

## CAPITULO IX

### CONTROL INTEGRADO DEL MARCHITAMIENTO VASCULAR DEL CLAVEL OCASIONADO POR *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*

Germán Arbeláez<sup>1</sup>, Silvia Guzmán<sup>2</sup>, Jorge León<sup>2</sup>, Martín González<sup>2</sup>, Juan Carlos Molina<sup>2</sup>, Julio Parra<sup>2</sup>, Julio Ferney Angulo<sup>2</sup> y José Darío Alvarez<sup>2</sup>

#### INTRODUCCION

Las enfermedades vasculares del clavel, ocasionadas, principalmente, por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, y en menor grado por *Phialophora cinerescens*, constituyen un factor limitante del cultivo del clavel en Colombia.

Estas enfermedades se introdujeron a Colombia, en material de propagación infectado, procedente de diversos países desde hace más de quince años, y su incidencia ha aumentado progresivamente, ocasionando pérdidas muy importantes y con un incremento muy significativo de los costos de producción.

La alta incidencia de las enfermedades vasculares se debe a su fácil propagación a través de esquejes infectados, a su rápida diseminación por formas diversas, a la alta persistencia del patógeno en el suelo y al alto costo y la baja eficiencia de las medidas de control utilizadas (Arbeláez, 1987a).

Para el control de las enfermedades vasculares y, en especial, de la ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, se han utilizado diferentes métodos, tales como la producción de material de propagación libre del patógeno, la aplicación al suelo de vapor, fumigantes y fungicidas sistémicos, el uso de algunas prácticas culturales y sanitarias, la siembra de variedades resistentes y, en los últimos años, la aplicación de algunos antagonistas biológicos (Baker, 1980; Arbeláez, 1987b).

Uno de los métodos más importantes para prevenir el establecimiento del patógeno en el suelo consiste en la producción de esquejes sanos, lo cual se ha logrado mediante la certificación del material básico de propagación y el cultivo de meristemas, con el uso de bancos levantados para el desarrollo de las plantas madres y el enraizamiento de los esquejes,

además de diferentes medidas que evitan la infestación de los suelos (Baker y Phillips, 1962; Arbeláez, 1987a).

Para lograr una disminución significativa del patógeno, una vez establecido el hongo en el suelo, el tratamiento con vapor y con diversos fumigantes es uno de los métodos más utilizados para el control de las enfermedades vasculares.

El tratamiento del suelo con vapor ha sido el método más eficiente para la reducción de la enfermedad y la eficiencia se ha logrado incrementar con la aplicación previa de algunos fumigantes (Garibaldi y Gullino, 1987a). En Estados Unidos, la aplicación del fumigante Metan-sodio, seguido de la aplicación de vapor, ha sido el método más efectivo para la desinfestación del suelo; sin embargo, para la destrucción del patógeno, su utilización, no es completamente satisfactoria, porque es incompleta, debido a que la distribución del vapor y del fumigante en el suelo no es uniforme (Holley y Baker, 1991).

A pesar de la alta eficiencia de la aplicación del vapor al suelo y a su seguridad ecológica, el tratamiento presenta algunas limitaciones, como su alto costo y la desprotección biológica del suelo después del tratamiento, la cual puede ser aprovechada para una rápida colonización por diversos patógenos del clavel como *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Fusarium roseum*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp. (Kreutzer, 1960; Garibaldi y Gullino, 1987a).

Para el control de la enfermedad, también, se ha utilizado la aplicación de diversos fumigantes, tales como Metan-sodio, Dazomet, Metil-isotiocianato, Formaldehído y Bromuro de metilo, con los cuales se obtienen resultados variables de control y una erradicación del patógeno bastante parcial; además, la aplicación de fumigantes es costosa, poco selectiva y ocasiona una reducción muy apreciable de formas saprófitas benéficas de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* y de otros antagonistas (Garibaldi y Coguda, 1986; Arbeláez, 1987a).

Uno de los problemas en el control de la enfermedad es la reinfestación de los suelos tratados desde

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

<sup>2</sup> Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá D.C.

estratos inferiores, a partir de raíces y de residuos de cosecha afectados (Garibaldi y Gullino, 1987a). Por esta razón, para evitar la reinfestación del patógeno, se realiza el desarrollo de las plantas madres para la producción de esquejes en bancos elevados o mediante algún aislamiento del suelo. Este ha sido un método muy eficiente en Estados Unidos y en Holanda, pero debido a su alto costo, no se ha utilizado en Colombia en actividades distintas a la producción y enraizamiento de los esquejes.

La aplicación de fungicidas sistémicos del grupo de los Benzimidazoles (Benomil, Carbendazim, Tiabendazol) y de los tiofanatos (Topsin) ha sido otro de los métodos de control de enfermedades vasculares con resultados variables. Diversos investigadores han encontrado un retardo en la aparición de los síntomas y una reducción apreciable de la enfermedad en Francia (Ponchet y Auge, 1971), Gran Bretaña (Fletcher y Martin, 1972; Evans, 1976), Estados Unidos (Baker, 1972, 1980; Besemer y McCain, 1978) y Argentina (Gamboa, 1985-1986). Sin embargo, algunos investigadores han encontrado una baja eficiencia en el control de la enfermedad con los fungicidas sistémicos, como Besemer y McCain (1978), en California, Estados Unidos, Rapetti y Garibaldi (1986), en Italia, Tramier y Bettachini (1974), en Francia y Leski (1977), en Polonia; en estos dos últimos casos, la baja eficiencia se atribuye al desarrollo de resistencia del patógeno a los fungicidas, después de aplicaciones repetidas.

Para el control de la enfermedad, el uso de variedades resistentes al patógeno es una de las medidas más promisorias y económicas. Además, se han observado diferencias muy apreciables en la respuesta de las variedades al patógeno. Sin embargo, el uso de la resistencia genética es un complejo método de control, el cual es afectado por la variabilidad del hongo, del cual se han registrado por lo menos ocho razas fisiológicas; además, cada variedad puede presentar una respuesta distinta a cada una de las razas (Garibaldi *et al.*, 1986a; Garibaldi y Rossi, 1987b).

De las observaciones de diferentes investigadores sobre la existencia de suelos supresivos a *Fusarium oxysporum* en California, Estados Unidos (Scher y Baker, 1980; McCain *et al.*, 1980), en Francia (Alabouvette *et al.*, 1980) y en Italia (Garibaldi *et al.*, 1980), se originan las posibilidades de la utilización del los métodos biológicos en el control del marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. La supresividad de esos suelos está relacionada con algunos microorganismos, los cuales se han identificado, aislado, e incorporado a suelos conductivos al patógeno, lográndose algún nivel de control de la enfermedad.

Diversos hongos y bacterias se han utilizado para el control de diversas formas especiales de *Fusarium oxysporum*, en particular, de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

Algunas bacterias fluorescentes, tales como *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa* y *Pseudomonas* sp., han reducido sensiblemente la infección de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel (Scher y Baker, 1980; Restrepo y Slotkus, 1985; van Peer *et al.*, 1990). Además, la aplicación combinada de algunas bacterias y el quelato de hierro EDDHA han ocasionado una acción aditiva en la reducción de la enfermedad (Scher, 1986).

Con el uso de algunas bacterias quitinolíticas, como *Serratia liquefaciens*, *Arthrobacter* sp. y *Alcaligenes* sp. y de bacterias esporulantes, como *Bacillus subtilis*, se ha logrado una reducción apreciable de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel (Sneh, 1981; Sneh *et al.*, 1985; Yuen y Schroth, 1986; Filiippi *et al.*, 1987).

Lahdempera (1987), en Finlandia, demostró la variada actividad antagónica de diversas especies y aislamientos de *Streptomyces* en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, siendo un aislamiento de *Streptomyces griseoviridis*, la especie antagonista más efectiva, la cual, actualmente, se comercializa con el nombre de Mycostop.

Mirkova (1983), en Checoslovaquia encontró un control eficiente de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en clavel con *Trichoderma harzianum*.

Algunos aislamientos de *Trichoderma harzianum* se han utilizado en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (Marois y Mitchell, 1981), *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* (Locke *et al.*, 1985), *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, *Fusarium culmorum* (Sivan y Chet, 1986) y *Fusarium* spp. En los últimos años, se ha observado un gran potencial antagonista de algunos aislamientos no patógenos de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Fusarium* sp. en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Garibaldi *et al.*, 1986; Rattink, 1987; Tramier *et al.*, 1988).

Además de los métodos de control anteriormente mencionados, la aplicación combinada de algunas de esas formas de control parece ser la estrategia más conveniente para un manejo más racional y económico de la enfermedad (Chet, 1990).

Los objetivos del presente trabajo consistieron en la utilización de diversas combinaciones de varios métodos para el control del marchitamiento vascular

del clavel, ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, mediante la realización de seis experimentos en cultivos comerciales de clavel estándar.

## MATERIALES Y METODOS

Entre 1983 y 1992, para evaluar la combinación de diferentes métodos de control de la enfermedad ocasionada por el hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, se realizaron seis experimentos en diferentes fincas productoras de clavel estándar para exportación localizadas en diferentes áreas de la Sabana de Bogotá.

### Experimento 1.

El experimento se realizó entre los meses de abril y diciembre de 1983, en un cultivo comercial de clavel estándar ubicado en el municipio de Subachoque, Cundinamarca, severamente infestado por los hongos *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*.

En el experimento, se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con tres repeticiones. Las parcelas fueron de 9,46 m de largo por 1,08 m de ancho con 324 plantas de la variedad "Improved White", altamente susceptible a la enfermedad.

Para el control biológico de las enfermedades, se utilizó el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum*, el cual fué suministrado por el profesor Ralph Baker de la Universidad Estatal de Colorado, Fort Collins, Estados Unidos. Este aislamiento se caracteriza por ser tolerante hasta 100 ppm del fungicida sistémico Benomil.

El hongo se propagó en un sustrato compuesto por una parte de salvado de trigo, una parte de turba y dos partes agua por peso y se colocó en erlenmeyers de 2 litros, los cuales se llenaron hasta la mitad de su capacidad. El sustrato se esterilizó, durante tres días consecutivos a 121°C por una hora y se inoculó posteriormente con tres trozos de micelio del hongo y se colocó en incubación a 24°C, durante 10 días en oscuridad para estimular el crecimiento del micelio y por 10 días bajo luz fluorescente continua para estimular el desarrollo de las esporas. Posteriormente, el sustrato colonizado por el hongo se retiró de los erlenmeyers y se dejó secar al ambiente del laboratorio durante 3 días, se molió ligeramente y quedó listo para su aplicación al suelo.

Los tratamientos utilizados fueron los siguientes:

1. *Trichoderma harzianum* en dosis de 1,6 g/m<sup>2</sup>.
2. *Trichoderma harzianum* en dosis de 1,6 g/parcela + Benomil (Benlate), en dosis de 18 g/m<sup>2</sup> antes de la siembra\*. A las tres semanas y las seis

semanas después de la siembra se hicieron nuevas aplicaciones de Benomil en dosis de 9 g/m<sup>2</sup>.

3. Testigo, en donde no se realizó aplicación alguna.

El hongo *Trichoderma harzianum* se aplicó superficialmente al suelo ocho días antes de la siembra y, luego, para lograr su colonización y se incorporó con una pala en los primeros 10 cm.

El fungicida Benomil se aplicó a la superficie del suelo con una bomba de espalda, inmediatamente antes de la siembra de los esquejes y las aplicaciones posteriores se hicieron a la base de las plantas.

Un mes después de la siembra, se iniciaron las evaluaciones del número y de la localización de las plantas enfermas por los dos patógenos vasculares y se continuaron haciendo en forma quincenal hasta los 240 días, cuando, debido a la alta incidencia de las enfermedades, se suspendió el experimento. Igualmente se evaluó la producción de flores a partir de la 24a. semana después de la siembra y se continuó hasta la semana 31a.

