

LA COMPATIBILIDAD VEGETATIVA: UN METODO PARA DIFERENCIAR RAZAS FISIOLÓGICAS Y FORMAS ESPECIALES DE *Fusarium oxysporum* Schlecht

Martha Lucia Posada Buitrago¹
Martha Orozco de Amézquita²

RESUMEN

La compatibilidad vegetativa fue estudiada en 15 aislamientos de *Fusarium oxysporum*, nueve procedentes de suelos de la Sabana de Bogotá (Colombia) y los seis restantes pertenecientes a razas extranjeras. Para el análisis de compatibilidad vegetativa de aislamientos del patógeno, se utilizaron las pruebas de complementación entre mutantes nit, obtenidos en medio mínimo con clorato de potasio. Se identificaron seis grupos de compatibilidad vegetativa (VCG). El VCG1 se conformó con todos los aislamientos colombianos de la raza 2 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, el aislamiento 103 (de baja patogenicidad), el aislamiento de la raza 2 Italia y el 618-9 (de mediana patogenicidad). Los aislamientos 3 y 4 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* raza 4 Colombia y el C5CSU (de baja patogenicidad) formaron el VCG2. Los aislamientos extranjeros de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* raza 1 y raza 8 Italia, el C14CSU y el colombiano 71 conformaron, cada uno, su propio grupo.

SUMMARY

Vegetative compatibility was studied in 15 isolates of *Fusarium oxysporum*, nine coming from soils of the Sabana de Bogotá (Colombia) and the other six were from foreign strains, based on the complementation tests between nit mutants obtained on minimal medium containing pota-

sium chlorate. Six vegetative compatibility groups were identified. VCG1 gathered together all colombian isolates from *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* strain 2, the isolate 103 (low pathogenicity), and foreign isolates R2 Italy (strain 2) and the isolate 618-9 (medium pathogenicity). The isolates 3 and 4 from colombian strain 4 *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* and the foreign isolate C5CSU formed the VCG2. The colombian isolate 71, and the foreign isolates R1 Italy (strain 1), R8 Italy (strain 8) and the non pathogenic isolate C14CSU formed each one its own vegetative compatibility group.

INTRODUCCION

En Colombia, la producción de flores para exportación se inició en los años sesenta y, actualmente, la floricultura es uno de los renglones más importantes, dentro de las exportaciones agropecuarias. El éxito de esta industria radica en la ventajosa situación geográfica de las zonas productoras, la economía en la construcción de invernaderos que no requieren sistemas reguladores de temperatura, el bajo costo de la mano de obra y la excelente calidad de sus productos (Arbeláez, 1987).

El clavel es la flor colombiana más apetecida en los mercados internacionales. Según Asocoflores (1994), las ventas de clavel colombiano, en 1993, representaron el 35,3% del valor total de las flores exportadas en este año, porcentaje equivalente a 134,9 millones de dolares.

Al igual que ocurre con el cultivo de otras especies, la producción de clavel se ha visto afectada por problemas fitosanitarios que inciden directa-

1 Bióloga, Centro Internacional de Física, Universidad Nacional de Colombia, Edificio Manuel Ancizar, Of. 2047, Santafé de Bogotá, D.E.

2 Profesora Asociada, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, A. A. 23227,

mente en la calidad del producto (Arbeláez, 1989) y aumentan los costos de producción.

La enfermedad de mayor incidencia en cultivos de clavel en la Sabana de Bogotá es causada por el hongo *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, el cual se propaga fácilmente a través de los esquejes infectados y tiene una alta permanencia en el suelo.

Históricamente, *F. oxysporum* ha sido dividido en formas especiales con base en la virulencia sobre un hospedero particular o un grupo de hospederos. A su vez, estas formas especiales han sido subdivididas en razas con base en la virulencia sobre un grupo particular de cultivares diferenciales del hospedero que varían en la resistencia a la enfermedad (Correll, 1991).

Los resultados de las pruebas de patogenicidad han sido el único criterio para diferenciar las poblaciones de *F. oxysporum*, pero la multitud de variables que afectan estos resultados han conducido a confusiones en la caracterización de varias formas especiales y razas. Estas variables pueden ser temperatura, método de prueba, concentración del inóculo, medio para el crecimiento de la planta hospedera, variación genética del hongo y el "stress" hídrico (Bosland, 1988).

Además, estudios posteriores han revelado un amplio rango de variabilidad en las características empleadas para la clasificación, inclusive entre los subcultivos de un mismo cultivo monosporico de especies de *Fusarium* (Snyder y Hansen, 1940, 1941).

