

CONTROL BIOLÓGICO DEL MARCHITAMIENTO VASCULAR DEL CLAVEL MINIATURA OCASIONADO POR *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* CON AISLAMIENTOS NO PATOGENOS DE *Fusarium oxysporum*

JUAN CARLOS RODRÍGUEZ¹, PEDRO RODRÍGUEZ¹ Y GERMÁN ARBELÁEZ²

RESUMEN

Tres aislamientos no patogénicos de *Fusarium oxysporum* se evaluaron en su antagonismo a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en dos variedades de clavel miniatura, bajo condiciones de invernadero. Los tres aislamientos antagonistas ocasionaron diferentes niveles de control de la enfermedad, pero todos presentaron alguna patogenicidad en las dos variedades de clavel inoculadas. La aplicación al suelo del aislamiento C14 de *F. oxysporum* un mes antes de la siembra y a los esquejes inmediatamente antes de la siembra, fueron los tratamientos más efectivos, principalmente en las dosis más altas, seguidos del aislamiento C5.

BIOLOGICAL CONTROL OF VASCULAR WILT OF MINIATURE CARNATION CAUSED BY *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* WITH NON-PATHOGENIC ISOLATES OF *Fusarium oxysporum*

Palabras Claves: *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Dianthus caryophyllus*, *Fusarium oxysporum* no patógenicos

ABSTRACT

Three non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* were evaluated for their

1. Ingeniero Agrónomo.

2. Profesor Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá, Colombia.

antagonism to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in two varieties of miniature carnation, under greenhouse conditions. Different levels of disease control with the three antagonistic isolates were observed, but all of these isolates caused some pathogenicity in both carnation varieties. The application of isolate C14 to the soil and to the cuttings were the more effective treatments, especially at higher dosis, followed by the isolate C5.

INTRODUCCION

Una de las estrategias para el control del marchitamiento vascular ocasionado por el hongo *Fusarium oxysporum* en diversos hospedantes es el uso de algunos métodos biológicos, tales como la aplicación de diversos hongos, bacterias y actinomicetos.

Para dicho control, se han utilizado diversas especies de hongos de los géneros *Fusarium* (Garibaldi *et al*, 1986; Lemanceau y Alabouvette, 1991), *Trichoderma* (Dennis y Webster, 1971; Locke *et al*, 1982) y *Gliocladium* (Ebben y Budge, 1983), algunas bacterias como *Pseudomonas putida* (Schery Baker, 1982), *Pseudomonas aeruginosa* (Restrepo y Slotkus, 1985), *Serratia liquefaciens* (Sneh *et al*, 1985) y *Serratia marcescens* (Zabaleta y Rojas, 1989) y diversas especies de actinomicetos del género *Streptomyces* (Garibaldi y Gullino, 1987; Lahdempera, 1987).

También algunos investigadores han encontrado niveles aceptables de control de

algunas formas especiales de *Fusarium oxysporum*, con aislamientos no patogénicos de *F. oxysporum*, tales como *F. oxysporum* f. sp. *apii* (Schneider, 1984), *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Alabouvette, 1986), *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Paulitz et al, 1987; Park et al, 1988) y *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* (Tezuka y Makino, 1991).

La aplicación al suelo o a los esquejes de diversos aislamientos no patógenos de *F. oxysporum* ha dado buenos niveles de control del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en Holanda (Rattink, 1987, 1991), Italia (Garibaldi et al, 1986) y Francia (Tramier et al, 1988).

Diversas evidencias indican que el efecto de los aislamientos no patógenos de *F. oxysporum* en el control de las enfermedades ocasionadas por aislamientos patogénicos de la misma especie, se debe al fenómeno de resistencia inducida o protección cruzada, mediante el cual las plantas hospedantes producen diversas fitoalexinas y otras sustancias que detienen el avance del patógeno y el desarrollo de la enfermedad (Niemann y Baayen, 1988; Niemann, 1990).

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de tres aislamientos no patógenos de *F. oxysporum* en el control de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en dos variedades de clavel miniatura con distintos niveles de resistencia.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología y en los invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia en Santafé de Bogotá, D.C., durante el segundo semestre de 1991.

La variedad resistente "Bagatel" y la variedad susceptible "Tony" fueron las dos variedades de clavel miniatura utilizadas en el experimento.

Como aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum* se utilizaron el aislamiento 618 suministrado por el profesor Henk Rattink de la Estación Experimental de Floricultura de Aalsmeer, Holanda y los aislamientos C5 y C14 obtenidos del profesor Ralph Baker de la Universidad Estatal de Colorado, Fort Collins, Estados Unidos. El aislamiento 18 de la Raza 2 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* se utilizó en la investigación; este aislamiento se caracterizó por su alta agresividad en el trabajo realizado por Arbeláez y Calderón (1991).