### Experimento 2.

El experimento se realizó, entre Julio de 1983 y Abril de 1984, en un cultivo comercial de clavel estándar localizado en el municipio de Engativá y severamente afectado por el hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

En el experimento, se utilizó un diseño experimental de Parcelas subdivididas con cuatro repeticiones y con la variedad "White CC", altamente susceptible a la enfermedad. Las subparcelas tuvieron un tamaño de 7,0 m de largo por 1,0 m de ancho y 248 plantas.

En las parcelas principales, el suelo se trató antes de la siembra con Metan-sodio (Vapam) + vapor, Metil-isotiocianato (Ditrapex) y una parcela Testigo que no recibió tratamiento alguno.

En las subparcelas, se aplicaron al suelo el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* (150 g/m<sup>2</sup>), el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* (150 g/m<sup>2</sup>) + Benomil (Benlate) (18 g/m<sup>2</sup>) en el momento de la siembra y 9 g/m<sup>2</sup> cada 3 meses), la bacteria *Pseudomonas putida* (50 ml/m<sup>2</sup>) + la sal férrica del ácido etilendiaminodihidroxifenilacetico (FeEDDHA) (16,7 g/m<sup>2</sup>) y se tuvo un Testigo que no recibió aplicación alguna.

El fumigante Metan-sodio se aplicó, diez días antes de la siembra, en dosis de 153 ml/m<sup>2</sup> y, cuatro días después, mediante una tubería enterrada a 30 cm,

se aplicó el vapor de agua procedente de una caldera a una temperatura de 82°C durante 30 minutos. El fumigante metil-isotiocianato se aplicó en dosis de 150 ml/m<sup>2</sup>, 20 días antes de la siembra y el suelo se cubrió con plástico durante cinco días y, después se dejó airear durante 15 días.

El hongo *Trichoderma harzianum* se propagó en un sustrato compuesto por una parte de salvado de trigo, una parte de acondicionador de suelo y dos partes de agua por peso; dicho sustrato se colocó en erlenmeyers de dos litros, los cuales se llenaron hasta la mitad de su capacidad y se esterilizaron, durante tres días consecutivos, a 121°C por una hora. El sustrato se inoculó con tres trozos de micelio del hongo y se incubó a 24°C, durante 10 días en oscuridad y durante 10 días bajo luz fluorescente continua. Durante la incubación, los erlenmeyers se agitaron diariamente para lograr una colonización rápida y homogénea del sustrato; posteriormente, éste se secó en el laboratorio por cuatro días, se molió y se aplicó al suelo una semana antes de la siembra de los esquejes de clavel.

La bacteria *Pseudomonas putida* se propagó, en erlenmeyers de 500 ml, en el medio Caldo Nutritivo, se inoculó y se mantuvo en agitación constante durante 48 horas y, luego, se aplicó al suelo. La sal FeEDDHA se aplicó superficialmente al suelo con una regadera e inmediatamente después de la aplicación de la bacteria.

La densidad de siembra, el riego, la fertilización, las prácticas de cultivo y la cosecha fueron las utilizadas comercialmente por la empresa en donde se realizó el experimento.

Para lograr una colonización adecuada de los antagonistas, la siembra de los esquejes se realizó siete días después de la aplicación de los mismos al suelo.

La evaluación de la enfermedad se hizo a partir del primer mes después de la siembra, en forma quincenal, mediante la determinación del número de plantas enfermas y de su localización en un plano; en el momento de la evaluación, las plantas enfermas se cortaron con una tijera en la parte basal del tallo y se retiraron de la subparcela. La evaluación de la producción de flores se realizó diariamente desde la semana 24a. hasta la semana 42a. después de la siembra.

### Experimento 3.

La investigación se desarrolló en un cultivo comercial de clavel estándar severamente afectado por *Phialophora cinerescens* y, en menor grado, por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, localizado en el municipio de Cota, Cundinamarca.

El ensayo se realizó entre junio de 1983 y agosto de 1984 y con la variedad "Pink Calypso" altamente susceptible a las dos enfermedades vasculares en estudio.

Por condiciones del cultivo y por facilidad en la aplicación de algunos tratamientos, el experimento se desarrolló utilizando un sistema de tres bloques y dentro de cada uno de ellos se estableció un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones.

Las parcelas tuvieron un área de 7,10 m<sup>2</sup> con 276 plantas y la separación entre cada una de ellas fue de 0,60 m.

El suelo de los bloques se trató antes de la siembra con Metan-sodio + vapor de agua, vapor solo y se dejó uno de los bloques sin aplicar ningún tratamiento.

El Metan-sodio se aplicó en dosis de 50 ml por m<sup>2</sup> y se dejó actuar durante cuatro días, al cabo de los cuales se aplicó el vapor cuando el suelo estaba en su capacidad de campo.

El vapor de agua procedente de una caldera, se aplicó al suelo hasta que alcanzó una temperatura de 82°C durante 30 minutos y se hizo colocando una tubería metálica de 3,2 cm de diámetro, con orificios en la parte inferior distanciados a 0,5 m y se enterró a una profundidad de 0,5 m con el fin de lograr una desinfección profunda del suelo.

En las parcelas, dentro de cada uno de los bloques, se aplicaron cuatro tratamientos, a saber: el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* (150 g/m<sup>2</sup>), el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* (150 g/m<sup>2</sup>) + el fungicida Benomil (Benlate 18 g/m<sup>2</sup> a la siembra y 9 g/m<sup>2</sup> cada tres meses), la bacteria *Pseudomonas putida* (50 ml/m<sup>2</sup>) + la sal férrica del ácido etilendiaminodihidroifenilacético (FeEDDHA; 16,7 g/m<sup>2</sup>) y con un Testigo que no recibió ningún tratamiento.

La propagación del hongo *Trichoderma harzianum* y de la bacteria *Pseudomonas putida* se hizo de manera similar a la efectuada en el Experimento 1, lo mismo que su aplicación al suelo y la de los dos productos químicos utilizados.

La fertilización, el riego, las labores de cultivo y la cosecha de flores se realizaron en la forma utilizada en la empresa en donde se realizó el experimento.

Antes de iniciar el trabajo, mediante la observación de las plantas que aun se cultivaban y mediante los datos de la empresa, se efectuó una cuantificación y un mapa de la distribución de las dos enfermedades vasculares en cada una de las parcelas.

La evaluación de las enfermedades se hizo, cada 15 días después de la siembra, mediante la observación de los síntomas característicos y determinando el número y la localización de las plantas enfermas. La producción de flores se hizo diariamente a partir del sexto mes y durante ocho meses más. Posteriormente, se hizo un análisis económico de los diferentes tratamientos mediante estudios de los presupuestos parciales y la rentabilidad.

En el análisis económico, considerando el precio promedio de la flor US\$ 0,6 y una tasa de cambio promedio anual del dolar para este año de \$100,94, se estudiaron los costos de producción y los ingresos del año 1984. Estos datos fueron suministrados por la empresa en donde se realizó el experimento.

La rentabilidad de los tratamientos se estableció aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Rentabilidad} = \frac{\text{Ingresos totales} - \text{Costos totales}}{\text{Costos totales}} \times 100$$

#### Experimento 4.

El experimento se desarrolló en un cultivo comercial bajo invernadero, localizado en el municipio de Suba y severamente infestado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

Con la variedad "Pink Calypso", altamente susceptible a la enfermedad, se utilizó en la investigación un diseño de Parcelas Divididas con cuatro replicaciones.

Las parcelas principales tuvieron un tamaño de 30,50 m de largo por 0,74 m de ancho, con área de 22,60 m<sup>2</sup>. Las subparcelas fueron 5,28 m de largo y 0,74 m de ancho con 175 plantas. El área total del ensayo fué de 732 m<sup>2</sup>, con 24 camas comerciales.

Las parcelas principales se trataron antes de la siembra con Metan-sodio (Vapam, 153 ml/m<sup>2</sup>) + vapor de agua (82°C, 30 minutos), vapor de agua (82°C, 30 minutos), Dazomet (Basamid, 70 g/m<sup>2</sup>), formaldehído (40%, 473 ml/m<sup>2</sup>), Metan-sodio (Vapam, 153 ml/m<sup>2</sup>) y se dejó un Testigo que no recibió tratamiento alguno.

Las subparcelas correspondieron al aislamiento T 15 de *Trichoderma harzianum* (140 g/m<sup>2</sup>), el aislamiento T 18 de *Trichoderma harzianum* (140 g/m<sup>2</sup>), la bacteria *Serratia liquefaciens* (6,7 x 10<sup>8</sup> células), el fungicida Benomil (Benlate, 18 g/m<sup>2</sup> al momento de la siembra y 6,8 g/m<sup>2</sup> a los 3, 6 y 9 meses) y con un Testigo que no recibió tratamiento alguno.

Los aislamientos T 15 y T 18 de *Trichoderma harzianum* se escogieron por su alta eficiencia en el control de *Fusarium oxysporum* en trabajos prelimi-

nares realizados por Elías y Arcos (1984) y la bacteria *Serratia liquefaciens* se utilizó por la efectividad encontrada en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* por Sneh et al (1985).

En el tratamiento con Metan-sodio + vapor de agua, el fumigante se aplicó cuatro días antes de la aplicación del vapor. En los tratamientos con los fumigantes Metan-sodio, formaldehído y Dazomet, éstos se aplicaron al suelo 15 días antes de la siembra, se dejaron actuar por siete días y luego el suelo se dejó airear volteándolo con palas desinfestadas con formol al 5% cada tercer día.

El inóculo de los aislamientos T 15 y T 18 de *Trichoderma harzianum* se preparó de manera similar a los Experimentos 2 y 3 y se aplicó en una dosis de 140 g/m<sup>2</sup>, equivalente a 9,5 x 10<sup>8</sup> ufc/g de sustrato. Estos aislamientos se aplicaron ocho días antes de la siembra y se incorporaron en los diez primeros centímetros del suelo.

La bacteria *Serratia liquefaciens* se propagó en el medio Caldo Nutritivo dentro de erlenmeyers de 2.000 ml, los cuales se inocularon con la bacteria y se mantuvieron en agitación a 125 rpm a 24°C durante 48 horas. La inoculación de la bacteria a los esquejes de clavel se hizo mediante la inmersión de las raíces durante un minuto en una suspensión de 6,1 x 10<sup>8</sup> células por mililitro.

La evaluación de la enfermedad se realizó mediante la cuantificación de las plantas enfermas cada dos semanas hasta finalizar el experimento. Igualmente, utilizando el medio de Komada (1975), se evaluó la población de *Fusarium oxysporum* en el suelo antes de la aplicación de los tratamientos, en el momento de la siembra y cada tres meses.

#### Experimento 5.

El experimento se realizó en un cultivo comercial localizado en el municipio de Suba y severamente infestado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

El experimento se desarrolló entre noviembre de 1985 y octubre de 1986, utilizando un diseño de parcelas subdivididas con tres replicaciones y la variedad "Pink Calypso", altamente susceptible a la enfermedad.

Las parcelas principales se trataron con Metan-sodio (Vapam, 153 ml/m<sup>2</sup>) + vapor de agua (82°C, 1 hora), Dazomet (Basamid, 70 g/m<sup>2</sup>) + formaldehído (40%, 473 ml/m<sup>2</sup>) y Dazomet sólo (Basamid, 70 g/m<sup>2</sup>).

Las subparcelas tuvieron un área de 20,28 m<sup>2</sup> y consistieron en un aislamiento del suelo con

polietileno a 30 cm de profundidad y sin aislamiento alguno.