Debido a que los miembros del género *Fusarium* varían ampliamente en características morfológicas y fisiológicas, incluyendo la virulencia, existen problemas para su identificación. Por lo tanto, los taxa del género basados en la morfología, como la sección, la especie y la variedad son reconocidos por el "International Code of Botanical Nomenclature" (ICBN); sin embargo, las subdivisiones dentro de las especies de *Fusarium* basadas en la fisiología (formas especiales y razas) y en la genética (grupos de compatibilidad vegetativa) no son reconocidos por el ICBN (Windels, 1991). Del hongo *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* se señala que presenta ocho razas pato-

génicas, de las cuales dos están distribuidas en todo el mundo (Baayen *et al.*, 1988).

Debido a que falta información sobre la sistemática del hongo, se han venido desarrollando diferentes técnicas y métodos para su estudio, siendo de gran importancia la compatibilidad vegetativa, la cual fue introducida por Puhalla para demostrar las relaciones entre diferentes formas especiales del patógeno. Por este método, la habilidad de dos aislamientos para anastomosarse y formar heterocariones indica que ellos son compatibles vegetativamente (Puhalla, 1984, 1985; Katan y Katan, 1988).

La compatibilidad vegetativa parece ser el resultado de la complementación entre los diferentes núcleos presentes en los heterocariones, los cuales se forman dentro de un citoplasma con dos núcleos funcionales provenientes de las células parentales (Darnell *et al.*, 1988); los heterocariones se originan por fusión hifal (anastomosis) entre aislamientos auxotróficos relacionados (Puhalla, 1984, 1985; Correll *et al.*, 1986; Baayen, 1988).

En muchos hongos, la compatibilidad vegetativa es mediada por múltiples loci de incompatibilidad vegetativa. En la mayoría de los casos, la compatibilidad es homogénea, es decir, dos aislamientos fúngicos son compatibles vegetativamente, sólo, si los alelos de cada uno de sus loci *vic* correspondientes son idénticos. En los hongos que se reproducen asexualmente, las razas compatibles vegetativamente parecen ser más similares genéticamente que las incompatibles (Correll *et al.*, 1987).

Utilizando mutantes nit (que no utilizan nitrato como fuente única de nitrógeno), Puhalla, basado en la capacidad de los mutantes nit complementarios para formar heterocariones de tipo silvestre, demostró que aislamientos de diferentes formas especiales de *F. oxysporum* estaban en diferentes grupos de compatibilidad vegetativa (VCG). Estos resultados apoyan la teoría según la cual, en ausencia de un ciclo sexual y de la recombinación genética, los grupos de genes que determinan la compatibilidad vegetativa y los genes para patogenicidad llegaron, a través

de la evolución, a un arreglo juntos, dando lugar a distintos VCGs de *F. oxysporum* caracterizados por virulencia específica (Katan y Katan, 1988; Hadar y Katan, 1989).

Los mutantes nit empleados en las pruebas de compatibilidad vegetativa pueden ser identificados dentro de tres clases: 1- mutantes en un locus estructural para una nitrato-reductasa (nit 1); 2- mutantes en un locus regulador de una vía específica de la asimilación de nitrato (nit 3) y 3- mutantes en los loci que afectan el ensamblaje de un cofactor que contiene molibdeno, elemento necesario para la actividad de la nitrato-reductasa (nit M) (Baayen y Kleijn, 1989),

Así como la diferencia puede ser localizada en el genoma, las combinaciones entre mutantes nit relacionados pueden complementarse, formando heterocariones por la fusión de las hifas. Esta complementación es un indicador de la compatibilidad vegetativa, emparejamientos entre incompatibles ó aislamientos con el mismo defecto continúan formando una capa delgada sobre el medio, mientras que los aislamientos compatibles vegetativamente originan una capa de crecimiento tipo silvestre, donde se forman los heterocariones (Baayen y Kleijn, 1989). La complementación ocurre más frecuentemente cuando el emparejamiento involucra, por lo menos, un mutante nit M (Correl *et al.*, 1987).

La compatibilidad vegetativa se ha utilizado para caracterizar razas de algunas formas especiales, como: *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* (Tantaoui y Boisson, 1991); *F. oxysporum* f. sp. *apii* (Correll *et al.*, 1986); *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* (Elmer y Stephens, 1989); *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Ploetz y Correll, 1988); *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (Katan *et al.*, 1989) *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Gordon y Okamoto, 1991); *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Elias y Schneider, 1991); *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Katan *et al.*, 1991); *F. oxysporum* f. sp. *vasifectum* (Katan y Katan, 1988), entre otros.

