

CAPITULO III

DETERMINACION DE LAS RAZAS FISIOLÓGICAS DE *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* EN CLAVEL EN LA SABANA DE BOGOTÁ

Germán Arbeláez¹, Olga Lucía Calderón², Francisco Cevallos³ y Darío González³

INTRODUCCION

El conocimiento de la variación del hongo y la frecuencia de las razas fisiológicas es de gran importancia para entender el comportamiento de las variedades cultivadas y para los trabajos en el mejoramiento genético del clavel (Garibaldi, 1975; Garibaldi y Gullino, 1987). Además, el conocimiento de las razas fisiológicas del patógeno, en una región o en una finca en particular, permiten al productor la escogencia de las variedades más convenientes para cada situación (Garibaldi, 1988).

Bickerton (1942) y Guba (1945) observaron alguna variación en la respuesta patológica de diferentes aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* inoculados en distintas variedades de clavel y sugirieron la existencia de algunas razas fisiológicas del hongo.

Hood y Stewart (1957) en los Estados Unidos determinaron la presencia de tres razas fisiológicas del patógeno, a partir de varios aislamientos obtenidos de diferentes estados productores de clavel, basados en la respuesta diferencial de variedades americanas.

En Italia, Garibaldi (1975) basado en la respuesta de algunas variedades americanas y mediterráneas de clavel estándar, reconoció inicialmente la presencia de dos razas fisiológicas del hongo, las cuales denominó Razas 1 y 2. Las variedades americanas fueron resistentes a la Raza 1, pero susceptibles a la Raza 2, mientras que las variedades mediterráneas fueron susceptibles a la Raza 1 y resistentes a la Raza 2 del hongo.

Más tarde, Garibaldi *et al* (1986), trabajando con un gran número de aislamientos, describieron 8 razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*,

de las cuales la Raza 2 es la de mayor virulencia y la de mayor ocurrencia en Italia, siguiéndole en frecuencia las Razas 8, 4 y 1; las razas 5, 6 y 7 fueron poco frecuentes en dicha investigación.

Aunque, en algunos países se han registrado algunas razas fisiológicas del hongo, como en el Reino Unido (Matthews, 1978), España (Cebolla *et al*, 1979) y Estados Unidos (Hood y Stewart, 1957; Baker, información personal, 1988), la Raza 2 ha sido la más frecuente en el mundo y la que mayores daños ocasiona. En cambio, en Holanda, sólo se ha reconocido la Raza 2 del patógeno (Demmink *et al*, 1989).

El objetivo de los trabajos fue la identificación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* procedentes de diversos aislamientos recolectados en diferentes fincas ubicadas en las principales zonas dedicadas al cultivo del clavel en 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

Para la realización de esta investigación, se hicieron dos experimentos, recolectando muestras de plantas de clavel afectadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y procurando abarcar todas las zonas productoras de la Sabana de Bogotá. En el laboratorio, se obtuvieron distintos aislamientos del hongo, se realizó su identificación y se efectuaron estudios microbiológicos e inoculaciones del patógeno en variedades diferenciales de clavel.

Experimento 1.

Durante los meses de febrero y marzo de 1988, se tomaron muestras de material afectado en 49 fincas que cultivaban clavel estándar y miniatura, ubicados en 18 municipios de la Sabana de Bogotá y que presentaban distintos grados de infestación de la enfermedad. Los aislamientos del patógeno se obtuvieron de plantas de 2 a 6 meses de edad y que presentaban los síntomas típicos de la enfermedad.

Para el aislamiento del patógeno en el laboratorio, se realizaron cortes transversales de los tallos afecta-

¹ Profesor Titular, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá, D.C.

² Microbióloga, Propagar Plantas S.A., A.A. 90766, Santafé de Bogotá, D.C.

³ Biólogo, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá, D.C.

dos, los cuales se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto y, luego, se enjuagaron con abundante agua estéril; estos trozos se colocaron en cajas de Petri con el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y se incubaron a 25°C.