Las subparcelas tuvieron un tamaño de 6,85 m de largo y 0,74 m de ancho, con un área de 5,07 m<sup>2</sup> y 228 plantas. En estas subparcelas, se aplicaron los fungicidas Benomil (Benlate, 18 g/m<sup>2</sup>), Tiabendazol (Mertect, 20 g/m<sup>2</sup>), Metil-tiofanato (Topsin, 18 g/m<sup>2</sup>) y un Testigo que no recibió aplicación alguna. Los fungicidas se aplicaron en la dosis mencionada anteriormente, dos días antes de la siembra de los esquejes; a los 3, 6 y 9 meses después de la siembra, se realizaron nuevas aplicaciones de los fungicidas con la mitad de la dosis utilizada inicialmente.

Los fumigantes se aplicaron 20 días antes de la siembra; el suelo tratado se cubrió con polietileno y el producto se dejó actuar por siete días, al cabo de los cuales se destapó y se aireó cada tres días con una pala desinfectada con formol al 5%. En la parcela en donde, además del fumigante Metan-sodio, se aplicó vapor de agua, este fumigante se aplicó tres días antes de la aplicación del vapor.

Para las subparcelas en donde se aisló el suelo, éste se retiró a una profundidad de 30 cm y se colocó una película de polietileno negro, luego, el suelo se volvió a colocar; este aislamiento se hizo un mes antes de la siembra y antes de realizar algún tratamiento.

La evaluación de la enfermedad se hizo periódicamente cada 15 días a partir del primer mes y se continuó haciendo durante un año. La población del patógeno en el suelo en cada subparcela se evaluó marcando tres sitios en cada subparcela y la muestra se tomó a 10 cm de profundidad a los 30, 120 y 240 días después de la siembra. Esta evaluación se hizo utilizando el medio de cultivo desarrollado por Komada (1975) y mediante el método de las diluciones decimales.

La producción de flores se evaluó mediante la cosecha en forma diaria a partir del sexto mes y por seis meses más.

### Experimento 6.

El trabajo se realizó en un cultivo comercial ubicado en el municipio de Funza (Cundinamarca) y que tenía una alta infestación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

El experimento se desarrolló entre febrero y agosto de 1991 para evaluar el efecto de dos dosis de los aislamientos T 13, T 17 y T 1644 de *Trichoderma harzianum* en el control del marchitamiento vascular

ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en la variedad "Nora Barlo", altamente susceptible a la enfermedad.

Los aislamientos T 13 y T 17 de *Trichoderma harzianum* se obtuvieron del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía y el aislamiento T 1644 se obtuvo del Laboratorio de Fitopatología de la empresa Floramérica S.A.

Un factorial de 3x2 en un diseño de Bloques al azar con cuatro replicaciones se utilizó en el experimento. La unidad experimental fué una parcela de 15,07 m de largo por 0,70 m de ancho, con un total de 424 plantas. Para el ensayo total, se usaron 14 camas de 31 m de largo por 0,70 m de ancho.

Los factores fueron los tres aislamientos de *Trichoderma harzianum* y los niveles fueron las dosis de los antagonistas.

Los tratamientos realizados fueron los siguientes:

1. Aislamiento T 13, en dosis de 2 Kg/cama.
2. Aislamiento T 13, en dosis de 6 Kg/cama.
3. Aislamiento T 17, en dosis de 2 kg/cama.
4. Aislamiento T 17, en dosis de 6 kg/cama.
5. Aislamiento T 1644, en dosis de 2 kg/cama.
6. Aislamiento T 1644, en dosis de 6 kg/cama.
7. Testigo sin inocular.

Los aislamientos de *Trichoderma harzianum* se multiplicaron en el medio PDA. Para la aplicación al suelo, la propagación masiva del hongo se hizo en un medio compuesto por una parte de salvado de trigo, una parte de arroz partido y dos partes de agua (en peso); el sustrato se esterilizó a 121 °C por una hora y durante dos días consecutivos. La inoculación se hizo colocando tres trozos de micelio en erlenmeyers de dos litros con el sustrato hasta la mitad de su capacidad; la incubación se hizo a 27 °C durante siete días en la oscuridad, agitando diariamente y durante cinco días bajo luz fluorescente continua, para estimular la esporulación del hongo; posteriormente, se secó al ambiente.

Antes de la aplicación de los antagonistas, el suelo se desinfectó con vapor de agua a 82 °C durante una hora, tratamiento que se aplica rutinariamente en el cultivo en donde se realizó el experimento.

Los antagonistas se aplicaron superficialmente al suelo tres días antes de la siembra y, luego, se incorporaron a 15 cm de profundidad con una pala desinfectada con formol al 5%.

La población de *Fusarium oxysporum* en el suelo se determinó utilizando el medio selectivo de Komada (1975), antes y después del tratamiento con vapor de agua. Durante el ensayo, la población de

*Trichoderma harzianum* en el suelo se evaluó mensualmente usando el medio selectivo de Elad *et al* (1981) y tomando cinco submuestras por parcela.

Además, durante el ensayo, se realizó un control de focos, con los diferentes aislamientos de *Trichoderma harzianum* según la parcela después de cada erradicación de plantas enfermas y para evitar la posible diseminación del patógeno. La erradicación consistió en la determinación de las plantas con los síntomas de la enfermedad, las cuales se cortaron a nivel del suelo y, posteriormente, se incorporaron por foco 1,5 kg de sustrato con el antagonista respectivo. En las parcelas Testigo, se aplicaron seis litros de Benomil (Benlate, 0,6 g/l) y Vitavax (Carboxin, 0,6 g/l).

La densidad de siembra, la fertilización, el riego y las demás prácticas culturales fueron las efectuadas comercialmente por la empresa en donde se desarrolló el experimento.

## RESULTADOS

### Experimento 1.

Los primeros síntomas de la enfermedad en plantas afectadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se presentaron a los 60 días después de la siembra, tanto en las parcelas tratadas como en las parcelas Testigo. Los primeros síntomas de la enfermedad causada por *Phialophora cinerescens* se observa-

ron apenas a los 113 días después de la siembra (Figura 9.1).

El control de las dos enfermedades vasculares no fué satisfactorio en ninguno de los tratamientos utilizados, como puede observarse en el Cuadro 9.1. Ocho meses después de la siembra, el porcentaje de plantas afectadas por los dos patógenos fué de 61,7 para el tratamiento de *Trichoderma harzianum* + Benomil, de 73,2 para el tratamiento con *Trichoderma harzianum* y de 72,7 para el Testigo (Cuadro 9.1 y Figura 9.2).

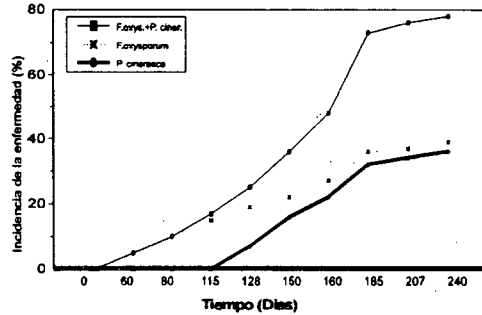


Figura 9.1. Número de plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*, 240 días después de la siembra (Experimento 1)

Cuadro 9.1. Efecto de los tratamientos en el número y en el porcentaje de plantas enfermas por los patógenos vasculares del clavel (Experimento 1).

	<i>T. harzianum</i>		<i>T. harzianum</i> + Benomil		Testigo	
	Total acumulado	%	Total acumulado	%	Total acumulado	%
<i>Fusarium oxysporum</i>						
60 días	44	4,5	33	3,4	31	3,2
120 días	147	15,1	88	9,1	118	12,4
165 días	261	26,9	160	16,5	239	24,6
240 días	363	37,4	258	26,5	317	32,6
<i>Phialophora cinerescens</i>						
60 días	0	0,0	0	0,0	0	0,0
120 días	18	1,9	17	1,8	22	2,3
165 días	230	23,7	186	19,1	258	26,5
240 días	348	35,8	340	35,0	390	40,1
<i>F. oxysporum</i> + <i>P. cinerescens</i>						
60 días	44	4,5	33	3,4	31	3,2
120 días	165	17	105	10,8	140	14,4
165 días	491	50,5	346	35,6	497	51,1
240 días	711	73,2	600	61,7	707	72,7

. Sobre 972 plantas, 3 replicaciones.

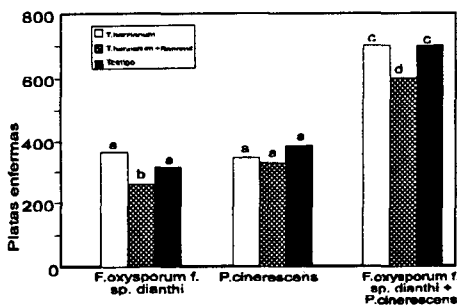


Figura 9.2. Efecto de los tratamientos en el número de plantas enfermas por los patógenos vasculares, 240 días después de la siembra (Experimento 1). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,5$ ), para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan

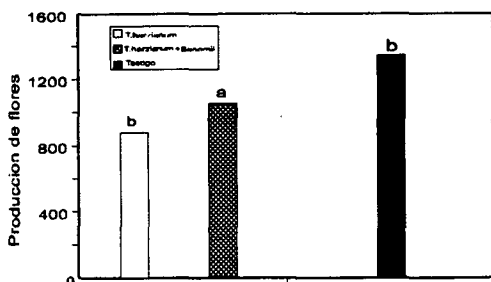


Figura 9.3. Producción de flores para los distintos tratamientos (Experimento 1). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan.

En la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se observó algún nivel de control con la aplicación de *Trichoderma harzianum* + Benomil, con una reducción de 6,5% de plantas marchitas con relación al Testigo, mientras que los niveles mayores de la enfermedad se observaron en el tratamiento con *Trichoderma harzianum*, a los 240 días después de la siembra, aun más altos que en el Testigo (Cuadro 9.1).

Los valores en el control de la enfermedad causada por *P. cinerescens* fueron muy similares en los tratamientos con *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma harzianum* + Benomil y un poco más altos en el Testigo (Figura 9.2).

La mayor producción de flores se obtuvo en las parcelas en donde se aplicó *Trichoderma harzianum* + Benomil, seguido del Testigo y, luego, en el tratamiento con *Trichoderma harzianum* (Figura 9.3).

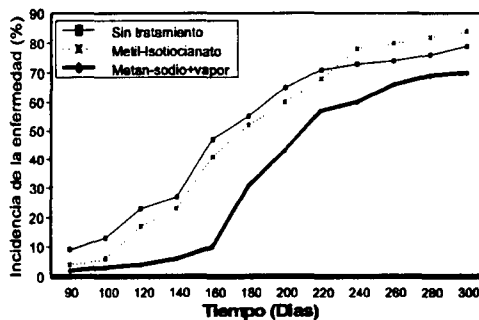


Figura 9.4. Número de plantas de clavel afectadas por *Fusarium oxysporum* sp. *dianthi* (Experimento 2).

### Experimento 2.

Las primeras plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se observaron 90 días después de la siembra, tanto en las parcelas tratadas, como en las no tratadas (Figura 9.4).

El incremento de la enfermedad fué bastante rápido y los focos de plantas enfermas fueron afectados en tamaño y además se observaron nuevos focos en forma progresiva (Figura 9.4 y Cuadro 9.2).

