

CAPITULO X

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE NITROGENO, POTASIO Y pH EN EL DESARROLLO DE *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, AGENTE CAUSAL DEL MARCHITAMIENTO VASCULAR DEL CLAVEL.

Martha Orozco de Amézquita¹, Emira Garcés de Granada¹ y Germán Arbeláez²

INTRODUCCION

Un balance de los diversos elementos nutricionales es indispensable para que un cultivo alcance su máximo potencial de crecimiento y desarrollo. Este balance implica un suministro equilibrado de nutrientes combinado con condiciones climáticas, edáficas y culturales adecuadas (Palti, 1981).

El manejo de la nutrición de un cultivo se realiza a través de la aplicación de fertilizantes o mediante la modificación del suelo y es uno de los componentes importantes dentro del manejo de diversas enfermedades de las plantas (Huber, 1989). Aunque sólo muy pocas enfermedades pueden ser controladas totalmente por un régimen de fertilización, la severidad de muchas de ellas puede reducirse de una manera importante por la nutrición y con el uso integrado de otras medidas de control genético, biológico, químico y cultural (Huber, 1980).

Garret (1977) considera que las condiciones del suelo, incluyendo la nutrición mineral, tienen efecto en las enfermedades vasculares, principalmente a través de los cambios introducidos en la fisiología de la planta hospedante y que su acción sobre los patógenos en el suelo es secundaria durante la infección a través de las raíces.

La nutrición influye sobre las enfermedades parasitarias, afectando la supervivencia y la virulencia del patógeno, el vigor y la resistencia de las plantas y estimulando los mecanismos de control biológico. Los nutrientes del suelo actúan sobre la enfermedad a través de los requerimientos nutricionales del patógeno o por una acción indirecta relacionada con la resistencia de la planta. (Huber, 1981).

Jarvis y Thorpe (1980) señalan que los fertilizantes tienen un efecto marcado sobre la severidad de las

enfermedades de las plantas y, algunas veces, la disminuyen y, en otras, la incrementan. Para cambiar los requerimientos necesarios para el crecimiento y la esporulación del hongo, los niveles de nutrientes en el suelo es posible alterarlos, pero proporcionando la nutrición adecuada para el crecimiento óptimo de las plantas (Woltz y Jones, 1973).

Boning (1976) considera que la nutrición es responsable de diferencias en la estructura química y en el metabolismo de las plantas, las cuales están relacionadas con su comportamiento hacia los patógenos, lo cual puede determinar que la planta sea susceptible, resistente o tolerante. Los niveles de nitrógeno son, particularmente, importantes porque afectan la susceptibilidad de las plantas a la infección y a la colonización por los patógenos (Stack *et al*, 1986). Algunos procesos fisiológicos son influidos por nutrientes específicos, como el nitrógeno que interviene en el metabolismo de los carbohidratos y en la fotosíntesis (Huber, 1989).

Enhelhard (1989) ha observado que altos niveles de nitrógeno aumentan un gran número de enfermedades, entre ellas las enfermedades vasculares causadas por el hongo *Fusarium oxysporum*, pero, a la vez, suelen incrementar la producción, ya que vigorizan las plantas y estimulan la microflora del suelo.

Gasiorkiewicz (1960) observó un aumento en la severidad de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel, con niveles altos de nitrógeno en el suelo (150-200 mg/g de suelo).

El marchitamiento vascular, ocasionado por diversas formas especiales de *Fusarium oxysporum* en diversos tipos de plantas, se ha reducido al aplicar el nitrógeno en forma de nitratos, pero ha aumentado al aplicar nitrógeno amoniacal. Esto se ha observado en las enfermedades ocasionadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel (Engelhard, 1979), *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* en crisantemo (Engelhard y Woltz, 1973; Raju, 1983), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* en tomate (Woltz y Jones, 1973), *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* en melón (Stoddard, 1947).

¹ Profesora Asociada, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá D.C.

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

Sin embargo, en Italia, otros autores tales como Pergola *et al* (1979) encontraron que la severidad de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel disminuyó al aplicar amonio y aumentó con la aplicación de nitratos en un suelo con pH 7,5.

Woltz y Jones (1981) consideran que el marchitamiento vascular producido por *Fusarium oxysporum* es favorecido más por el amonio que por el nitrato, debido a que el patógeno desarrollado en suelos con predominio del amonio es más virulento que en suelos con abundancia de nitratos. Este efecto, se atribuye, por lo menos en parte, al incremento del pH en el suelo por acción de los nitratos y a su disminución por acción del amonio. Un pH alto limita la disponibilidad de algunos elementos esenciales para el hongo, tales como algunos micronutrientes que son necesarios para el crecimiento, la esporulación y la virulencia del patógeno (Jones *et al*, 1989).

Loffler *et al* (1986) encontraron que los nitritos, más que el amonio son los responsables del efecto generado por los fertilizantes amoniacales y que la reducción del marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se debe a la disminución en el número de clamidosporas en el suelo, debido a la lisis de dichas estructuras.

La fertilización con potasio es una práctica común para reducir la severidad de un buen número de enfermedades (Huber, 1981). Aunque el potasio no es un elemento estructural de la planta, altos niveles de este elemento aumentan el grosor de las paredes celulares incrementando la resistencia de las plantas (Huber, 1980).

Al aumentar los niveles de potasio en el suelo, se ha observado una menor incidencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* en algodón (Dick y Tisdale, 1938), *Fusarium oxysporum* f.sp. *conglutinans* en repollo (Walker y Hooker, 1945), *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* en melón y *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* en palma africana (Pati, 1981).

Además, se ha observado que el balance nitrógeno-potasio es muy importante para evitar una alta incidencia de las enfermedades vasculares. Niveles bajos de potasio y nitrógeno en abundancia estimulan un mayor desarrollo de las enfermedades; por el contrario, bajos niveles de nitrógeno y altos niveles de potasio en el suelo desfavorecen el desarrollo de las enfermedades vasculares. Desafortunadamente, los cultivos requieren niveles adecuados de ambos elementos, lo cual dificulta el manejo de las enfermedades reduciendo los niveles de algunos elementos (Woltz y Jones, 1981).

Walker y Foster (1946) encontraron que, usando nitratos y manteniendo bajas concentraciones de potasio en el suelo, los niveles de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* fueron muy altos, mientras que con dosis altas de potasio, la enfermedad se retardaba considerablemente.

Después de muchas experiencias en Colombia y en el mundo, se ha concluido que el control efectivo del marchitamiento vascular del clavel, ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, se puede realizar mediante la integración de diversas medidas de control, tales como la siembra de material de propagación sano, la desinfección del suelo antes de la siembra con vapor de agua y con fumigantes, la aplicación de fungicidas sistémicos, el uso de algunos organismos antagonistas, el empleo de variedades resistentes y la aplicación de diversas prácticas culturales (Garibaldi y Gullino, 1987; Rattink, 1988; Arbeláez, 1988).