De los 220 aislamientos del hongo obtenidos se seleccionaron finalmente 100, de acuerdo con la variedad de clavel y la finca, para que fueran bien representativos. Dichos aislamientos se sometieron a una serie de estudios microbiológicos y culturales, tales como tasa de crecimiento, morfología y pigmentación de la colonia, producción, tamaño y morfología de las conidias y de las clamidosporas. Estos estudios se hicieron bajo idénticas condiciones de luz, temperatura y tiempo de incubación y se utilizaron tres repeticiones por cada aislamiento.

La identificación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se hizo mediante la prueba de patogenicidad en las variedades diferenciales de clavel Duca, Pink Calypso, Raggio di Sole y San Remo (Cuadro 3.1). Aunque ha debido usarse la variedad Zecchino como quinta variedad diferencial, no fue posible hacerlo, al no encontrarla disponible comercialmente, ni en Colombia ni en otro país.

Las pruebas de patogenicidad se hicieron mediante la inoculación de cada aislamiento del hongo en diez plantas de clavel de cada variedad diferencial. Por razones de espacio, la mitad de las plantas se colocó en un invernadero de vidrio con una temperatura promedio de 26°C y la otra mitad se colocó en un invernadero metálico con cubierta de polietileno, similar a los utilizados comercialmente en la producción de clavel y con una temperatura promedio de 18°C. En cada invernadero, se utilizó un diseño experimental de Parcelas Divididas con 5 plantas de cada una de las variedades diferenciales, para un total de 20 plantas por cada aislamiento del patógeno.

El inóculo de patógeno se preparó mediante la siembra de tres trozos de micelio en erlenmeyers de 125 ml en el medio de cultivo líquido Caseína Hidrolizada esterilizado a 121°C durante 15 minutos y se colocaron en agitación continua por 7 días a 24°C.

La inoculación de los esquejes de cada una de las variedades se efectuó mediante la inmersión de las raíces en una suspensión conidial de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* a una concentración de un millón de conidias por mililitro durante 15 segundos e inmediatamente antes de la siembra.

La siembra de los esquejes se hizo en forma individual en bolsas de polietileno negro de un kilogramo

Cuadro 3.1. Reacción de las variedades diferenciales de clavel a 4 razas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en el Experimento 1.

| VARIEDAD | REACCION A LA RAZA FISIOLÓGICA | | | |
|----------------|--------------------------------|----|---|---|
| | 1 | 2 | 4 | 8 |
| Duca | R | R | R | R |
| Raggio di Sole | R | S | R | R |
| Pink Calypso | R | S | S | R |
| Zecchino | R | MS | R | S |
| San Remo | S | S | S | S |

R - Resistente

S - Susceptible

MS - Moderadamente Susceptible

de capacidad que contenían suelo pasterizado con vapor a 82°C, durante 30 minutos. El suelo utilizado fué de textura franco-limosa.

En cada invernadero, se utilizaron 50 plantas testigo para cada una de las variedades diferenciales y, antes de la siembra las raíces de dichos esquejes se trataron con agua destilada estéril.

La evaluación del índice de la enfermedad se realizó mediante la observación de los síntomas en las plantas en forma semanal y utilizando la escala descrita en el Cuadro 3.2.

La identificación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, para cada uno de los aislamientos, se efectuó de acuerdo con la reacción de las cuatro variedades diferenciales de clavel inoculadas con cada aislamiento del patógeno, según la respuesta encontrada por Garibaldi (Información personal, 1987; Garibaldi, 1983; Garibaldi y Rossi, 1987) (Cuadro 3.1).

Experimento 2.

El trabajo se inició durante el segundo semestre de 1989 recolectando muestras de plantas de clavel afectadas por el patógeno en 61 cultivos ubicados en 20 municipios de la Sabana de Bogotá. En el laboratorio se obtuvieron distintos aislamientos del hongo para su estudio.

