

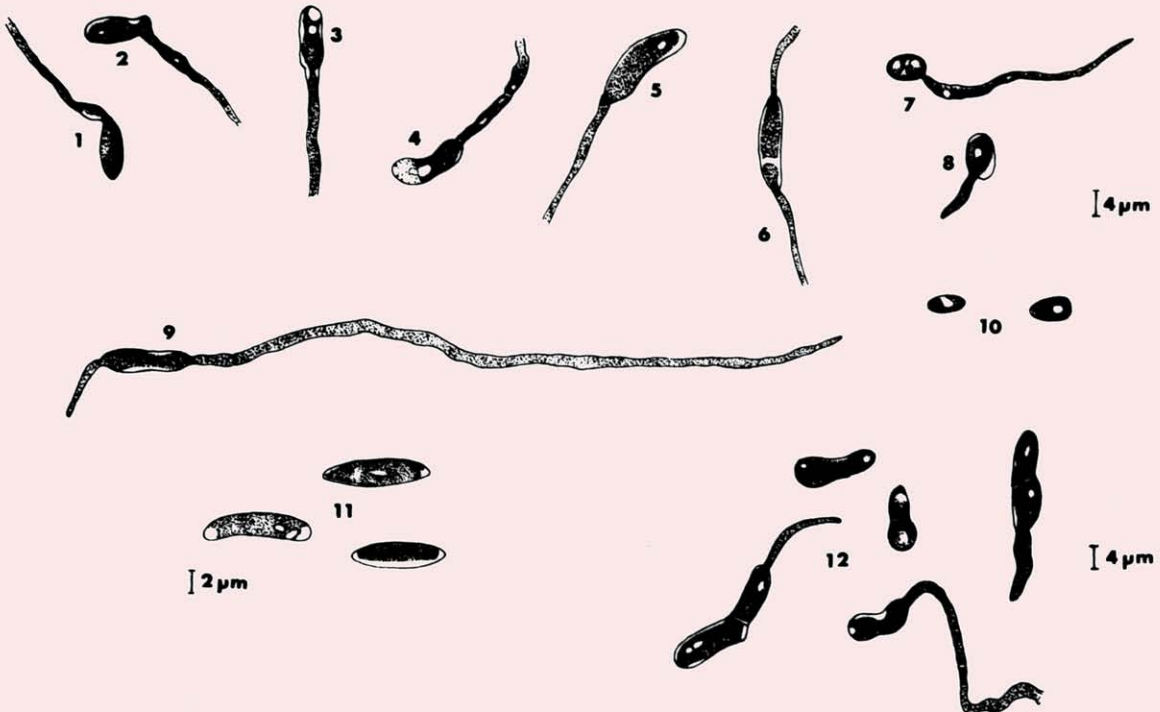
BOLETIN DE SANIDAD VEGETAL

Fuera de Serie - Nº 19 - 1990



FUSARIUM OXYSPORUM EN LOS CULTIVOS INTENSIVOS DEL LITORAL MEDITERRANEO DE ESPAÑA. FASES PARASITARIA (FUSARIOSIS VASCULARES DEL TOMATE Y DEL CLAVEL) Y NO PARASITARIA

J. C. TELLO MARQUINA
A. LA CASA PLASENCIA



MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION
DIRECCION GENERAL DE LA PRODUCCION AGRARIA

Nuestra Portada:
Propágulos de *Fusarium oxysporum* encontrados en un suelo inoculado artificialmente.

Indice

	Pág.
INTRODUCCION	9
MATERIALES Y METODOS	21
1. Análisis de plantas	23
2. Análisis de suelos, sustratos y turbas	24
3. Inoculaciones	25
4. Estudios de <i>F. oxysporum</i> en el suelo y diferentes sustratos	26
5. Estudios de <i>F. oxysporum</i> en el ambiente aéreo	27
Parte I: LA FUSARIOSIS VASCULAR DEL CLAVEL (<i>DIANTHUS CARYOPHILLUS</i>).	
APROXIMACION A SU EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL	29
Introducción: El clavel	31
Capítulo 1: Importancia de la Fusariosis vascular en los cultivos del Sureste Peninsular de España	35
1. Resultados de la encuesta fitosanitaria	35
1.1. Toponimias de las zonas muestreadas. Número de explotaciones prospectadas.	35
1.2. Características de las explotaciones muestreadas	35
1.3. Los análisis de las plantas enfermas	36
1.4. La comprobación del poder patógeno de <i>F. oxysporum</i>	39
1.5. Modulación estacional de la Fusariosis vascular en inoculación experimental.	41
2. Discusión y conclusiones	43
Capítulo 2: Estado sanitario del material vegetal de plantación	47
1. Micoflora asociada a la rizosfera y al «callo» de enraizado en los esquejes antes de su plantación en terreno de asiento	48
1.1. Relación entre la presencia de <i>F. oxysporum</i> en el «callo» y en la rizosfera.	50
2. Aspectos de la infección por <i>F. oxysporum</i> en dos explotaciones productoras de esquejes para plantación	50
2.1. Los <i>Fusarium</i> en la explotación de las Islas Canarias	52
2.2. Los <i>Fusarium</i> en la explotación de la Comunidad Autónoma de Murcia.	56
3. Discusión y conclusiones	58
Capítulo 3: Aspectos epidemiológicos de la Fusariosis vascular en los invernaderos para flor cortada	63
1. Análisis de la infección en una explotación de claveles en la Comarca del Campo de Cartagena	63
1.1. Presentación de algunas características de los invernaderos muestreados.	63
1.2. La micoflora telúrica en los invernaderos. La gravedad de la Fusariosis vascular	63
1.3. Efectos de los diferentes tratamientos de desinfección del suelo sobre la micoflora telúrica	65

1.4.	Recolonización del suelo, la rizosfera, el rizoplano y el xilema caulinar por <i>Fusarium oxysporum</i>	68
1.5.	Discusión y conclusiones	70
2.	Análisis de la infección de una explotación de claveles en Aguilas (Murcia) ...	70
2.1.	Primera aproximación al conocimiento de la infección	71
2.2.	La micoflora Fusarica en los suelos de otros invernaderos de la explotación. La dispersión del muestreo	71
2.3.	La gravedad de la Fusariosis vascular. La imagen de la flora Fusárica en los suelos	73
2.4.	Papel del riego en la dispersión de <i>F. oxysporum</i>	75
2.5.	Discusión y conclusiones	77
3.	Análisis de la infección en una explotación del campo de Dalias (Almería) ...	78
3.1.	Algunas características de los invernaderos estudiados	78
3.2.	Eficacia de la desinfección	79
3.3.	Los estiércoles portadores de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>	80
3.4.	Discusión y conclusiones	81
4.	La resistencia varietal a <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>	81
4.1.	Protocolo experimental	82
4.2.	Resultados	83
4.2.1.	La eficacia de la desinfección	83
4.2.2.	Variaciones de los <i>Fusarium</i> en el suelo a lo largo de la experiencia.	83
4.2.3.	La contaminación ambiental por <i>Fusarium</i>	84
4.2.4.	El ensayo varietal. Su interpretación estadística	84
4.3.	Discusión y conclusiones	94
 Parte II: LA FUSARIOSIS VASCULAR DEL TOMATE (<i>LYCOPERSICON ESCULENTUM</i>). APROXIMACION A SU EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL		101
Introducción: El tomate		103
Capítulo 1: Las micosis vasculares en el Sureste peninsular de España		107
1.	Introducción	107
2.	Resultados de la encuesta fitosanitaria: análisis de la infección por <i>V. dahliae</i> y <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	108
3.	Análisis de la infección en función del comportamiento estacional de <i>V. dahliae</i> y de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	110
4.	Análisis de la infección en función de la resistencia varietal a los micromicetos vasculares	112
5.	Efecto de las desinfecciones del suelo sobre la expresión de las Traqueomicosis.	116
6.	Discusión y conclusiones	116
Capítulo 2: <i>Fusarium oxysporum</i> en el ambiente de los tomates		121
1.	Introducción	121
2.	Presencia de diferentes especies de <i>Fusarium</i> en el ambiente aéreo de un invernadero	121
3.	Presencia de <i>F. oxysporum</i> en los suelos de los tomates	121
4.	Discusión y conclusiones	125
Capítulo 3: Variaciones de los patotipos verticales de <i>F. oxysporum</i> en función de los genes de resistencia a los patotipos introducidos		127
1.	Introducción	127
2.	Origen de los aislamientos de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	128
3.	El poder patógeno de los aislamientos de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	129
4.	Discusión y conclusiones	131

Parte III: LA MICROFLORA DE LOS SUELOS NO CULTIVADOS DE MURCIA ...	133
Introducción	135
Resultados	137
Discusión y conclusiones	139
Parte IV: INDAGACIONES SOBRE LA FASE NO PARASITARIA DE <i>F. OXYSPORUM</i> .	141
Introducción	143
Resultados	144
A) Conservación de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i> en el talco	144
B) Persistencia de microconidios de <i>F. oxysporum</i> en el suelo	145
C) La multiplicación de <i>F. oxysporum</i> y de <i>F. solani</i> en diferentes suelos y sustratos en ausencia de plantas	147
Discusión y conclusiones	155
Parte V: ENSAYO DE SINTESIS Y REFLEXIONES FINALES	159
Referencias bibliográficas	169
Resumen y abstract	179
Fotografías	185

Introducción

Pretende este preámbulo general presentar el punto de vista desde el cual ha sido realizado este trabajo. La concepción general ha tomado cuerpo en aquellas hipótesis y teorías basadas en interpretaciones de datos experimentales, que más se han ajustado a la realidad que se pretendía medir. Han sido, marcadamente, el concepto de *Patosistema* y la concepción de la *Gravedad de una micosis de origen telúrico*.

La presentación de *Fusarium oxysporum* y la descripción del síndrome de las micosis vasculares, que causan algunas de sus especializaciones, también se ha ubicado en esta entrada, por considerar que hilvanan todo el trabajo experimental realizado. Cierran la introducción unas necesarias precisiones sobre el léxico utilizado, que posibilitarán una más ajustada interpretación del texto.

EL PATOSISTEMA CULTIVADO

Cuando, en 1968, VAN DER PLANK explicaba la diferencia entre epidemias provocadas por parásitos obligados y no obligados, centraba, fundamentalmente, aquélla en el medio saprofítico en el que se desarrollan los segundos.

Es decir, un sistema *medio saprofítico-hospedador-patógeno* y otro *hospedador-hospedador-patógeno* difieren por el medio saprofítico, que estabiliza las razas del patógeno. Para el mencionado autor, la especialización parasitaria puede ser, dependiendo de la fuerza de los genes, modificada por el medio saprofítico, de manera que a mayor virulencia (más especialización) más alteración se produce en la patogeneidad durante la *fase no parasitaria* del micromiceto (la fase no parasitaria abarca al saprofitismo efectivo, la dormancia bajo formas esporales de conservación, micelio quiescente, etc.).

El trabajo que se presenta a continuación, fruto de varios años de observación, se acoge, precisamente, a un sistema medio saprofítico-hospedador-patógeno. Y está representado por dos Fusariosis vasculares, una sobre tomate (agente causal *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) y otra sobre clavel (agente causal *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*). Su estudio se inició desde la sugerente propuesta de ROBINSON (1976, 1980), que partiendo de la evidencia de que hospedante y patógeno son componentes, a un tiempo, del mismo sistema, no debería definirse la terminología en función de uno de los componentes, sino en relación con todo el sistema. La propuesta posibilitaría la observación global de las modificaciones habidas en los parásitos de una zona, cuando un concreto gen de resistencia es introducido en el sistema cultivado. El concepto fue desarrollado por ROBINSON (1980) bajo la denominación de *Patosistema*, que definió como un subsistema de un ecosistema delimitado por el fenómeno del parasitismo; y, al igual que en un ecosistema los límites geográficos, biológicos, conceptuales y otros podrían ser especificados como fuere conveniente. Para el mencionado autor, la amplitud del parasitismo es la siguiente: parásito incluye a cualquier organismo que pase la parte principal de su ciclo vital obteniendo nutrientes del hospedador. El término acogería a insectos, ácaros, nematodos, angiospermas parásitas y a todas las categorías de patógenos de plantas y excluiría mamíferos herbívoros y aves que se alimentan de vegetales.

Dos categorías de Patosistemas vegetales han sido diferenciados. Uno denominado *Patosistema natural*, que se autorregula totalmente y es estable como consecuencia de la coevolución de patógenos y hospedadores, que ha posibilitado su supervivencia. Otro es el *Patosistema cultivado*, que contrastando con

vertical y horizontal están gobernadas por los mismos genes, dependientes de los antecedentes genéticos del hospedador y el patógeno. Para este autor, todo gen de resistencia tiene efectos mayores y menores, y los efectos residuales de los genes de resistencia vertical, después de ser remontados por las razas del patógeno, deberían proporcionar resistencia horizontal. Es decir, la resistencia horizontal estaría compuesta por la suma de los «efectos fantasma» de los antiguos genes «verticales», cuyo efecto mayor no sería observable más que después de su fallo total.

En el sentido de los autores antes mencionados, GABRIEL *et al.* (1986), obtuvieron fácilmente mutantes de hongos patógenos de plantas en los que, aparentemente, los genes de resistencia específica (o vertical) fueron alterados o destruidos, sin afectar por ello a la habilidad para parasitar o a la eficacia de la infección, confortando con estos resultados la hipótesis de que la incompatibilidad específica gen-agen se superpone a una «habilidad básica para parasitar». A partir de aquí, los fenómenos de pleiotropía y de epistasia podrían estar dentro de las actividades de los genes de resistencia vertical (o específica) y, por tanto, el término *virulencia* (sensu VAN DER PLANK) estaría inadecuadamente definido para los genes del patógeno que no interaccionan con los del hospedador, al menos, en su expresión fenotípica.

El planteamiento de este trabajo no es suficiente para permitir tomar parte en la controversia, y podrían admitirse de buen grado, puesto que luz aportan los razonamientos propuestos por PARLEVLIET y ZADOKS (1977, 1983) sobre patógenos de evolución aérea como Royas y Oidios de los cereales, en los que ambos autores tienen una larga experiencia. Sin embargo, la teoría general elaborada por VAN DER PLANK (1968), explica muchos casos de resistencia y, desde luego, ha posibilitado la elaboración e interpretación de algunas experiencias presentadas. Elaboración, conceptualmente, sostenida por la visión que proyecta, ampliamente, el contenido del Patosistema dentro del agroecosistema del Sureste Peninsular de España. Hay, en este sentido, una aseveración que se comprueba a lo largo del trabajo, y es la que ROBINSON (1980) denominó suboptimiza-

ción del Patosistema cultivado: «en muchos patosistemas cultivados, el sistema como conjunto se ha deteriorado al intentar mejorar solamente uno de los subsistemas verticales».

GRAVEDAD DE UNA ENFERMEDAD DE ORIGEN TELURICO

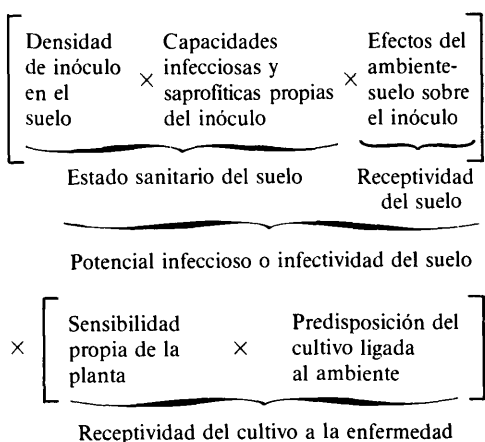
Se explicó anteriormente cómo el sistema estudiado respondía a un modelo hospedador—medio saprofítico— patógeno, y que ese medio saprofítico estaba constituido por el *suelo*. Y es aquí, precisamente, donde los subsistemas del Sureste peninsular estudiados necesitan un comentario explicativo más amplio.

Retomando las ideas de VAN DER PLANK (1968) para un sistema medio saprofítico-hospedador-patógeno, el autor remarca que el medio saprofítico *estabiliza las razas del patógeno*, y arriesgándose más afirma que las razas capaces de oponerse a los genes fuertes de resistencia existentes en el hospedador, pierden una parte de su aptitud a la vida saprofítica: su virulencia acrecentada afecta a su aptitud a sobrevivir en la fase no parasitaria. Pero, hay en estas afirmaciones, un aspecto no suficientemente contemplado que es de gran importancia: *el suelo*. Considerado, hasta bien recientemente, como el «reservorio inerte» donde el inóculo aguardaba el momento de iniciar la infección, se considera, actualmente, como un «ente vivo» sede de interacciones complejas y desconocidas de las poblaciones microbianas que lo habitan (ALABOUVETTE, 1983; LOUVETE y ALABOUVETTE, 1988). Esta interpretación experimental del medio telúrico implica que el suelo es capaz de modular la expresión de las micosis en él originadas, hasta el punto de impedir su manifestación, pese a estar presente el inóculo patógeno, el hospedador sensible y ambiente propicio, como lo patentizan los denominados «suelos resistentes» (ROUXEL, 1978; ALABOUVETTE, 1983; LEMANCEAU, 1988). Por este planteamiento, BOUHOT (1980) tiene razón al escribir: «si el inóculo es indispensable para que haya infección, no es suficiente». Es necesario, por lo tanto, considerar en el sistema medio saprofítico-hospedador-patógeno el suelo desde la óptica

expuesta, puesto que en él realizan su fase no parasitaria los *Fusarium oxysporum* que motivaron las experiencias de este trabajo.

¿Cómo materializar estas ideas que sustentan el concepto de suelo «ente vivo»? El soporte lo proporciona la definición de «*Gravedad de una micosis de origen telúrico*», discutida ampliamente en otro lugar (TELIO, 1984) y sobre la que han vuelto a incidir LOUVET y ALABOUVETTE (1988) recientemente, dándole la siguiente apariencia matemática:

NIVEL DE UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA DEBIDA AL SUELO



La representación en forma de producto quiere indicar que cuando uno de los factores es nulo, el resultado será nulo, es decir, la enfermedad no se manifiesta. Por tanto, cada factor tiene una importancia primordial.

La infectividad de un suelo tiene, en consecuencia, un papel esencial en el desarrollo de las micosis de origen telúrico. LOUVET y ALABOUVETTE (1988) lo explican netamente de la siguiente manera: «un suelo infectado por microorganismos patógenos no es solamente una fuente de infección para el cultivo, sino que es, igualmente, un medio de protección de las plantas contra los microorganismos patógenos, y esto último mucho más de lo que se piensa». Se puede demostrar, añaden los autores, como cada suelo tiene un nivel de *receptividad* más o menos grande a una enfermedad concreta, es decir,

que tiene una capacidad variable para permitir el desarrollo de una enfermedad (los extremos estarían en un «suelo sensible» con una receptividad elevada y en un «suelo resistente» con una receptividad baja o nula).

Procede ahora presentar a los *Fusarium oxysporum* causantes de las micosis vasculares denominadas Traqueofusariosis o Fusariosis vasculares.

LA ESPECIE *FUSARIUM OXYSPORUM* (SCHLECHT) SN. y H.

A) *Un encuadre taxonómico*

El género *Fusarium* LANK se agrupa dentro de la familia-forma de las Tuberculariaceae (Fungi imperfecti) y acoge en su seno a aquellos hongos que producen conidias pluricelulares en forma de huso (de ahí el nombre del género) y/o de «croissant» (ALEXOPOULOS, 1976; MESSIAEN y CASINI, 1968). Los estados perfectos (teleomorfos), cuando se conocen, se incluyen entre los Hypocreaceos (Sphaeriales, Ascomicotina).

Entre los fitopatólogos es tan conocido el género *Fusarium* por su importancia agraria, como por la dificultad existente para diferenciar especies. La elevada variabilidad existente en los aislamientos obstaculiza la identificación de especies, y buen ejemplo de ello lo aporta CARRERA (1954) cuando relata cómo el género *Fusarium* creado por LINK en 1809 en base a *Fusarium roseum*, fue dividido por su autor en cuatro géneros diferentes: *Fusarium*, *Fusisporium*, *Fusidium* y *Atractium*. Y desde entonces, ésta ha sido la tónica que ha acompañado la taxonomía de los Fusaria. Tal vez la clave esté en la observación de TOUSSOUN (1981), que parafraseando a AINSWORTH y BISBY en su obra «Dictionary of the Fungi», escribe: «The rank of species is basic (art. 2) but as there is no objective definition of species for most fungi; what constitutes a species for one taxonomic mycologist may be a genus or a variety for another».

El desacuerdo entre los especialistas del género es una antigua cuestión todavía sin zanjar. Dos reseñas permitirán ilustrar este aserto. CARRERA (1954) se unía a un determi-

nado sistema taxonómico con las siguientes palabras: «En definitiva, vistas las diferentes opiniones sobre el concepto de especie referido a los *Fusarium* y teniendo en cuenta que la subsistencia del único sistema de clasificación creado por WOLENWEBER está amparado por una aceptación y aprobación por parte de una conferencia que sobre los *Fusarium* se realizó en Madison en el año 1924». Veintisiete años más tarde NIRENBERG (1981) se expresaba así sobre la cuestión taxonómica: «En la mesa redonda sobre *Fusarium* que se celebró en Berlín en 1978, fue evidente una y otra vez que las principales diferencias en la consideración de la taxonomía de *Fusarium* (escuela SNYDER y HANSEN contra escuela de WOLLENWEBER) se basan en la practicabilidad de los dos sistemas».

Estas razones hacen aparecer a BOOTH (1975) como excesivamente drástico cuando escribe: «Setenta años de intenso trabajo sobre el género por un elevado número de investigadores, deberían haber sido suficientes para resolver cualquier problema de identificación o patología. Esos problemas, particularmente los de identificación, todavía existentes, pueden ser explicados, en parte, por la variabilidad de las especies de *Fusarium*, subordinada a los cambios en el medio ambiente, y en parte por el hecho de que muchos patólogos nunca miran un hongo». La respuesta podría ser fácil e inmediata, pero en nada simplificaría las importantes dificultades que presentan los *Fusaria* para encuadrarlos en una especie concreta. NELSON *et al.* (1983) han elaborado una clave que intenta recoger, de alguna manera, todas las posturas, incluyendo las extremas, es decir, la de aquellos que consideran que hay más de 90 especies (GERLACH y NIRENBERG, 1982) y la de los que estiman que sólo existen 9 especies (MESSIAEN y CASSINI, 1968).

Y es, precisamente, en la especie *Fusarium oxysporum* donde casi todos los taxónomos están de acuerdo, de manera que con escasas variaciones, los que siguen fielmente la escuela de WOLLENWEBER, como los más apasionados defensores de la escuela de SNYDER y HANSEN, coinciden en afirmar que la sección ELEGANS está compuesta casi exclusivamente por *F. oxysporum*.

B) La sección ELEGANS/ La especie *F. oxysporum*

Es, sin duda, la sección/especie más importante del género *Fusarium* desde un punto de vista fitopatológico. En ella se incluyen la mayoría de las especializaciones que originan las denominadas Traqueofusariosis. Pero no quedan en ellas limitadas sus habilidades parasitarias, y, así, las hay capaces de producir podredumbres radicales, del cuello y de la base del tallo como *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, o, simplemente, las que originan pequeñas necrosis o podredumbres limitadas en el sistema radicular de algunas plantas, y que los autores han ideado incluir en lo que se ha denominado «fatiga del suelo».

Originalmente, WOLLENBEWER y REINKING (1935) subdividieron la sección ELEGANS en tres subsecciones, donde agruparon diez especies y diversas variedades y formas. Tal complejidad, no muy diferente de otras secciones, puede contemplarse en el cuadro 1, elaborado con las variedades, formas y especies que CARRERA (1954) utilizó para identificación en la Argentina y países limítrofes.

Esta forma de organizar la Sección ELEGANS, separando especies según caracteres como esporodoquios, esclerocios, y, sobre todo, por el tamaño de las macroconidias que la dividía en tres sub-secciones (NELSON *et al.*, 1983) da lugar a que no pueda manejarse de una manera práctica. SNYDER y HANSEN (1940) contestaron esta forma de elaborar la taxonomía, practicando la técnica de aislamientos monoconídicos, concluyendo que las distinciones específicas realizadas eran insuficientes: un aislamiento encuadrado en una especie, podía, fácilmente, presentar caracteres de otra; aunque, eso sí, las variaciones estaban dentro de la sección. Esta tremenda realidad es relatada por SNYDER y TOUSSOUN (1965) de la siguiente manera: «El *Fusarium* que produce la marchitez de la sandía, perteneciente a la subsección Constrictum, dio origen a descendencias que caían dentro de las subsecciones Orthocera y Oxysporum, así como a Constrictum. Posteriormente, aislamientos procedentes de sandías infectadas en el campo, mostraron que estos tipos se daban, como tales, en la natu-

Cuadro 1

ESPECIES, VARIETADES Y FORMAS DE LA SECCION ELEGANS (CARRERA, 1954)

Subgrupo (Subsección)	Especie	Varieta	Forma
Orthocera (Esporoquios ausentes Macroconidios: 3-4 × 27-50 μ)	F. conglutinans (F.c.)	F.c.v. betae	—
	F. orthoceras (F.or.)	F.c.v. citrinum	—
	F. angustum (F.a.)	F.or.v. longius	—
Constrictum (Esporoquios presentes Macroconidios: 3-3, 7 × 30-55, 5 μ)	—	F. bulbigenum v. blasticola	—
	—	F. bulbigenum v. niveum	—
Oxysporum (Esporoquios presentes. Macroconidios: 3, 7-5 × 32-47 μ)	F. dianthi	F. vasinfectum	F.v.f3
		v. zonatum	F.o.f8
		F. vasinfectum (F.v.) v. perniciosum	F.o.fl
		F. oxysporum (F.o.) v. nicotianae	F.o.V. aurantiacum fl
		F. oxysporum v. cubense	F.V.V. zonatum fl
		F. oxysporum v. gladioli	
		F. oxysporum v., medicaginis	

raleza y cada uno de ellos era patógeno sobre sandía».

Estas evidencias experimentales llevaron a SNYDER y HANSEN (1940) a incluir a todos los miembros de la sección ELEGANS en una sola especie a la que denominaron *Fusarium oxysporum*, compuesta de numerosos clones, cada uno con rasgos particulares, capaces de variar dentro de límites bien definidos y todos ellos unidos por el carácter común de la forma macroconidial. MESSIAEN y CASSINI (1968), continuadores de las ideas de SNYDER y HANSEN, resaltaron como carácter de la especie *F. oxysporum*, la presencia de clamidosporas y la de «microconidios en falsas cabezas sobre conidióforos cortos». Criterio compartido por BOOTH (1971), GERLACH y NIRENBERG (1982) y NELSON *et al.* (1983) y que sirven para separar *F. oxysporum* de *F. solani*, o si se prefiere las secciones ELEGANS, MARTIELLA y VENTRICOSUM.

BOOTH (1971), SNYDER y HANSEN (1940) y MESSIAEN y CASSINI (1968), mantienen a *F. oxysporum* var. *redolens*, basándose en que tienen macro y microconidios intermedios,

en cuanto a su forma y tamaño, entre las secciones ELEGANS y Martiella. Por el contrario, GERLACH y NIRENBERG (1982) la elevan al nivel de especie, creando *Fusarium redolens* en base a que tienen un modelo de patogeneidad diferente (BOOTH, 1975), incluyendo además en la sección ELEGANS, *F. oxysporum* var. *oxysporum*, F.o. var. *meniscoideum*, *F. redolens* (con *F. redolens* f.sp. *dianthi* y *F. redolens* f.sp. *spinaciae*, amén de un *F. redolens* f.1) y *F. udum* (con una especialidad, *F.u.* f.sp. *crotalariae*). A pesar de estas diferencias, puede considerarse que en todos los autores hay un acuerdo para aceptar el hallazgo de SNYDER y HANSEN (1940), que les permitió asimilar toda una sección de WOLLENBEWER y REINKING (1935) a una sola especie, suprimiendo, por tanto, 10 especies, 18 variedades y 12 formas.

Hasta aquí, el relato se ha sostenido en la variabilidad morfológica de *F. oxysporum* y las vicisitudes históricas reflejadas en la especiación. Nada, sin embargo, se ha detallado sobre la patogeneidad. Patogeneidad que es tanto o más importante que la distinción morfológica, no habiéndose en-

contrado, hoy por hoy, una relación entre ambas.

Los códigos internacionales de nomenclatura no recogen como taxón a las formas especializadas (*formae speciales*), ni a las razas fisiológicas, y ello obliga a que primen decisiones personales, como la que toma ZADOKS (1966) al reconocer como un taxón las especies patógenas caracterizadas por una combinación específica de los genes de virulencia (existencia de una relación gen a gen). MESSIAEN y CASSINI (1968) trataban así la delimitación de las *formae speciales* (f.sp.): «La mayor parte de los autores que han descrito formas especializadas o razas de *F. oxysporum*, definen la forma especializada como el conjunto de cepas que atacan a una especie vegetal, o a lo sumo a varias especies de un mismo género. Las razas biológicas dan cuenta de la especialización sobre tal o tal variedad de una misma especie». Esto no es tan tipificado, y hay excepciones que pueden confirmar esta generalización, así, *F. oxysporum* f.sp. *conglutinans* patógeno sobre crucíferas, ha permitido definir dentro de él a la raza 1 que ataca a la col (*Brassica* sp.), la raza 2 al rabanito (*Raphanus* sp.), la raza 3 al alhelí (*Mathiola* sp.). Algunos autores rechazan esta denominación y prefieren llamar a las razas 2 y 3, formas *raphani* y *mathiolae*. Sin embargo, ARMSTRONG y ARMSTRONG (MESSIAEN y CASSINI, 1968) encontraron para las formas especializadas *raphani*, *conglutinans* y *mathiolae* un hospedante común, la «mostaza gigante rizada» (*Sinapis juncea*). Pero la situación no está ni mucho menos clara, tal vez por ello, recientemente GERLAGH y BLOK (1988), proponían reunir bajo la denominación *F. oxysporum* f.sp. *cucurbitacearum* n.f. a todas las formas especializadas descritas para los miembros de la familia *Cucurbitaceae*, ya que la pretendida especificidad en el poder patógeno que ARMSTRONG y ARMSTRONG (1968) esgrimieron para su separación no se cumple. Existe, no obstante, una cuestión no desdeñable en esta especificidad, y es la de conocer la «habilidad» parasitaria de las formas especializadas. Así, mientras muchas de ellas recogen parásitos estrictamente vasculares (las mencionadas hasta ahora, por ejemplo), otras son causantes de podredumbres radiculares y de tallos,

como *F. oxysporum* f.sp. *lupini* (WEIMER, 1944) o *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (JARVIS y SHOEMAKER, 1978).

Conforme el tiempo ha ido pasando, el número de *formae speciales* se ha ido incrementando, una somera revisión bibliográfica evidencia que, GORDON (1965) aceptaba 66 formas especializadas, MESSIAEN y CASSINI (1968) otras 66, pero con numerosas razas fisiológicas, BOOTH (1971), enumera 72, ARMSTRONG y ARMSTRONG (1981) detallan hasta 77. De la totalidad de formas especializadas, sólo en pocos casos se ha hallado relación con genes de resistencia en los hospedadores. ARMSTRONG y ARMSTRONG (1981) enumeran las correspondientes a los siguientes géneros y especies vegetales: *Musa* sp. y *Mussa balbiana*, *Phaseolus vulgaris*, *Brassica oleracea* var. *capitata*, *Gossypium hirsutum*, *Vigna unguiculata*, *Cucumis sativus*, *Linum usitatissimum*, *Pisum sativum*, *Cicer arietinum*, *Cucumis melo*, *Carthamus tinctorius*, *Ipomoea batatas*, *Lycopersicon esculentum*, *Tulipa gesneriana*, *Citrus Lanatus*.

Este punto de vista sobre la especie *Fusarium oxysporum*, evidencia algo que subyace en todo el trabajo experimental que se presenta. A saber que dicha especie es una amplia entidad morfológica que encierra una gran diversidad biológica, todavía no suficientemente conocida.

C) El síndrome de las Traqueofusariosis

La sintomatología de las Fusariosis vasculares ha sido repetida numerosas veces en la literatura más o menos especializada. La descripción aquí realizada ha sido tomada de MESSIAEN y MAS (1969) y de EL MAHJOUR (1985).

