

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

JOSE FRANCISCO CEVALLOS¹, DARIO GONZALEZ¹ Y GERMAN ARBELAEZ²

Resumen. El marchitamiento vascular del clavel ocasionado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* es la enfermedad más limitante en el cultivo del clavel en la Sabana de Bogotá. Aunque el uso de variedades resistentes es un método promisorio y económico para el manejo de la enfermedad, algunas variedades no se comportan de una manera similar en su resistencia en diferentes fincas, y hay evidencias de la variabilidad del patógeno. El objetivo del trabajo fue determinar las posibles razas fisiológicas del hongo en la Sabana de Bogotá. Cien aislamientos del patógeno se obtuvieron en 49 fincas de plantas de clavel estándar, ecotipos "americano" y "mediterráneo", y de clavel miniatura afectadas por la enfermedad y ubicadas en diferentes áreas. Los aislamientos del hongo se inocularon en las variedades diferenciales Duca, Pink Calypso, Raggio di Sole y San Remo. Noventa y siete de los cien aislamientos probados correspondieron a la raza 2, que es la raza más frecuente en el mundo y los otros tres aislamientos correspondieron a la raza 4, que es prevalente en Italia.

DETERMINATION OF PHYSIOLOGICAL RACES OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* IN CARNATION IN THE SAVANA OF BOGOTÁ

Summary. Vascular wilt caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* is the most important disease on carnation in Colombia. Although the use of resistant

varieties is an economical and promising method for the management of the disease, some varieties do not behave in a similar way in different farms, and there are evidences of the variability of the pathogen. The objective of this research was to determine the presence of physiological races of the pathogen in the Bogota Plateau. One hundred isolates of the pathogen were obtained in 49 farms from different varieties of standar and miniature carnation affected by the disease. The isolates of the fungus were inoculated in four differential varieties: Duca, Pink Calypso, Raggio di Sole and San Remo. Ninety seven isolates corresponded to the race 2, that is the most frequent race in the world and the other three isolates belong to the race 4, that is a race prevalent in Italy.

INTRODUCCION

El cultivo de flores para exportación es una industria de desarrollo reciente en Colombia y que ha tenido un incremento notable en los últimos veinte años.

El clavel es el cultivo más importante y para el año 1988 el valor de las exportaciones fue de 82.2 millones de dólares para el clavel estándar y de 12.6 millones de dólares para el clavel miniatura, lo que representó el 46.3% del valor total de las exportaciones de flores colombianas (Asocoflores, 1989).

El marchitamiento vascular causado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill. et Delacr.) Snyder et Hansen, es actualmente la enfermedad más limitante del cultivo del clavel en Colombia. Esto se debe especialmente a la importación de material de propagación infectado, a la diseminación rápida del patógeno por diversos medios, a su alta persistencia en el suelo y al alto costo

¹ Biólogo, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 35785, Bogotá.

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

y baja eficiencia de las medidas de control utilizadas (Arbeláez, 1987).

Desde hace varios años diversos investigadores han evidenciado la variabilidad patogénica y la existencia de razas fisiológicas del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en Italia (Garibaldi, 1975; Garibaldi, 1977), Francia (Tramier et al, 1983), España (Cebolla et al, 1979), Reino Unido (Matthews, 1978) y Estados Unidos (Hood y Stewart, 1957).

No obstante la importancia de la enfermedad, en Colombia no se había realizado ningún trabajo sobre la variabilidad del patógeno, aunque se habían hecho observaciones que mostraban alguna respuesta diferencial al patógeno, según la variedad de clavel sembrada y según el origen del material de propagación. La determinación de las razas fisiológicas existentes en el país es de gran importancia para entender el comportamiento de las variedades frente al patógeno y para la obtención de materiales resistentes, aspecto que toma cada vez más importancia como uno de los métodos más económicos y eficientes en el manejo de la enfermedad.

El objetivo del trabajo fue el estudio de la variabilidad morfológica y patogénica de cien aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* obtenidos de diferentes variedades de clavel estándar y miniatura recolectados en distintas empresas de la Sabana de Bogotá.