Cuadro 3.2. Índice de la enfermedad utilizado en las pruebas de patogenicidad en los Experimentos 1 y 2.

| VALOR | SINTOMATOLOGIA OBSERVADA |
|-------|---|
| 0 | Planta sin síntomas |
| 1 | Planta con síntomas en el primer tercio |
| 2 | Planta con síntomas en el segundo tercio |
| 3 | Planta con síntomas en el tercio superior |
| 4 | Planta muerta. |

Entre los aislamientos obtenidos e identificados como *Fusarium oxysporum*, se escogieron 121, a los cuales se les realizaron estudios microbiológicos e inoculaciones en las variedades diferenciales Ibiza, Taiga, Raggio di Sole, Pink Calypso, Niki y San Remo. En este experimento, al no encontrarse las mismas variedades usadas en el Experimento 1, se utilizaron estas 6 variedades por su disponibilidad comercial en Colombia.

Como patrón de comparación, se utilizaron 9 aislamientos extranjeros del patógeno pertenecientes a las razas 1; 2; 4 y 8, obtenidos del profesor Angelo Garibaldi del Instituto de Patología Vegetal de la Universidad de Turín, Italia, del doctor Henk Rattink de la Estación Experimental de Floricultura de Aalsmeer, Holanda y del doctor Ralph Baker de la Universidad Estatal de Colorado, Fort Collins, Estados Unidos.

La obtención de los aislamientos del patógeno a partir de los tejidos enfermos, los estudios microbiológicos y culturales de dichos aislamientos, la propagación del inóculo y su aplicación a los esquejes en las pruebas de patogenicidad fueron similares a los utilizados en el Experimento 1.

Cada uno de los 130 aislamientos del hongo (121 aislamientos colombianos y 9 aislamientos extranjeros) se inoculó en 10 plantas de cada variedad diferencial, excepto en el caso de las variedades Ibiza y Taiga, en donde, por disponibilidad de esquejes, únicamente se inocularon 4 plantas.

Por cada variedad de clavel se utilizaron 50 plantas testigo, en donde los esquejes se trataron mediante la inmersión de las raíces en agua destilada estéril durante 15 segundos.

Las plantas se colocaron sobre 4 bancos de concreto elevados, de 30 metros de largo por un metro de ancho. Un sistema de riego con goteros individuales para cada planta se utilizó. Las plantas recibieron fertilización comercial cada semana.

Para evitar interacción entre los aislamientos, los grupos de las seis variedades inoculadas con cada uno de los aislamientos del hongo, se separaron 20 centímetros.

Una vez efectuada la siembra, las plantas se mantuvieron durante 20 semanas en un invernadero metálico con cubierta de polietileno de 34 metros de largo por 7 metros de ancho y rodeado por los lados con polietileno para aumentar un poco la temperatura.

La identificación de las razas fisiológicas del patógeno se hizo de acuerdo con la reacción de las seis variedades diferenciales de clavel y según la res-

puesta encontrada por Garibaldi (Información personal, 1987 y 1990; Garibaldi y Rossi, 1987) (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Reacción de las variedades diferenciales de clavel a 4 razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en el Experimento 2.

| VARIEDAD | REACCION A LA RAZA FISIOLÓGICA | | | |
|----------------|--------------------------------|---|---|---|
| | 1 | 2 | 4 | 8 |
| 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 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar presentó valores bastante similares cercanos a un centímetro por día, y oscilaron entre 0,84 cm y 1,20 cm por día.

A diferencia de una tasa de crecimiento micelial muy parecida entre los aislamientos del hongo, en la morfología, en la coloración de las colonias y en la producción de esporas de los diferentes aislamientos en PDA, se observó alguna variabilidad.

Todos los aislamientos estudiados formaron macroconidias, microconidias y clamidosporas y se encontraron aislamientos con esporulación muy abundante, esporulación intermedia y aislamientos muy poco esporulantes.

La gran mayoría de los aislamientos produjeron una gran cantidad de macroconidias y de microconidias, pero algunos produjeron baja cantidad de ambos tipos de conidias; también, se encontraron aislamientos con una gran producción de macroconidias y baja cantidad de micronidias, así como el caso inverso, es decir, con elevada producción de microconidias, pero baja cantidad de macroconidias.