Teniendo en cuenta que, mediante el manejo de la nutrición de las plantas, en combinación con otras prácticas de control, es posible lograr la disminución de algunas enfermedades como la ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel, y a que es necesario establecer la incidencia de algunos factores del medio en el crecimiento del hongo y, en lo referente a las necesidades nutricionales, se propuso el siguiente trabajo para lo cual se realizaron tres experimentos que tuvieron como objetivos:

- Evaluar el efecto de la desinfección del suelo y de la fertilización con nitrógeno y potasio sobre la incidencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en dos variedades de clavel, bajo condiciones de invernadero comercial.
- Establecer el comportamiento *in vitro* de cinco aislamientos del hongo en suelos agrícolas con diferentes niveles y fuentes de compuestos nitrogenados.
- Determinar la respuesta del crecimiento *in vitro* de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en medios de cultivo con diferentes fuentes de nitrógeno y valores de pH.

MATERIALES Y METODOS

Experimento 1.

Este experimento se desarrolló en un cultivo comercial de clavel bajo invernadero localizado en el municipio de Suba, con un área de 492 m². Dicha área se dividió en 120 parcelas de 4,1 m² y, en cada una de ellas, se sembraron 200 esquejes. Las

Cuadro 10.1. Tratamientos de fertilización al suelo con diferentes fuentes y dosis de nitrógeno y potasio.

Tratamiento	Fuente de nutriente	Dosis/semana Kg/Ha
K1	K ₂ SO ₄	56,0
K2	K ₂ SO ₄	112,0
N1	NH ₄ NO ₃	53,0
N2	Ca(NO ₃) ₂	97,6
N3	Ca(NO ₃) ₂	190,2
N4	(NH ₄) ₂ PO ₄	78,1
N5	(NH ₄) ₂ PO ₄	153,7

parcelas se separaron 0,5 m y la distancia de siembra entre plantas fué de 0,12 m.

En el experimento se usaron las variedades de clavel "Petterson's Select New Pink Sim" de flor rosada (en adelante se llamará Petterson) y "Scania" de flor roja, ambas susceptibles a *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

Para establecer el efecto de la desinfección del suelo se utilizaron dos tratamientos: vapor + Dazomet (Basamid, BASF) (Tratamiento T1) y Dazomet + Formol (Tratamiento T2). El vapor, procedente de una caldera, se aplicó hasta cuando el suelo alcanzó una temperatura de 82°C, durante 30 minutos. El Dazomet se aplicó en dosis de 500 kg/ha y se incorporó al suelo un mes antes de la siembra y, posteriormente, se aplicó un sello de agua durante 6 días. El formol se aplicó al suelo en concentraciones del 2%, en dosis de 7.576 galones por hectárea.

Dos niveles de potasio (K1 y K2) y 5 niveles de nitrógeno (N1, N2, N3, N4 y N5) se utilizaron. Dichos elementos se aplicaron con fertilizantes comerciales en forma semanal. Las fuentes y dosis de dichos elementos se presentan en el Cuadro 10.1.

El diseño experimental usado fué el de parcelas sub-sub-subdivididas, donde la parcela principal correspondió a las variedades, las subparcelas a los tratamientos de desinfección al suelo (T1 y T2), las sub-subparcelas a los niveles de potasio (K1 y K2) y las sub-sub-subparcelas a los niveles de nitrógeno (N1 a N5). El total de tratamientos fué de 40 con tres repeticiones cada uno.

Ocho semanas después de la siembra, se inició el registro del número de plantas enfermas por tratamiento. Las plantas que presentaban los síntomas de marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, se erradicaron cada 20 días. La producción de flores se evaluó durante tres meses.

Para analizar el efecto de los tratamientos sobre la concentración de inóculo del patógeno de cada sub-sub-subparcela, se tomaron al azar muestras del suelo en diferentes sitios, las cuales fueron extraídas desde el nivel del suelo y hasta una profundidad de 15 cm; el peso de cada muestra fué de aproximadamente 250 g. Las muestras se tomaron antes de la siembra y ocho meses después de iniciado el experimento.

De cada muestra del suelo, previamente mezclada por agitación, se pesó un gramo y se diluyó en nueve mililitros de agua destilada estéril. De esta dilución, se sembró un mililitro en cajas de Petri que contenían el medio de cultivo selectivo para *Fusarium oxysporum*, propuesto por Komada (1975). El material sembrado se incubó a 25°C y, al cabo de ocho días se evaluó en cada caja de Petri el número de colonias del patógeno.

Experimentos 2 y 3.

Los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* usados para estos experimentos corresponden a repeticiones de la colección iniciada con el trabajo sobre razas del patógeno realizado por Cevallos y González (1989) en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia. Se utilizaron los aislamientos 3 y 93 de la Raza 4, los aislamientos 43 y 90 de la Raza 2 del patógeno y el aislamiento C5CSU, que es una forma no patogénica de *Fusarium oxysporum*, la cual fué enviada por el profesor Ralph Baker de la Universidad Estatal de Colorado, Fort Collins, Estados Unidos.

Los cultivos puros de los aislamientos del patógeno se replicaron, seis días antes de iniciar los ensayos en el medio de cultivo PDA.

Para el primer ensayo, a las soluciones nutritivas o tratamientos correspondientes a fuentes y dosis de nitrógeno (Cuadro 10.2), antes de su esterilización, se les ajustó el pH a un valor de 7,0 +/- 0,05 con KOH y HCl 1 M.

Para el segundo ensayo, se evaluó el efecto de nitratos y sales de amonio en medios con diferente pH; éste se ajustó en igual forma a la empleada en el ensayo anterior. En el Cuadro 10.3 se indica el contenido de los medios de cultivo o tratamientos utilizados. Una vez listos los medios en las cajas de Petri, se procedió a inocular el correspondiente aislamiento, colocando, en el centro de cada una de ellas, una rodaja de la colonia de cuatro milímetros de diámetro. Cada tratamiento se replicó tres veces.

El hongo se dejó crecer en una incubadora a 22°C y el radio de la colonia, su forma, color y elevación

Cuadro 10.2. Tratamientos para evaluar el efecto del medio con diferentes fuentes y concentraciones de nitrógeno sobre el crecimiento y desarrollo de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

NUTRIENTE	g/l	NO ₃				NO ₃ -NH ₄				NH ₄				-N
		¼	½	1	2	¼	½	1	2	¼	½	1	2	
NH ₄ NO ₃	2	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NaNO ₃	3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
K ₂ HPO ₄	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MgSO ₄	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EDTA-Fe	2ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucosa	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Micronutrientes	2ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Agar puro	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-

+ Presente en la solución.

- Ausente en la solución.

Cuadro 10.3. Tratamientos para evaluar el efecto del medio con diferentes fuentes de nitrógeno y pH sobre el crecimiento y desarrollo de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

NUTRIENTE	g/l	NO ₃							NH ₄			
		5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	5,5	6,5	7,5	8,5
NaNO ₃	1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
K ₂ HPO ₄	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MgSO ₄	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EDTA-Fe	2ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucosa	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Micronutrientes	2ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Agar puro	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NH ₄ H ₂ PO ₄	1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

+ Presente en la solución.