Los *F. oxysporum* vasculares pueden atacar a sus hospedadores en cualquier edad de éstos. Antes de la emergencia, en el estado de plántula, y sobre todo cuando la planta es adulta, en los momentos de la fructificación y de la maduración de los frutos. Al comenzar la enfermedad, ningún síntoma netamente visible puede ser detectado sobre las raíces en que se produce la penetración. El oscurecimiento de las raíces infectadas es un fenómeno tardío, que coincide con el apogeo

de los síntomas foliares y el oscurecimiento de los tejidos leñosos. Síntomas aéreos que pueden ser agrupados en dos tipos básicos. Uno, cuando se produce un *amarilleamiento* progresivo de las hojas, a menudo unilateral en el inicio de la enfermedad, que está precedido por una pérdida de color de las nervaduras, finalizando con una necrosis total o parcial del limbo (es lo que en la literatura inglesa se conoce como «yellows»). El otro tipo de síntomas tiene como exteriorización más llamativa un *marchitamiento* brusco de las hojas —como si a la planta le faltase agua—, a veces irreversible, que evoluciona más o menos rápidamente. En ocasiones este marchitamiento es reversible, pero termina persistiendo, dejando las hojas secas, pero conservando su color clorofiliano desvaído, que da un aspecto gris-verdoso muy llamativo. El síntoma se denomina en la literatura inglesa «wilt».

Hay entre ambos tipos de síntomas situaciones intermedias, en las que se combinan marchitamientos transitorios, acompañados de amarilleamientos y necrosis. Otros síntomas secundarios pueden acompañar al «wilt» y al «yellow»; por ejemplo, las epinastias (inclinación de los peciolo hacia el pie de la planta) y la emisión de compuestos volátiles (el etileno, considerado como la causa de la epinastia).

En el interior de los tallos de las plantas enfermas se observa, en general, un oscurecimiento de las zonas más o menos amplias del tejido leñoso. En algunos casos, este oscurecimiento puede extenderse al parénquima cortical subyacente y aparecer, en el exterior de los tallos, como una estría pardomarrón sobre la que crece el cuerpo fructífero de *F. oxysporum*.

D) *Unas necesarias precisiones terminológicas*

Con este breve apartado se pretende fijar los límites del lenguaje utilizado en el texto, cuando se tratan o emplean las subdivisiones intraespecíficas de hospedadores y patógenos. Siendo consecuencia del punto de vista adoptado, emplear las definiciones dadas por VAN DER PLANK (1978) y ROBINSON (1980).

El *poder patógeno* se expresa por la *virulen-*

cia (patotipo vertical puro) o la *agresividad* (patotipo horizontal puro). O, más frecuentemente, por los dos a la vez. De esta manera, podrá decirse de un parásito que es virulento sobre un hospedante y está dotado de una agresividad más o menos grande; pero, con la necesidad de dejar bien claro cómo un parásito avirulento no permitirá juzgar sobre su agresividad. Por principio, como explican BOMPEIX y COLENO (1984), la no virulencia se expresaría por una ausencia total de enfermedad, mientras que la virulencia lo haría más o menos fuertemente según la agresividad del parásito. Pero una serie de precisiones sobre el término *virulencia* parecen necesarias.

Para las medicinas humana y veterinaria, virulencia significa todos los grados de poder patógeno de una población de microorganismos. Y este significado es bastante común en la Patología Vegetal. Como escriben BOMPEIX y COLENO (1984), aceptar el término en el sentido arriba descrito, significa perder una parte de su significado en otros campos. Así, en su contenido se acogen, para las infecciones animales, los *gérmenes virulentos* que actúan por *viremia* (multiplicación y expansión del parásito en el organismo hospedador) y los que lo hacen por *toxemia* (por difusión de una toxina). Se pierde, por tanto, información en el escrito al no diferenciar entre el efecto de invasión del patógeno y la capacidad o habilidad de éste para producir los daños.

El término *raza fisiológica* está obsoleto para ROBINSON (1969, 1976) y acoge en su seno demasiadas imprecisiones. Para este autor es, sobre todo, sinónimo de *patotipo vertical*. *Patotipo* es aquella población del patógeno formada por los individuos que tienen un mismo poder patógeno. Si el poder patógeno varía según una respuesta de sí o no (o de todo o nada) es un patotipo vertical o específico; mientras que si lo hace según grados es un patotipo horizontal o general. En el primer caso hay una relación gen a gen, en el segundo no. Por simetría se definen *Patodemo* y *patodemos* vertical y horizontal, cuando la referencia explícita es al hospedador.

Finalmente, en el texto se utilizan *cepa* y *aislamiento* como sinónimos. Ambos térmi-

nos representan el resultado de una manipulación de laboratorio: el aislamiento de una spora de un hongo, o de una masa de éstas, en un cultivo puro, independientemente de que éste sea una especie, una variedad, una forma especializada, etc. Y este procedimiento de clonado no asegura, a pesar de que pueda ser monocariótico, un clon en el sentido de la uniformidad en la descendencia que se tiene para los vegetales superiores,

puesto que en hongos la variabilidad puede estar proporcionada por fenómenos de parasexualidad, mutaciones, transposones y plásmidos, por ejemplo.

Las definiciones presentadas son poco tipológicas, pero su uso presta una claridad muy valiosa para transmitir, con más nitidez, aquellas ideas que se obtienen del trabajo experimental que se presenta en las páginas siguientes.

Materiales y métodos

En este apartado se contemplan aquellos métodos y técnicas utilizados en todo el trabajo, pero dada la complejidad de éste y para facilitar la lectura, los materiales y técnicas más precisos y concretos son relatados allá donde su aplicación está más próxima a los resultados obtenidos con ellos. Tal es el caso, por ejemplo, de los mapas con las toponimias muestreadas, de las variedades analizadas o inoculadas, de los códigos de aislados de *F. oxysporum*, etc.

1. Análisis de plantas

Los medios microbiológicos de cultivo empleados para este propósito han sido patata-dextrosa-agar (PDA), preparado en el laboratorio a base de un caldo de patatas, según la receta proporcionada por ECHANDI (1971); su pH ha oscilado entre 6,4 y 6,7 unidades. Y uno selectivo para *Phytophthora* elaborado según la formulación de PONCHET *et al.* (1972); selectividad proporcionada por sulfato de polimixina, penicilina G sódica, benomilo y pentacloronitrobenzeno, añadidas estas sustancias al medio agar-malta.

Los muestreos de plantas sobre síntomas, permitieron seleccionar la parte del vegetal enfermo a analizar, recibiendo un tratamiento previo diferente, según el tipo de lesión a estudiar. Así, en el caso de las necrosis vasculares, los trozos de tallos o peciolo —este último material sólo cuando se trataba de tomate— se lavaban cuidadosamente con agua del grifo y se dejaban secar sobre un papel de filtro limpio. Eliminada el agua de lavado se procedía a su análisis en medio PDA, cortando rodajas de tallo o peciolo de 0,5-1 cm. de espesor, que se depositaban sobre la superficie del medio de cultivo. Las

incubaciones en bancada de laboratorio (rango de temperaturas entre 17 y 27° C) se hacían durante un máximo de 8 ó 15 días, con lecturas periódicas de 48 horas de intervalo.

Si los daños eran podredumbres o cánceres en raíces, cuellos y base de los tallos, el procedimiento después de un lavado cuidadoso y el secado de las porciones a analizar, consistía en analizar sobre dos medios de cultivo la misma alteración, uno general PDA y otro selectivo para *Phytophthora*. La razón de este proceder queda bien patente en el cuadro 2:

Cuadro 2
COMPARACION DE DOS MEDIOS DE CULTIVO PARA EL AISLAMIENTO DE HONGOS ASOCIADOS A LAS PODREDUMBRES DEL CUELLO Y BASE DEL TALLO DE CLAVEL (MURCIA, 1981)

Número plantas analizadas	Medio de cultivo	Hongos aislados (p. 100)
16	PDA	100 <i>Fusarium roseum</i> 50 <i>Alternaria</i> sp.
16	p	81,25 <i>Phytophthora parasitica</i>

Es neto cómo el medio selectivo (P) deja exteriorizarse a *Phytophthora parasitica*, mientras el medio PDA no permite su lectura. Entre las múltiples consecuencias de esta metodología deriva, para el propósito de este trabajo, la de poder valorar más exactamente las tasas de infección por el fomiceto.

El callo de enraizado de los esquejes de clavel se analizó según el siguiente procedimiento. Podadas cuidadosamente las raíces

y la parte aérea, se dejaba el callo con una pequeña porción caulinar del esqueje original. La eliminación del sustrato por lavado energético con agua del chorro y el posterior secado sobre papel de filtro, dejaba al material presto para el análisis.

2. Análisis de suelos, sustratos y turbas

Unas aclaraciones terminológicas previas parecen pertinentes por su incidencia, tanto en la lectura del texto que se presenta como por la influencia que tiene sobre la metodología utilizada.

DOMMERGES y MANGENOT (1970) escribían que es fácil dar una definición teórica de la rizosfera como la zona del suelo en la cual la microflora telúrica sufre la influencia de las raíces. Pero, añadirían, es un hecho que la rizosfera es un microhábitat cuyos límites están muy mal definidos. En este mismo sentido se han decantado numerosos autores, entre otros, POCHON y BARJAC (1958), POCHON y TARDIEUX (1962) y BAREA y AZCON-AGUILAR (1982). De manera general se consideran dos zonas en la rizosfera, como consecuencia de no ser una región homogénea, puesto que existe un gradiente de estimulación de los microorganismos desde la propia superficie de la raíz hasta 1-2 mm. donde ya el efecto es mínimo (BAREA y AZCON-AGUILAR, 1982). Se acepta comúnmente que la *rizosfera* «sensu stricto» es la fina capa de suelo que se adhiere a las raíces —aunque algunos autores distinguen rizosferas próxima y lejana o edafosfera (POCHON y BARJAC, 1958)— y como tal ha sido analizada en este trabajo. La otra zona de la rizosfera es la que se ha dado en llamar *rizoplano* o *rizoplana*, constituido por la superficie de la raíz y los microorganismos que en ella viven. Todavía, BAREA y AZCON-AGUILAR (1982) describen una tercera región a la que denominan endorizosfera, y que la forman los tejidos corticales de la raíz invadidos y colonizados por microorganismos saprofitos y simbióticos.

La tierra rizosférica analizada en este trabajo corresponde a la definición de la rizosfera «sensu stricto», y ha sido recogida tal y como detallan ALABOUVETTE (1983) y LEMANCEAU (1988): arrancadas cuidadosa-

mente las plantas para que la tierra adherida a las raíces no se pierda, ésta una vez desprendida del sistema radicular se constituirá en la muestra a analizar.

Cualquier muestra de suelo sufría después el mismo proceso de secado, molienda y tamizado, según la normativa elaborada por ROUXEL y BOUHOT (1971), CAMPROTA y ROUXEL (1977).

Las muestras prestas así para su estudio se analizaban según dos procedimientos diferentes. Uno por la denominada técnica de diluciones-suspensiones tal como la describe RAPILLY (1968); otro, según el procedimiento de WARCUP (1960). En el primer caso el suelo se añade al medio agar-malta acidificado con ácido cítrico en forma de suspensión en agua estéril; en el segundo, el suelo se incorpora al medio selectivo para *Fusarium*, ideado por KOMADA (1975), mantenido en estado de fusión, pero próximo a la temperatura de solidificación.

La técnica de suspensiones-diluciones se ha empleado a lo largo del trabajo, fundamentalmente, para conocer la proporción o relación cuantitativa de los *Fusarium* con respecto a otros hongos habitantes o presentes en el suelo. Después de numerosos análisis, ha sido posible concluir como lo hace ALABOUVETTE (1983) en el sentido de que es una técnica que se adapta mal a los estudios de la evolución de poblaciones de hongos filamentosos, pudiéndose considerar que los resultados analíticos son diferentes (hay una diferencia significativa) cuando la razón entre ellos es superior a tres. Es necesario recordar que la técnica de suspensiones-diluciones, basada en la numeración de las colonias es imprecisa como comentan LOPER *et al.* (1984) y LEMANCEAU (1988), pues entre otras causas, la mayoría de las colonias proceden de esporas y no de fragmentos miceliares (DOMMERGES y MANGENOT, 1970), y, además, sólo deja exteriorizarse un grupo de hongos telúricos, de modo que en nuestros análisis ha sido patente la ausencia de hongos como *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. y otros, aislados por diferentes procedimientos. Por otro lado, este tipo de análisis necesita un volumen de material y trabajo importantes, imposibilitando la realización de varias repeticiones. Estas razones expuestas jus-

tifican que los resultados deberán tomarse con prudencia, a pesar de que cada muestra ha sido analizada y valorada por tres diluciones sucesivas.

La adición del suelo al medio fundido de KOMADA (1975) se ha empleado para estudiar la dinámica de las más frecuentes especies de *Fusarium*. Sin embargo, no carece de errores la técnica. En diferentes lugares del trabajo que se sigue podrá apreciarse cómo algunas especies de *Fusarium* están presentes en el medio agar-malta acidificado y no lo están en el selectivo, y esto ocurre con cierta frecuencia para *F. oxysporum*, precisamente la especie para cuyo aislamiento del suelo fue diseñado el medio de cultivo. Este efecto del medio KOMADA podría interpretarse como una selectividad sobre ciertas especies de *Fusarium*, o incluso sobre ciertos tipos de propágulos en el suelo. Estas observaciones, que pretenden ser un aviso a la hora de interpretar los resultados, se han esquematizado en el cuadro 3.

3. Inoculaciones

Dos técnicas de inoculación han sido ensayadas para proceder a la infección artificial de las plantas. Una consistente en sumergir las raíces de las plantas en una suspensión de propágulos del hongo en agua destilada, durante un tiempo de 30 minutos; otra, basada en introducir el inóculo mediante un riego a la superficie del sustrato donde crecían los hospedadores.

A tal efecto, y para disminuir la dispersión en los experimentos, se procedió a definir

una «unidad de inóculo», empleada en todas las inoculaciones presentadas. Su elaboración fue como sigue: se trituraba en 100 ml. de agua destilada el cultivo de la cepa monospórica a estudiar, crecida en 18 ml de PDA, en placa Petri de 9 cm. de diámetro, hasta conseguir una suspensión uniforme. El hongo incubado en estufa (25-26° C) tenía diferente tiempo de crecimiento (las variaciones no alcanzaron nunca más de 48 h.), pues se aguardaba el momento en que el micelio tocaba las paredes de la placa. Las concentraciones de propágulos conseguidas por este procedimiento oscilaron entre 10^3 y 10^4 propágulos/ml.

Esta «unidad de inóculo» se aplicaba siempre a 10 plantas, bien fuese sumergiendo sus raíces, bien regando la superficie de 8 dm³ de sustrato, donde los hospedadores habían alcanzado el estado fenológico predeterminado para la experiencia. Fenología que, en el caso del tomate, correspondía al estado 4-5 hojas verdaderas bien desarrolladas, y, en el clavel, cuando comenzaba a formarse el entrenudo del brote floral de la yema terminal. Desde la inoculación hasta el final del experimento transcurrían entre 35 y 45 días; las excepciones en el texto.

Los sustratos empleados para las experiencias de infección artificial fueron o vermiculita desinfectada en autoclave (1 h., 120° C) o una mezcla de invernadero (en volumen, 1/3 turba, 1/3 arena de río lavada, 1/3 mantillo) desinfectada con generador de vapor de agua (1 h., 100° C, aproximadamente).

Las condiciones ambientales en las que se desarrollaron las inoculaciones fueron siem-

Cuadro 3

AISLAMIENTOS DE *FUSARIUM* DEL SUELO. COMPARACION DE DOS MEDIOS DE CULTIVO, APLICADOS A LA MISMA MUESTRA DE SUELO DE INVERNADERO CULTIVADO CON TOMATE. MURCIA. CAMPAÑA 1987-1988

Tipo de análisis aplicado	Medio de cultivo empleado	Núm. propágulos/g. de suelo			
		<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. dimerum</i>
Suspensiones-diluciones	Agar-malta (*)	4.000	6.000	1.000	36.000
Técnica de WARCUP	Selectivo (KOMADA, 1975)	—	—	—	—

(*) Acidificado con ácido cítrico.

pre, excepto cuando se indica, las siguientes: iluminancia de 3000-5000 lux, aplicada con un fotoperíodo diario de 16 h/día; la temperatura oscilaba entre 27 y 29° C; la humedad relativa ambiental variaba desde el 95-98 por 100 durante el período de oscuridad, hasta el 45-50 por 100 cuando la iluminación simulaba al día.

La ordenación, según su agresividad, de los aislamientos de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* se hizo de acuerdo a la escala diseñada por PINEAU (1976), que agrupaba las plantas según la gravedad de los síntomas, y que sólo se ha aplicado para la inoculación por inmersión de raíces. Las clases establecidas fueron las siguientes:

Clase 1.—Cuando el porcentaje de plantas enfermas y/o muertas estaba comprendido entre el 25 y 75 por 100, antes del 10.º día después de la inoculación.

Clase 2.—Cuando el porcentaje de plantas enfermas y/o muertas oscilaba entre el 25 y 75 por 100, antes del día 15 después de la inoculación.

Clase 3.—Cuando el porcentaje de plantas enfermas y/o muertas estaba comprendido entre el 25 y 75 por 100 y se alcanzaba entre los 10.º y 30.º días después de la infección artificial.

Clase 4.—Cuando el porcentaje de plantas enfermas y/o muertas estaba comprendido entre el 25 y el 75 por 100 entre los días 15 y 20 después de inocular.

Clase 5.—Cuando entre el 25 y el 75 por 100 de las plantas enfermaron y/o murieron entre los días 15 y 30 después de la inoculación.

Clase 6.—Cuando menos del 25 por 100 de las plantas exteriorizaron síntomas después de transcurridos 25 días desde la inoculación.

4. Estudios de *F. oxysporum* en el suelo y diferentes sustratos

4.1. *Preparación del inóculo*.—Una suspensión de conidias de diferentes formas es-

pecializadas de *F. oxysporum*, de *F. oxysporum* no patógenos y de *F. solani*, obtenida por lavado de un cultivo sobre medio agarizado, era utilizada para sembrar los matracos que contenían 150 ml. de medio líquido a base de malta al 1 por 100. Después de 8 días de incubación a 22° C, el medio de cultivo se eliminaba por centrifugación, y los propágulos se recuperaban en una suspensión en agua, procediéndose a su mezcla con el talco a razón de 1 ml. de la suspensión por 2 g. de talco. Después del secado en una estufa con aire forzado a una temperatura de 20° C, el talco se homogeneizaba con una batidora, y una vez efectuado el tamizado era conservado en seco al ambiente del laboratorio.

Antes de proceder a su utilización, la densidad del inóculo era determinada por un análisis microbiológico, basado en el principio de suspensiones-diluciones. Los talcos obtenidos por este procedimiento tienen, normalmente, de 10^5 a 10^7 propágulos/g.

4.2. *Observaciones microscópicas*.—Se realizaban con el microscopio óptico a 600 aumentos, después de la coloración con azul de anilina al 0,01 por 100 en lactofenol; 30 mg. de talco o 100 mg. de suelo se añadían a 1 ml. de agua estéril. Seis gotas de esta suspensión eran depositadas en la superficie de una fina capa de agar-agua, solidificado, al 1,5 por 100. Los fragmentos del agar-agua correspondientes al perfil de cada gota, toda vez que el agua se había evaporado, se recortaban y colocaban en un portaobjetos. Añadido el colorante, se instalaba el cubreobjetos y la preparación se calentaba dulcemente con objeto de fundir el agar, obteniéndose con este procedimiento una fina y homogénea instalación del talco o del suelo. La misma técnica se utilizó para determinar el porcentaje de germinación de los propágulos, después de su incubación sobre agar-agua o en el suelo.

4.3. *Observaciones de propágulos en suelos y otros sustratos*.—Con el fin de observar la germinación de propágulos en diversos sustratos, abonados o no con glucosa, o bajo la influencia de la raíz de una plántula, se adoptó el dispositivo modificado de SMITH (1977), que se ha esquematizado en la figura 1. En

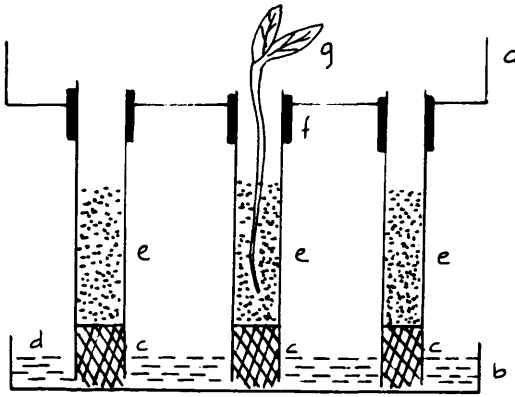


Fig. 1.—Dispositivo experimental adoptado para estudiar las variaciones de *F. solani* y *F. oxysporum* en el talco y en el suelo, con y sin raíz de plántula.
 a, b: placa de Petri de plástico (9 cm. de diámetro).
 c: esponja que permite una humedad constante del talco, suelo o sustrato a estudiar.
 d: agua estéril.
 e: tubo de vidrio estéril de 0,5 cm. de diámetro y 4-5 cm. de longitud.
 f: abrazadera de caucho para ajustar la firmeza de los tubos.
 g: plántula.

cada tubo se depositaba una cantidad de suelo o sustrato (0,1 a 0,5 g.). Después del tiempo de incubación se procedía a su observación microscópica, tal y como se indicó en el apartado anterior. En otros casos, la incubación de los *Fusaria* a estudiar no se hacía por el procedimiento descrito, indicándose las modificaciones en el lugar del texto correspondiente.

5. Estudio de *F. oxysporum* en el ambiente aéreo

Las «trampas» utilizadas estaban constituidas, en su unidad más sencilla, por una placa de Petri de 8,5 cm. de diámetro, en la que se habían vertido 25 ml. de medio selectivo para *Fusarium* (KOMADA, 1975). La cantidad añadida de medio estaba justificada por la importante deshidratación que se producía en el transcurso del tiempo de exposición, que coincidía con horas de fuerte insolación y altas temperaturas (entre las 11,00 y las 17,00 h.).

Parte I

**La «Fusariosis vascular» del clavel
(*Dianthus caryophyllus*)**

Aproximación a su epidemiología y control

INTRODUCCION: EL CLAVEL

Parece que San Luis, rey de Francia, utilizó el clavel para curar a sus cruzados de la epidemia que los diezmaba. Por razones de esta índole no sorprende la afirmación de ALBERTOS y ODRIÓZOLA (1976), quienes atribuyen el nombre de clavel, en nuestro idioma, a su uso como sucedáneo de la especia comúnmente conocida como clavo (obtenida del clavero o árbol del clavo, *Caryophyllus aromaticus* de la familia Mirtaceae).

Botánicamente pertenece a la familia Cariofilaceae (Dicotiledoneas, Dialipétalas), que encierra a tres subfamilias, entre ellas la Silenoida que comprende el género *Dianthus*, tomado como tipo para dar nombre a la tribu Diantheae (EMBERGER, 1960). *Dianthus* vendría a significar en su traducción del griego «flor divina».

MOREAU (1957) escribe una interesante historia de los claveles, de la que se tomarán algunos párrafos que explican, un poco, la obtención de las variedades/cultivares (1) con los que se ha elaborado el trabajo experimental aquí presentado. Es lugar común aceptar que los claveles son originarios de Asia Menor, Persia o de la India; aunque, actualmente, el género *Dianthus* está bien establecido en las costas mediterráneas, hasta el punto de escribir PONZ ASCASO (1975-1976), «hoy día se admite que el genocentro o centro de distribución del género se encuentra en el Mediterráneo». Comprenden los *Dianthus* unas 300 especies, de las cuales unas treinta se

(1) Se utilizará, indistintamente, los términos variedad (var.) o cultivar (cv.), ambos de uso corriente en el lenguaje especializado, como sinónimos, aunque cultivar califica con más precisión las obtenciones hortícolas y frutícolas, frente al más común empleo botánico de variedad.

emplean en jardinería, siendo de *Dianthus caryophyllus* de la que proceden los claveles cultivados para la explotación de su flor. Dicha especie fue, posiblemente, seleccionada por su agradable perfume, la belleza de sus flores y por su floración prolongada.

Aparejada con el cultivo, la selección varietal en diferentes naciones europeas, alcanzó un auge enorme en los siglos XVI, XVII y XVIII. En 1676 existían en Francia trescientas variedades (136 de color violeta, 71 rojas, 33 encarnadas, 2 rosas, 6 blancas, etc.). Los actuales cultivares de clavel, relatan MOREAU (1957), HOOPER (1974) y PONZ ASCASO (1975-1976), se obtuvieron de la siguiente manera: Los danti-cultores de Lion (Francia) buscaban unas variedades de clavel con floración «remontante» (2) para asegurarse un abastecimiento floral durante los meses invernales. En el sur de Francia existía un clavel leñoso (*Dianthus lignosus*), que era vivaz y florecía durante el invierno. A un floricultor lionés se le ocurrió cruzar ambas especies, trocando su esfuerzo en la obtención de un clavel reflorescente al que se dio en llamar «Clavel de Niza». HOOPER (1974) afirma que hay evidencias, de fechas anteriores, según las cuales existían en Francia claveles del mismo comportamiento floral, denominados claveles de Mahón. Los floristas franceses establecidos cerca de Nueva York importaron estas variedades «remontantes» y empezaron a realizar sus selecciones, de las que obtuvieron los American Tree Carna-

(2) La expresión gala «remontant» podría ser asumida, literalmente, como «volver a subir» o, incluso, «reanimarse», que traducido al lenguaje técnico para la floración del clavel significaría «con floración continua», o, como lo califican BORNAS y DE URCULLU (1953) y ALBERTOS y ODRIÓZOLA (1976), «reflorescentes». Adjetivo que más correctamente se escribiría «reflorescentes» (Diccionario del uso del español de M. MOLINER, 1981).

tion, conocidos como «clavel americano». El proceso —históricamente más complejo que esta simplificación— desembocó en dos grupos de variedades.

— *El clavel de Niza*: generalmente de gran corola, con pétalos rizados y laciniados, con cáliz corto, en campana, hendido, que sostiene mal la gran corola, que cae y lo cubre. El tallo carece de rigidez y se dobla bajo el peso de la flor.

— *El clavel americano*: de corola más pequeña, pero mucho más regular gracias al cáliz cilíndrico y no hendido que sostiene unos pétalos planos, normalmente enteros, bien dispuestos, con los colores puros. Su tallo es rígido, esbelto, con amplios entrenudos y largas ramificaciones.

La primera variedad de clavel americano obtenida fue la denominada William Sim, hecho acaecido en 1938 (HOOPER, 1974). Su introducción en Europa, según PONZ ASCASO (1975-1976) ocurrió en 1947. La hibridación posible dentro de *Dianthus caryophyllus* hizo factible los cruzamientos entre claveles americanos y de Niza, y a los cuarenta años de aparecida la var. William Sim se habían registrado más de 200 cultivares (PERESSE, 1975). En la actualidad se continúan produciendo nuevas variedades, con un criterio preponderante: el gusto del mercado por la novedad. Novedad posible no sólo a las hibridaciones clásicas, sino, fundamentalmente, a la irradiación ionizante (rayos X, rayos γ , neutrones rápidos) capaz de provocar la aparición de *quimeras* cuyos caracteres son mantenidos por multiplicación vegetativa (PEREAU-LEROY, 1965).

Actualmente, los claveles reflorescentes se agrupan tal y como lo hacen ALBERTOS y ORDRIOZOLA (1976):

— Claveles americanos, tipo «standard» o tipo «SIM».

— Claveles «multiflora» o de ramillete o «mini».

— Claveles reflorescentes europeos, de los que derivan los actualmente denominados «mediterráneos».

Desafortunadamente, el buceo bibliográfico para encontrar referencias escritas del cultivo del clavel en España ha producido magros frutos. Tal vez la decepción haya sido más desproporcionada de lo esperable. Espe-

ranza, sin duda, inflada por la imagen transmitida por los autores románticos del siglo XIX y plasmada durante todo lo que va de la actual centuria, en carteles taurinos y festivos donde el clavel parece la única flor capaz de adornar desde una mujer hasta un ataúd. Pero algunas notas, bien pintorescas por cierto, pueden ser esbozadas en base a los trabajos hallados, algunos de los cuales carecen hasta de fecha de edición, posiblemente por un estilo editorial más que por otra razón.

Previsiblemente, durante el primer decenio de nuestro siglo, GARZÓN RUIZ y la Enciclopedia Universal Ilustrada Europeo-Americana entre 1923 y 1931 se explicaban así sobre las variedades de clavel en España: A la especie *Dianthus caryophyllus* se la denomina «Clavel de los floristas», derivando de ella los siguientes grupos, claveles *granadinos* o de *ratafia*, así llamados por comprender el grupo de los más perfumados y emplearse para colorear y aromatizar licores; los *claveles flamencos*, que recoge a todos los claveles regulares en su forma, con los pétalos anchos perfectamente redondeados, no festoneados y con bandas de colores diversos sobre un fondo blanco; los *claveles de fantasta*, subdivididos a su vez en claveles *alemanes e ingleses* y los *claveles de carta, prolíferos o reventones*, que tienen la flor tan grande que el cáliz se raja por un lado en vez de abrirse con regularidad, y por la hendidura salen una porción de pétalos afeando la flor, aunque este tipo de *clavel doble* tuviese sus partidarios fue utilizado bajo la denominación «Flores Tunicae vel Caryophyllorum rubrorum» como cordial y sudorífico o diaforético en forma de jarabe. Otra clasificación coetánea, agrupaba los claveles en *clavellinas* o *clavelinas*, *claveles* y *serretas*, según la morfología floral y la manera de reproducción. No tan lejano en el tiempo, y enumerando variedades de clavel americano, BORNAS y de URCULLU (1942 y 1953) propone la siguiente clasificación: a) *claveles americanos o perpetuos*, b) *claveles margaritas*, con floración estival, c) *claveles típicamente reflorescentes* y d) *claveles denominados «Souvenir de la Malmaison»* (3).

(3) Bajo esta denominación, MOREAU (1957) recoge la obtención de un horticultor de Levallois-Perret (Francia) a partir del cruzamiento de *D. caryophyllus* por *D. lignosus*. Es decir, un tipo del denominado «clavel de Niza».

No es posible, con estas descripciones, saber qué correspondencia existe con las precisas definiciones europeas para los tipos, especies y cultivares de clavel. Hay que esperar a las distinciones que de un modo genérico hace PONZ ASCASO (1975-1976), para intentar comprender este colorista vocabulario hispano. Escribe el mencionado autor que dentro de *Dianthus caryophyllus* —e independientemente de los «Pinks» o claveles de jardín derivados de *Dianthus plumarius*— se distinguen varias formas según su manera de crecer y modo de cultivo: «*border carnation*», «*claveles anuales*» y «*claveles reflorecientes y remontantes*». Los primeros, utilizados en la ornamentación de jardines, cuya reproducción normalmente se hace por esquejado; los «claveles anuales» son los denominados comercialmente «*oeillet margarite*», «*Chabaud*», etc., siendo su reproducción habitual mediante semillas y su cultivo anual; el último grupo está constituido por los claveles cultivados hoy en día para flor cortada, bien sea en invernadero o al aire libre, de los que ALBERTOS y ODRIOZOLA (1976) dan una clasificación recogida anteriormente.

Aunque en 1942, BORNAS y de URCULLU citase como variedades de clavel americano o «SIM» a White Perfection, Windsor y Beacon, no hay en su trabajo una indicación de que su

cultivo se hiciera en España. Como tampoco la hay en su más extensa obra del año 1953. PONZ ASCASO (1975-1976 y 1988, com. person.), siguiendo la tradición oral recogida en el Maresme de Barcelona, opina que durante la primera mitad de la actual centuria, se cultivaban en dicha comarca los claveles reflorecientes europeos comúnmente denominados «*anitas*» no pareciendo pura coincidencia la existencia de las variedades Anita Rosa y Anita Rojo, que BORNAS y de URCULLU (1953) agrupaba entre los «claveles reflorecientes europeos». Personalmente, hemos podido escuchar el relato de quien afirma ser el primer introductor y cultivador de las variedades «Sim» o americanas en Murcia, hecho acaecido en 1966. Fecha no muy lejana de los cultivos en invernadero estudiados en Almería, comenzadas en 1969-1970. Esta historia varietal sirva para formarse una idea del arraigo cultural en las zonas muestreadas, en contraste con la enorme tradición de dos zonas geográficamente próximas como son la Costa Azul francesa y la Ribera de las Flores italiana. Y es importante retener este dato, por cuanto el poder limitante de la «Fusariosis vascular» va a eliminar no pocas posibilidades de permanencia del cultivo en un mismo suelo.

