

Desarrollo de un método rápido y de bajo costo para la diferenciación del contenido de glucosinolatos totales en programas de mejoramiento de cultivares biofumigantes de *Brassica juncea* (mostaza india)

Development of a rapid and low-cost method for differentiation of total glucosinolate content in breeding programs for biofumigant *Brassica juncea* (Indian mustard) cultivars

Perniola, O.S.^{1,2}, Chorzempa, S.E.², Alonso, D.O.² y Aulicino, M.B.^{1,2}

omarperniola@yahoo.com.ar, chorzempa2000@yahoo.com.ar, adosvaldo@yahoo.com.ar, mbaulicino@yahoo.com

¹ Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata. Ruta provincial n° 4, km 2, Llavallol, Buenos Aires, Argentina.

² Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Instituto de Investigación sobre Producción Agropecuaria, Ambiente y Salud (IIPAAS). Av. Juan XXIII y Ruta provincial n° 4, (1832) Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina.

Recibido 02/05/2025; Aceptado: 04/06/2025

Resumen. El contenido de glucosinolatos totales (GLs) en las plantas brassicáceas está correlacionado con su efectividad biocida durante la biofumigación. La búsqueda de nuevos cultivares con altas concentraciones de GLs es uno de los objetivos de los programas de mejoramiento de *Brassica juncea* (mostaza india). El método analítico ampliamente utilizado para su determinación es la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), procedimiento de alto costo en cuanto a equipamiento y reactivos y que además requiere alta especialización del personal que lo ejecuta. Debido a la falta de recursos para implementar dicha metodología, desarrollamos un procedimiento rápido y económico basado en la Norma mexicana NMX-Y-324-SCFI-2011, con una modificación que evita el uso de mirosinasa exógena, lo que permite acelerar el análisis y reducir costos. Consiste en triturar la muestra de *B. juncea* junto con agua destilada a 5°C en una licuadora, filtrar, ajustar el pH a 7, incubar a 35°C durante 2 h y finalmente titular con NaOH 0,025N. Este método cuantifica la acidez de los aniones bisulfato (HSO₄⁻) generados durante la incubación y, por consiguiente, determina la cantidad de GLs, dado que

cada equivalente de GLs se hidroliza para dar un equivalente de HSO_4^- , que produce una baja del pH inicial. Para validar esta metodología se realizaron análisis sobre cuatro cultivares de *B. juncea*, desde el estadio fenológico 31 (un entrenudo alargado) hasta el 79 (maduración plena), con una frecuencia semanal. Posteriormente se graficaron las curvas de concentración de GLs en función del ciclo y se compararon con las obtenidas por otros autores mediante HPLC: la línea de regresión promedio de los cuatro cultivares presentó una pendiente similar a la obtenida por HPLC, aunque difirió en la ordenada al origen. La metodología desarrollada permitiría diferenciar cualitativamente genotipos con diferentes concentraciones de GLs durante los programas de mejoramiento de *B. juncea*.

Palabras clave: control biológico de plagas; agroecología; biofumigación; Brassicáceas; método analítico

Abstract. The content of total glucosinolates (GLs) in Brassicaceae plants is correlated with their biocidal effectiveness during biofumigation. The search for new cultivars with high GLs concentrations is one of the objectives of *Brassica juncea* (Indian mustard) breeding programs. The widely used analytical method for their determination is high-performance liquid chromatography (HPLC), a procedure with significant operational cost, in terms of equipment and reagents, and which also requires highly specialized operators. Due to the lack of resources to implement this methodology, we developed a rapid and economical procedure based on the Mexican Standard NMX-Y-324-SCFI-2011, with a modification that avoids the use of exogenous myrosinase, which allows speeding up the analysis and reducing costs. It consists of grinding the *B. juncea* sample together with distilled water at 5°C in a blender, filtering, adjusting the pH to 7, incubating at 35°C for 2 h and finally titrating with 0.025N NaOH. This method quantifies the acidity of bisulfate anions (HSO_4^-) generated during incubation and, consequently, determines the amount of GLs, given that each equivalent of GLs is hydrolyzed to give an equivalent of HSO_4^- , which produces a drop in the initial pH. To validate this methodology, analyses were carried out on four *B. juncea* cultivars, from phenological stage 31 (an elongated internode) to 79 (full maturation), with a weekly frequency. Subsequently, the GLs concentration curves were plotted as a function of the cycle and compared with those obtained by other authors using HPLC: the average regression line of the four cultivars presented a slope similar to that obtained by HPLC, although it differed in the intercept. The developed methodology would allow qualitative differentiation of genotypes with different GLs concentrations during *B. juncea* breeding programs.

Keywords: biological pest control; agroecology; biofumigation; Brassicaceae; analytical method

Introducción

En las plantas del orden Brassicales, principalmente en la familia Brassicáceas, abundan unos compuestos químicos denominados glucosinolatos (también llamados tioglicósidos o tioglucósidos), una de las sustancias químicas de defensa más analizadas (Halkier y Gershenzon, 2006; Wittstock y Halkier, 2002).

Los glucosinolatos son glucósidos azufrados (S-glucósidos), compuestos formados por un glúcido (generalmente monosacáridos) y un compuesto no glucídico. El glúcido del glucósido se conoce como glicona y el grupo ajeno al glúcido, aglicona o genina. En los glucosinolatos, la glicona es β -D-tioglucona (glucosa azufrada) y la aglicona es una oxima sulfatada. Los glucosinolatos derivan del metabolismo

secundario y son sintetizados a partir de glucosa y de diversos aminoácidos (Bocso y Butnariu, 2022; Chhajed et al., 2020).