Además, se han encontrado aislamientos de *Fusarium* no patogénicos a clavel, los cuales no son compatibles con las razas patogénicas (Katan *et al.*, 1989). Esto indica la posibilidad de uti-

lizar la compatibilidad vegetativa como método para distinguir entre aislamientos patogénicos y no patogénicos de *F. oxysporum*.

Teniendo en cuenta la necesidad de ampliar el conocimiento taxonómico, fisiológico y genético del hongo, en este trabajo, se propuso determinar los grupos de compatibilidad vegetativa de algunos aislamientos de *F. oxysporum*, procedentes de la Sabana de Bogotá y de cepas del hongo traídas del exterior, con base en las pruebas de complementación entre mutantes auxotróficos, incapaces de usar el nitrato como única fuente de nitrógeno (mutantes nit).

METODOS

Para la realización del experimento, se utilizaron 15 aislamientos de *F. oxysporum*. De ellos, fueron obtenidos, a partir de suelos de la Sabana de Bogotá, los aislamientos 7, 18, 41, 43 y 90, clasificados como de la f. sp. *dianthi* raza 2, los aislamientos 3 y 4 de la f. sp. *dianthi* raza 4 y el 71 y 103 de baja patogenicidad en variedades de clavel (Arbeláez *et al.*, 1993). Los aislamientos de *F. oxysporum* C5CSU y C14CSU de baja patogenicidad, el 618-9 de mediana patogenicidad y las razas 1, 2 y 8 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* fueron obtenidos del profesor Angelo Garibaldi del Instituto de Patología 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.

Las cepas seleccionadas para las pruebas de compatibilidad vegetativa fueron mantenidas en tubos de ensayo con suelo estéril a 4 grados centígrados. La recuperación de los mutantes resistentes al clorato de potasio se realizó dejando crecer, inicialmente, cada aislamiento en PDA (papa-dextrosa-agar) y pasando segmentos de micelio de un mm de diámetro al medio mínimo de Puhalla (MM) por 3 a 5 días a 22-28 grados centígrados (Correl *et al.*, 1987).

De los cultivos obtenidos, se pasaron 4 segmentos de micelio de un mm de diámetro a cajas de Petri que contenían MM con clorato de potasio

(1,5; 2,5; 3,5 y 4,5%) y se dejaron incubar por 15 días, observando periódicamente las regiones de rápido crecimiento.

Los mutantes resistentes al clorato fueron transferidos a MM e incubados. El crecimiento delgado y normalmente expansivo se tomó como indicador de que aquellos sectores eran normalmente incapaces de reducir el nitrato. Todos los mutantes nit de un mismo aislamiento fueron colectados y numerados para diferenciarlos; posteriormente, fueron apareados sobre MM.

Una vez obtenidos los diferentes mutantes nit de cada aislamiento, se determinó su clase fenotípica con base en el crecimiento sobre un medio básico de cultivo con hipoxantina (H), nitrito (N), amonio (TA), ácido úrico (AU) y úrea (U) como fuentes variables de nitrógeno (Correl *et al.*, 1987).

Se designaron tres clases fenotípicas de mutantes, según Correl *et al.*, 1987; Zambino y Harrington, 1990; Tantaoui y Boisson, 1991:

- **Mutantes nit 1:** crecen en medios con nitrato y el micelio es expansivo y rasante (no de tipo silvestre).
- **Mutantes nit 3:** crecen en los medios con nitrato ó nitrito y el crecimiento micelial es expansivo y rasante.
- **Mutantes nit M:** crecen en medios con hipoxantina ó nitrato y el crecimiento micelial es expansivo y rasante.

Los mutantes resultantes de todos los aislamientos fueron apareados en todas las combinaciones posibles, usando el mismo arreglo del apareamiento entre mutantes del mismo aislamiento. Los aislamientos compatibles vegetativamente fueron asignados al mismo grupo de compatibilidad vegetativa (VCG).

RESULTADOS

La velocidad de crecimiento del micelio sobre el medio de cultivo con clorato de potasio permitió la selección de los mutantes resistentes a esta sustancia tóxica. Del total de aislamientos de *F. oxysporum* utilizados en este ensayo, fueron recuperados 213 mutantes resistentes al clorato. Durante los primeros 15 días, se obtuvieron 208 (97,66%) y los 5 restantes, provenientes del aislamiento no patogénico C14CSU, entre los 45 y 60 días después de la siembra sobre el medio de cultivo con KClO₃. El mayor número de mutantes se obtuvo a partir del aislamiento extranjero Raza 1 y el menor del aislamiento, de Raza 2 (extranjero) (Cuadro 1).