MATERIALES Y METODOS

Durante los meses de Febrero y Marzo de 1988 se tomaron muestras de material afectado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en 49 fincas que cultivaban clavel estándar de los ecotipos "americano" y "mediterráneo" y clavel miniatura; estas fincas estaban ubicadas en diferentes municipios de la Sabana de Bogotá y 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 se realizaron siembras de trozos de tallos afectados previamente desinfectados durante un minuto en hipoclorito de sodio al 1%, etanol del 70% y enjuagados dos veces en agua destilada estéril; los trozos se colocaron en cajas de

Petri con el medio Papa-dextrosa-agar y se incubaron a 20°C.

Los aislamientos se identificaron de acuerdo a las características de las colonias y de las esporas según Booth (1971).

De los 220 aislamientos del hongo obtenidos, se seleccionaron cien de acuerdo a la variedad de clavel y a la finca, para que fueran bien representativos.

La identificación de las razas fisiológicas de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* se hizo mediante pruebas de patogenicidad en las variedades diferenciales Duca, Pink Calypso, Raggio di Sole y San Remo, de acuerdo a la metodología propuesta por Garibaldi (Cuadro 1).

Las pruebas de patogenicidad se hicieron mediante la inoculación de cada aislamiento del hongo en 10 plantas 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 aislamiento del patógeno.

Los esquejes de clavel enraizados se sembraron en forma individual en bolsas de polietileno negro de 1 kg de capacidad que contenían suelo pasterizado a 82°C durante una hora.

El inóculo del patógeno se preparó mediante la siembra de tres trozos de micelio en erlenmeyers de 125 ml con 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 se hizo inmediatamente antes de la siembra mediante la inmersión de las raíces de los esquejes durante 15 segundos en una suspensión que contenía un millón de conidias por mililitro.

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

La respuesta de las plantas de clavel a los

diferentes aislamientos del patógeno se hizo utilizando una escala de 0 a 4 y se realizaron observaciones cada siete días durante 18 semanas. Las razas fisiológicas del patógeno se determinaron de acuerdo a la reacción de resistencia o susceptibilidad de las 4 variedades diferenciales utilizadas por Garibaldi (Información personal) (Cuadro 1).

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

VARIEDAD	RAZAS FISIOLÓGICAS			
	1	2	3	4
Duca	R	R	R	R
Pink Calypso	R	S	S	R
Raggio di Sole	R	S	R	R
San Remo	S	S	S	S

R - Resistente S - Susceptible

RESULTADOS Y DISCUSION

Los cien aislamientos obtenidos de variedades de clavel estándar de los ecotipos "americano" y "mediterráneo", y de clavel miniatura afectados por el marchitamiento vascular se identificaron como *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* mediante las características de las microconidias, las macroconidias y las clamidosporas.

Alguna variabilidad se observó entre los aislamientos del hongo en la tasa de crecimiento del micelio, la pigmentación de la colonia y la producción de esporas.

El medio de cultivo líquido Caseína hidrolizada fue muy eficiente para la producción de esporas y según los aislamientos se produjeron entre 29 y 129 millones de conidias por mililitro. De acuerdo con la respuesta patológica de los cien aislamientos de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en las variedades diferenciales, se determinó la presencia de las razas fisiológicas 2 y 4 del patógeno en la Sabana de Bogotá.

Noventa y siete de los cien aislamientos inoculados correspondieron a la raza 2; dichos aislamientos se obtuvieron de variedades de los ecotipos "americano" y "mediterráneo" de clavel estándar y de variedades de clavel miniatura (Figura 1).

Tres aislamientos del patógeno correspon-

dieron a la raza fisiológica 4 y provinieron de tres variedades del ecotipo "mediterráneo" de clavel estándar (Figura 2).

La mayor frecuencia de la raza 2 encontrada en Colombia, es similar a lo que ocurre en otras áreas del mundo dedicadas al cultivo del clavel como Italia, Holanda, Francia, España, Reino Unido y Estados Unidos (Baayen, 1988; Cebolla et al, 1979; Garibaldi, 1975; Hood y Stewart, 1957; Matthews, 1978; Tramier et al, 1983). Esto se atribuye a la importación masiva de esquejes de clavel de diferentes empresas de esos países, que en ocasiones se encuentran infectados por el patógeno.

La menor frecuencia de la raza 4 se debe posiblemente al poco material de propagación importado de Italia, país en donde esta raza fisiológica es prevalente (Baayen et al, 1988; Garibaldi, 1977; Schiva et al, 1982).