Los glucosinolatos presentes en las células de las plantas Brassicáceas son químicamente inactivos, pero una vez que se produce algún daño en la planta (causado por el hombre, herbívoros, patógenos o estrés mecánico), son hidrolizados por las enzimas mirosinasas para producir fitoquímicos denominados productos hidrolíticos de glucosinolatos (GHP), que son tóxicos para los herbívoros y patógenos, constituyendo así el sistema de defensa glucosinato-mirosinasa (también conocido como “bomba de aceite de mostaza”), desarrollado durante el proceso evolutivo. Además, numerosas investigaciones han asociados a los GHP con una amplia gama de bioactividades, incluyendo efectos: anticancerígenos, antioxidantes, antifúngicos, insecticidas y herbicidas. (Joković et al., 2025; Arora, 2024; Patil et al., 2024).

Los glucosinolatos y la mirosinasa se encuentran separados espacialmente dentro de la planta para evitar la formación de compuestos tóxicos para las células. En las plántulas de *Arabidopsis*, altos niveles de mirosinasas atípicas PYK10/BGLU23 se acumulan en orgánulos derivados del retículo endoplásmico (RE) llamados cuerpos del RE y tras un daño tisular, se ponen en contacto con los glucosinolatos almacenados en la vacuola de la misma célula, catalizando la formación de GHP. A este tipo de sistema de defensa glucosinato-mirosinasa se lo denomina unicelular, ya que ambas sustancias se localizan dentro de la misma célula (Lv et al., 2022; Yamada et al., 2020). En cambio, en las hojas maduras de *Arabidopsis*, los glucosinolatos y las mirosinasas clásicas TGG1 y TGG2 se acumulan en dos tipos diferentes de células (Shirakawa y Hara-Nishimura, 2018). Este tipo de defensa química, denominado de doble célula, se activa tras el daño tisular, lo que permite a las mirosinasas acceder a los glucosinolatos para producir los compuestos tóxicos (Lv et al., 2022).

El sistema glucosinato-mirosinasa es activado cuando la célula pierde su integridad como consecuencia del ataque de insectos, herbívoros, patógenos, o cualquier daño mecánico. Esto permite que el glucosinato se ponga en contacto con la enzima mirosinasa, que lo hidroliza generando glucosa y un intermediario inestable (tiohidroximato-O-sulfonato) a partir del cual se producen diferentes compuestos según las condiciones de la reacción (por ejemplo, el pH): isotiocianatos, bisulfatos, nitrilos y tiocianatos, entre otros (Fahey et al., 2001). Entre estos, se destacan los isotiocianatos, por su marcado efecto tóxico.

La concentración de glucosinolatos totales (GLs) en los tejidos de las plantas Brassicáceas tiene especial importancia en la práctica agroecológica conocida como biofumigación. La biofumigación es una táctica de control biológico de plagas y patógenos edáficos, que se basa en la liberación en el suelo de sustancias originadas por la descomposición de materiales orgánicos “biofumigantes” (Gimsing y Kirkegaard, 2006): residuos agroindustriales y de cosechas, estiércoles de diferentes animales, plantas frescas de especies Brassicáceas y Poáceas, etc. Al incorporar el biofumigante al suelo, se desencadena una serie de reacciones químicas que producen sustancias con actividad biocida: compuestos azufrados, ácido acético y amonio, entre otros. Asimismo, si el biofumigante es material fresco de especies Brassicáceas (o algún subproducto industrial del mismo origen), su descomposición generará diferentes tipos de isotiocianatos, con variable grado de toxicidad sobre los organismos del suelo (dos Santos et al., 2021; Vandicke et al., 2020; Gowers, 2008; Harding y Wicks, 2001; Sarwar et al., 1998). Esto es debido a la degradación de los glucosinolatos, catalizada por la enzima mirosinasa, que entra en contacto con los GLs al producirse rupturas celulares (Chhajed et al., 2020; Kissen et al., 2009), como se mencionó anteriormente. A

diferencia de los fumigantes de suelo sintéticos, como el metam sodio y el dazomet, la incorporación de enmiendas biofumigantes mejora la estructura y la penetración del agua, aumenta el contenido de materia orgánica del suelo y reduce el encostramiento (Pung et al., 2008).

La mostaza india (*Brassica juncea* L. Czerniak) es una de las especies Brassicáceas más estudiadas para su utilización en biofumigación, con demostrado efecto fungistático sobre diversos hongos fitopatógenos (Perniola et al., 2024; Mason et al., 2023; Abdallah et al., 2020; Chorzempa et al., 2019; Michel y Lazzeri, 2008; Larkin y Griffin, 2007). También se ha demostrado su eficacia para reducir las poblaciones de nematodos (Mitidieri et al., 2023; Chen et al., 2022; D'Amico et al., 2021) e inhibir la emergencia y el crecimiento de algunas malezas (Perniola et al., 2016; 2018; 2019). En 2020, se inscribió en el Instituto Nacional de Semillas (INASE) el primer cultivar de mostaza india desarrollado en nuestro país, de denominación SANTA CATALINA UNLP. Fue obtenido por nuestro grupo de trabajo en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (Universidad Nacional de La Plata) y tiene propósito biofumigante (Perniola et al., 2021).

La capacidad de las plantas Brassicáceas para acumular biomasa y la concentración de GLs en los tejidos, están correlacionadas con su efectividad biocida durante la biofumigación (Arroyo et al., 2025; Bellostas et al., 2004; Kirkegaard y Sarwar, 1998); por lo tanto, cuanto mayor es la concentración de GLs $\cdot m^{-2}$, mayor será el efecto biocida. Dado su impacto en la biofumigación, la búsqueda de nuevos cultivares con altas concentraciones de GLs es uno de los objetivos de los programas de mejoramiento de *B. juncea*.

El método analítico ampliamente utilizado para la determinación de GLs es la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), procedimiento complejo, que consta de muchos pasos que pueden causar cambios químicos no deseados (Almushayti et al., 2021). Además, es un procedimiento de alto costo en cuanto a equipamiento y reactivos y requiere alta especialización del personal que lo ejecuta. Debido a la falta de recursos para implementar la técnica HPLC y ante la necesidad de determinar la concentración de GLs en nuestros programas de mejoramiento de *B. juncea*, emprendimos el presente trabajo cuyo objetivo fue evaluar un procedimiento rápido y económico que permita diferenciar cultivares con altas concentraciones de GLs.