CAPITULO 1

IMPORTANCIA DE LA «FUSARIOSIS VASCULAR» EN LOS CULTIVOS DE CLAVEL DEL SURESTE PENINSULAR DE ESPAÑA

1. Resultados de la encuesta fitosanitaria

1.1. *Toponimias de las zonas muestreadas. Número de explotaciones prospectadas*

Atendiendo sólo a las plantaciones establecidas, desde marzo de 1980 hasta agosto de 1982 se analizaron plantas de 66 explotaciones, de las cuales el 91 por 100 eran invernaderos de cristal o plástico y el resto cultivos al aire libre. La selección se hizo en función de la proporción de las superficies cubierta y no protegida. La figura 2 recoge las provincias de las que procedían las plantas analizadas, a saber: Alicante, Almería, Ciudad Real, Guipúzcoa, Murcia, Valencia y Vizcaya. En la figura 3 se sitúan los términos municipales donde se ubicaron las parcelas más intensamente estudiadas. Falta la provincia de Tenerife, en las Islas Canarias, donde se pormenorizó un trabajo sobre vías de contaminación por *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* (Fod) por haber comenzado las observaciones periclitado el periodo de prospección arriba señalado, pero su estudio se dilató hasta cuatro años después de las fechas mencionadas.

1.2. *Características de las explotaciones muestreadas*

Del total de 66 explotaciones prospectadas, repartidas fundamentalmente en las provincias de Alicante, Murcia y Almería —a las que se hará referencia en conjunto como

Sureste peninsular español— varias notas distintivas podrían subrayarse, que inciden sobre las micosis encontradas:

A) Del total de invernaderos sólo cuatro (6 por 100) tenían una antigüedad de cultivo de 11 años, entre los que se intercalaron o una rotación con crisantemos o con gladiolos, con una duración máxima de once meses. Por el contrario, 42 explotaciones (64 por 100) soportaban su primer cultivo, con una duración normal de 20-24 meses, aunque éste se prolongaba hasta tres años en dos cierros plásticos de la provincia de Alicante.

B) A pesar de la juventud del cultivo, incluida la virginidad para el clavel de muchos suelos, las desinfecciones del terreno se han practicado abundantemente.

Desinfección con metam-sodio (50 por 100 de m.a.)	56 por 100
Desinfección con bromuro de metilo	6 por 100
Desinfección con vapor de agua.	3 por 100
Desinfección con metam-sodio + bromuro de metilo	1 por 100
Sin desinfección	13 por 100
Sin información	21 por 100

Es decir, que 66 por 100 de las explotaciones recibieron algún tratamiento de desinfección dirigido al suelo, aunque el 64 por 100 realizaban su primer cultivo.

C) En la mayoría de los casos el material vegetal de la plantación procedía de productores especializados en la obtención de es-

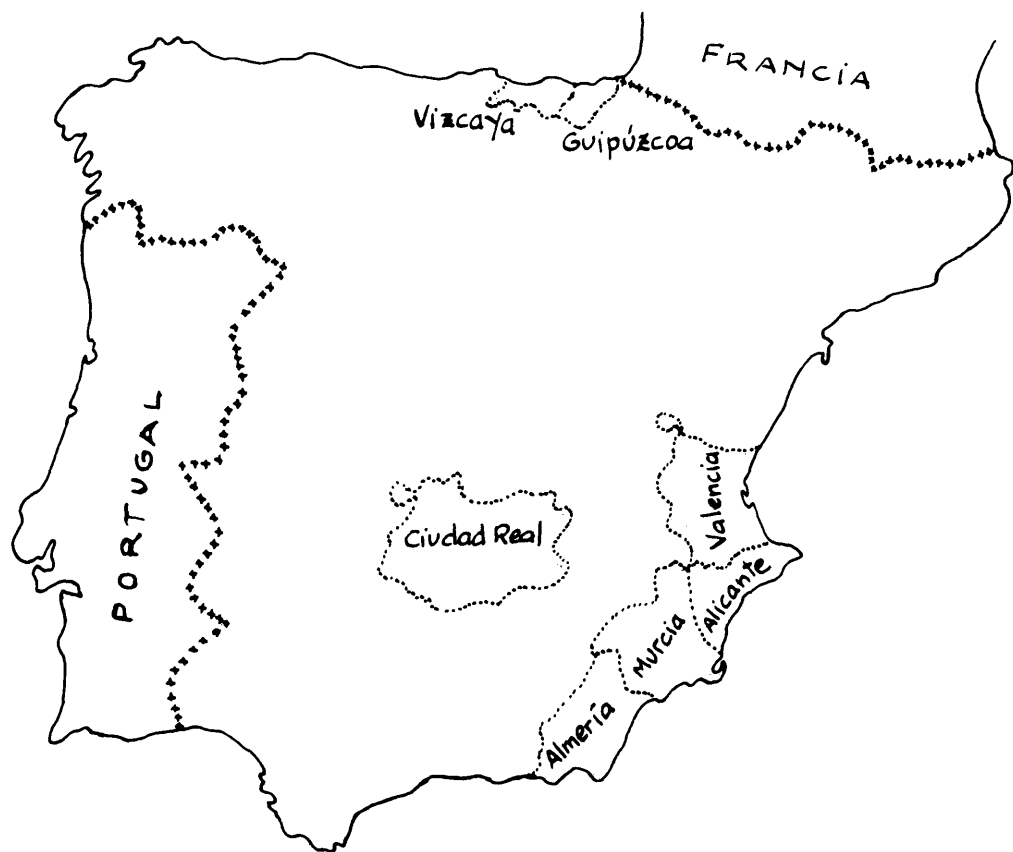


Figura 2.—Situación geográfica de las explotaciones de clavel muestreadas entre 1980 y 1982.

quejes enraizados. Sólo en tres explotaciones para flor cortada se producían los esquejes.

D) Se muestrearon todas aquellas variedades que tenían plantas enfermas. Los cultivos se repartieron, por tanto, entre los grupos «Sim» o Estándar, claveles monoflor mediterráneos y «mini». Un total de 115 variedades con denominación comercial diferente fueron analizadas.

1.3. *Los análisis de plantas enfermas*

Los resultados que se exponen a continuación no pretenden ser una valoración que establezca una jerarquización —de más o menos importantes, por ejemplo— de las micosis encontradas en el trienio 1980-1982.

Los datos expresados más adelante no reflejan más que un deslinde de los patógenos del clavel, sobre el material vegetal recolectado en base a una sintomatología minuciosamente observada sobre el terreno. El establecimiento de una valoración exacta es difícil y posiblemente no sea factible su realización en base a una serie de considerandos —que se han ido planteando conforme se han desarrollado los muestreos— cuya enumeración podría ser la siguiente:

- El cultivo del clavel mantiene las plantas en el terreno de asiento durante dos años, siendo durante el primero cuando se produce el 40 por 100 del total de las flores (la cifra es estimativa, promedio entre diferentes cultivares). La valoración de pérdidas no es

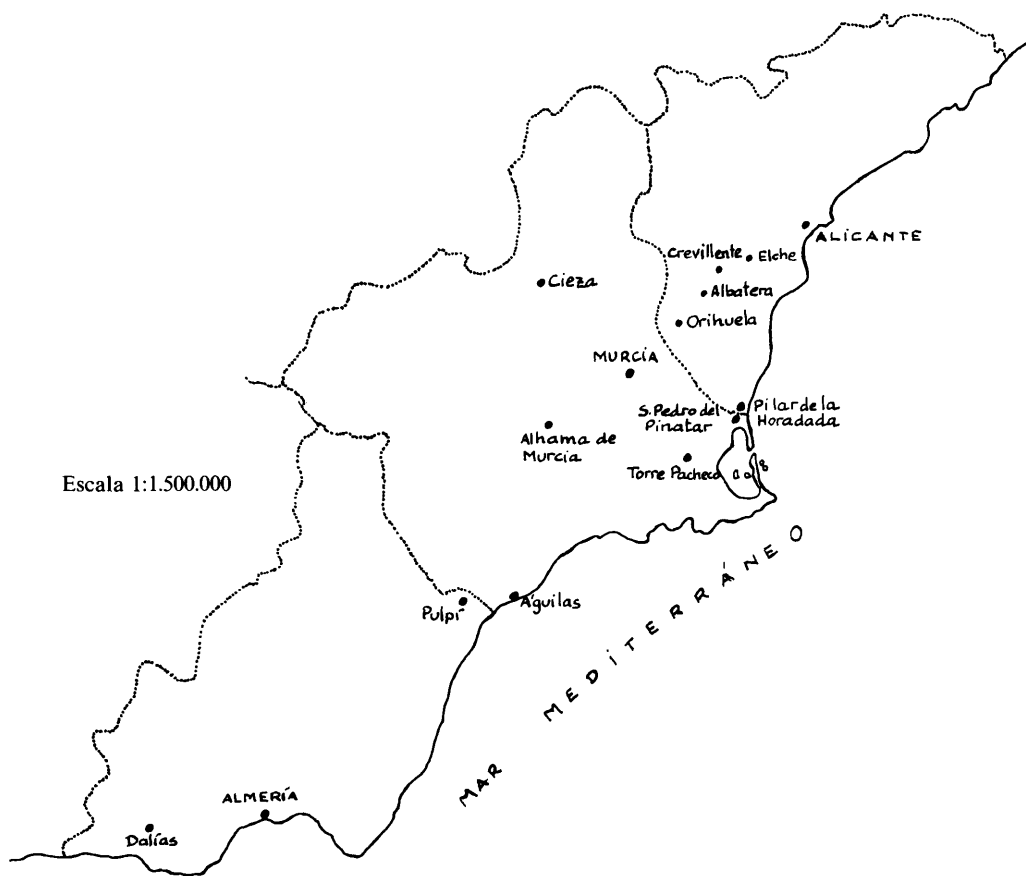


Figura 3.—Localización de los términos municipales donde se situaban los cultivos de clavel más intensamente muestreados.

posible en una prospección como la aquí presentada. Un estudio más pormenorizado, puntual y ajustado se presenta más adelante.

- La valoración implica, necesariamente, conocer la epidemiología de las micosis. Si atendemos sólo a las de origen telúrico, algunas precisiones parecen oportunas:

- ¿Pueden existir, como en otras micosis vasculares, plantas que infectadas a lo largo de su vida no manifiesten síntomas? En caso afirmativo, ¿cómo valorarlas?

- ¿Cuánto tarda una planta enferma en morir totalmente? Las observaciones de campo muestran que el período es variable y está supeditado a las condiciones ambientales; según sea de dilatado ese tiempo, pueden

recolectarse más o menos cantidad de flores. Pero añadiría rápidamente un productor, ¿de qué calidad?

- Ciertas micosis han estado, evidentemente, enmascaradas por los tratamientos fitosanitarios. Es el caso de *Rhizoctonia solani*, cuyo control es una práctica cultural más. Por el contrario, dentro de las podredumbres de raíz y tallo, los ataques de *Phytophthora* eran desconocidos para los agricultores, y su importancia puede estar más próxima a una realidad.

Con estas precisiones, otras más podrían aducirse, los resultados presentados en los cuadros 4 y 5 muestran una tendencia neta a señalar a la «Fusariosis vascular (agente cau-

Cuadro 4

RESULTADOS GLOBALES DE LOS ANALISIS DE PLANTAS ENFERMAS RECOLECTADAS EN CULTIVOS ESTABLECIDOS

Provincia	Total de plantas analizadas	Plantas de las que se aislaron (por 100)				
		<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i>	<i>Phialophora cinerescens</i>	<i>Phytophthora</i> spp. (*)	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Fusarium roseum</i> (**)
Alicante	1.231	43,95	—	3,25	1,87	24,21
Almería	254	37,40	—	0,39	9,84	16,54
Murcia	3.260	38,77	1,72	2,76	7,82	13,47
Ciudad Real, Valencia, Guipúzcoa, Vizcaya	126	50,79	13,49	—	4,76	4,76

(*) *Phytophthora parasitica* y ¿*Phytophthora capsici*?

(**) Como en todo el texto, se emplea aquí la especie *F. roseum* en el sentido del sistema taxonómico de las «9 especies» de SNYDER y HANSEN (MESSIAEN y CASSINI, 1968). Un destriero específico aplicando los criterios de BOOTH (1971) separó las siguientes especies: *F. equiseti*, *F. culmorum*, *F. semitectum*, *F. fusarioides*, *F. avenaceum*.

sal *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*) como la enfermedad más grave del cultivo. Tendencia que se verá confirmada más adelante por observaciones posteriores.

En el cuadro 4 se presenta el resultado de la prospección realizada, omitiendo aquella micoflora o no patógena, o cuya actuación entra dentro de las consideradas «enfermedades de evolución aérea» (*Botrytis cinerea*, p.e.). Sobre el total de 4.871 plantas, el 38,96 por 100 presentaron *Fod*, lo que corrobora anteriores aseveraciones, generalizadas a todos los lugares geográficos muestreados. Su presencia es muy grande en comparación con el otro patógeno vascular, *Phialophora cinerescens*. Aunque en porcentajes importantes, el valor de *Rhizoctonia solani* puede no estar ajustado a la realidad como se especulaba en párrafos anteriores. En cuanto a *Phytophthora*, la mayoría de los aislamientos se han encuadrado en la especie *P. parasitica* (asimilable a *P. nicotianae* var. *parasitica* descrita por WATERHOUSE (1970) y NEWHOOK *et al.* (1978), pero la posible presencia de *P. capsici* no dejó de inquietar por cuanto una alternativa cultural para el pimiento lo constituye, en algunas comarcas, el clavel (TELLO y LACASA, 1984). Tanto *R. solani* como *Phytophthora* spp. mostraron un potente poder patógeno en inoculaciones experimentales sobre la variedad «mini» Silvery Pink: 4 aislamientos de *Phytophthora* y 3 de *R. solani* fueron testados.

Cuadro 5

MICOFLORA ASOCIADA A LAS PLANTAS DE CLAVEL ENFERMAS POR PODREDUMBRES EN RAIZ Y BASE DEL TALLO. CADA HONGO SE EXPRESA EN PORCENTAJE DE LAS PLANTAS DE LAS QUE SE AISLO

Género y/o especie	Lugar de aislamiento		
	Alicante	Almería	Murcia
<i>Alternaria dianthi</i>	—	—	6,70
<i>Alternaria</i> sp.	17,40	13,38	16,08
<i>Botrytis</i> sp.	1,96	—	0,20
<i>Cephalosporium</i> sp.	—	—	0,07
<i>Cladosporium</i> sp.	—	0,70	—
<i>F. moniliforme</i>	—	9,86	2,75
<i>F. oxysporum</i>	9,31	29,58	5,56
<i>F. solani</i>	0,25	3,52	0,87
<i>Fusarium</i> spp.	0,54	6,34	11,79
<i>Rhizopus</i> sp.	3,19	3,52	0,07
<i>Stemphyllium</i> sp.	1,23	7,75	3,35
<i>Phytium</i> spp.	2,70	0,70	5,22
<i>Trichotecium roseum</i> ...	—	1,41	—
Total plantas analizadas.	408	142	1.493

Los *Fusarium roseum*, abundantemente representados en el muestreo, han sido investigados de un poder patógeno sobre el clavel que en las inoculaciones artificiales realizadas no fue corroborado. El ensayo comportó la inoculación de 4 cepas de *F. roseum* var. *culmorum* (*F. culmorum*, *sensu* BOOTH) y otras tantas de *F. roseum* var. *arthrosporioides* (*F.*

fusarioides, 2 y *F. semitectum*, 2, *sensu* BOOTH) en esquejes enraizados y en esquejes que sólo habían formado el «callo» de enraizamiento. Solamente en aquel material carente de raíces, los aislamientos de *F. culmorum* fueron capaces de producir podredumbres de 2 cm. de longitud en el tallo y afectar a la base de las hojas.

El cuadro 5 ilustra sobre la micoflora asociada a las podredumbres radicales y caulinares, y en términos generales podría afirmarse que la diferencia entre distintas procedencias es mínima, apuntando así hacia la existencia de una micoflora típica de las raíces de los claveles, aunque también es cierto que no existen remarcables divergencias, en cuanto al medio de cultivo, entre las tres provincias muestreadas; a pesar de lo cual se diferencian algunos patosistemas de manera apreciable (presencia grave y endémica de *Pseudoperonospora cubensis*, *Mycosphaerella citrullina* y *F. oxysporum* f.sp. *melonis* en Almería y no en Murcia y Alicante).

Finalmente, como apoyatura para remarcar la importancia de la «Fusariosis vascular», se ha elaborado el cuadro 6.

Cuadro 6

PRESENCIA DE F.O.D. EN EXPLOTACIONES QUE REALIZABAN SU PRIMER CULTIVO DE CLAVEL

Situación geográfica	N.º total de explotaciones muestreadas	N.º total de explotaciones de las que se aisló <i>Fod</i>	N.º de explotaciones de las que se aisló <i>Phialophora cinerescens</i>	N.º de explotaciones con su 1.ª cultivo de clavel de las que se aisló <i>Fod</i>
Alicante	15	9	—	5
Almería	10	9	—	2
Murcia	35	24	1	14
C. Real				
Valencia				
Guipúzcoa				
Vizcaya	6	3	1	2
TOTALES	66	45	2	23
(por 100)		(68,53)	(3,03)	(34,85)

En el mencionado cuadro 6 se intenta globalizar la presencia de *Fod* y *Phialophora*

cinerescens, evidenciando que la escasa aparición en los análisis de plantas de este último está en relación con el bajo número de explotaciones infectadas. Paralelamente, lo contrario ocurre para la «Fusariosis vascular», siendo muy llamativo el elevado número de explotaciones que padecen la micosis sin haber existido nunca antes el hospedador, lo cual apunta a fuentes externas de introducción del inóculo patógeno como más verosímil hipótesis de investigación.

1.4. *La comprobación del poder patógeno de F. oxysporum*

Repetidas veces se ha escrito que los *Fusarium oxysporum* son una entidad morfológica que encierra una casi desconocida y amplia realidad biológica. Este apartado se inspira en el anterior aserto, puesto que sólo la inoculación permite, hoy por hoy, separar cepas patógenas de las que no lo son. Y, aunque el análisis microbiológico revele que la necrosis y colonización del xilema haya sido estrictamente producida por el hongo, es condición «sine quanon» la inoculación del micromiceto en el hospedador sensible para determinar la «formas especiales» (f.sp.) o forma especializada.

Se presenta aquí la inoculación de 21 aislamientos monospóricos (procedentes de un microconidio unicelular), cuyas señas de identidad se tabulan en el cuadro 7.

Las cepas seleccionadas se aislaron en las tres provincias más intensamente muestreadas.

Las inoculaciones, mantenidas en invernadero sin climatizar (ver temperaturas en gráfica 2), se realizaron tanto por inmersión de raíces como por riego al sustrato turba desinfectado. El cuadro 8 muestra los resultados de la experiencia cuando se añadió el inóculo por riego, a los 70 días de incorporadas las cepas a testar (julio y agosto de 1980). En la tabla se han incluido, también, los reaislamientos de las plantas todavía analizables, separando las que presentaban necrosis del xilema al corte por examen visual.

La experiencia se muestra muy interesante por varias razones que se exponen a continuación:

Cuadro 7

PROCEDENCIA DE LOS AISLAMIENTOS DE *FOD* AISLADOS DE CLAVEL

Código de micoteca	Procedencia			Otras características
	Varietal	Lugar	Fecha	
FOD1, FOD2, FOD3, FOD4, FOD5, FOD6, FOD7, FOD8, FOD9, FOD10	Silvery Pink	Dalias (Almería)	Mayo 1980	Explotación con 10 años de cultivo intensivo de clavel.
FOD11, FOD12, FOD13, FOD14, FOD15, FOD16, FOD17, FOD18	Lena y Scania	Pilar de la Horadada (Alicante)	Junio 1980	Explotación virgen para cultivo de clavel. Año de plantación.
FOD19	?	San Javier (Murcia)	Julio 1980	Explotación virgen para cultivo de clavel. Segundo año desde la plan- tación.
FOD20, FOD21	Scania Williams	Crevillente (Alicante)	Julio 1980	Explotación virgen para cultivo de clavel. Año de plantación.

a) No hay una uniformidad en el comportamiento patogénico de los aislamientos a pesar de haber sido recolectados en la misma fecha y en los mismos invernaderos. Bien ejemplifica este aserto las cepas procedentes de Almería (FOD1 a FOD10) y las de Pilar de la Horadada (FOD11 a FOD18).

b) Todas las cepas indujeron síntomas externos de la enfermedad, en el tiempo que duró la experiencia, menos tres de ellas (FOD9, FOD10, FOD18). Sin embargo, estos mismos aislamientos tuvieron un comportamiento peculiar al examinar el xilema y hacer los reaislamientos de *Fod*: dos mostraron coloración de los vasos en proporciones comprendidas entre el 8,33 y el 50 por 100 de las plantas. Pese a ello, las tres cepas fueron reaisladas del xilema entre un 25 por 100 (FOD18) y un 91,67 por 100 (FOD10).

c) En las dieciocho cepas restantes los reaislamientos presentan un interés adicional: no hay una correspondencia total entre los vasos necrosados y el aislamiento del micromiceto, como tampoco existe en sentido inverso ausencia de coloración y aislamiento negativo de *Fod*.

Los resultados comentados en los apartados b) y c) no han sido privativos de la experiencia presentada, sino que podrían interpretarse como un eco de lo ocurrido en las explotaciones comerciales del Campo de Cartagena (Murcia) muestreados. Mensual-

Cuadro 8

PATOGENICIDAD DE 21 AISLAMIENTOS DE *F. OXYSPORUM* A LOS 70 DIAS DE INOCULAR A LA VAR. SILVERY PINK

Código de aislamiento	Tanto por 100 de plantas enfermas y/o muertas	Reaislamiento (PDA)		
		N.º plantas analizadas	N.º plantas con necrosis vascular.	N.º plantas con aislamiento positivo de <i>F. oxysporum</i>
FOD1	40,00	8	—	2
FOD2	40,00	8	—	2
FOD3	80,00	6	6	5
FOD4	60,00	8	3	2
FOD5	90,00	8	5	1
FOD6	40,00	10	6	6
FOD7	40,00	10	4	0
FOD8	70,00	6	3	2
FOD9	0,00	12	1	5
FOD10	0,00	12	6	11
FOD11	100,00	11	11	7
FOD12	50,00	12	7	8
FOD13	53,33	10	7	9
FOD14	60,00	10	10	10
FOD15	16,67	12	3	3
FOD16	6,25	16	3	6
FOD17	75,00	10	10	9
FOD18	0,00	12	0	3
FOD19	83,33	11	11	11
FOD20	100,00	11	11	11
FOD21	100,00	10	9	9
Testigos	0,00	12	0	0

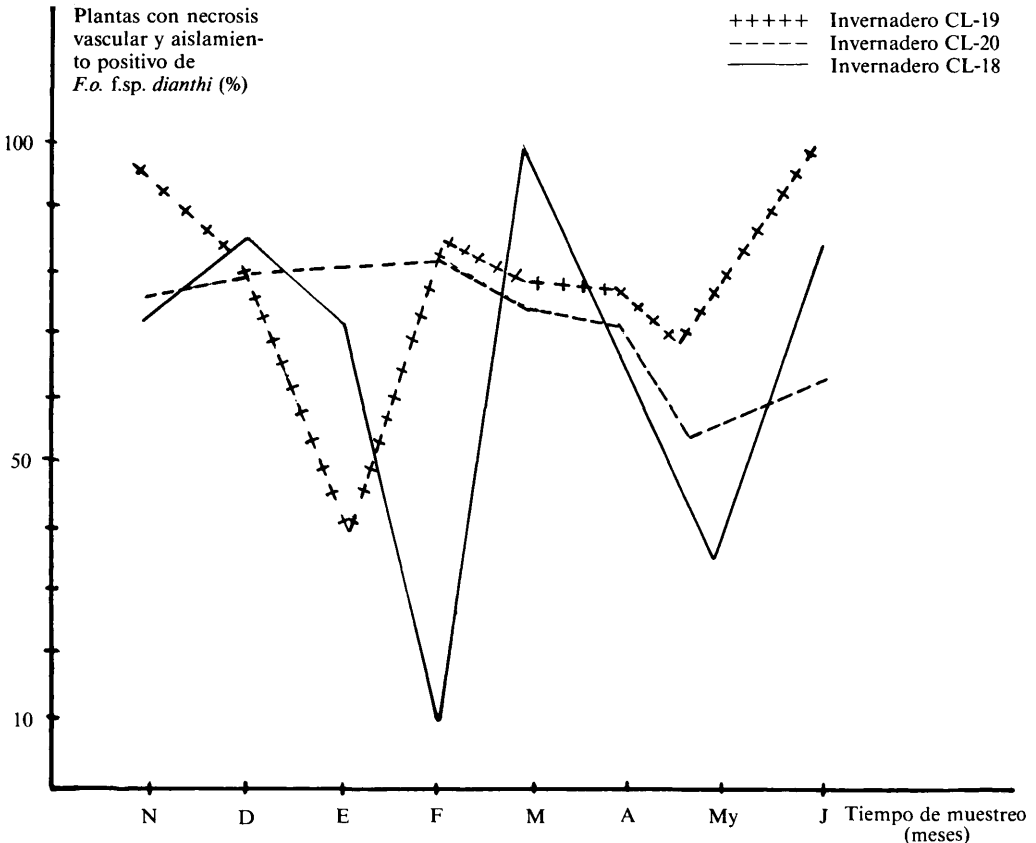
mente se analizaron plantas con neta necrosis vascular en tres invernaderos de los términos de San Javier y San Pedro del Pinatar. La gráfica 1 enseña con nitidez que la necrosis vascular no garantiza el aislamiento del hongo, siendo notable la variación que en la relación necrosis/aislamiento de *Fod* se produce mensualmente.

1.5. *Modulación estacional de la «Fusariosis vascular» en inoculación experimental*

El comportamiento netamente estacional de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* puesto de manifiesto en este trabajo podría cumplirse para *Fod*. Tal vez este hecho, de cumplirse, arrojaría luz sobre la ausencia de la relación

estricta entre xilema necrosado, aislamiento positivo de *Fod*. Para este fin se diseñó la experiencia cuyos resultados se reflejan en el cuadro 9 y en la gráfica 2.

Las ocho cepas inoculadas se expresaron de manera comparable bajo las condiciones térmicas del invernadero. Desde noviembre de 1980 hasta junio de 1981 no hubo manifestación sintomatológica de la enfermedad, antes al contrario, las plantas durante el mes de mayo mostraron una vigorosa brotación, casi enmascaradora de los síntomas leídos en noviembre. Esto puede indicar una asincronía entre el crecimiento del hongo en las plantas enfermas y el desarrollo del hospedador enfermo, basado en distintas temperaturas mínimas de actividad visible para patógeno y planta.



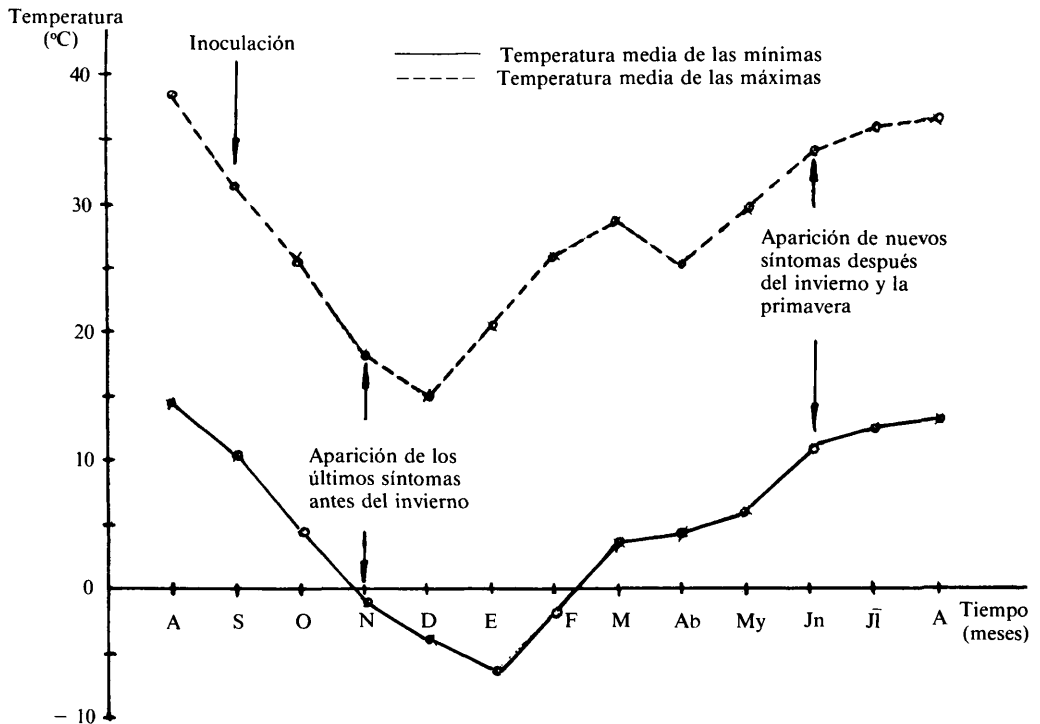
Gráfica 1.— Variación de los aislamientos positivos de *F.o. f.sp. dianthi* en plantas de clavel con el xilema necrosado. Tres invernaderos del Campo de Cartagena (Murcia). Campaña 1980-1981.

Cuadro 9

**MANIFESTACION DE LA FUSARIOSIS VASCULAR DEL CLAVEL, EN RELACION CON
LAS CONDICIONES TERMICAS DEL INVERNADERO DE EXPERIENCIAS.
INOCULACION SOBRE LA VARIEDAD SCANIA. SE EXPRESA LA GRAVEDAD
EN TANTO POR 100 DE PLANTAS ENFERMAS Y/O MUERTAS**

Código de cepa	Tiempo transcurrido desde la inoculación (días)						Reaislamientos		
	51	65	191	229	259	289	plantas analiz.	plantas necrosis vascular	plantas aislam. positivo
FOD1	—	50,00	—	70,00	100,00	—	10	10	8
FOD2	—	40,00	—	90,00	100,00	—	10	10	10
FOD3	—	20,00	—	90,00	100,00	—	10	10	10
FOD4	—	—	—	100,00	100,00	—	10	10	10
FOD5	—	—	—	50,00	100,00	—	8	8	8
FOD6	30,00	50,00	70,00	100,00	100,00	—	6	6	5
FOD7	20,00	50,00	—	50,00	100,00	—	10	8	7
FOD8	—	—	—	—	—	0,00	10	4	4
Testigos	—	—	—	—	—	—	10	0	0

—: Significa ninguna progresión en la gravedad de la enfermedad, estacionada en las mismas cifras que en la lectura anterior.



Gráfica 2.—Temperaturas (°C) del invernadero de experiencias desde agosto de 1980 a agosto de 1981.

Los ocho aislamientos que habían sido patógenos sobre la var. Silvery Pink (cuadro 8), manifestando síntomas típicos, no tuvieron en esta experiencia un comportamiento análogo. La diferencia la aporta la cepa FOD8, que durante 289 días de inoculación no indujo ningún signo externo que denunciase su actividad, expresada, por el contrario, en la necrosis xilemática de 4 plantas. Podría especularse, suponiendo la misma sensibilidad a los cvs. Scania y Silvery Pink, con que la cepa había perdido poder patógeno, o que tal vez éste habría sido modulado por las condiciones extremas en que la experiencia se desarrolló.

Pese a no haber realizado reaislamientos durante los meses en que la «Fusariosis vascular» no se manifestó, los efectuados al final de julio (289 d. de inoculación) ponen en evidencia esa discordancia entre necrosis/no Fod para las cepas FOD6 y FOD7.