- Ausente en la solución.

se evaluó a los 3, 7 y 10 días siguientes a la siembra. A los 10 días de la siembra, se añadió a cada caja de cultivo de 1 a 10 ml de agua destilada estéril, procurando mezclar con el agua todo el micelio; de la suspensión resultante, se tomó una muestra y, con un hemacitómetro, se contó el número total de macroconidias, microconidias y clamidosporas producidas.

Los datos de crecimiento de la colonia se usaron para calcular la tasa de crecimiento diario, con la cual se realizaron los análisis correspondientes.

En los dos ensayos, se usó el diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial; los resultados se sometieron a análisis de varianza y a la Prueba de Tukey.

RESULTADOS

Experimento 1.

El tratamiento al suelo con vapor + Dazomet (T1) antes de la siembra fué más eficiente que el tratamiento con Dazomet + formol (T2), pues presentó el menor número de plantas enfermas y la mayor producción de flores (Figura 10.1). A nivel estadístico, la diferencia entre ambos tratamientos fué altamente significativa.

La variedad Scania presentó un menor número de plantas enfermas, tanto en el suelo tratado con vapor + Dazomet (T1) como en el suelo tratado con Dazomet + formol (T2), en comparación con la variedad Petterson. El número de flores producidas por

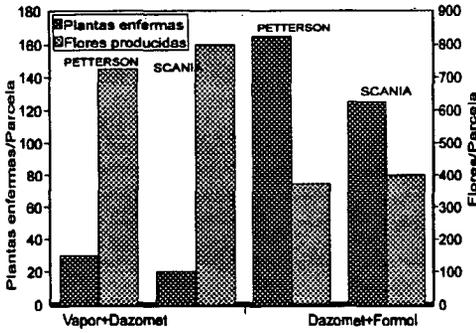


Figura 10.1. Efecto de los tratamientos de desinfección al suelo en el número de plantas enfermas y en la producción de flores, en las dos variedades de clave

la variedad Scania fué también mayor (Figura 10.1).

En cuanto a las dosis de potasio aplicadas, no se observaron diferencias significativas entre los dos niveles K1 y K2 utilizados (Figura 10.2). El menor número de plantas enfermas para la variedad Scania se obtuvo con la concentración baja de potasio (K1), mientras que en la variedad Petterson el menor número de plantas enfermas se obtuvo con el nivel alto de potasio (K2); sin embargo, la producción de flores fué mayor en las dos variedades con el nivel bajo de potasio (Figura 10.2).

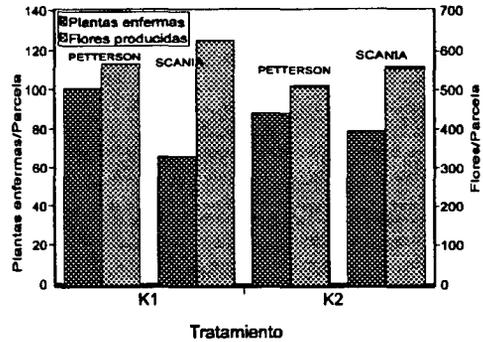


Figura 10.2. Efecto de los niveles de fertilización con potasio en el número de plantas enfermas y en la producción de flores, en las dos variedades de clave.

El número de plantas enfermas, como respuesta a la fertilización nitrogenada, en todos los cinco tratamientos en donde se usaron diferentes formas y dosis de nitrógeno, fué menor en la variedad Scania que en la variedad Petterson. El menor número de plantas enfermas en la variedad Petterson se obtuvo con el tratamiento N3 (dosis alta de nitratos) y el mayor número de plantas enfermas se obtuvo con el tratamiento N5 (dosis alta de fosfato de amonio), con valores de 80,2 y 108,9 para dichos tratamientos, respectivamente. En la variedad Scania, los tratamientos con menor número de plantas enfermas fueron N2 y N3 (dosis alta y dosis baja de nitrato de calcio), con promedios de 60,9 y 65,0, mientras que el mayor número de plantas enfermas se obtuvo con el tratamiento N1 (nitrato de amonio) con 84,0 (Figura 10.3).

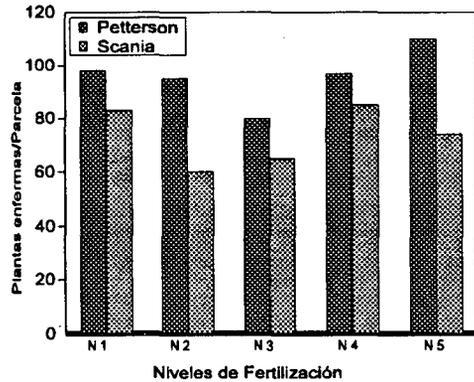


Figura 10.3. Efecto de las dosis y fuentes de fertilización nitrogenada en el número de plantas enfermas, en las dos variedades de clave.

La mayor producción de flores se presentó en la variedad Scania con los tratamientos N2 y N3 (nitrato de calcio en dosis baja y alta) y en la variedad Petterson, con el tratamiento N4. La variedad Scania presentó una mayor producción de flores que la variedad Petterson, excepto en el tratamiento N4 (dosis baja de fosfato de amonio), en donde el rendimiento fué ligeramente superior en esta última

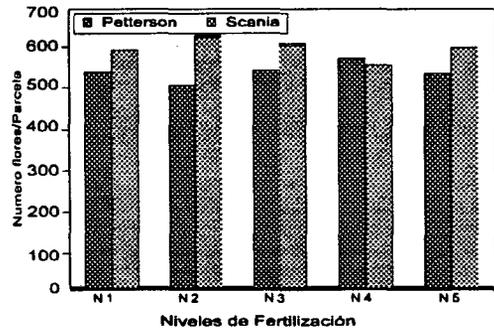


Figura 10.4. Efecto de las dosis y fuentes de fertilización nitrogenada en la producción de flores, en las dos variedades de clave.

Cuadro 10.4. Efecto del tratamiento del suelo con vapor + Dazomet y de los niveles de fertilización potásica y nitrogenada en el número promedio de plantas enfermas y en la producción promedio de flores de dos variedades de clavel.

TRATAMIENTO	PLANTAS ENFERMAS		PRODUCCION DE FLORES	
	Petterson	Scania	Petterson	Scania
K ₁ N ₁	28,0	9,3	681,0	837,3
K ₁ N ₂	25,0	6,3	709,6	904,3
K ₁ N ₃	32,0	18,0	697,3	813,0
K ₁ N ₄	26,6	34,0	736,6	704,6
K ₁ N ₅	45,0	17,6	712,6	828,0
K ₂ N ₁	14,6	53,3	817,0	776,0
K ₂ N ₂	25,3	34,6	743,6	724,6
K ₂ N ₃	34,6	15,3	667,6	813,0
K ₂ N ₄	26,6	16,6	804,3	789,0
K ₂ N ₅	46,0	15,6	578,6	763,6

Cuadro 10.5. Efecto del tratamiento del suelo con Dazomet + formol y de los niveles de fertilización potásica y nitrogenada en el número promedio de plantas enfermas y en la producción promedio de flores de dos variedades de clavel.