La diferencia entre los tratamientos al suelo antes de la siembra fué muy apreciable al principio del experimento, con el menor número de plantas enfermas en las parcelas tratadas con Metan-sodio + vapor de agua, seguido del tratamiento con Metil-isotiocianato y con el mayor número de plantas enfermas, en las parcelas que no recibieron ningún tratamiento. A los 90 días después de la siembra, los promedios de plantas enfermas fueron 0,7% para el tratamiento con Metan-sodio + vapor de agua, de 3,8% para el tratamiento con Metil-isotiocianato y de 8,2% para las parcelas sin tratamiento, mientras que a los 165 días, el promedio de plantas enfermas fué, para los tres tratamientos de 7,5%, 17,8% y 27,3% respectivamente; al finalizar el experimento a los 285 días, el promedio de plantas enfermas fué de 71% para Metan-sodio + vapor de agua, de 84,1% para Metil-isotiocianato y 79,4% para las parcelas sin ningún tratamiento (Figuras 9.4, 9.5, 9.6 y Cuadro 9.2).

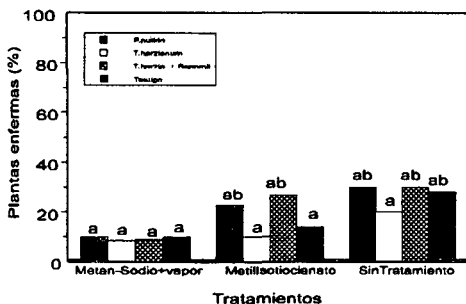
La aplicación del fumigante Metil-isotiocianato no fué efectiva en el control de la enfermedad, con número promedio de plantas enfermas cercano al de las parcelas que no recibieron algún tratamiento; además, después de los 225 días después de la siembra, la mortalidad de plantas fué la mayor de todos los tratamientos (Figura 9.4).



**Cuadro 9.2.** Efecto de los diferentes tratamientos en el porcentaje acumulado de plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Experimento 2).

TRATAMIENTOS	METAN-SODIO + VAPOR	MÉTIL-ISOTIOCIANATO	SIN TRATAMIENTO
<i>P. putida</i> + FeEDDHA			
90 días	1,3	3,8	10,2
135 días	7,6	21,7	29,2
180 días	32,5	46,6	53,2
210 días	61,6	67,8	70,2
285 días	74,9	81,0	79,0
<i>T. harzianum</i>			
90 días	0,3	1,9	7,4
135 días	4,0	8,6	18,1
180 días	22,8	52,1	52,1
210 días	49,7	75,4	69,0
285 días	65,6	81,0	72,5
<i>T. harzianum</i> + Benomil			
90 días	0,2	3,4	8,0
135 días	5,3	26,0	28,3
180 días	29,8	55,8	56,1
210 días	55,3	81,5	73,7
285 días	70,2	88,7	80,6
Testigo			
90 días	1,1	1,9	7,2
135 días	8,7	12,1	26,5
180 días	34,3	47,6	58,7
210 días	61,8	74,1	76,8
285 días	73,3	85,8	85,8

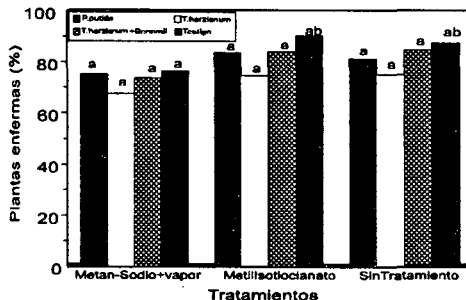
Sobre 992 plantas, 4 replicaciones.



**Figura 9.5.** Plantas de clavel afectadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, 160 días después de la siembra (Experimento 2). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan

La aplicación de los antagonistas *Trichoderma harzianum* y *Pseudomonas putida* solos o en aplicación combinada con productos químicos no ocasionaron ninguna reducción apreciable de la enfermedad (Figuras 9.5 y 9.6).

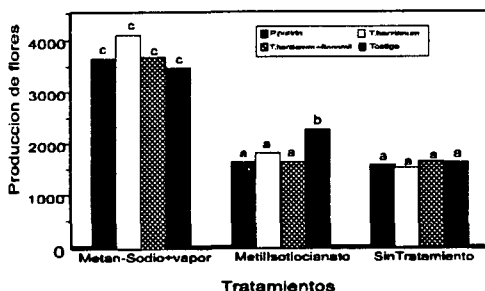
La aplicación del fungicida Benomil a la siembra combinado con el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum*, tolerante a dicho fungicida, y las aplicaciones periódicas cada tres meses, tampoco, logra-



**Figura 9.6.** Plantas de clavel afectadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, 285 días después de la siembra (Experimento 2). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan.

ron reducir el nivel de la enfermedad y, por el contrario, este tratamiento presentó un mayor número de plantas enfermas que el tratamiento con *Trichoderma harzianum* (Figuras 9.5 y 9.6).

La mayor producción de flores se obtuvo en los tratamientos que presentaron un menor número de plantas enfermas, o sea, en las parcelas tratadas con Metan-sodio + vapor de agua y la menor produc-



.Figura 9.7. Producción de flores, 285 días después de la siembra (Experimento 2). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan

ción se observó en las parcelas que no recibieron algún tratamiento (Figura 9.7).

En la producción de flores, ninguno de los tratamientos aplicados a las subparcelas presentaron diferencias apreciables y significativamente diferentes (Figura 9.7).

### Experimento 3.

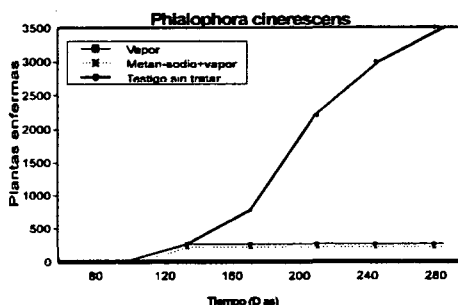
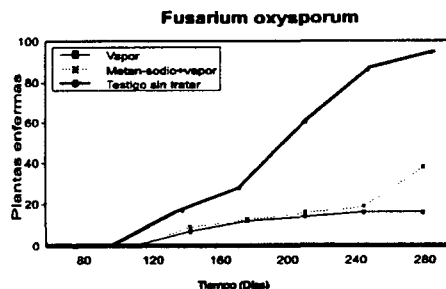
En el bloque que no recibió ningún tratamiento, los primeros síntomas de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se observaron a los 75 días después de la siembra, mientras que, en los bloques tratados con Metan-sodio + vapor de agua y vapor, se observaron a los 120 días después de la siembra (Figura 9.8).

En todos los bloques, las primeras plantas enfermas por *P. cinerescens* se observaron a los 90 días después de la siembra (Figura 9.8)

El incremento posterior de las dos enfermedades vasculares, después de su aparición inicial, fué bastante rápido entre los 160 y 280 días después de la siembra (Figura 9.8).

El menor número de plantas enfermas se observó en los bloques tratados con Metan-sodio + vapor de agua, seguido muy cerca por el tratamiento con solo vapor de agua. El bloque en donde no se aplicó algún tratamiento al suelo presentó un número muy alto de plantas enfermas (Figuras 9.8 y 9.9 y Fotografías 9.1 y 9.2).

Las aplicaciones de Metan-sodio + vapor de agua y de vapor fueron mucho más eficientes en el control de la enfermedad ocasionada por *P. cinerescens*, que fué la enfermedad más prevalente en el ensayo, mientras que dichos tratamientos fueron un poco menos efectivos en el control de la enfermedad



.Figura 9.8. Número de plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*, 280 días después de la siembra (Experimento 3).

causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Figura 9.8).

El promedio de plantas enfermas por ambos patógenos, 14 meses después de la siembra, fué de 9,6% para Metan-sodio + vapor de agua, de 17,6% para vapor y de 82,6% para el bloque no tratado. La aplicación al suelo del aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* solo o en combinación con Benomil y de la bacteria *P. putida*, combinada con FeEDDHA no ejercieron ningún control apreciable de las dos enfermedades vasculares y, en ninguno de los casos, se presentaron diferencias significativas entre sí y con relación al Testigo.

En las Figuras 9.10, 9.11 y 9.12, aparecen unas representaciones gráficas de las plantas enfermas por los dos patógenos en los diferentes bloques y parcelas del experimento. En los bloques en donde se aplicó el Metan-sodio + vapor de agua y el vapor, se observa que dichos tratamientos aplicados al suelo antes de la siembra disminuyeron significativamente el inóculo de los patógenos y las dos enfermedades se pudieron erradicar en unos sitios y en otros no. El modelo de la localización y el número de las plantas enfermas fue mucho menor a los 14 meses después de la siembra, en comparación con su número y su distribución en el anterior cultivo de clavel (Figuras 9.10 y 9.11). En algunas de las parcelas tratadas únicamente con vapor de

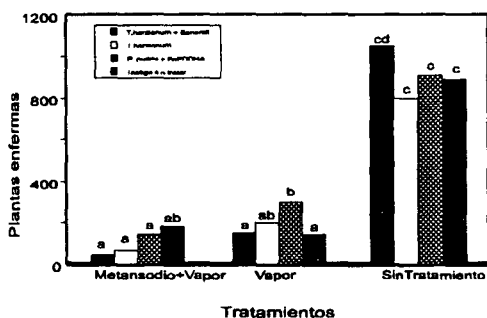


Figura 9.9. Número de plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*, 14 meses después de la siembra (Experimento 3). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan.

agua, se observó un ligero aumento de plantas enfermas en comparación con las parcelas tratadas con Metan-sodio + vapor de agua, a los 14 meses después de la siembra.

El avance de las enfermedades vasculares fué muy rápido en las parcelas que no recibieron algún tratamiento; a los seis meses, en todas esas parcelas, se observó un gran número de plantas enfermas, pero, en forma individual y posteriormente, se comenzaron a presentar grupos o parches de plantas enfermas, los cuales fueron aumentando en tamaño y el modelo de distribución fué muy similar al modelo del cultivo anterior (Figura 9.12).

El bloque tratado con Metan-sodio + vapor de agua produjo el mayor número de flores, seguido por el bloque tratado únicamente con vapor, el cual produ-

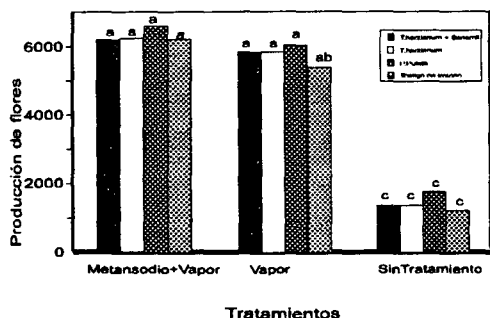


Figura 9.13. Número de flores producidas 300 días después de la siembra (Experimento 3). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan.

jo un 8,1% menos que el primero. El bloque que no recibió algún tratamiento fué el de menor producción con un 77,3% menos que el bloque tratado con Metan-sodio + vapor de agua (Figura 9.13). Adicionalmente, se observó un adelanto de 15 días en la iniciación de la floración en los dos bloques en donde se aplicó vapor de agua al suelo.

La mayor producción de flores se obtuvo en las parcelas tratadas con *P. putida*, mientras que la menor producción se observó en las parcelas Testigo, pero sin que se presentaran diferencias significativas entre los cuatro tratamientos aplicados a cada uno de los bloques.

El tratamiento al suelo de Metan-sodio + vapor de agua produjo la mayor rentabilidad calculada para 2 años de cultivo, que es la duración de los cultivos comerciales de clavel estándar para exportación, con valores de 7,2% y 8,7% para el primero y segundo año de cultivo, respectivamente (Cuadros 9.3 y 9.4).