En el número de mutantes obtenidos en las distintas concentraciones de clorato de potasio no

Cuadro 1. Mutantes de de *Fusarium oxysporum* resistentes al clorato de potasio

Aislamiento	KClO ₃ 1.5%	KClO ₃ 32.5%	KClO ₃ 3.5%	KClO ₃ 4.5%	Crun	Nit	Total
3	1	3	5	3	8	4	12
4	5	2	2	5	8	8	14
7	2	2	2	1	5	2	7
18	7	5	7	7	1	25	26
41	5	5	2	5	7	10	17
43	2	3	1	3	3	8	9
71	8	8	7	7	16	12	26
90	8	8	7	5	17	7	24
103	3	4	3	1	4	7	11
C5CSU	1	5	4	2	6	8	12
C14CSU	2	3	0	0	2	3	5
618-9	4	2	1	2	3	8	9
R1 Italia	8	8	7	7	16	14	30
R2 Italia	0	1	2	0	1	2	3
R8 Italia	1	3	1	1	2	4	6
Total	55	58	51	49	99	114	213

se presentaron diferencias considerables, pero sí en la clase de mutantes. Los mutantes crun, que han sido definidos como resistentes al clorato, con crecimiento de tipo silvestre sobre medio mínimo y capaces de utilizar nitrato como única fuente de nitrógeno (Tantaoui y Boisson, 1991), fueron el 46,5% del total de mutantes. El mayor número de mutantes de este tipo se presentó en las concentraciones más bajas de clorato de potasio (1,5 y 2,5%) (Cuadro 1).

Los mutantes nit, los cuales que se han definido como resistentes al clorato, con crecimiento raso sobre medio mínimo e incapaces de utilizar nitrato como única fuente de nitrógeno fueron el 53,5% del total de mutantes. En la concentración recomendada en la literatura (1,5%) (Puhallo, 1985; Correl *et al.*, 1986; Correl *et al.*, 1987), no se recuperaron suficientes mutantes nit para las pruebas de compatibilidad vegetativa por lo tanto, teniendo en cuenta el trabajo de Jacobson y Gordon (1988), se utilizaron concentraciones de 2,5; 3,5 y 4,5 para obtener un mayor número de mutantes resistentes al clorato de potasio e

incapaces de utilizar el nitrato como única fuente de nitrógeno (Figura 1).

Todos los mutantes Crun (Figura 2.) fueron desechados, debido a que, para la prueba de compatibilidad vegetativa, se requieren mutantes nit. Entre los mutantes nit de un mismo aislamiento se realizaron pruebas de complementación. Aquéllos que presentaron compatibilidad (formación de heterocariones, evidenciada por el crecimiento de tipo silvestre donde se encuentran los dos mutantes) fueron considerados diferentes. De esta manera, los 114 mutantes nit obtenidos originalmente se redujeron a 56 mutantes nit diferentes (Figura 3).

Se observó el tipo de crecimiento de los 56 mutantes nit sobre medios de cultivo con diferente fuente de nitrógeno. En el Cuadro 2, se presentan las respuestas obtenidas, de acuerdo con el crecimiento micelial.

El crecimiento del micelio sobre los medios de cultivo con ácido úrico y urea no fue claro y definitivo, tal como fue indicado por Correl *et al.* (1987), mientras que los medios con nitrato, nitri-