La mayoría de las macroconidias de los aislamientos presentaron forma de media luna con los extremos agudos, aunque, también se observaron algunos aislamientos con formas ovaladas y rectangulares. En



Fotografía 3.1. Microconidias y macroconidias del aislamiento No. 38 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (400 aumentos).

todos los casos, las macroconidias presentaron de 3 a 4 septas transversales (Fotografía 3.1).

Las microconidias, también, presentaron una morfología muy similar, observándose formas ovoides y, en unos pocos aislamientos, conidias casi redondas. En todos los casos, las microconidias no presentaron septas (Fotografía 3.1).

Las clamidosporas presentaron pared gruesa y forma globosa y, en algunos casos, estas esporas se encontraron formando cadenas o en forma solitaria; su ubicación en la hifa fue variable, pues se observaron clamidosporas intercalares, subterminales y terminales (Fotografía 3.2).

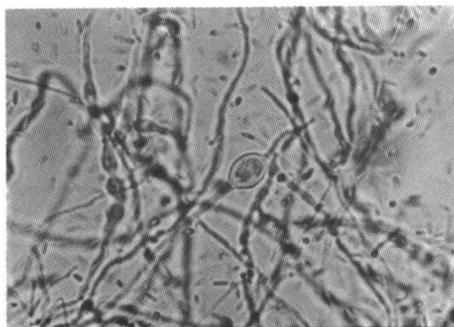
Las macroconidias presentaron tamaños entre 28 y 62 micras de largo por 3 micras de ancho, y para las microconidias, los valores fueron de 5,2 micras y 8,4 micras por 2,0 micras y 2,5 micras de ancho.

El tamaño de las clamidosporas varió de acuerdo a su ubicación dentro de la hifa. Las clamidosporas intercalares fueron más grandes que las clamidosporas terminales; además, cuando las clamidosporas se produjeron en cadena, su tamaño fue menor que cuando su formación fue solitaria.

La producción de macroconidias en PDA estuvo entre 500.000 y 1.200.000 por mililitro, mientras que los recuentos de microconidias oscilaron entre 2 y 8 millones por mililitro, según el aislamiento. Una tendencia similar se observó en el medio líquido Caseína Hidrolizada utilizado en la propagación del inóculo para las pruebas de patogenicidad.

Identificación de las Razas Fisiológicas.

Experimento 1. Noventa y siete de los cien aislamientos inoculados correspondieron a la Raza Fisiológica 2 del patógeno por su reacción de resistencia en la variedad Duca y por su reacción de susceptibilidad en las variedades Pink Calypso,



Fotografía 3.2. Micelio, clamidosporas, macroconidias y microconidias del aislamiento 116 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (100 aumentos).

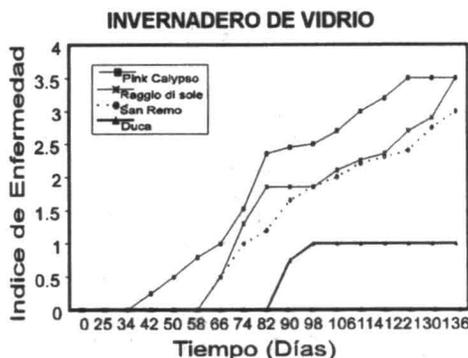


Figura 3.1. Respuesta de las variedades diferenciales de claveles al aislamiento 43 de la Raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Reacción de Resistencia en Duca y de Susceptibilidad en Pink Calypso, Raggio di Sole y San Remo.

Raggio di Sole y San Remo (Figura 3.1 y Fotografía 3.3).

Tres aislamientos correspondieron a la Raza 4 (Figura 3.2 y Fotografía 3.4). Estos tres aislamientos provinieron de variedades mediterráneas de claveles estándar.

De acuerdo con los resultados obtenidos, no hizo falta la variedad Zecchino que permite diferenciar las Razas 1 y 8, razas no encontradas en este experimento.

Al comparar el índice de enfermedad y el período de incubación en los dos invernaderos utilizados, ambos valores fueron mucho más altos en las plantas desarrolladas en el invernadero de vidrio, ya que el promedio de temperatura fue mucho mayor que en el invernadero de cubierta plástica. Sin embargo, la respuesta de las variedades diferenciales fue similar en los 2 invernaderos (Figura 3.3).