Los noventa y siete aislamientos de la raza 2 y los tres aislamientos de la raza 4 presentaron muy poca variabilidad patogénica entre sí y las variedades diferenciales mostraron un comportamiento bastante homogéneo frente al patógeno, tanto en el invernadero de vidrio como en el invernadero con cubierta plástica. Sin embargo el desarrollo de la enfermedad fue más rápido en el invernadero de vidrio, debido a la temperatura más alta prevalente en dicho invernadero (Figuras 3 y 4). Esto es similar a lo encontrado por Harling et al (1988) y por Hood y Stewart (1957). De esta manera es posible obtener resultados en menor tiempo en trabajos similares.

Los resultados del trabajo permitieron concluir que:

- Los cien aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* obtenidos de variedades de clavel estándar y miniatura presentaron alguna variabilidad principalmente en la pigmentación de la colonia y en la producción de conidias.

- El medio de cultivo líquido Caseína hidrolizada en agitación fue muy eficiente para la producción de conidias del hongo.

- La raza 2 del patógeno fue la más frecuente en los cultivos de clavel de la Sabana de Bogotá y correspondió al 97% de los aislamientos inoculados.

- La raza 4 del patógeno fue poco frecuente y correspondió al 3% de los aislamientos inoculados.

Invernadero de vidrio

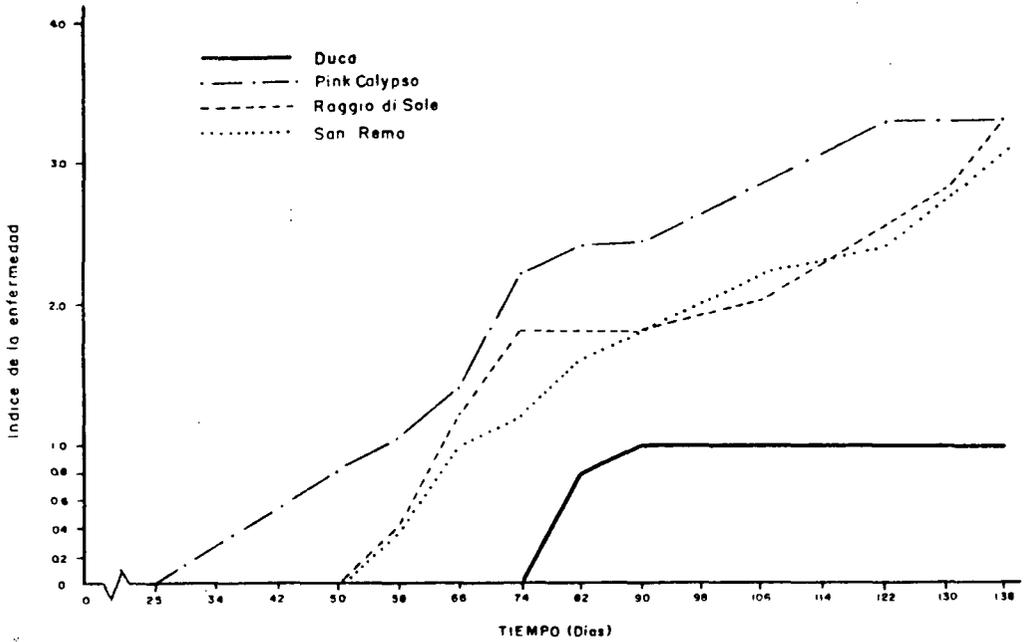


Figura 1. Respuesta de 4 variedades diferenciales de clavel al aislamiento 43 de la raza 2 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Invernadero de vidrio