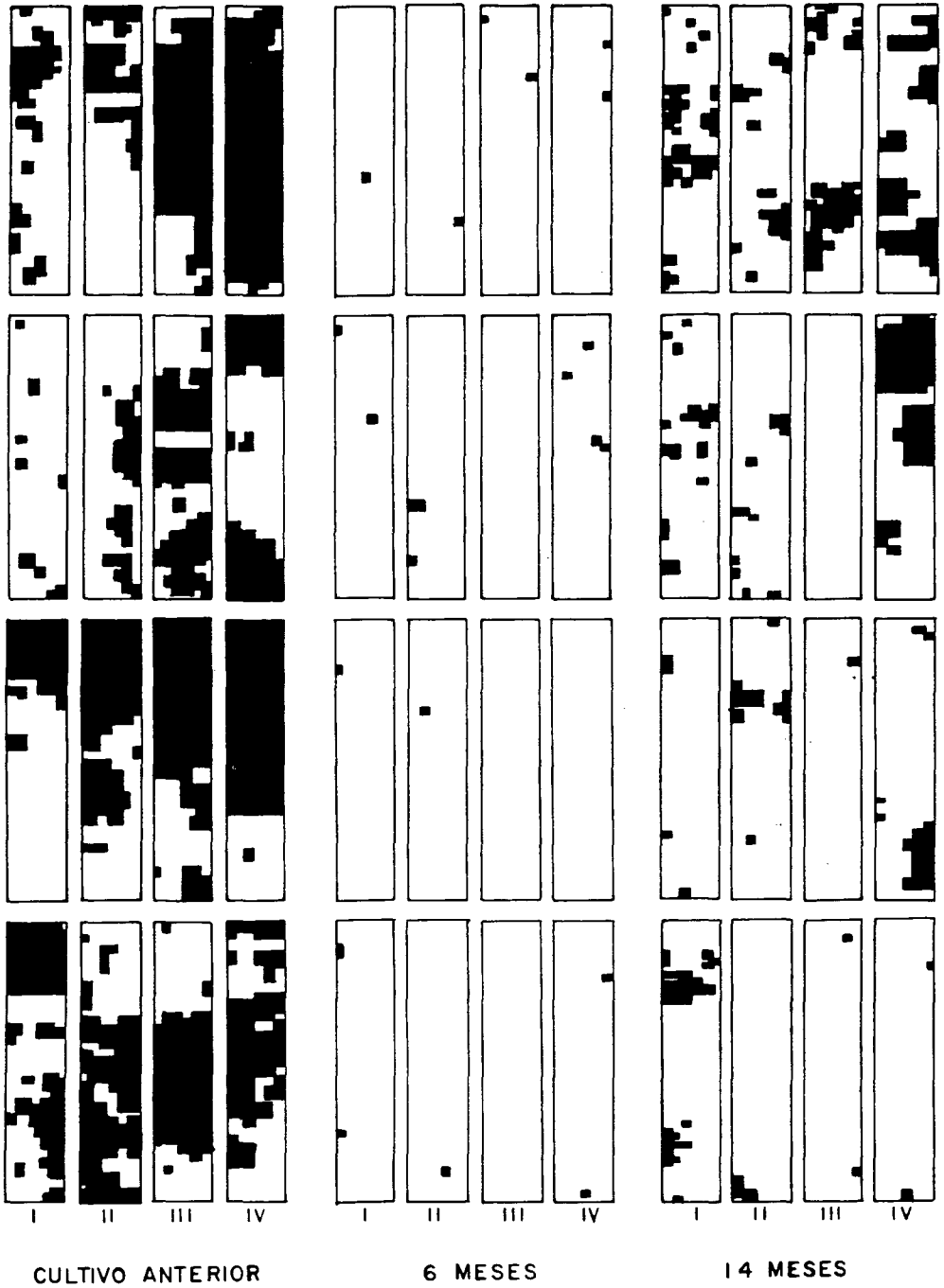
#### Experimento 4.

En las parcelas tratadas con Metan-sodio + vapor de agua, las primeras plantas enfermas aparecieron a los 60 días después de la siembra. El tratamiento más efectivo para el control de la enfermedad fue la aplicación al suelo de Metan-sodio + vapor de agua, siguiéndole en eficiencia la aplicación de sólo vapor de agua con pérdidas de 30 y 40%, respectivamente, en comparación con el Testigo, pero sin presentar diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 9.14).

La aplicación individual de los fumigantes Dazomet, Formaldehído y Metan-sodio al suelo antes de la siembra ocasionó alguna reducción de la enfermedad, en comparación con las parcelas Testigo, pero con una eficiencia de control mucho más baja comparada con los tratamientos en donde se usó vapor de agua. Entre los fumigantes, el producto más eficiente fué el Dazomet con diferencias significativas con los demás fumigantes. Las parcelas no tratadas presentaron los valores más altos de plantas enfermas (Figura 9.14).

La aplicación de los aislamientos T 15 y T 18 de *Trichoderma harzianum* al suelo antes de la siembra no redujo en forma apreciable la enfermedad. La bacteria *S. liquefaciens* se comportó en forma sistémica y fué posible recuperarla, 120 días después de su aplicación a los esquejes, de los brotes medios y superiores de las plantas, pero, tampoco, disminuyó la enfermedad (Figura 9.15).

El fungicida Benomil ocasionó alguna reducción en el nivel de la enfermedad en comparación con el



**Figura 9.10.** Distribución de las plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens* en el bloque tratado con Metan-sodio + vapor de agua. Cada cuadrado pequeño de color negro, corresponde a una planta enferma (Experimento 3).

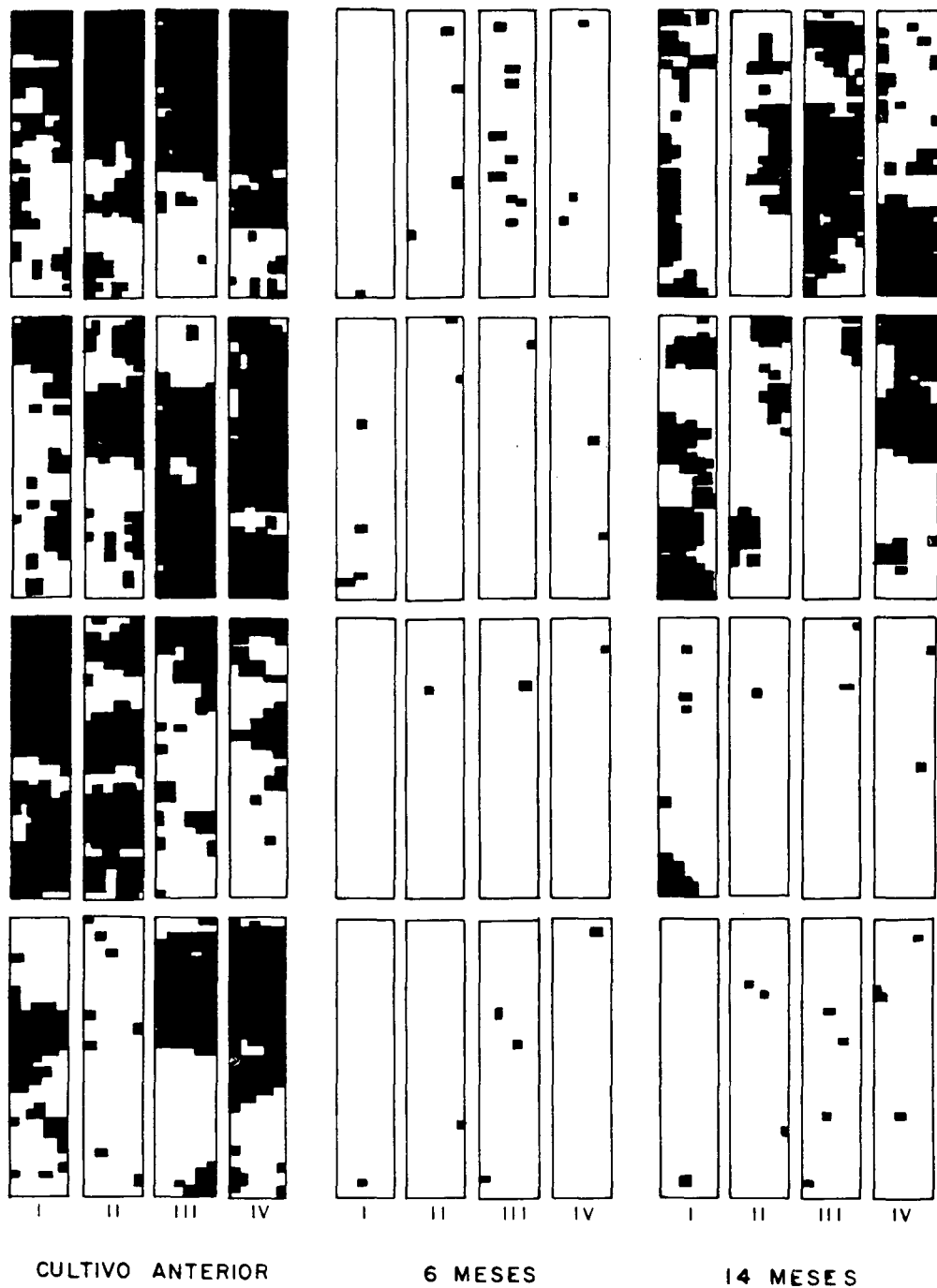


Figura 9.11. Distribución de las plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens* en el bloque tratado con vapor de agua. Cada cuadrado pequeño de color negro, corresponde a una planta enferma (Experimento 3).

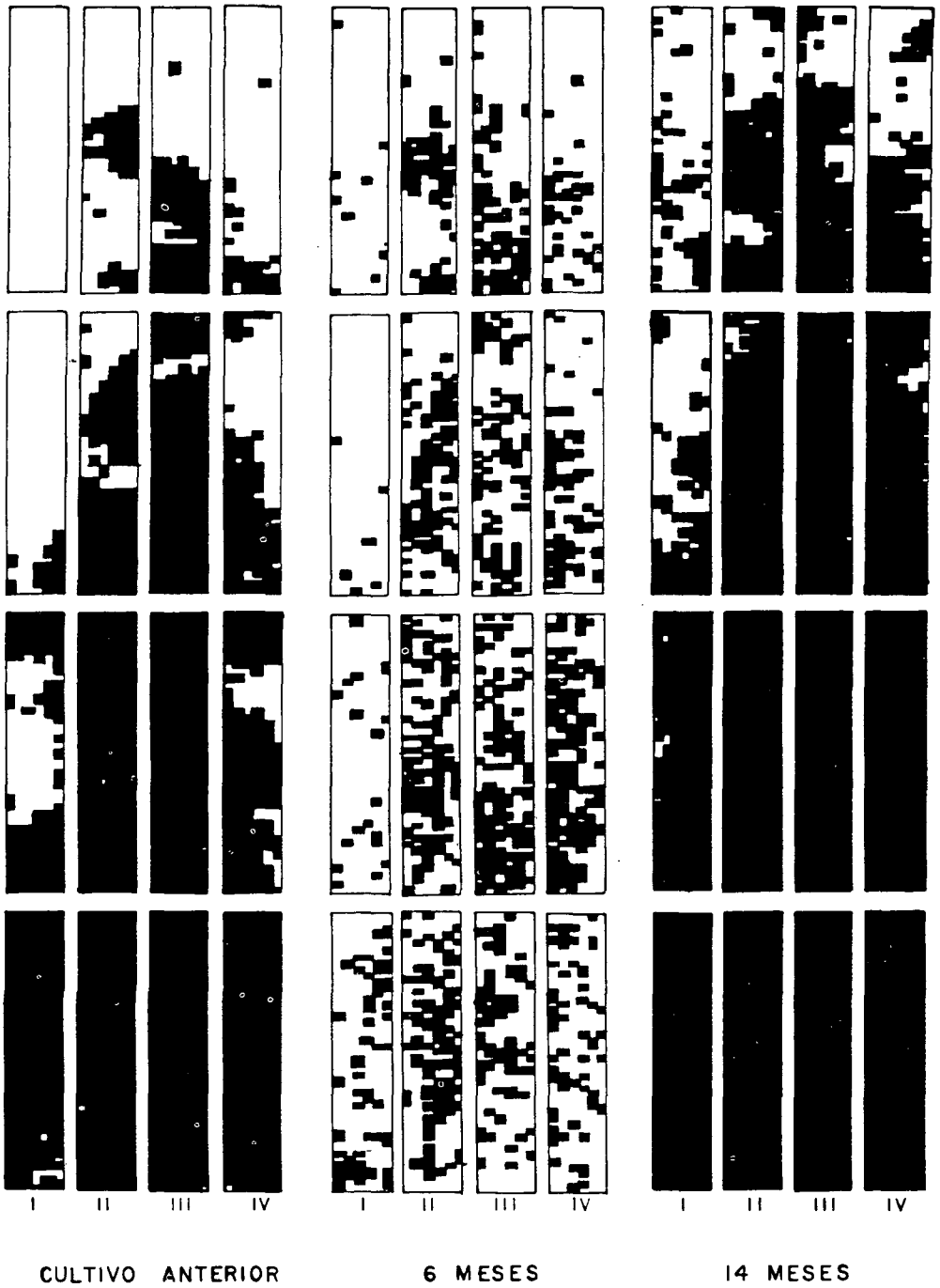


Figura 9.12. Distribución de las plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens* en el bloque que no recibió algún tratamiento. Cada cuadrado pequeño de color negro, corresponde a una planta enferma (Experimento 3)

