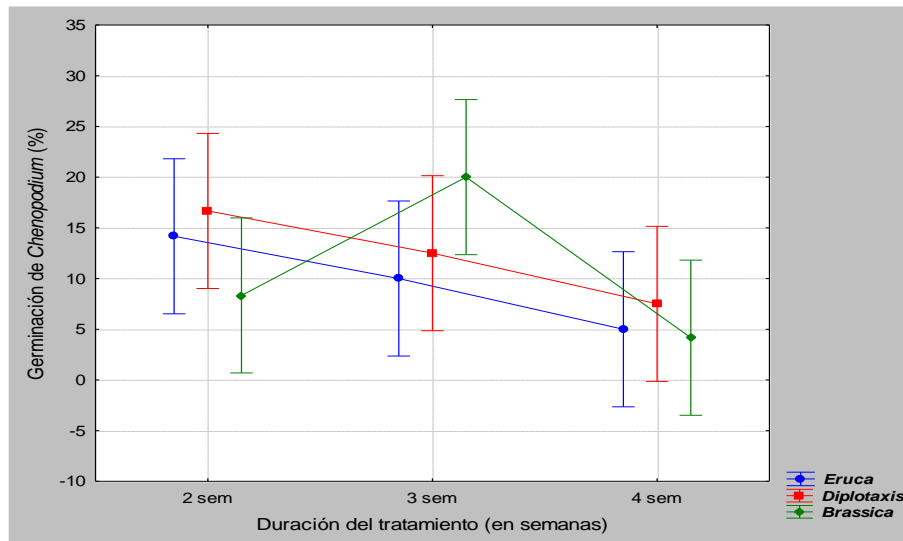


Figura 2.22. Efecto de la aplicación en estado fresco de los productos *E.vesicaria*, *D.tenuifolia* y *B. oleracea* sobre el porcentaje de germinación de *Chenopodium album* luego de 2, 3 y 4 semanas de duración del tratamiento de biofumigación.

3.2.2. Productos aplicados en estado deshidratado

En este caso se detectó efecto de los factores Producto y Duración del tratamiento, pero no hubo interacción entre ambos. Se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos de 2 y 4 semanas de biofumigación, aunque ninguno de ellos se diferenció del tratamiento de 3 semanas de duración (Fig. 2.23).

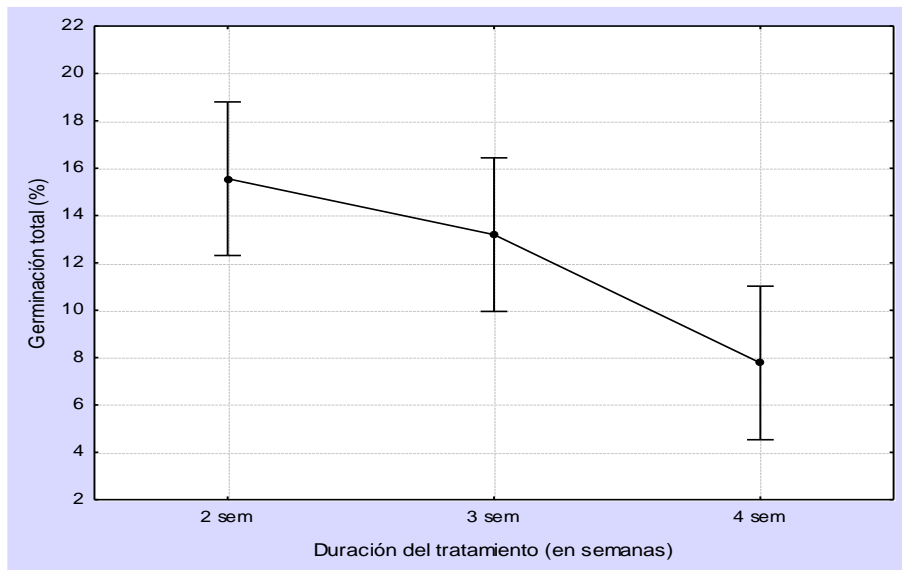


Figura 2.23. Efecto de la duración del tratamiento de Biofumigación con los productos aplicados en estado deshidratado sobre el porcentaje total de germinación de las especies indicadoras.

Eruca vesicaria fue el producto con el que se alcanzó el menor valor de germinación (4,2%) al cabo de cuatro semanas. En estado deshidratado este producto se diferenció significativamente tanto de Brassica oleracea como de Diplotaxis tenuifolia aplicados durante 2 semanas, con los que se obtuvieron 16,7 y 20%, respectivamente. También se diferenció de Diplotaxis aplicado durante 3 semanas, con el que se obtuvo una germinación de 15% (Fig.2.24).

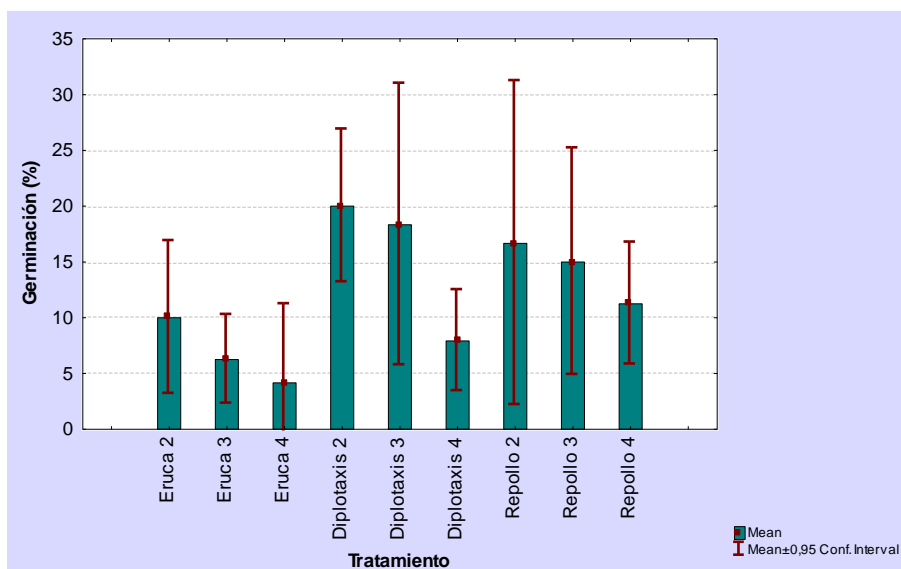


Fig. 2.24. Efecto de la aplicación en estado deshidratado de E. vesicaria, D. tenuifolia y B. oleracea sobre el porcentaje de germinación de las especies indicadoras en todos los periodos de tratamiento. 2, 3 y 4 indican la duración del tratamiento en semanas.

3.2.2.1. Efecto sobre Setaria verticillata

Los resultados sobre esta especie fueron muy similares al caso general, con efectos Producto y Duración del tratamiento (Figs. 2.25 y 2.26).

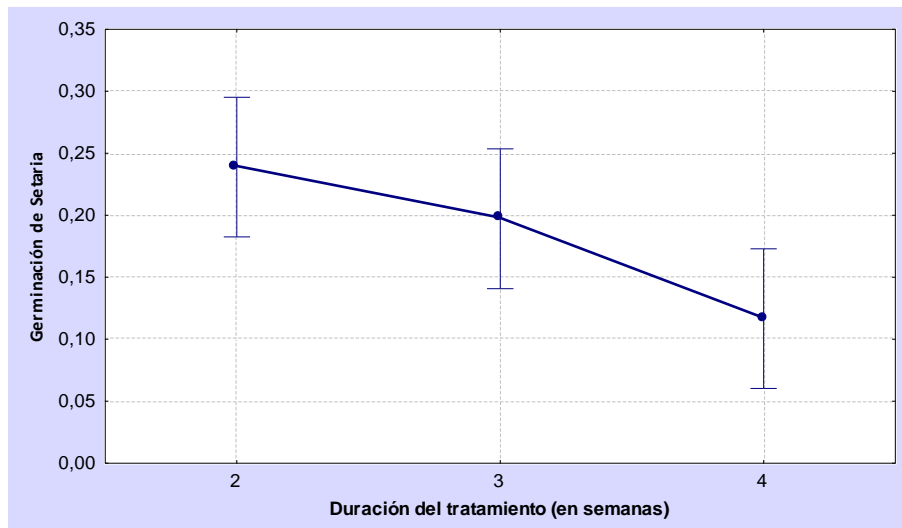


Figura 2.25. Efecto de la duración del tratamiento de Biofumigación con los productos aplicados en estado deshidratado sobre el porcentaje total de germinación de Setaria verticillata.

Eruca vesicaria siempre produjo la menor emergencia en los tres períodos, respecto a los otros biofumigantes evaluados.

La mejor combinación fue E. vesicaria durante 4 semanas, con la que se obtuvo un porcentaje de germinación de 5,8%, diferenciándose significativamente de la biofumigación con D. tenuifolia durante 2 semanas, con el que se obtuvo un 28,3% de germinación.

Con D. tenuifolia y B. oleracea los menores porcentajes de germinación se obtuvieron con 4 semanas de tratamiento y fueron de 10,8 y 18%, respectivamente (Fig. 2.26).

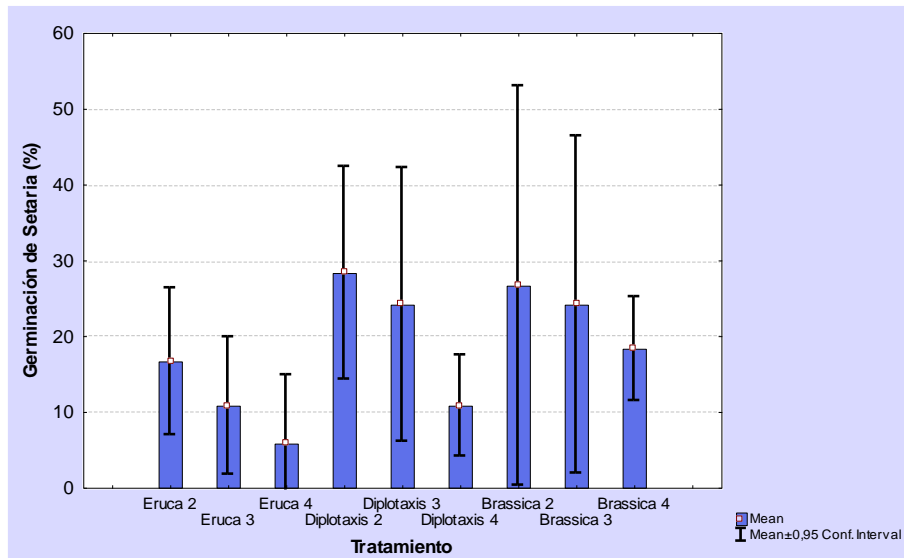


Figura 2.26. Efecto de la aplicación en estado deshidratado de Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea sobre el porcentaje de germinación de Setaria verticillata en todos los periodos de tratamiento. Los números 2, 3 y 4 indican la duración del tratamiento en semanas.

3.2.2.2. Efecto sobre Chenopodium album

En el caso de esta especie indicadora sólo hubo efecto Producto, con diferencias significativas entre Eruca vesicaria y Diplotaxis tenuifolia, pero no hubo diferencia en relación a la duración del tratamiento (Fig, 2.27).