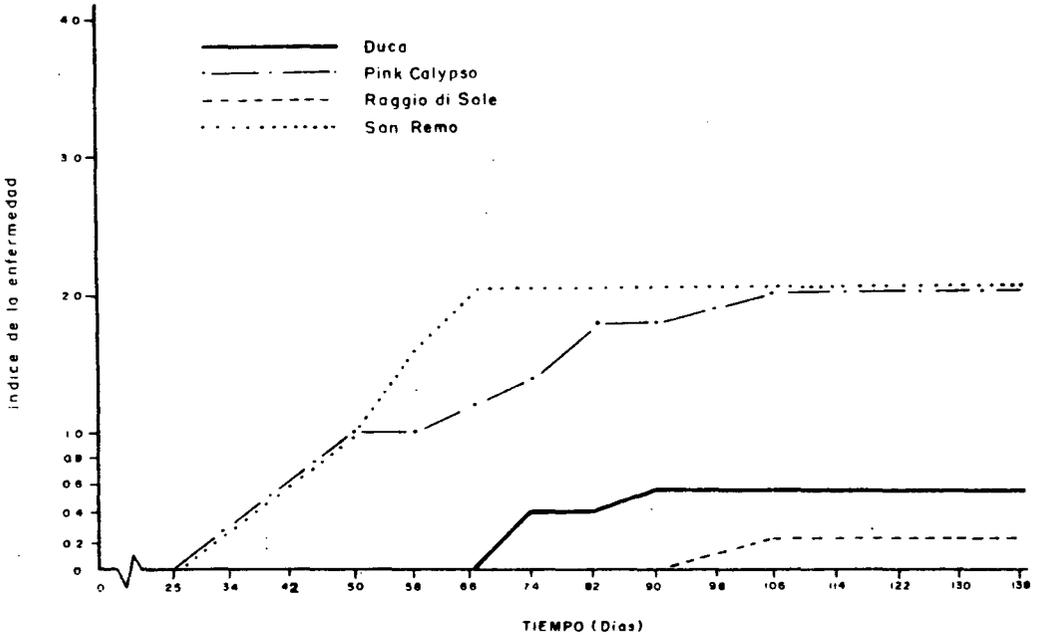
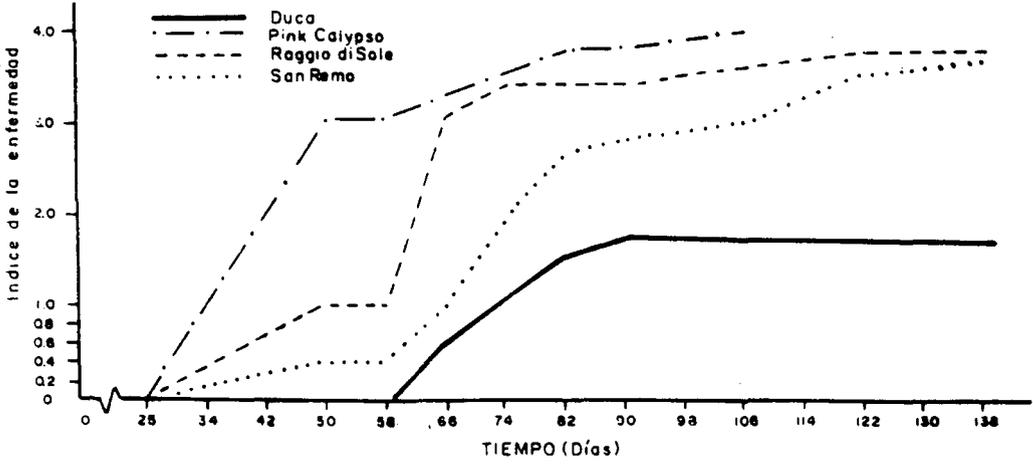


Figura 2. Respuesta de 4 variedades diferenciales de clavel al aislamiento 4 de la raza 4 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Invernadero de vidrio