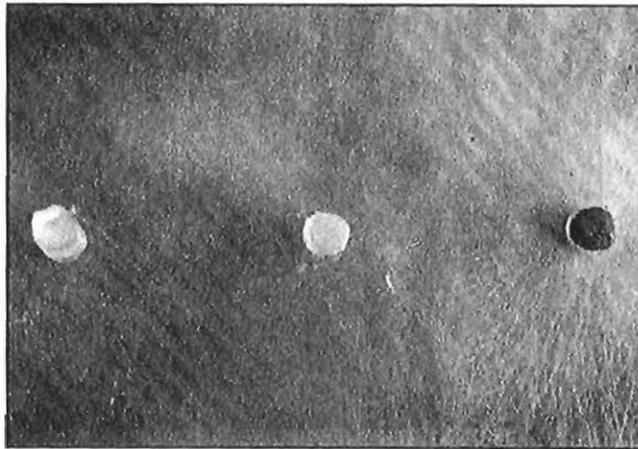


FIGURA 1. Mutante nit de un aislamiento de *Fusarium oxysporum*

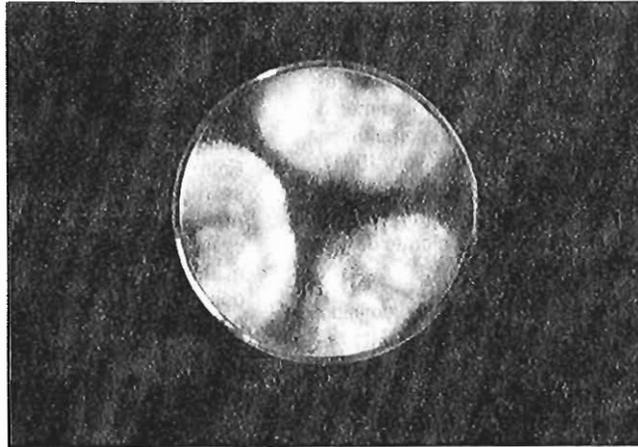


FIGURA 2. Mutante crun de un aislamiento de *Fusarium oxysporum*

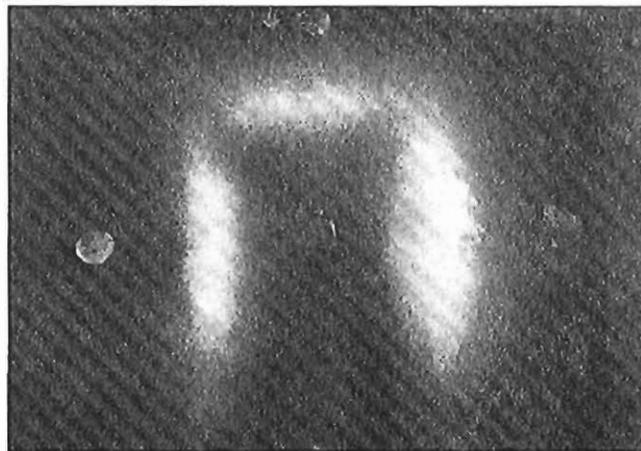


FIGURA 3. Enfrentamiento de los mutantes nit del aislamiento 103 de *F. oxysporum* f. *sp. dianthi*

to e hipoxantina permitieron una clasificación rápida y clara, siguiendo el método de clasificación empleado por Tantaoui y Boisson (1991) y teniendo en cuenta el crecimiento sobre el medio de cultivo con tartrato de amonio como fuente de nitrógeno

La clasificación de los mutantes nit es necesaria para realizar las pruebas de compatibilidad, pues permite conocer el tipo de mutaciones que tienen los mutantes nit y, además, facilita la complementación, ya que ésta se presenta más frecuentemente cuando involucra por lo menos un mutante nit M (Correl *et al.*, 1987)

En las Figuras 4 y 5, se presenta el crecimiento micelial y las clases fenotípicas de los aislamientos R8 Italia y 18 sobre los diferentes medios de cultivo empleados.

CUADRO 2. Mutantes nit de *F. oxysporum* según el fenotipo

Aislamiento	Mutantes Nit. 1	Mutanes Nit. 3	Mutantes Nit. m	Mutantes Nit. k
3	-	-	1	3
4	1	-	1	3
7	-	-	-	2
18	1	3	-	2
41	1	1	-	2
43	-	-	-	5
71	-	-	1	2
90	-	-	1	2
103	-	-	1	1
C5CSU	-	-	-	3
C14CSU	-	-	-	3
618-9	-	-	2	1
R1 Italia	-	-	1	2
R2 Italia	1	-	1	-
R8 Italia	-	2	-	4

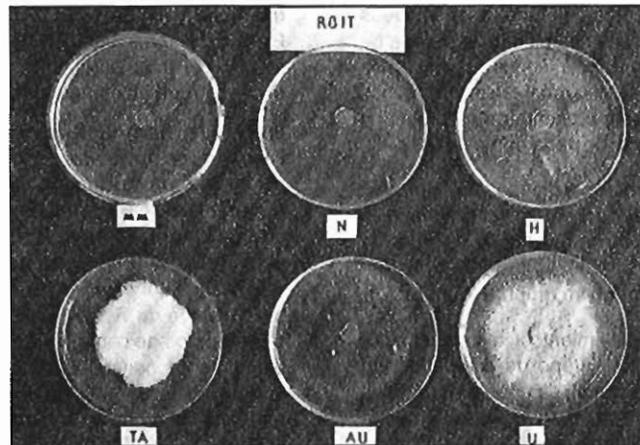


FIGURA 4. Crecimiento del mutante nit 3 de la raza 8 Italia de *F. oxysporum* sp. *dianthi* sobre seis medios con diferente fuente de nitrógeno. MM= medio mínimo (con nitrato de sodio); N= medio con nitrito de sodio; H= medio con hipoxantina; TA= medio con tartrato de amonio; AU = medio con ácido úrico; U= medio con úrea.