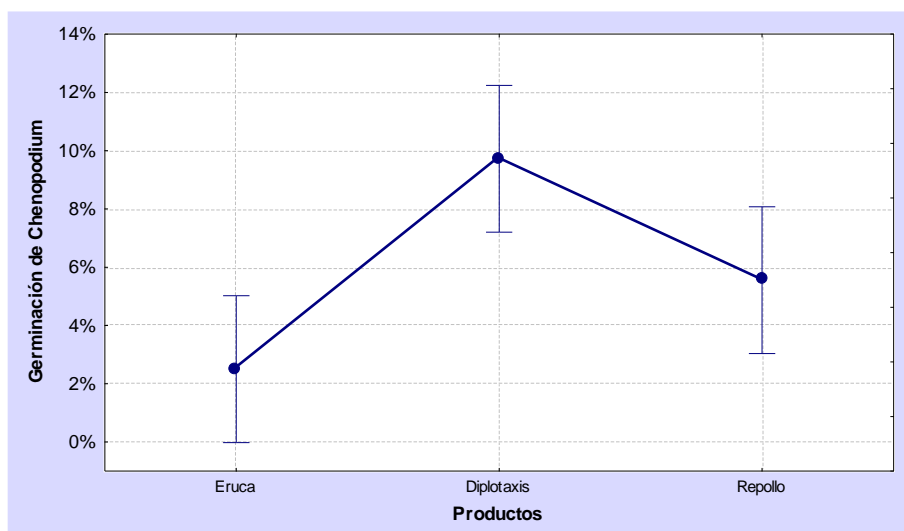


Figura 2.27. Efecto de los productos Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea, aplicados en estado deshidratado, sobre el porcentaje de germinación de Chenopodium album.

Eruca vesicaria es el producto que más afectó la germinación de Chenopodium, que alcanzó un valor promedio de 2,5%, similar en los tres períodos. En el caso de D. tenuifolia y al igual que lo observado anteriormente, el efecto aumentó con posterioridad a las 3 semanas de tratamiento, en que el porcentaje de germinación bajó de 12,5 hasta 5% a las 4 semanas. En el caso de B. oleracea el mayor efecto correspondió también a las 4 semanas, con una germinación promedio del 4,2% (Fig. 2.28).

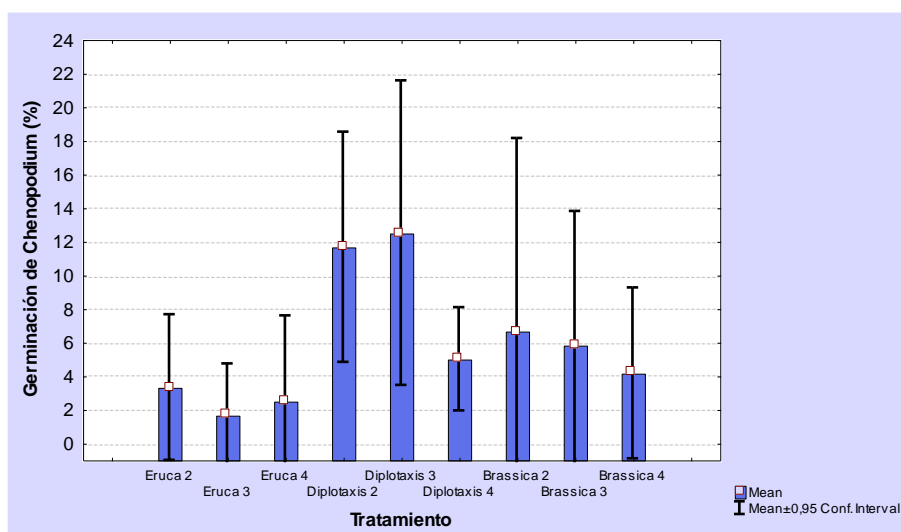


Figura 2.28. Efecto de la aplicación en estado deshidratado de Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea sobre el porcentaje de germinación de Chenopodium album en todos los períodos de tratamiento. Los números 2, 3 y 4 indican la duración del tratamiento en semanas.

De acuerdo a estos resultados es posible afirmar que, en términos generales, la duración del tratamiento no arrojó diferencias significativas entre dos, tres o cuatro semanas de biofumigación, principalmente cuando los productos se aplicaron en estado fresco. Esto confirmaría que los efectos de los isotiocianatos volátiles son de corta duración y su mayor influencia ocurre en los primeros días de tratamiento. Según Morra & Kirkegaard (2002), luego de la incorporación de residuos de Brasicáceas la liberación de isotiocianatos es rápida y su concentración disminuye rápidamente a la mitad en menos de 72 horas. Así por ejemplo, en una prueba de germinación llevada adelante por Bell & Muller (1973), el 80% de la capacidad inhibitoria del propenil-ITC en el suelo

había desaparecido después de 2 semanas. También en bioensayos de germinación de semillas realizados por Teasdale & Taylorson (1986), el 50% del metil-ITC había desaparecido en los primeros dos días y el resto lo hizo en siete días como máximo.

Aunque las diferencias no fueron significativas con los distintos períodos de tratamiento, se advierte una tendencia hacia la disminución del porcentaje de germinación al aumentar la duración del mismo. En este sentido, Lewis & Papavizas (1971), mostraron en contenedores sellados que las concentraciones que fallan para matar microorganismos en dos días podrían matarlos en cuatro a seis días. La evidencia indica resultados similares con insectos y semillas (Lichtenstein et al. 1962, 1964; Pieczarka & Warren, 1960). Bell & Muller (1973) mencionan que el efecto inhibitor del alil isotiocianato proveniente de un cultivo de mostaza se disipó luego de un período de 9 semanas en condiciones de laboratorio. En ese caso los compuestos volátiles no parecían ser los únicos responsable del efecto inhibitor y se señaló que además de los mismos intervienen otros productos solubles en agua, que se adsorben a las partículas del suelo y cuyo efecto sobre la germinación puede prolongarse por mayor tiempo.

En concordancia con los resultados del bioensayo anterior, se obtuvieron mayores reducciones en la germinación cuando se emplearon los productos deshidratados, con diferencias significativas entre los tratamientos de 2 y 4 semanas de duración.

4. CONCLUSIONES

- ✓ Todos los productos ensayados afectaron la germinación de las malezas usadas como indicadores.
- ✓ Eruca vesicaria tuvo el mayor efecto detrimental sobre la capacidad germinativa de las especies indicadores.
- ✓ La condición de humedad del material utilizado influyó fuertemente sobre los resultados obtenidos y todos los productos tuvieron mayor efecto al ser aplicados en estado deshidratado.

- ✓ La combinación más significativa fue Eruca vesicaria en estado seco, es decir, este producto aplicado en esa condición produjo la mayor reducción en el porcentaje de germinación de semillas respecto de las demás combinaciones de tratamientos.
- ✓ La dosis de 3 kg/m² resultó insuficiente para reducir la germinación de las malezas indicadoras, obteniéndose mayores reducciones recién a partir de la utilización de 5 kg/m².
- ✓ El efecto de la duración del tratamiento depende del producto y estado en que se incorpore el biofumigante.
- ✓ Hay una tendencia hacia la disminución del porcentaje de germinación al aumentar la duración del tratamiento.

En definitiva, los resultados obtenidos en el laboratorio sugieren que Eruca vesicaria, Diplotaxis tenuifolia y Brassica oleracea var capitata, tanto en estado fresco como deshidratado, son especies con potencial biofumigante para inhibir la germinación de malezas. La biofumigación con estas especies de Brasicáceas representaría una herramienta alternativa para incluir en un programa de manejo integrado de la sanidad de los cultivos.

5. BIBLIOGRAFÍA

AL-TURKI, AHMAD & DICK, W., 2003.- Myrosinase Activity in Soil. Science Society of American Journal 67:139-145.

ASCARD, J. & JONASSON, T., 1991.- White Mustard Meal Interesting for Weed Control. In Weeds and Weed Control Reports. 32nd Swedish Crop Protection Conference. Swedish University of Agricultural Sciences: Uppsala 1991: 139-155.

AUSTERWEIL, M.; STEINER, B. & GAMLIEL, A., 2006.- Permeation of soil fumigants through agricultural plastic films. Phytoparasitica 34:491–501.

BALL, D. & MILLER, S. 1990. Weed seed population response to tillage and herbicide use in three irrigated cropping sequences. Weed Science Vol.38, N° 6: 511-517.

BANGARWA, S. K.; J. K. NORSWORTHY; J. D. MATTICE & E. E. GBUR, 2011.- Glucosinolate and Isothiocyanate Production from Brassicaceae Cover Crops in a Plasticsulture Production System. *Weed Science* 59: 247-254.

BELL, D.T. & MULLER, C.H., 1973.- Dominance of California annual grasslands by Brassica nigra. *American Middle Nat.* 90: 277-299.

BELL, L.; ORUÑA-CONCHA, M.J.; WAGSTAFF, C., 2015.- Identification and quantification of glucosinolate and flavonol compounds in rocket salad (Eruca sativa, Eruca vesicaria and Diplotaxis tenuifolia) by LC-MS: Highlighting the potential for improving nutritional value of rocket crops. *Food Chemistry* 172: 852-861

BELLO, A.; GONZALEZ, J.; ARIAS, M.; RODRIGUEZ KABANA, R., 1998.- Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. *Phytoma-España*, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 404 pp.

BELLO, A.; LÓPEZ, J.; PÉREZ, A.; SANZ, R.; ESCUER M. & HERRERO, M. J. 2000.- 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.

BOREK, V.; MORRA, M.J.; BROWN, P.D. & MC CAFFREY, J.P., 1994.- Allelochemicals produced during sinigrin decomposition in soil. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 42: 1030-1034.

BOREK, V.; MORRA, M.J.; BROWN, P.D. & MC CAFFREY, J.P., 1995.- Transformation of the glucosinolate-derived allelochemicals allyl isothiocyanate and allyl nitrile. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 43: 1935-1940.

BOYDSTON, R. A.; MORRA, M. J.; BOREK, V.; CLAYTON, L. & VAUGHN, S. F., 2011.- Onion and Weed Response to Mustard (Sinapis alba) Seed Meal. *Weed Science* 59: 546-552.

BROWN, P. & MORRA, M., 1996.- Hydrolysis products of glucosinolates in Brassica napus tissues as inhibitors of seed germination. *Plant and Soil* 181: 307-316.

BROWN, P. D. & MORRA, M. J., 1997.- Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy*, Volume 61: 167-231.

BROWN, P. D. & MORRA, M. J., 2005.- Glucosinolate-Containing Seed Meal as a Soil Amendment to Control Plant Pests. 2000-2002. Subcontract Report National Renewable Energy Laboratory, NREL/SR-510-35254.
<http://www.osti.gov/bridge>

BUSTAMANTE, A., G. REYBET, J. ARANDO, A. & ESCANDE, A., 2008.- Efecto de la biofumigación con residuos orgánicos para el control de malezas. XXXI Congreso Argentino de Horticultura. Horticultura Argentina 27(64): Sep.-Dic. 2008. Página 66.

CAMPBELL, A.G., 1959.- A Germination Inhibitor and Root-Growth Retarder in Chou Moellier (Brassica oleracea). Nature 183: 1263-1264.

CARRASCO, J. & RIQUELME, J., 2004.- Biofumigación. Boletín INIA N° 155: 41-47.

CONTICELLO, L. & BUSTAMANTE, A., 2001.- Relevamiento vegetacional de especies asociadas a las actividades productivas del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 104 (2): 155-162.

CONTICELLO, L.; BUSTAMANTE, A. & CERAZO, M.B., 2008.- Sintaxones ruderales y adventicios en la zona del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Multequina 17: 55-71.

CORTÉS ARIAS, M. M., 2011.- Análisis y comparación de los glucosinolatos presentes en diferentes accesiones de cubio (Tropaeolum tuberosum) para evaluar su uso potencial en el control del patógeno de la papa Spongospora subterranea. Tesis Magister en Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Químicas, Bogotá. 104 pp.

DALE, J.E., 1986.- Decline in Phytotoxicity of Benzyl Isothiocyanate Formulated as Granules. Weed Science 34: 325-327.

DE HARO-BAILÓN, A.; JURADO, A.; PÉREZ-MELGARES, J.D.; SAAVEDRA, M.; BEJARANO, J. & OBREGÓN, S. 2013.- Variabilidad cualitativa y cuantitativa del contenido de glucosinolatos en especies de Crucíferas de interés para la biofumigación del olivar. El aceite de oliva. Actas Simposio Expoliva 2013. Jaén (España), 8-11 de mayo.

DROBINCA, L.; KRISTIAN, P. & AUGUSTIN, J., 1977.- The chemistry of the NCS group. In: Patai S., ed. The chemistry of cyanates and their derivatives. New York:1003-1197.