2. Discusión y conclusiones

La prospección realizada sobre las micosis telúricas del clavel no ha tenido una réplica comparativa en la bibliografía consultada, en la cual son los estudios monográficos sobre un determinado patógeno los que abundan. En otros trabajos, las descripciones de las micosis son una sucesión de informaciones cuya cuantificación, o al menos su intento, nunca se presenta. A tenor del trato recibido en la literatura especializada, se infiere que la «Fusariosis vascular» (agente causal *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*) es, entre todas las criptógamas del clavel, la más grave. Tal vez un contrapunto a este panorama lo ponga la monografía de MOREAU (1957) realizada en los cultivos del Sureste francés, para esclarecer lo que la autora denomina «Dépérissement des oeillets», enfermedad en la que participan jugando un papel importante: *Phialophora cinerescens*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium roseum*, *Alternaria dianthi*, *Phytophthora cactorum*, *Rhizoctonia solani* y *Rhizoctonia bataticola*. Casi podría decirse que bajo una denominación recoge toda la patología telúrica del clave. Hoy no se considera así la situación, a tal punto que la misma autora ha dedicado su vida profesional al estudio de la

micosis denominada «Verticiliosis» o «Maladie bleue» («Enfermedad azul») como lo demuestran sus incontables trabajos (MOREAU, 1958, 1963; MOREAU y PERESSE, 1972; MOREAU y CATESSON, 1982). Ese esclarecimiento ha continuado, para la misma zona, por las investigaciones de la Station de Pathologie Végétal de Antibes, que han descrito la presencia de *Phytophthora parasitica* en los cultivos de clavel (MERCIER y TRAMIER, 1966), o ha delimitado como los *Fusarium roseum* (*F. equiseti*) y *F. culmorum*) son parásito de heridas, mecánicas o producidas por otros hongos, que tienen su más marcado poder patógeno en malas condiciones culturales del clavel americano (TRAMIER, 1967). Pero ha sido en la acción de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* donde la evolución pormenorizada del Pato sistema clavel ha sido más meticulosamente estudiada en la Costa Azul de Francia. Es TRAMIER el notario de esta grave modificación, y merece la pena seguir sus observaciones por cuanto tienen de ejemplo para el trabajo aquí presentado.

Escribía así el mencionado autor en 1967: «En los últimos años se encontraba muy raramente *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. La selección de variedades de «clavel de Niza», que la experimentación ha revelado como resistentes o tolerantes a esta enfermedad es, sin duda, la causa de esta desaparición pasajera. En efecto, se asiste en la actualidad a una renovación de la actividad del hongo sobre los «claveles americanos» y sobre los híbridos obtenidos de cruzamientos entre los tipos «americanos y de Niza».

Esta observación, desafortunadamente nunca cuantificada en sus publicaciones, tiene una enorme trascendencia epidemiológica: el cambio de variedades, con todo lo que ello acarrea, produce un agravamiento de una micosis, antes prácticamente sin importancia. Muchos años después, el autor perfila su primera observación, con otras aseveraciones, no por cualitativas o incluso especulativas menos importantes. En 1982 y 1986 TRAMIER añade a la selección varietal de los «claveles de Niza» el desplazamiento de los cultivos hacia tierras vírgenes —motivo de enriquecimiento para algunos, especula— como la otra causa que ha contribuido a olvidar la «Fusariosis vascular» hasta 1960.

A partir de esa fecha, cuando el autor encuentra *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* sólo sobre variedades americanas importadas de Italia, la micosis alcanza un vuelo extraordinario, hasta el punto de ser la causa principal de la reducción de superficie cultivada, que pasa de 2.000 Has. en 1960 a 150-200 Has. en 1982. Su reflexión, después de diez años de investigación, alcanza, no más, a limitar el «impacto económico» y a «devolver la esperanza a los dianticultores».

Este ejemplo, que arranca desde 1900 cuando se describió como agente causal de la «Maladie des oeillet d'Antibes» a *Fusarium dianthi* (MOREAU, 1957), es bien aleccionador de cual es el valor relativo de cada una de las micosis encontradas en la *prospección* presentada en el Sureste de España.

Desafortunadamente no se ha podido encontrar bibliografía que modelice el estudio del *Patosistema* clavel, de una manera tan encadenada, en la otra zona mediterránea que nos es próxima: La Riviera di Fiori (Italia). Sin embargo, los trabajos de GARIBALDI, que serán comentados más adelante, han escorado netamente al estudio de la «Fusariosis vascular», después de comenzar indagando sobre la resistencia a *Phialophora cinerescens* (GARIBALDI, 1966), y declarar que *Rhizoctonia solani* «representa junto a la Fusariosis la principal enfermedad critogámica del clavel», calculando unas pérdidas del 70 al 80 por 100 de las plantas (PERGOLA y GARIBALDI, 1977; ALOJ y GARIBALDI, 1982). Su orientación reciente aporta, sin embargo, un interesante punto de vista al dedicarse a la investigación sobre la especialización fisiológica de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* en el patosistema.

Esta situación relatada para áreas geográficas que nos son próximas, y ocurridas a lo largo de más de ochenta años de cultivo, se producen en las comarcas del Sureste de España, pero de una manera más veloz, y, tal vez, diferenciada para algunos patógenos.

La *prospección* realizada muestra la presencia de casi todos los micetos que han sido descritos como patógenos al cultivo del clavel. Entre los causantes de podredumbres del «pie» de la planta, la proporción encontrada para *Rhizoctonia solani* está enmascarada por las eficaces y comunes terapéuticas aplicadas

por los dianticultores. *Phytophthora parasitica* y posiblemente *Phytophthora capsici* representan, sin interferencias, una realidad, que no es grave; máxime cuando siendo cierta su patogeneicidad sobre tomate y pimiento, ésta lo es menor que la mostrada sobre clavel (TELLO y LACASA, 1983), apuntando sobre su comportamiento a una cierta tendencia a la «especialización parasitaria» (BONNET *et al.*, 1978). Los dos patógenos vasculares tienen una manifestación considerablemente diferente en cuanto a cantidad en los aislamientos y en lo referente a su extensión cultural: la «Verticiliosis» en Murcia fue puntual, ocurriendo en una sola explotación, posiblemente al introducir *Phialophora cinerescens* con los esquejes enraizados importados de Italia; después de este evento nunca se ha manifestado en la misma explotación, lo que puede ser indicativo de que las condiciones para la expresión de la micosis no ocurren en la comarca estudiada. En el resto de España de donde se analizaron plantas, solamente en el País Vasco ha estado produciendo daños a lo largo del cultivo practicado bajo túneles de plástico. Opuestamente a este panorama, la «Fusariosis vascular» ha estado presente, y más abundantemente que otra enfermedad, en todas las toponimias analizadas.

Estos resultados, sobre todo en lo concerniente a las Traqueomicosis, difieren de lo ocurrido para regiones del mundo próximas y lejanas a nuestra geografía. En el Sureste francés, dentro de la ambigüedad de las afirmaciones sin previa cuantificación, *Phialophora cinerescens* parece tener un papel preponderante, aunque menos acusado que *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* (PERESSE, 1975; TRAMIER, 1967, 1982, 1986). En el Reino Unido, ENGLISH (1974) declaraba «La Verticiliosis es la enfermedad más importante de las sufridas por los claveles en Gran Bretaña», mientras relegaba a *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* y a *F. redolens* a lugares aislados dentro de la superficie cultivada. Por su parte, BAKER (1980) trataba por igual a *Phialophora cinerescens* y a *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* en los cultivos del estado de Colorado (U.S.A.).

• La tremenda afirmación de TRAMIER (1982 y 1986) sobre la reducción de superficie cultivada en la Costa Azul en un cuarto de

siglo, se ve reflejada, tal vez, en el cuadro 6, donde el 34,85 por 100 de las explotaciones muestreadas presentaban «Fusariosis vascular», siendo la primera vez que implantaban el cultivo. Se desconoce el tiempo que tarda un *Fusarium oxysporum* saprofito en diferenciarse a una forma patógena, y suponiendo que unas determinadas condiciones puedan acelerar el proceso, es normal que durante unos años pueda realizarse el cultivo sin presencia apreciable de la enfermedad. Esto, desde luego, nada tiene que ver con las explotaciones muestreadas, algunas de las cuales después de tres meses de plantación mostraban unas tasas de «Fusariosis vascular» entre el 15 y el 35 por 100 de plantas enfermas y/o muertas.

No está medida la gravedad de la «Fusariosis vascular» en otras regiones españolas en las cuales el cultivo tiene más tradición que en las comarcas muestreadas. CEBOLLA (1982a, 1982b) escribe que la traqueomicosis es el más grave problema del cultivo del clavel, y es de suponer que la afirmación se base en su experiencia en la comarca del Maresme (Barcelona), a tenor de algunos resultados expuestos sobre la resistencia varietal a *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. De una manera genérica ALBERTOS GARCÍA y ODRIOZOLA AZURMENDI (1976) avisan sobre la importancia de la «Fusariosis vascular», así como lo hace HERREROS DELGADO (1979), aunque posiblemente el último esté, implícitamente, refiriéndose a los problemas vividos en las Islas Canarias y a su experiencia adquirida en Holanda.

• La identificación continua de los aislamientos ha hecho encuadrar a los varios miles observados en la especie *F. oxysporum*, y no se han podido apreciar las mínimas diferencias que permiten a GERLACH y NIRENBERG (1982) separar *F. redolens* f.sp. *dianthi*, que hacen a este último tener unas macroconidias más próximas en su forma a *F. solani*. Sin embargo, ENGLISH (1974) y RATTINK (1979) insisten en separar dos especies distintas como productoras de la misma Traqueomicosis, en sus respectivos países, Reino Unido y Holanda.

Las experiencias de inoculación en condiciones controladas de asepsia, ineludibles siempre que se trabaja con *F. oxysporum*, han

evidenciado su pertenencia a la forma especializada *dianthi*. Hecho de cuya constancia escrita para el país sólo se ha encontrado en el trabajo de RODRIGUEZ RODRIGUEZ (1975) para las Islas Canarias, pese a trabajar con un limitadísimo número de plantas y de aislamientos.

Las infecciones artificiales han evidenciado una serie de hechos que han tenido un paralelismo con parte de la realidad observada:

a) El poder patógeno de las 21 cepas ensayadas (cuadro 8), cierto sobre los cultivares Silvery Pink y Scania, ha patentizado que en las plantas inoculadas con *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* puede el hongo aislarse asociado con los síntomas de necrosis vascular, y en ausencia de cualquier coloración xilemática visible. El estudio presentado (gráfica 1) en tres explotaciones muestreadas sobre el síntoma necrosis vascular es, a este respecto, bien elocuente. Una inmediata consecuencia de esta observación es el desajuste en los resultados de los análisis (cuadro 1), pudiendo estar minusvaloradas las cifras presentadas.

b) ¿Cómo explicar el hecho del aislamiento de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* en discordancia con la existencia o no de necrosis vasculares en el hospedador?

PERESSE (1975) para *Phialophora cinerescens* y EL MAHJOUR (1985) para *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, demuestran la infección directa por las heridas con microconidios de ambos patógenos en sus hospedadores respectivos. No son los únicos ejemplos y DIXON y PEG (1969) lo suponen para *Verticillium albo-atrum*/tomate, o BECKMAN *et al.* (1961, 1962) para *F. oxysporum* f.sp. *cubensis*/platanera. El fenómeno es explicado de la siguiente manera: La progresión del hongo hacia el meristemo terminal estaría en el impulso prestado por la savia, capaz de arrastrar los microconidios hacia la yema apical, pudiendo éstos ser detenidos por un obstáculo en los vasos (aspereza, pared transversal, etc.), constituyendo en esa parada un foco secundario de infección vascular. Este hecho asegura al parásito una progresión mucho más rápida que el simple crecimiento miceliar y explicaría su repartición discontinua en el curso del pe-

riodo de invasión. El proceso ha sido, igualmente, descrito para *Ceratocystis ulmi* (POMERLEAU y MEHRAN, 1966) y podría aclarar la presencia de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* en los aislamientos positivos de plantas sin tinción xilemática.

En el caso de los aislamientos negativos de las necrosis vasculares, esa distribución discontinua del hongo en el sistema conductor del hospedador podría suponer una hipótesis explicativa. Sin embargo, habiendo sido demostrado en el caso de *Phialophora cinerescens* (PERESSE, 1975) y en el de *F. oxysporum* f.sp. *melonis* (EL MAHJOUR, 1985), que las necrosis en el xilema (producción de gomas y tilas como reacción del hospedador) no son inducidas por la acción a distancia del patógeno, antes al contrario, aparecen después de que los tejidos vasculares hayan sido colonizados por el hongo, la posible explicación carece de valor aquí. Según este razonamiento nada hace suponer que el micromiceto no debería ser aislado del tejido vascular necrótico, y podría especularse, por tanto, con una falta de eficacia en los análisis, extremo no comprobado por la misma naturaleza del trabajo presentado. Sin embargo, la comparación con otras técnicas (trituration de tejidos, etc.) podría arrojar luz sobre este punto. Luz, previsiblemente no totalmente esclarecedora, puesto que el ambiente puede jugar un papel: basta contemplar la gráfica 1

para percatarse que dentro de la misma tendencia hay diferencias sustanciales entre los tres invernaderos muestreados.

- El comportamiento de la «Fusariosis vascular» ha estado en clara concordancia con las condiciones experimentales, notoriamente con las temperaturas ambientales.

El cuadro 9 y la gráfica 2 muestran cómo desde noviembre a junio no ha existido manifestación externa de la enfermedad, período en que las temperaturas del invernadero han sido más bajas. Este hecho está de acuerdo con las observaciones de otros investigadores (TRAIMER, 1967, 1982, 1986; ENGLISH, 1974; PERESSE, 1975) y, además, con la distribución geográfica de la enfermedad: La «Fusariosis vascular» es normal en climas cálidos, mientras *Phialophora cinerescens* está presente en las regiones frías, bien es verdad que en las zonas templadas la «Fialoforosis» o «Verticiliosis» se expresa en las estaciones más frescas (MOREAU, 1963) y *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* se constituye como micosis peligrosa en los invernaderos de las regiones cálidas (ENGLISH, 1974).

Este hecho puede tener una enorme transcendencia en las comarcas muestreadas. Si no existe esa «parada» por frío, o ésta es muy tenue, la gravedad de los daños será mayor en un período de tiempo más breve. En los capítulos siguientes se indaga sobre este punto.

CAPITULO 2

ESTADO SANITARIO DEL MATERIAL VEGETAL DE PLANTACION

Los autores españoles actuales que han tratado el tema han puesto especial énfasis en la calidad sanitaria de los esquejes para plantación (ALBERTOS GARCÍA y ODRIÓZOLA AZURMENDI, 1976; HERREROS DELGADO, 1979; CEBOLLA, 1982a y 1982b). Es CEBOLLA (1982b) quien subraya más este aspecto, resumiendo el método puesto a punto en Francia, como una vigilancia de las plantaciones de «pies-madres» o productoras de esquejes para enraizar. Hay un contraste con el trabajo de BORNAS y de URCULLU (1953), quien no especificaba la posibilidad de transmisión de enfermedades por el material vegetal de plantación.

Parece oportuno explicar este aspecto del cultivo del clavel, con la certeza de aportar claridad sobre la transmisión de enfermedades por los retallos enraizados. El clavel americano o «Sim» necesita una forma de multiplicación concreta, que tiene poco en común con la practicada con los claveles reflorescentes europeos. Estos últimos eran producidos, prácticamente, por cada agricultor, bien por acodo como describe BORNAS y de URCULLU (1953) para Cataluña y Valencia; o bien, por esqueje como detalla TRAMIER (1982) para Francia. En ambos casos el enraizado se hacía en cajoneras o macetas sin aporte alguno de calor, pasando así, prácticamente, todo el invierno. Lógicamente, la dispersión de enfermedades por este procedimiento era pequeña.

El clavel «Sim» se acomoda mal a esta forma de reproducción, por dos razones fundamentales:

a) Es preciso tomar los esquejes en un estado determinado de los cultivos de «pies-madres», para asegurar un buen rendimiento floral durante el invierno.

b) La extensión de las virosis denominadas «Streak» y «Vein mottle» impuso una selección sanitaria basada en el cultivo de meristemas.

Comprendiblemente, estos imperativos sólo pueden ser cumplimentados por grandes empresas con disposición de personal especializado. Pero en esta concentración de la producción está la base para que cualquier patología adquiera un carácter epidémico de dimensiones gigantescas. El trabajo desarrollado durante estos últimos años ha permitido comprobar esta realidad en lo concerniente a la «Fusariosis vascular».

Escasísimas son las publicaciones encontradas sobre la epidemiología de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. Una de ellas que versa sobre el enraizamiento de esquejes, la brindan TRAMIER *et al.* (1983). La aportación es la siguiente: una planta infectada por el patógeno, pero con ausencia de síntomas en el mes de enero, no exterioriza la enfermedad antes de fin de mayo. La observación sustenta todo un seguro en la sanidad de retallos. Afirman los autores que de esta manera se pueden recolectar esquejes de una planta sin síntomas desde enero hasta fin de mayo, los cuales estarían exentos de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. Y explican el fenómeno de la siguiente manera: el micelio del hongo es bloqueado por las bajas temperaturas del invierno y de la primavera, constatándose

una reacción de las células adyacentes a los vasos capaces de aislar momentáneamente al parásito.

Estas investigaciones han dado pie para establecer un reglamento de certificación que obliga a los multiplicadores de esquejes a arrancar todo el lote de «pies-madres» cuya tasa de plantas, aparentemente enfermas, sobrepase el 1 por 100 (TRAMIER, 1985).

Por muy extenso e intenso que haya sido el trabajo experimental, que lo fue, ello no exige la limitación de la propuesta a unas condiciones muy concretas, las de la Costa Azul. El intento de generalizarla (TRAMIER, 1986) puede encontrarse con problemas epidemiológicos o difíciles de abordar con los métodos profilácticos actuales, también propuestos por el autor, o todavía no valorados por insospechados.

El trabajo experimental que se presenta a continuación profundiza sobre aspectos diferentes al planteamiento de los investigadores franceses, que la realidad española ha orientado y que inevitablemente incide sobre los puntos de vista sostenidos por otros. Las indagaciones llevadas a cabo podrían ser resumidas así:

— De un lado se ha estudiado la sanidad de múltiples partidas de esquejes, cuya procedencia era tanto nacional como extranjera. Los análisis del «callo» de enraizado y del sustrato de la rizosfera han motivado una reflexión sobre su significado.

— Por otra parte se ha seguido la «Fusariosis vascular» en dos grandes explotaciones productoras de esquejes, situadas en ecologías distintas (Murcia e Islas Canarias). El acento se ha puesto en la contaminación ambiental por *Fusarium oxysporum* y en la de los sustratos de enraizado.

1. Micoflora asociada a la rizosfera y al «callo» de enraizado en los esquejes antes de su plantación en el terreno de asiento

Desde 1980 a 1987 se procedió a analizar esquejes tanto de origen nacional como de producción extranjera. Las muestras estaban compuestas por retallos tomados tal y como

le llegaban al dianticultor en cantidades comprendidas entre 5 y 50 unidades, por cada variedad diferente remitida.

Los resultados se detallan en el cuadro 10. A través de los años, en mayor o menor proporción las variedades, cualquiera que haya sido su procedencia, han estado contaminadas por *F. oxysporum*. Desde luego, la mayor cantidad y uniformidad en el tiempo le corresponde a los cultivares enraizados en España. Sin embargo, la contaminación no es tan elevada como para explicar los daños observados, a posteriori, en las explotaciones; y ello, a pesar de su amplitud. Cabe, por tanto, pensar que el muestreo no ha representado la realidad vivida. Pueden existir, para encontrar una explicación, varias razones. Dos serán esgrimidas aquí por ser las que de alguna manera se han podido controlar. Por una parte la inevitable picaresca comercial: las muestras se recogían a sabiendas por el productor de que el estado sanitario se comprobaría en el laboratorio. Ello era inevitable por cuanto el análisis confería al comprador la posibilidad de rechazar la partida adquirida, o, incluso, reclamar daños y perjuicios. El anecdotario de una tal situación es rico y demostrativo, muchas veces, del conocimiento sanitario del productor sobre la partida vendida. Del otro lado, la pregunta es inevitable: ¿qué significa un «callo» contaminado por *Fusarium oxysporum*? ¿Cuánto inóculo aporta la rizosfera de un esqueje contaminado? Este aspecto podría arrojar luz sobre la representatividad de los análisis, pues conocido es que un suelo para cultivo de clavel necesita elevadas cantidades de materia orgánica (entre 15 y 50 kg/m² en las explotaciones muestreadas), que es un buen medio para favorecer la multiplicación de los *Fusarium*, y especialmente de *F. oxysporum* (TRAMIER *et al.* 1979).

Estos planteamientos últimos fueron motivo de una experiencia previa, consistente en analizar muestras de 10-12 esquejes, el «callo» de enraizamiento de los esquejes y el sustrato que componía la rizosfera de todos ellos, buscando sólo la flora fusárica asociada. Los resultados de una de las tres pruebas realizadas se presentan en el cuadro 11.

La experiencia es bien interesante y alec-

Cuadro 10

**MICOFLOA ASOCIADA AL «CALLO» DE ENRAIZADO EN ESQUEJES DE CLAVEL,
ANTES DE SU PLANTACION EN TERRENO DE ASIENTO**

Año de análisis	Procedencia	Núm. variedades	Núm. de esquejes	Micoflora aislada (tanto por 100)					
				Fusarium			F. oxysporum		
				F. solani	F. (**)	F. moniliforme	Esquejes	Núm. variedades (***)	
1980	España	35	457	—	6,78	—	0,66	3	
1982	España	40	913	—	—	—	4,27	6	
	Francia	13	469	1,07	2,98	—	1,92	5	
	Holanda	10	322	3,10	13,97	—	0,93	1	<i>Alternaria</i> 16,45
	Israel	4	155	—	—	—	—	—	<i>Aspergillus</i> 0,15
1983	España	44	1.326	—	4,60	—	3,69	13	<i>Botrytis cinerea</i> 0,84
1984	España	74	1.893	—	0,74	0,53	3,70	24	<i>Cladosporium</i> 0,59
	Holanda	65	825	—	2,06	1,21	—	—	<i>Ostrachoderma</i> 7,40
	Israel	15	75	—	—	—	—	—	<i>Penicillium</i> 13,82
1985	España	57	1.650	0,12	1,21	—	1,39	17	<i>Phialophora (*)</i> 1,34
	Holanda	40	200	—	—	5,00	—	—	<i>Phoma</i> 0,20
	Israel	21	465	—	1,07	—	0,43	2	<i>Rhizoctonia solani</i> 0,16
1986	Holanda	54	275	—	11,27	—	—	—	<i>Rhizopus</i> 4,80
1987	España	88	542	0,55	3,14	0,18	2,58	7	<i>Stachybotrys</i> 0,15
	Holanda	77	1.183	0,08	2,87	0,25	0,84	4	<i>Stemphyllium</i> 1,00
	Israel	30	368	—	—	—	—	—	<i>Trichoderma</i> 27,82
	Italia	20	152	—	—	—	2,63	1	<i>Trichotecium</i> 0,05
TOTALES			11.270	0,18	2,56	0,06	2,00	—	

(*) Sólo en esquejes holandeses de 1987. Se aisló en 25 variedades.

(**) Compuesta de *F. roseum* «gibbosum» (*F. equiseti*), *F.r.* «arthrosporioides» (*F. semitectum*) y *F.r.* «avenaceum» (*F. avenaceum*) y *F.r.* «culmorum» (*F. culmorum*).

(***) Pueden estar repetidas de un año a otro o en el mismo año si tienen procedencias diferentes.

Cuadro 11

**RELACION ENTRE LA FLORA FUSARICA DE LOS «CALLOS» DE ENRAIZAMIENTO
Y LA RIZOSFERA DE LOS MISMOS ESQUEJES**

Código de muestra	Núm. de esquejes analizad.	Análisis «callo»				Análisis sustrato rizosfera			
		Núm. esquejes con <i>Fusarium</i>				Núm. propág./g. sustrato			
		F. oxysporum	F. solani	F. roseum	F. moniliforme	F. oxysporum	F. solani	F. roseum	F. moniliforme
UA21	11	8	6	—	2	33239 ± 1765	1471 ± 157	265 ± 37	366 ± 65
UA22	11	—	—	—	1	14422 ± 955	—	83 ± 55	—
UA23	11	—	—	11	—	395 ± 52	—	930 ± 184	3209 ± 389
UA27	12	12	2	—	12	720 ± 166	—	58 ± 20	14724 ± 2234

cionadora. Dos consecuencias pueden ser extraídas de los datos presentados:

— Esquejes que no exteriorizaron *F. oxysporum* en el análisis del «callo», lo presentan y abundantemente (muestra UA22) en el sustrato de la rizosfera.

— Las cantidades de *F. oxysporum* que puede aportar el sustrato de la rizosfera no tiene una relación directa con el número de «callos» contaminados. Basta comparar las muestras UA21 y UA27.

Estos resultados serán comentados más adelante al analizar una mayor porción de esquejes, correspondientes a las muestras presentadas en el cuadro 10.

Un breve comentario merece la micoflora asociada a los «callos» de enraizamiento, excepción hecha de la Fusárica ya comentada. La presencia de dos hongos patógenos al cultivo como son *Rhizoctonia solani* y *Botrytis cinerea*, a pesar de su pequeña proporción. Notoria la presencia de *Phialophora*, siendo, además, procedente de un país frío donde la «Fialoforosis» es una enfermedad del clavel, puso en guardia a los compradores, aunque, afortunadamente, la posible enfermedad no se ha manifestado en las comarcas donde se cultivaron los esquejes. Los restantes micromicetos constituyen una micoflora asociada a las raíces de los retallos cualquiera que fuere la variedad o el lugar de procedencia, destacando como habituales acompañantes: *Alternaria* sp. (tipo *tenuis*), *Ostrachoderma* sp., *Penicillium* sp. y *Trichoderma* sp.

1.1. Relación entre la presencia de *F. oxysporum* en el «callo» y en la rizosfera

Como se anunció en el epígrafe anterior, una experiencia más amplia fue preparada en base a la información adquirida en el cuadro 11. En efecto, entre los años 1982 y 1984, 330 muestras fueron analizadas tanto para el «callo» como para la rizosfera, habiéndose presentado los resultados analíticos del material vegetal en el cuadro 10. El cuadro 12 resume lo que la experiencia dio de sí.

La lectura del cuadro 12 debe atenerse a las siguientes combinaciones entre columnas:

a) Las columnas (1), (2) y (3) guardan entre sí la relación de igualdad: $(1) = (2) + (3)$.

b) La relación entre las columnas (2) y (4), cuando cumple la desigualdad $(2) - (4) < 0$, adquiere el significado de que se aisló *F. oxysporum* del callo de los esquejes, pero no del sustrato de su rizosfera, siendo el número resultante de la sustración el número de muestras en que tal hecho ocurrió.

De esta manera puede verse cómo, al igual que en el cuadro 11, se encuentran muestras que sin presentar *F. oxysporum* en el «callo» lo manifiestan en el sustrato (columna 3). Pero, además, muestras con *F. oxysporum* en el «callo» no lo manifestaron en el sustrato (basta para saber su proporción operar como se ha indicado en el apartado b, anteriormente). Siguiendo este razonamiento con todos los resultados obtenidos de las 330 muestras, la presencia de *F. oxysporum* no se reduciría al 14,24 por 100 de las muestras que lo han transmitido por el «callo», se necesitaría una corrección. Corrección calculada de la manera siguiente: $(1) + a$, donde $a = (4) - (2)$ expresaría lo no comprendido en (1). Así, en el cuadro 12, la presencia real de *F. oxysporum* vendría dada por: $60 + 22 = 82$, ochenta y dos muestras que representan un 24,85 por 100 de la totalidad analizadas. De esta manera son diez puntos de porcentaje los correctores sobre una pregunta de sí/no está el hongo. Todavía hará falta una modificación más cuantitativa, proporcionada por la agrupación de muestras según la densidad de inóculo contenido en ellas: el 81,67 por 100 presentaron entre 1 y 500 prog/g.; el 15 por 100, entre 500 y 1.500 prop/g., y 3,33 por 100, entre 2.500 y 3.500 prop/g. Hay, para terminar, un último factor cualitativo de corrección; por ejemplo, en el año 1984 las procedencias de Israel y de Holanda no presentaron ningún indicio de *F. oxysporum*, lo cual es cierto mientras sólo se contemple el análisis de «callo» (cuadro 10), pero el cuadro 12 bien desmiente la afirmación.

2. Aspectos de la infección por *F. oxysporum* en dos explotaciones productoras de esquejes para plantación

El apartado anterior ha dejado algunas interrogantes, cuya trascendencia justificaba

Cuadro 12

RELACION ENTRE *F. OXYSPORUM* AISLADO DEL «CALLO» Y DEL SUSTRATO RIZOSFERICO DE ESQUEJES DE CLAVEL ANTES DE PLANTAR EN TERRENO DE ASIEN TO

Año de análisis	Procedencia	Num. muestras analizadas (*)	Num. de muestras de sustrato con aislamiento positivo de <i>Fusarium</i>	Total muestras con <i>F. oxysporum</i> en sustrato (1)	Relación <i>F. oxysporum</i> «callo/sustrato rizosfera»			Num. muestras con <i>F. oxysporum</i> en callo y sustrato (2)	Num. muestras con <i>F. oxysporum</i> sólo en sustrato (3)	Num. muestras con <i>F. oxysporum</i> sólo en «callo» (4)
					Densidad de <i>F. oxysporum</i> en sustrato rizosférico (propág/g.)					
					0-500	500-1.000	2.500-3.500			
1982	España	20	17	11	8	3	—	3	8	4
	Francia	13	7	5	5	—	—	2	3	5
	Holanda	10	4	2	2	—	—	—	2	1
	Israel	4	2	1	1	—	—	—	1	—
1983	España	44	27	18	12	5	1	12	6	13
1984	España	159	35	21	19	1	1	8	13	24
	Holanda	65	1	1	1	—	—	—	1	—
	Israel	15	1	1	1	—	—	—	1	—
TOTALES		330	94	60	49	9	2	25	35	47

(*) Muestra se denomina aquí al número de partidas diferentes analizadas, en las que se pueden repetir cultivares.

cualquier intento de comprensión de esa realidad. Parecían como más interesantes dos preguntas, cuyo planteamiento podría ser formulado así: ¿Si los esquejes manifiestan *F. oxysporum* sólo en el callo, significa, necesariamente, que procedían de una planta madre enferma? ¿Si la contaminación ocurre sólo en el sustrato y no en el «callo», representa el hecho una infección de la mezcla de enraizado durante el período en que los esquejes emiten sus raíces?

Para esbozar, al menos, unos intentos de respuestas dos explotaciones multiplicadoras de esquejes fueron estudiadas, atendiendo a tres aspectos: a) estado sanitario de las plantaciones de «pies-madres» y de los esquejes de ellas obtenidos; b) importancia de los *F. oxysporum* en los sustratos y esquejes en ellos enraizados, y c) contaminación del ambiente no telúrico por *Fusarium*.

Este planteamiento no significa, necesariamente, llegar a conocer la respuesta a las preguntas planteadas. Algunas razones pueden llevar a la comprensión de esta posibilidad: 1) Un número, nunca precisado, de plantaciones de «pies-madre» se establecen en campos de agricultores, quedando su cultivo bajo la custodia de éstos; 2) a veces, las plantaciones para la obtención de esquejes se realizan lejos de la explotación donde ocurre la multiplicación, y su situación nunca es revelada, y 3) sucede, con más frecuencia de la comentada, un incremento, no previsto, de la demanda de retallos con raíces, en esas situaciones se enraiza material de cualquier procedencia, incluidos los esquejes cortados a las varas florales que se preparan para el comercio. Estos hechos esbozados pueden no representar toda la realidad de las explotaciones multiplicadoras, aunque lo expuesto ya es bastante complicado.

Con las precauciones enunciadas, el trabajo se ha realizado en dos explotaciones, geográfica y ecológicamente, ubicadas en puntos bien diferenciados: uno en la Comunidad Autónoma de Murcia y otro en las Islas Canarias.

2.1. *Los Fusarium en la explotación de las Islas Canarias*

La producción de esquejes, en algunas de

sus fases, se planteaba de la siguiente manera: retallos sin enraizar («esquejes en verde» según el lenguaje coloquial de los multiplicadores) se importaban del extranjero para establecer la plantación de «pies-madre» o, simplemente, para su venta comercial una vez producidas las raíces; en cualquier caso, para ser enraizados en la explotación estudiada. La plantación de «pies-madre» se realizaba en el suelo; suelo que se desinfectaba con metam-sodio o con vapor de agua, pero que previamente sufría una serie de operaciones, de sumo interés para el caso que nos ocupa. El mismo suelo había soportado una plantación de clavel, y las plantas al final del cultivo eran tronchadas y tratadas con pulverización de metam-sodio, el proceso permitía secar el material vegetal, que se dejaba en el terreno; se preparaba el suelo para la nueva plantación, y antes de proceder a ella se desinfectaba con vapor de agua o con metam-sodio.