Para la inoculación al suelo, los aislamientos patógenos y no patógenos se propagaron en granos enteros de avena, previamente embebidos en agua destilada durante 24 horas, dentro de erlenmeyers de 2 litros a la mitad de su capacidad y esterilizados a 121°C por 2 horas, durante dos días consecutivos; la inoculación al sustrato se hizo con tres trozos de micelio del hongo en PDA y los recipientes se colocaron en una incubadora a 24°C durante 30 días, agitándolos en forma diaria para lograr una colonización homogénea del sustrato; posteriormente, los granos colonizados se secaron a la temperatura del laboratorio durante 5 días y se molieron en una licuadora.

Para la inoculación a los esquejes, los hongos se propagaron en el medio de cultivo líquido Papa-dextrosa en erlenmeyers de 2 litros, llenados a la mitad de su capacidad y se esterilizaron a 121°C por una hora; luego, se inocularon con dos fragmentos de micelio y se colocaron bajo agitación circular constante a 150 rpm durante 7 días a 24°C, con 12 horas de luz fluorescente y 12 horas de oscuridad.

Para evaluar la eficiencia de los 3 aislamientos no patógenos en el control de la enfermedad, se estableció un experimento con 2 variedades de clavel miniatura, 3 formas de aplicación y 4 dosis de los aislamientos patógenos y no patógenos.

El diseño experimental empleado fue el de Parcelas Subdivididas, en donde las parcelas principales fueron las variedades de clavel miniatura, las subparcelas fueron las formas de aplicación y dentro de ellas se estableció un factorial 4 x 4, en donde se combinaron 4 dosis de los aislamientos no patógenos y 4 dosis del patógeno.

La unidad experimental consistió en una planta de clavel miniatura sembrada en una bolsa de polietileno negro de 1.5 Kg de capacidad, la cual se llenó con suelo de textura franco limosa, pH 6.5, pasterizado con vapor a 82°C durante una hora.

Las plantas se colocaron en un banco elevado de concreto, dentro de un invernadero metálico con cubierta de polietileno, similar a los usados comercialmente en la producción comercial de clavel; se utilizó un sistema de riego automático con goteros individuales para cada planta.

En el ensayo se utilizaron 3 repeticiones, para un total de 864 plantas. La fertilización, el riego y las labores culturales dadas a las plantas fueron similares a las realizadas en los cultivos comerciales de clavel.

La enfermedad se evaluó en forma semanal durante 13 semanas, con una escala, en donde 0 fueron plantas sanas, 1 plantas con síntomas en el tercio inferior de la planta, 2 plantas con síntomas en el segundo tercio, 3 plantas con síntomas en el tercio superior de la planta y 4 plantas muertas.

El patógeno y los aislamientos no patógenos del hongo se aplicaron de 3 formas:

1. Forma de aplicación "a": el aislamiento no patógeno se aplicó al suelo un mes antes de la siembra y el patógeno se aplicó al suelo inmediatamente antes de la siembra.
2. Forma de aplicación "b": el aislamiento no patógeno se aplicó al suelo un mes antes de la siembra y el patógeno se aplicó al esqueje inmediatamente antes de la siembra.
3. Forma de aplicación "c": el aislamiento no patógeno se aplicó al esqueje en el momento de la siembra y el patógeno se aplicó al suelo inmediatamente antes de la siembra.

En los tratamientos "a" y "b", los aislamientos no patógenos se aplicaron al suelo tratado con vapor un mes antes de la siembra, se incorporaron de manera homogénea y se cubrieron con un plástico, para lograr una buena colonización.

En los tratamientos al suelo del patógeno y de los aislamientos no patógenos, el inóculo de los hongos se incorporó de manera uniforme al suelo, mezclándolo homogéneamente y se usaron 4 niveles: 0.0, 0.1, 0.5 y 2.5 % por peso.

La inoculación del patógeno y de los aislamientos no patógenos a los esquejes se hizo por inmersión de las raíces durante 30 segundos y, a continuación, se sembraron. Debido a las diferentes concentraciones de esporas obtenidas, el patógeno se inoculó con una suspensión de esporas en 4 niveles: 0, 44.000, 220.000 y 1.100.000 esporas por mililitro; los aislamientos no patógenos se aplicaron en concentraciones de 0, 7.600, 38.000 y 190.000 esporas por mililitro.

Además, se estableció un pequeño ensayo complementario, mediante la aplicación al

suelo de los 3 aislamientos no patógenos y del patógeno en forma simultánea en el momento de la siembra.

