

DETERMINACION DE LAS RAZAS FISIOLÓGICAS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* DEL CLAVEL EN COLOMBIA¹

GERMAN ARBELAEZ², Y OLGA LUCIA CALDERON³

Resumen. Uno de los problemas más limitantes del cultivo del clavel en Colombia es el marchitamiento vascular ocasionado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. El trabajo fue realizado con el objetivo de determinar la variabilidad morfológica, cultural, reproductiva y patológica de 121 aislamientos del hongo obtenidos de 61 fincas localizadas en la Sabana de Bogotá. Como patrones de comparación se utilizaron nueve aislamientos extranjeros de las razas 1, 2, 4 y 8 del patógeno. Las pruebas de patogenicidad se hicieron mediante la inoculación de esquejes enraizados de seis variedades diferenciales. Todos los aislamientos del patógeno tuvieron una tasa de crecimiento radial similar cercana a 1 centímetro por día. Las colonias mostraron una gran variabilidad en su coloración y en la apariencia del micelio, así como en la producción de esporas. Todos los 130 aislamientos del hongo inoculados fueron patogénicos en alguna de las variedades diferenciales, aunque con diferencias apreciables en el período de incubación de la enfermedad, en la colonización de la planta y en la sintomatología. Ciento doce aislamientos fueron identificados como pertenecientes a la Raza 2 del patógeno, de acuerdo a la reacción de resistencia en Ibiza y Niki y a la reacción de susceptibilidad en Pink Calypso, Raggio di Sole y San Remo. Siete aislamientos no pudieron ser clasificados dentro de las razas conocidas, debido a su bajo nivel de

patogenicidad y a una reacción inconsistente en las variedades diferenciales. Se encontraron cuatro reacciones diferentes en la variedad Taiga, supuestamente resistente a todas las razas fisiológicas conocidas del patógeno: Resistente (30%), Medianamente Resistente (34%), Medianamente Susceptible (21%) y Susceptible (15%). Por estas reacciones se sugiere la presencia de 4 variantes de la raza 2 del patógeno. Esta variabilidad permite explicar el comportamiento diferente de algunas variedades de clavel en Colombia.

DETERMINATION OF THE PHYSIOLOGICAL RACES OF *Fusarium oxysporum* F. sp. *dianthi* ON CARNATION IN COLOMBIA

Abstract. One of the most limiting problems of the carnation crop in Colombia is the vascular wilt caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. This work was done to determine the morphological, cultural, reproductive and pathological variability of 121 isolates collected from 61 farms located at the Bogotá Plateau. Nine foreign isolates of the races 1,2,4 and 8 were also used as control. The pathogenicity tests were done by inoculation of rooted cuttings in six differential varieties. All isolates had a radial rate of growth close to one centimeter per day. The colonies showed great variability in mycelial color, appearance and production of spores. All 130 isolates of the fungus were pathogenic to one or more of the differences in incubation period, plant colonization and symptoms. One hundred and twelve isolates were identified as Race 2 of the pathogen based on their reaction of resistance in Ibiza and Niki, and their reaction of susceptibility in Pink Calypso, Raggio di Sole and San Remo. Seven isolates could not

¹ Trabajo presentado en el Cuarto Simposio Internacional del Clavel, Santafé de Bogotá, 9-14 de septiembre de 1991.

² Profesor Asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, A.A. 14990, Santafé de Bogotá, Colombia.

³ Microbióloga, Propagar Plantas S.A., A.A. 90766, Santafé de Bogotá.

be identified within the known races, according to its low level of pathogenicity and an inconsistent reaction in the differential varieties. We found four different reactions in Taiga, which is supposed to be resistant to all know races: Resistant (30%), Moderately Resistant (34%), Moderately Susceptible (21%) and Susceptible (15%). For these reactions we suggest the presence of four variants of Race 2 of the pathogen. These reactions could explain the variable behavior of some varieties in Colombia.

INTRODUCCION

La producción de flores en Colombia es uno de los renglones más importantes de la economía nacional en los últimos años. El Clavel en Colombia es afectado severamente por el marchitamiento vascular ocasionado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

La incidencia de esta enfermedad vascular ha aumentado progresivamente en Colombia, debido a la fácil diseminación del patógeno a través de esquejes infectados, a su gran persistencia en el suelo y a la relativa baja eficiencia y alto costo de las medidas de control utilizadas (Arbeláez, 1987).