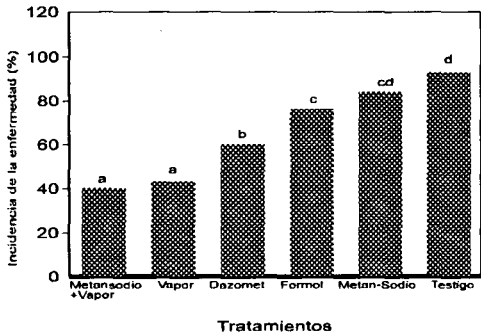


Figura 9.14. Incidencia de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, 280 días después de la siembra (Experimento 4). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan

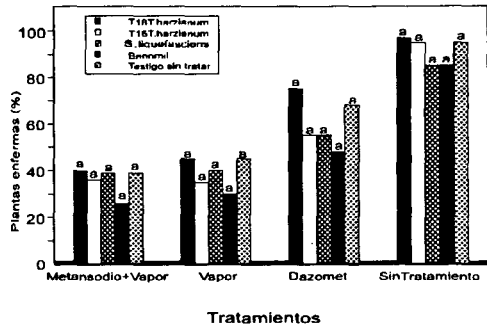
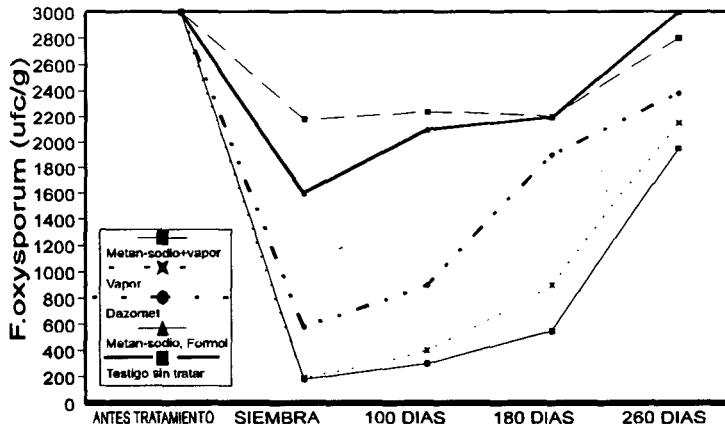


Figura 9.15. Número de plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, 280 días después de la siembra (Experimento 4). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan

Figura 9.16. Población de *Fusarium oxysporum* en el suelo antes y después de los tratamientos al suelo (Experimento 4)



Cuadro 9.3. Costos de producción por hectárea estimados para un año de cultivo de clavel estándar. Año 1984 (Experimento 3).

CONCEPTO	TRATAMIENTO		
	Metan-sodio+vapor	Vapor	Sin tratamiento
Tierra	312.500	312.500	312.500
Invernadero	669.665	669.650	669.650
Preparación suelo	334.500	334.500	334.500
Esquejes y siembra	1.686.248	1.686.248	1.686.248
Telares y riego	1.040.000	1.040.000	1.040.000
Abonos y pesticidas	1.366.500	1.366.500	1.366.500
Jornales	3.460.500	3.456.500	3.456.500
Empaque flor	1.065.100	1.065.100	1.065.100
Mano obra aplicación vapor y/o fumigantes	182.504	175.889	-
Tuberías y accesorios vapor	90.410	90.410	-
Metan-sodio	136.068	263.000	-
Carbón y energía	263.000	-	-
Depreciación de equipos	750.000	750.000	-
Costo Total	11.356.995	11.214.312	9.935.013

**Cuadro 9.4.** Producción estimada de flores, ingresos, costos y rentabilidad en dos años de producción comercial de clave estándar para el año 1984 (Experimento 3).

TRATAMIENTO	PRODUCCION ESTIMADA (flores)	INGRESOS (pesos)	COSTOS (pesos)	RENTABILIDAD (%)
<b>Metan-sodio + vapor</b>				
Año 1	1.740.320*	10.540.074	11.356.995	-7,2
Año 2	2.039.219	12.350.326	11.356.995	8,7
<b>Vapor</b>				
Año 1	1.645.615	9.960.503	11.214.312	-11,1
Año 2	1.877.957	11.373.658	11.214.312	1,4
<b>Sin tratamiento</b>				
Año 1	351.272	2.127.444	9.935.013	-78,6
Año 2	**	-**	9.935.013	-100,0

\* La producción se estimó con base en los índices semanales de la empresa y en el índice de la enfermedad.

\*\* En el segundo año, no se estimó producción de flores, debido a los altos índices de enfermedad en este tratamiento.

Nota: Precio promedio flor año 1984: US\$ 0.06 Tasa de cambio promedio dolar año 1984: \$100,94

Testigo, en las parcelas tratadas con Metan-sodio + vapor de agua y con Dazomet (Figura 9.15).

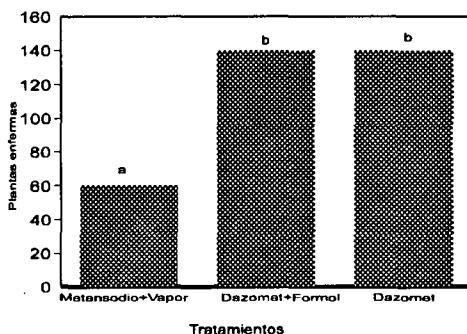
La población de *Fusarium oxysporum* en el suelo antes de la aplicación de los tratamientos fue bastante alta y, en promedio, fue de 3.600 ufc/g. Dicha población se redujo drásticamente después del tratamiento con Metan-sodio + vapor de agua y con vapor. La reducción del hongo fue menor con el fumigante Dazomet, y aún, menor con el formaldehído y el Metan-sodio.

Sin embargo, en todas las parcelas, la población del hongo en el suelo fué progresivamente incrementándose con el tiempo y este aumento fué proporcional a la población inicial después de efectuados los tratamientos (Figura 9.16).

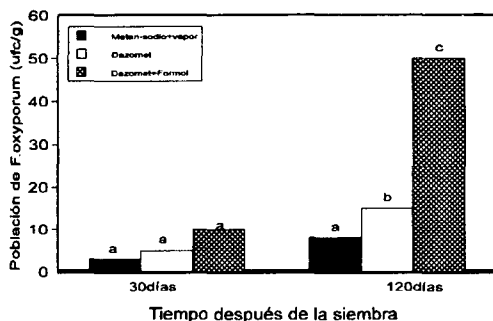
### Experimento 5.

La aplicación de Metan-sodio + vapor de agua al suelo fué el tratamiento más eficiente, mientras que los otros dos tratamientos con los fumigantes Dazomet y Dazomet + formaldehído fueron bastante ineficientes en el control de la enfermedad (Figura 9.17). Las parcelas tratadas con Metan-sodio + vapor de agua presentaron la menor cantidad de plantas enfermas, la menor población de patógeno en el suelo y la mayor producción de flores, en comparación con los otros dos tratamientos, en donde el número de plantas enfermas fué más alta, la población del hongo en el suelo fué mayor y la producción de flores fue menor (Figuras 9.17, 9.18 y 9.19).

El aislamiento del suelo con polietileno no redujo la recontaminación de plantas enfermas a partir del

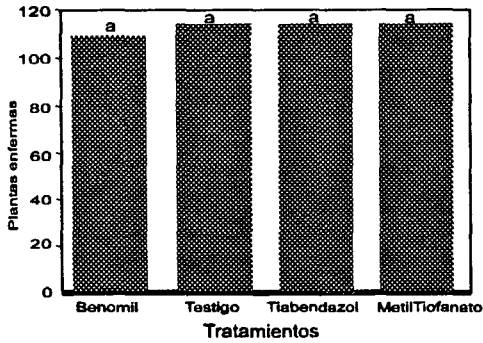


**Figura 9.17.** Efecto del tratamiento al suelo antes de la siembra en el control de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, 340 días después de la misma (Experimento 5). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan.

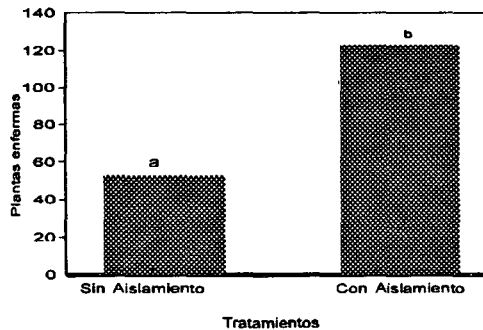


**Figura 9.18.** Efecto del tratamiento del suelo antes de la siembra en la población del hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Experimento 5). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan





**Figura 9.19.** Efecto de los tratamientos al suelo antes de la siembra en la producción de flores (Experimento 5). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan.

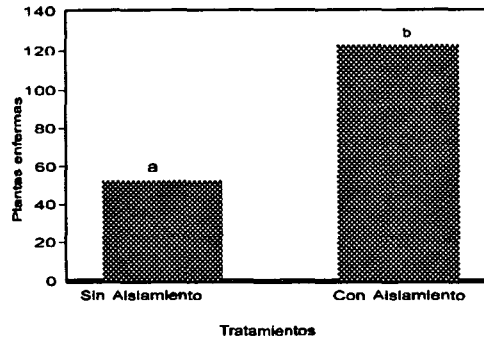


**Figura 9.20.** Efecto del aislamiento y no aislamiento del suelo en el control de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, 340 días después de la siembra (Experimento 5). Promedios con letra diferente son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan

suelo infestado y no disminuyó la incidencia de la enfermedad, la cual fué aún, mayor que en el suelo no aislado (Figura 9.20). Por el contrario, este aislamiento del suelo redujo un poco el desarrollo de las plantas y se obtuvo una cantidad menor de flores, en comparación con las subparcelas en donde el suelo no se aisló.

La aplicación de los fungicidas sistémicos al suelo antes de la siembra y, posteriormente, cada 3 meses no ocasionó una reducción apreciable de la enfermedad, ni redujo la población del patógeno en el suelo, en comparación con el Testigo no tratado (Figura 9.21).