RESULTADOS

En los experimentos realizados, se logró algún nivel de control de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en plantas de clavel miniatura, con la aplicación de tres aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum*. Sin embargo, la efectividad del control dependió de la variedad, del aislamiento, de la forma de aplicación y de las dosis utilizadas.

Efecto de las variedades en el desarrollo de la enfermedad

La enfermedad se desarrolló de una manera diferente en las dos variedades utilizadas, siendo mayor en la variedad susceptible "Tony" y menor en la variedad resistente "Bagatel" (Figura 1). Las diferencias en el índice de la enfermedad entre las dos variedades de clavel fueron altamente significativas estadísticamente.

Efecto de los aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum*.

Las aplicaciones al suelo y a los esquejes de dos de los tres aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum* ocasionaron un control significativo de la enfermedad.

El aislamiento C14 fue el aislamiento más eficiente en el control de la enfermedad, seguido del aislamiento C5 que fue un poco menos efectivo; el aislamiento 618, aunque fue el de menor eficiencia, también, ocasionó algún nivel de control (Figura 2).

Con el aislamiento C14, los síntomas de la enfermedad se presentaron en el tercio inferior de las plantas en la variedad resis-

tente "Bagatel" y en el tercio medio de las plantas en la variedad susceptible "Tony".

El aislamiento C5 fue un poco menos efectivo que el aislamiento C14 y los síntomas de la enfermedad se localizaron en el tercio inferior de las plantas en la variedad "Bagatel" y en el tercio superior de las plantas en la variedad "Tony".

El aislamiento 618 fue el que ejerció menor control de la enfermedad y los síntomas se presentaron en el tercio medio de las plantas en la variedad Bagatel y en el tercio superior en la variedad "Tony".

Efecto de las formas de aplicación de los organismos.

Las formas de aplicación de los aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum* más efectivas para el control de la enfermedad fueron los tratamientos "a" y "c", en donde los aislamientos se aplicaron al suelo un mes antes de la siembra y a los esquejes antes de la siembra; sin embargo, entre los dos tratamientos se observaron pocas diferencias entre sí, pero, si grandes diferencias con el tratamiento "b", en donde el aislamiento no patógeno se aplicó al suelo y el patógeno se aplicó al esqueje antes de la siembra (Figura 3).

En el ensayo complementario, en donde patógenos y no patógenos interactuaron en forma simultánea, los resultados fueron muy similares a la aplicación de los antagonistas antes de la siembra.

Efecto de la interacción de los dosis de los aislamientos patógenos y no patógenos.

Los tratamientos al suelo y a los esquejes de los tres aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum* y que no se inocularon con el patógeno (A_1P_0 , A_2P_0 , A_3P_0)

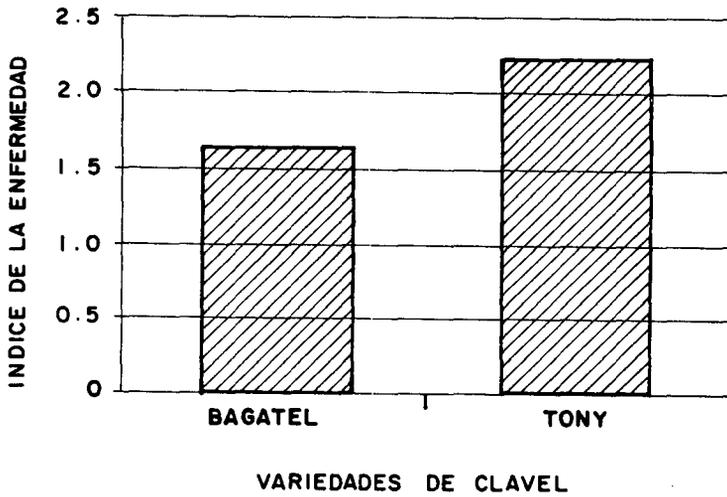


Figura 1. Índice de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en las dos variedades de clavel miniatura, 13 semanas después de la siembra