Invernadero plástico

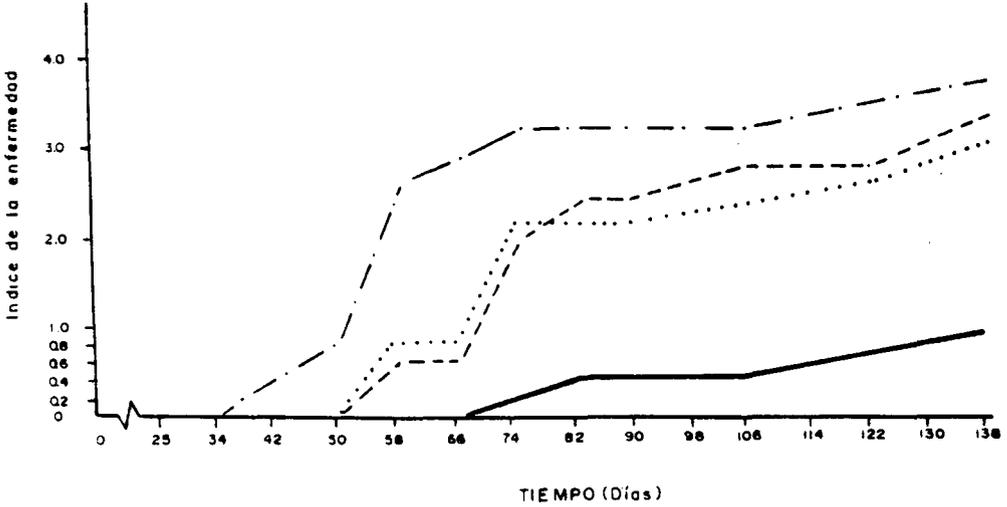


Figura 3. Respuesta de 4 variedades diferenciales de clavel al aislamiento 18 de la raza 2 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en los 2 invernaderos.

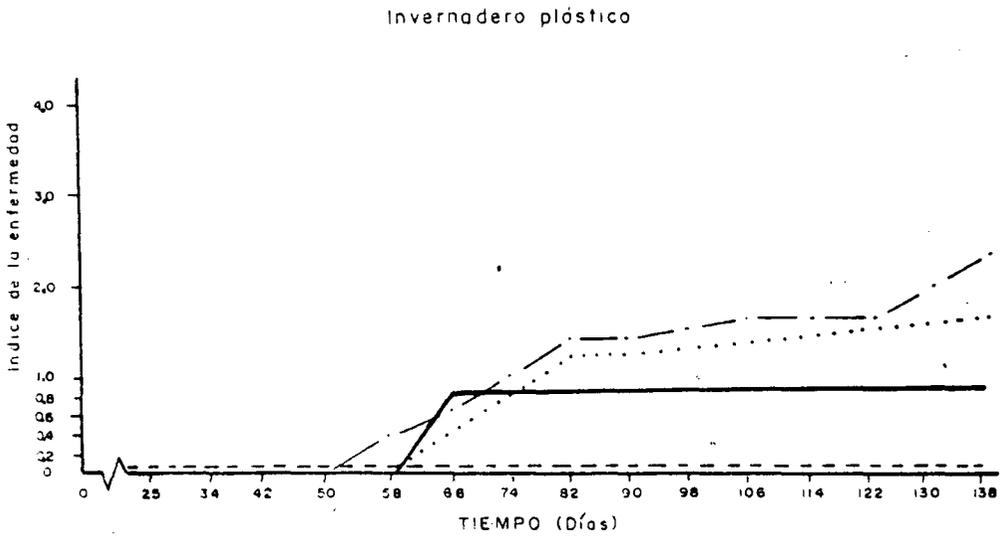
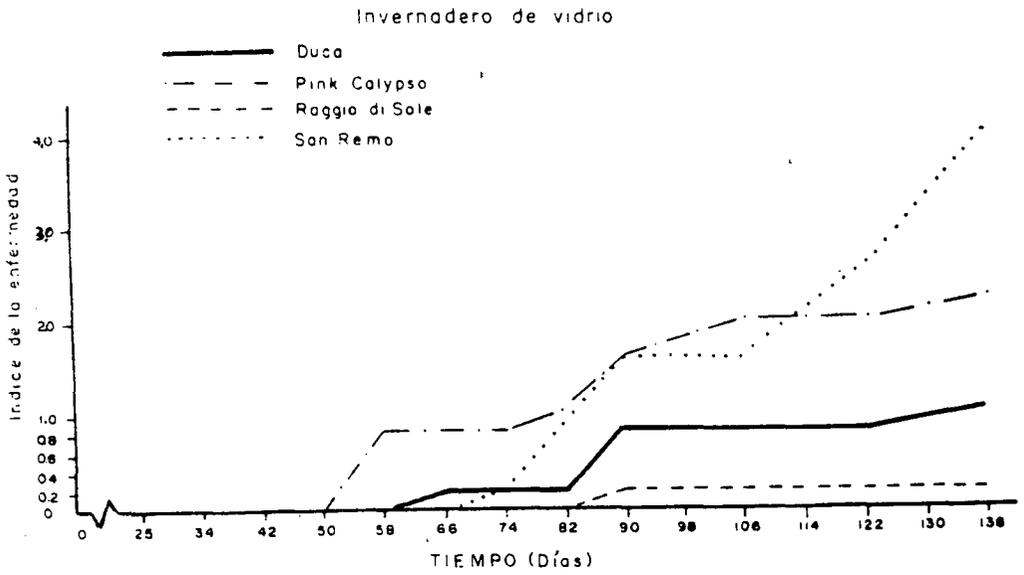


Figura 4. Respuesta de 4 variedades diferenciales de clavel al aislamiento 93 de la raza 4 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en los 2 invernaderos.