EBERLEIN, C. V.; MORRA, M. J.; GUTTIERI, M. J.; BROWN, P. D. & BROWN, J., 1998.- Glucosinolate production by five field-grown Brassica napus cultivars used as green manures. *Weed Technology* 12:712-718.

EDWARDS, S. & PLOEG, A. 2014.- Evaluation of 31 Potential Biofumigant Brassicaceous Plants as Hosts for Three Meloidogyne Species. *Journal of Nematology* 46 (3): 287.295.

FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T. & TALALAY, P., 2001.- The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56:5-51.

FENDWIK, G.; HEANEY, R. & MULLIN, W., 1983.- Glucosinolates and their breakdown Products in food and food plant. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 18:123-201.

FORCELLA, F., WEBSTER, T. y CARDINA, J. 2004.- Protocolos para la determinación de bancos de semillas de malezas en los agrosistemas. En R. Labrada, ed., *Manejo de malezas para países en desarrollo*. Addendum 1. FAO. Roma, Italia. <http://www.fao.org/docrep/007/y5031s/y5031s03.htm>

GIMSING, A. L. & KIRKEGAARD, J. A., 2009.- Glucosinolates and biofumigation: fate of glucosinolates and their hydrolysis products in soil. *Phytochemistry Reviews* 8:299-310.

GRESSEL, J.B. & HOLM, L.G. 1964.- Chemical Inhibition of Crop Germination by Weed Seeds and the Nature of Inhibition by Abutilon theophrasti. *Weed Research* 4: 44-53.

GROB, K. J. R. & MATILE, P. H., 1979.- Vacuolar Location of Glucosinolates in Horseradish Root Cells. *Plant Science Letters* 14: 327-335.

GRÜMMER, G. & BEYER, H. 1960.- The Influence Exerted by Species of Camelina on Flax by Means of Toxic Substances. In *The Biology of Weeds*. Harper, J.L., Ed. Blackwell Scientific Publications: Oxford pp. 153-157.

HARAMOTO, E. R. & GALLANDT, E. R., 2004.- Brassica cover cropping for weed management: A review. *Renewable Agriculture and Food Systems* 19(4): 187-198.

HARAMOTO, E. R. & GALLANDT, E. R., 2005.- Brassica cover cropping: effects on weed and crop establishment. *Weed Science*, 53: 695-701.

HÖGLUND, A.; LENMAN, M. & RASK, L., 1992.- Myrosinase is Localized to the Interior of Myrosin Grains and is Not Associated to the Surrounding Tonoplast Membrane. *Plant Science* 85: 165-170.

HOITINK, H. A., 1988.- Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Rev. Phytopathology* 24: 93-114.

IRIARTE, L.E.; SOSA, M.C.; REYBET, G.E., 2011.- Efecto de la biofumigación con repollo sobre el control de Fusarium oxysporum en suelo. *RIA* 37 (3): 231-237.

JIMÉNEZ-OSORNIO, J.J. & GLIESSMAN, S.R., 1987.- Allelopathic Interference in a Wild Mustard (Brassica campestris L.) and Broccoli (Brassica oleracea L. var. italica) Intercrop Agroecosystem. In *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*. American Chemical Society: 262-288.

JIRACEK, V.; KUTACEK, M.; SALKADE, S. & KOSTIR, J., 1974.- Effect of zinc on the biosynthesis of indole etiolated rape seedling (Brassica napus var. arvensis (Lam.) Thell. *Biología Plantarum* 16: 454.

JOHANSSON, H., 1992.- Ogräsbekämpning I Grönsaksodling med Vitsenapsexpeller - en Naturlig Herbicid. *SLU Info/Trädgård Rapporter* 371. Swedish University of Agricultural Sciences: Alnarp 1992.

JONES, C.E., 1992.- Crop Rotation for the Control of Wild Oats in Wheat. In *Proceedings 6th Australian Society of Agronomy Conference UNE Armidale*, February 1992: 438-441.

KASTING, R.; PITTMAN, U.J.; HERRICKS, J.S.; DOWNEY, R.K. & DUBETZ, S., 1974.- Toxin from the Straw Residue of Rape. Abstracts of technical papers presented at the annual meeting of the Canadian Society of Agronomy 1973. *Canadian Journal of Plant Science* 54: 447.

KIRKEGAARD, J.A. & SARWAR, M., 1998.- Biofumigation potential of brassicas. I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil* 201: 71-89.

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.

KUNZ, CH.; STURM, D.J.; VARNHOLT, D.; WALKER, F. & GERHARDS, R. 2016.- Allelopathic effects and weed suppressive ability of cover crops. *Plant Soil Environment* 62 (2): 60–66

LEWIS, J.A. & PAPAIVIZAS, G.C. 1970.- Evolution of Volatile Sulfur-Containing Compounds from Decomposition of Crucifers in Soil. *Soil Biology and Biochemistry* 2: 239-246.

LEWIS, J.A. & PAPAIVIZAS, G.C. 1971.- Effect of Sulfur-Containing Volatile Compounds and Vapors from Cabbage Decomposition on Aphanomyces euteiches. *Phytopathology* 61: 208-214.

LICHTENSTEIN, E.P.; STRONG, F.M. & MORGAN, D.G., 1962.- Identification of 2-Phenylethylisothio-cyanate as an Insecticide Occurring Naturally in the Edible Part of Turnips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 10: 30-33.

LICHTENSTEIN, E.P.; MORGAN, D.G., & MUELLER, C.H. 1964.- Naturally Occurring Insecticides in Cruciferous Crops. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2: 158-161.

MACLEOD, A.J., PANESAR, S.S., & GIL, V., 1981.- Thermal Degradation of Glucosinolates. *Phytochemistry* 20: 997-980.

MASON-SEDUN, W.; JESSOP, R.S. & LOVETT, J.V., 1986.- Differential Phytotoxicity among Species and Cultivars of the Genus Brassica to Wheat. I. Laboratory and Field Screening of Species. *Plant and Soil* 93: 3-16.

MATTHIESSEN, J.N. & KIRKEGAARD, J.A., 2006.- Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soilborne pest and disease management. *Critical Review in Plant Science* 25: 235-265.

MATTNER, S. W., I.J. PORTER, R.K. GOUNDER, A.L. SHANKS, D.J. WRENB, D. ALLEN, 2008.- Factors that impact on the ability of biofumigants to suppress fungal pathogens and weeds of strawberry. *Crop Protection* 27: 1165-1173.

MORRA, M.J. & KIRKEGAARD, J.A., 2002.- Isothiocyanate Release from Soil-Incorporated Brassica Tissues. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1685-1690.

NORSWORTHY, J. K., 2003.- Allelopathic potential of wild radish (Raphanus raphanistrum). *Weed Technology* 17:307-313.

NORSWORTHY, J. K. & MEEHAN, J. T. IV., 2005a.- Herbicidal activity of eight isothiocyanates on Texas panicum (Panicum texanum), large crabgrass (Digitaria sanguinalis), and sicklepod (Senna obtusifolia). *Weed Science* 53:515-520.

NORSWORTHY, J. K. & MEEHAN, J. T. IV., 2005b.- Use of isothiocyanates for suppression of Palmer amaranth (Amaranthus palmeri), pitted morningglory

(Ipomoea lacunosa), and yellow nutsedge (Cyperus esculentus). Weed Science 53:884-890.

NORSWORTHY, J. K. & MEEHAN, J. T., 2005c.- Wild radish-amended soil effects on yellow nutsedge (Cyperus esculentus) interference with tomato and bell pepper. Weed Science 53:77-83.

NORSWORTHY, J. K.; M. S. Malik; P. Jha & M. B. Riley, 2007.- Suppression of Digitaria sanguinalis and Amaranthus palmeri using autumn-sown glucosinolate-producing cover crops in organically grown bell pepper. Weed Research 47:425-432.

OLESZEK, W. 1987.- Allelopathic Effects of Volatiles from Some Cruciferae Species on Lettuce, Barnyard Grass and Wheat Growth. Plant and Soil 102: 271-273.

PAPAVIZAS, G.C., 1966.- Suppression of Aphanomyces Root Rot of Peas by Cruciferous Soil Amendments. Phytopathology 56: 1071-1075.

PARK, K.W.; HWANG, S.K.; CHOI, S.J. & KIM, Y.S., 1983.- Effect of Thiocyanate Ion and Boron on the Germination of Several Vegetable Crops. Chemical Abstract 99, Entry N° 83659q.

PATRICK, Z.A.; TOUSSOUN, T.A. & SNYDER, W.C. 1963.- Phytotoxic Substances in Arable Soils Associated with Decomposition of Plant Residues. Phytopathology 53: 152-161.

PEREYRA, S.M.; AVILA, A. & ORECCHIA, E., 2008.- La biofumigación y el metam sodio como alternativas al uso de bromuro de metilo. Efecto sobre el control de malezas y las características químicas del suelo. Agriscientia Vol XXV (2): 75-79.

PETERSEN, J.; BELZ, R.; WALKER, F. & HURLE, K., 2001.- Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip-rape mulch. Agronomy Journal, 93:37-43.

PIECZARKA, S.J. & WARREN, G.F., 1960.- The Influence of Concentration of Fumigant and Time of Exposure on the Killing of Dormant Imbibed Seeds. Weeds 8: 612-615.

POCOCK, J.J.; HEANEY, R.K.; WILKINSON, A.P.; BEAUMONT, J.E.; VAUGHAN, J.G. & FENWICK, G.R., 1987.- Changes in Myrosinase Activity and Isoenzyme Pattern, Glucosinolate Content and the Cytology of Myrosin Cells in the Leaves of Heads of Three Cultivars of English White Cabbage. Journal of the Science of Food and Agriculture. Volume 41: 245-257.

RAMÍREZ-VILLAPUDUA, J. & MUNNECKE, D., 1987.- Control of cabbage yellows (Fusarium oxysporum f.sp. conglutinans) by solar heating of field soils amended with dry cabbage residues. *Plant Disease* 71: 217-221.

RAMÍREZ-VILLAPUDUA, J. & MUNNECKE, D., 1988. Effects of solar heating and soil amendments of cruciferous residues on Fusarium oxysporum f.sp. conglutinans and other organisms. *Phytopathology* 3(78): 289-295.

ROSA, E. & RODRÍGUEZ, P., 1999.- Towards a more sustainable agriculture system: the effect of glucosinolates on the control of soil-borne diseases. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 74(6): 667-674.

SAMTANI, J.; AJWA, H.; WEBER, J.; BROWNE, G.; KLOSE, S.; HUNZIE, J. & FENNIMORE, S. 2011.- Evaluation of non-fumigant alternatives to methyl bromide for weed control and crop yield in California strawberries (Fragaria ananassa L.). *Crop Protection* 30: 45-51

SARWAR, M.& KIRKEGAARD, J.A. 1998.- Biofumigation potential of brassicas. II. Effect of environment and ontogeny on glucosinolate production and implications for screening. *Plant and Soil* 201: 91-101.

STIEHL, B. & BIBLE, B.B., 1989.- Reaction of Crop Species to Thiocyanate Ion Toxicity. *Hort Science* 24: 99-101.

STOIN D.; PIRSAN, P. & RADU, F., 2009.- Studies regarding the myrosinase enzymatic activity from black mustard (Brassica nigra) seeds. *Journal of Food Agriculture & Environment* 7 (1): 44-47.

TEASDALE, J.R. & TAYLORSON, R.B., 1986.- Weed Seed Response to Methyl Isothiocyanate and Metham. *Weed Science*, 34: 520-524.

TELLO, J. 1999.- Búsqueda de alternativas al Bromuro de metilo, Guatemala. C.A. ICTA UNIDO –CONYCIT-IPM-CRSP-CONAMA. Programa ONUDI. Internacional Workshop.

THANGSTAD, O.P.; EVJEN, K. & BONES, A., 1991.- Immunogold-EM Localization of Myrosinase in Brassicaceae. *Protoplasma* 161: 85-93.

VAN ETTEN, C.H. & TOOKEY, H.L., 1979.- Chemistry and biological effects of glucosinolates. In: Rosenthal, G.A., Janzen, D.H. (Eds.), *Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites*. Academic Press, New York, USA, pp. 471-500.