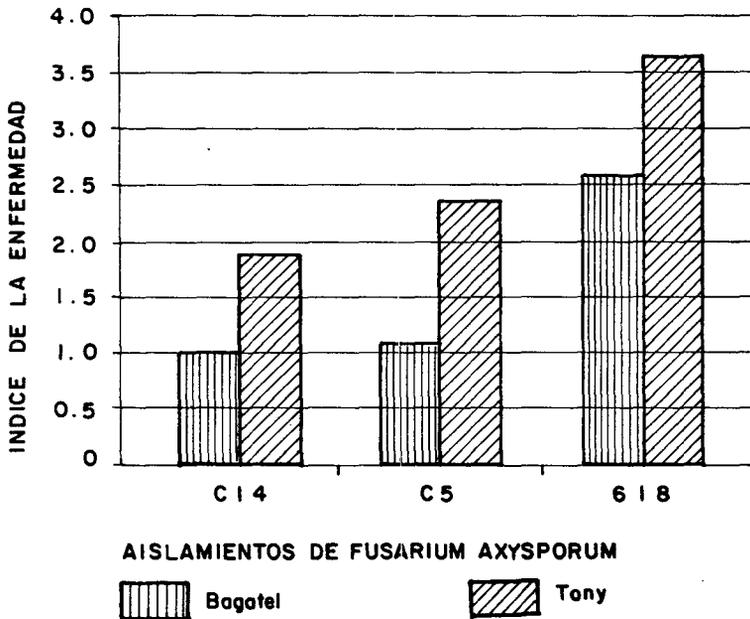


Figura 2. Efecto de los tres aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum* en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel miniatura, 13 semanas después de la siembra

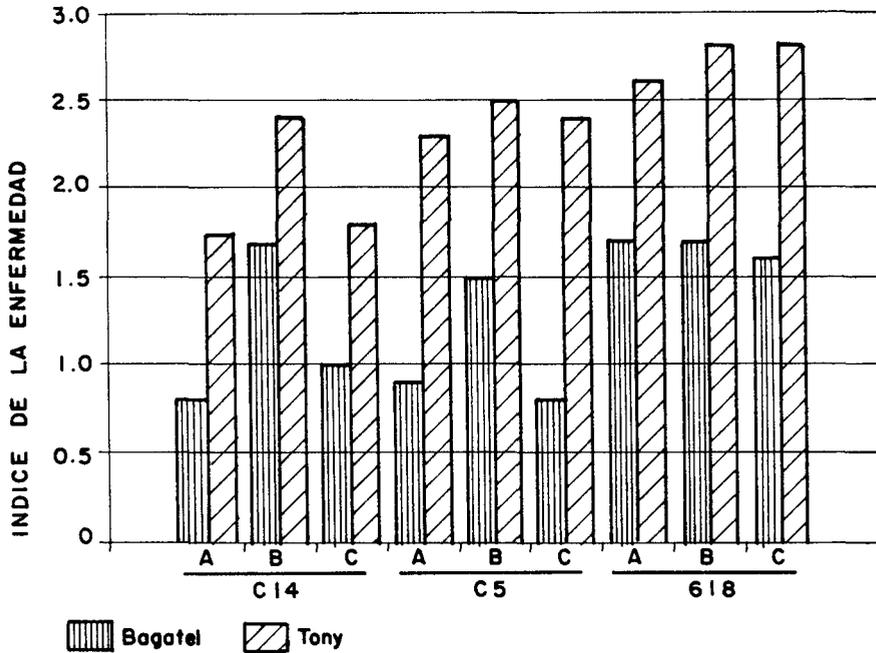


Figura 3. Efecto de las formas de aplicación de los aislamientos no patógenos de *F. oxysporum* en el control de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel miniatura, 13 semanas después de la siembra. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0.05$) para la Prueba de Comparación Múltiple de Tukey.