Experimento 2. Por la reacción de resistencia de las variedades Ibiza y Niki y por la reacción de



Fotografía 3.3. Respuesta de las 4 variedades diferenciales de clavel al aislamiento 18 de la Raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* cien días después de la inoculación. De izquierda a derecha Duca (Resistente), Pink Calypso, Raggio di Sole y San Remo (Susceptibles).



Fotografía 3.4. Respuesta de las cuatro variedades diferenciales de clavel al aislamiento 93 de la Raza 4 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, cien días después de la inoculación. De izquierda a derecha Duca (Resistente), Pink Calypso (Susceptible), Raggio di Sole (Resistente) y San Remo (Susceptible).

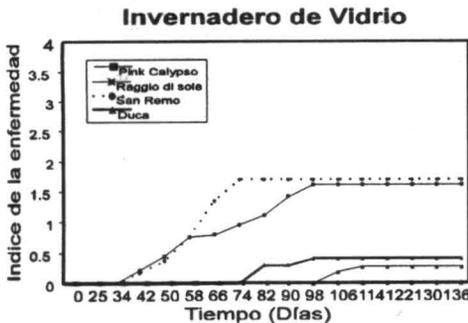


Figura 3.2. Respuesta de las variedades diferenciales de clavel al aislamiento 4 de la Raza 4 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Reacción de Resistencia, en Duca y Raggio di Sole y de Susceptibilidad, en Pink Calypso y San Remo.

susceptibilidad de las variedades Raggio di Sole, Pink Calypso y San Remo, ciento doce aislamientos de los ciento veintiuno inoculados, lo que corresponde al 93%, se clasificaron como pertenecientes a la Raza fisiológica 2 del patógeno (Figura 3.4).

Sin embargo, la respuesta a la inoculación de los 121 aislamientos del patógeno en la variedad Taiga, supuestamente resistente a todas las razas del patógeno, fué variable y se pudieron establecer 4

grupos, según su reacción: resistente (30%), moderadamente resistente (34%), moderadamente susceptible (21%) y susceptible (15%) (Figuras 3.4, 3.5, 3.6 y 3.7 y Fotografía 3.5)

Los 112 aislamientos clasificados como Raza 2 presentaron diferencias en su agresividad. Se observaron aislamientos muy agresivos, como los aislamientos 89 y 105, aislamientos menos agresivos, como el aislamiento 138 y aislamientos intermedios en su agresividad.

Los 3 aislamientos extranjeros de la Raza 2 mostraron diferencias patogénicas, siendo más agresivo el aislamiento 126, procedente de Estados Unidos, un poco menos agresivo el aislamiento 128, de Holanda y menos agresivo, el aislamiento 123 de Italia. Sin embargo, algunos aislamientos colombianos de la Raza 2 fueron mucho más agresivos que el aislamiento procedente de Estados Unidos.

Cuatro aislamientos del patógeno (3%) mostraron un nivel muy bajo de patogenicidad por lo cual no fué posible diferenciar la raza a la cual pertenecen (Figura 3.8).

Cinco aislamientos (4%) dieron una respuesta patológica no coincidente con las reacciones estable-

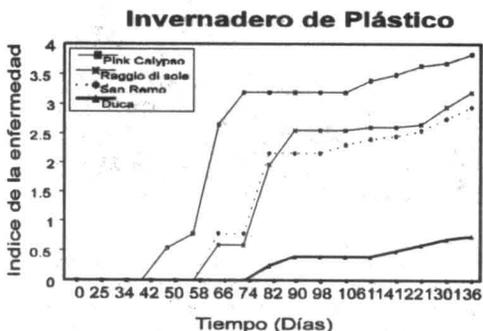
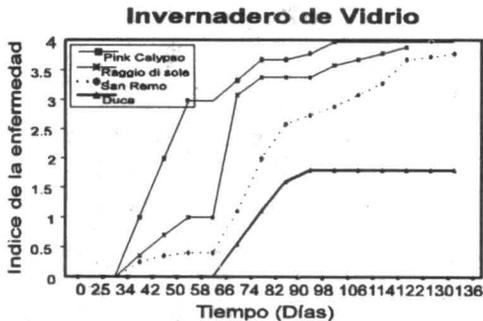