Diversos investigadores han determinado la presencia de varias razas fisiológicas del hongo en el mundo, siendo la Raza 2 la más frecuente y la que mayores daños ocasiona (Matthews, 1978; Garibaldi y Gullino, 1987).

Cevallos et al (1990) determinaron la presencia de las razas 2 y 4 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* de 100 aislamientos obtenidos de diferentes fincas ubicadas en la Sabana de Bogotá, siendo la Raza 2 predominante.

El conocimiento de la variación del hongo y la frecuencia de las razas fisiológicas es de gran importancia en los trabajos de mejoramiento genético y en la escogencia de las variedades más convenientes para cada situación (Garibaldi, 1975; Garibaldi y Gullino, 1987).

El objetivo de este trabajo fue la identificación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* de 121 aislamientos

recolectados en diferentes fincas dedicadas al cultivo del clavel de la Sabana de Bogotá, así como la determinación de las características culturales y morfológicas de las colonias y de las estructuras del patógeno.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se inició durante el segundo semestre de 1989 recolectando muestras de plantas de clavel afectadas por el patógeno en las distintas zonas productoras del clavel estándar y miniatura en la Sabana de Bogotá. Además como patrón de comparación se utilizaron 9 aislamientos extranjeros de las razas 1, 2, 4 y 8 procedentes de Italia, Holanda y Estados Unidos.

Los 130 aislamientos del hongo se sometieron a estudios microbiológicos y culturales como tasa de crecimiento, morfología y pigmentación de la colonia, producción, tamaño y morfología de las conidas y de las clamidosporas.

Para la determinación de las razas fisiológicas del patógeno, los diferentes aislamientos se inocularon en esquejes de clavel de las variedades diferenciales Taiga, Ibiza, Raggio di Sole, Pink Calypso, Niki y San Remo.

La inoculación de los esquejes de cada una de las variedades se efectuó mediante la inmersión de las raíces durante 15 segundos en una suspensión conidial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, a una concentración de 1 millón de conidas por ml., inmediatamente antes de la siembra. Esta se realizó colocando los esquejes en forma individual en bolsas de polietileno negro de 1 kilogramo de capacidad que contenían suelo pasteurizado con vapor a 80° C durante 30 minutos. El suelo utilizado fué de textura franco limosa.

Una vez efectuada la siembra, las plantas se mantuvieron durante 20 semanas en un invernadero metálico con cubierta plástica, rodeado por los lados con polietileno para aumentar un poco la temperatura.

La evaluación del índice de la enfermedad se realizó mediante la observación de los síntomas de la enfermedad en forma semanal utilizando la siguiente escala: 0 - planta sana;

- 1 - planta con síntomas en el primer tercio;
- 2 - planta con síntomas en el segundo tercio;
- 3 - planta con síntomas en el tercio superior
- y 4 - planta muerta.

La identificación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, para cada uno de los aislamientos, se efectuó de acuerdo a la reacción de las seis variedades diferenciales de clavel inoculadas con cada aislamiento del patógeno, según la respuesta encontrada por Garibaldi (Información personal, 1987 y 1990; Garibaldi, 1983; Garibaldi y Rossi, 1987) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Respuesta de las variedades diferenciales de clavel a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Variedad	Reacción a la Raza Fisiológica			
	1	2	3	4
Taiga	R	R	R	R
Ibiza	R	R	R	R
Raggio di Sole	R	S	R	R
Pink Calypso	R	S	S	R
Niki	R	R	R	S
San Remo	S	S	S	S

R - Resistente S - Susceptible

RESULTADOS

Estudio microbiológico de los aislamientos.

La tasa de crecimiento micelial de los diferentes aislamientos en el medio de cultivo Papa dextrosa agar presentó valores bastante similares cercanos a 1 cm por día, siendo los valores extremos 0.84 y 1.24 cm por día. Alguna variabilidad se observó en la morfología y en la coloración de las colonias y en la producción de esporas de los diferentes aislamientos en PDA.

Todos los aislamientos formaron macroconidias, micronidias y clamidosporas. Se encontraron aislamientos con esporulación muy abundante, esporulación intermedia y aislamientos poco esporulantes.

Identificación de las razas fisiológicas. Ciento doce aislamientos de los ciento veintiuno inoculados, lo que corresponde al 93% , se clasificaron como pertenecientes a la Raza Fisiológica 2 del patógeno, por la reacción de resistencia de las variedades Ibiza y Niki y por la reacción de susceptibilidad de las variedades Raggio di Sole, Pink Calypso y

San Remo. Estos 112 aislamientos presentaron diferencias en patogenicidad.