VAUGHN, S. F. & BOYDSTON, R. A., 1997.- Volatile allelochemicals released by crucifer green manures. *Journal of Chemical Ecology* 23:2107–2116.

VERA, C.L.; MCGREGOR, D.I. & DOWNEY, R.K. 1987.- Detrimental Effects of Volunteer Brassicaon Production of Certain Cereal and Oilseed Crops. *Canadian Journal of Plant Science* 67: 983-995.

YATES, S. R.; GAN, J.; PAPIERNIK, S. K.; DUNGAN, R. & WANG, D., 2002.- Reducing the fumigant emission after soil application. *Phytopathology* Vol. 92, N° 12: 1344-1348.

Capítulo III

EFECTO DE LA BIOFUMIGACIÓN CON RESIDUOS DE REPOLLO (Brassica oleracea var. capitata) SOBRE LA POBLACIÓN DE MALEZAS A CAMPO

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los beneficios potenciales de las plantas que contienen glucosinolatos es el control de malezas mediante la inhibición de la germinación y el crecimiento de plántulas. Existen numerosas investigaciones que dan cuenta de la aptitud de estas plantas para afectar a otras especies. Vaughn & Boydston (1995), demostraron la inhibición completa o severa de la germinación de maíz, soja, trigo, colza, pepino, zanahoria, alfalfa, diente de león, yuyo colorado y algunas especies de Echinochloa por propenil-ITC (propenil-isotiocianato) así como metil-ITC en fase gaseosa, en concentraciones de 1 ppm en el espacio superior de recipientes herméticos. El metil-ITC también inhibió el crecimiento y la germinación de numerosas especies de malezas tales como Amaranthus sp., Taxacum officinale, Chenopodium sp., Cynodon dactylon, Portulaca oleracea, Digitaria sanguinalis, Elymus sp., Euphorbia sp., Conyza sp., Echinochloa sp., Panicum sp., Ambrosia sp., Eragrostis sp., Lamium amplexicaule y Mollugo sp. (Beekhuis 1975; Teasdale & Taylorson 1986). A su vez el alyl-ITC, producto de la hidrólisis del glucosinolato sinigrina presente en numerosas especies de Brassicáceas, como el repollo (Penas et al., 2011), aplicado en fase de vapor en una concentración de 1 ppm redujo la germinación de Echinochloa sp. en un 45% y de Amaranthus quitensis en un 85% (Al-Khatib et al., 1997). En el mismo estudio se analizó el efecto supresor del abono verde de Brassica hirta, además de centeno y trigo, para el control de flora arvense en arveja. Se encontró que las brasicas añadidas al suelo producían mermas en la emergencia de Capsella bursa-pastoris, Kochia scoparia y Setaria viridis en un 97, 54 y 49% respectivamente. Norsworthy et al. (2007) reportaron hasta un 79 y un 48% de control de principios de temporada de Digitaria sanguinalis y Amaranthus palmeri, respectivamente, sin ningún tipo de daño a los cultivos, mediante el uso de Brassicáceas como cultivos de cobertura para enmienda del suelo, previo al cultivo orgánico de pimiento.

Sin embargo, el porcentaje de germinación no es la única variable a tomar en cuenta al analizar los resultados de un método de control, ya que no explica nada del vigor que tendrá la plántula posteriormente. Es decir, el hecho de que

una semilla germine no asegura que pueda llegar a ser una planta normal. No siempre hay correlación entre la inhibición de la germinación y la del crecimiento. Por ejemplo, en una experiencia realizada por Gressel y Holm (1964), la aplicación de extractos acuosos de Abutilon theophrasti tuvo poco efecto sobre la germinación de tomate, pero inhibió severamente el crecimiento posterior.

En una investigación realizada por Stiehl y Bible (1989), a concentraciones cercanas a las que podrían encontrarse en situaciones naturales al incorporar un cultivo de cobertura, los porcentajes de germinación de 39 especies hortícolas fueron semejantes a los controles, aunque el crecimiento de 22 de las especies se vio afectado negativamente. En la experiencia de Al-Khatib et al. (1997), el crecimiento de los tallos de Echinochloa y Amaranthus posterior al tratamiento con alyl-ITC, fue aún más susceptible que la germinación.

Mason-Sedun et al. (1986) informaron de una fuerte reducción en el desarrollo de la radícula y el coleoptilo de trigo germinado en extractos acuosos de residuos de varias brasicas, aunque en este caso la germinación no se vio afectada. Los mismos autores en un experimento de campo, observaron que la incorporación de 5,5 t/ha de residuos de cuatro especies del género Brassica produjeron una reducción en la densidad, macollaje, altura, peso seco y rendimiento de semillas en trigo. Waddington (1978) y Waddington y Bowren (1978) (en Vera et al., 1987) observaron que la incorporación ya sea de colza o residuos de trigo, en cantidades de hasta 8,97 t/ha, produjo una reducción en la emergencia de plántulas de alfalfa, pero no afectó la producción de materia seca. Por el contrario, no tuvo efecto sobre la emergencia de plántulas de cebada y cebadilla, aunque posteriormente estas especies presentaron síntomas de deficiencia de nitrógeno y se registraron reducciones en el área foliar y el rendimiento. El residuo fresco de Sinapis alba redujo la biomasa de plántulas de Solanum physalifolium y Setaria viridis 83 y 70%, respectivamente (Boydston & Hang, 1995). También Mattner et al. (2008), trabajando con una mezcla biofumigante constituida por Brassica rapa y B. napus, señalan que la incorporación de la misma en el suelo redujo en un 40% el peso seco de las malezas emergentes, aunque no disminuyó su densidad global.

Aunque se afirma que la biofumigación es una técnica que puede ser aplicada en cualquier época del año y área geográfica, se debe considerar que cuanto más frío se encuentre el suelo en el momento de la aplicación, las cantidades de ITC's liberadas pueden ser insuficientes y el efecto biofumigante menor. Boydston y Hang (1995) estudiaron el efecto del abono verde de Brassica napus en el control de la flora arvense en cultivo de papa en EE.UU., encontrando que si se incorpora en primavera, la densidad de la flora arvense se reduce de un 73 a 85%. En experimentos de campo realizados en otoño-invierno con residuos de varias especies, incluidas algunas Brasicáceas, para el control de Fusarium oxysporum, las enmiendas produjeron resultados consistentes, aunque no significativos, aún a bajas temperaturas, siendo mejores en las parcelas que estuvieron bajo el sol directo (Ramírez-Villapudua y Munnecke, 1988).

Según Sarwar et al. (1998), las concentraciones de glucosinolatos varían significativamente (de 3 a 10 veces) de acuerdo al ambiente en el que las plantas se desarrollen. Cuando se compararon brasicas sembradas en otoño y primavera, las concentraciones de glucosinolatos más altas se encontraron en las que fueron sembradas en primavera.

Esta técnica es mucho más eficiente si se combina con solarización, ya que las altas temperaturas aumentan la liberación de sustancias volátiles (Ploeg et al., 2001). Se debe considerar el ciclo del cultivo que se pretende realizar, así por ejemplo, en el caso del tomate la biofumigación no puede realizarse en enero debido a que cortaría el ciclo del cultivo. Sin embargo, se han obtenido buenos resultados con experiencias de biofumigación realizadas en primavera, entre noviembre y diciembre (Mitidieri et al., 2005). Además de la temperatura, las condiciones ambientales, tales como el pH o la presencia de ciertos iones, influyen en el resultado de la hidrólisis por mirosinasa de un glucosinolato dado (Brown y Morra, 2005).

Debido a la gran cantidad de factores que pueden afectar los resultados de esta técnica, resulta necesario evaluar en condiciones de campo los resultados obtenidos en el laboratorio. Por ello se plantea:

Hipótesis

La biofumigación con residuos de repollo permite el control de malezas y la disminución en el uso de herbicidas en las condiciones de producción de hortalizas en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

Objetivos específicos

- Evaluar la eficiencia del tratamiento de biofumigación con repollo respecto al control químico
- Estudiar la respuesta de la comunidad de malezas al tratamiento de biofumigación aplicado en diferentes épocas del año

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos experimentos de campo durante el período 2014-2015 en un lote ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue (38° 56' S y 67° 59' O; 250 msnm). El sustrato correspondió a un suelo Torrifluvente típico, franco fina, mixta, calcárea, térmica. Es un suelo profundo, de textura franco arcillo limosa en superficie (hasta 40 cm) a franco limosa en profundidad.

El primer experimento se realizó durante el período estival y el segundo al finalizar los cultivos de repollo de otoño-invierno.

2.1. Primer ensayo

El ensayo se inició el 11 de diciembre de 2014. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con tres tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos fueron:

- 1- Biofumigación
- 2- Herbicida
- 3- Control sin tratar

La unidad experimental fue de 6 m² y el tratamiento de biofumigación tuvo una duración de cuatro semanas. Para la biofumigación se utilizaron residuos de repollo (Brassica oleracea var capitata), que se obtuvieron con posterioridad a la cosecha en un campo dedicado a la producción de hortalizas. La dosis utilizada fue de 5 kg/m², seleccionada en base a los resultados de los bioensayos anteriores, en los que con esta dosis y la de 8 kg/m² se obtuvieron los mejores resultados. Al no haber diferencias significativas entre ellas se optó por trabajar con menor volumen de material. Por otra parte, esta cantidad representa aproximadamente lo que puede quedar como residuo luego de la cosecha de un cultivo comercial.

Para el tratamiento con herbicida se utilizó Herbadox[®]33E (BASF, Argentina S.A.), cuyo producto activo es el Pendimetalín al 33%, en una dosis de 3 litros de producto comercial por hectárea. La misma fue aplicada con una pulverizadora manual tipo mochila. Este producto es uno de los más utilizados en la producción de ajo, cebolla, zanahoria, tomate, arveja, etc., por controlar a las malezas más comúnmente encontradas en los cultivos hortícolas (Guía de productos fitosanitarios CASAFE, 2015).

Previo a la fumigación el suelo se preparó con arado de disco y rastra de discos, para eliminar la vegetación presente y facilitar la incorporación del material. El material biofumigante fue trozado a cuchillo y se distribuyó de manera uniforme en las parcelas correspondientes (Fig. 3.1). Inmediatamente se procedió a su incorporación en los primeros 10 cm del suelo, mediante rastrillo, en forma manual.



Figura 3.1. A, Preparación del material biofumigante; B, Aplicación del biofumigante en el suelo.

Se aplicó un riego abundante para llevar el suelo a saturación y se procedió a cubrir las parcelas correspondientes al tratamiento de biofumigación con film de polietileno cristal de 100 micras de espesor (Fig. 3.2).



Figura 3.2. Parcela biofumigada luego de la colocación de la cubierta plástica.

Transcurridas cuatro semanas, se retiró el polietileno de las parcelas biofumigadas y se aplicó el herbicida en las parcelas correspondientes.

Treinta días después de retirado el polietileno se realizó el muestreo para la determinación del efecto sobre la población de malezas. Se realizaron cuatro mediciones por parcela con un cuadrante de 40 x 40 cm de lado (0,16 m²). Las variables registradas en cada punto de muestreo fueron:

- Biomasa
- Especies presentes y
- Cobertura total

Para el cálculo de la biomasa se extrajo la parte aérea de todas las malezas ubicadas en el cuadrante y se pesó con una balanza granataria (Modelo NJW Series-3000 Moretti \pm 0,1 g). De esta manera se obtuvo el peso fresco total y por especie en cada uno de los tratamientos. Para la determinación del peso seco, el material se llevó a estufa a 50 °C durante 3 días hasta peso constante.

En este caso sólo se midió la materia seca total por tratamiento debido a la imposibilidad de discriminar por especie. Las especies y la cobertura se determinaron por apreciación visual directa. Para el cálculo de cobertura se consideró la proporción del cuadrante ocupado por las especies presentes.

Para describir la estructura de la comunidad de malezas se consideró: Riqueza (número de especies presentes en cada muestra), Frecuencia relativa (proporción de censos en los que aparece cada especie), Cobertura y Diversidad, expresada a través del índice de Shannon (Magurran, 1988), calculado como:

- $H' = - \sum (p_i * \ln p_i)$,

donde H' : es la diversidad de especies

p_i : es la proporción de individuos en el total de la muestra que pertenecen a la especie i .