Materiales y métodos

La metodología para la determinación de GLs en *B. juncea* evaluada en el presente trabajo, fue desarrollada por Perniola y Chorzempa en el año 2023, a partir de la Norma mexicana NMX-Y-324-SCFI-2011 (2012), basada en Croft (1979), con modificaciones para adecuarla a los requerimientos de un programa de mejoramiento: procesamiento rápido de un gran número de muestras a un bajo costo, bajo requerimiento de entrenamiento por parte del operador y resultados que permiten diferenciar eficientemente genotipos con altas concentraciones de GLs. Además, la metodología propuesta tiene muy bajo impacto ambiental, acorde a la finalidad que se persigue: la obtención de nuevos cultivares de *B. juncea* para el control agroecológico de plagas.

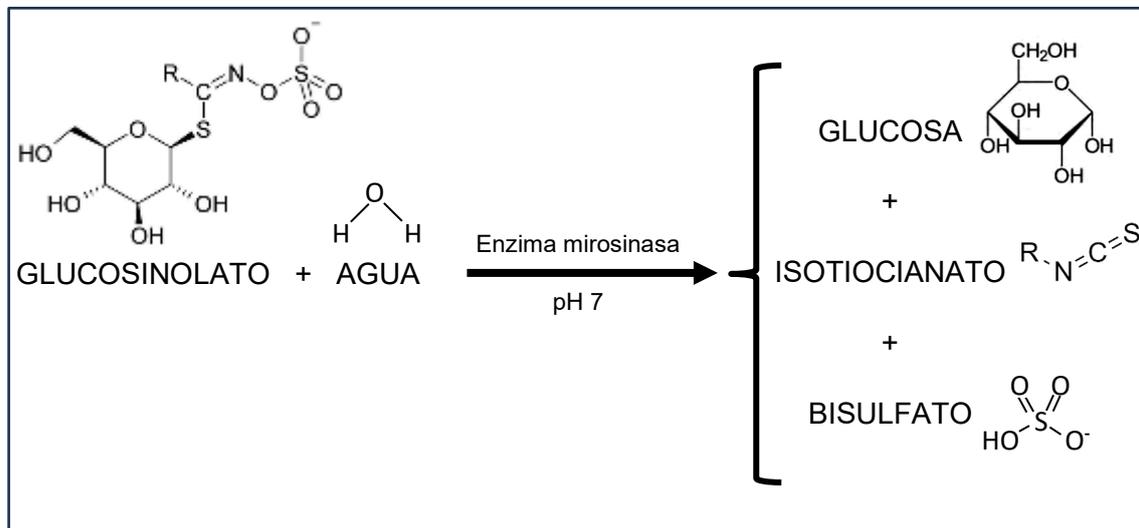
La modificación más importante que presenta este método analítico, con respecto a la Norma mexicana original, es la eliminación del uso de mirosinasa exógena. Esta innovación permite agilizar el análisis y

reducir costos. De manera que la metodología utilizada permite determinar la concentración de GLs hidrolizados por la propia enzima mirosinasa presente en el material evaluado (mirosinasa endógena).

El método se basa en la reacción de hidrólisis del glucosinato a pH 7, catalizada por la enzima mirosinasa, que produce glucosa, isotiocianato y anión bisulfato (Figura 1). Mediante titulación de homogenatos de biomasa con NaOH se cuantifica la acidez generada por los aniones bisulfato y, por consiguiente, se determina la cantidad de GLs, dado que cada mol de GLs se hidroliza para dar un equivalente de bisulfato.

Figura 1.

Reacción de hidrólisis de los glucosinolatos a pH 7, catalizada por la enzima mirosinasa, con producción de glucosa, isotiocianato y anión bisulfato.