TRATAMIENTO	PLANTAS ENFERMAS		PRODUCCION DE FLORES	
	Petterson	Scania	Petterson	Scania
K ₁ N ₁	183,6	133,0	442,3	403,3
K ₁ N ₂	62,3	94,3	399,6	426,0
K ₁ N ₃	149,3	114,6	423,6	377,3
K ₁ N ₄	179,0	132,0	444,3	507,6
K ₁ N ₅	182,0	114,0	490,0	375,3
K ₂ N ₁	167,3	143,3	253,0	360,6
K ₂ N ₂	163,0	108,3	223,3	477,0
K ₂ N ₃	104,6	112,0	414,3	404,3
K ₂ N ₄	157,0	152,3	79,0	235,6
K ₂ N ₅	162,6	114,3	300,3	367,6

variedad (Figura 10.4).

En la variedad Petterson, el número de plantas enfermas en suelos tratados con vapor + Dazomet, combinando el efecto de los dos niveles de potasio y cinco niveles de nitrógeno, fué mayor en K1N5 y K2N5; la mayor producción de flores se obtuvo con el nivel 2 de potasio (K2) y los niveles 1 y 4 de nitrógeno (N1 y N4) (Cuadro 10.4). En el tratamiento al suelo con vapor + Dazomet y, a nivel estadístico, los cinco niveles de fertilización nitrogenada utilizados no presentaron diferencias significativas en el número de plantas enfermas y en la producción de flores.

Para la variedad Scania, el número más bajo de plantas enfermas y la mayor producción de flores se obtuvo en las parcelas tratadas con vapor + Dazomet y en los tratamientos K1N1 y K1N2 (Cuadro 10.4).

En la variedad Petterson, el menor número de plantas enfermas en las parcelas tratadas con

Dazomet + formol se obtuvo con el tratamiento K2N3 y, en la variedad Scania, con los tratamientos K1N2 y K2N2 (Cuadro 10.5).

La mayor producción de flores en las parcelas tratadas con Dazomet + formol se obtuvo en la variedad Petterson, con los tratamientos K1N5 y K1N4 y, en la variedad Scania, con el tratamiento K1N4 (Cuadro 10.5).

La población del patógeno en el suelo fué menor después de la aplicación de vapor + Dazomet, en comparación con la aplicación de Dazomet + formol, con promedios de 19,1 y 42,2 unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo de suelo.

La población del hongo en el suelo, ocho meses después de la siembra, se incrementó en más de cinco veces con promedios finales de 106,4 ufc/g para vapor + Dazomet y 234,6 ufc/g, para Dazomet + formol (Cuadro 10.6). Las diferencias en la población del patógeno antes de la siembra y ocho meses

Cuadro 10.6. Efecto de la desinfección del suelo y la fertilización potásica y nitrogenada en la población de *Fusarium oxysporum* en el suelo, expresada en unidades formadoras de colonias por gramo de suelo.

TRATAMIENTO		VAPOR + DAZOMET		DAZOMET + FORMOL	
		Presiembra	8 meses	Presiembra	8 meses
K ₁ N ₁	NH ₄ NO ₃	50,0	121,5	13,3	241,6
K ₁ N ₂	NO ₃	24,9	53,3	46,6	91,6
K ₁ N ₃	NO ₃	9,9	65,0	106,6	118,3
K ₁ N ₄	NH ₄	13,3	34,9	49,9	398,3
K ₁ N ₅	NH ₄	14,9	283,3	31,6	413,3
K ₂ N ₁	NH ₄ NO ₃	19,9	79,9	26,6	153,3
K ₂ N ₂	NO ₃	46,6	98,3	39,9	163,3
K ₂ N ₃	NO ₃	21,6	168,3	39,8	186,6
K ₂ N ₄	NH ₄	28,3	109,9	26,6	394,9
K ₂ N ₅	NH ₄	6,6	49,9	41,6	185,0
Promedio		19,1	106,4	42,2	234,6

después de los tratamientos con vapor + Dazomet y Dazomet + formol fueron, a nivel estadístico, altamente significativas.

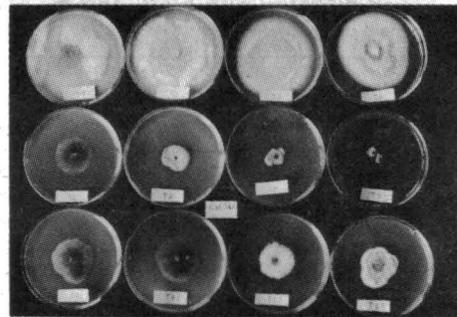
En las parcelas tratadas con vapor + Dazomet, la población del patógeno ocho meses después de la siembra, fué menor en el tratamiento K1N4 (34,9 ufc/g), correspondiente a la dosis baja de amonio, mientras que la población del patógeno fué más alta en el tratamiento K1N5, con un valor promedio de 283,3 ufc/g de suelo.

En las parcelas tratadas con Dazomet + formol, el mayor número de colonias del hongo en el suelo correspondió al tratamiento K1N5, con 413,3 ufc/g y los valores más bajos se obtuvieron con el tratamiento K1N2, con 91,6 ufc/g.

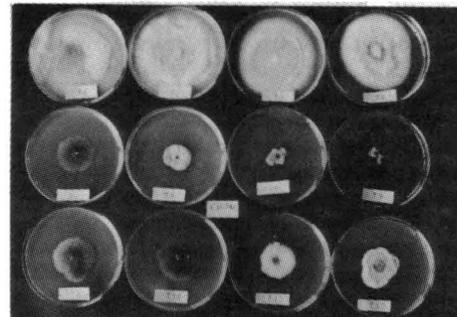
Experimento 2.

Para este ensayo, se encontró que la fuente de nitrógeno originó cambios en la coloración y en la forma de las colonias. Los aislamientos 3, 43, 93 y C5CSU presentaron micelio de color blanco y colonias de bordes regulares en todas las concentraciones de nitrato (NO₃). El aislamiento 90 presentó colonias de color morado a baja concentración de nitrato, mientras que, en concentración alta, la coloración de la colonia fué blanca. El nitrato, en todas las dosis, originó micelio con abundante crecimiento aéreo.

Los aislamientos 43, 90 y C5CSU presentaron colonias de color morado en medios que contenían nitrógeno en forma de nitrato de amonio (NO₃NH₄), mientras que los aislamientos 3 y 93 presentaron colonias de color rosado. En todos los casos, en esos medios, los bordes de las colonias fueron irregulares y la esporulación fué baja.



Fotografía 10.1. Respuestas del crecimiento micelial *in vitro* del aislamiento C5CSU de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Nitrato (T1 a T4), Nitrato de amonio (T6 a T9) y Amonio (T10 a T13).