El índice toma en consideración tanto el número como la abundancia relativa de especies.

Se optó por evaluar el efecto de la biofumigación sobre el peso seco de las malezas como un indicador de posibles efectos sobre el vigor de las plantas, dado que si éste se ve afectado, el resultado podría ser que la planta no alcance el estado adulto y que tal vez no pueda dejar descendencia, con lo que se lograría una paulatina reducción del banco de semillas.

Debido al comportamiento similar de las variables peso fresco y peso seco, se decidió trabajar sólo con el peso seco para los análisis estadísticos, en tanto el peso fresco se utilizó para el análisis de la estructura de la comunidad de malezas.

Sobre los resultados obtenidos correspondientes al peso seco se efectuó un análisis de varianza y comparación de medias mediante la Prueba de Tukey, con nivel de significancia $\alpha = 0,05$ (Steel y Torrie, 1988) (Anexo 4). Para poder cumplir con los supuestos que exige el análisis estadístico (distribución normal

y homocedasticidad), fue necesario recurrir a la transformación logarítmica de los datos.

2.2. Segundo ensayo

Este ensayo se realizó el 13 de agosto de 2015, en el mismo sitio y siguiendo la misma metodología descrita en el apartado 2.1. La duración fue también de cuatro semanas y en este caso la aplicación del herbicida se realizó tres días después de retirado el polietileno debido a las condiciones climáticas (viento excesivo) imperantes en ese momento.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Biofumigación estival

3.1.1. Efecto sobre la Biomasa

Al analizar el efecto de los tratamientos realizados durante el período estival sobre la biomasa total de malezas, medida tanto como peso fresco o seco, se observó que la biofumigación con repollo y la aplicación de herbicida no se diferenciaron entre sí y presentaron diferencias significativas respecto al control (Fig. 3.3).

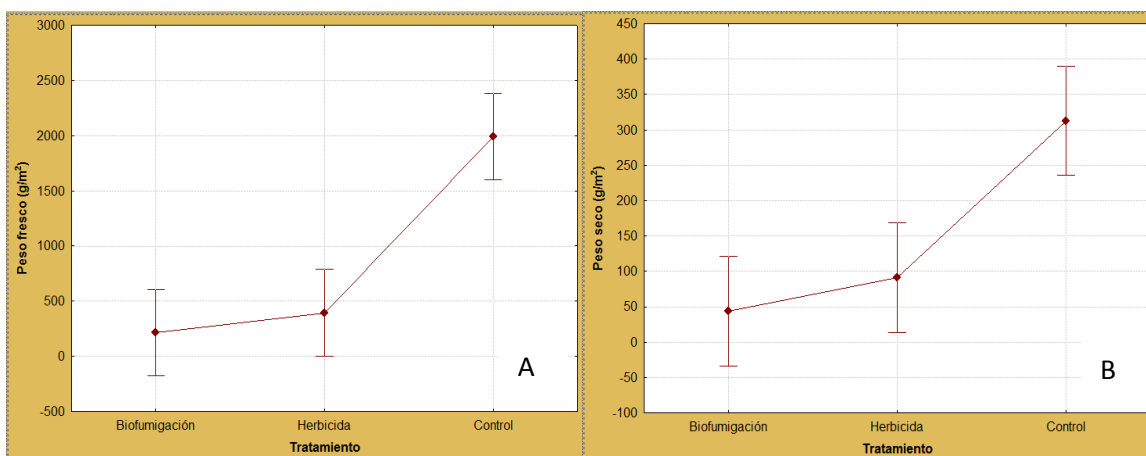


Fig. 3.3. Peso de malezas (g/m^2) luego de 30 días de finalizado el tratamiento de biofumigación con una dosis de $5 \text{ kg}/\text{m}^2$ de *Brassica oleracea* var *capitata* durante el período estival. A, peso fresco; B, peso seco.

Considerando el peso seco, con ambos tratamientos se obtuvo un nivel de eficiencia superior al 80% para controlar las malezas. Con el tratamiento de biofumigación con repollo la biomasa total obtenida representó una reducción del 89,06% respecto al control, mientras que con el herbicida fue 80,13% menor (Fig. 3.4).

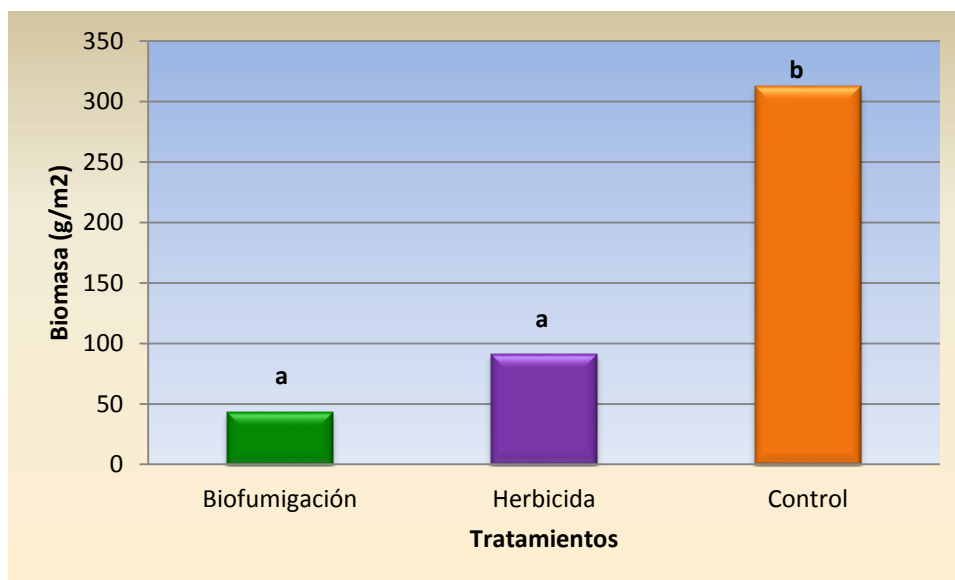


Fig. 3.4. Efecto de los tratamientos de desinfección de suelo sobre la biomasa de malezas expresada como peso seco (en gramos) por unidad de superficie. Los valores representan el promedio de 3 repeticiones. Letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la Prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Los resultados obtenidos fueron similares a los informados por numerosos investigadores. Boydston y Hang (1995) obtuvieron reducciones de un 50 a 96% en la biomasa de malezas luego de la incorporación de colza (*Brassica napus*), además de incrementos en el rendimiento de papa. Vaughn *et al.* (2005), mencionan disminuciones de hasta un 90% en el peso seco de las plantas luego de 30 días de aplicación de harina de semillas de *Thlaspi arvense* a razón de 0.50, 1.25 y 2.50 Kg/m². Con la incorporación al suelo de *Brassica napus*, *Brassica juncea* y *Sinapis alba* la biomasa de malezas fue entre un 16 a un 71% menor en comparación con el suelo no tratado (Krishnan *et al.* 1998, en Bangarwa *et al.*, 2011). La aplicación de residuos de *Brassica campestris* produjo una reducción en el peso seco de tallos y raíces de la maleza

Trianthema portulacastrum del 86 y el 91% respectivamente (Khaliq *et al.*, 2011).

Otros autores han obtenido mermas de menor magnitud, como Mattner *et al.*, (2008), quienes señalan que la incorporación de una mezcla de Brassica rapa y B. napus a razón de 7,6 kg/ha de biomasa seca, produjo una reducción del 40% en el peso seco de las malezas emergentes, aunque no afectó su densidad global.

3.1.2. Efecto sobre la comunidad de malezas

La riqueza total del sitio fue muy baja, representada por 8 especies repartidas por igual entre anuales y perennes. Todas las especies anuales fueron controladas por ambos tratamientos de desinfección, y sólo aparecieron en el tratamiento control.

Según se observa en la Tabla II las especies que mostraron mayor resistencia a los tratamientos fueron: Cyperus eragrostis, Cynodon dactylon y Sorghum halepense, todas perennes. La biomasa por metro cuadrado de estas especies, tanto en el tratamiento de biofumigación como en el de herbicida, fue menor que en el control, aunque esta diferencia no fue significativa.

Tabla II. Cobertura*, Biomasa* (g/m²), Diversidad y Frecuencia relativa (FR) de las especies de malezas presentes en cada uno de los tratamientos a los 30 días de finalizada la biofumigación durante el período estival.

Especies	Biomasa (g/m ²)			FR (%)
	Control	Herbicida	Biofumigación	
<i>Anoda cristata</i>	969,10	-	-	30
<i>Chenopodium album</i>	239,51	-	-	15
<i>Convolvulus arvensis</i>	1,11	-	-	4
<i>Cynodon dactylon</i>	63,89	41,04	26,39	30
<i>Cyperus eragrostis</i>	200,97	167,85	191,46	89
<i>Digitaria sanguinalis</i>	11,04	-	-	7
<i>Rapistrum rugosum</i>	69,44	-	-	11
<i>Sorghum halepense</i>	429,03	186,74		15
TOTAL	1984,09	395,63	217,85	
COBERTURA (%)	90	25	20	
DIVERSIDAD (H')	0,738	0,268	0,092	

* Los datos de biomasa (peso fresco), cobertura y diversidad corresponden al promedio de 3 repeticiones.

También surge de la Tabla II que de las especies perennes, Cyperus eragrostis y Cynodon dactylon estuvieron presentes en todos los tratamientos. Hay antecedentes que señalan que la enmienda del suelo con rábano silvestre (Raphanus raphanistrum) impactó negativamente sobre la producción de tubérculos y rizomas de Cyperus eragrostis (Norsworthy 2003; Norsworthy & Meehan 2005c). En el caso de esta experiencia dicha especie no parece haber sido afectada por el tratamiento ya que sus valores de biomasa no se diferencian significativamente del control, siendo además la especie con mayor frecuencia.

En cuanto a Sorghum halepense, aunque de las especies perennes fue la que presentó mayor biomasa absoluta, no se registró en el tratamiento de biofumigación y su biomasa se redujo en el tratamiento con herbicida.

Cyperus eragrostis estuvo presente en el 89% de los relevamientos, seguida de Cynodon dactylon y Anoda cristata ambas con una frecuencia del 30%. Esta última sólo estuvo presente en las parcelas testigo, aunque en casi todos los relevamientos por lo que su frecuencia relativa total resulta elevada. Es además la especie a la que le corresponde el mayor valor absoluto de biomasa (Tabla II).

La cobertura disminuyó aproximadamente un 78%, respecto al control, en las parcelas tratadas con herbicida y cerca de un 85% en las biofumigadas con repollo. En este último caso además, la riqueza específica se redujo a solo dos especies, Cyperus eragrostis y Cynodon dactylon, mientras que en las parcelas tratadas con herbicida también estuvo presente Sorghum halepense, probablemente proveniente de rebrotes a partir de los rizomas (Tabla II). Esto determinó que la diversidad de especies, medida a través del índice de Shannon, fuera muy baja. En promedio, los valores correspondientes fueron de 0,092 para el tratamiento de biofumigación, con sólo 2 especies presentes y en varios de los relevamientos con sólo una, lo que nos da un valor de cero para el índice. Para los tratamientos Herbicida y Control los valores promedio fueron de 0,268 y 0,738 respectivamente (Tabla II).

En el control la especie dominante en cuanto a cobertura y biomasa fue Anoda cristata, seguida de Sorghum halepense. A su vez Chenopodium album y Cyperus eragrostis presentaron valores similares.

3.2. Biofumigación invernal

Al momento de retirar el polietileno, las parcelas biofumigadas presentaron mayor cobertura de arvenses que los demás tratamientos, (Fig. 3.5). Esto probablemente se deba a la mayor temperatura alcanzada en esas parcelas al haber permanecido cubiertas durante el período de tratamiento.



Figura 3.5. Aspecto general del sitio del ensayo al momento de retirar los polietilenos luego de 4 semanas de biofumigación.