Al realizar correlaciones simples entre las variables, se encontró una correlación positiva y significativa entre la población del patógeno en el suelo y el número de plantas enfermas. Además, se encontró una correlación simple negativa entre la producción



**Figura 9.21.** Efecto de la aplicación de fungicidas sistémicos en el control de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, 340 días después de la siembra (Experimento 5). Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Duncan.

de flores, la población del patógeno en el suelo y el número de plantas enfermas.

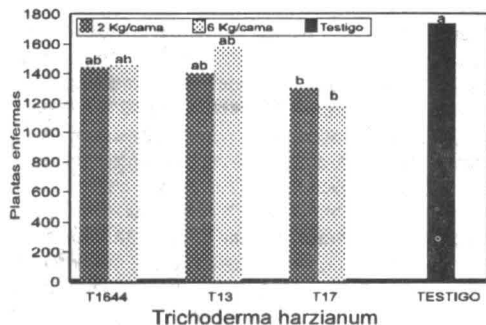
#### Experimento 6.

Los primeros síntomas de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* se observaron a los 56 días después de la siembra.

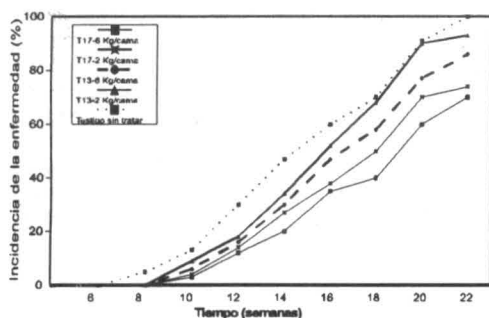
Al principio del experimento, en las diferentes parcelas, las primeras plantas enfermas tuvieron una distribución individual y aislada, pero, luego, la enfermedad fué avanzando progresivamente y, según el tratamiento, se presentaron parches mas o menos grandes, no obstante que, en el momento de erradicar las plantas enfermas, para evitar el avance y la diseminación del patógeno, lo cual no se logró, se hicieron aplicaciones de cantidades altas de *Trichoderma harzianum*.

El aislamiento T 17 de *Trichoderma harzianum* fué el aislamiento más efectivo en las dos dosis utilizadas de los tres aislamientos ensayados (Figuras 9.22 y 9.23). La incidencia promedio de la enfermedad, seis meses después de la siembra, para las parcelas tratadas con el aislamiento T 17, fue de 67,2% para la dosis de 6 Kg/cama, de 75,2% para la dosis de 2 Kg/cama y de 99,7% para el Testigo y estas diferencias fueron altamente significativas a nivel estadístico, al igual que las diferencias con los demás tratamientos.

A pesar del tratamiento del suelo con vapor de agua antes de la siembra a todas las parcelas, la aplicación de los tres aislamientos de *Trichoderma harzianum* y la aplicación suplementaria del aislamiento del hongo, según el tratamiento, en el mo-



**Figura 9.22.** Número de plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, 21 semanas después de la siembra (Experimento 6). Promedios con igual letra no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$ ) para la Prueba de Comparación Múltiple de Tukey.



**Figura 9.23.** Incidencia de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, 21 semanas después de la siembra (Experimento 6)

mento de la erradicación de las plantas enfermas y de la aplicación de Benomil y Carboxin en el Testigo, la incidencia de la enfermedad fué mayor al finalizar el experimento, en comparación con la incidencia en el cultivo anterior.

La población promedio de *Fusarium oxysporum* en el suelo fué de 1.071 ufc/g antes del tratamiento con vapor de agua y de 54 ufc/g después de dicho tratamiento y antes de la siembra.

A los 40 días después de la inoculación, la población de *Trichoderma harzianum* en el suelo se redujo muy significativamente, pero, con diferencias importantes, según el aislamiento aplicado y siendo mayor la reducción en las parcelas Testigo y en las parcelas tratadas con los aislamientos T 13 y T 1644.

## DISCUSION

Los seis experimentos realizados, entre 1983 y 1991, para el control del marchitamiento vascular



**Fotografía 9.1.** Aspecto del bloque tratado con Metan-sodio + Vapor de agua, 270 días después de la siembra.

ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en cinco fincas productoras de clavel estándar en la Sabana de Bogotá mostraron resultados bastante similares en la eficiencia de los diferentes tratamientos, no obstante los distintos niveles de infestación presentes en cada finca y las diferentes variedades utilizadas.

Según los tratamientos y el respectivo experimento, la época de aparición de la enfermedad fué variable, pero, en general, las primeras plantas enfermas se observaron entre los 56 y los 90 días después de la siembra. Las diferencias en los períodos de incubación de la enfermedad parece que se deben a las cantidades de inóculo del patógeno en el suelo, a la variedad sembrada, al tratamiento aplicado y a las condiciones ambientales presentes durante la realización de los ensayos. Los períodos de incubación de la enfermedad observados fueron bastante similares a los que ocurren en siembras comerciales, en suelos de alta infestación por el patógeno.

El mejor control de la enfermedad se obtuvo con la combinación de Metan-sodio + vapor de agua y Dazomet + vapor de agua, seguido, muy cerca por el tratamiento con solo vapor, con el número menor de plantas enfermas, la población más baja del patógeno en el suelo y la mayor producción de flores. Estos resultados coinciden con lo encontrado por algunos investigadores en otros países

(Evans, 1978; Baker, 1980) y demuestran el efecto aditivo de los fumigantes Metan-sodio y Dazomet aplicados unos días antes de la aplicación del vapor de agua al suelo, aunque las diferencias en control con los tratamientos de solo vapor de agua fueron pequeñas y no significativas; sin embargo, los costos de control de esos tratamientos fueron mayores.

La aplicación de diversos fumigantes al suelo no ocasionó una reducción apreciable en el nivel de la enfermedad y en la población del hongo en el suelo, aunque dichos valores fueron mucho más bajos que los observados en los Testigos no tratados. Estos resultados parece que se deben a una desinfección bastante superficial y poco selectiva del suelo y a su rápida recontaminación a partir de sustratos inferiores infestados por el patógeno.

En el Experimento 2, el tratamiento con Metil-isotiocianato, inicialmente, presentó una incidencia de la enfermedad más baja en comparación con el Testigo no tratado, pero el nivel de la afección aumentó en forma bastante rápida y, 240 días después de la siembra, el número de plantas enfermas fué, aun, mayor que en el Testigo. Esto coincide con lo observado por Baker (1980).

En los Experimentos 4 y 5, la aplicación de Dazomet ocasionó una reducción apreciable de la enfermedad que fué superior a los demás fumigantes; esta eficiencia parece estar relacionada con la formulación granulada del producto comercial la cual permite una aplicación fácil y una incorporación profunda del fumigante. Una alta eficiencia con la aplicación de Dazomet fué observada en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* en Florida, por Semer (1987).

Aunque el formaldehído es un germicida efectivo y muy usado en Colombia para lograr un rápido secamiento y erradicación de plantas de clavel afectadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, su efectividad como fumigante en el control de esta enfermedad fué muy baja. La ineficiencia en el control con los fumigantes Metan-sodio y formaldehído fué, también, observada por Dalla Guda *et al* (1982).

La aplicación de diversos fungicidas sistémicos al suelo antes de la siembra y, posteriormente, a intervalos regulares de tres meses no fué efectiva en el control de la enfermedad, no obstante las altas dosis utilizadas y la frecuencia de las aplicaciones. Esta ineficiencia en el control de la enfermedad parece que se debe al comportamiento de los fungicidas bajo condiciones de suelo y al ambiente de la Sabana de Bogotá y no a la resistencia de los patógeno a los fungicidas, como ha sido observado por Tramier y Bettachini (1974) en Francia y por

Leski (1976) en Polonia. La baja eficiencia en el control de la enfermedad con los fungicidas sistémicos utilizados coincide con lo observado por Besemer y McCain (1978) y por Rapetti y Garibaldi (1986), pero no coincide con lo observado por muchos otros investigadores en diferentes países, en donde la aplicación de fungicidas sistémicos, principalmente el Benomil, ha contribuido, de una manera importante, al manejo de la enfermedad (Fletcher y Martin, 1972; Ebben, 1977; Besemer y McCain, 1978; Baker, 1980; Gamboa, 1985, 1986).

En el Experimento 5, el aislamiento del suelo con polietileno no mejoró el control de la enfermedad y, por el contrario, ocasionó un mayor número de plantas enfermas que en el suelo no aislado y presentó una menor producción de flores, debido, posiblemente, a las condiciones de poca aireación y de un menor desarrollo radical. Estos resultados indican, también, que el verdadero aislamiento del suelo, para evitar su reinfestación de sustratos inferiores contaminados, solamente, se logra con el uso de bancos elevados, como se usa en otros países.

La aplicación de diversos antagonistas, tales como *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas putida* y *Serratia liquefaciens*, solos o mezclados con algunos productos químicos no ocasionó un nivel efectivo de control de la enfermedad.

En diversos experimentos, los aislamientos T 13, T 15, T 17, T 18, T 95 y T 1644 de *Trichoderma harzianum*, los cuales tienen un origen diferente, cuando se aplicaron al suelo bajo condiciones de producción comercial, no se observó un nivel aceptable de control. Esta ineficiencia en el control de la enfermedad podría deberse al pH del suelo en donde se desarrollaron los experimentos, el cual bajo condiciones de cultivo comercial de clavel, se procura esté entre 6,5 y 7,0, pues, según Chet (1987), esta especie de hongo tiene un buen desarrollo bajo condiciones de pH ácido. Estos resultados podrían, deberse, también a las condiciones de temperatura muy fluctuantes entre el día y la noche en invernaderos comerciales. La ineficiencia en el control de la enfermedad con *Trichoderma harzianum* es similar a los resultados obtenidos en Italia por Dalla Guda (1986) y por Rapetti y Garibaldi (1986), pero no coinciden con los resultados positivos observados por Mirkova (1983) en Checoslovaquia.

Ruppel *et al* (1983) y Baker y Scher (1987) consideran que los agentes biológicos son más afectados por los factores ambientales que los productos químicos y que el desarrollo de *Trichoderma* es mucho mayor bajo condiciones de climas cálidos que de climas fríos. En experimentos realizados por

Borda (1984) y por Elias y Arcos (1984), se logró un buen control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* en plantas de pepino cohombro con diferentes aislamientos de *Trichoderma harzianum* bajo condiciones controladas y temperaturas entre 22 y 31°C, situación que no ocurre en cultivos de clavel en Colombia.

En el Experimento 6, la erradicación de focos de plantas enfermas, con una dosis de 1,5 Kg de sustrato por foco de los aislamientos T 13, T 17 y T 1644 de *Trichoderma harzianum*, tampoco, resultó positiva para evitar la dispersión del hongo en los focos de plantas afectadas, lo cual, en algunos cultivos comerciales, también, se ha hecho sin obtener éxito.

Scher y Baker (1982), Yuen et al (1985) y van Peer et al (1990) encontraron en Estados Unidos y en Holanda, una reducción apreciable de la enfermedad en clavel con la aplicación al suelo de *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas* sp. Es posible que, en los Experimentos 2 y 3, en donde se aplicó la bacteria *P. putida* + FeEDDHA, los resultados negativos de dicho tratamiento se deban a las condiciones del suelo de textura franco-limosa, con un alto contenido de materia orgánica, pH ácido y altos niveles de hierro disponible que impiden la acción antagonista de la bacteria; ésta se desarrolla muy bien y ocasiona un buen nivel de control en suelos alcalinos con bajos niveles de hierro disponible y se presume que el mecanismo de control de *Fusarium oxysporum* se debe principalmente a una competencia por hierro entre el patógeno y la bacteria antagonista, como lo han demostrado Scher y Baker (1982).