Los esquejes se enraizaban colocándolos en mesetas preparadas del siguiente modo: una película de plástico negro formaba el fondo sobre el que se situaba una capa de «picón» (gravilla obtenida de las piedras volcánicas o más exactamente de la lava sólida), a la que se añadía el sustrato de enraizado propiamente dicho. La desinfección se realizaba, siempre, con vapor de agua.

Esta dinámica de la explotación, obligada posiblemente por la reutilización de la tierra, es, desde el punto de vista epidemiológico, bastante compleja, pero inevitablemente real. Las mediciones presentadas a continuación se hicieron entre 1983 y 1987.

2.1.1. *Estado sanitario de los esquejes*

El cuadro 13 esquematiza la micoflora asociada a los esquejes «en verde», antes de proceder a su enraizado. Fueron analizados tanto los producidos en la explotación, como los importados para establecimiento de «pies-madres».

El cuadro 13 permite, al menos, esclarecer que los retallos «en verde» están contaminados por *Fusarium oxysporum*, y no sólo los de producción propia sino también los importados.

Cuadro 13

MICROFLORA ASOCIADA A LOS ESQUEJES SIN ENRAIZAR. ISLAS CANARIAS

Año	Núm. esquejes analizados	Núm. variedades	Procedencia	Micoflora aislada (por 100)					Otros hongos	
				<i>Fusarium</i> spp.		<i>F. oxysporum</i>		Otros hongos		
				<i>F. roseum</i>	<i>F. moniliforme</i>	Esquejes	Núm. cultivares			Esquejes
1984	87	4	Propia explotación	—	—	—	—	—	—	Alternaria 9,13 Aspergillus 0,28 Botrytis cinerea 0,06 Cladosporium 4,59 Penicillium 43,02 Phoma 0,12 Rhizopus 0,34 Trichoderma 1,20
1985	946	43	Propia explotación	0,42	—	0,32	2			
1987	708	28	Holanda	3,67	1,41	0,56	1			
			Propia explotación	—	—	0,14	1			
TOTALES	1.741	—	—	1,72	0,57	0,46	—			

Cuadro 14

MICROFLORA ASOCIADA A LOS «CALLOS» DE ESQUEJES ENRAIZADOS. ISLAS CANARIAS

Año	Núm. esquejes analizados	Núm. de variedades	Micoflora aislada (por 100)					Otros hongos		
			<i>Fusarium</i> spp.		<i>F. oxysporum</i>		Otros hongos			
			<i>F. roseum</i>	<i>F. moniliforme</i>	Esquejes	Núm. de cultivares			Esquejes	Núm. de cultivares
1984	93	10	8,62	—	27,95	7				Alternaria 14,91 Aspergillus 3,10 Cladosporium 4,76 Ostrachoderma 11,39 Penicillium 24,63 Rhizopus 0,41 Trichoderma 1,03
1985	320	4	—	—	—	—				
1987	70	7	5,71	4,28	12,86	5				
TOTALES	483	—	2,48	0,63	7,24	—				

El cuadro 14 da la imagen de la micoflora, toda vez que los esquejes han sido enraizados.

La comparación entre los cuadros 13 y 14 permite, bien que sea criticable el número de esquejes analizados, extraer algunas enseñanzas:

— La operación de enraizado ha aumentado notablemente el número de esquejes contaminados y, lo que es más grave, el de variedades ha crecido ostensiblemente.

— La micoflora no Fusárica ha permanecido prácticamente invariable en cuanto a los géneros aislados. Habría que salvar la aparición de *Ostrachoderma* después del enraizado, y anotar la ausencia de *Botrytis*.

Establecer a partir de aquí una representatividad cuantitativa de lo que pasa en el conjunto de la explotación no es posible. Después de la experiencia adquirida, podría decirse que cada muestra se representa a sí misma. No obstante, de una manera cualitativa, se dibuja una neta tendencia en dos de los años, bien que 1985 se encargue de descirla, hacia un aumento de la micoflora Fusárica, notoriamente de *F. oxysporum*; mientras que la micoflora restante permanece casi invariable, lo que permitiría especular sobre una eficaz desinfección del sustrato de enraizado.

2.1.2. La contaminación de suelos y sustratos

A) *Los sustratos de enraizamiento.*—Como se indicó anteriormente, las desinfecciones del sustrato para reutilizarlo se hicieron siempre aplicando vapor de agua. Desde septiem-

bre de 1984 hasta marzo de 1986, fueron analizadas once muestras tomadas en las siguientes condiciones: a) 24 h. después del tratamiento; b) 30 días después; c) a los 7 días de iniciado el enraizado; d) al arrancar los esquejes, es decir, 25-30 d. después de aplicar vapor. Analizando selectivamente para *Fusarium*, nunca se detectó la presencia de ningún miembro del género.

Sin embargo, la capa de «picón» colocada para favorecer el drenaje si mostró, antes de la aplicación de tratamiento alguno, la siguiente imagen de Flora Fusárica:

<i>F. oxysporum</i>	545 ± 120 propág/g.
<i>F. solani</i>	85 ± 20 propág/g.
<i>F. roseum</i>	374 ± 64 propág/g.
<i>F. moniliforme</i>	4 ± 4 propág/g.

Normalmente, turbas y otros sustratos vírgenes para el cultivo suelen carecer de Flora Fusárica. Esta afirmación debe tomarse con toda la relatividad que el comercio impone. En el caso de la lava triturada, los *Fusarium* no le son extraños pese a que de una piedra podría esperarse lo contrario. ¿Explicaría el «picón» una parte del aumento de la contaminación por *F. oxysporum* en los esquejes enraizados? Tal vez.

B) *Los suelos de las plantaciones de «pies-madres».*—La imagen de la Flora Fusárica en las parcelas con 12 meses de cultivo de clavel («pies-madres») se presenta en el cuadro 15. Del total de siete «sorribas» analizadas se detallan cuatro. Las muestras se tomaron entre la superficie y 15 cm. de profundidad, en un solo punto, y, como no podría ser menos, los resultados no son homogéneos.

Con esta variada imagen se emprendió el estudio del efecto de la desinfección de estos

Cuadro 15

FLORA FUSARICA EN SUELOS DE CANARIAS CULTIVADOS CON CLAVEL (12 MESES DESDE LA PLANTACION). SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO

Código de muestra	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. roseum</i>
1-84	4.751 ± 1.091	6 ± 6	—	131 ± 43
1-85	2.608 ± 328	—	63 ± 22	962 ± 152
2-85	1.154 ± 125	77 ± 39	431 ± 95	4.987 ± 487
3-85	471 ± 77	—	345 ± 174	106 ± 8

suelos con metam-sodio y vapor de agua, pero tratando de saber cuál era el efecto sobre los *Fusarium* de la, posiblemente necesaria, práctica de secar las plantas con metam-sodio y después enterrarlas con las labores de preparación del terreno, para hacer el definitivo tratamiento biocida. A pesar de que las muestras sólo se tomaron en un punto y ser su profundidad de 15 cm., los resultados presentados no dejan de tener puntos de interés y quedan reflejados en el cuadro 16.

Comparando los cuadros 15 y 16, hay, evidentemente, un cambio de imágenes de la micoflora Fusárica. Las modificaciones podrían expresarse así:

— La densidad de inóculo, en general, disminuye después del tratamiento con vapor de agua, tenga o no el suelo plantas del cultivo anterior añadidas. Y ese inóculo no parece, en suelo desnudo, multiplicarse excesivamente tres meses después de la aplicación biocida (cuadro 16, suelos S84 y S84-1).

— Los suelos S-87 y S87-1 del cuadro 16 tienen un comportamiento bien peculiar y, desafortunadamente, peligroso para la contaminación por *F. oxysporum*. La adición al suelo de las plantas tiene un indudable efecto multiplicador de los *Fusarium*, y de los *F. oxysporum*, también. Sin embargo, la actuación del metam-sodio secando las plantas, lejos de ejercer su poder biocida, aumenta

considerablemente el inóculo *Fusarium*, y notablemente *F. oxysporum*. Podría interpretarse un hecho así, por imitación de la naturaleza, como la potenciación de la capacidad saprofita de los *Fusarium* al proporcionarles un sustrato propicio, como es el material vegetal muerto en su totalidad por acción del desinfectante.

Tampoco esta práctica de la explotación estudiada elimina la presencia de *F. oxysporum* que, sin duda, actuará sobre la siguiente plantación de «pies-madres», asegurando así la permanencia, entre los *F. oxysporum*, de una proporción importante de la especialización parasitaria que ataca al clavel.

2.1.3. La contaminación del ambiente no telúrico

Diversos autores, aunque muy pocos aportando mediciones, han considerado la infección de los cultivos por la contaminación ambiental de parásitos típicamente telúricos. Es el caso de los *Fusarium*, y específicamente el de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. Esta posibilidad, y la de explicar la contaminación de sustratos, sin estar por ello contaminado el «callo», motivó la experiencia cuyos resultados se presentan en el cuadro 17.

Se evidencia, deteniéndose a leer el cuadro

Cuadro 16

FLORA FUSARICA EN PLANTACIONES DE «PIES-MADRES», DESPUES DE APLICAR DIFERENTES TRATAMIENTOS BIOCIDAS. ISLAS CANARIAS. SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO

Código de muestra	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. roseum</i>	Características del tratamiento
S-84	30 ± 174	345 ± 174	106 ± 8	Inmediatamente después de aplicar vapor de agua.
S-84-1	727 ± 96	—	—	Después de 90 días de aplicar vapor de agua.
S-87	6.151 ± 712	659 ± 46	2.090 ± 211	Plantas de clavel incorporadas al suelo, sin tratamiento biocida alguno.
S-87-1	12.509 ± 1.114	985 ± 104	4.389 ± 229	Plantas de clavel tratadas con metam-sodio (2.000 l/ha.) e incorporadas al suelo.
S-87-2	7 ± 7	—	7 ± 7	Suelo tratado con vapor antes y después de incorporar plantas de clavel del cultivo anterior.

Cuadro 17

FUSARIUM PRESENTES EN EL AMBIENTE NO TELURICO DE DOS EXPLOTACIONES DE CLAVEL EN LAS ISLAS CANARIAS

Fecha y lugar del muestreo	Parte de la explotación muestreada	Flora Fusárica aislada				Observaciones atmosféricas durante el muestreo
		<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. roseum</i>	
Noviembre 1984 Sur de Tenerife	8,75 m ² del polvo depositado en la techumbre del invernadero	—	12.598 colonias	8.712 colonias	—	Tormenta de polvo en la zona (*)
Marzo 1985 Sur de Tenerife	4,55 m ² de plástico negro, nuevo. Exterior invernadero a 2 m. sobre suelo	31 colonias	6 colonias	5 colonias	211 colonias	Se produjo una tormenta de polvo. No hizo viento, se recogió el polvo depositado por gravedad
Sur de Tenerife	4,34 m ² de plástico negro nuevo. Interior invernadero a 1 m. sobre suelo	—	—	—	—	
Febrero 1985 Sur de Gran Canaria	Polvo recogido en el ambiente exterior del invernadero	12 prop/g.	20 prop/g.	—	138 prop/g.	Se produjo una tormenta de polvo, con violentos vendavales

(*) La muestra no representa sólo al polvo caído con la tormenta, ya que el plástico no era nuevo y podrían haberse acumulado sobre él sucesivas capas anteriores.

17, el trasiego de propágulos de *Fusarium* spp. con las masas de aire, en este caso cargadas de polvo, así como el gran depósito de aquéllos en la techumbre de uno de los invernaderos de enraizado. Y parece inexplicable cómo una especie como *F. moniliforme*, carente de clamidosporas, puede aparecer tan ampliamente representada en un medio aparentemente tan inhóspito, como el plástico de la techumbre del invernadero.

2.2. *Los Fusarium en la explotación de la Comunidad Autónoma de Murcia*

Esta explotación, cuando se hizo el muestreo en 1983 y 1984, iniciaba el enraizado de esquejes. Esto que representa una notoria diferencia con respecto a la ubicada en las Islas Canarias, no lo es tanto si se centra el objetivo sobre *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, ya que la empresa murciana tenía declarada la enfermedad en invernaderos con plantas para flor cortada. Diferencias las aportan, además, la ausencia de desinfección con vapor de agua, supliendo la falta el uso de metam-sodio y la renovación del sustrato al comen-

zar un nuevo enraizado; la pulcra instalación de mesas de enraizado con los soportes sobre solera de hormigón, que cubría, también, pasillos de servicio, evitando, obviamente, contaminaciones del suelo y facilitando las desinfecciones de mesetas e instalaciones. La humedad necesaria para el enraizado se aportaba a través de microaspersores situados a 1 m. sobre la superficie del sustrato, que funcionaban durante 90 segundos cada 10 minutos.

Los «pies-madres» plantados en el suelo, dentro de la misma explotación, lo estaban en invernaderos con los pasillos de servicio hormigonados.

2.2.1. *Contaminación de los sustratos enraizado*

Compuestos por una mezcla de turba negra y perlita, los sustratos fueron analizados, tomando, previamente, una muestra, por separado, de sus componentes, turba y perlita. Después, la mezcla de ambos se humedecía con agua, pisoteándola operarios para favorecer la hidratación. El análisis selectivo para Flora Fusárica no mostró ningún *Fusarium*

en los componentes, pero en su mezcla preparada, ya se encontraron 9 prop/g. de *F. oxysporum* y 23 prop/g. de *F. roseum*.

Los invernaderos de enraizamiento fueron visitados mensualmente, tomando muestras de uno de ellos —siempre el mismo— en 4 ó 6 mesetas, desde el momento en que se introdujo el material vegetal. Los resultados se han tabulado en el cuadro 18.

Del cuadro 18, algunas consecuencias no carentes de interés pueden extraerse:

— Si se exceptúan los muestreos de enero, marzo y abril, en todos los demás, los *F. oxysporum* están presentes, y su continuidad es ininterrumpida a partir de mayo.

— La manifestación de los *F. oxysporum* es siempre coincidente con el momento del arrancado de esquejes (exceptuar el mes de junio). A este respecto puede ser indicativa la presencia abundante del hongo en el mes de febrero, cuando en muestreos posteriores y anteriores no se encuentra en los análisis.

— Los 286 esquejes analizados en marzo, correspondían al enraizado de enero, arrancado en febrero, cuando 3 sobre 5 mesetas

manifestaron *F. oxysporum*; los esquejes, sin embargo, no lo presentaron. He aquí cómo en la misma explotación multiplicadora se reconocen los resultados obtenidos en las partidas vendidas a los agricultores: *F. oxysporum* puede estar en el sustrato, pero no en el «callo».

Es verosímil que las grandes cuadrillas de operarios puedan contaminar el sustrato con las manipulaciones de arrancado y embolsado. Son, al fin y al cabo, las mismas manos que recogen los esquejes en verde de los «pies-madres», que pueden estar enfermas, siendo segura la presencia de *F. oxysporum* en el suelo. A este respecto, la inspección de los «pies-madres» permitió comprobar la existencia de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* en dos variedades durante la visita de abril, ampliándose en 3 el número de cultivares con síntomas en junio.

— Pero no puede excluirse una contaminación ambiental en los invernaderos, cuya apertura lateral comenzó en mayo para evitar la elevación de las temperaturas. Era, por tanto, necesario comprobar este extremo.

Cuadro 18

FLORA FUSARICA EN SUSTRATOS DE ENRAIZADO. MURCIA. SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G.

Mes de muestreo	Mesetas de enraizado muestreadas	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
Enero	6	—	—	—
		32	—	—
Febrero (*)	5	33	18	—
		47	46	—
Marzo (**)	6	—	—	—
Abril	6	—	—	—
Mayo (*)	4	12	—	—
Junio	4	80	—	—
		496 ± 67	—	18 ± 18
Julio (*)	4	14 ± 7	—	45 ± 20
		703 ± 151	15 ± 15	75 ± 39
		195 ± 37	—	110 ± 19

(*) El muestreo se hizo mientras se procedía al arrancado de esquejes.

(**) Se analizaron 286 esquejes de los enraizados en enero, conservados en cámara a 2° C. No se aisló *F. oxysporum* del «callo».

2.2.2. Contaminación del ambiente no telúrico de los invernaderos de enraizado

Las medidas realizadas mensualmente desde marzo a julio de 1984 se hicieron exponiendo 1.272 cm² de superficie de trampa —medio selectivo para *Fusarium*— distribuida en dos mesas de enraizado del mismo invernadero. El tiempo de «captura» fue de 30 minutos cada muestreo. Durante ese tiempo, los nebulizadores funcionaron a razón de 90 segundos cada 10 minutos. Los resultados se han resumido en el cuadro 19.

Comparando los cuadros 18 y 19, existe una misma tendencia: cuando la presencia de *F. oxysporum* ocurre en los sustratos, su manifestación en el ambiente no telúrico del invernadero es paralela. Y, tal vez, podría añadirse que cuando mayor es la contaminación en los sustratos, más colonias son «atrapadas» en el ambiente.

Es importante que no es sólo *F. oxysporum* quien habita suspendido en el aire. También *F. roseum*, *F. solani* y *F. moniliforme* están inmersos en él. Este hecho no parecía tan evidente en los estudios hechos en la explotación de las Islas Canarias, donde el polvo en suspensión se veía nítidamente, o más exactamente podía cegarnos temporalmente dada su densidad. Por el contrario, su diáfana limpieza en Murcia no dejaba, en principio, prever la densidad del mes de julio, por ejemplo.

3. Discusión y conclusiones

El análisis de algunos aspectos de la infección por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en

los esquejes y en dos explotaciones multiplicadoras, ha puesto en evidencia varios hechos:

- Los esquejes infectados por el hongo proceden tanto de nuestro país como de otros extranjeros de donde se han importado. Puede concederse que los de origen nacional, tal vez no sólo por ser los más abundantes, son los más ampliamente contaminados por *F. oxysporum*. La certeza de que la infección de terrenos nuevos ha ocurrido, fundamentalmente, por esta vía (34 por 100 de las explotaciones prospectadas, ver capítulo anterior) muestra la necesidad de un control sanitario de los esquejes antes de la plantación, para detectar la presencia de *Fusarium oxysporum*. En este sentido, las actuales normas sanitarias que prescriben una ausencia total de *Phialophora cinerescens*, deberían ser modificadas en sentido análogo para *F. oxysporum*. La «Fusariosis vascular» ha sido muy grave en la región muestreada, mientras que la «Verticiliosis» o «Fialoforosis» ha constituido una anécdota criptogámica.

- La cuantificación de *F. oxysporum* en los esquejes analizados merece una discusión por su transcendencia. Transcendencia ligada tanto a la valoración más exacta de la cantidad de inóculo del micromiceto, como al conocimiento de algunos aspectos epidemiológicos de la «Fusariosis vascular».

Si se cuantifica la contaminación a partir del análisis del «callo» de enraizado, se obtiene un valor no mayor del 2 por 100 de esquejes portadores del hongo, a lo largo de siete años de observación. Esta tasa queda netamente modificada cuando se analizan los siguientes supuestos: 1) los *F. oxysporum*

Cuadro 19

CONTAMINACION AMBIENTAL EN INVERNADEROS DE ENRAIZADO DE CLAVEL, MURCIA. SE EXPRESA EN NUMERO DE COLONIAS POR 1.272 CM² DE SUPERFICIE DE LA «TRAMPA»

Mes de muestreo	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. moniliforme</i>
Marzo	—	—	—	—
Abril	—	—	5	—
Mayo	1	—	1	—
Junio	1	1	—	—
Julio	282	—	3	6

pueden estar en el «callo» y al mismo tiempo en el sustrato que compone la rizosfera; 2) el hongo puede encontrarse en el «callo» y no en la rizosfera, y 3) el miceto ausente del «callo» está presente en el sustrato rizosférico. A este respecto es bien ilustrativo el cuadro 12: las 330 muestras analizadas entre 1982 y 1984 cifran la contaminación en el «callo» en el 14,24 por 100; sin embargo, las tres posibilidades enumeradas antes aportan diez puntos sumativos al porcentaje anterior, situando la magnitud en el 24,85 por 100, siendo la concentración de inóculo diferente en las rizosferas, como en el mismo cuadro 12 se ha descrito.

Epidemiológicamente el significado de la presencia de *F. oxysporum* en el «callo» y no en el sustrato; así como la opuesta, hongo en la rizosfera y no en el esqueje, parecen misteriosas y contradictorias. Sin embargo, una explicación puede extraerse del trabajo de TRAMIER *et al.* (1983), que estudia la epidemiología de la «Fusariosis vascular» durante el enraizado de esquejes. Aunque partiendo de supuestos diferentes, merece la investigación llevada a cabo un comentario, dado su carácter descriptivo único en la bibliografía encontrada.

El sustrato de enraizado utilizado ha sido la perlita —empleada por casi todos los multiplicadores mezclada con turba— donde los retallos «en verde» se colocaban a distancia de 2,5 cm. entre ellos. La fuente de inóculo la constituía un esqueje invadido vascularmente por *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. La experiencia comportaba el análisis en medio selectivo para *Fusarium* (KOMADA, 1975) de 1 g. de la perlita rizosférica al finalizar la fase de enraizamiento. Los resultados revelaron que entre los ocho esquejes más próximos a la fuente de inóculo, el 25 por 100 estaban infectados en el «callo»; el 71,1 por 100, en la raíz solamente, y el 96,1 por 100, en la rizosfera. La rizosferas analizadas se agruparon según las siguientes densidades de inóculo: 15,5 por 100 de ellas presentaron 0 colonias; 65,0 por 100 entre 1 y 100 y el 19,5 por 100 más de 100 colonias por gramo de sustrato. Sin embargo, las conidias de *F. oxysporum* fueron encontradas más allá de los 8 esquejes de alrededor, puesto que el análisis rizosférico de 24 esquejes mostró la presencia del

hongo en el 85,6 por 100 de las rizosferas. Aunque no explícitamente dicho, puede especularse con que en una situación tal se encuentran incluidos los dos casos hallados en las experiencias presentadas: ausencia del «callo», presencia en el sustrato y su opuesta. Reforzando la observación con el seguimiento de la «Fusariosis» realizado por TRAMIER *et al.* (1983), que pone en evidencia cómo aquellas rizosferas en las que el número de colonias de *F. oxysporum* fue nulo, la enfermedad se manifestó al cabo de los meses. El hecho puede indicar o que los esquejes estaban infectados en el «callo» y no en el sustrato, o bien que los análisis no tienen sensibilidad suficiente para detectar determinadas dosis de inóculo.

Los autores explican sus resultados atribuyéndoles el siguiente significado epidemiológico: La propagación de *F. oxysporum* en los enraizamientos estaría favorecida por la calidad de los sustratos (sumamente favorables a la multiplicación del hongo). Las altas temperatura y humedad inducirían una importante esporulación del hongo. Las esporas diseminadas en la turba o en la perlita a bajas concentraciones, provocarían la aparición de síntomas, solamente, un año después de la plantación en terreno definitivo.

Una explicación posible a los resultados de analizar «callos» y rizosferas se encuentra en estas observaciones epidemiológicas durante el enraizado. Siendo, además, ilustrativa de la significación de pequeñas concentraciones de inóculo en el sustrato, en lo concerniente a la aparición de la enfermedad. Por tanto, es válida la corrección en la tasa de contaminación de los esquejes, en el sentido que el sólo análisis del «callo» no representaría una realidad a sufrir en las plantaciones establecidas.

Pero epidemiológicamente, en lo escrito hasta ahora no se han contemplado otras vías de contaminación de sustratos. En las dos explotaciones estudiadas se ha medido su importancia, y a continuación se discute su posible significado.

- Ha sido TRAMIER (1985, 1986) quien en sus últimos trabajos ha incidido sobre la contaminación aérea por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. El autor explica así la posibilidad: las plantas enfermas exportadas, des-

pués de arrancarlas del invernadero, permanecen amontonadas en la explotación. El aire puede arrastrar pequeñas partículas de la tierra adheridas a las raíces y constituirse en vehículo para contaminar las plantaciones. O, también, albercas y estanques de riego, siendo entonces el agua quien aportaría el inóculo. Sin embargo, ninguna prueba experimental es presentada para conocer determinados aspectos de la cuestión.

La paciente medición en ambas explotaciones estudiadas, que será comprobada en capítulos sucesivos, pone en evidencia varios hechos de interés: En el caso de la explotación canaria, la techumbre del invernadero puede ser ilustrativa de las dosis de inóculo *Fusarium* acumulado a lo largo del tiempo (cuadro 17) —también *Phoma* sp. estuvo presente para la misma superficie con más de 10.000 colonias— a pesar de la apariencia inhóspita del medio; pero si es posible imaginar la permanencia de *F. solani*, cuesta más admitir la de *F. moniliforme*, carente de clamidosporas en los medios de cultivo «in vitro». La experiencia es indicativa, también, de como la ausencia de viento puede, a pesar del polvo en suspensión, no producir contaminación dentro del invernadero.

La explotación murciana tuvo un seguimiento exclusivamente en el interior de los invernaderos de enraizamiento. Sin poder exceptuar la posible vehiculación de los *Fusarium* por el agua de los nebulizadores, distribuida cada 10 minutos, hay una coincidencia entre apertura lateral de invernaderos y aumento del inóculo. Inóculo no despreciable si se piensa en la superficie de «trampa» y en los 30 minutos de exposición de aquélla, y que, sin duda, podría explicar como un «callo», puede no estar contaminado por *F. oxysporum* y sí estarlo el sustrato de enraizado.

- Pero ambas empresas multiplicadoras tienen otros aspectos de la infección nada despreciables, cuyo estudio ha permitido explicar cómo los esquejes llegados a los «diancicultores» estaban contaminados por *Fusarium oxysporum*.

En la explotación de las Islas Canarias, las prácticas culturales no permiten eliminar el inóculo del suelo en las plantaciones de «pies-madres», y ello a pesar de la probada eficacia

del vapor de agua en los sustratos. Es posible que esa imposibilidad estribe en la práctica de dejar las plantas del cultivo anterior. El uso como desinfectante y herbicida del metam-sodio deja ver un efecto contrario al esperado: la multiplicación del inóculo (cuadro 16).

En la explotación murciana, donde ya estaba declarada la «Fusariosis vascular» en los invernaderos para flor cortada, está también presente en la plantación de «pies-madres», siendo muy manifiesta en abril. Los sustratos de enraizado exteriorizan *F. oxysporum* durante cuatro meses de los siete que duró la experiencia, siendo más acusado el miceto cuando se procede al arrancado. ¿Es imaginable cómo las manos de las enormes cuadrillas de operarios pueden ser introductoras del inóculo en las mesas de enraizado?

- La micoflora no Fusárica, asociada a los esquejes de clavel, merece un comentario, forzosamente breve como consecuencia de la escasa bibliografía y de no ser más que un apéndice de trabajo presentado.

PONCHET y AUGÉ (1969) abordaron el tema desde la óptica de las plantas de clavel en terreno definitivo. Análogo fue el planteamiento de MOREAU (1957) para la biocenosis de los «claveles de Niza», en un medio menos sofisticado que el estudiado por sus compatriotas para el «clavel americano». Afirman los primeros, «la rizosfera del clavel se constituye progresivamente a partir de la micoflora de los suelos de cultivo, muy pobre después de los tratamientos de desinfección. Los esquejes no aportan con ellos más que bacterias en gran abundancia, que colonizan las raíces desde su aparición y es muy raro que vehiculen hongos».

Estas observaciones no son corroboradas en este trabajo. Los cuadros 10, 13 y 14 bien las desmienten tanto en esquejes enraizados como en los carentes de sistema radicular. Si se exceptúan *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani* potenciales patógenos del cultivo, toda una corte de hongos, prácticamente los mismos, están presentes cualquiera que fuere la procedencia del material vegetal, sobresaliendo por su permanencia y abundancia, *Alternaria* sp. (tipo *tenuis*), *Ostrachoderma* sp., *Penicillium* sp. y *Trichoderma* sp. Se podría,

siguiendo la costumbre al uso, especular sobre la existencia de una micoflora característica asociada a los esquejes. Micoflora, que por otra parte no se mantiene después en las plantaciones comerciales. Basta para ello,

mirando el cuadro 5 del capítulo anterior, comprobar la ausencia de *Ostrachoderma*, *Trichoderma* y *Penicillium* de las plantas con podredumbres en las raíces, «callo» y base del tallo.

CAPITULO 3

ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS DE LA «FUSARIOSIS VASCULAR» EN LOS INVERNADEROS PARA FLOR CORTADA

Las explotaciones estudiadas se han situado en Murcia y una en Almería. Los antecedentes culturales de las tres han sido diferentes. En líneas generales, se ha indagado en las siguientes fases del cultivo: micoflora telúrica de los suelos y de los estiércoles; valoración de la epidemia; recolonización de los suelos después de la plantación; eficacia de las desinfecciones, según la utilización de distintos biocidas y técnicas de aplicación; contaminación aérea por *Fusarium* spp. y el papel del sistema de riego en la dispersión de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*.

Las diferencias en el cultivo han sido mínimas. En esquema, las fases de aquel que interesan para el estudio emprendido han sido las siguientes: La explotación se hace durante dos años, al final de los cuales las plantas se arrancan y se realiza una nueva plantación. Los esquejes son transplantados entre mayo y julio, comenzando el corte de flores a finales de octubre y concluyendo en mayo-junio del año siguiente, época en la que se realiza la poda de las plantas, que se las dejará producir a partir de septiembre hasta alcanzar el segundo mes de mayo después de su plantación inicial. En general el riego se hace por goteo, siendo necesarios los apoyos que prestan las pulverizaciones de agua después del trasplante para favorecer el «agarre».

1. Análisis de la infección en una explotación de claveles en la comarca del Campo de Cartagena (Murcia)

El estudio se realizó entre 1980 y 1982. La explotación analizada más intensamente

constaba de varios invernaderos, algunos de los cuales llevaban 6 años de cultivo de clavel y otros se plantaban por primera vez. Antes de la transformación del terreno ningún cultivo había sido implantado, conformándose los suelos muestreados por adición de tierras procedentes de los desmontes realizados en el término de Sucina (Murcia) para construir el canal del transvase Tajo-Segura.

1.1. Presentación de algunas características de los invernaderos muestreados

La toma de muestras se hizo en los términos de Torre-Pacheco, San Javier y San Pedro del Pinatar (Murcia) y Pilar de la Horadada (Alicante). El cuadro 20 recoge algunos caracteres de interés para el estudio de la «Fusariosis vascular».

1.2. La micoflora telúrica en los invernaderos. La gravedad de la «Fusariosis vascular»

Los análisis de flora total de los invernaderos antes descritos se presenta de manera cualitativa en el cuadro 21. Las muestras se tomaron de 0 a 30 cm. de profundidad, y se han representado aquellos suelos con cultivo de clavel en el momento del muestreo.

Suelos, en los que el tipo de análisis aplicado deja manifestar una pobre micoflora, cuya composición está muy escorada hacia la presencia de *Penicillium* sp. Los *Fusarium*, representados en todos los invernaderos, les siguen en importancia, pero dentro de ellos, los *F. oxysporum* no son los más abundantes.

CARACTERÍSTICAS DE LOS INVERNADEROS MUESTREADOS EN EL CAMPO DE CARTAGENA (MURCIA)

Código de invernadero	Número de años con cultivo de clavel	Tratamiento de desinfección			Meses transcurridos desde la desinfección al muestreo	Meses transcurridos desde la última plantación
		Materia biocida	Dosis	Técnica de aplicación		
CL-19	6	Metam-sodio	4.000 l/ha.	Riego a manta	10	9
CL-20	6	Bromuro de metilo	70 g/m ²	—	10	9
CL-16	2	Metam-sodio	1.500 l/ha.	Riego a manta	12	11
CL-17	2	Metam-sodio	1.500 l/ha.	Riego a manta	13	14
CL-18	3	Metam-sodio	1.500 l/ha.	Riego a manta	13	14
CL-24	1	Bromuro metilo + metam-sodio	70 g/m ² + 1.500 l/ha.	Riego a manta	1	12
CL-25	1	Bromuro metilo + metam-sodio	70 g/m ² + 1.500 l/ha.	Riego a manta	1	12
CL-58	1	Bromuro metilo + metam-sodio	70 g/m ² + 1.500 l/ha.	Riego a manta	1	12
CL-26	4	Bromuro metilo	70 g/m ²	—	1	12
CL-59 (*)	—	—	—	—	—	—

(*) Se trata de una muestra de estiércol adquirido en Albacete.