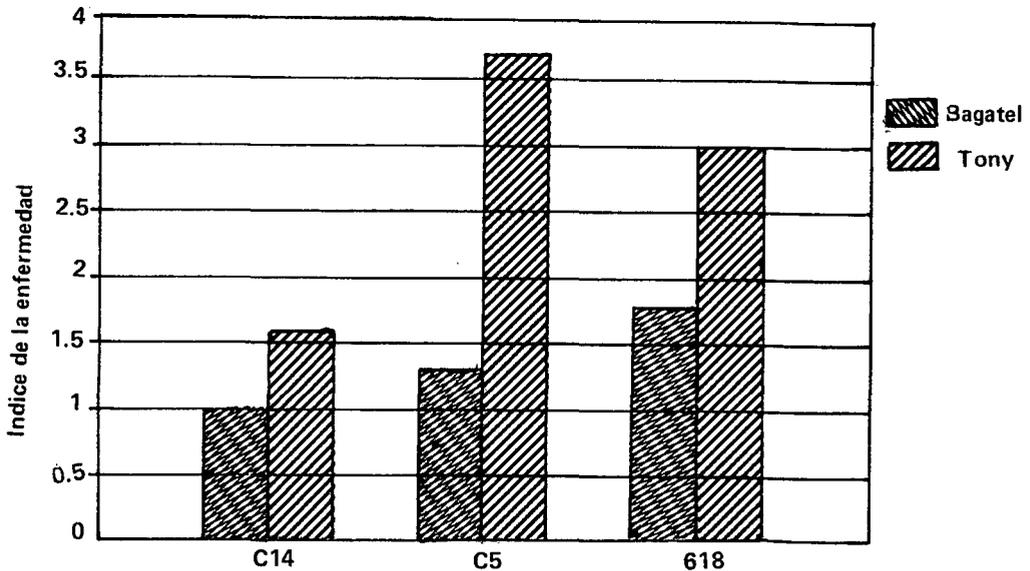


Figura 4. Índice de la enfermedad ocasionada por las dosis más altas de los aislamientos no patógenos de *F. oxysporum* (A3) y sin aplicación del patógeno (P0), en las dos variedades de clavel miniatura, 13 semanas después de la siembra.

ocasionaron algunos síntomas del marchitamiento vascular en las dos variedades inoculadas, es decir, que los tres aislamientos no patógenos extranjeros fueron patogénicos bajo las condiciones en que se realizó el experimento (Figura 4).

El aislamiento C14, aunque fué ligeramente patogénico y con un índice de enfermedad bastante bajo, fue el aislamiento antagonista que ocasionó el mejor control de la enfermedad (Figura 5).

El aislamiento C5 fué un poco más patogénico que el aislamiento C14 y fue el segundo en efectividad en el control de la enfermedad.

El aislamiento 618, procedente de Holanda, fué el de mayor patogenicidad de los tres antagonistas ensayados, pero su poder patogénico fue bastante menor que el aislamiento 18 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.; además este aislamiento fue el de menor efectividad en el control de la enfermedad (Figura 6).

En la interacción de las diferentes dosis del aislamiento 618 con las dosis del patógeno, se observó que a mayor dosis de ambos organismos se obtuvo un mayor nivel de enfermedad. Los índices más altos de la enfermedad se observaron con el aislamiento 618 en dosis altas de ambos organismos, como con el tratamiento A_3P_3 (Figura 7).

El mejor control de la enfermedad se obtuvo en los tratamientos en donde las dosis de los aislamientos no patógenos fueron superiores a las dosis del patógeno, por ejemplo en los tratamientos A_3P_1 , A_2P_1 y A_3P_2 (Figuras 5, 6 y 7).

DISCUSION

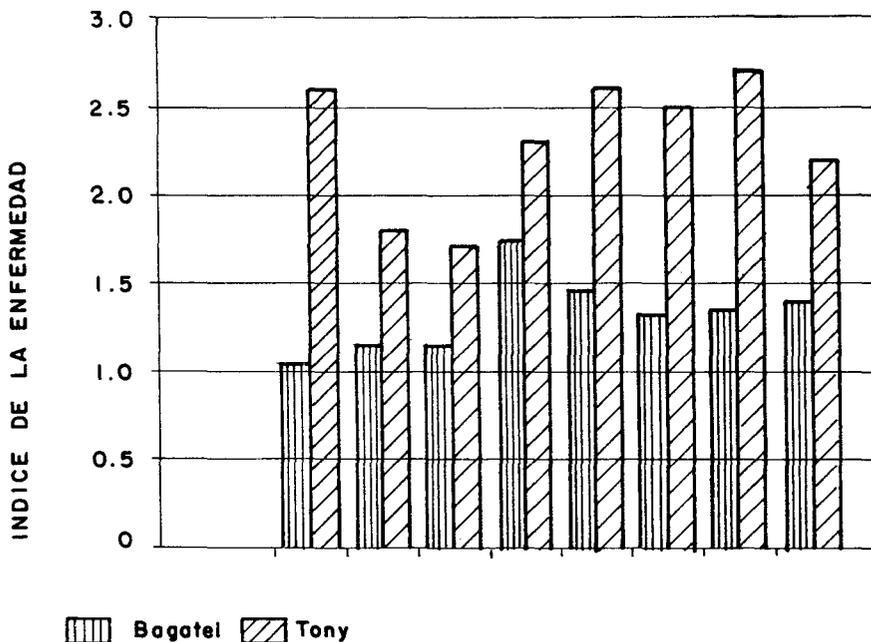
El uso de aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum* ofrece una gran posi-

bilidad de control del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Los aislamientos C5, C14 y 618 de *Fusarium oxysporum*, determinados como no patogénicos en diversos ensayos en Estados Unidos (Baker, 1991) y en Holanda (Rattink, 1987, 1991), presentaron alguna patogenicidad en las variedades de clavel miniatura utilizadas, aspecto no esperado en la investigación y no registrado en la literatura para estos aislamientos. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Rojas y Sánchez (1992) con los mismos aislamientos en variedades de clavel estándar. Sin embargo, Cook y Baker (1983) consideran que aislamientos no patogénicos pueden serlo en otros ecosistemas.