La respuesta a la inoculación de los ciento veintún aislamientos del patógeno en la variedad Taiga, supuestamente resistente a todas las razas del patógeno, fue variable y se pudieron establecer cuatro grupos según su reacción: Resistente (30%), Moderadamente Resistente (34%), Moderadamente Susceptible (21%) y Susceptible (15%).

Cuatro aislamientos del patógeno (3%) mostraron un nivel muy bajo de patogenicidad, por lo que no fue posible diferenciar la raza a la que pertenecen. Cinco aislamientos (4%) dieron una respuesta patológica no coincidente con las reacciones establecidas en las variedades diferenciales utilizadas y no se pudieron identificar dentro de las razas fisiológicas conocidas.

Como se mencionó anteriormente, la reacción de las variedades diferenciales permitió clasificar 112 aislamientos dentro de la raza 2 del patógeno y en ningún caso se identificaron las razas, 1, 4 y 8. Además el uso de los aislamientos extranjeros como patrones de comparación permitió confirmar la ausencia de dichas razas.

En ningún caso se observó reacción de resistencia de la variedad Pink Calypso a los 121 aislamientos colombianos del patógeno, reacción característica de las razas 1 y 8, como tampoco se observó reacción de resistencia de la variedad Raggio di Sole característica de las razas 1, 4 y 8. Tampoco se observó reacción de susceptibilidad en la variedad Niki, excepto en los aislamientos 125 y 130 de la raza 8 procedentes de Italia y que junto con la reacción de resistencia de la variedad Pink Calypso permitieron identificar la raza 8, hasta el momento no conocida en Colombia.

Los resultados mostraron también una alta resistencia de la variedad Ibiza, pues 97 de los 121 aislamientos no ocasionaron ningún tipo de síntoma externo, ni tampoco síntomas internos al observar cortes transversales de la base del tallo de las plantas inoculadas, al finalizar el experimento.

En la variedad Niki, caracterizada también por su resistencia a la raza 2, 23 de los 121 aislamientos inoculados, no ocasionaron síntomas internos ni externos, mientras que en la variedad Taiga 11 aislamientos no indujeron ningún tipo de síntoma en las plantas inoculadas.

Sintomatología de la enfermedad. En la evaluación de la respuesta patológica de las plantas a la inoculación con los diferentes aislamientos del patógeno, se observaron diferencias apreciables en la sintomatología en las variedades utilizadas.

Los síntomas observados en las variedades susceptibles a la mayoría de los aislamientos de la raza 2 del patógeno fueron típicos de la enfermedad en las variedades Raggio di Sole y San Remo; estos síntomas también se observaron en la variedad Taiga cuando presentó reacciones de susceptibilidad y mediana susceptibilidad. Los síntomas consistieron en una clorosis unilateral de las hojas bajas y superiores del lado de la planta afectado, el doblamiento del tallo principal, seguido del marchitamiento de la planta.

En la variedad Pink Calypso, también susceptible a la raza 2, los síntomas se caracterizaron por un amarillamiento generalizado de la planta, con un ascenso muy rápido y un marchitamiento acelerado, seguido por la muerte de la planta. Esta sintomatología es bastante diferente a la observada en esta variedad y en otras variedades igualmente susceptibles en cultivos comerciales.

En las variedades resistentes a la raza 2 del patógeno, como fueron las variedades Ibiza y Niki y cuando la variedad Taiga se comportó como resistente y medianamente resistente, el desarrollo de los síntomas fué el típico de la enfermedad, pero su avance fue muy lento en comparación con las variedades susceptibles.

Cuando la mayoría de los aislamientos de la raza 2 se inocularon en las variedades Ibiza y Niki, las cuales se comportaron como altamente resistentes, y que en algunos casos no presentaron síntomas externos de la enfermedad, se observó una reducción apreciable en la altura y en el desarrollo de las plantas de

por lo menos un 20% , en comparación con las plantas testigo.