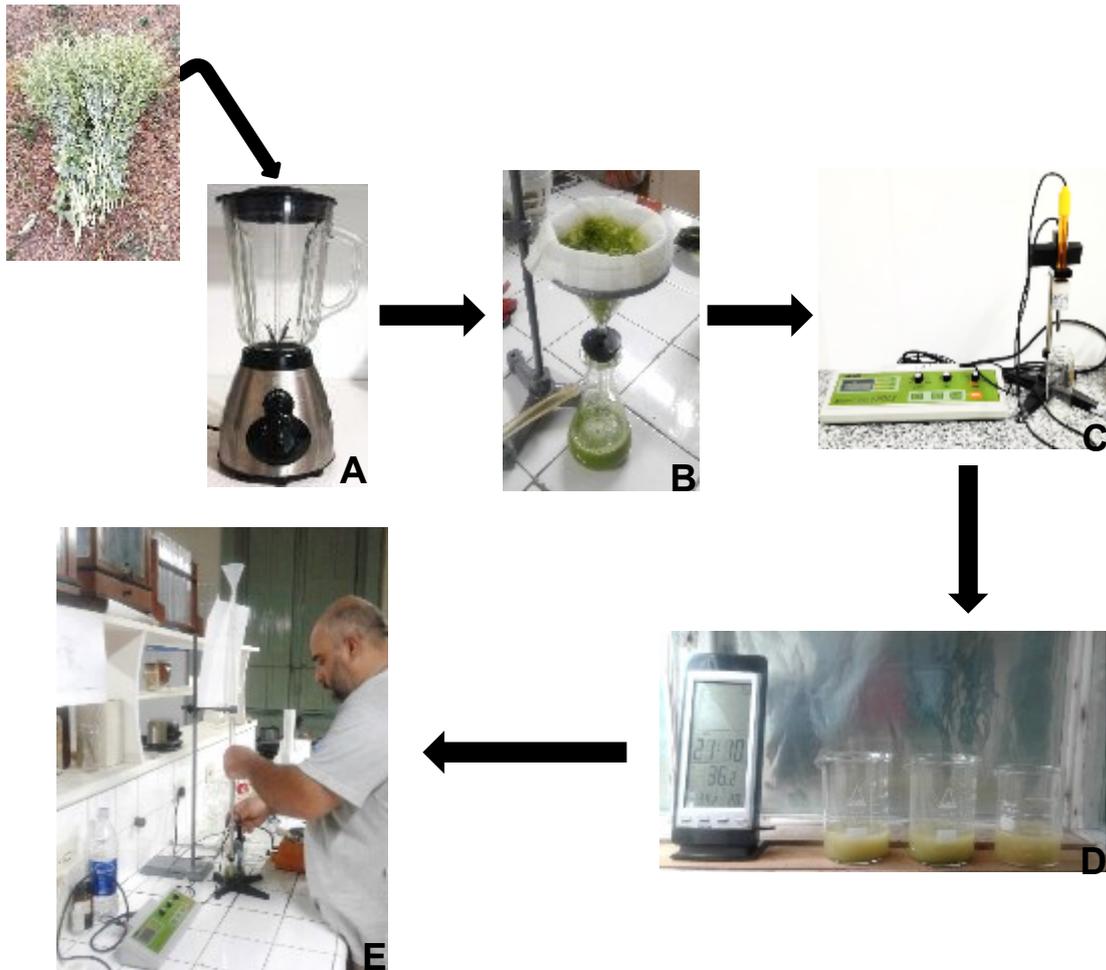


Las imágenes correspondientes a las estructuras químicas del glucosinato, la glucosa y el isotiocianato fueron extraídas de Li et al. (2024), López-Meza et al. (2020) y Singh et al. (2024), respectivamente.

El procedimiento consiste en triturar una muestra de 60 g de *B. juncea* junto con 360 ml de agua destilada a 5 °C en una licuadora, filtrar con malla serigráfica (64 hilos.cm⁻¹), ajustar el pH a 7 (con soluciones de KOH 0,1N o HCl 0,1N, según corresponda) e incubar a 35 °C durante 2 h. Durante el período de incubación, la enzima mirosinasa presente en la muestra cataliza la reacción de hidrólisis de los glucosinolatos y de esta manera, el medio se acidifica progresivamente por la producción de aniones bisulfato (HSO₄⁻). Al cabo de 2 horas se retira la muestra de la incubadora, se extrae una alícuota de 50 ml y se titula la acidez producida con una solución de NaOH 0,025N, mediante el empleo de pehachímetro, hasta llegar al pH inicial de partida (pH 7) (Figura 2).

Figura 2.

Procedimiento para la medición de glucosinolatos totales en homogenatos de biomasa de mostaza india.



A: trituración de la muestra junto con agua destilada a 5 °C en una licuadora; B: filtrado; C: ajuste del pH a 7; D: incubación a 35 °C durante 2 h; E: titulación con NaOH 0,025N hasta llegar a pH 7.

En función del volumen de NaOH 0,025N utilizado, se calcula la concentración de GLs hidrolizados por la enzima mirosinasa endógena, mediante la siguiente fórmula:

$$[\text{GLs}] = \frac{\text{Vol. NaOH} * 0,025 * 400}{\text{Peso de la muestra en la alícuota}}$$

Donde:

[GLs]: es la concentración de glucosinolatos totales hidrolizados por la enzima mirosinasa endógena, expresada en mg de GLs. g⁻¹ de materia fresca (MF).

Vol. NaOH: es el volumen de NaOH gastado en la titulación (en ml). Este valor es multiplicado por la normalidad del titulante (0,025 equivalentes / 1000 ml), para expresarlo como número de equivalentes de NaOH. Luego es multiplicado por la masa molar promedio de los glucosinolatos (400 g / mol), dado que cada equivalente de GLs se hidroliza para dar un equivalente de HSO_4^- y cada equivalente de NaOH neutraliza 1 equivalente de HSO_4^- . El numerador de la fórmula queda expresado como mg de GLs.

Peso de la muestra en la alícuota: es igual al peso de la muestra fresca de *B. juncea* (60 g) multiplicado por la razón entre el volumen de la alícuota extraída a posteriori de la incubación (50 ml) y el volumen de agua utilizado en la trituration inicial (360 ml). Queda expresado como g de MF.

Para expresar la concentración de GLs en función de la materia seca (MS), se divide el valor obtenido en la fórmula anterior por la proporción de materia seca de la muestra.

Para validar esta metodología, se realizaron análisis de GLs sobre cuatro cultivares de *B. juncea*: Santa Catalina UNLP, Red Giant, SCOP 7 y SCOP 76, que fueron cultivados en Llavallol, Argentina, entre los meses de mayo y diciembre de 2023. Las mediciones de GLs se efectuaron sobre la parte aérea completa de la planta.

Se efectuaron mediciones de GLs a partir del estadio fenológico 31 (un entrenudo alargado) hasta el 79 (maduración plena), con una frecuencia semanal. Luego, se graficó la curva de concentración media de GLs (promedio de los 4 cultivares) en función del ciclo ontogénico y se comparó con la curva promedio obtenida por otros autores mediante HPLC (de Haro-Bailón et al., 2013; Bellostas et al., 2004; Lazzeri y Manici, 2000; Kirkegaard y Sarwar et al., 1998; Sarwar y Kirkegaard, 1998). Se graficaron las líneas de regresión y se compararon visualmente los coeficientes de pendiente y las constantes. No fue posible realizar un análisis estadístico, dada la escasa cantidad de datos citados por la bibliografía referidos a concentración de glucosinolatos totales en parte aérea completa de *B. juncea*. Al respecto, si bien existen muchos trabajos que citan concentraciones de GLs, son pocos los que la miden sobre parte aérea completa y mencionan explícitamente el estadio fenológico en el que se efectuó la medición.