Fotografía 10.2. Respuesta del crecimiento micelial *in vitro* de los aislamientos 3, 90, 43, C5CSU y 93. T1 (Nitrato ¼), T6 (Nitrato de amonio ¼) y T10 (Amonio ¼)

Cuando el medio se suplementó con amonio (NH₄), los aislamientos 3, 43 y C5CSU presentaron micelio rojo y, en los dos primeros, se observó que, a medida que se incrementaba la dosis, el micelio se tornaba blanco. En estos tratamientos, los aislamientos 90 y 93 presentaron micelio de color rosado, pero al

aumentar la concentración de amonio, el micelio se tomaba blanco. Los aislamientos 3, 43 y 93 presentaron micelio con crecimiento aéreo, mientras que los aislamientos 90 y C5CSU presentaron un micelio muy pegado al medio. En todas las concentraciones de amonio, las colonias presentaron bordes muy irregulares; esta respuesta fué mayor a medida que se incrementaba la dosis (Fotografías 10.1 y 10.2).

Para el efecto de la fuente y la dosis de nitrógeno sobre el crecimiento micelial diario y la producción de conidias, los análisis de varianza señalaron diferencias estadísticas entre los aislamientos y entre los tratamientos; además se observó una interacción entre los tratamientos y los aislamientos.

Al comparar estadísticamente los promedios para la variable crecimiento radial de las colonias, los aislamientos 3, 43, 90 y C5CSU fueron similares entre sí, pero diferentes con el aislamiento 93. En cuanto a la producción de conidias, el aislamiento 43 presentó el mayor valor, los aislamientos 3 y 90 presentaron valores intermedios y los menores valores correspondieron a los aislamientos 93 y C5CSU (Figura 10.5).

En los tratamientos con nitrato, la tasa de crecimiento de las colonias para los diferentes aislamientos del hongo fueron bastante similares y estadísticamente no presentaron diferencias. Los nitratos originaron la mayor tasa de crecimiento. Entre los aislamientos, la respuesta a este nutriente fué similar, sin presentar diferencias significativas a nivel estadístico.

Los valores siguientes correspondieron a la dosis baja de amonio (1/4), (1/2) y a NO_3NH_4 (1/4). Los menores promedios en la tasa de crecimiento micelial se obtuvieron con las dosis altas de NH_4 y NO_3NH_4 (Figura 10.6).

En general, el crecimiento de las colonias disminuyó con la concentración de nitrógeno y los valores más altos fueron para los tratamientos con NO_3 , seguidos por los de NH_4 y NO_3NH_4 (Cuadro 10.7).

Al analizar el comportamiento independiente de cada aislamiento en medios suplidos con NO_3 , todos los aislamientos al incrementar la dosis, disminuyeron la tasa de crecimiento del micelio, excepto el aislamiento 3. En los tratamientos con nitrato de amonio, se observó una disminución en la tasa de crecimiento, similar a la observada para el nitrato y, además, una disminución en la producción de conidias (Cuadros 10.7 y 10.8).

En los tratamientos con dosis altas de NO_3NH_4 y NH_4 , se observaron, en algunos aislamientos clamidosporas y, en tratamientos, como NO_3 (1/4) y NO_3NH_4 (1/4)

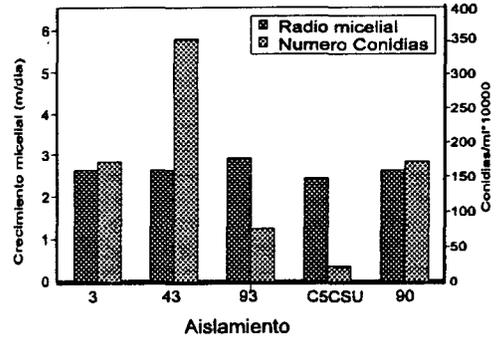


Figura 10.5. Efecto total de los tratamientos con nitrógeno sobre el crecimiento micelial diario y la producción de conidias de cinco aislamientos de *Fusarium oxysporum*.

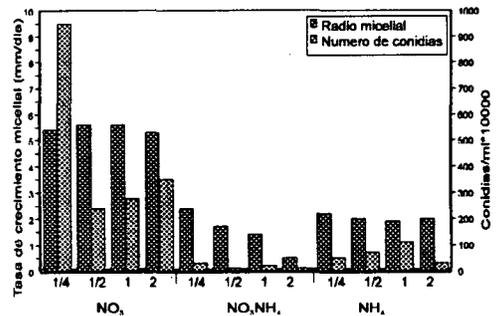


Figura 10.6. Efecto de la fuente y la concentración de nitrógeno sobre el crecimiento de micelio y la producción de conidias de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dlanthi*.

fué evidente la formación de macroconidias.

Experimento 3.

En los medios en los cuales se evaluó el efecto del pH y la fuente de nitrógeno, al igual que en el experimento 2, se observaron cambios en la forma y en la coloración de las colonias. Para el aislamiento 3, los medios con nitrato presentaron colonias blancas, de bordes regulares y con abundante esporulación, mientras que con amonio, las colonias fueron de color rosado oscuro, con bordes irregulares y con poca esporulación.

El aislamiento 43 con NO_3 presentó colores que iban desde el blanco hasta el morado; las colonias tuvieron bordes regulares y presentaron esporulación abundante. El amonio originó colonias de color blanco o rosado y este último color fué más evidente a pH 8.5; el micelio presentó esporulación y las colonias tuvieron bordes irregulares. En todos los valores de pH empleados, el aislamiento 93, en el medio con NH_4 , tuvo color blanco y presentó

Cuadro 10.7. Efecto de los medios con diferentes fuentes y concentraciones de nitrógeno en la tasa de crecimiento de los aislamientos 3, 43, 90, 93 y C5CSU de *Fusarium oxysporum*.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO No.				
	3 mm/día	43 mm/día	90 mm/día	93 mm/día	C5CSU mm/día
¼ NO ₃	5,1	4,4	5,4	5,4	5,2
½ NO ₂	5,1	4,7	5,6	5,3	5,1
NO ₃	5,5	4,1	5,6	5,4	4,7
2NO ₃	6,0	4,0	5,4	4,9	4,5
¼ NH ₄ -NO ₃	2,6	4,0	2,2	3,3	2,0
½ NH ₄ -NO ₃	0,3	1,8	1,7	1,6	1,3
NH ₄ -NO ₃	0,2	1,5	1,3	1,4	1,0
2NH ₄ -NO ₃	0,3	0,6	0,4	0,3	0,4
¼ NH ₄	3,8	3,2	2,0	3,7	2,6
½ NH ₄	3,3	2,8	1,9	2,8	2,8
NH ₄	1,2	1,9	1,8	2,0	1,7
2 NH ₄	1,6	2,2	2,1	2,4	1,8