ANÁLISIS CUALITATIVO DE LA MICROFLORA DE LOS SUELOS CULTIVADOS CON CLAVEL. CAMPO DE CARTAGENA (MURCIA) (se expresa en número de gérmenes/g. suelo)

	CL-16			CL-17			CL-18			CL-19			CL-20		
	521.10 ³	100	46.3.10 ³	100	64.6.10 ³	100	591.10 ³	100	864.10 ³	100	864.10 ³	100	864.10 ³	100	
FLORA FUNGICA TOTAL	521.10 ³	100	46.3.10 ³	100	64.6.10 ³	100	591.10 ³	100	864.10 ³	100	864.10 ³	100	864.10 ³	100	
Alternaria	1.10 ³	0.19	0.3.10 ³	0.65	0.1.10 ³	0.15	2.10 ³	0.34	3.10 ³	0.35	3.10 ³	0.35	3.10 ³	0.35	
Cladosporium	13.10 ³	2.50	—	—	0.6.10 ³	0.93	1.10 ³	0.17	1.10 ³	0.12	1.10 ³	0.12	1.10 ³	0.12	
Fusarium	48.10 ³	9.21	2.5.10 ³	5.40	9.7.10 ³	15.02	24.10 ³	4.06	53.10 ³	6.14	53.10 ³	6.14	53.10 ³	6.14	
Penicillium	458.10 ³	87.91	34.5.10 ³	74.51	52.1.10 ³	80.65	538.10 ³	91.03	802.10 ³	92.82	802.10 ³	92.82	802.10 ³	92.82	
Rhizopus	1.10 ³	0.19	8.1.10 ³	17.49	0.5.10 ³	0.77	16.10 ³	2.71	—	—	—	—	—	—	
Stemphylium	—	—	0.2.10 ³	0.43	0.7.10 ³	1.08	3.10 ³	0.51	—	—	—	—	—	—	
Trichoderma	—	—	0.7.10 ³	1.51	0.6.10 ³	0.93	7.10 ³	1.18	5.10 ³	0.58	5.10 ³	0.58	5.10 ³	0.58	
Verticillium	—	—	—	—	0.3.10 ³	0.46	—	—	—	—	—	—	—	—	
F. oxysporum	9.10 ³	1.73	0.2.10 ³	0.43	2.2.10 ³	3.41	5.10 ³	0.85	3.10 ³	0.35	3.10 ³	0.35	3.10 ³	0.35	
F. solani	22.10 ³	4.22	0.4.10 ³	0.85	6.4.10 ³	9.91	19.10 ³	3.21	26.10 ³	3.01	26.10 ³	3.01	26.10 ³	3.01	
F. roseum	17.10 ³	3.26	1.9.10 ³	4.10	1.1.10 ³	1.70	—	—	24.10 ³	2.78	24.10 ³	2.78	24.10 ³	2.78	

En el momento del muestreo, se valoró la «Fusariosis vascular» en los invernaderos CL-19 y CL-20, que a pesar de no haber recibido el mismo tratamiento de desinfección, sus diferencias analíticas no detectan tal suceso. Los resultados de la medición de la gravedad de la enfermedad se muestran en el cuadro 22. La importancia de la enfermedad se valoró en los invernaderos CL-19 y CL-20 a los 9, 14 y 18 meses de realizada la plantación, representando el análisis de suelo explicitado en el cuadro 21 la imagen de la micoflora telúrica durante el primer conteo de plantas.

La imagen de la micoflora del suelo no es diferente entre ambos invernaderos a los 9 meses de plantar. Tampoco lo es el nivel de enfermedad obtenido en la valoración. Valoración, sin embargo, que plantea no pocos interrogantes, que se intentarán resolver en los epígrafes siguientes, partiendo de un hecho nada alentador como es la de haber comprobado la ineficacia de las importantes desinfecciones aplicadas (70 g/m² de bromuro de metilo y 4.000 l/ha. de metam-sodio) y paralelamente las desoladoras cifras de plantas enfermas y/o muertas, 16, 22 y 24,11 por 100 a los 14 meses de plantas. Porcentajes más aterradores si se leen independientemente algunos cultivares: Doris, Emir, Can-Can o Romeo por dar los más llamativos.

1.3. Efecto de los diferentes tratamientos de desinfección del suelo sobre la micoflora telúrica

La pregunta inmediata, después de los resultados obtenidos sobre la gravedad de la «Fusariosis vascular», era la de saber la *eficacia* en el suelo de los biocidas aplicados. Incluyendo, en ese aspecto, la profundidad alcanzada por los productos fitosanitarios, rastreados a través de los hongos eliminados.

Diversas formas de aplicación fueron estudiadas:

— Como suelo testigo se tomó el invernadero CL-25, que había soportado cultivo de clavel.

— El estiércol (código CL-59) fue analizado. Se aportaba en la explotación a razón

de 30-40 Kg/m². La oportunidad del análisis residía en que se añadía al suelo después de aplicar el bromuro de metilo —precaución normal dada la toxicidad del bromo sobre las plantas de clavel, al ser acumulado por la materia orgánica— y unas veces se desinfectaba el suelo con el estiércol utilizando met-tam-sodio y otras no.

— El invernadero CL-24 fue desinfectado de la siguiente manera: aplicación de bromuro de metilo (70 g/m²). Estercoladura posterior. Desinfección final con metamsodio (1.500 l/ha.), aplicando el producto con un abundante riego a manta. Los resultados que aquí se presentan son comparables para los tres invernaderos estudiados (CL-24, CL-25 y CL-26), hasta profundidades de 1 metro.

— El invernadero CL-26 fue tratado con bromuro de metilo (70 g/m²) después de estercolar. El poder biocida es rastreado hasta 1 metro de profundidad.

Los resultados cualitativos sobre la micoflora telúrica en las experiencias planteadas se exponen en el cuadro 23. Y son elocuentes en algunos aspectos:

Si se comparan las floras fúngicas totales de los suelos, antes y después de desinfectar, para la mínima profundidad muestreada, no puede decirse que haya existido una disminución después de las aplicaciones biocidas; antes al contrario, en el caso de los invernaderos CL-24 y CL-25 ha habido un aumento considerable. Incremento proporcionado por *Penicillium* y *Cladosporium*, pudiendo ser explicada la presencia del segundo por la estercoladura. En una palabra, tomando como referencia la Micoflora total, la eficacia de la desinfección ha sido casi nula, o contraproducente.

La experiencia muestra, igualmente, la diferencia que existe dentro de la capa menos profunda (0-30 cm.) entre las honduras de 15 y de 30 cm. De manera que entre 0 y 15 se sitúa la más grande población, con enorme diferencia con respecto a la siguiente subcapa.

Son *Alternaria*, *Cladosporium* y *Penicillium* los géneros que han estado presentes siempre, cualquiera que haya sido la profundidad de la muestra. Tal vez haya que buscar la razón en que los suelos analizados no lo son

Cuadro 22

**GRAVEDAD DE LA «FUSARIOSIS VASCULAR» EN LOS INVERNADEROS DEL CAMPO DE CARTAGENA (MURCIA)
SE EXPRESA EN TANTO POR 100 DE PLANTAS ENFERMAS Y/O MUERTAS**

Variedad	Invernadero CL-19										Invernadero CL-20				
	N.º plantas cultivadas	N.º plantas valoradas	Gravedad de daños (%)			Gravedad de daños (%)			Gravedad de daños (%)		N.º plantas valoradas	N.º plantas cultivadas	Variedad		
			9 meses	14 meses	18 meses	9 meses	14 meses	18 meses	9 meses	14 meses					
Rubino blanco	1.296	486	7,61	4,52	100,00	100,00	100,00	44,00	16,90	550	825	Romeo			
Rubino	4.536	1.296	2,39	3,63	100,00	100,00	100,00	7,27	3,27	550	2.200	Totem			
White	4.212	1.296	6,33	4,70	100,00	100,00	100,00	4,67	3,33	1.650	7.700	Le Réve			
Williams	9.072	2.592	9,13	14,39	100,00	100,00	100,00	37,30	8,79	3.300	13.750	Can-Can (*)			
Scania	6.966	1.944	2,26	4,89	100,00	100,00	100,00	6,00	4,42	1.650	6.050	Lonzelau			
White	1.944	648	2,62	2,00	100,00	100,00	100,00	6,54	10,64	1.100	4.400	Parade			
Sarianah	5.184	1.296	0,77	2,39	100,00	100,00	100,00	67,88	—	825	825	Jerry (*)			
Doris	9.072	2.592	11,81	30,63	100,00	100,00	100,00								
Lanolac	5.184	1.296	2,31	10,49	100,00	100,00	100,00								
Ember	4.536	1.296	5,09	4,78	100,00	100,00	100,00								
Florence	2.592	648	5,55	8,64	100,00	100,00	100,00								
Scania Tina	3.240	972	10,29	14,78	100,00	100,00	100,00								
Emir (*)	10.368	2.592	20,72	47,41	100,00	100,00	100,00								
Calixto	3.240	1.296	4,78	17,67	100,00	100,00	100,00								
TOTALES	71.442	20.250	7,93	16,22	100,00	100,00	100,00	24,11	6,71	9.625	35.750	TOTALES			

(*) Infección, además, por *Phialophora cinerescens*, posiblemente introducida con las variedades de procedencia francesa e italiana.

Cuadro 23

**MICROFLORA AISLADA DEL SUELO SIN CULTIVO DE CLAVEL. EFECTOS DE DIFERENTES TRATAMIENTOS BIOCIDAS.
COMARCA DEL CAMPO DE CARTAGENA (MURCIA)**

	CL-25 Sin des- infección		CL-59 (estér- col)		CL-25 BrCH ₃ + Metam-Na		CL-58 BrCH ₃ + Metam-Na		CL-24 (BrCH ₃ + Metam-Na)				CL-26 (BrCH ₃)						
	0-30 cm.	0-30 cm.	0-30 cm.	0-30 cm.	0-15 cm.	15-30 cm.	30-50 cm.	50-80 cm.	80-100 cm.	0-15 cm.	15-30 cm.	30-50 cm.	50-80 cm.	80-100 cm.	0-15 cm.	15-30 cm.	30-50 cm.	50-80 cm.	80-100 cm.
Flora Fúngica (*) total	187.10 ³	665.10 ³	1.876.10 ³	75.10 ³	506.10 ³	2.10 ³	3.3.10 ³	28.9.10 ³	53.1.10 ³	165.10 ³	10.7.10 ³	16.7.10 ³	23.3.10 ³	26.9.10 ³	10.7.10 ³	100	100	100	100
Alternaria	15.10 ³	118.10 ³	4.10 ³	3.10 ³	11.10 ³	—	0.2.10 ³	3.6.10 ³	10.1.10 ³	—	0.4.10 ³	0.6.10 ³	2.10 ³	1.2.10 ³	0.4.10 ³	—	—	—	—
Botryotrychum	8.02	17.74	0.21	4.00	2.17	—	6.06	12.46	19.21	—	3.73	3.59	8.58	4.46	—	—	—	—	—
Cephalosporium	—	—	—	16.00	—	—	27.27	0.69	4.14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cladospodium	53.10 ³	541.10 ³	11.10 ³	49.10 ³	452.10 ³	1.9.10 ³	1.3.10 ³	13.8.10 ³	32.4.10 ³	149.10 ³	3.8.10 ³	4.2.10 ³	19.3.10 ³	20.7.10 ³	3.8.10 ³	35.51	25.15	82.83	76.95
Fusarium	28.34	81.35	0.58	65.33	89.32	95.00	39.39	47.75	61.01	90.30	4.6.10 ³	11.4.10 ³	0.5.10 ³	0.4.10 ³	4.6.10 ³	42.99	42.99	2.15	1.49
Penicillium	60.96	2.42	—	—	38.10 ³	—	—	5.54	—	9.09	9.09	1.10 ³	1.4.10 ³	0.5.10 ³	1.10 ³	1.10 ³	1.10 ³	1.10 ³	1.10 ³
F. oxysporum	5.10 ³	2.10 ³	1.861.10 ³	11.10 ³	5.10 ³	0.1.10 ³	0.9.10 ³	9.7.10 ³	8.4.10 ³	1.10 ³	1.9.10 ³	0.5.10 ³	1.4.10 ³	0.5.10 ³	1.9.10 ³	1.7.76	2.99	6.01	1.86
F. roseum	2.67	1.21	99.20	14.67	0.99	5.00	27.27	33.56	15.82	0.61	9.10 ³	0.2.10 ³	—	—	0.1.10 ³	0.2.10 ³	—	—	—
F. solani	60.10 ³	—	—	—	—	—	—	—	—	5.45	0.93	1.20	—	—	0.93	1.20	—	—	—
	32.08	—	—	—	38.10 ³	—	—	0.1.10 ³	—	6.10 ³	0.2.10 ³	0.5.10 ³	0.1.10 ³	0.3.10 ³	0.2.10 ³	0.5.10 ³	0.1.10 ³	0.1.10 ³	0.3.10 ³
	53.10 ³	4.10 ³	—	—	7.50	—	—	0.35	—	3.54	1.87	2.99	0.43	1.11	1.87	2.99	0.43	0.43	1.11
	28.34	2.42	—	—	—	—	—	1.5.10 ³	—	—	4.3.10 ³	10.7.10 ³	0.4.10 ³	0.1.10 ³	4.3.10 ³	10.7.10 ³	0.4.10 ³	0.4.10 ³	0.1.10 ³
	1.10 ³	—	—	—	—	—	—	5.19	—	—	40.19	64.07	1.72	0.37	40.19	64.07	1.72	0.37	0.37
	0.53	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(*) Se expresa, en cada casilla, el número de propágulos/g. de suelo y el porcentaje respecto al total.

en pleno significado edafológico. No han tenido «in situ» una génesis normal a partir de la roca madre, sino que han sido contruados artificialmente por relleno con tierras procedentes de desmontes de otro lugar.

Los *Fusarium*, en principio, sí se han visto alterados por las desinfecciones. Partiendo de una presencia del 60,96 por 100 (32,08 para los *F. oxysporum*), en el invernadero CL25, han desaparecido en los 30 primeros centímetros para 2 suelos sobre 3, tratados con bromuro de metilo y metam-sodio. Sin embargo, en el tercer invernadero se ha seguido manifestando *F. roseum*, que junto a *F. solani* vuelve a encontrarse entre 50 y 80 cm. Esta situación es diferente para el invernadero CL 26, que se desinfectó solamente con bromuro de metilo; en él los *Fusarium* se aíslan a todas las profundidades, y *F. oxysporum* se encuentra hasta 50 cm. de hondura.

Teniendo en cuenta la relatividad del significado y representatividad de la muestra, así como el valor real de los análisis utilizados, puede inferirse de los resultados expuestos en el cuadro 23, que ha sido más eficaz contra los *Fusarium* —no para otros micromicetos del análisis— la aplicación metam-sodio y bromuro de metilo, que la de este último sólo.

Pero esto que hasta aquí se ha dicho tiene un valor, si se quiere simbólico. Se han dado dos imágenes saprofíticas de la flora fúngica del suelo. ¿Qué valor tienen desde el punto de vista de la gravedad de la «Fusariosis vascular», medida anteriormente? Se planteó entonces, una experiencia para conocer cómo se produce la recolonización de un suelo plantado con clavel. El siguiente epígrafe trata de esbozar una respuesta.

1.4. Recolonización del suelo, la rizosfera, el rizoplano y el xilema caulinar por *Fusarium oxysporum*

Desinfectado el invernadero CL 24, cuya micoflora telúrica fue presentada en el cuadro 23, en enero, tres meses después de tratar, fue plantado con esquejes de clavel de la var. Scania, cuyo estado sanitario fue comprobado, previamente, en el laboratorio. Desde enero a julio se muestreó el ensayo, anali-

zando de los esquejes tomados, la rizosfera, el rizoplano y el sistema vascular y el suelo no colonizado por las raíces.

Para expresar los resultados de una manera más sencilla se definieron dos índices, inspirados en los trabajos de WARREN y KOMMEDAHL (1973, a, b, c), que estudian la evolución de la flora Fusárica en el suelo y en la rizosfera de diversas plantas (avena, maíz y soja). El índice en cuestión se expresa así:

$$\frac{R}{S} = \frac{\text{n.º de gérmenes en la rizosfera}}{\text{n.º de gérmenes en el suelo}}$$

Este sistema de trabajo fue adoptado por KANNAIYAN y PRASAD (1974), para experimentos en la rizosfera del melón. Todos los autores citados obtienen, siempre, para la fracción (R/S), valores variables, pero superiores a la unidad. Estos resultados coinciden con la idea, generalizada, de que la raíz favorece, en el suelo, las poblaciones microbianas, aunque más a las bacterianas que a las fúngicas (DOMMERSGUES y MANGENOT, 1970).

Para poder explicar aquello que era de interés para la experiencia iniciada, tres índices fueron utilizados, reflejo del original arriba expuesto:

$$IC = \frac{\text{n.º de gérmenes en la rizosfera}}{\text{n.º de gérmenes en el suelo}}$$

$$IC_F = \frac{\text{n.º de propágulos de Fusarium en la rizosfera}}{\text{n.º de propágulos de Fusarium en el suelo}}$$

$$IC_{Fo} = \frac{\text{n.º de propágulos de F. oxysporum en la rizosfera}}{\text{n.º de propágulos de F. oxysporum en el suelo}}$$

Los resultados obtenidos se han tabulado en los cuadros 24 y 25, en el primero se refleja la evolución de la micoflora en suelo, rizosfera, rizoplano y xilema a lo largo de todo el experimento. En el cuadro 25 se ha querido poner la imagen fúngica del suelo y de la rizosfera durante el último muestreo.

El cuadro 24 ilustra algunos aspectos de interés, cuyo comentario parece pertinente. La rizosfera, tal y como otros han descrito para diferentes hospedadores, es más rica en flora fúngica que el suelo desnudo. El efecto rizosférico crece mensualmente de manera espectacular hasta el día 100, posiblemente por la cada vez mayor actividad de las plan-

Cuadro 24

VARIACION TEMPORAL DE LAS POBLACIONES FUNGICAS EN LA RIZOSFERA, RIZOPLANO Y XILEMA DE PLANTAS DE CLAVEL, ASI COMO EN EL SUELO DEL INVERNADERO. CAMPO DE CARTAGENA (MURCIA). INVERNADERO CL 24

Días transcurridos desde la plantación (días)	IC	ICF	ICFo	Colonización en plantas (p. 100)			Observaciones
				Rizoplano		Xilema	
				<i>F. oxysporum</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. oxysporum</i>	
40	1,62	1,06	1	0,00	75,00	0,00	
70	4,13	5,93	1	11,00	89,00	0,00	
100	19,50	9,33	0	30,00	90,00	9,00	No síntomas en plantas
130	2,03	0,47	0,1	18,20	54,60	27,27	"
160	1,16	0,23	0,93	40,00	40,00	20,00	Manifestación síntomas en la plantación

Cuadro 25

MICOFLOTA TOTAL EN SUELO Y RIZOSFERA A LOS 160 DIAS DE PLANTAR CLAVEL. CAMPO DE CARTAGENA (MURCIA). INVERNADERO CL 24. SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO Y EN PORCENTAJE SOBRE EL TOTAL

	Rizosfera		Suelo	
FLORA TOTAL	30.10 ³	100	25.8.10 ³	100
<i>Alternaria</i>	6.9.10 ³	23,00	1.3.10 ³	5,03
<i>Aspergillus</i>	1.3.10 ³	4,33	—	—
<i>Cladosporium</i>	1.5.10 ³	5,00	0.2.10 ³	0,77
<i>Fusarium</i>	4.8.10 ³	16,00	21.10 ³	81,39
<i>Rhizopus</i>	0.2.10 ³	0,67	0.1.10 ³	0,39
<i>Stemphyllium</i>	0.7.10 ³	2,33	0.9.10 ³	3,49
<i>Penicillium</i>	14.6.10 ³	48,67	2.3.10 ³	8,91
<i>F. oxysporum</i>	2.8.10 ³	9,33	3.10 ³	11,62
<i>F. roseum</i>	1.8.10 ³	6,00	16.8.10 ³	65,12
<i>F. solani</i>	0.2.10 ³	0,67	1.2.10 ³	4,65

tas; sin embargo, desciende notablemente el IC (cuadro 24) a partir de esa fecha. Tal vez, el hecho se fundamente en que la plantación de claveles se hace muy densa, y al final el influjo de las raíces se deje sentir en todo el suelo, pese a no estar presentes aquellas en las muestras recogidas. Pero lo que sucede con todos los micromicetos no se acompasa con lo medido para los *Fusarium*, en general, y para los *F. oxysporum*, en particular. Para la flora Fusárica el crecimiento es sostenido, como para la flora total hasta el día 100, y *F. roseum* está bien representado en el rizo-

plano; después su descenso es acusado, siendo mayor su presencia en el suelo desnudo que en el colonizado por las raíces. Este comportamiento podría sugerir cómo la capacidad competitiva con la micoflora de la rizosfera es pequeña, encontrando un hábitat más adecuado en el suelo desnudo; sin embargo, contaminaciones provenientes con las masas de aire contravendrían el aserto. Los *F. oxysporum* siguen una tónica análoga a los *Fusarium*, pero el descenso de su presencia en la rizosfera coincide, precisamente, con la invasión del sistema vascular del hospedante;

sugiere este comportamiento que la colonización del xilema por los *F. oxysporum* patógenos no está en relación con su densidad de inóculo en la rizosfera, en el sentido de proporcionalidad directa, sino que la planta puede ejercer una acción selectiva hacia su patógeno, o bien, ésta es practicada por ambos. Estas tendencias medidas, pese a la imperfección del método de diluciones sucesivas (ALABOUVETTE, 1983), pueden explicar cómo el xilema aparece invadido por *F. oxysporum* tres meses después de la plantación, pero son insuficientes para entender la procedencia del inóculo, según el análisis (cuadro 23, código CL 24), eliminando después de la desinfección.

1.5. *Discusión y conclusiones*

Los análisis a diferentes invernaderos, todos con cultivo de clavel, y con antecedentes, respecto a los tratamientos biocidas, distintos no presentan micofloras muy dispares: *Alternaria*, *Penicillium* y *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. solani* y *F. roseum*) son los micromicetos comunes y más abundantes. No puede inferirse, por lo tanto, que la aplicación de fitosanitarios, pese a sus diferencias, se deje apreciar. Tampoco la gravedad de la «Fusariosis vascular» ha tenido relación con la densidad de inóculo de *F. oxysporum* en el suelo; así, en los invernaderos Cl 16, CL 17 y CL 18 era prácticamente inexistente, mientras que en los codificados CL 19 y CL 20 no era despreciable en el momento del muestreo (cuadro 22). Tal vez, la elevada proporción de *Penicillium* en el suelo se explique por ser estos micromicetos filamentosos los primeros recolonizadores después de las desinfecciones, exhibiendo para ello un enorme poder multiplicador; pero, esto puede ser, un sofisma, ya que las manipulaciones previas de las muestras para el análisis pueden homogeneizar y dispersar las conidias de un conidióforo producido en el suelo, dando lugar a una lectura errónea de la realidad.

Las desinfecciones del suelo, detallados sus resultados en el cuadro 23, exhiben floras totales con proporciones globales comparables a las de los suelos sin desinfectar. Incluso, todavía más elevadas. Piénsese que las muestras se tomaron dentro de los 30 días siguientes

al tratamiento, cuando todavía no se había practicado la plantación de claveles. Es, sin duda, remarcable la incidencia de los biocidas sobre la población de *Fusarium*, que disminuye, para el tratamiento mixto entre los 15 y 50 cm. de profundidad, pero, permaneciendo entre 0 y 15 cm. y los 50-80 cm. Podría especularse con que el tratamiento no fue eficaz a partir del medio metro de hondura, pero, ¿cómo explicar la permanencia en la capa más superficial?: tal vez el estiércol, menos receptivo a la penetración de bromuro de metilo y metam sodio sea la fuente que aporte los *F. roseum* aislados en el horizonte en contacto con el aire. La utilización del bromuro de metilo sólo ha proporcionado resultados menos satisfactorios, puesto que ha mantenido a los *Fusarium* en todas las profundidades muestreadas (¡hasta 1 metro!), bien que los *F. oxysporum* no se han encontrado más allá de los 50 cm.

Pero si estas mediciones son puramente cualitativas desde el punto de vista de la densidad de inóculo, son mudas en lo tocante a las capacidades patogénicas de los *F. oxysporum*. Patogeneidad que la proporcionan, por un lado, la valoración de la gravedad de la «Fusariosis vascular», donde tratamientos biocidas, considerados potentes, dejan márgenes del 100 por 100 de plantas muertas a los 18 meses de plantar (cuadro 22). Y, por otro, el seguimiento de la recolonización de las plantas en el invernadero CL 24, donde el tratamiento parece haber eliminado los *F. oxysporum*; en este caso, las esperanzas de eficacia no son mayores, pues a los 3 meses el xilema de las plantas ya estaba colonizado, y 70 días después de plantar se había instalado el micromiceto en el rizoplaneo. La pregunta es: si en el suelo no aparecía el hongo, y si en los esquejes analizados antes de la plantación tampoco se encontró, ¿de dónde provino el inóculo que hizo enfermar a las plantas? Suponiendo, y es mucho, que los análisis del suelo y de los esquejes representasen a toda la realidad, otras vías de contaminación deberían ser investigadas.

2. **Análisis de la infección en una explotación de claveles de Aguilas (Murcia)**

El grupo de invernaderos sumaba una su-

perficie de 4 Has., y fueron analizados desde 1981 hasta 1984. En ellos, antes de la plantación de 1981, nunca se practicó el cultivo del clavel. De construcción reciente, soportaron algún cultivo de tomate; y el suelo, antes de transformar, había mantenido plantaciones de la solanácea con frecuencias de 3 a 5 años. Treinta o cuarenta kilómetros tierra adentro no existían —ni nadie recordaba su implantación anterior— cultivos de clavel. La explotación fue contaminada de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* a través de los esquejes de plantación, introducidos en mayo y junio de 1981. En 4 de los invernaderos periódicamente visitados, la «Fusariosis vascular» había enfermado entre el 20 y el 40 por 100 de las plantas a los cinco meses de plantar.

2.1. *Primera aproximación al conocimiento de la infección*

Para unir con el estudio de la enfermedad en el Campo de Cartagena, uno de los invernaderos fue muestreado hasta 1 m. de profundidad, y su micoflora total y Fusárica fue comparada. La «Fusariosis vascular» fue tan arrasadora que a los 9 meses el 80 por 100 de las plantas estaban enfermas o muertas. En abril del año siguiente a la primera plantación, se trató el suelo con 3.500 l/ha. de metam-sodio, aplicado mediante un abundante riego a manta, recogiendo la muestra de mayo 23 días después del tratamiento. La muestra del mes de julio se recolectó 15 días después de haberse realizado el trasplante de esquejes, cuyo estado sanitario fue previamente examinado. Los resultados de los análisis se han tabulado en los cuadros 26 y 27, eliminando dos de los seis muestreos por carecer de un perfil diferenciador.

El cuadro 26 exhibe una micoflora tan pobre en calidad y en cantidad como la de los invernaderos del Campo de Cartagena. La excepción la constituyen los *Fusarium*, que componen los porcentajes más elevados en las capas más superficiales. La presencia de los *Fusarium*, y notoriamente los *F. oxysporum*, hasta profundidades comprendidas entre 60 y 95 cm., aportan una nota diferencial con respecto a la explotación estudiada en el apartado anterior. Sin embargo, los

cuadros 26 y 27 muestran, una vez más, datos sobre la relatividad del valor de los análisis: el muestreo de mayo evidencia la presencia de *F. oxysporum* entre la micoflora total; y el mes de marzo exhibe lo contrario, si se miran las columnas de máximas profundidades.

La eficacia de la desinfección es detectada por los dos métodos de análisis, con magnitudes relativas comparables. Magnitudes mantenidas hasta julio si sólo se atiende a los *Fusarium*.

La mayor precisión conferida por los análisis selectivos para *Fusarium*, y la ausencia de informaciones adicionales válidas para los objetivos perseguidos por el método de las diluciones sucesivas, aconsejaron adoptar la primera técnica, que es capaz de medir las variaciones con mayor rigor que la segunda, y con representatividad variable entre el 60 y 75 por 100. En último extremo, las mediciones realizadas en la explotación de Aguilas (Murcia) serán cualitativamente comparables con las del Campo de Cartagena, y los resultados aplicables en ambas latitudes.

2.2. *La micoflora Fusárica en los suelos de otros invernaderos de la explotación. La dispersión del muestreo*

Tres invernaderos cultivados con clavel fueron muestreados, según el siguiente plan: tres muestras, por cada uno de ellos, se tomaron a una profundidad comprendida entre 0 y 30 cm.; las tierras se recogieron en los tres vértices de un triángulo equilátero de 10 m. de lado, imaginariamente dibujado en el centro del invernadero. El suelo había tenido su primer cultivo de clavel, alcanzando la «Fusariosis vascular» a enfermar entre el 40 y el 100 por 100 de las plantas en el momento de la recogida de muestras, hecho ocurrido 9 meses después de la plantación. Para tener un contraste, se tomó tierra de otro invernadero cultivado con tomate, donde nunca el clavel estuvo presente; en este caso sólo se muestreó un punto a la misma profundidad que sus homólogos de clavel. Los resultados de la experiencia se recogen en el cuadro 28.

La experiencia es ilustrativa sobre la dispersión de las muestras. Si se exceptúan los *F. oxysporum* en el invernadero F-20, en los

Cuadro 26

MICROFLORA TELURICA EN UN INVERNADERO EN EL QUE A LOS 9 MESES LA «FUSARIOSIS VASCULAR» AFECTABA AL 80 POR 100 DE LAS PLANTAS. EFICACIA DEL METAM-SODIO (3.500 L/HA.) APLICADO EN ABRIL, AGUILAS (MURCIA).
SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO

	Enero			Marzo			Mayo			Julio						
	0-30 cm.	0-30 cm.	60-95 cm.	0-30 cm.	30-60 cm.	60-95 cm.	0-30 cm.	30-60 cm.	60-95 cm.	0-30 cm.	30-60 cm.	60-95 cm.				
FLORA TOTAL	209.10 ³	100	153.6.10 ³	100	4.8.10 ³	100	2.1.10 ³	100	48.10 ³	100	8.8.10 ³	100	0.4.10 ³	100	147.4.10 ³	100
Alternaria	2.10 ³	0,96	0.3.10 ³	0,19	—	—	—	—	—	—	0,1	1,13	—	—	—	—
Aspergillus	—	—	21.10 ³	13,67	2.6.10 ³	54,17	1.5.10 ³	71,43	5.6.10 ³	11,67	—	—	—	—	—	—
Botryotrychum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.4.10 ³	72,72	—	—	—	—
Cladosporium	2.10 ³	0,96	0.4.10 ³	0,26	0.1.10 ³	2,08	0.2.10 ³	9,52	—	—	—	—	—	—	—	—
Fusarium	190.10 ³	90,91	130.10 ³	84,63	1.3.10 ³	27,08	0.4.10 ³	19,05	15.7.10 ³	32,71	2.10 ³	22,73	0.2.10 ³	50,00	10.9.10 ³	7,39
Penicillium	10.10 ³	4,78	1.9.10 ³	1,24	0.8.10 ³	16,67	—	—	26.4.10 ³	55,00	0.3.10 ³	3,41	0.2.10 ³	50,00	136.5.10 ³	92,60
Rhizopus	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3.10 ³	0,62	—	—	—	—	—	—
Stemphyllium	5.10 ³	2,39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
F. oxysporum	161.10 ³	77,03	98.10 ³	63,80	0.3.10 ³	6,25	—	—	0.5.10 ³	1,04	1.8.10 ³	20,45	0.2.10 ³	50,00	5.1.10 ³	3,46
F. solani	15.10 ³	7,18	—	—	—	—	—	—	1.9.10 ³	3,96	0.2.10 ³	2,27	—	—	5.8.10 ³	3,93
F. roseum	14.10 ³	6,70	32.10 ³	20,83	1.10 ³	20,83	0.4.10 ³	19,05	13.3.10 ³	27,71	—	—	—	—	—	—

Cuadro 27

**MICROFLORA FUSARICA EN LAS MUESTRAS DEL INVERNADERO DEL CUADRO 26.
SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. DE SUELO**

	Enero		Marzo		Mayo			Julio
	0-30 cm.	0-30 cm.	30-60 cm.	60-95 cm.	0-30 cm.	30-60 cm.	60-95 cm.	0-30 cm.
F. oxysporum	2.602±315	2.218±73	29±20	—	145±44	45±5	—	223±28
F. solani	1.759±200	74±14	2±2	—	37±10	—	—	129±12
F. roseum	221±24	127±27	29±19	30±3	490±115	—	—	117±14

Cuadro 28

**FLORA FUSARICA EN TRES INVERNADEROS CON IDENTICOS ANTECEDENTES CULTURALES.
CADA INVERNADERO SE REPRESENTA POR TRES PUNTOS DE MUESTREO.
CUANDO LAS TIERRAS SE ANALIZARON, LA «FUSARIOSIS VASCULAR» AFECTABA
ENTRE EL 40 Y EL 100 POR 100 DE PLANTAS. AGUILAS (MURCIA).
SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. DE SUELO**

Código de invernadero	Puntos de muestreo	F. oxysporum	F. solani	F. roseum
F-28	a	8.688±495	1.202±98	208±55
	b	2.310±148	1.102±77	2.030±199
	c	5.558±787	1.951±221	3.273±359
G-23	a	8.674±524	867±84	2.160±248
	b	7.521±365	857±38	1.586±248
	c	2.706±162	644±13	888±159
F-20	a	5.650±715	10.391±622	451±90
	b	6.810±648	4.409±246	3.664±511
	c	5.216±256	5.915±178	4.306±294
E-29	a	323±23	8.401±320	2.820±389

otros dos cultivados con clavel las diferencias son tan considerables en algún punto que permiten insinuar la pregunta: ¿a quién representa una muestra del suelo? El antecedente cultural, así como las necesidades de cada planta, parecen influir netamente en la flora Fusárica: el invernadero E-29 cultivado con tomate y sin *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, manifiesta una pequeña población de *F. oxysporum*.