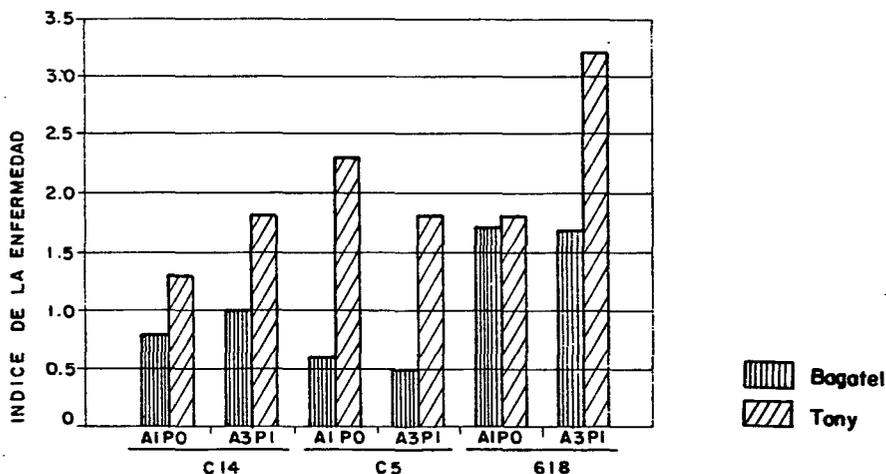
El aislamiento C14 sobresalió entre los aislamientos no patógenos en el control de la enfermedad, seguido por el aislamiento C5; además el aislamiento C14 fue el de menor patogenicidad, lo cual parece confirmar que el mecanismo de acción de este aislamiento es por resistencia inducida, como lo consideran Cook y Baker (1983), Paulitz et al (1987) y Rattink (1991). Además estos resultados coinciden con las apreciaciones de Baker (1991), quien considera que el aislamiento C14 es mejor que otros aislamientos no patógenos del hongo, debido a que coloniza la rizósfera de la planta en forma tan eficiente como lo hace el patógeno, aspecto que no ocurre con el aislamiento C5.

La inoculación al suelo de los aislamientos no patogénicos un mes antes de la siembra en el tratamiento "a", para lograr una buena colonización, no dio los resultados de control esperados y, con este método de aplicación apenas se logró un efecto ligeramente superior a cuando dichos organismos se aplicaron a los esquejes antes de la siembra en el tratamiento "c". Aparente-



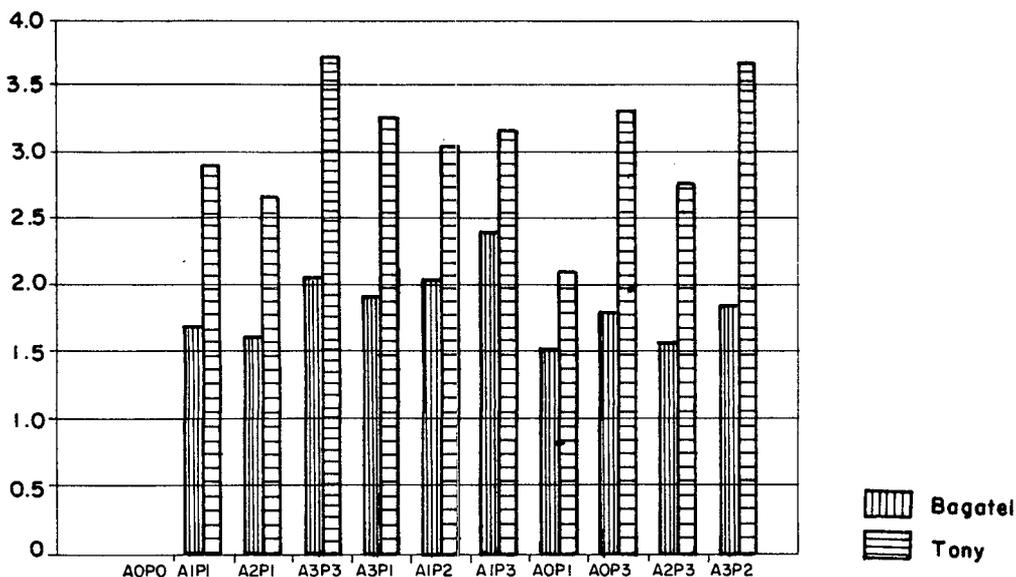
A. Aislamiento antagonista C14 de *F. oxysporum*.
 P. Aislamiento patógeno de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Figura 5. Efecto de la interacción de diferentes dosis del aislamiento C14 de *F. oxysporum* y del aislamiento de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en las dos variedades de clavel miniatura, 13 semanas después de la siembra. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0.05$) para la Prueba de Comparación Múltiple de Tukey.