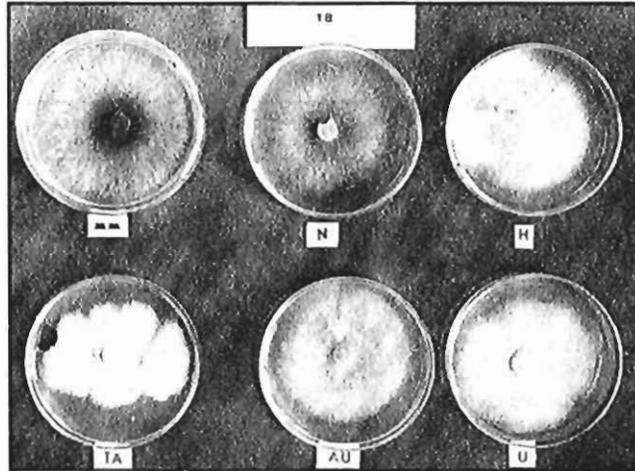


FIGURA 5. Crecimiento del mutante nit 1 del aislamiento 18 de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* sobre seis medios con diferente fuente de nitrógeno. MM= medio mínimo (con nitrato de sodio); N= medio con nitrito de sodio; H= medio con hipoxantina; TA= medio con tartrato de amonio; AU = medio con ácido úrico; U= medio con úrea.

De los 56 aislamientos obtenidos y clasificados se escogieron 27 mutantes nit para la prueba de compatibilidad vegetativa. Todos los mutantes nit M, nit 1 y nit 3 se utilizaron y, en el caso de los aislamientos que sólo presentaron mutantes nit X, se escogieron dos de cada uno de ellos.

De los 15 aislamientos empleados en la prueba de complementación, ocho correspondieron a un mismo grupo de compatibilidad vegetativa (VCG1), tres a otro (VCG2) y los cuatro restantes, cada uno conformó su grupo (Figura 6).

La mayoría de los aislamientos colombianos corresponden a un solo grupo de compatibilidad vegetativa (VCG 1). En él, se encontraron todos los aislamientos de raza 2 Colombia, el aislamiento de baja patogenicidad 103 y los aislamientos extranjeros 618-9 (baja patogenicidad) y raza 2 Italia.

El siguiente grupo (VCG 2) lo conformaron los aislamientos de la raza 4 Colombia y el aisla-

miento (extranjero) C5CSU. Los aislamientos Raza 1 y Raza 8 Italia, C14CSU (baja patogenicidad) y 71 (baja patogenicidad) formaron, cada uno, su grupo de compatibilidad.

Los aislamientos de raza 2 son los que se encuentran con mayor frecuencia y se caracterizan por su gran virulencia. En Colombia, la presencia tan amplia de la Raza 2 se debe a la importación de esquejes provenientes de otros países donde esta Raza es predominante (Cevallos *et al.*, 1990; Garibaldi *et al.*, 1986). La ubicación de los aislamientos de Raza 2 Colombia e Italia en el mismo grupo de compatibilidad vegetativa, posiblemente, es consecuencia de su origen y virulencia similar. Según Cevallos *et al.*, 1990, existen variaciones entre la raza 2 colombiana y la italiana, las cuales se pueden deber a la presión de selección o a mutaciones espontáneas ocurridas en forma natural.

La presencia de los aislamientos 103 (colombiano) y 618-9 (extranjero), anteriormente clasifica-