Cuadro 10.8. Efecto de los medios con diferentes fuentes y concentraciones de nitrógeno en el número de conidias de los aislamientos 3, 43, 90, 93 y C5CSU de *Fusarium oxysporum*.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO No.				
	3	43	90	93	C5CSU
Conidias / ml x (10 ⁴)					
¼ NO ₃	303	2575	1765	55	73
½ NO ₃	168	492	332	160	47
NO ₃	763	443	18	247	0
2 NO ₃	1.008	369	59	289	4
¼ NH ₄ -NO ₃	4	22	10	28	2
½ NH ₄ -NO ₃	0	23	2	3	5
NH ₄ -NO ₃	1	0	27	2	1
2 NH ₄ -NO ₃	0	0	9	0	0
¼ NH ₄	27	99	29	23	32
½ NH ₄	4	256	6	42	8
NH ₄	0	392	56	83	3
2 NH ₄	0	19	62	3	5

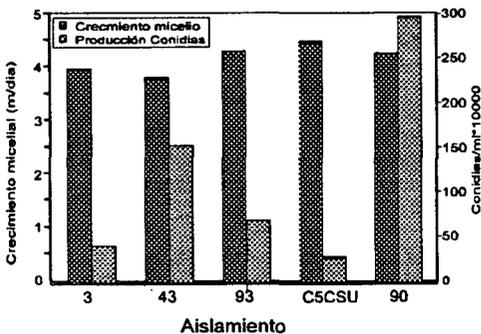


Figura 10.7. Efecto del pH y de la fuente de nitrógeno en el crecimiento del micelio y en la producción de conidias en los diferentes aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

esporulación. En el medio con amonio, las colonias presentaron color rosado y poca esporulación y únicamente, a pH 8,5, se observó crecimiento aéreo del micelio.

El aislamiento C5CSU presentó micelio de color blanco en los medios con nitrato y se desarrolló pegado al medio; las colonias de este aislamiento, en los medios con amonio, presentaron micelio de color blanco a rosado y con crecimiento aéreo.

El aislamiento 90 con nitrato tuvo micelio de color blanco y la colonia presentó por debajo una coloración morada y a pH 6,0, la colonia fué completamente blanca. Con amonio, las colonias fueron de color rosado, con bordes irregulares y poca esporulación.

Cuadro 10.9. Efecto de los medios con diferentes fuentes de nitrógeno y pH en el crecimiento micelial de los aislamientos 3, 43, 90, 93 y C5CSU de *Fusarium oxysporum*.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO No.				
	3 mm/día	43 mm/día	90 mm/día	93 mm/día	C5CSU mm/día
NO ₃ pH 5,0	5,8	4,9	5,6	5,8	5,4
NO ₃ pH 5,5	5,5	4,5	5,6	5,6	5,6
NO ₃ pH 6,0	5,7	4,5	5,2	6,0	5,2
NO ₃ pH 6,5	4,9	4,7	5,3	4,5	5,6
NO ₃ pH 7,0	4,9	4,1	5,3	5,1	5,4
NO ₃ pH 7,5	5,0	4,9	4,4	4,4	5,4
NO ₃ pH 8,0	4,8	5,0	5,4	4,1	4,8
NH ₄ pH 5,5	0,3	1,3	2,3	1,7	3,2
NH ₄ pH 6,5	2,0	2,2	1,5	2,9	2,1
NH ₄ pH 7,5	1,8	2,7	2,0	2,3	1,6
NH ₄ pH 8,5	4,7	3,4	4,3	4,3	5,6

Cuadro 10.10. Producción de conidias de los aislamientos 3, 43, 90, 93 y C5CSU de *Fusarium oxysporum* cultivados en medios con diferentes fuentes de nitrógeno y pH.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO No.				
	3	43	90 Conidias / ml x (10 ⁴)	93	C5CSU
NO ₃ pH 5,0	46,5	311,0	575,5	108,0	18,0
NO ₃ pH 5,5	31,5	317,5	566,0	149,0	21,5
NO ₃ pH 6,0	41,5	178,0	540,0	63,5	26,0
NO ₃ pH 6,5	122,0	145,5	990,0	137,5	31,0
NO ₃ pH 7,0	40,0	65,5	167,0	57,6	29,5
NO ₃ pH 7,5	41,5	103,0	133,0	7,01	9,0
NO ₃ pH 8,0	18,5	201,0	54,01	7,01	5,5
NH ₄ pH 5,5	0,0	3,0	7,5	7,0	0,0
NH ₄ pH 6,5	0,0	12,0	13,5	21,0	7,0
NH ₄ pH 7,5	0,0	54,0	18,0	20,5	7,5
NH ₄ pH 8,5	79,5	209,0	194,0	219,5	28,0

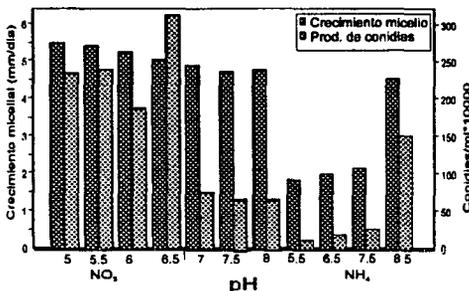


Figura 10.8. Efecto del pH y de la fuente de nitrógeno sobre el crecimiento micelial de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

El crecimiento diario del micelio, debido al efecto de la fuente de nitrógeno y del pH, presentó diferencias estadísticas altamente significativas. Los mayores promedios entre los aislamientos correspondieron a C5CSU, 90 y 93 y el promedio más bajo y diferente, según la prueba de Tukey, se obtuvo en el aislamiento 43. Con relación al número de conidias, el mayor valor se obtuvo en el aislamiento 90 y el menor, en el aislamiento C5CSU (Figura 10.7).

En cuanto al efecto de la fuente de nitrógeno y del pH sobre los aislamientos del hongo, se encontró que los valores más altos de crecimiento de la colonia se obtuvieron con NO₃ a pH 5,0; 5,5 y 6,0 y los menores promedios, con NH₄ a pH 5,5; 6,5 y 7,5. La comparación entre los promedios señaló diferencias estadísticas entre los tratamientos con nitrato a pH 5,0 y 5,5 y los correspondientes a NH₄ con pH de 5,5; 6,5 y 7,5.

La producción de conidias fué mayor con NO_3 a pH 6,5 y el menor promedio se obtuvo en NH_4 a pH 5,5 (Figura 10.8). La tasa de crecimiento de la colonia del aislamiento 3 fué mayor para nitrato a pH 5,0 y el valor más bajo se obtuvo con sal de amonio de pH 5,5. Los tratamientos con NO_3 a pH 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 y 8,0 y con NH_4 a pH 8,0 mostraron a nivel estadístico, promedios iguales, pero diferentes a los correspondientes a NH_4 y pH 5,5; 6,5 y 7,5. Para este aislamiento el mayor número de conidias se obtuvo con NO_3 a pH 6,5 y el menor correspondió a NH_4 de pH 5,5; 6,5 y 7,5 (Cuadros 10.9 y 10.10).