A. Aislamiento antagonista C14 de *F. oxysporum*.
 P. Aislamiento patógeno de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Figura 6. Efecto de algunas combinaciones de aislamientos no patógenos de *F. oxysporum* y del aislamiento patógeno de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel miniatura, 13 semanas después de la siembra. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0.05$) para la Prueba de Comparación Múltiple de Tukey.



A. Aislamiento antagonista 618 de *F. oxysporum* .
 P. Aislamiento patogénico de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Figura 7. Efecto de la interacción de diferentes dosis del aislamiento 618 de *F. oxysporum* y del aislamiento de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en las dos variedades de clavel miniatura, 13 semanas después de la siembra. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0.05$) para la Prueba de Comparación Múltiple de Tukey.

mente la aplicación de dichos organismos al esqueje da una protección a las puntas de las raíces y a las pequeñas heridas, que son los sitios de entrada del patógeno a la planta.

La aplicación de una suspensión de esporas de los organismos no patógenos o de baja patogenicidad a los esquejes antes de la siembra, es un método fácil, práctico y que requiere menor cantidad de inóculo que si se aplica la suelo; por lo tanto, es el método de aplicación que debe explorarse en futuras investigaciones. Además sería conveniente ensayar la aplicación de dichos organismos a los bancos de enraizamiento, pues se podrían sembrar esquejes protegidos contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* que, eventualmente, éstos podrían encontrar en el suelo.

La ineficiencia observada en el control de la enfermedad con el método de aplicación "b", en donde el patógeno se aplicó a los esquejes y el aislamiento no patógeno se inoculó al suelo, refuerza la importancia de sembrar esquejes absolutamente sanos, pues cuando el patógeno vascular está dentro del esqueje, la eficiencia de la resistencia inducida es menor, debido a que ya se está produciendo la colonización sistémica en la planta.

La aplicación del aislamiento 618 y del patógeno, principalmente en dosis altas, mostró una acción patogénica aparentemente aditiva y a su vez de menor control de la enfermedad; estos resultados difieren de lo observado por Rattink (1987, 1991) e indican que dicho aislamiento no es adecuado para el control de la enfermedad bajo las condiciones ambientales y de

suelo de la Sabana de Bogotá.

Una de las razones para la menor efectividad de algunas dosis de los aislamientos no patógenos fué el hecho de haber usado en la inoculación a los esquejes cantidades menores en casi 6 veces con relación al patógeno, debido a que no se lograron concentraciones de inóculo similares a las obtenidas con el patógeno en el medio líquido utilizado. Para mejorar la producción de esporas de los aislamientos antagonistas se requiere realizar estudios fisiológicos que lleven a incrementar su producción.

La patogenicidad de los tres aislamientos no patógenos encontrada bajo las condiciones experimentales coincide con los resultados de las pruebas de compatibilidad vegetativa y de electroforesis, pues dichos aislamientos no patógenos fueron compatibles vegetativamente y presentaron patrones electroforéticos similares a la mayoría de los aislamientos colombianos de la Raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Garcés de Granada et al, 1991; Sinisterra et al, 1992).

El uso de los aislamientos no patogénicos de *Fusarium oxysporum* o de aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* de muy baja patogenicidad se vislumbra como un método biológico de gran potencial de control bajo las condiciones colombianas y debe evaluarse en cultivos comerciales, en contraste con el uso de otros agentes biológicos como *Trichoderma* spp., *Pseudomonas putida* y *Serratia liquefaciens*, cuyos resultados de control de la enfermedad han sido inefectivos bajo condiciones de invernaderos comerciales de clavel en la Sabana de Bogotá (Arbeláez, 1989).