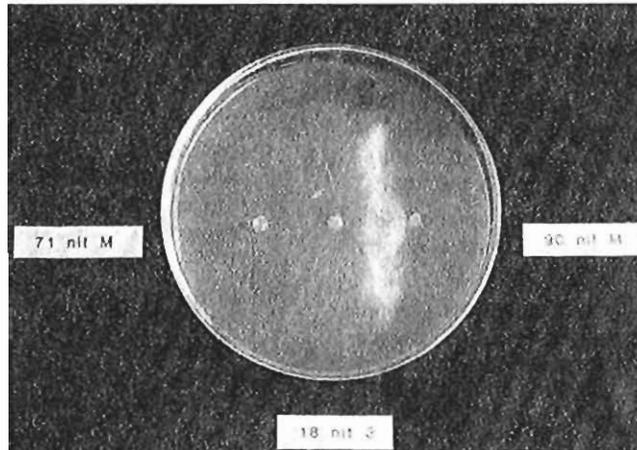


FIGURA 6. Enfrentamiento entre diferentes aislamientos de *F. oxysporum*. Se presenta la complementación entre los mutantes nit 3 del aislamiento 18 y el nit M del 90 (crecimiento de tipo silvestre) y la incompatibilidad entre los mutantes nit 3 del 18 y nit M del 71 (no hay crecimiento de tipo silvestre).

dos como de baja y mediana patogenicidad, respectivamente, en el mismo grupo de compatibilidad que la Raza 2, indica que estos aislamientos pueden ser de alta patogenicidad y sugiere que no sean utilizados en pruebas de protección cruzada o de antagonismo, tal como lo señalan Baker *et al.* (1978) y Biles y Martyn (1989).

El segundo grupo de compatibilidad (VCG2) está conformado por los aislamientos 3 y 4 (Raza 4 Colombia), cuya característica es su mediana patogenicidad, y el C5CSU, denominado no patógeno (determinado como ligeramente patógeno por Rodríguez y Rodríguez, 1992; Sánchez y Rojas, 1992). Según esta prueba de compatibilidad vegetativa y las de patogenicidad anteriormente citadas, este aislamiento extranjero se presenta como patógeno. En el primer caso, debido a que presenta compatibilidad con aislamientos patógenos y se sabe que éstos no son compatibles con los aislamientos no patógenos

(Correl *et al.*, 1986; Katan y Katan, 1988; Baayen y Kleijn, 1989).

Las Razas 1 y 8 (italianas), con características genéticas y de virulencia específicas, no han sido aisladas en la Sabana de Bogotá, lugar donde provienen todos los aislamientos colombianos utilizados en esta prueba, lo cual, posiblemente, conduce a que cada una de ellas conforme su propio grupo de compatibilidad. Estos resultados concuerdan con los presentados por Baayen y Kleijn (1989), quienes, adicionalmente, señalan que utilizar un sólo aislamiento de estas dos razas pudo haber influido en los resultados.

El aislamiento extranjero C14CSU y el colombiano 71, ambos de baja patogenicidad, formaron, cada uno, su grupo de compatibilidad. Aunque los aislamientos no patógenos pueden presentar compatibilidad entre ellos (Correll y Puhalla, 1986; Baayen y Kleijn, 1989), éstos no lo hicieron, seguramente, como consecuencia de su origen y características genéticas y fisiológicas.