A partir de aquí, ensayos sucesivos demostraron que la mayor uniformidad en los muestreos se obtenía de la siguiente manera: se recorrían tres líneas paralelas y equidistantes entre sí, a su vez perpendiculares a la

máxima longitud del invernadero. En cada una de ellas se tomaban 10 submuestras entre 0 y 15 cm. de profundidad. La mezcla de las 30 submuestras componían el total de tierra a analizar.

2.3. *La gravedad de la «Fusariosis vascular». La imagen de la flora Fusárica en los suelos*

El invernadero F-28 fue elegido para esta experiencia; su densidad de inóculo inicial se ha representado en el cuadro 28. Ningún tratamiento de desinfección fue practicado

antes ni después de trasplantar las variedades Kaly y Lena (2.640 plantas/cultivar). El riego se hacía mediante una nebulización de agua que alcanzaba unos 60 cm. de altura sobre el suelo, proporcionada por una cinta perforada con rayos láser, apoyada sobre el suelo y situada entre líneas de plantas de clavel.

En un invernadero como el de la experiencia, altamente contaminado (cuadro 28) la «Fusariosis vascular» acabó con las plantas del ensayo a los 120 días de plantar. Los resultados precisos se han resumido en el cuadro 29.

El resultado obtenido es bien elocuente. En las condiciones reales la «Fusariosis vascular» se ha mostrado limitante para el cultivo: a los 120 días de la plantación la totalidad de las plantas habían muerto. Una consecuencia bien neta de la experiencia es la de que la densidad de inóculo crece a un compás comparable al de la gravedad de la enfermedad, tal y como postuló BAKER (1971) en

su concepción teórica. Estos resultados confortan la tendencia del carácter limitante para el cultivo de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, apuntada al presentar la prospección general sobre el estado sanitario de los claveles en el sureste peninsular.

En la experiencia, sin embargo, sorprenden las elevadas densidades de inóculo de *F. oxysporum* encontradas. Se contrastaron estos valores con los obtenidos en varias inoculaciones artificiales practicadas en invernadero.

El cuadro 30 resume los resultados de la infección experimental, practicada en las siguientes condiciones: Las variedades del ensayo se transplantaron a una mezcla con 1/3 de turba, 1/3 de tierra vegetal (mantillo) y 1/3 de arena de río lavada, que se desinfectó con generador de vapor a 100° C (aproximadamente) durante 90 minutos. El inóculo de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* se aportó por riego al sustrato a razón de 200 ml. de una suspen-

Cuadro 29

GRAVEDAD DE LA «FUSARIOSIS VASCULAR» (SE EXPRESA EN TANTO POR CIENTO DE LAS PLANTAS ENFERMAS Y/O MUERTAS). INVERNADERO F-28. PERIODO DEL ENSAYO DE JULIO A NOVIEMBRE DE 1983. AGUILAS (MURCIA)

Tiempo transcurrido desde la plantación (días)	% de plantas enfermas y/o muertas	Var. Kaly			Var. Lena			
		Inóculo en suelo (propág/g.)			% de plantas enfermas y/o muertas	Inóculo en suelo		
		<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>		<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
60	29,35	11.031 ± 1.163	—	40 ± 23	23,98	9.192 ± 714	—	74 ± 31
90	68,33	25.333 ± 1.749	1.429 ± 400	40 ± 3	69,54	23.789 ± 4.203	1.115 ± 224	156 ± 46
120	100,00	34.311 ± 3.246	3.933 ± 488	—	100,00	45.518 ± 1.173	5.506 ± 819	—

Cuadro 30

GRAVEDAD DE LA «FUSARIOSIS VASCULAR» A LOS 97 DÍAS DE INOCULAR EN CONDICIONES DE INFECCION ARTIFICIAL (*)

Variedad inoculada (color y tipo)	Plantas enfermas y/o muertas (%)	Densidad de inóculo (propág/g. sustrato)		
		<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
Blanco / Monoflor	10,00	4.792 ± 292	—	—
Blanco y rojo / Monoflor	0,00	3.748 ± 235	—	—
Rojo / Monoflor	90,00	16.980 ± 997	—	—
Rojo / Monoflor	70,00	11.076 ± 307	—	—

(*) A los 144 días de inocular las dos últimas presentaban todas las plantas enfermas y/o muertas, y las dos primeras variedades manifestaron síntomas en un 30 por 100.

sión del hongo (10^5 propágulos/ml.) para 8,5 dm³ de sustrato que sustentaban 10 plantas.

En este ensayo también parece existir una relación entre la gravedad de la enfermedad y la densidad de inóculo patógeno en el suelo. Salvando las diferencias entre ambas experiencias, la densidad de *F. oxysporum* no es comparable, siendo mayor en el invernadero comercial que el de investigación. Múltiples indagaciones podrían haberse realizado buscando la razón de la diferencia: alta humedad proporcionada por el riego, cantidad y calidad de la materia orgánica (ciertas turbas son muy multiplicadoras del inóculo, TRAMIER *et al.*, 1979), efecto de las variedades, de las técnicas culturales, etc. Sin embargo, y sin excluir todas estas posibilidades, se investigó el papel del riego en la dispersión del inóculo patógeno.

Es un lugar común entre los especialistas el hecho de que las «Fusariosis vasculares» —y otras Traqueomicosis— se presentan en los cultivos por rodales. Emitiendo, algunos, en base a ello, la hipótesis de la distribución en «nichos preferenciales» en el suelo de estos micromicetos. Tanto en los cultivos de tomate como en otros de clavel prospectados se encontró esta disposición epidemiológica. Sin embargo, en el invernadero F-28 estudiado en este apartado, la micosis se presentaba uniformemente en toda su superficie.

¿Podría el sistema de riego aportar luz sobre las cuestiones planteadas?

2.4. Papel del riego en la dispersión de los *Fusarium oxysporum*

El ensayo se planteó con mediciones mensuales de octubre de 1983 a junio de 1984. La «trampa» utilizada tenía como sustrato un medio selectivo para *Fusarium*, y se colocaba a 15 y 75 cm. sobre el suelo. De manera más eventual (febrero, abril y junio de 1984) se prospectó el «ambiente» exterior al invernadero situando las «trampas» en la techumbre de éste. En cada postura, la superficie expuesta fue de 1.004,8 cm², y la duración de 250 minutos con un riego de 15 minutos. Resumidamente, las «capturas» se han ordenado en el cuadro 31.

El cuadro 31 muestra cómo prácticamente en todas las posturas, cualquiera que sea el mes y la posición de las «trampas» se «caza» *Fusarium* spp. (la excepción está en el mes de junio, debido a que la mortandad había sido tan enorme que el invernadero empezó a desmantelarse y los apoyos a 75 cm. habían desaparecido, no pudiendo colocar trampas a esa altura). Es necesario remarcar cómo las especies *F. oxysporum* y *F. roseum* (fundamentalmente *F. roseum* var. *gibbosum*) están

Cuadro 31

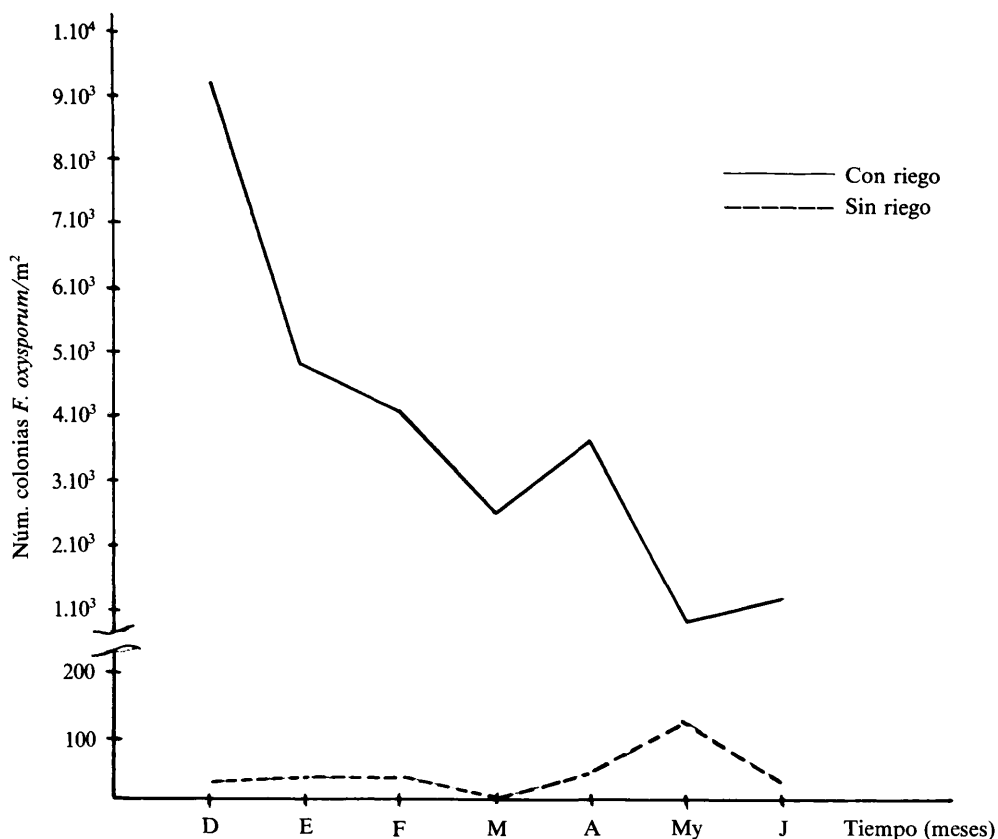
NUMERO DE COLONIAS DE *FUSARIUM* SPP. ATRAPADAS EN TRAMPAS «SELECTIVAS» DE 0,1 M² DE SUPERFICIE. INFLUENCIA DEL RIEGO EN LA DISPERSION A DIFERENTES ALTURAS SOBRE EL SUELO. AGUILAS (MURCIA)

Fecha de muestreo	Interior invernadero										Exterior invern.								
	Con riego						Sin riego				275 cm.								
	15 cm.			75 cm.			15 cm.		75 cm.		15 cm.		75 cm.		15 cm.		75 cm.		
	Fo	Fs	Fr	Fo	Fs	Fr	Fo	Fs	Fr	Fo	Fs	Fr	Fo	Fs	Fr	Fo	Fs	Fr	
Octubre 83	588	—	4	4	2	2													
Noviembre 83						50	—	30	2	—	12								
Diciembre 83	924	—	2	30	—	2	3	—	3	—	—	3							
Enero 84	483	—	3	1	—	2	4	—	1	1	—	—							
Febrero 84	415	—	55	20	—	15	4	—	2	—	—	10	—	2	54				
Marzo 84	246	1	42	1	1	—	—	4	1	—	3	2							
Abril 84	368	—	20	2	—	10	5	1	14	1	3	5	1	1	4				
Mayo 84	29	1	94	6	—	88	12	—	132	4	—	78							
Junio 84	104	—	17	—	—	—	3	1	5	—	—	—	16	—	40				

Fo = *F. oxysporum*

Fs = *F. solani*

Fr = *F. roseum*



Gráfica 3.— Variación mensual de la densidad de inóculo de *F. oxysporum* a 15 cm. de altura sobre el suelo, aplicando riego por nebulización y sin él. Mediciones entre diciembre de 1983 y junio de 1984. Aguilas (Murcia).

siempre presentes, y esporádicamente lo está *F. solani*; la ausencia de *F. moniliforme* pone una nota distintiva con respecto a las mediciones en las explotaciones multiplicadoras de esquejes.

Una sencilla contabilidad permite darse cuenta de cómo, durante el mes de octubre, cayeron, por metro cuadrado, 5.880 propágulos de *F. oxysporum*, lo que podría explicar el espectacular aumento de la densidad de inóculo medida en el suelo. Pero esta observación no es la única posible: la influencia del riego en el esparcimiento de los propágulos de *F. oxysporum* en la superficie plantada, se hace patente comparando, dentro del invernadero, las columnas con y sin riego. En la gráfica 3 se han querido magnificar, simplificada-mente, estas diferencias a 15 cm. sobre el suelo.

Pero el estudio llevado a cabo sobre la contaminación del ambiente no telúrico por *Fusarium* spp. no estaría completo sin haber probado que parte de los *F. oxysporum* atrapados en las «trampas» selectivas eran patógenos sobre clavel y, por tanto, pertenecientes a la «formae speciales» *dianthi*.

Se diseñó, entonces, una experiencia de inoculación en la que durante los 130 días transcurridos desde la infección artificial, se valoró el poder patógeno de 21 aislamientos monospóricos de *F. oxysporum* sobre la variedad de clavel «mini» Pepito. Los resultados se presentan en el cuadro 32.

La experiencia muestra, netamente, que la mayoría de las cepas aisladas, independientemente del mes de su recolección, de la altura sobre el suelo y de la utilización o no del riego, eran patógenas (85,71 por 100); mien-

Cuadro 32

**PODER PATOGENO DE AISLAMIENTO DE *F. OXYSPORUM* OBTENIDOS DEL
«AMBIENTE AEREO» DEL INVERNADERO F-28. AGUILAS (MURCIA)**

Fecha de aislamiento	Posición de la trampa (cm.)	Utilización del riego	Número de cepas inoculadas	Número de cepas patógenas	Número de cepas no patógenas
Diciembre	15	Si	7	7	0
	75	Si	3	2	1
Enero	15	Si	1	1	0
	15	No	6	5	1
Abril	15	Si	3	2	1
	75	No	1	1	0
TOTALES			21	18 (85,71 %)	3 (14,28 %)

tras que la proporción de aislamientos de *F. oxysporum* que no exteriorizaron habilidad parasitaria alguna, en el tiempo de la experiencia, fue minoritaria (14,28 por 100).

2.5. *Discusión y conclusiones*

La explotación muestreada ha permitido ajustar, una vez más y en otra latitud que la del Campo de Cartagena, el poder limitante de la «Fusariosis vascular». A parte de las apreciaciones sobre la gravedad de la micosis en los diferentes invernaderos, el pequeño ensayo recogido en el cuadro 29 muestra el poder mortífero del hongo sobre el hospedador. Poder patógeno en el suelo, mayor que el obtenido en las inoculaciones experimentales con una dosis nada desdeñable de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (cuadro 30).

Si la densidad del inóculo *F. oxysporum*, medido por las diluciones sucesivas (cuadro 26), es considerablemente mayor que el de las explotaciones del Campo de Cartagena, valoradas en el apartado I, ello no explica las elevadas concentraciones de propágulos alcanzadas durante el periodo en que la criptógama se ha valorado sobre las vars. Kaly y Lena (cuadro 29). Aunque numerosos factores puedan influir sobre este aspecto (tipo de suelo, materia orgánica, etc.), la uniforme distribución de la enfermedad en toda la superficie del invernadero infundió sospechas sobre el papel del riego en la dispersión y acumulación del inóculo patógeno.

Comprobado este supuesto durante nueve meses (cuadro 31, gráfica 3), la proyección de hasta 9.240 propágulos/m³ por el riego podrían explicar las elevadas densidades de inóculo de *F. oxysporum* contabilizadas en el suelo. Pero, además, ayudan a comprender la uniformidad de la «Fusariosis vascular» opuesta a la característica manifestación por rodales localizados. Máxime cuando más del 85 por 100 de las cepas testadas, para conocer su especialización parasitaria, resultaron ser *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Pero la contaminación del «ambiente aéreo» por *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* ha quedado probada también, al resultar patógenas las cepas aisladas a 15 cm. sobre el suelo, cuando no fue utilizado el riego. Y a 75 cm. de altura, donde nunca el agua alcanzaba a las «trampas».

De igual forma que en las explotaciones multiplicadoras de esquejes (ver capítulo anterior), el «ambiente aéreo» exterior se ha mostrado habitado, aunque sea eventualmente, por diversos *Fusarium*, no siendo desdeñable la presencia de los *F. oxysporum*, aunque la abundancia y regularidad de los *F. roseum* «*gibbosum*» (*F. equiseti*, sensu BOOTH) haya sido más notoria.

Una pura cuestión metodológica —sin solución en la bibliografía consultada— concerniente a la representatividad de las muestras tampoco ha sido resuelta en este trabajo, por no ser su objetivo. Sin embargo, ha permitido poner a punto una toma de muestras

cuyas variaciones son más estables y acordes con aquello que deseaba valorar: la gravedad de la enfermedad.

El valor de la desinfección del suelo en relación con la densidad de inóculo ha vuelto a ser estudiado (cuadro 26), poniendo en evidencia —como ya ocurrió para las explotaciones del Campo de Cartagena— su relatividad frente a las floras total y Fusárica. Especialmente cuando los *Fusarium*, y concretamente los *F. oxysporum*, pueden aislarse entre 60 y 95 cm. de profundidad.

Una simple aproximación a la realidad de las explotaciones productoras de clavel para flor cortada permite comprobar que, en la mayoría de los casos, las aplicaciones biocidas al suelo no se hacen tan meticulosamente como los casos estudiados hasta ahora. Los costos de desinfección se incrementan considerablemente al tener que retirar instalaciones de riego, o utilizar elevadas dotaciones de agua, por ejemplo. Por esta razón, los fitosanitarios se adicionan al suelo a través de los sistemas de riego establecidos. La eficacia de tales prácticas sobre la gravedad de la «Fusariosis vascular» se investiga en el siguiente apartado.

3. Análisis de la infección en una explotación del Campo de Dalías (Almería)

El grupo de invernaderos estudiados eran los más antiguos, en lo referente al cultivo de clavel, de todo el Sureste peninsular muestreado. Cada invernadero, hasta 1982, había soportado siete u ocho años de cultivo.

Dos cuestiones fueron indagadas en la comarca del Campo de Dalías. Por un lado, la eficacia de la desinfección, cuando los biocidas se aplican a través del sistema de riego, y, por otro, la posible contaminación de los estiércoles añadidos al suelo por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

3.1. Algunas características de los invernaderos estudiados

La experiencia se planteó según las premisas reflejadas en el cuadro 33, donde se han anotado algunos antecedentes de interés de cada invernadero, con posible incidencia sobre la «Fusariosis vascular».

Cuadro 33

CARACTERÍSTICAS DE LOS INVERNADEROS DE CLAVEL DEL CAMPO DE DALÍAS (ALMERÍA). DESINFECTANTES, FORMA Y DOSIS DE APLICACION.

Código de invernadero	Antecedentes culturales	Materia activa y dosis de aplicación	Forma de desinfectar	Fecha de desinfección	Fecha de plantación	Tipo de variedades plantadas
PRI-0	8 años clavel 1 años gladiolo 2 años crisantemo	—	—	—	Febrero 1982	«Sim»
PRI-1	5 años clavel 3 años crisantemo 1 años gladiolo 1 año Statice	Metam-sodio 5.000 l/ha. (50 % m.a.)	A través de difusores	Febrero 1982	”	«Mini»
PRI-2	7 años clavel 4 años crisantemo	”	Por riego a manta	”	”	«Mini»
PRI-3	8 años clavel 3 años crisantemo	”	A través de difusores	”	”	«Sim» y «Mini»
PRI-4 (*)	7 años clavel 3 años crisantemo 1 año «en blanco»	Metam-sodio 3.000 l/ha. (50 % m.a.)	A través de la red de goteo	”	”	«Mini»

(*) Se muestrean dos puntos, uno entre goteros (PRI 4) y otro en el «bulbo húmedo» de un gotero (PRI 4G).

3.2. Eficacia de la desinfección

Las desinfecciones se practicaron de acuerdo a las especificaciones descritas en el cuadro 33. Las variaciones habidas en la flora Fusárica en el suelo se han resumido en el cuadro 34, agrupándolas según los meses de muestreo.

El invernadero PRI-4, desinfectado a través de la instalación de riego por goteo con la menor dosis de metam-sodio, no pudo valorarse: una masiva erupción de malas hierbas lo impidió. En todos los invernaderos, los síntomas aparecieron 90 días después de plantar. A finales de julio y primeros de agosto, 190 días después del trasplante, la gravedad de la enfermedad se cifró en los siguientes porcentajes: PRI1, 50 por 100 de plantas enfermas y/o muertas; PRI2, 50 por 100, y PRI3, 80 por 100.

Después de los tratamientos se notó una disminución del inóculo en todos los invernaderos desinfectados con 5.000 l/ha. de metam sodio, tanto si la aplicación se hizo por riego a manta, como si se practicó a través de los nebulizadores. La dosis de 3.000 l/h., aplicada a través del riego por goteo, produjo una levisima disminución de los *Fusarium* tanto en el «bulbo húmedo» como en la zona

del suelo situada entre dos goteros, siendo sólo apreciable el efecto en la mayor profundidad muestreada en el «bulbo húmedo». Es posible que la débil acción del biocida sea la respuesta a la masiva invasión por malas hierbas, que impidió la valoración de la micosis.

La desinfección practicada, aunque disminuyó la densidad de inóculo *Fusarium*, fue incapaz de eliminar a los *F. oxysporum*, al menos en los 30 primeros centímetros de profundidad. Hasta el punto de que a pesar de permanecer la población de hongos menguada desde febrero a mayo, en julio se presentaron concentraciones de inóculo comparables a las de enero (antes de la desinfección), que explican con facilidad los graves ataques de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, comprendidos entre el 50 y el 80 por 100.

Comparando los cuadros 34 y 27 no se puede decir que la aplicación de metam-sodio en el Campo de Dalías —excepción hecha de la adición por los goteros—, y en Aguilas con una dosis bastante menor, haya sido muy diferente en lo concerniente a la disminución de los *F. oxysporum*, aunque sí lo ha sido para los *Fusarium* en dos de los invernaderos almerienses. También son comparables, en el tiempo, los efectos del biocida, que se dejan

Cuadro 34

**VARIACIONES MENSUALES DE LA FLORA FUSARICA EN 4 INVERNADEROS DE CLAVEL.
APLICACIONES DEL DESINFECTANTE A TRAVES DE LOS SISTEMAS DE RIEGO.
CAMPO DE DALIAS (ALMERIA). SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO.**

Código de invernadero	Profundidad de la muestra (cm.)	Enero		Febrero		Abril		Mayo		Julio	
		Fo	Fr	Fo	Fr	Fo	Fr	Fo	Fr	Fo	Fr
PRI-1	0-30	1.225	4.732	694	1.516	211	319	175	488	1.860	3.835
	30-50	100	409	144	165	15	22	18	47	82	208
PRI-2	0-30	1.547	3.754	396	1.378	156	697	287	1.223	2.032	3.257
	30-50	314	628	—	78	24	116	22	157	209	574
PRI-3	0-30	1.101	4.702	188	871	922	1.793	144	622	363	1.520
	30-50	—	—	—	122	21	90	3	115	52	526
PRI-4	0-30	2.275	3.177	1.364	3.721	2.624	5.327	1.224	4.300	1.126	4.572
	30-50	999	3.085	735	1.317	31	132	498	1.598	1.021	3.299
PRI-AG	0-30	1.291	4.538	1.249	4.696						
	30-50	336	817	486	2.666						
PRI-0	0-30					5.732	7.265	1.665	2.654	3.160	4.106

sentir en la menguada población fusárica durante varios meses. Por ello, puede asumirse, sin mucho riesgo de error, que los nebulizadores cumplen un papel comparable a la aplicación por riego a manta para dosis de 5.000 l/ha. Sin embargo, las diferencias sostenidas frente al invernadero no desinfectado (cuadro 34) se disuelven cuando, después, llegado julio, la gravedad de la enfermedad no baja del 50 por 100. Magros resultados para un esfuerzo y gasto enormes.

3.3. *Los estiércoles portadores de F. oxysporum f.sp. dianthi*

Se ha indagado anteriormente la contaminación ambiental por *F. oxysporum* y otros *Fusarium*. Se ha comprobado la dispersión de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* por el riego, por el aire y por los esquejes de plantación. Se analizó estiércol de una explotación del Campo de Cartagena, procedente de Albacete, evidenciando la presencia de *Fusarium roseum*. Faltaba, sin embargo, dada la alerta por los problemas habidos en algunas plantaciones, comprobar una insólita situación común en el Campo de Dalías (Almería): la posible transmisión masiva de *F. oxysporum dianthi* a partir de los estiércoles, añadidos en abundancia a los cultivos de clavel.

Parece una práctica normal en las explotaciones ganaderas almerienses que la ración de volumen del ganado ovino y caprino se constituya con la masa verde, obtenida al podar las plantas de clavel entre junio y julio de cada año. Evidentemente, ovejas y cabras no desdeñan las plantas enfermas de «Fusariosis vascular», ni el inóculo patógeno que las acompaña. Los excrementos de los animales se utilizan como la base de los estiércoles empleados, después, en el cultivo. La pregunta era, ¿el aparato digestivo era capaz de eliminar el inóculo patógeno rumiado? La respuesta comportó el trabajo expuesto a continuación.

Se analizaron 5 muestras, tomadas directamente de los estercoleros y cuadras, aplicando un análisis selectivo para *Fusarium*. Los resultados en el cuadro 35.

La proporción de *F. solani* y de *F. roseum* en las muestras no era desdeñable. Sin emb-

Cuadro 35

FLORA FUSARICA DE ESTIERCOLES PRODUCIDOS EN ALMERIA. SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G.

Código de muestra	F. oxysporum	F. solani	F. roseum (*)
CL-A15	441±92	71±41	8.768±651
CL-Ej1	—	1.244±152	4.482±573
CL-Ej2	—	6.012±278	11.975±736
CL-Ej3	—	16±9	—
CL-Ej4	71±18	20±11	330±38

(*) Fundamentalmente, *F. roseum* var. *arthrosporioides* (*F. semitectum* sensu BOOTH) y *F. roseum* var. *gibbosum* (*F. equiseti*, sensu BOOTH).

argo, la presencia de *F. oxysporum* en 2 sobre 5 muestras era modesta. Repetidamente, a lo largo de este trabajo, se ha insistido sobre el efecto selectivo que el medio KOMADA ejerce frente a ciertas especies de *Fusarium*; ateniéndose a ello, los estiércoles fueron analizados para conocer su flora total. Los resultados en el cuadro 36.

La sencilla experiencia demuestra, una vez más, las diferencias aportadas, para una misma muestra, por dos técnicas de análisis diferentes. En el cuadro 36 son cuatro muestras las que presentan *F. oxysporum*, mientras que con la aplicación del análisis selectivo con medio KOMADA quedan reducidos a dos.

Pero, y la insistencia es inevitable, los resultados obtenidos hasta ahora son mudos para la patogenicidad de los *F. oxysporum*. Los análisis presentados sólo aportan una densidad de inóculo basada en las capacidades saprofitarias de los hongos. Intentando conocer si la identidad de los *F. oxysporum* permitía su agrupación en la «forma especiales» *dianthi*, se preparó una experiencia de inoculación para 31 aislamientos monospóricos. Inoculación realizada por inmersión de raíces en una suspensión de propágulos de los aislados candidatos de plantas de la var. Kaly. El resumen del experimento se ha tabulado en el cuadro 37.

El 50 por 100 de los aislamientos obtenidos de una procedencia, precisamente una de las que no exteriorizaron *F. oxysporum* en el

Cuadro 36

**MICOFLOTA TOTAL DE ESTIERCOLES PRODUCIDOS EN ALMERIA.
SE EXPRESA EN 10⁴ PROPAGULOS/G.**

Código de muestra	Aspergillus	Botryotrychum	Cladosporium	Geotrichum	Penicillium	Rhizopus	Stemphylium	Stachybotrys	Trichoderma	Fusarium		
										F. oxysporum	F. solani	F. roseum
CL-A15	37	—	26	1	—	1	147	—	—	2	746	—
CL-Ej1	2.987	—	49	—	96	—	—	—	—	13	73	4
CL-Ej2	2.870	1	339	—	—	—	83	—	—	6	508	13
CL-Ej3	306	—	1	1	82	2	2	—	1	—	1	1
CL-Ej4	780	—	1	1	98	2	1	1	1	1	—	3

análisis selectivo, se mostraron patógenos en el tiempo de la experiencia, y, por lo tanto, perteneciente a la entidad *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

3.4. Discusión y conclusiones

Las mediciones sobre las desinfecciones realizadas en Almería, en una explotación intensamente cultivada con claveles durante los diez años anteriores al de la experiencia presentada, pone en evidencia su ineficacia para controlar la enfermedad, y lo que es más grave, a pesar de las elevadas dosis de desinfectante utilizadas, a los seis meses de plantar los daños no eran inferiores al 50 por 100 de plantas enfermas y/o muertas. El hecho, que evidencia una vez más el carácter

limitante de la micosis para el cultivo, enseña, además, la ineficacia de la aplicación del biocida a través de la red de riego por goteo, y la disminución del inóculo *F. oxysporum* cuando el fitosanitario se aplica por riego a manta o por difusores, comparables entre sí y análoga a la eficacia mostrada por el mismo producto en Aguilas (Murcia), pero con una dosis 1,5 veces menor.

La preocupación sobre las fuentes del inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* motivaron la indagación sobre el papel de los estiércoles a este respecto. Conocido el hecho de que el ganado ovino y caprino recibe como ración de volumen en su alimentación los restos vegetales de las plantaciones de clavel, el análisis de cinco estercoleros diferentes mostró que en uno de ellos *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* estaba presente. Si se tiene en cuenta la elevada cantidad de estiércol añadida al suelo para posibilitar el cultivo de clavel, podrá suponerse la importancia de esta fuente de inóculo, merecedora de investigaciones más intensas y extensas que la presentada en este trabajo.

4. La resistencia varietal a *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (1)

Tanto en las explotaciones de Murcia como en la de Almería se ha comprobado cómo las

Cuadro 37

**PATOGENICIDAD DE 31 AISLAMIENTOS
DE *F. OXYSPORUM*, OBTENIDOS
DE ESTIERCOLES DE GANADO
CONSUMIDOR DE PLANTAS DE CLAVEL.
LA MEDIDA, 120 DIAS DESPUES
DE INOCULAR. CAMPO DE DALIAS
(ALMERIA).**

Procedencia del aislamiento	N.º de cepas inoculadas	N.º de cepas patógenas
CL-A15	11	0
CL-Ej1	10	5
CL-Ej2	6	0
CL-Ej4	4	0

(1) El tratamiento estadístico de este apartado se debe al trabajo de Dña. Carmen Rodríguez Valdovinos y de D. Fernando Béjar Villa, del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias.

desinfecciones de suelo, cualquiera que fuere el biocida (metam-sodio y bromuro de metilo), la disis, la asociación y la técnica de aplicación, disminuyen el inóculo de *F. oxysporum* en el suelo en más o menos proporción, especialmente hasta los 30 cm. de profundidad, persistiendo el hongo hasta honduras de 60-95 cm. Se ha probado también la importancia de la sanidad de los esquejes y sus sustratos en la gravedad de la micosis vascular. El papel de la contaminación ambiental y el de los estiércoles en la infección de los suelos ha sido, además, evidenciado. Si estas indagaciones patentizaron el poder limitante de la «Fusariosis vascular», era necesario conocer el papel de la *resistencia varietal* en tanto en cuanto ella representa una posibilidad de control, tal vez duradera y, desde luego, nula-mente contaminante de los ya degradados suelos de la región estudiada.