El aislamiento 43 mostró pocas diferencias en el crecimiento de la colonia; el mayor valor se obtuvo con NO_3 a pH 8,0, promedio que fué igual a los correspondientes a NO_3 pH 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 y 8,0 y a NH_4 a pH 8,5. El más bajo crecimiento se obtuvo con NH_4 a pH 5,5. La producción de conidias fué mayor con NO_3 a pH 5,0 y 5,5 y menor, con NH_4 a pH 5,5 (Cuadros 10.9 y 10.10).

El aislamiento 93 creció más en el medio con NO_3 y pH 6,0 y los mayores promedios de conidias correspondieron a NO_3 y pH 5,5 y 6,5; el menor crecimiento del micelio y el más bajo promedio de conidias correspondieron al tratamiento con NH_4 y pH 5,5 (Cuadros 10.9 y 10.10).

El aislamiento no patogénico C5CSU presentó una mayor tasa de crecimiento micelial en los medios con NO_3 a pH 5,5; 6,5 y NH_4 a pH 8,5. Las conidias fueron más abundantes con NO_3 a pH 6,5.

Para el aislamiento 90, la tasa de crecimiento micelial alcanzó valores más altos en los tratamientos con NO_3 a pH 5,0 y 5,5 y el correspondiente valor en conidias fué para el medio con NO_3 a pH 6,5. En los tratamientos con NH_4 a pH 5,5 y 5,0 fueron, respectivamente, los de menor producción de conidias y más bajo crecimiento micelial (Cuadros 10.9 y 10.10).

DISCUSION

La mayor efectividad del tratamiento del suelo con vapor + Dazomet, en comparación con la mezcla de los fumigantes Dazomet + formol, expresada en un menor número de plantas enfermas, una mayor producción de flores y una menor población del hongo en el suelo coinciden con lo observado anteriormente en Colombia por Guzmán y León (1985), Molina y González (1987), Arbeláez (1987) y Parra (1988).

El menor número de plantas enfermas y la mayor producción de flores en la variedad Scania, en respuesta al tratamiento del suelo y a los diferentes niveles de potasio y nitrógeno aplicados en el Expe-

rimento 1, muestran que la constitución genética característica de cada variedad incide en su comportamiento frente al patógeno y en la producción. La mayor resistencia de la variedad Scania a la enfermedad, en comparación con la variedad Petterson coincide con observaciones realizadas por los autores en cultivos comerciales en Colombia y por Baker (1979, 1980) en los Estados Unidos.

La mayor incidencia de la enfermedad con los tratamientos en dosis altas de nitrógeno coincide con lo observado por Gaziorkiewicz (1960) y la mayor mortalidad de plantas cuando se aplicó nitrógeno amoniacal, en comparación con aplicaciones de nitratos, coincide con lo observado en clavel por Engelhard (1979) y, en otros cultivos afectados por diversas formas especiales de *Fusarium oxysporum* (Engelhard y Woltz, 1973; Woltz y Jones, 1973; Raju, 1983). Dichos resultados no coinciden con lo observado por Pergola *et al* (1979) en Italia, en donde la mayor incidencia de la enfermedad en clavel se obtuvo con nitratos y una menor incidencia con amonio.

La mejor respuesta a las dosis bajas de potasio y la menor incidencia de la enfermedad no coincide con lo mencionado en la literatura por Dick y Tisdale (1938), Garret (1977) y Huber (1981); ésto se puede deber al contenido de potasio en los suelos en donde se realizó el experimento.

La reducción encontrada en la población del patógeno en el suelo después de la aplicación de vapor + Dazomet y de Dazomet + formol coincide con lo encontrado por Molina y González (1987), Parra (1988) y Baker (1988). Sin embargo, aunque ocurrió una reducción apreciable del patógeno en el suelo, esta reducción no fué suficiente y la población del patógeno y la infección de las plantas fué aumentando progresivamente, de manera similar a lo encontrado por Baker (1980) y Arbeláez (1987).

La mayor población del hongo en el suelo en aquellas parcelas en donde se aplicó la dosis más alta de fertilizante amoniacal, parece ser consecuencia del efecto que ejercen estas sales en el pH, el cual disminuye más con fertilizantes amoniacales que con nitratos (Baker y Cook, 1974; Pergola *et al*, 1979). Además se debe tener en cuenta que, según Woltz y Jones (1981), el patógeno cultivado sobre amonio es más virulento que cuando se cultiva en un medio con nitratos.

Es importante destacar que, con la aplicación al suelo de vapor + Dazomet para el tratamiento K1N2, se presentó la menor población del hongo en el suelo, el menor promedio de plantas enfermas y la mayor producción de flores.

En relación con el efecto de los nutrientes en el medio de cultivo sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se tiene muy poca información. En este ensayo, se observó que las dosis y las fuentes de nitrógeno originaron cambios en el metabolismo del hongo, los cuales se manifestaron en la síntesis de diferentes pigmentos y en variaciones en la tasa de crecimiento.

A medida que, en el medio se incrementaron las dosis de sales nitrogenadas disminuyó la tasa de crecimiento de las colonias, posiblemente, como consecuencia de la acumulación de iones amonio, nitrato y nitrato hasta niveles tóxicos, tal como lo señala Gupta (1986) para el efecto nocivo de la aplicación de fertilizantes nitrogenados al suelo sobre *Fusarium* spp.

En general, se evidenció que existen diferencias entre los aislamientos con relación a la coloración del micelio, la forma y el tamaño de las colonias y el número de estructuras reproductivas, lo cual permite señalar que, por lo menos, a nivel fisiológico existen diferencias entre ellos.

La fuente de nitrógeno influyó sobre el metabolismo del patógeno; los medios de cultivo con nitratos permitieron un buen desarrollo del hongo y los que contenían amonio inhibieron el crecimiento, pero el efecto inhibitorio fué aún mayor cuando el medio fué suplementado con nitrato de amonio. La respuesta a las dos últimas fuentes de nitrógeno, probablemente, fué generada por procesos de nitrificación que conducen a la síntesis de nitritos (Lofler *et al*, 1986).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este experimento, es necesario profundizar sobre el efecto que tiene la relación nitrato-amonio en el suelo sobre el comportamiento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

Las variaciones en el pH y en la fuente de nitrógeno indujeron cambios fisiológicos en *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, los cuales se hicieron evidentes en la coloración, forma y tasa de crecimiento de las colonias. Como en el ensayo anterior, se observaron respuestas diferentes entre los distintos aislamientos del patógeno.

La tasa de crecimiento y la producción de conidias *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, en medios suplementados con nitratos, fueron mayores a pH ácido. En general, la información sobre el patógeno señala que la infección es favorecida por condiciones de acidez en los suelos (Bell, 1982). Es necesario tener en cuenta que los resultados obte-

nidos no pueden extrapolarse directamente de lo que ocurre con el hongo en el suelo, donde existen variables que afectan, de manera compleja, las relaciones planta-patógeno.