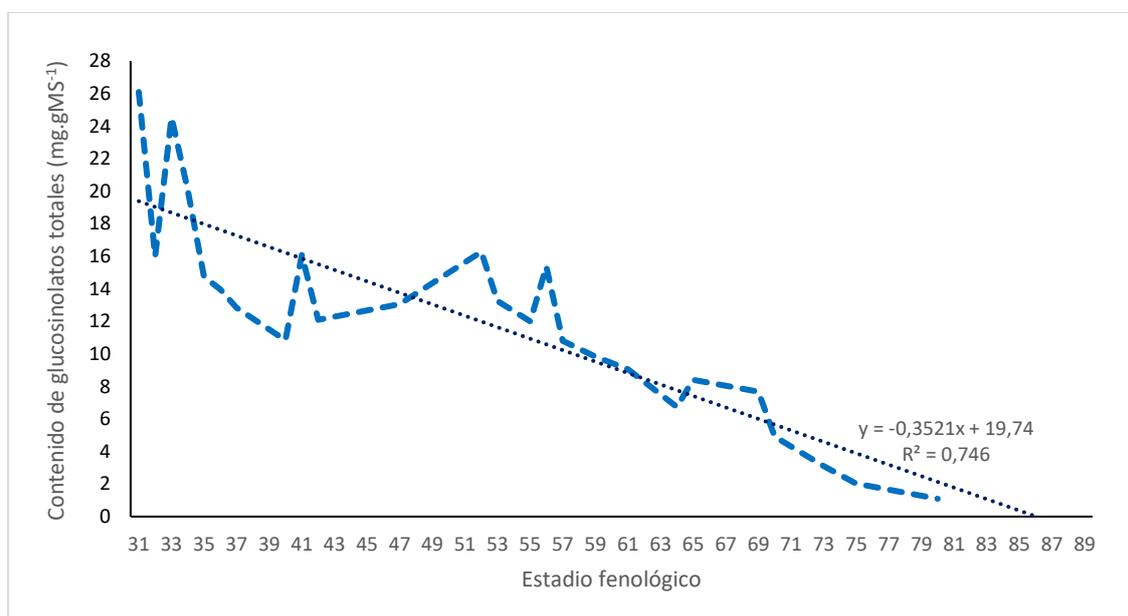
Por lo tanto, los resultados del presente trabajo son preliminares; para corroborarlos es necesario realizar una validación adecuada de la metodología propuesta. Para ello, es necesario realizar nuestras determinaciones simultáneamente con HPLC, sobre muestras del mismo material, es decir, sobre plantas de *B. juncea* cultivadas en el mismo espacio y tiempo.

Resultados y discusión

Las mediciones efectuadas en los cuatro cultivares mostraron un descenso en la concentración de GLs en la biomasa aérea a medida que progresó el ciclo ontogénico de *B. juncea* (Figura 3).

Figura 3.

Variación media de la concentración de glucosinolatos totales en la biomasa aérea de cuatro cultivares de *B. juncea*, desde el estadio fenológico 31 (un entrenudo alargado) hasta el 79 (maduración plena).



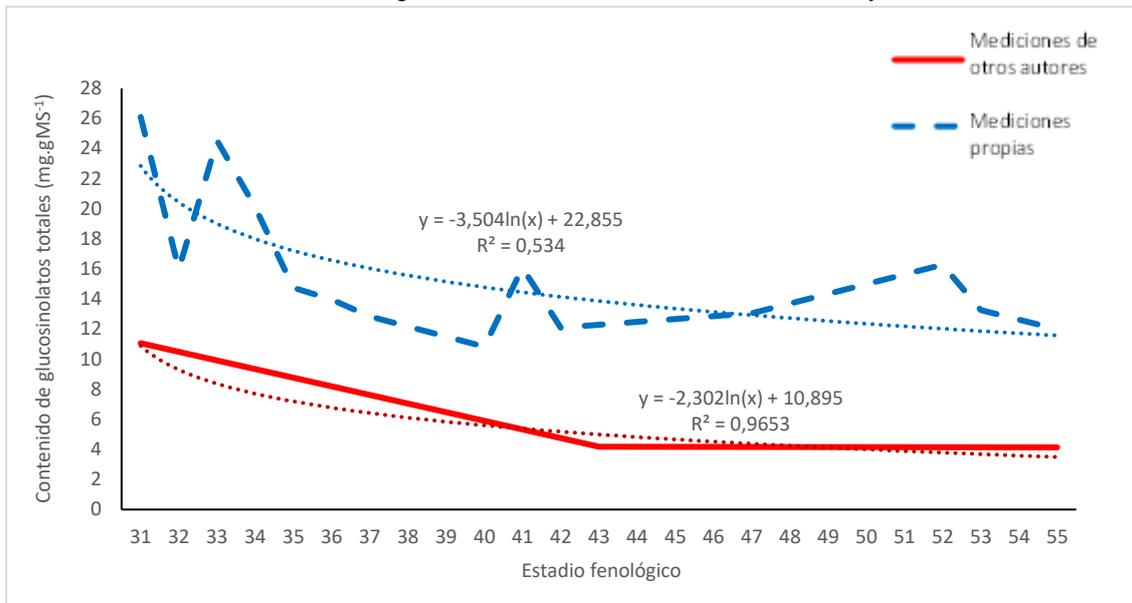
Los resultados obtenidos por otros autores también mostraron un descenso en la concentración de GLs conforme avanza el ciclo de la mostaza india (de Haro-Bailón et al., 2013; Bellostas et al., 2004; Lazzeri y Manici, 2000; Kirkegaard y Sarwar, 1998; Sarwar y Kirkegaard, 1998).

Para evaluar más detalladamente los datos, se dividió el análisis en dos períodos: estadio 31 a 55 (desde 1 entrenudo alargado a plena floración) y estadio 45 a 69 (prefloración a fin de fructificación).