3.2.1. Efecto sobre la Biomasa

En el caso del tratamiento de biofumigación realizado en época invernal, no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Fig. 3.6).

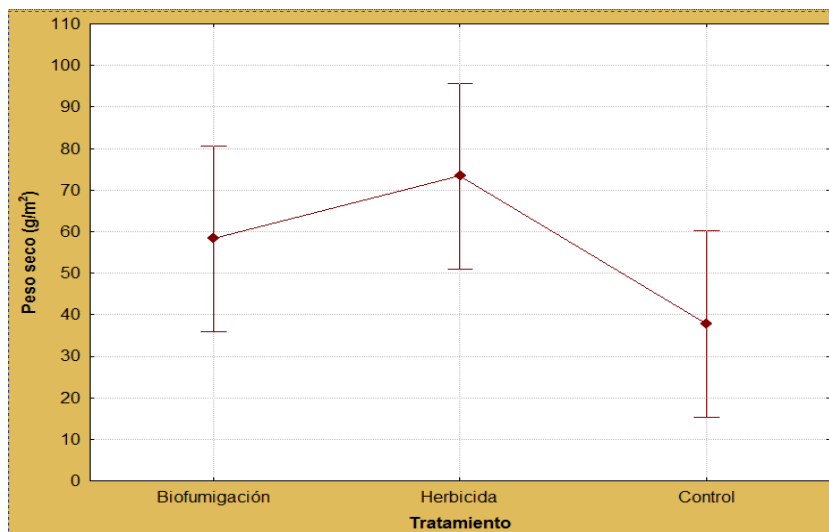


Figura 3.6. Efecto de los tratamientos sobre el peso seco de malezas (g/m^2) luego de 30 días de finalizada la biofumigación durante el período invernal. Las barras indican el desvío (o error) estándar de la media ($n=4$).

Estos resultados probablemente se relacionen con las bajas temperaturas registradas durante el período del ensayo, en el que las temperaturas medias diarias alcanzaron un promedio de $10,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, a diferencia del ensayo en la época estival en el que el promedio fue de $20,76\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Anexo 5). Ramírez-Villapudua y Munnecke (1988) mencionan resultados similares en una experiencia de biofumigación a campo en dos épocas diferentes, otoño y verano, para el control del marchitamiento del repollo ocasionado por Fusarium. En dicha experiencia se obtuvo un control satisfactorio de la enfermedad en el período estival pero no en otoño, siendo los resultados atribuidos a las bajas temperaturas ambientales. A este respecto se ha informado que temperaturas inferiores a $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ provocan la disminución de la actividad enzimática y una menor degradación de los glucosinolatos (Al-Turki & Dick, 2003; Stoin *et al.*, 2009). Además, las temperaturas altas incrementan la fase de vapor y la dispersión de los isotiocianatos en el suelo (Brown & Morra, 1996).

Otro aspecto que puede incidir es la concentración de glucosinolatos del material usado como biofumigante. Se sabe que la proporción de glucosinolatos varía de acuerdo a las condiciones del campo durante el crecimiento del cultivo. Los GLS's aumentan su concentración en la medida en

que las plantas se estresan por factores como la elevada intensidad lumínica, alta temperatura, restricción en la disponibilidad de agua o el aumento de la densidad (Rohr et al., 2006, en Bell et al., 2015). En este sentido se ha señalado que cultivos de *Brasicáceas* sembrados en primavera tuvieron mayores concentraciones que los sembrados en otoño (Sarwar et al., 1998; Mitidieri, 2005). Rosa & Rodríguez (2001), hallaron en brócoli que los niveles totales e individuales de glucosinolatos eran generalmente más altos en la cosecha tardía (verano) que en la cosecha temprana (primavera). Además de la concentración también puede haber variaciones en la proporción de glucosinolatos en las distintas estaciones. Así por ejemplo la concentración total de glucosinolatos en cultivo de repollo sembrado en primavera fue de 22 $\mu\text{g/g}$ de materia seca, siendo glucobrasicina y glucoiberina los glucosinolatos más comunes. En la siembra de otoño la concentración fue de 13 $\mu\text{g/g}$ de materia seca, con glucoiberina como el glucosinolato más abundante (Cartea et al., 2008). Charron et al. (2005) también hallaron variaciones en el contenido de glucosinolatos en las hojas de repollo cosechadas en primavera y en otoño. Estos autores manifiestan que las mayores concentraciones ocurrieron generalmente cuando la cosecha fue realizada durante períodos de elevada temperatura y larga duración del día.

Al momento de la evaluación, 30 días después de finalizada la biofumigación, las parcelas a las que se les incorporó el repollo se mantuvieron con presencia de arvenses y alcanzaron un promedio de biomasa de 58,33 g/m^2 . Aunque se produjeron la germinación y el rebrote de especies, el tratamiento control se mantuvo con el menor valor de biomasa, con un valor promedio de 48,89 g/m^2 . A su vez, las parcelas tratadas con herbicida alcanzaron el mayor valor de peso seco con un promedio de 72,33 g/m^2 (Fig. 3.7), siendo este un resultado no esperado, dado que se preveía que controlara las malezas emergentes. Evidentemente se produjo un fallo en la acción del producto empleado, ya que no controló *Hordeum* sp., una de las especies que más contribuyó a los valores de peso seco obtenidos, a pesar de ser un herbicida cuyo espectro de acción incluye gramíneas anuales. Es probable que se haya producido el lavado del producto, como consecuencia de las lluvias ocurridas cinco días después de la

aplicación, que alcanzaron 10,6 mm en el primer día de precipitación (Estación Meteorológica, Facultad de Ciencias Agrarias, Anexo 6).

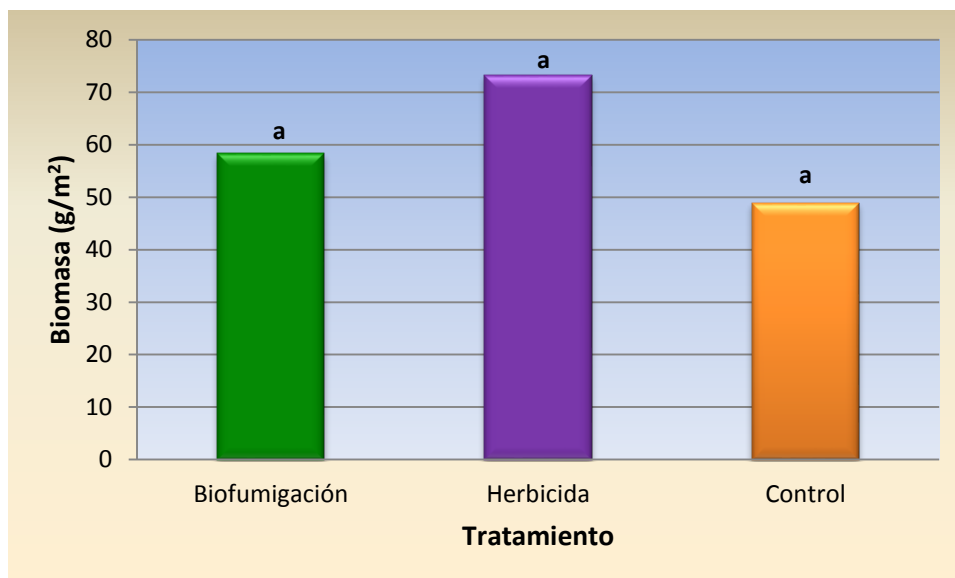


Fig. 3.7. Efecto de los tratamientos de desinfección del suelo durante el período invernal sobre el control de malezas expresado como peso seco (en gramos) por unidad de superficie. Los valores representan el promedio de 3 repeticiones. Letras distintas representan diferencias significativas según la Prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

3.2.2. Efecto sobre la comunidad de malezas

La riqueza total del sitio estuvo representada por 10 especies, de las cuales seis eran anuales y cuatro perennes. La mayor riqueza específica correspondió al tratamiento de biofumigación donde se encontraron nueve de las diez especies que contribuyeron a la riqueza global del sitio (Tabla III). Convolvulus arvensis fue la única especie que no se encontró en este tratamiento. Por otra parte, la menor riqueza (6 especies) correspondió al tratamiento con herbicida, a pesar de haber sido el que tuvo mayor valor de biomasa.

De las especies perennes Cynodon dactylon es la que alcanzó mayor valor de frecuencia (59%) y la única presente en los tres tratamientos (Tabla III).

Tabla III. Cobertura*, Biomasa* (g/m²), Diversidad y Frecuencia Relativa (FR) de las especies de malezas presentes en cada uno de los tratamientos a los 30 días de finalizada la biofumigación durante el período invernal.

Especies	Biomasa (g/m ²)			FR (%)
	Control	Herbicida	Biofumigación	
<i>Chenopodium album</i>	31,00	25,65	29,80	26
<i>Convolvulus arvensis</i>	17,51	-	-	4
<i>Cynodon dactylon</i>	30,00	78,20	61,90	59
<i>Cyperus eragrostis</i>	-	-	25,97	26
<i>Hordeum vulgare</i>	115,00	284,25	128,36	74
<i>Lamium amplexicaule</i>	-	21,80	18,90	11
<i>Polygonum aviculare</i>	20,50	18,80	41,38	44
<i>Rapistrum rugosum</i>	42,80	24,75	85,25	74
<i>Sonchus oleraceus</i>	-	-	18,30	8
<i>Sorghum halepense</i>	24,30	-	41,53	8
TOTAL	281,10	453,45	451,39	
COBERTURA (%)	20	35	40	
DIVERSIDAD (H')	0,810	0,469	0,968	

* Los datos de biomasa (peso fresco), cobertura y diversidad corresponden al promedio de 3 repeticiones.

Cyperus eragrostis y Sorghum halepense, sólo se presentaron en las parcelas biofumigadas en las que la mayor temperatura alcanzada por la cobertura con polietileno seguramente favoreció su rebrote temprano. Por tratarse de especies de ciclo estival, en los demás tratamientos las condiciones ambientales resultaron desfavorables para la aparición de las mismas al momento de la evaluación de los tratamientos.

Los mayores valores de frecuencia correspondieron a las anuales de ciclo invernal Hordeum vulgare y Rapistrum rugosum, ambas con un 74% de frecuencia. Hordeum además, fue la especie con mayor valor absoluto de biomasa. La presencia de esta especie se debe a que el lote donde se instaló el ensayo había sido ocupado previamente por este verdeo de invierno.

La cobertura promedio fue similar en los tratamientos de biofumigación y aplicación de herbicida, con un 40 y 35%, respectivamente. En el control la cobertura a 30 días de finalizada la biofumigación alcanzó el 20%, la mitad que en las parcelas biofumigadas, siendo principalmente Hordeum vulgare y en

menor medida Rapistrum rugosum las especies que más contribuyeron a este valor de cobertura.

El índice de Shannon (H') indica que la mayor biodiversidad correspondió al tratamiento de biofumigación con un valor promedio de 0,968, seguido por el control, con 0,81, siendo el tratamiento con herbicida donde se obtuvo el menor valor de este índice, con 0,469 (Tabla II).

A pesar de que los valores de biodiversidad fueron mayores que los obtenidos en el ensayo realizado en época estival, en todos los casos siguen siendo bajos y reflejan una comunidad con baja heterogeneidad y con una simplificación estructural manifestada por la dominancia de unas pocas especies, propia de ambientes alterados por la actividad agrícola.

4. CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados obtenidos es posible concluir que:

- ✓ La época del año en que se realiza la biofumigación afecta su eficacia. En el período estival fue muy eficaz controlando las malezas presentes, mientras que en el período invernal no hubo efecto.
- ✓ Controla principalmente anuales, tanto en especies como biomasa de individuos, con resultados similares a la alternativa química utilizada.
- ✓ El biofumigante utilizado no controla las malezas perennes presentes en este estudio, Cyperus eragrostis, Cynodon dactylon y Sorghum halepense, que fueron más resistentes al tratamiento.
- ✓ La biofumigación estival disminuye la biomasa de todas las especies encontradas en este estudio.