Figura 3.3. Respuesta de las variedades diferenciales de clavel al aislamiento 18 de la Raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en los dos invernaderos utilizados. Reacción de Resistencia en Duca y de Susceptibilidad en Raggio di Sole, Pink Calypso y San Remo.

cidas 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 Holanda respectivamente, y que, junto con la reacción de resistencia de la variedad Pink Calypso, permitieron iden-



Fotografía 3.5. Respuesta de plantas de la variedad Taiga, a los aislamientos 36 (Resistente), 59 (Moderadamente Susceptible) y 67 (Susceptible) de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y el testigo, 105 días después de la inoculación.



Fotografía 3.6. Corte transversal del tallo de una planta de la variedad Taiga, inoculada con el aislamiento 59, en donde su reacción fue Moderadamente Susceptible. En la parte superior izquierda se observan daños apreciables del xilema.

tificar la Raza 8, hasta el momento no conocida en Colombia.

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

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 hongo se observaron diferencias apre-

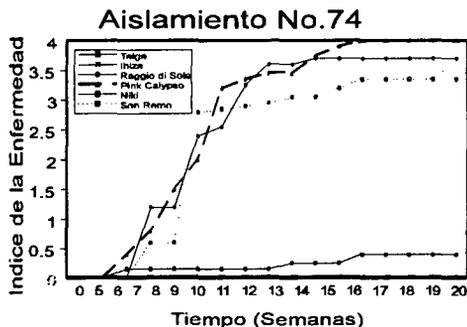


Figura 3.4. Respuesta de las seis variedades diferenciales de clavel a la inoculación del aislamiento 74 de la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Reacción de Resistencia en Taiga, Ibiza y Niki y de Susceptibilidad en Raggio di Sole, Pink Calypso y San Remo.

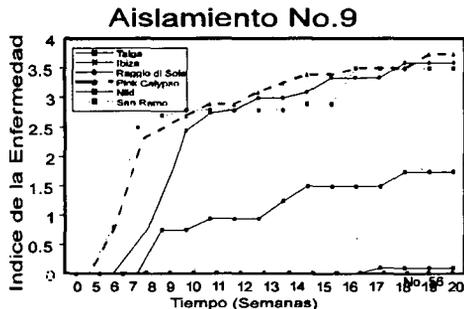


Figura 3.5. Respuesta de las seis variedades diferenciales de clavel a la inoculación del aislamiento 9 de la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Reacción de Resistencia en Ibiza y Niki, de Mediana Resistencia en Taiga, y de Susceptibilidad en Raggio di Sole, Pink Calypso y San Remo.

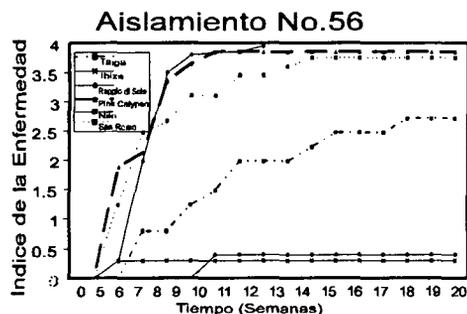


Figura 3.6. Respuesta de las seis variedades diferenciales de clavel a la inoculación del aislamiento 56 de la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Reacción de Resistencia en Ibiza y Niki, de Mediana Susceptibilidad en Taiga y de Susceptibilidad en Raggio di Sole, Pink Calypso y San Remo.

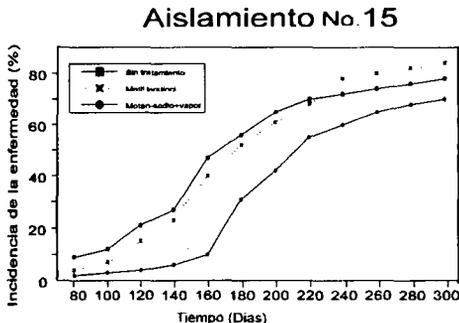


Figura 3.7. Respuesta de las seis variedades diferenciales de clavel a la inoculación del aislamiento 15 de la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Reacción de Resistencia en Ibiza y Niki y de Susceptibilidad en Taiga, San Remo, Raggio di Sole y Pink Calypso.