En el primer período evaluado (estadio 31 a 55), la línea de regresión promedio de los cuatro cultivares presentó un coeficiente de pendiente similar al obtenido por otros autores mediante HPLC, aunque difirió en la constante (Figura 4). Sin embargo, ambas curvas ajustan a una escala logarítmica. En el segundo período (estadio 45 a 69), tanto el coeficiente de pendiente como la constante resultaron similares en ambas líneas de regresión (Figura 5).

Figura 4.

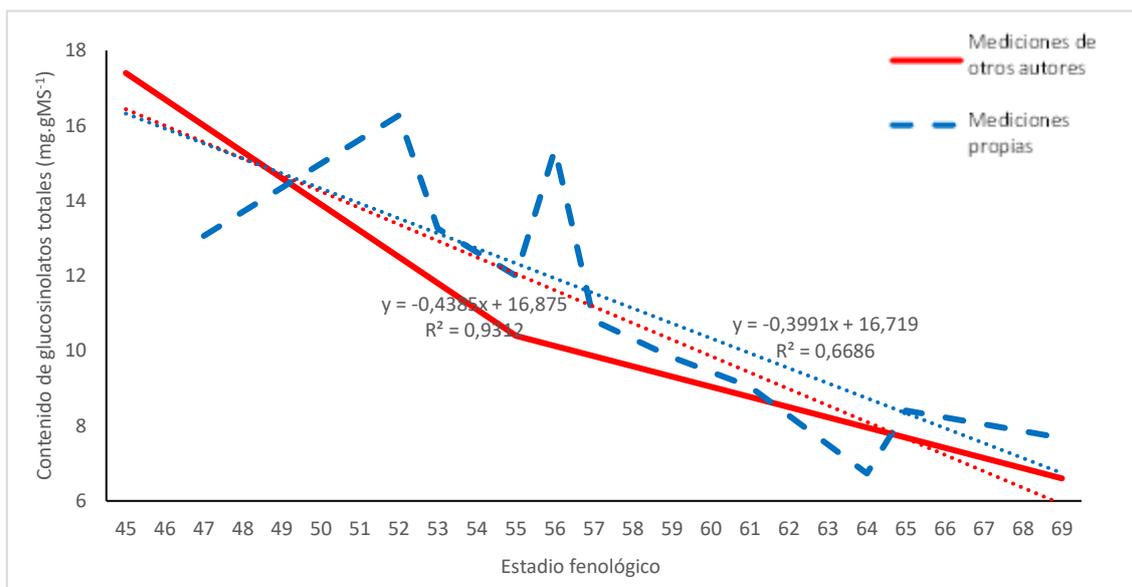
Variación media de la concentración de glucosinolatos totales en la biomasa aérea de *B. juncea*.



Comparación de datos promedio medido por otros autores y mediciones propias. Período evaluado: desde 1 entrenado alargado (estadio 31) hasta plena floración (estadio 55).

Figura 5.

Variación media de la concentración de glucosinolatos totales en la biomasa aérea de *B. juncea*.



Comparación de datos promedio medido por otros autores y mediciones propias Período evaluado: desde prefloración (estadio 45) hasta fin de fructificación (estadio 69).

Las curvas obtenidas en este trabajo (Figuras 4 y 5), muestran mayores variaciones en la concentración de GLs, con fluctuaciones más marcadas que las reportadas por otros autores. Esto podría deberse a la mayor cantidad de mediciones efectuadas en los diferentes estadios fenológicos del cultivo. Además, es importante considerar que la concentración de GLs no solo varía con el genotipo y la edad de la planta, sino también influyen las condiciones ambientales durante el cultivo.

En ambos períodos evaluados, los coeficientes de pendiente de las dos líneas de regresión son visualmente muy similares, por lo tanto, el método utilizado en este trabajo podría ser adecuado para la estimación de la concentración de GLs. Sin embargo, es necesaria una validación del procedimiento, mediante la realización conjunta de esta metodología con otra reconocida internacionalmente (por ejemplo, HPLC) y la posterior comparación estadística de las curvas resultantes. Esto permitiría establecer una fórmula de ajuste para la cuantificación de la concentración de GLs.

Conclusiones

Consideramos que la metodología desarrollada permitiría diferenciar cualitativamente genotipos de *B. juncea* con diferentes concentraciones de GLs, siendo de suma utilidad en programas de mejoramiento. No obstante, sin la debida validación del procedimiento antes mencionada, esta metodología no sería apropiada para expresar cuantitativamente la concentración de GLs.

Referencias bibliográficas

- Abdallah, I., Yehia, R. y Kandil, M.Ah. (2020). Biofumigation potential of Indian mustard (*Brassica juncea*) to manage *Rhizoctonia solani*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 99. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00297-y>
- Almushayti, A.Y., Brandt, K., Carroll, M.A., y Scotter, M.J. (2021). Current analytical methods for determination of glucosinolates in vegetables and human tissues. *Journal of Chromatography A*, 1643, 462060. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462060>
- Arora, R. (2024). Glucosinolate Hydrolytic Products - A Multi-Arm Warrior. *Journal of AOAC International*, 107 (5), 876-883. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsae054>
- Arroyo, J.M., Soler, J., Linares, R., y Palmero, D. (2025). Strategies for Selecting Potentially Effective Biofumigant Species for Optimal Biofumigation Outcomes. *Agriculture*, 15(2), 1-22. [DOI:10.20944/preprints202411.0247.v1](https://doi.org/10.20944/preprints202411.0247.v1)
- Bellostas, N., Sørensen, J.C. y Sørensen H. (2004). Qualitative and quantitative evaluation of glucosinolates in cruciferous plants during their life cycles. *Agroindustria*, 3(3), 5-10. <https://orgprints.org/id/eprint/5611/>
- Bocso, N.S. y Butnariu, M. (2022). The biological role of primary and secondary plants metabolites. *J. Nutrition and Food Processing*, 5(3). <https://doi.org/10.31579/2637-8914/094>
- Chen, D., Zebarth, B.J., Goyer, C., Comeau, L.P., Nahar, K. y Dixon, T. (2022). Effect of biofumigation on population densities of *Pratylenchus* spp. and *Verticillium* spp. and potato yield in Eastern