Por ello, la biofumigación puede ser una alternativa al uso de agroquímicos en la época estival para las especies anuales. En el caso de las especies perennes, al debilitar las plantas, puede contribuir a mediano plazo a la reducción de aplicaciones de herbicidas.

5. BIBLIOGRAFIA

AL-KHATIB, K.; LIBBEY, C. & BOYDSTON, R. A., 1997.- Weed suppression with brassica green manure crops in green pea. *Weed Science* 45:439-445.

AL-TURKI, A. & DICK, W., 2003.- Myrosinase Activity in Soil. *Science Society of American Journal* 67:139-145.

BANGARWA, S. K.; NORSWORTHY, J. K.; MATTICE, J. D. & GBUR, E. E., 2011.- Glucosinolate and Isothiocyanate production from Brassicaceae cover crops in a Plasticulture Production System. *Weed Science* 59: 247-254.

BEEKHUIS, H.A., 1975.- Technology and Industrial Applications. In *Chemistry and Biochemistry of Thiocyanic Acid and Its Derivatives*. Newman, A.A., Ed.; Academic Press: London: 222-255.

BELL, L.; ORUÑA-CONCHA, M.J. & WAGSTAFF, C., 2015.- Identification and quantification of glucosinolate and flavonol compounds in rocket salad (Eruca sativa, Eruca vesicaria and Diplotaxis tenuifolia) by LC–MS: Highlighting the potential for improving nutritional value of rocket crops. *Food Chemistry* 172 (2015): 852-861.

BOYDSTON, R.A. & HANG, A., 1995.- Rapeseed (Brassica napus) green manure crop suppresses weeds in potato (Solanum tuberosum). *Weed Technology* 9: 669-675.

BROWN, P. & MORRA, M., 1996.- Hydrolysis products of glucosinolates in Brassica napus tissues as inhibitors of seed germination. *Plant and Soil* 181: 307-316.

BROWN, P. D. & MORRA, M. J., 2005.- Glucosinolate-Containing Seed Meal as a Soil Amendment to Control Plant Pests. 2000-2002. Subcontract Report National Renewable Energy Laboratory, NREL/SR-510-35254.

<http://www.osti.gov/bridge>

CASAFE, 2015.- Guía de Productos Fitosanitarios 17^o Edición. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. www.casafe.org.

CARTEA, M. E.; VELASCO, P.; OBREGON, S.; PADILLA, G. & DE HARO, A., 2008. Seasonal variation in glucosinolate content in Brassica oleracea crops grown in northwestern Spain. *Phytochemistry* 69: 403–410

CHARRON, C.S.; SAXTON, A.M. & CARL, E.S., 2005. Relationship of climate and genotype to seasonal variation in the glucosinolate-myrosinase system. I. Glucosinolate content in ten cultivars of Brassica oleracea grown in fall and spring seasons. *Journal of Science Food Agric.* 85, 671-681.

GRESSEL, J.B. & HOLM, L.G., 1964.- Chemical Inhibition of Crop Germination by Weed Seeds and the Nature of Inhibition by Abutilon theophrasti. *Weed Research* 4: 44-53.

KHALIQ, A.; MATLOOB, A.; FAROOQ, M.; MUSHTAQ, M.N. & KHAN, M.B. 2011.- Effect of crop residues applied isolated or in combination on the germination and seedling growth of horse purslane (Trianthema portulacastrum). *Planta Danhina*, Vol. 29 (1): 121-128.

MAGURRAN, A. E., 1988.- Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press, Princeton, N.J. 179 pp.

MASON-SEDUN, W.; JESSOP, R.S. & LOVETT, J.V., 1986.- Differential Phytotoxicity among Species and Cultivars of the Genus Brassica to Wheat. I. Laboratory and Field Screening of Species. *Plant and Soil* 93: 3-16.

MATTNER, S. W., PORTER, I.J.; GOUNDER, R.K.; SHANKS, A.L.; WRENB, D.J. & ALLEN, D., 2008.- Factors that impact on the ability of biofumigants to suppress fungal pathogens and weeds of strawberry. *Crop Protection* 27: 1165-1173.

MITIDIERI, M.; BRAMBILLA, V.; SALIVA, V.; PIRIS, E.; PIRIS, M.; CELIÉ, R.; PEREYRA, C.; DEL PARDO, K.; CHAVES, E. & GONZÁLEZ, J., 2005.- Efecto de distintas secuencias de tratamientos de biofumigación sobre parámetros fisicoquímicos y biológicos del suelo, el rendimiento y la sanidad de cultivos de tomate y lechuga bajo cubierta. *Horticultura Argentina* 28 (67): 5-17.

NORSWORTHY, J. K., 2003.- Allelopathic potential of wild radish (Raphanus raphanistrum). *Weed Technology* 17:307-313.

NORSWORTHY, J. K. & MEEHAN, J. T., 2005c.- Wild radish–amended soil effects on yellow nutsedge (Cyperus esculentus) interference with tomato and bell pepper. *Weed Science* 53:77-83.

NORSWORTHY, J. K.; M. S. MALIK; P. JHA & M. B. RILEY, 2007.- Suppression of Digitaria sanguinalis and Amaranthus palmeri using autumn-sown glucosinolate-producing cover crops in organically grown bell pepper. *Weed Research* 47: 425-432.

PLOEG, A.T.; RIVERSIDE, U.C. & STAPLETON, J.J. 2001.- The effects of temperature, time, and amendment of soil with broccoli residues on the infestation of melon (Cucumis melo L.) by two root-knot nematode species. *UC Plant Protection Quarterly*. On line: www.uckac.edu/ppq

RAMÍREZ-VILLAPUDUA, J. & MUNNECKE, D.E., 1988.- Effect of solar heating and soil amendments of cruciferous residues on Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans and other organisms. *Phytopatology* 78: 289-295.

ROSA, E.& RODRÍGUEZ, A., 2001. Total and Individual Glucosinolate Content in 11 Broccoli Cultivars Grown in Early and Late Seasons. *HORTSCIENCE* 36 (1): 56-59.

SARWAR M.; KIRKEGAARD J. A.; WONG P. T. W. & DESMARCHELIER J. M., 1998.- Biofumigation potential of brassicas. III In-vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant Soil* 201: 103-112.

STIEHL, B. & BIBLE, B.B., 1989.- Reaction of Crop Species to Thiocyanate Ion Toxicity. *Horticultural Science* 24: 99-101.

STEEL, R. & TORRIE, J., 1988.- *Bioestadística: principios y procedimientos*. Segunda Edición. Mc Graw-Hill. México, 622 p.

STOIN D.; PIRSAN, P. & RADU, F., 2009.- Studies regarding the myrosinase enzymatic activity from black mustard (Brassica nigra) seeds. *Journal of Food Agriculture & Environment* 7 (1): 44-47.

TEASDALE, J.R. & TAYLORSON, R.B., 1986.- Weed Seed Response to Methyl Isothiocyanate and Metham. *Weed Science* 34: 520-524.

VAUGHN, S.F. & BOYDSTON, R.A., 1995.- Phytotoxicity of Brassica spp. volatiles to Weed and Crop Seed Germination and Growth. In WSSA Abstracts. Kupatt, C.C. Ed.; Weed Science Society of America: Champaign, IL, p. 55.

VAUGHN, S.F.; ISBELL, T.A.; WEISLEDER, D. & BERHOW, M.A., 2005.- Biofumigant compounds released by field pennycress (Thlaspi arvense) seedmeal. Journal of Chemical Ecology, Vol. 31. (1): 167-177.

VERA, C. L.; MCGREGOR, D. I. & DOWNEY, R. K., 1987. Detrimental effects of volunteer Brassica on production of certain cereal and oilseed crops. Canadian Journal of Plant Science 67: 983-995.

Capítulo IV

CONSIDERACIONES FINALES

La necesidad cada vez mayor de aumentar la producción de alimentos en respuesta al crecimiento poblacional, ha llevado a un incremento sustancial en el uso de agroquímicos, como una herramienta para mantener la productividad y combatir las adversidades biológicas que afectan a los cultivos.

Las malezas constituyen uno de los componentes más importantes del agroecosistema, de tal manera que los herbicidas ocupan el primer lugar en cuanto a volumen de agroquímicos empleados a nivel mundial. Sin embargo, quizás el mayor problema lo constituyan las consecuencias ambientales que trae aparejado el uso excesivo de agroquímicos, que comprometen la sustentabilidad del sistema a mediano plazo.

Es necesario introducir una racionalidad ecológica en la agricultura, priorizando el desarrollo de técnicas que dañen lo menos posible al ambiente, siendo a la vez eficaces y económicamente viables. En ese sentido la biofumigación constituye una alternativa ecológica, que permite disminuir el uso de plaguicidas en el manejo de la sanidad de los cultivos.

La biofumigación con las especies probadas en el desarrollo de esta investigación permitió:

- Conocer la capacidad biofumigante de repollo, Eruca y Diplotaxis en el control de las malezas.
- Reducir la población de malezas, afectando tanto la germinación como la producción de biomasa.
- Determinar dosis y duración mínimas del tratamiento, capaces de afectar la población de malezas.

También se estableció que los resultados de esta técnica están afectados por:

- La condición de humedad del material utilizado, siendo mayor el efecto al ser aplicado en estado deshidratado.
- La época del año en que se realiza, siendo muy efectiva durante el período estival, con resultados similares a la alternativa química utilizada.

- Las especies que integran la comunidad de malezas, permitiendo el control de las especies anuales, pero con menor efecto sobre especies perennes.

Es mucho lo que resta por investigar con el fin de mejorar la aplicación de esta técnica para el control de malezas en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

Entre otras:

- Explorar nuevos productos, ya sean Brassicáceas u otras familias botánicas, como así también el uso de residuos de otro origen presentes en la región.
- En el caso de Brassicáceas, determinar el contenido de glucosinolatos de las especies con potencial biofumigante y conocer la concentración en el material producido en diferentes épocas del año.
- Examinar técnicas que permitan incrementar el contenido de glucosinolatos en las especies que se seleccionen.
- Probar otros modos de aplicación, como pueden ser cultivos de cobertura, las harinas o los pellets.
- Evaluar los resultados de su aplicación repetida en años sucesivos.
- Examinar la factibilidad de su utilización a campo, mediante la aplicación en bandas y el manejo del riego para el sellado del suelo, sin necesidad de usar plásticos.

En definitiva, esta es una técnica que no ofrece un nivel de control que permita reemplazar por completo a los herbicidas. Así como cualquier otra tecnología en solitario, no ha resuelto ni podrá resolver sola todos los problemas sanitarios, como ya se ha dicho, no existen las “balas de plata” como soluciones. La incorporación de esta y otras técnicas a un manejo integrado de la sanidad de los cultivos hortícolas permitirá con el tiempo reemplazar el control químico por alternativas inocuas al medio ambiente y efectivas desde el punto de vista económico y social.

ANEXOS

ANEXO 1 MODELOS ESTADÍSTICOS

Primer ensayo: Productos, dosis y condición del biofumigante

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el siguiente modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \alpha_k + l_{\text{biofumigante} \times \text{dosis}}_{ij} + l_{\text{biofumigante} \times \text{estado}}_{ik} + l_{\text{dosis} \times \text{estado}}_{jk} + l_{\text{biofumigante} \times \text{dosis} \times \text{estado}}_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

y_{ijkl} = Variable de respuesta. Porcentaje de emergencia para el l ésimo contenedor del i ésimo biofumigante de la j ésima dosis y del k ésimo estado de humedad del biofumigante.

μ = Media general.

τ_i = Efecto del i ésimo biofumigante. (i = Brassica oleracea var capitata, Eruca vesicaria; Diplotaxis tenuifolia)

β_j = Efecto de la j ésima dosis de biofumigante. (j = 3 kg de repollo/m²; 5 kg de repollo/m²; 8 kg de repollo/m²)

α_k = Efecto del k ésimo estado del biofumigante. (k = fresco; deshidratado).

$l_{\text{biofumigante} \times \text{dosis}}_{ij}$ = Interacción del i ésimo biofumigante con la j ésima dosis del biofumigante.