DISCUSION

Los resultados mostraron una gran similitud entre los 130 aislamientos del patógeno estudiados en la tasa de crecimiento micelial, pero presentaron una gran variabilidad en la apariencia y en la coloración de la colonia y en la producción de las esporas. Debido a esta razón, las características morfológicas son de poca utilidad para la identificación de las razas fisiológicas del patógeno y para su identificación deben utilizarse únicamente las pruebas patológicas que toman bastante tiempo y materiales. Esto coincide con lo observado por Matthews (1978) y por Baayen y Gams (1988).

En el trabajo se encontraron únicamente aislamientos pertenecientes a la raza 2 del patógeno. Estos resultados son consecuencia de la importación de esquejes infectados de otros países en donde esta raza es predominante. Estos resultados también son similares a los encontrados por Cevallos *et al* (1990), aunque en esta ocasión no se registró la raza 4 que dichos autores encontraron con muy baja frecuencia.

Las cuatro respuestas diferentes obtenidas en la variedad Taiga, resistente a todas las razas del hongo, permiten asumir la presencia de por lo menos cuatro variantes de la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Esta variación puede deberse a cambios ocurridos en la población del patógeno establecido en Colombia, bien sea en forma natural o debido a la presión de selección por el uso de vapor, de algunos fumigantes o de algunos fungicidas sistémicos aplicados al suelo en muchas empresas para el manejo de la enfermedad. Dicha variación puede deberse también a las condiciones ambientales y de los suelos en la Sabana de Bogotá, bastante diferentes a los sitios en donde se desarrollan los esquejes de clavel importados. Esto coincide con lo expresado por Sparnaaij (1987) y Scovel (1987), quienes consideran que el patógeno tiene la habilidad de producir nuevas razas fisiológicas o variantes patogénicas.

La presencia de estas variantes de la raza 2 permite explicar las diferencias observadas

por los técnicos colombianos en el comportamiento de algunas variedades de clavel en distintas empresas de la Sabana de Bogotá.

La inoculación de los nueve aislamientos extranjeros de las razas 1, 2, 4 y 8 en las variedades diferenciales presentaron las reacciones descritas en la literatura y fueron un buen punto de comparación; además permitieron confirmar la ausencia de las razas 1 y 8 en Colombia.

La variación patogénica observada en las seis variedades inoculadas con los diferentes aislamientos del hongo fue totalmente independiente de la variación morfológica de dichos aislamientos, de manera similar a lo encontrado por Messiaen y Cassini (1981).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Asocolflores y a Proexpo y a las empresas Suata Plants, Flóramérica, Agrícola El Redil, Jardines de los Andes y Flores de Suba por el suministro de diferentes materiales.

LITERATURA CITADA

1. Arbeláez, G. 1987. Fungal and bacterial diseases on carnation in Colombia. *Acta Horticulturae* 216:151-157.
2. Baayen, R.P. y W. Gams. 1988. The *Elegans* fusaria causing wilt disease of carnation. I Taxonomy. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 94: 273-288.
3. Cevallos, J.F., D. González y G. Arbeláez. 1990. Determinación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel en la Sabana de Bogotá, *Agronomía Colombiana* 7:33-39.
4. Garibaldi, A. 1975. Race differentiation in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyd. et Hans. First Contribution. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* 40: 531-537.
5. Garibaldi, A. 1983. Resistenza di cultivar di garofano nei confronti di otto patotipi di *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyd. et Hans. *Rivista della Ortoflorofrutticoltura Italiana* 67: 261-270.
6. Garibaldi, A. y M.L. Gullino. 1987. *Fusarium* wilt of carnation: present situation, problems and perspectives. *Acta Horticulturae* 216: 125-129.
7. Garibaldi, A. y G. Rossi. 1987. Osservazioni sulla resistenza del garofano nei confronti *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Notiziario Tecnico Scientifico* 22: 5-9.
8. Matthews, P. 1978. Variation in english isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Proceedings of the Eucarpia meeting on carnation and gerbera*. *Alasio*: 115-126.
9. Messiaen, C.M. y R. Cassini. 1981. Taxonomy of *Fusarium* p. 427-445. In P. E. Nelson, T.A. Toussoun y R.J. Cook (Eds.). *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. The Pennsylvania State University Press. University Park and London.
10. Scovel, G. 1987. Improved agrotechnical and sanitation methods versus resistant cultivars as a mean of avoiding *Fusarium* wilt. *Acta Horticulturae* 216: 55-61.
11. Sparnaaij, L.D. 1978. Current research on carnation with special reference to breeding. *Proceedings of the Eucarpia meeting on carnation and gerbera*. *Alasio*: 47-55.