- Canada. *American Journal of Potato Research*, 99(3), 229-242. <https://doi.org/10.1007/s12230-022-09875-2>
- Chhaged, S., Mostafa, I., He, Y., Abou-Hashem, M., El-Domiaty, M., y Chen, S. (2020). Glucosinolate biosynthesis and the glucosinolate–myrosinase system in plant defense. *Agronomy*, 10(11), 1786. <https://doi:10.3390/agronomy10111786>
- Chorzempa, S.E., Perniola, O.S., Subelza, L.F., Barca, H.J., Sánchez, S.E., Rodas Alonso, R., Molina, M.C. y Astiz Gassó, M.M. (2019). Biofumigación con *Brassica juncea*. Efecto sobre *Trichoderma harzianum*, *Sclerotium rolfii* y *Lactuca sativa*. XXXVII Jornadas Argentinas de Botánica, San Miguel de Tucumán, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 54 (Supl.), 136-137. <https://botanicargentina.org.ar/boletin-54-suplemento/>
- Croft, A.G. (1979). The determination of total glucosinolates in rapeseed meal by titration of enzyme-liberated acid and the identification of individual glucosinolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 30, 417-423. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740300411>
- D'Amico, M., Perniola, O.S., Chorzempa, S.E., Cap, G.B., Castaldo, V., Olaechea, B., Sánchez, E.C., Parisi, N.E., Odda, M., Astiz Gassó, M.M., Salas, A., Arcuri, J.E. y Molina, M.C. (2021). Biofumigación con mostaza parda (*Brassica juncea* L. Czern.). Efecto sobre la nematofauna del suelo. *Revista MDA*, 2(1), 37-41. https://drive.google.com/file/d/1cgdAUwbkNCfuiHf9tZ5Sq_zRcCDoV67K/view
- de Haro-Bailón, A., Jurado, A., Pérez, J.D., Saavedra, M., Bejarano, J. y Obregón, S. (2013). Variabilidad cualitativa y cuantitativa del contenido en glucosinolatos en especies de Crucíferas de interés para la biofumigación del olivar. XIV Simposio científico-técnico de aceite de oliva, Jaén, España. <http://hdl.handle.net/10261/97007>
- dos Santos, C.A., de Souza Abboud, A.C. y Ferreira do Carmo, M.G. (2021). Biofumigation with species of the *Brassicaceae* family: a review. *Ciencia Rural*, 51(1), e20200440. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr2020040>
- Fahey J.W., Zalcmann A.T. y Talalay P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56(1), 5-51. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00316-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00316-2)
- Gimsing, A.L. y Kirkegaard, J.A. (2006). Glucosinolate and isothiocyanate concentration in soil following incorporation of *Brassica* biofumigants. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 2255-2264. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.01.024>
- Gowers, S. (2008). Selection of *B. napus* and *B. rapa* lines for biofumigation potential. *Third International Biofumigation Symposium*, Canberra, Australia. https://ausveg.com.au/app/data/technical-insights/docs/VG07191_complete.pdf
- Halkier, B.A. y Gershenzon, J. (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 303-333. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228>
- Harding, R.B. y Wicks, T.J. (2001). Effects of incorporating *Brassica* and cereal cover crop residues on soil populations of *Verticillium dahliae*. *Second Soilborne Diseases Conference*, Lorne, Australia.
- Joković, N., Pešić, S., Vitorović, J., Bogdanović, A., Sharifi-Rad, J. y Calina, D. (2025). Glucosinolates and Their Hydrolytic Derivatives: Promising Phytochemicals with Anticancer Potential. *Phytotherapy Research*, 39, 1035-1089. <https://doi.org/10.1002/ptr.8419>