BIBLIOGRAFIA

1. **ARBELAEZ, G.** Enfermedades fungosas y bacteriales del clavel en Colombia. (Traducción del trabajo presentado en el Tercer Simposio Internacional del Clavel, Noordwijkerhout, Holanda, 17-23 de mayo de 1987). *Agronomía Colombiana* 4(1-2): 3-8. 1987.
2. **ARBELAEZ, G.** Control de enfermedades vasculares del Clavel en Colombia. *Agronomía Colombiana* 6(1-2): 3-9. 1989.
3. **ARBELAEZ, G. y O. CALDERON.** Determinación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel en Colombia. *Agronomía Colombiana* 8 (2): 243-247. 1993.
4. **ASOCOLFLORES.** Comportamiento de las exportaciones de flores de Colombia 1992-1993. *Revista de la Asociación Colombiana de Exportadores de Flores*. 39: 26-35. 1994.
5. **BAAYEN, R. P.** *Fusarium* Wilt of Carnation. Disease Development, resistance mechanisms of the host and taxonomy of the pathogen. *Centrum voor Wiskunde en Informatica, Amsterdam*. pp. 147-154. 1988.
6. **BAAYEN, R. P.; D. M. ELGERSMA; J. F. DEMMIK y L. D. SPARNAAIJ.** Differences in pathogenesis observed among susceptible interactions of carnation with four race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Neth. J. Pl. Path.* 94: 81-94. 1988.
7. **BAAYEN, R. P. y KLEIJN, J.** The Elegans Fusaria causing vegetative compatibility groups. *Neth. J. Pl. Path.* 95: 185-194. 1989.
8. **BAKER, R., P. HANCHEY y S. D. DOTTA-RAR.** Protection of carnation against *Fusarium* stem rot by fungi. *Phytopathology* 68: 1495-1501. 1978.
9. **BILES, C. L. y R. D. MARTYN.** Local and systemic resistance induced in watermelons by formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 79: 856-860. 1989.
10. **BOSLAND, P. W.** *Fusarium oxysporum*, a pathogen of many plant species. *Advances in plant Pathology* 6: 281-289. 1988.
11. **CEVALLOS, J.; J. GONZALEZ y G. ARBELAEZ.** Determinación de las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel en la Sabana de Bogotá. *Revista de ASOCOLFLORES* 23: 4-8. 1990.
12. **CORRELL, J. C. y J. E. PUHALLA.** Vegetative compatibility groups among nonpathogenic root-colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. *Can J. Bot.* 64: 2358-2361. 1986.
13. **CORRELL, J. C.; J. E. PUHALLA y R. W. SCHNEIDER.** Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility. *Phytopathology* 76: 396-400. 1986.
14. **CORRELL, J. C.; J.R. KLITTICH y LESLIE.** Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility test. *Phytopathology* 77 (12): 1640-1646. 1987.
15. **CORRELL, J. C.** The Relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 81 (9): 1061-1064. 1991.
16. **DARNELL, J.; H. LODISH y D. BALTIMORE.** *Biología celular y molecular*. Primera Edición Editorial Labor, S.A. Barcelona. 1988.
17. **ELIAS, K. S. y R. W. SCHNEIDER.** Vegetative compatibility group in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercisi*. *Phytopathology* 81: 159-162. 1991.
18. **ELMER, W. H. y C. T. STHEPENS.** Classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* into vegetative compatibility groups. *Phytopathology* 79: 88-93. 1989.
19. **GARIBALDI, A.; G. LENTO y G. ROSSI.** Indagine sulla diffusione dei patotipo *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* nelle colture di antiche liguri. *Panorama Floricolo* 11: 1-4. 1986.
20. **GORDON, T. R. y D. OKAMOTO.** Vegetative compatibility grouping in a local population of *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Bot.* 69: 168-172. 1991.

21. **HADAR, E. y J. KATAN.** The use of nitrate-studies of pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Plant Disease 73 (10): 800-803. 1989.
22. **JACOBSON, D. J. y T. R. GORDON.** Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Phytopathology 78: 668-672. 1988.
23. **KATAN, T. y J. KATAN.** Vegetative compatibility group in of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from tissue and the rhizosphere of cotton plants. Phytopathology 78 (6): 852-855. 1988.
24. **KATAN, T., E. HADAR y J. KATAN.** Vegetative Compatibility of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* from carnation in Israel. Plant Pathology 38: 376-381. 1989.
25. **KATAN, T., D. ZAMIR, M. SARFATTI y J. KATAN.** Vegetative compatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Phytopathology 81 (3): 255-262. 1991.
26. **PLOETZ, R. C. y J. C. CORRELL.** Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Plant Disease 72: 325-328. 1988.
27. **PUHALLA, J. E. A** Visual indicator of heterokaryosis in *Fusarium oxysporum* from celery. Can. J. Bot. 62: 540-545. 1984.
28. **PUHALLA, J. E.** Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on of basis of vegetative compatibility. Can. J. Bot. 63: 179-183. 1985.
29. **RODRIGUEZ, J. C. y P. E. RODRIGUEZ.** Control del marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel miniatura (*Dianthus caryophyllus* L.) con aislamientos no patógenos. Tesis de Grado. Facultad de agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá. 1992.
30. **SANCHEZ, J. L. y J. ROJAS.** Control del marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel estándar (*Dianthus caryophyllus* L.) con aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum*. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá. 1992.
31. **SNYDER, W. C. y H. N. HANSEN.** The species concept in *Fusarium*. American Journal of Botany 27: 64-67. 1940.
32. _____ The species concept in *Fusarium* with reference to section Marthella. American Journal of Botany 28: 732-742. 1941.
33. **TANTAOUI, A. y C. BOISSON.** Compatibilité Végétative d'isolats du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et de *Fusarium oxysporum* de la rhizosphère du Palmier dattier et des sols de palmeraies. Phytopath. Medit. 30: 155-163. 1991.
34. **WINDELS, C. E.** Current status of *Fusarium* taxonomy. Phytopathology 81 (9): 1048-1051. 1991.
35. **ZAMBINO, P. J. y T. C. HARRINGTON.** Heterokaryosis and vegetative compatibility in *Leptographium wagneri*. Phytopathology 80 (12): 1460-1469. 1991.