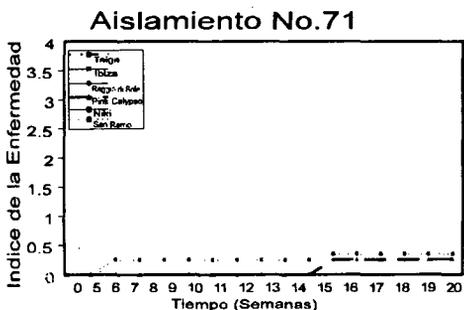


Figura 3.8. Respuesta de las seis variedades diferenciales de clavel a la inoculación del aislamiento 71 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Este aislamiento se caracterizó por su baja patogenicidad.

ciables 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 se observaron también, 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 de la enfermedad y un marchitamiento acelerado, seguido de 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 fué 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 en por lo menos un 20%, en comparación con las plantas testigo.

Cuando, al finalizar el experimento, en las variedades susceptibles a la Raza 2, se hicieron cortes transversales de los tallos a diferentes alturas de la planta, se observó una degradación del xilema y formación de cavidades más o menos grandes en la región vascular.

Al hacer, en la variedad Ibiza, cortes transversales de la base de los tallos, se observaron muy pocos daños en el xilema, sin la formación de las cavidades observadas en las variedades susceptibles.

En la variedad Taiga, la cual presentó diversos grados de afección a los diferentes aislamientos de la Raza 2, el daño en el xilema fué grande o pequeño dependiendo de la reacción que presentó la planta inoculada (Fotografía 3.6).

DISCUSION

Los resultados de los dos experimentos mostraron una gran similitud 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 esporas, entre los 230 aislamientos del patógeno estudiados.

Debido a esta alta variabilidad, las características morfológicas de las colonias y de las esporas del hongo son de poca utilidad para la identificación de las razas fisiológicas del patógeno y, para su reconocimiento, deben utilizarse especialmente las pruebas patológicas, las cuales toman bastante tiempo y requieren bastante espacio, materiales y esquejes sanos. Esto coincide con lo observado por Matthews

(1978), Baayen y Gams (1988), Manicom *et al* (1990) y Wright *et al* (1991).

Otros métodos de identificación de formas especiales de *Fusarium oxysporum* y de las razas dentro de dichas formas especiales se han usado en el laboratorio, tales como compatibilidad vegetativa (Katan *et al*, 1989; Wright *et al*, 1991), producción de sustancias volátiles (Moore *et al*, 1991) y análisis de ADN polimórfico ampliado al azar (RAPD), en el caso *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Sorensen *et al*, 1991). Algunos de estos métodos se están ensayando en diversos laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia sin haberse encontrado, hasta el momento, un método que reemplace las pruebas de patogenicidad.

En el Experimento 1, se encontraron aislamientos pertenecientes a las Razas 2 y 4, pero la Raza 2 fue predominante. En el Experimento 2, se encontraron, únicamente, aislamientos pertenecientes a la Raza 2 del patógeno. Estos resultados son consecuencia de importación de esquejes de otros países en donde la Raza 2 es predominante. La baja frecuencia de la Raza 4 encontrada en el experimento, posiblemente, se debe al escaso material de propagación importado de Italia, en donde esta raza está ampliamente distribuida.

Las cuatro respuestas diferentes obtenidas en la variedad Taiga, supuestamente resistente a todas las razas del hongo, permite 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, para el manejo de la enfermedad en muchas empresas. Dicha variación puede deberse, también, a las condiciones ambientales y de los suelos de la Sabana de Bogotá, bastante diferentes a los sitios donde se desarrollan esquejes de clavel importados. Esto coincide con lo expresado por Sparnaaij (1978) y por 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, además, 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 utilizadas en el Experimento 2, permitió observar las reacciones patológicas descritas en

la literatura y fueron un buen punto de comparación. Además, permitieron confirmar, hasta el momento, la ausencia de las Razas 1 y 8 del patógeno en Colombia.