- Kirkegaard, J.A. y Sarwar, M. (1998). Biofumigation potential of brassicas. I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil*, 201, 71-89, <https://doi.org/10.1023/A:1004364713152>
- Kissen, R., Rossiter, J.T. y Bones, A.M. (2009). The 'mustard oil bomb': not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. *Phytochemistry Reviews*, 8, 69-86. <https://doi.org/10.1007/s11101-008-9109-1>
- Larkin, R.P. y Griffin, T.S. (2007). Control of soilborne potato diseases using *Brassica* green manures. *Crop Protection*, 26(7), 1067-1077. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.10.004>
- Lazzeri, L. y Manici, L.M. (2000). The glucosinolate-myrosinase system: a natural and practical tool for biofumigation. *Acta Hort.*, 532, 89-96. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.532.9>
- Li, X., Wen, D., He, Y., Liu, Y., Han, F., Su, J., Lai, S., Zhuang, M., Gao, F. y Li, Z. (2024). Progresses and Prospects on Glucosinolate Detection in Cruciferous Plants. *Foods*, 13(24), 4141. <https://doi.org/10.3390/foods13244141>
- López-Meza, J.M., Soto-Ojeda, G.A. y Villanueva-Lendecky, M.A. (2020). Estabilización fisicoquímica del aloxano mediante un sistema de nanomatrices con ZnO y su posterior aplicación como modelo de diabetes experimental. En A. Peralta Maroto et al. (Coordinadores), *Innovación tecnológica. Casos y aplicaciones* (pp. 247-264). Red Iberoamericana de Academias de Investigación A.C.
- Lv, Q., Li, X., Fan, B., Zhu, C., & Chen, Z. (2022). The cellular and subcellular organization of the glucosinolate–myrosinase system against herbivores and pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1577. <https://doi.org/10.3390/ijms23031577>
- Mason, M., Lehnhoff, E.A., Trainor, P.J., y Sanogo, S. (2023). Suppression of *Phytophthora capsici* in Chile Pepper Using *Brassica juncea* and *Hordeum vulgare* Cover Crop Residues and *Trichoderma harzianum* as a Biocontrol Agent. *Plant Disease*, 107(11), 3457-3463. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-10-22-2485-RE>
- Michel, V.V. y Lazzeri, L. (2008). Biofumigation to control Verticillium wilt influenced by plant species and soil types. *Third International Biofumigation Symposium*, Canberra, Australia. https://ausveg.com.au/app/data/technical-insights/docs/VG07191_complete.pdf
- Mitidieri, M.S., Brambilla, M.V., Piris, E., Barbieri, M., Cuellas, M., Amoia, P., Gauna, P., Obregón, V., Baffoni, P., Muzi, E., Meneguzzi, N., Alvarez, C., Muguero, A., Flores, C., Fernández, I., Yosviak, I., Martínez, S., Garbi, M., D'Amico, M., Perniola, O., Paolinelli, N., García, J.C., Medina, O., Checca, S. y Bautista, J. (2023). Experiencias de biofumigación y biosolarización para la producción de cultivos intensivos en Argentina. *IV Seminario Internacional de Sanidad Agropecuaria (SISA 2023)*, Varadero, Cuba. <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/14986#>
- Norma Mexicana NMX-Y-324-SCFI-2011: Alimentación para animales-Determinación de tioglucósidos en pastas de nabo y canola–Método de prueba. Norma NMX-Y-324-SCFI-2011 de 2012. 10 de mayo de 2012 (México). <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2010/nmx-y-324-scfi-2011.pdf>
- Patil, S., Gavandi, T., Karuppayil, S.M. y Jadhav, A. (2024). Glucosinolate derivatives as antifungals: A review. *Phytotherapy Research*, 38(11), 5052-5066. <https://doi.org/10.1002/ptr.8307>
- Perniola, O.S., Chorzempa, S.E., Staltari, S. y Molina, M. del C. (2016). Biofumigación *in vitro* con *Brassica juncea* y *Sinapis alba*. Inhibición de la germinación y del crecimiento de plántulas de malezas.

- Rev. Fac. Agron., 115(1), 91-98.
<http://revista.agro.unlp.edu.ar/index.php/revagro/article/view/290/305>
- Perniola, O.S., Chorzempa, S.E., Subelza, L.F., Barca, H.J., Sánchez, S.E., Rodas, R., Molina, M.C. y Astiz Gassó, M.M. (2018). Biofumigación con mostaza parda (*Brassica juncea*). Efecto sobre la maleza verdolaga (*Portulaca oleracea*). XVI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Tucumán, Argentina. *Revista de Agronomía del Noroeste Argentino*, 38(1), 86-87.
http://www.jfa2018.unt.edu.ar/pdf/jfa_2018.pdf
- Perniola, O.S., Chorzempa, S.E., Staltari, S. y Molina, M.C. (2019). Biofumigación con *Brassica juncea*: efecto sobre la flora arvense. *Rev. Fac. Agron.*, 118(1), 25-35.
<http://revista.agro.unlp.edu.ar/index.php/revagro/article/view/1130/1664>
- Perniola, O. S., Chorzempa, S. E., D'Amico, M., Staltari, S., Molina, M. del C., & Astiz Gassó, M. M. (2021). Obtención de la primera variedad argentina de mostaza india: SANTA CATALINA UNLP, para su utilización como biofumigante. *Innovación y Desarrollo Tecnológico y Social*, 3(1): 1-23.
<https://doi.org/10.24215/26838559e027>
- Perniola, O.S., Noelting, M.C., Chorzempa, S.E., Alicino, M.B., Mantz, G.M. y Astiz Gassó, M.M. (2024). Sinergia entre la biofumigación con mostaza india y el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para el control de *Phomopsis* spp., bajo condiciones *in vitro*. *Revista Siembra*, 11(2), e6619.
<https://doi.org/10.29166/siembra.v11i2.6619>
- Pung, H., Cross, S. y Patten, D. (2008). The use of biofumigant green manure crops for soil-borne disease management in Tasmania. *Third International Biofumigation Symposium*, Canberra, Australia.
- Sarwar, M. y 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.
<https://www.jstor.org/stable/42948308>
- Sarwar, M., Kirkegaard, J.A., Wong, P.T.W. y Desmarchelier, J.M. (1998). Biofumigation potential of brassicas III. *In vitro* toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant Soil*, 201,103-112. <https://doi.org/10.1023/A:1004381129991>
- Shirakawa, M. y Hara-Nishimura, I. (2018). Specialized Vacuoles of Myrosin Cells: Chemical Defense Strategy in Brassicales Plants. *Plant Cell Physiol.*, 59, 1309-1316.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcy082>
- Singh, D., Dwivedi, D., Himanshi y Singh, S. (2024). Edible Strategies for Cancer Prevention. *American Journal of Food and Nutrition*, 12(1), 16-28. <http://pubs.sciepub.com/ajfn/12/1/2>
- Vandicke, J., De Visschere, K., Deconinck, S., Leenknecht, D., Vermeir, P., Audenaert, K. y Haesaert, G. (2020). Uncovering the biofumigant capacity of allyl isothiocyanate from several *Brassicaceae* crops against *Fusarium* pathogens in maize. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(15), 5476-5486. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10599>
- Wittstock, U. y Halkier, B.A. (2002). Glucosinolate research in the Arabidopsis era. *Trends Plant Sci.*, 7, 263-270. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02273-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02273-2)
- Yamada, K., Goto-Yamada, S., Nakazaki, A., Kunieda, T., Kuwata, K., Nagano, A.J., Nishimura, M. y Hara-Nishimura, I. (2020). Endoplasmic reticulum-derived bodies enable a single-cell chemical defense in Brassicaceae plants. *Commun. Biol.*, 3, 21. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0739-1>