BIBLIOGRAFIA

1. Arbeláez, G. Control of *Fusarium oxysporum* and *Phialophora cinerescens* on carnation by combined soil treatment and application of antagonists. *Acta Horticulturae* 216: 77-84. 1987.
2. Arbeláez, G. Enfermedades vasculares del clavel en Colombia: aspectos históricos y situación actual. Primer Curso Internacional sobre enfermedades vasculares del clavel. Asocoflores. Bogotá, Noviembre 8-11. 1988.
3. Baker, K.J. and R.J. Cook. Biological control of plant pathogens. W.H. Freeman and Co. San Francisco. 1984.
4. Baker, R. Control of vascular wilt diseases of carnation: resistance. *Colorado Flower Grower Bulletin* 353: 1-2. 1979.
5. Baker, R. Measures to control *Fusarium* and *Phialophora* wilt pathogens of carnation. *Plant Disease* 64: 743-749. 1980.
6. Baker, R. Cost of eradication of vascular pathogens from soil and compensation of costs by induction of increased flowering. Primer Curso Internacional de patógenos vasculares del clavel. Asocoflores. Bogotá. Noviembre 8-11, 1988.
7. Bell, A.A. Plant pest interaction with environmental stress and breeding for pest resistance: plant diseases. p. 335-363. *In* M.N. Christiansen and C.F. Lewis (Eds.). *Breeding plants for less favorable environments*. John Wiley & Sons. New York. 1982.
8. Boning, K. Relations between nutrition and susceptibility to parasitic and non parasitic diseases in plants. *Plant Research and Development* 4: 24-33. 1976.
9. Cevallos, J.F. y D. González. Determinación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel (*Dianthus caryophyllus*) en la Sabana de Bogotá. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1989.
10. Dick, J.B. and H.B. Tisdale. Fertilizers in relation to incidence of wilt as affecting a resistant and a susceptible variety. (Abstr.) *Phytopathology* 28: 666-667. 1938.
11. Engelhard, A.W. Control of *Fusarium* wilt of carnation with an integrated (NO³)-N and systemic fungicide

- control program. (Abstr.) *Phytopathology* 69: 1027. 1979.
12. Engelhard, A.W. Historical highlights and prospects for the future. p. 9-17. In A. W. Engelhard (Ed.). *Soilborne plant pathogens: management of diseases with macro- and microelements*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 1989.
 13. Engelhard, A.W. and S.S. Woltz. *Fusarium* wilt of chrysanthemum: complete control of symptoms with an integrated fungicide-lime-nitrogen regime. *Phytopathology* 63: 1256-1259. 1973.
 14. Garibaldi, A. and M.L. Gullino. *Fusarium* wilt of carnation: present situation, problems and perspectives. *Acta Horticulturae* 216: 45-54. 1987.
 15. Garret, S.D. *Pathogenic root infecting fungi*. Cambridge University Press. Cambridge. 1977.
 16. Gasiorkiewicz, E.C. Influence of nitrogen and potassium levels on the development of *Fusarium* systemic wilt of carnation. *Phytopathology* 50: 636. 1960.
 17. Gupta, M.C. Population dynamics of *Fusarium* species in soil amended with carbonaceous and nitrogenous materials. *Indian Phytopathol.* 39: 253-258. 1986.
 18. Guzmán, S. y J. Leon. Control de la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens* en el cultivo del clavel. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1985.
 19. Huber, D.M. The role of mineral nutrition in defense. p. 381-406. In J.G. Horsfall and E.B. Cowling. *Plant Disease. An advanced treatise*. Vol. V. How plants defend themselves. Academic Press. New York. 1980.
 20. Huber, D.M. The use of fertilizers and organic amendments in the control of plant disease. p. 357-394. In D. Pimentel (Ed.). *CRC Handbook of pest managements in agriculture*. Vol. 1. CRC Press. Boca Raton, Florida. 1981.
 21. Huber, D.M. Introduction. p. 1-8. In A.W. Engelhard (Ed.) *Soilborne plant pathogens: management of diseases with macro- and microelements*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 1989.
 22. Jarvis, W. and H.J. Thorpe. Effects of nitrate and ammonium on severity of *Fusarium* root and root rot and on yield of greenhouse tomatoes. *Plant Disease* 64: 309-310. 1980.
 23. Jones, J.P., A.W. Engelhard and S.S. Woltz. Management of *Fusarium* wilt of vegetables and ornamentals by macro- and microelement nutrition. p. 18-32. In A.W. Engelhard (Ed.). *Soilborne plant pathogens: management of diseases with macro- and microelements*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 1989.
 24. Komada, H. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant Protect. Res.* 8: 114-125. 1975.
 25. Löffler, H.J.M., E.B. Cohen, G.T. Oolbekkink and B. Schippers. Nitrite as a factor in the decline of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in soil supplemented with urea or ammonium chloride. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 92: 153- 162. 1986.
 26. Molina, J.C. y M. González. Control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en el cultivo del clavel (*Dianthus caryophyllus*) mediante el tratamiento al suelo y aplicación de antagonistas. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1987.
 27. Palti, J. *Cultural practices and infectious crop diseases*. Springer-Verlag. Berlin. 1981.
 28. Parra, J. Efecto de la combinación de algunos tratamientos físicos y químicos sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel en la Sabana de Bogotá. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1988.
 29. Pergola, G., C. Dalla Guda and A. Garibaldi. *Fusarium* wilt of carnation: Effect of pH and nitrogen source on disease development. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* 44: 413-420. 1979.
 30. Raju, B.C. *Fusarium* wilt of mums. *Acta Horticulturae* 152: 414-421. 1983.
 31. Rattink, H. New developments in research on *Fusarium* wilt in carnation: State of the art and prospects for the future. Primer Curso Internacional sobre enfermedades vasculares del clavel. Asocoflores. Bogotá, 8-11 Noviembre. 1988.
 32. Stack, R.W., R.K. Horst and R.W. Langhams. Effects of nitrogen and potassium fertilization on infection florist's carnation by *Gibberella zeae*. *Plant Disease* 70: 29-31. 1986.
 33. Stoddard, D.L. Nitrogen, potassium and calcium in relation to *Fusarium* wilt of muskmelon. *Phytopathology* 37: 875-884. 1947.
 34. Walker, J.C. and W.J. Hooker. Plant nutrition in relation to disease development. I. Cabbage yellows. *American Journal of Botany* 32: 314-320. 1945.
 35. Walker, J.C. and R.E. Foster. Plant nutrition in relation to disease development. III. *Fusarium* wilt of tomato. *American Journal of Botany* 33: 259-264. 1946.
 36. Woltz, S.S. and J.P. Jones. Interactions in source of nitrogen fertilizer and liming procedure in the control of *Fusarium* wilt of tomato. *HortScience* 8: 137-138. 1973.
 37. Woltz, S.S. and J.P. Jones. Nutritional requirements of *Fusarium oxysporum*: basis for a disease control system. p. 340-349. In P.E. Nelson, T.A. Toussoun and R.J. Cook (Eds.). *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. Pennsylvania State University Press. University Park and London. 1981.