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

BIBLIOGRAFIA

1. Baayen, R.P. and W. Gams. The *Elegans* fusaria causing wilt disease of carnation. I. Taxonomy. Netherlands Journal of Plant Pathology 94: 273-288. 1988.
2. Bickerton, J.M. Fusarium wilt of carnation caused by *Fusarium dianthi* Prill. et Del. New York Agr. Exp. Sta. Bul 78. 1942.
3. Cebolla, V., C. Monton, P. Carrasco y A. Rodríguez. La importancia de las razas 1 y 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en los suelos españoles. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Cabriels, Barcelona 4pp. 1979.
4. Demmink, J.F., R.P. Baayen and L.D. Sparnaaij. Evaluation of virulence of races 1, 2, and 4 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in carnation. Euphytica 42: 55-63. 1989.
5. Garibaldi, A. Race differentiation in *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. (Prill. et Del.) Snyder. et Hans. First Contribution. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 40: 531-537. 1975.
6. Garibaldi, A. Resistenza di cultivar di garofano nei confronti di otto patotipi di *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyder. et Hans. Rivista della Ortoflorofrutticoltura Italiana 67: 261-270. 1983
7. Garibaldi, A., G. Lento y G. Rossi. Indagine sulla diffusione dei patotipi di *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* nelle colture di anticole liguri. Panorama Floricolo 11: 1-4. 1986.
8. Garibaldi, A. and M. L. Gullino. *Fusarium* wilt of carnation: present situation, problems and perspectives. Acta Horticulturae 216: 125-129. 1987.
9. Garibaldi, A. and G. Rossi. Osservazioni sulla resistenza del garofano nei confronti *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Notiziario Tecnico Scientifico 5-9. 1987.
10. Garibaldi, A. Susceptibility of carnation varieties to four pathotypes of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 53/2a: 347-352. 1988.
11. Guba, E.F. Carnation wilt diseases and their control. Mass. Agr. Exp. St. Bul. 427. 1945.
12. Hood, J.R. and R.N. Stewart. Factors affecting symptom expression in *Fusarium* wilt of *Dianthus*. Phytopathology 47: 173-178. 1957.
13. Katan, T., E. Hadar and J. Katan. Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* from carnation in Israel. Plant Pathology 38: 376-381. 1989.
14. Manicom, B.Q., M. Bar-Joseph and J.M. Kotze. Molecular methods of potential use in the identification and taxonomy of filamentous fungi, particularly *Fusarium oxysporum*. Phytophylactica 22: 233-239. 1990.
15. Matthews, P. Variation in english isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Proceedings of the Eucarpia meeting on carnation and gerbera. Alassio: 115-126. 1978.
16. Messiaen, C.M. and R. Cassini. Taxonomy of *Fusarium*. p. 427-445. In P.E. Nelson, T.A. Toussoun and R.J. Cook (Eds.). *Fusarium* : diseases, biology and taxonomy. The Pennsylvania State University Press. University Park and London. 1981.
17. Moore, N.Y., P.A. Hargreaves, K.G. Pegg and J.A. G. Irwin. Characterization of strains of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* by production of volatiles. Australian Journal of Botany 39: 161-166. 1991.
18. Scovel, G. Improved agrotechnical and sanitation methods versus resistant cultivars as a mean of avoiding *Fusarium* wilt. Acta Horticulturae 216: 55-61. 1987.
19. Sorensen, S., K. Pegg and J. Dale. RAPD-PCR analysis of the genetic variability within *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Australian Microbiologist (Abstr.) 12: 226. 1991.
20. Sparnaaij, L.D. Current research on carnation with special reference to breeding. Proceedings of the Eucarpia meeting on carnation and gerbera. Alassio: 47-55. 1978.
21. Wright, G.K., I. Pascoe, R. van Heeswijk, D. Guest and S. Wimalajeewa. Characterization of isolates of *Fusarium oxysporum* from carnation in Victoria. Acta Horticulturae 307: 65-72. 1992.