LITERATURA CITADA

1. Alabouvette, C. *Fusarium* wilt-suppressive soils from the Chateaufrenard region: review of a 10-year study. *Agronomie* 6: 273-284. 1986.
2. Arbeláez, G. Control de enfermedades vasculares del clavel en Colombia. *Agronomía Colombiana* 6: 3-9. 1989.
3. Arbeláez G. y O.L. Calderón. Determinación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* del clavel en Colombia. *Agronomía Colombiana* 8: 243-247. 1991.
4. Baker, R. Four horses of biological control. p. 1-16. Proceedings of the Symposium War in the rhizosphere. Minnesota Agricultural Experiment Station. Minneapolis, Minnesota. March, 1991.
5. Cook, R.J. and K.F. Baker. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota. 1983.
6. Dennis, C. and J. Webster. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interactions. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 57: 363- 369. 1971.
7. Ebben, M.H. and S.P. Budge. Studies on the control of carnation wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* using the parasitic fungus *Gliocladium roseum*. *Ann. Rep. Glasshouse Crops Research Institute* 103- 106. 1983.
8. Garcés de Granada, E., M. Orozco de Amézquita, X. Sinisterra, G. Medina, J. Peñaranda, O. Acosta y G. Arbeláez. Contenido de proteínas solubles, caracterización de isoenzimas, compatibilidad vegetativa, respuesta al benomil y crecimiento micelial de diferentes aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Cuarto Simposio Internacional sobre el Clavel. Santafé de Bogotá, 8- 14 de Septiembre de 1991.
9. Garibaldi, A., F. Brunatti and M.L. Gullino. Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by competitive non pathogenic strains of *Fusaria*. *Med Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* 51/2b: 633-638. 1986.
10. Garibaldi, A., Brunatti and M.L. Gullino. Evaluation of several antagonists and different methods of application against *Fusarium* wilt of carnation. *EPPO Bulletin* 17: 625-629. 1987.
11. Garibaldi A. and M.L. Gullino. *Fusarium* wilt of carnation: present situation, problems and perspectives. *Acta Horticulturae* 216: 45-54. 1987.

12. Lahdenpera, M. L. The control of *Fusarium* wilt of carnation with a *Streptomyces* preparation. *Acta Horticulturae* 216: 85-92. 1987.
13. Lemanceau, P. and C. Alabouvette. Biological control of fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protection* 10: 279- 286. 1991.
15. Locke, J.C., J.J. Marois and G.C. Papavizas. Biological control of *Fusarium* wilt of greenhouse grown chrysanthemums. *Phytopathology* 72: 709. 1982.
16. Niemann, G.C. A carnations defense against fungal invasion: a combined effort. *Med Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* 55 (3a): 1019-1028.1990.
17. Niemann, G.C. and R.P. Baayen. Involvement of phenol metabolism in resistance of *Dianthus caryophyllus* to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 94: 289- 301. 1988
18. Park, C.S., T.C. Paulitz and R. Baker. Biocontrol of fusarium wilt of cucumber resulting interactions between *Pseudomonas putida* and non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 78: 194-199. 1988.
19. Paulitz, T.C., C.S. Park and R. Baker. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 349- 353. 1987.
20. Rattink, H. Possibilities of cross-protection against *Fusarium* wilt by non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Acta Horticulturae* 216: 131-140. 1987.
21. Rattink, H. Biological control of *Fusarium* wilt of carnation with a non pathogen isolate of *Fusarium oxysporum*. Fourth International Symposium on Carnation. Santafé de Bogotá, September 8-14, 1991.
22. Restrepo, F. y C.D. Slotkus. Aspectos diferenciales de claveles susceptibles y resistentes al fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y el control biológico de éste por *Pseudomonas aeruginosa* y *Trichoderma harzianum*. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Bogotá. 1985.
23. Rojas, J. y J.L. Sánchez. Control biológico del marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel estándar con aislamientos no patogénicos de *Fusarium oxysporum*. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá, D.C. 1985.
24. Scher, F. M. and R. Baker. Induction of suppressiveness in soil to *Fusarium* wilt pathogens with *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelate. *Phytopathology* 72: 1567-1573. 1982.
25. Schneider, K.W. Effects of non-pathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on celery root infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* and a novel use of the Lineweaver-Burk double reciprocal plot technique. *Phytopathology* 74: 646- 653. 1984.
26. Sinisterra, X., G. Medina y G. Arbeláez. Uso de la compatibilidad vegetativa en la identificación de razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* p. 93- 107. En G. Arbeláez (Ed.). El marchitamiento vascular del clavel (*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyd. et Hans.) en Colombia: importancia, variabilidad del patógeno y estrategias de control integrado, con énfasis en control biológico. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá., D.C. 1992.
27. Sneh, B., O. Agami and R. Baker. Biological control of *Fusarium* wilt of carnation with *Serratia liquefaciens* and *Hafnia alvei* isolated from rhizosphere of carnation. *Phytopathol. Z.* 113: 271-276. 1985.
28. Tezuka, N. and T. Makino. Biological control of *Fusarium* wilt of strawberry by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolated from strawberry. *Ann. Phytopathol Soc. Japan* 57: 506- 511. 1991.
29. Tramier, R., C. Antonini and A. Bettachini. Biological control of *Fusarium* wilt of carnations with different *Fusarium oxysporum* strains. *EPPO. Bulletin* 18: 13-18. 1988.