$l_{\text{biofumigante} \times \text{estado}}_{ik}$ = Interacción del i ésimo biofumigante con el k ésimo estado.

$l_{\text{dosis} \times \text{estado}}_{jk}$ = Interacción del j ésima dosis del biofumigante con el k ésimo estado.

$l_{\text{biofumigante} \times \text{dosis} \times \text{estado}}_{ijk}$ = Interacción del i ésimo biofumigante x j ésima dosis con el k ésimo estado

ε_{ijkl} = Error aleatorio para el l ésimo contenedor del i ésimo biofumigante de la j ésima dosis y de k ésimo estado.

Segundo ensayo: Duración del tratamiento

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el siguiente modelo:

$$y_{ijl} = \mu + \tau_i + \beta_j + l_{\text{biofumigante} \times \text{duración}}_{ij} + \varepsilon_{ijl}$$

y_{ijl} = Variable de respuesta. Porcentaje de emergencia para el l ésimo contenedor del i ésimo biofumigante y del j ésima duración del tratamiento.

μ = Media general.

τ_i = Efecto del i ésimo biofumigante. (i = Brassica oleracea var capitata, Eruca vesicaria; Diplotaxis tenuifolia)

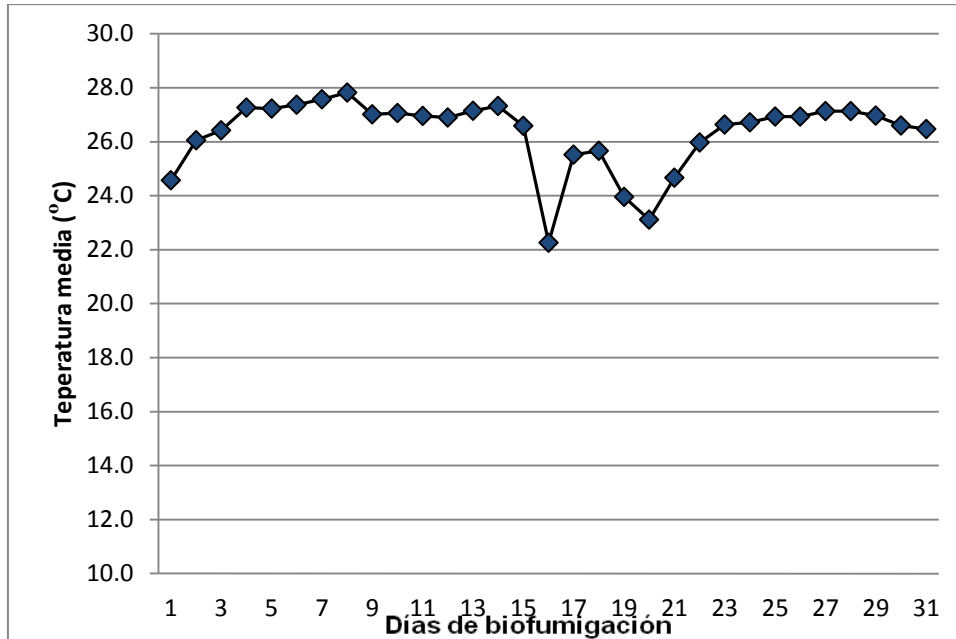
β_j = Efecto de la j ésima duración del tratamiento. (j = 2 semanas; 3 semanas; 4 semanas)

$l_{\text{biofumigante} \times \text{duración}}_{ij}$ = Interacción del i ésimo biofumigante con la j ésima duración del tratamiento.

ε_{ijl} = Error aleatorio para el l ésimo contenedor del i ésimo biofumigante de la j ésima duración del tratamiento.

ANEXO 2

TEMPERATURAS MEDIAS DIARIAS DURANTE LA BIOFUMIGACIÓN EN LABORATORIO



ANEXO 3

TEST DE SIGNIFICANCIA BIO-PRODUCTO-ESTADO

Univariate Tests of Significance for % Ger (Bio Producto-Dosis-Estado) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	50403,13	1	50403,13	396,6148	0,000000
Producto	414,58	2	207,29	1,6311	0,205199
Dosis	4827,08	2	2413,54	18,9918	0,000001
Estado	1467,01	1	1467,01	11,5437	0,001283
Producto*Dosis	83,33	4	20,83	0,1639	0,955724
Producto*Estado	1838,19	2	919,10	7,2322	0,001648
Dosis*Estado	146,53	2	73,26	0,5765	0,565280
Producto*Dosis*Estado	582,64	4	145,66	1,1462	0,344851
Error	6862,50	54	127,08		

ANEXO 4

MODELO ESTADÍSTICO ENSAYO A CAMPO

EFFECTO DE LA BIOFUMIGACIÓN CON RESIDUOS DE REPOLLO (BRASSICA OLERACEA VAR. CAPITATA) SOBRE LA POBLACIÓN DE MALEZAS A CAMPO

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el siguiente modelo:

$$y_{ijl} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ijl}$$

y_{ijl} = Variable de respuesta. Porcentaje de emergencia para el l ésimo suelo del i ésimo método de control.

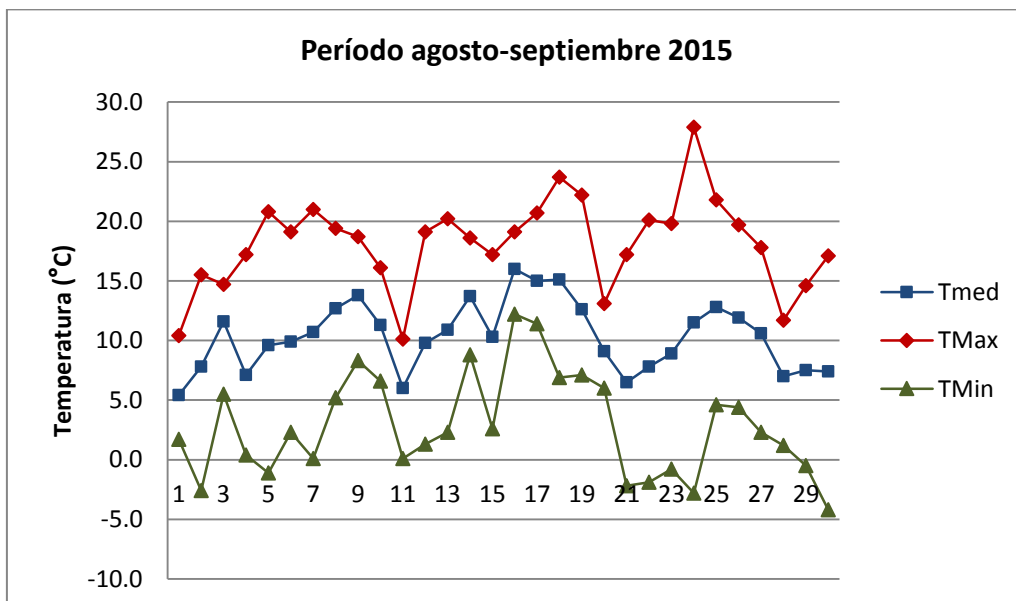
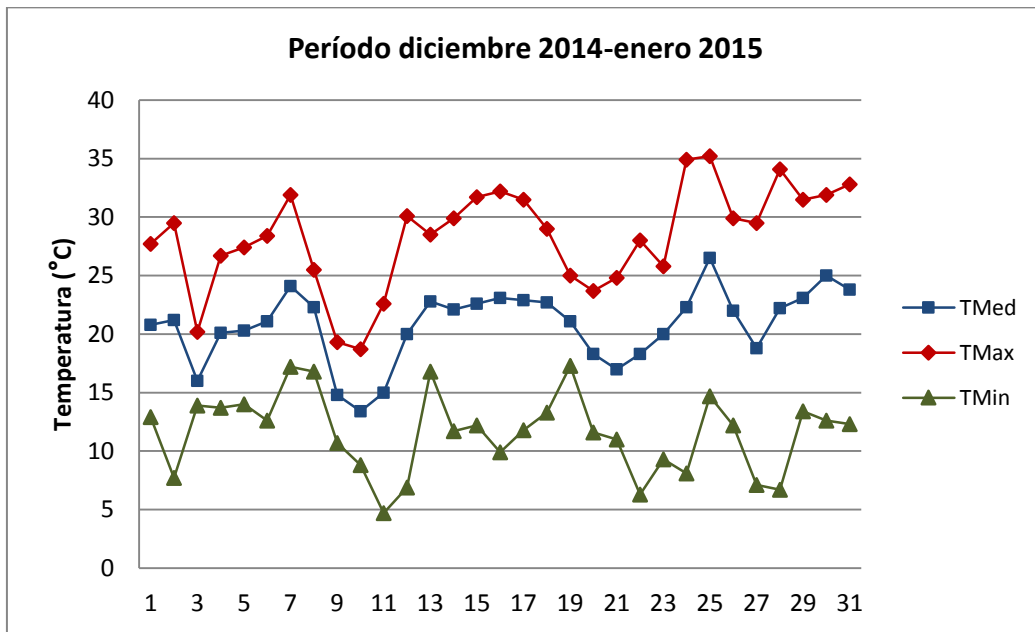
μ = Media general.

τ_i = Efecto del i ésimo método de control. (i = Brassica oleracea var capitata; herbadox ; testigo)

ε_{ijl} = Error aleatorio para el l ésimo suelo del i ésimo método de control.

ANEXO 5

TEMPERATURAS DIARIAS DURANTE LA BIOFUMGACIÓN EN LAS DOS FECHAS DEL ENSAYO A CAMPO



ANEXO 6

DATOS DE LA ESTACIÓN METEOROLOGICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRIARIAS CORRESPONDIENTES AL MES DE SEPTIEMBRE DE 2015.

Mes: **Setiembre** Año: **2015** Extremos extraídos c/10minutos

Días	Tmed(°C)	TMx(°C)	TMn(°C)	Hrmed(%)	HrMx(%)	HrMn(%)	Vm(km/h)	Cu.	RS(w/m ²)	Pp (mm)
1	9,1	13,1	26,0	43	61	33	1,5	NE	133,5	
2	6,5	17,2	-2,2	54	88	16	2,2	SO	299,4	
3	7,8	20,1	-1,9	42	78	5	2,5	SO	305,4	
4	8,9	19,8	-0,8	44	75	22	0,7	SSO	310,2	
5	11,5	27,9	-2,8	52	97	11	0,7	NNO	313,9	
6	12,8	21,8	4,6	52	82	24	0,7	NNO	185,9	
7	11,9	19,7	4,4	55	83	31	3,5	SSO	187,7	
8	10,6	17,8	2,3	48	88	23	7,4	SSO	177,2	
7	7,0	11,7	1,2	41	67	21	6,9	SSO	310,7	
10	7,5	14,6	-0,5	40	69	25	7,3	SSO	308,8	
11	7,4	17,1	-4,2	55	90	27	6,9	SSO	319,0	
12	10,6	17,7	4,0	46	68	24	5,6	SSO	320,7	
13	11,8	21,7	4,4	29	53	7	0,9	OSO	334,2	
14	9,9	17,6	-0,1	39	72	18	0,9	OSO	150,5	
15	10,4	14,7	2,9	36	60	22	7,1	SSO	348,5	
16	5,7	16,1	-4,3	45	80	11	2,1	SSO	335,3	
17	9,4	15,3	3,1	36	55	19	5,3	SSO	310,5	
18	9,2	17,3	1,5	43	69	18	4,4	SSO	345,7	
19	9,9	19,1	1,4	44	74	20	2,5	SSO	336,7	
20	6,5	8,0	1,8	77	95	41	6,3	ESE	68,0	10,6
21	7,3	8,7	6,0	96	97	94	4,7	SE	50,8	7,2
22	8,8	9,7	7,9	94	97	91	1,4	NE	46,5	0,4
23	9,4	13,8	5,4	88	96	70	0,2	NNE	116,0	
24	10,1	18,3	3,5	84	98	59	2,8	NNE	212,3	0,8
25	11,0	16,7	5,4	64	88	39	29	OSO	365,9	

FIRMAS

Autora: Adriana Bustamante

Directora: M. SC. Graciela Reybet