Aunque Sneh et al (1985) encontraron una protección adecuada contra *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* mediante la aplicación de la bacteria *Serratia liquefaciens* a los esquejes de clavel, esta protección contra la infección del patógeno no se logró bajo las condiciones en que se desarrolló el Experimento 4, a pesar de que, cuando se aplicó a los esquejes antes del enraizamiento, se logró que la bacteria penetrara y se translocara sistémicamente en la planta, ya que fué posible reaislarla de las plantas a los nueve meses después de iniciado el experimento.

En el experimento 3, en donde se presentaron en el suelo en forma simultánea, los patógenos *Phialophora cinerescens* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y ocasionaron marchitamientos vasculares, el control de la enfermedad causada por *P. cinerescens* fué más eficiente con la aplicación de Metan-sodio + vapor de agua y de vapor de agua solo antes de la siembra, de manera similar a lo encontrado por Baker en 1980. Sin embargo, el control de esta enfermedad fué inefectivo con las

aplicaciones de *P. putida*, *Trichoderma harzianum* + Benomil y Benomil solo.

La ausencia de *P. cinerescens* en los bloques madres destinados, en la actualidad, a la producción comercial de esquejes de clavel y la alta eficiencia de control con los métodos de desinfección del suelo usados en el experimento 3, parece que son los motivos de la baja incidencia de la enfermedad y su importancia secundaria o su ausencia en diferentes fincas de la Sabana de Bogotá, en comparación con la alta incidencia y gran importancia del marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Alabouvette, C., R. Tramier et D. Grouet. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. VIII. Perspectives d' utilization de la résistance des sols pour lutter contre les fusarioses vasculaires. Ann. Phytopathol. 12: 82-93. 1980.
2. Arbeláez, G. Fungal and bacterial diseases on carnation in Colombia. Acta Horticulturæ 216: 151-157. 1987a.
3. Arbeláez, G. Control of *Fusarium oxysporum* and *Phialophora cinerescens* on carnation by combined soil treatment and application of antagonists. Acta Horticulturæ 216: 77-84. 1987b.
4. Baker, R. and D.J. Phillips. Obtaining pathogen-free stock by shoot tip culture. Phytopathology 52: 1242-1244. 1962.
5. Baker, R. Control of *Fusarium* and *Phialophora* wilt diseases of carnation with systemic fungicides. Colorado Flower Growers Association Bulletin 260: 1-2. 1972.
6. Baker, R. Measures to control *Fusarium* and *Phialophora* wilt diseases of carnation. Plant Disease 64: 743-749. 1980
7. Baker, R., P.E. Nelson and R.H. Lawson. Carnation. p. 507-563. In D.L. Strider (Ed.). Diseases of floral crops. Vol. I. Praeger Publishing. New York. 1985.
8. Baker, R. and F.M. Scher. Enhancing the activity of biological control agents. p. 1-17. In I. Chet (Ed.). Innovative approaches to plant disease control. John Wiley & Sons. New York. 1987.
9. Besemer, S.T. and A.H. McCain. Carnation *Fusarium* wilt: control with soil fumigation and fungicides. Bromides in agriculture 41: 16-18. 1978.
10. Borda, F. Control del marchitamiento del pepino ocasionado por *Fusarium oxysporum* con el aislamiento T-95 de *Trichoderma harzianum*. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1984.

11. Chet, I. and Y. Henis. *Trichoderma* as a biocontrol agent against soilborne root pathogens. p 110-112. In C.A. Parker, A.D. Rovira, K.J. Moore, P.T.W. Wong and J.F. Kollmorgen (Eds.). Ecology and management of soilborne plant pathogens. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 1985.
12. Chet, I. *Trichoderma*. Application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. p. 137-160. In I. Chet (Ed.). Innovative approaches to plant disease control. John Wiley & Sons. New York. 1987.
13. Chet, I. Biological control of soil-borne plant pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatments. p 15-24. In D. Hornby (Ed.). Biological control of soil-borne plant pathogens. CAB International. Wallingford, United Kingdom. 1990.
14. Dalla Guda, C., C. Passiny y F.D. Aquila. 1982. Lotta contro il *Fusarium oxysporum* f.sp.*dianthi* con trattamenti fumiganti distribuiti per bagnatura al terreno. Annali Istituto Sperimentali per la Floricoltura 13: 1-10. 1982.
15. Dalla Guda, C. Esperienze di lotta biologica contro la fusariosa vascolare del garofano. Annali Istituto Sperimentale per la Floricoltura 17: 1-10. 1986.
16. Ebben, M.H. The development of *Fusarium* wilt of carnation in soil with different soil inoculum levels, and disease control with carbendazim. Acta Horticulturae 71: 115-125. 1977.
17. Elad, Y., I. Chet and Y. Henis. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. Phytoparasitica 9: 59-67. 1981.
18. Elad, Y., Y. Hadar and I. Chet. The potential of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent under field conditions. Colloq. INRA 18: 305-310. 1983.
19. Elías, R.A. y O. Arcos. Contribución al estudio del control biológico de *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium* sp. mediante diferentes especies de *Trichoderma*. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1984.
20. Evans, S.G. Evaluation of benomyl drenches for the control of *Verticillium* and *Fusarium* wilt of carnation. Plant Pathology 25: 81-84. 1976.
21. Evans, S.G. Chemicals only a partial answer to carnation *Fusarium* wilt. Grower 89: 113-117. 1978.
22. Filipi, C., G. Bagnoli, M. Volterrani and G. Pissi. Antagonistic effect of soil bacteria on *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Prill. and Del.) Snyder. and Hans. III. Relation between protection against *Fusarium* wilt on carnation and bacterial antagonists colonization of roots. Plant and Soil 98: 161-168. 1987.
23. Fletcher, J.T. and J.A. Martin. Spread and control of *Fusarium* wilt of carnation. Plant Pathology 21: 182-187. 1972.
24. Gamboa, B. S. Selección de técnicas de aplicación para el control químico de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Prill & Del.) Snyder. & Hans. con fungicidas sistémicos. Revista de la Facultad de Agronomía. 61 y 62: 195-198. 1985-1986.
25. Garibaldi, A. Fungal and bacterial diseases on carnation and gerbera. Proceedings of the Eucarpia meeting of carnation and gerbera. Alassio 69-88. 1978.
26. Garibaldi, A., G. Lento y G. Rossi. Indagine sulla diffusione dei patotipi di *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* nelle colture di anticane liguri. Panorama Floricolo 11: 1-4. 1986a.
27. Garibaldi A., F. Brunatti and M.L. Gullino. Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by competitive non pathogenic strains of *Fusaria*. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 51/2b: 633-638. 1986b.
28. Garibaldi, A. and M.L. Gullino. *Fusarium* wilt of carnation: present situation, problems and perspectives. Acta Horticulturae 216: 45-54. 1987a.
29. Garibaldi, A. y G. Rossi. Osservazioni sulla resistenza del garofano nei confronti del *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Panorama Floricolo 3: 5-9. 1987b.
30. Holley, W.D. and R. Baker. Carnation production II. Kendall/Hunt Publishing Co. Debuque. Iowa. 1991.
31. Komada, H. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soils. Review of Plant Protection Research 8: 115-125. 1975.
32. Kreutzer, W.A. Soil treatment. p. 431-476. In J.G. Horsfall and A.E. Dimond (Eds.). Plant pathology. An advanced treatise. Vol. III. Academic Press. New York. 1960.
33. Lahdenpera, M.L. The control of *Fusarium* wilt on carnation with a *Streptomyces* preparation. Acta Horticulturae 216: 85-92. 1987.
34. Leski, B. Occurrence and characteristics of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyder et Hansen strains resistant to systemic fungicides. Acta Horticulturae 30: 195-211. 1977.
35. Locke, J.C., J.J. Marois and G.C. Papavizas. Biological control of *Fusarium* wilt of greenhouse grown chrysanthemums. Plant Disease 69: 167-169. 1985.
36. Marois, J.J. and D.J. Mitchell. Effect of fumigation and fungal antagonists on the relationship of inoculum density to infection incidence and severity in *Fusarium* crown rot of tomato. Phytopathology 71: 1257-1260. 1981.

37. McCain, A.H., L.E. Pyeatt, T.G. Byrne and D.S. Farnham. Suppressive soils reduce carnation diseases. *California Agriculture* 34: 9. 1980.
38. Mirkova, E. Application of *Trichoderma harzianum* Rifai in the control of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* Schl. f.sp. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyder et Hans.) of glasshouse carnations. *Horticultural and Viticultural Science* 20: 61-69. 1983.
39. Pouchet, J. et G. Auge. Migration du benomyl dans les plantes d'oillet cultivées en sol traité et infecté par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Schl.) Sn. et H. *Ann. Phytopathol.* 3: 199-205. 1971.
40. Rapetti, S. and A. Garibaldi. Prove di lotta contro la tracheofusariosi del garofano. *Atti Giornate Fitopatologiche* 2: 395-400. 1986.
41. Rattink, H. Possibilities of cross-protection against *Fusarium* wilt by non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Acta Horticulturæ* 216: 131-140. 1987.
42. Restrepo, F. y C.D. Slotkus. Aspectos diferenciales de claveles susceptibles y resistentes al fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* y el control biológico de éste por *Pseudomonas aeruginosa* y *Trichoderma harzianum*. Facultad de Ciencias. Universidad de los Andes. Bogotá. 1985.
43. Ruppel, E.G., R. Baker, G.A. Harman, J.P. Hubbard, J.P. Hecker and I. Chet. Field test of *Trichoderma harzianum* Rifai aggr. as a biocontrol agent of seedling disease in several crops and *Rhizoctonia* root rot of sugar beet. *Crop Protection* 2: 399-408. 1983.
44. Semer, C.R. Basamid and methyl bromide compounds as fumigants in carnation and chrysanthemum production in selected propagation media. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 100: 330-334. 1987.
45. Sivan, A. and I. Chet. Biological control of *Fusarium* in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Phytopathology* 116: 339-347. 1986.
46. Sneh, B. Use of rhizosphere chitinolytic bacteria for biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in carnation. *Phytopathologische Zeitschrift* 100: 251-256. 1981.
47. Sneh, B., O. Ogami and R. Baker. Biological control of *Fusarium* wilt in carnation with *Serratia liquefaciens* and *Hafnia alvei* isolated from rhizosphere of carnation. *Phytopathologische Zeitschrift* 113: 271-276. 1981.
48. Scher, F.M. and R. Baker. Induction of suppressiveness in soil to *Fusarium* wilt pathogens with *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelate. *Phytopathology* 72: 1567-1573. 1982.
49. Scher, F.M. Biological control of *Fusarium* wilts by *Pseudomonas putida* and its enhancement by EDDHA. p. 109-117. In T.R. Swinburne (Ed.) *Iron, siderophores and plant diseases*. Plenum Publishing Corporation. New York. 1986.
50. Tramier, R. et A. Bettachini. Mise en évidence d'une souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* résistante aux fongicides systémiques. *Ann. Phytopathol.* 6: 231-236. 1974.
51. Tramier, R., C. Antonini and A. Bettachini. Biological control of *Fusarium* wilt of carnation with different *Fusarium oxysporum* strains. *EPPO Bulletin* 18: 13-17. 1988.
52. Van Peer, R., A.J. van Kuik, H. Rattink and B. Schippers. Control of *Fusarium* wilt in carnation grown on rockwool by *Pseudomonas* sp. strain WCS 417r and by Fe-EDDHA. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 96: 119-132. 1990.
53. Yuen, G.Y., M.N. Schroth and A.H. McCain. Reduction of *Fusarium* wilt of carnation with suppressive soil and antagonistic bacteria. *Plant Disease* 69: 1071-1075. 1985.
54. Yuen, G.Y. and M.N. Schroth. Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* by iron competition with an *Alcaligenes* sp. *Phytopathology* 76: 171-176. 1986.