• Los cien aislamientos del patógeno pertenecientes a las razas 2 y 4 presentaron un comportamiento muy homogéneo y poca variabilidad patogénica en las cuatro variedades de clavel inoculadas.

• El desarrollo de la enfermedad en las variedades diferenciales fue más rápido en el invernadero de vidrio debido a la mayor temperatura imperante. Por lo tanto bajo tales condiciones ambientales se pueden obtener resultados en menor tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a Asocolflores y Proexpo por la ayuda económica, al doctor Angelo Garibaldi por algunas recomendaciones en la metodología del trabajo, a las empresas Dianthicola Colombiana, Suata Plants y Jardines de Los Andes por el suministro de algunos materiales para el trabajo, a Martha Pizano, Leonardo Salviatti, José Guillermo Daza, Camilo Herrera, Ignacio Gómez, Fernando Jaramillo por su apoyo y a todas las empresas y técnicos que permitieron la toma de muestras del material enfermo.

LITERATURA CITADA

1. Arbeláez, G. 1987. Enfermedades fungosas y bacteriales del clavel en Colombia. *Agronomía Colombiana* 4: 3-8.
2. Asocolflores. 1989. Informe estadístico. *Revista Asocolflores* 18: 66-76.
3. Baayen, R.P. 1988. *Fusarium* wilt of carnation. Disease development, resistance mechanism of the host and taxonomy of the pathogen. Ph. D. Thesis. University of Utrecht.
4. Baayen, R.P., D.M. Elgersma, J.E. Demmink y L.D. Sparnaaij. 1988. Differences in pathogenesis observed among susceptible interactions of carnation with four races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 94: 81-94.
5. Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.
6. Cebolla, V., Monton, C., Carrasco, P. y Rodríguez, A. 1979. La importancia de las razas 1 y 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en los suelos españoles. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Cabrils, Barcelona. 4 pp..
7. Demmink, J.F., Baayen, R.P. y Sparnaaij, L.D. 1988. Evaluation of the virulence of races 1, 2, and 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in carnation. *Euphytica* 38: 115-122.
8. Garibaldi, A. 1975. Race differentiation in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill, et Del.) Snyd. et Hansen. *Med. Fac. Landboww. Rijksuniv. Gent*, 40: 531-537.
9. Garibaldi, A. 1977. Race differentiation in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* and varietal susceptibility. *Acta Horticulturae* 71: 97-101.
10. Garibaldi, A. 1983. Resistenza di cultivar di garofano nei confronti di otto patotipi di *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill, et Del.) Snyd. et Hans. *Riv. Ortoflorofruitt. Ital.* 67: 261-270.
11. Harling, R., Taylor, G.S., Matthews, P. y Arthur, A.E. 1988. The effect of temperature on symptom expression and colonization in resistant and susceptible carnation cultivars infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *J. Phytopathology* 121: 103-117.
12. Hood, J.R. y Stewart, R.N. 1957. Factors affecting symptom expression in *Fusarium* wilt of *Dianthus*. *Phytopathology* 47: 173-178.
13. Matthews, P. 1978. Variation in english isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Proceedings of the Eucarpia Meeting on carnation and gerbera*. Allasio. p. 115-126.
14. Schiva, T., Dalla Guida, C., Daquilla, F., Bianchini, C. y Garibaldi, A. 1982. Garofano selezioni per la resistenza a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Ann. Ist. Sper. Flor.* 13 (1): 1-17.
15. Tramier, R., Antonini, C., Bettacchini, A. y Metay C. 1983. Studies on *Fusarium* wilt resistance in carnation. *Acta Horticulturae* 141: 49-54.