Es lugar común, entre los especialistas, la escasa resistencia que las variedades americanas o «Sim» tienen a *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. La, relativamente, reciente aparición de los claveles monoflor de «tipo mediterráneo» o, simplíficadamente, «claveles mediterráneos», ha puesto de manifiesto un mayor nivel de resistencia al patógeno. El hecho ha motivado programas de trabajo para acrecentar dicha resistencia, desarrollados por las administraciones de distintos países y por las firmas privadas. Los catálogos comerciales exhiben no pocas escalas de resistencia a la «Fusariosis vascular», mediante las cuales clasifican las variedades que ofrecen al dianticultor.

La experiencia que se recoge en este apartado responde, esencialmente, a esa preocupación, o tal vez sería más exacto extender la motivación a la búsqueda de una respuesta, obligada por el tremendo poder mortífero de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. El ensayo se desarrolló en una explotación de Aguilas (Murcia), estudiada anteriormente, donde en la campaña 1984-1985 se midió el comportamiento de 59 variedades de clavel de «tipo monoflor mediterráneo» y de una tipo «mini».

4.1. Protocolo experimental

A) *El invernadero de ensayo.*—Con dos años de cultivo de clavel, fue prospectado con an-

terioridad (ver apartado 2), y el espectro de su flora Fusárica fue evaluado.

El invernadero con cubierta plástica de 3.668 m², con una superficie útil de 2.244 m², se dividió, aproximadamente, en dos mitades, según su máxima dimensión. Una quedó con orientación norte y otra sur. La primera con una superficie útil de 1.089 m², mientras la orientada al mediodía media 1.115 m².

La plantación se realizó en banquetas no elevadas. Se utilizó el sistema de riego localizado por líneas de portagotos. Durante los veinte primeros días después de la plantación se facilitó el «agarre» de esquejes, mediante riegos aéreos por microaspersores situados a 2 m. sobre el suelo. El trasplante de 51 variedades se hizo el 11 y 12-7-84, y las 9 restantes se pusieron el 1-8-84.

Cada mitad del invernadero se dividió en tres partes iguales, en cada uno de los bloques se plantaban las 60 variedades a razón de 1.200 esquejes por cultivar. De esa manera, en la mitad norte se trasplantaron 36.491 esquejes, y en la sur, 36.512 retallos enraizados. Las pérdidas en el «agarre» (deshidrataciones, mala calidad vegetativa, etc.) fueron del 6,6 por 100 en el sector norte, y de un 7,9 por 100 en su mitad colindante. Por lo tanto, las valoraciones se hicieron a partir de 67.706 plantas (33.634 en el sur y 34.072 en el norte).

B) *La desinfección de la mitad norte del invernadero.*—El sector sur no fue tratado con biocida alguno. La mitad norte se trató con 3.000 l/ha. de metam-sodio (50 por 100 de m.a.), aplicados por riego a manta con una dotación de 125 l/m² de agua. La desinfección se practicó el 4-6-84, o sea, 36 días antes de la plantación.

C) *Las variedades del ensayo.*—Un total de 60 variedades fueron plantadas, agrupándose en cada mitad en tres bloques, dentro de los cuales los cultivares fueron distribuidos al azar, siguiendo en cada uno de ellos la misma secuencia.

Las denominaciones registradas de las variedades ensayadas fueron: Akea, Arturo, Apricale, Arno, Astor, Bordighuera, Candy, Cipressa, Cereza 84, Diano, Dianora, Don Quijote, Don Miguel, Doña Arancha, Doria, Ernesto, Etna, Felipe, Gea, Julia, Korisse,

Lontagu, Lompilem, Lisa, Manolo, Maruja, Manon, Miranda, Nieves, Olga, Orange tangerine, Praline, Pallas, Pallas Orange, Pierrot, Piraña, Palma, Rosalie, Ronda, Rojo 84, Rubén, Rubi lila, Rubino, Rosa 300, Rosso 128, Raggio di sole, Salome, Sarazis, Sarinah, Scia, Simona, Soraya, Starlight, Tinto, Tigre, Topacio, Tanga, Vanya, Vanessa, Zeus. La variedad Etna era la única de tipo «mini».

D) *La valoración de la gravedad de la enfermedad.*—Se hizo desde octubre de 1984 (83 días después de la plantación) hasta julio de 1985. Las plantas se contaban todas, agrupándolas en enfermas y muertas con los síntomas de la «Fusariosis vascular». Mensualmente se tomaban entre 300 y 600 tallos de plantas enfermas o muertas, para proceder a su análisis en el laboratorio y comprobar la presencia de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*.

E) *Los análisis de suelo.*—Mensualmente se tomaron dos muestras de suelo, correspondiendo cada una a ambas mitades del invernadero, la norte y la sur. Cada muestra era la resultante de 30 submuestras recogidas en 3 líneas paralelas, equidistantes, a una profundidad de 0-15 cm., como se describió anteriormente.

F) *La contaminación ambiental.*—Todos los meses se valoró la presencia de *Fusarium*, tanto en el interior como en el exterior del invernadero.

Debido a que el riego se hacía por una instalación de goteo, en los meses de julio, noviembre y mayo se pusieron en funcionamiento los microaspersores colocados a 2 m. sobre el suelo, en espera de comprobar el efecto de «lavado del ambiente» por el agua.

Durante toda la experiencia las «trampas» se colocaron, dentro del invernadero, a 15 cm. sobre el suelo. La duración del riego por microaspersores fue de 15 min. Las «trampas» con medio KOMADA, selectivo para *Fusarium*, estuvieron expuestas durante 270 minutos en cada postura, correspondiendo este intervalo de tiempo a las horas de máxima insolación; en el laboratorio la incubación se hizo bajo luz fluorescente continua, en la bancada de trabajo, durante 8 días.

4.2. Resultados

Se exponen detalladamente a continuación.

4.2.1. La eficacia de la desinfección

Las muestras se tomaron en dos puntos de la parte desinfectada y en otros dos de la mitad no tratada. En cada punto dos profundidades fueron muestreadas, entre 0 y 30 cm. y entre 30 y 50 cm. Las tierras se recogieron 20 días después de aplicar los 3.000 l/ha. de metam-sodio. Los resultados se reflejan en el cuadro 38.

De nuevo patente la aleatoriedad de las muestras, ello no evita la comprobación del efecto del biocida, que indudablemente ha reducido la presencia de *Fusarium* spp. de manera considerable, y también la de *F. oxysporum*.

4.2.2. Variaciones de los *Fusarium* en el suelo a lo largo de la experiencia

Las imágenes analíticas de la Flora Fusárica del suelo se han representado en el cua-

Cuadro 38

EFFECTO DE LA DESINFECCION CON 3000 L/HA. A LOS 20 DIAS DE LA APLICACION. AGUILAS (MURCIA). SE EXPRESA EN PROPAG/G.

Punto de muestreo	Profundidad (cm.)	Zona desinfectada			Zona sin desinfectar		
		<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
A	0-30	434 ± 39	140 ± 33	—	12.852 ± 542	618 ± 67	—
	30-50	—	—	—	211 ± 32	8 ± 8	12 ± 7
B	0-30	1.887 ± 299	773 ± 70	—	9.032 ± 1.608	3.278 ± 542	—
	30-50	26 ± 16	—	—	173 ± 27	694 ± 80	—

dro 39 y en la gráfica 4 se han diseñado las evoluciones de los *F. oxysporum*.

Tanto en el cuadro 39 como en la gráfica 4, varios aspectos pueden ser matizados, pero interesa ahora resaltar la diferencia sostenida entre la población total de *Fusarium*, y especialmente de *F. oxysporum*, a lo largo de todo el periodo de observación. A pesar del notable incremento de la densidad de inóculo, con respecto al análisis de partida (cuadro 38), se producen unas variaciones a lo largo de los 363 días (gráfica 4) con tendencia a decrecer desde diciembre hasta mayo, aunque en marzo se aprecie un máximo relativo, registrado en ambas mitades del invernadero. La experiencia muestra unas fluctuaciones del inóculo en el suelo, fundamentalmente su disminución, cuya relación con la gravedad de la «Fusariosis vascular» se medirá más adelante.

4.2.3. La contaminación ambiental por *Fusarium spp.*

La utilización del sistema de riego por goteo evitó la dispersión de los *Fusarium* por el agua, siendo, en esta situación, el viento el vehiculador de los propágulos. En tres ocasiones se pretendió que el agua proyectada por los aspersores lavase el ambiente y diese una imagen más exacta de los propágulos en él suspendidos. Finalmente, la presencia de los *Fusarium* en el exterior del invernadero se

midió sobre la techumbre de la vertiente norte, contabilizando, en una ocasión, su densidad en el polvo depositado sobre el polietileno. Los resultados de las capturas se exhiben en el cuadro 40.

Nada nuevo aporta el cuadro 40 que anteriormente no se haya medido. Sirve, no obstante, para corroborar la contaminación del ambiente interno del invernadero, para verificar el papel del agua como lavadora del ambiente y para volver a preguntarse por la ausencia de *F. oxysporum* de la techumbre y por la nada desdeñable presencia de *F. moniliforme* en el polvo sobre ella recolectado.

4.2.4. El ensayo varietal. Resultados estadísticos

Dado que los porcentajes en los cuales se ha expresado la gravedad de la enfermedad, durante todos los meses de medida, no tienen una distribución normal, se aplicó la transformación $\text{arc sen } \sqrt{x}$, siendo x el porcentaje de enfermedad. La transformación permitió aplicar los métodos estadísticos de la varianza y los tests de comparación de medias.

El análisis efectuado trata de estudiar la influencia que sobre la gravedad de la micosis ejercen los efectos *tratamiento*, *variedad* y *tiempo*.

Para simplificar el estudio estadístico, se hizo comparación de las medias de la enfermedad en cada uno de los efectos, permi-

Cuadro 39

VARIACION MENSUAL DE LOS *FUSARIUM* EN EL SUELO DURANTE EL TIEMPO QUE SE VALORO LA RESISTENCIA DE 60 VARIEDADES DE CLAVEL MEDITERRANEO A *F. OXYSPORUM* F.SP. *DIANTHI*. AGUILAS (MURCIA). SE EXPRESA EN PROPAG/G.

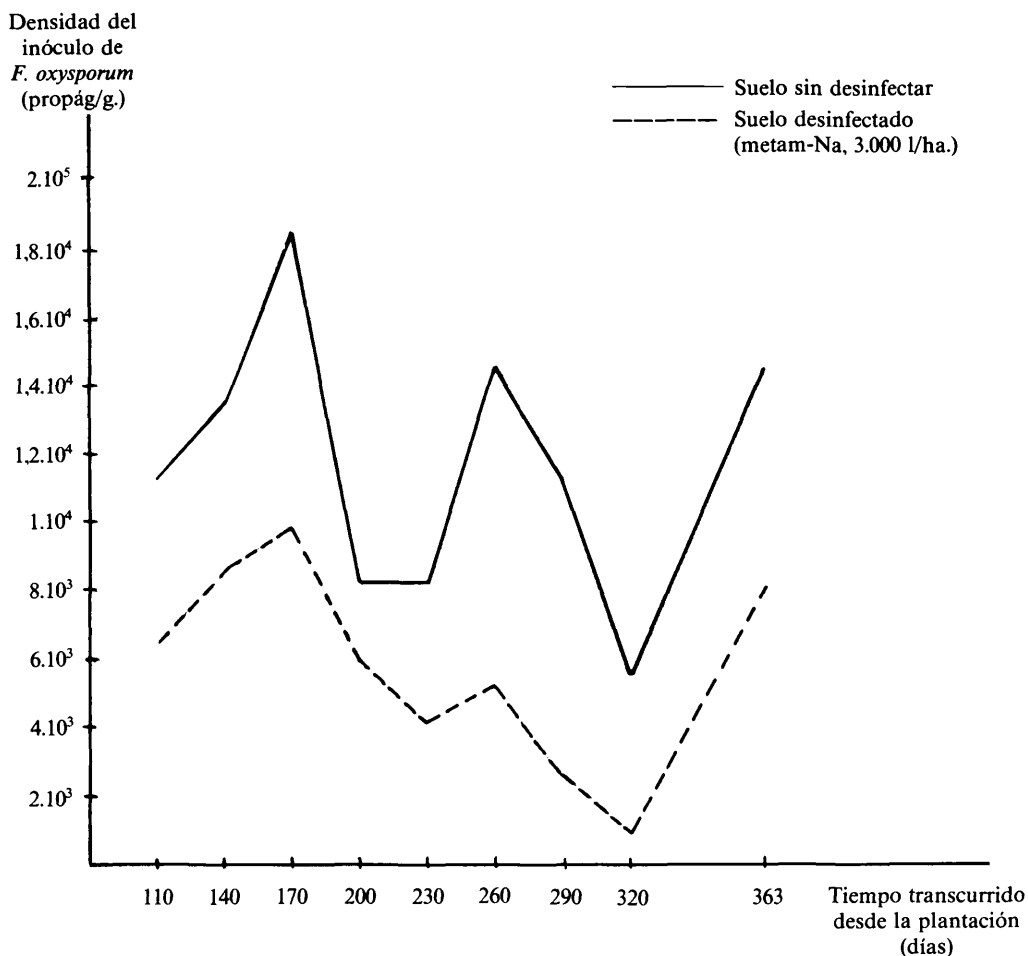
Mes de muestreo (días después de plantar)	Zona desinfectada			Zona sin desinfectar		
	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
Octubre (110)	6.633 ± 122	551 ± 56	327 ± 129	11.346 ± 431	389 ± 75	160 ± 53
Noviembre (140)	8.473 ± 727	2.569 ± 114	71 ± 46	13.689 ± 1.097	3.320 ± 362	116 ± 44
Diciembre (171)	9.999 ± 441	2.285 ± 99	—	18.592 ± 838	4.520 ± 363	—
Enero (202)	5.961 ± 61	1.595 ± 61	—	8.160 ± 506	1.797 ± 124	—
Febrero (230)	4.177 ± 354	686 ± 23	—	8.161 ± 1.535	375 ± 35	—
Marzo (261)	5.461 ± 437	809 ± 91	785 ± 127	14.539 ± 1.123	1.363 ± 289	—
Abril (291)	2.844 ± 121	695 ± 49	—	11.370 ± 316	3.044 ± 92	161 ± 37
Mayo (322)	1.021 ± 240	318 ± 91	—	5.784 ± 258	1.252 ± 74	180 ± 37
Julio (363)	8.200 ± 681	2.771 ± 150	—	14.457 ± 1.227	2.760 ± 288	—

Cuadro 40

CONTAMINACION AMBIENTAL POR *FUSARIUM* SPP. EN INVERNADERO DE RESISTENCIA VARIETAL A *F. OXYSPORUM* F.SP. *DIANTHI*.
AGUILAS (MURCIA). SE EXPRESA EN NUMERO DE COLONIAS POR 0,1 M²

Mes de muestreo	Riego goteo		Riego por microaspersores			Techumbre invernadero		
	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
Julio								
Octubre	21	—	358	17	80	6	8	38
Noviembre								
Diciembre	1	1	103	1	4	—	—	4
Enero (*)	12	6						
Febrero	2	1						
Marzo	1	—						
Abril			3	—	39	—	—	2
Mayo	2	1			5	—	—	—

(*) 0,89 g. de polvo depositados en 4 m² de superficie del techo del invernadero mostraron: 692 prop/g. de *F. solani*, 526 prop/g. de *F. moniliforme* y 22 prop/g. de *F. roseum*.



Gráfica 4.—Variación temporal de *F. oxysporum* en suelo desinfectado y sin tratar. Ensayo de variedades de tipo mediterráneo. Campaña 1984-1985. Águilas (Murcia).

tiendo esta forma de operar, en el caso en que resultase factible, proceder a una agrupación de los datos. Cuando se han realizado comparaciones de medias, se ha empleado el test de Duncan, eligiendo un nivel de significación del 1 por 100.

En los cuadros 41, 42 y 43 se han recogido las medias, errores típicos y número de observaciones en cada uno de los niveles de los efectos que influyen en la variable analizada.

La comparación entre medias de la gravedad de la enfermedad obtenidas durante los meses de observación, permitió una agrupación de éstos en 4 periodos (cuadro 44).

La comparación de medias entre variedades posibilitó pasar de 60 a 13 grupos, representados en el cuadro 45.

Cuadro 41
MEDIA DEL PORCENTAJE DE ENFERMEDAD PARA EL EFECTO TRATAMIENTO (1: SIN DESINFECCION; 2: APLICACION DE 3.000 L/H. DE METAM-SODIO)

Tratamiento	Media	Error típico (ET)	Núm. de observaciones (N)
1	40,28	33,43	1.440
2	18,57	21,23	1.400

Cuadro 42

MEDIA DEL PORCENTAJE DE ENFERMEDAD PARA EL EFECTO VARIEDAD

Variedad	Media	ET	N	Variedad	Media	ET	N
1	41,57	30,51	48	31	21,92	20,99	48
2	23,72	17,48	48	32	52,38	34,23	48
3	37,38	28,82	48	33	46,18	33,28	48
4	25,75	22,62	48	34	49,64	32,31	48
5	76,02	26,64	48	35	79,04	29,37	48
6	20,97	17,54	48	36	19,75	17,44	48
7	6,25	7,28	48	37	1,62	3,84	48
8	26,58	23,91	48	38	2,06	4,75	48
9	27,63	25,95	48	39	24,97	21,23	48
10	26,61	26,09	48	40	25,61	17,07	48
11	20,11	19,64	48	41	55,49	33,58	48
12	57,54	34,21	48	42	15,84	15,64	48
13	48,51	33,34	48	43	4,23	7,08	48
14	8,36	7,52	48	44	27,08	22,20	48
15	4,19	8,24	48	45	15,56	9,93	48
16	60,03	31,48	48	46	22,73	20,23	48
17	45,85	34,52	48	47	27,43	23,20	48
18	58,17	30,79	48	48	47,31	30,93	48
19	44,14	38,16	48	49	31,86	25,09	48
20	37,45	32,58	48	50	34,29	29,48	48
21	57,76	31,17	48	51	24,01	22,25	48
22	16,28	14,39	48	52	36,31	30,65	54
23	35,00	28,37	48	53	8,29	7,68	42
24	32,61	28,38	48	54	46,83	32,48	48
25	43,06	29,14	48	55	1,56	4,42	48
26	5,86	8,42	48	56	3,89	6,94	48
27	18,84	14,24	48	57	4,20	7,53	48
28	24,40	23,04	54	58	4,64	7,65	48
29	21,66	21,26	42	59	21,17	17,68	48
30	22,29	18,86	48	60	19,85	23,58	48

NOMENCLATURA DE LAS VARIEDADES

1. Tanga	21. Rosa 300	41. Olga
2. Salomé	22. Korisse	42. Arno
3. Lontagu	23. Julia	43. Ernesto
4. Astor	24. Bordighera	44. Akea
5. Rosso 128	25. Manon	45. Soraya
6. Scia	26. Cereza 84	46. Rubilila
7. Diano	27. Rubino	47. Arturo
8. D. Miguel	28. Topacio	48. Felipe
9. D. Quijote	29. Maruja	49. Zeus
10. Manolo	30. Lisa	50. Apricale
11. Raggio di sole	31. D.* Arancha	51. Pierrot
12. Cipressa	32. Gea	52. Doria
13. Rubén	33. Rosalie	53. Tigre
14. Rojo 84	34. Simona	54. Miranda
15. Tinto	35. Nieves	55. Ronda
16. Sarazis	36. Candi	56. Orange Tangerine
17. Sarinah	37. Pallas	57. Piraña
18. Praline	38. Pallas Orange	58. Palma
19. Lompilen	39. Vanessa	59. Etna
20. Starligh	40. Vanya	60. Dianora

Cuadro 43

**MEDIA DEL PORCENTAJE DE ENFERMEDAD
POR CADA MES DE VALORACION**

Mes	Media	ET	N
Noviembre 1984	17,75	16,61	360
Noviembre 1984	28,35	27,34	360
Enero 1985	27,99	29,16	360
Febrero 1985	30,81	30,01	360
Marzo 1985	33,50	30,14	360
Abril 1985	27,21	29,28	360
Mayo 1985	20,82	27,41	360
Julio 1985	48,94	36,33	360

Cuadro 44

**AGRUPACION DE LOS MESES
DE VALORACION EN PERIODOS
DE TIEMPO. SE HIZO COMPARANDO
LAS MEDIAS MEDIANTE EL METODO
DE DUNCAN CON UNA SIGNIFICACION
DEL 1 POR 100.**

Periodo	Meses que comprende
1	Octubre 1984
2	Noviembre 1984 a Abril 1985
3	Mayo 1985
4	Julio 1985

Cuadro 45

**AGRUPACION DE LAS VARIEDADES.
HECHA COMPARANDO LAS MEDIAS
MEDIANTE EL METODO DE DUNCAN
CON UNA SIGNIFICACION DEL 1 POR 100.**

Grupo de variedades	Variedades que lo integran
V 1	37, 55
V 2	38, 56
V 3	15, 43, 57, 58
V 4	7, 26
V 5	14, 53
V 6	22, 42, 45
V 7	27, 36, 6, 60, 20
V 8	2, 46, 51, 28, 39, 40, 4, 8, 9, 10, 44, 47
V 9	11, 49
V 10	24, 23, 50, 52, 3, 29, 30, 31, 59
V 11	1, 25, 17, 19, 33, 48, 54, 13
V 12	12, 16, 18, 21, 32, 34, 41
V 13	5, 35

Las medias de los grupos establecidos con los meses y las variedades se han reflejado en los cuadros 46 y 47.

Cuadro 46

**PORCENTAJE DE INFECCION MEDIO PARA
CADA PERIODO DE TIEMPO ESTUDIADO.**

Periodo	Media	E.T.	N
1	17,75	16,61	360
2	29,57	29,26	1.800
3	20,82	27,41	360
4	48,94	36,33	360

Cuadro 47

**PORCENTAJE DE INFECCION MEDIO PARA
CADA GRUPO DE VARIEDADES.**

Grupo	Media	E.T.	N
V 1	1,50	4,12	96
V 2	2,97	5,99	96
V 3	4,31	7,58	192
V 4	6,06	7,83	96
V 5	8,33	7,55	90
V 6	15,89	13,45	144
V 7	20,79	18,96	378
V 8	25,70	22,10	582
V 9	30,49	22,10	582
V 10	35,52	29,56	294
V 11	45,44	32,67	384
V 12	55,86	32,45	336
V 13	77,53	27,93	96

Utilizando estas agrupaciones, se realizó un análisis de la varianza, según el modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + V_j + P_k + TV_{ik} + VP_{jk} + E$$

Donde:

Y_{ijk} = porcentaje de la enfermedad.

μ = media general.

T_i = efecto del tratamiento ($i = 1,2$).

V_j = efecto de la variedad ($j = 1,13$).

P_k = efecto del periodo ($k = 1,4$).

TV = interacción tratamiento-variedad.

TP = interacción tratamiento-periodo.

VP = interacción variedad-periodo.

E = residuo.

Todos los efectos incluidos en el modelo son fijos, excepto el error residual o residuo, que se distribuye aleatoriamente. En el cuadro 48 se tabulan los resultados del análisis de la varianza: todos los efectos incluidos en el modelo resultaron altamente significativos, así como las interacciones entre ellos.

Cuadro 48

**RESULTADOS DEL ANALISIS
DE VARIANZA.**

F. de V	g.l.	M.C.	F.
Tratamiento	1	66.711,03	225,04 (*)
Variación	12	44.936,64	151,59 (*)
Período	3	31.583,26	106,54 (*)
Trat. x Var.	12	11.174,22	37,69 (*)
Trat. x Período	3	5.053,15	17,05 (*)
Var. x Período	36	2.423,12	8,17 (*)
Error	2.812	296,44	

(*) $p < 1$ por 100.

En las gráficas 5, 6 y 7 se han representado las tres interacciones dobles incluidas en el modelo. Como puede verse, tanto la interacción tratamiento de desinfección-variedad, como la de tratamiento-período, son de tipo cualitativo, mientras la interacción variedad-período es cuantitativa. Por lo tanto, del único efecto principal del que se podrá analizar la influencia ejercida por sí mismo es del tratamiento de desinfección aplicado. En el caso de la variedad y período se tendrá que hablar de las interacciones, pero no del efecto que puedan ejercer individualmente sobre el carácter analizado.

Tratamiento

Como puede deducirse en el cuadro 41, el tratamiento 2 (desinfección con metan-sodio) resultó significativamente más eficaz ($p < 0,01$) que el 1, siendo la diferencia entre los porcentajes de la severidad de la micosis del 21,71 por 100.

Interacción tratamiento-período

Los resultados de esta interacción indican que la significativa mayor eficiencia del tratamiento 2 frente al 1 se mantiene a lo largo del tiempo (cuadro 49, gráfica 8).

Mediante la aplicación de un test X^2 se comprobó que la distribución a lo largo del tiempo del porcentaje de la severidad de la micosis no difiere significativamente para ambos tratamientos ($X^2 = 0,85$), por lo que puede decirse que el porcentaje de disminución de la enfermedad con el tratamiento 2 con respecto al 1 se mantiene constante y su valor medio es de 52,09 (E.T. = 5,91).

Interacción tratamiento-variedad

Los resultados de esta interacción muestran cómo en todas las variedades la desinfección (tratamiento 2) fue más efectiva que su ausencia (tratamiento 1), si bien las magnitudes de las diferencias de infección entre tratamientos no son constantes (cuadro 50, gráfica 9).

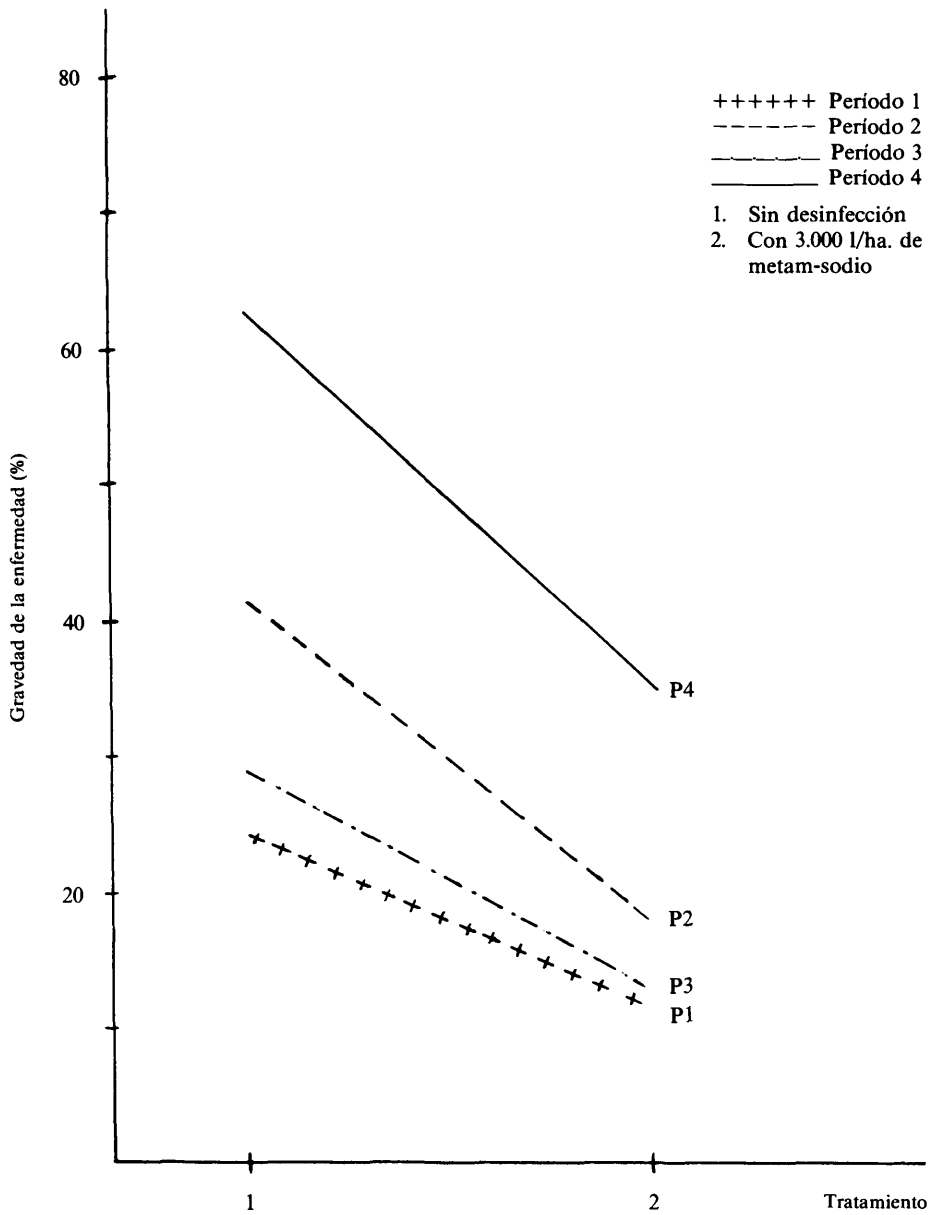
Existen diferencias significativas entre los dos tratamientos en los grupos de variedades del 5 al 12, ambos incluidos, oscilando el porcentaje de la reducción de la gravedad de la enfermedad entre el 52,38 por 100 y el 67,24 por 100, según las variedades. Un test X^2 permitió comprobar que estas diferencias no difieren significativamente ($X^2 = 1,41$), siendo la reducción en la severidad de la micosis del 57,59 por 100 (ET = 4,48). En los grupos de variedades 1 al 4, ambos incluidos, la disminución de la enfermedad al aplicar la desin-

Cuadro 49

**MEDIAS DEL PORCENTAJE DE ENFERMEDAD PARA CADA TRATAMIENTO Y PERIODO.
SIGNIFICACION DE LA COMPARACION DE AMBOS TRATAMIENTOS DENTRO DE CADA PERIODO.**

Período	TRATAMIENTO						
	1			2			
	Media	ET	N	Media	ET	N	% Dism.
1	24,11	18,80	180	11,40	10,89	180	52,72 (*)
2	41,36	32,63	900	17,78	19,24	900	57,01 (*)
3	28,71	34,15	180	12,93	14,70	180	55,00 (*)
4	62,60	37,78	180	35,95	32,60	180	43,63 (*)

(*) $p < 1$ por 100.



Gráfica 5.—Interacción período de tiempo y tratamiento de desinfección.

fección con metam-sodio (tratamiento 2) no fue significativa, teniendo que subrayar que la gravedad de la «Fusariosis vascular» fue muy pequeña. El caso contrario se encuentra

en las variedades del grupo 13, donde la severidad de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, con y sin desinfección, son tan altos que no hay diferencias significativas entre ellos.

Cuadro 50

**PORCENTAJE DE INFECCION MEDIO POR CADA TRATAMIENTO Y VARIEDAD.
SIGNIFICACION DE LA COMPARACION DE AMBOS TRATAMIENTOS EN CADA VARIEDAD.**

Variedad	TRATAMIENTO							% Dismin.
	1			2				
	Media	ET	N	Media	ET	N		
V 1	1,93	4,44	48	1,25	3,78	48	35,23 NS	
V 2	3,78	7,11	48	2,17	4,54	48	42,59 NS	
V 3	4,77	8,95	96	3,86	5,91	96	19,08 NS	
V 4	6,94	9,16	48	5,18	6,21	48	25,36 NS	
V 5	11,57	7,95	45	5,09	5,53	45	56,01 (*)	
V 6	21,74	14,89	72	10,05	8,57	72	53,77 (*)	
V 7	29,36	22,11	189	12,23	9,21	189	58,34 (*)	
V 8	30,03	25,63	291	15,37	10,35	291	57,34 (*)	
V 9	42,94	25,28	48	18,03	6,91	48	58,01 (*)	
V 10	55,77	29,64	147	18,27	16,62	147	67,24 (*)	
V 11	64,54	29,85	192	26,33	22,71	192	59,20 (*)	
V 12	75,68	25,42	168	36,04	25,99	168	52,38 (*)	
V 13	80,99	25,19	48	74,06	30,29	48	8,56 NS	

NS = no significativa.

(*)significativa al 1 por 100.

Interacción variedad-período:

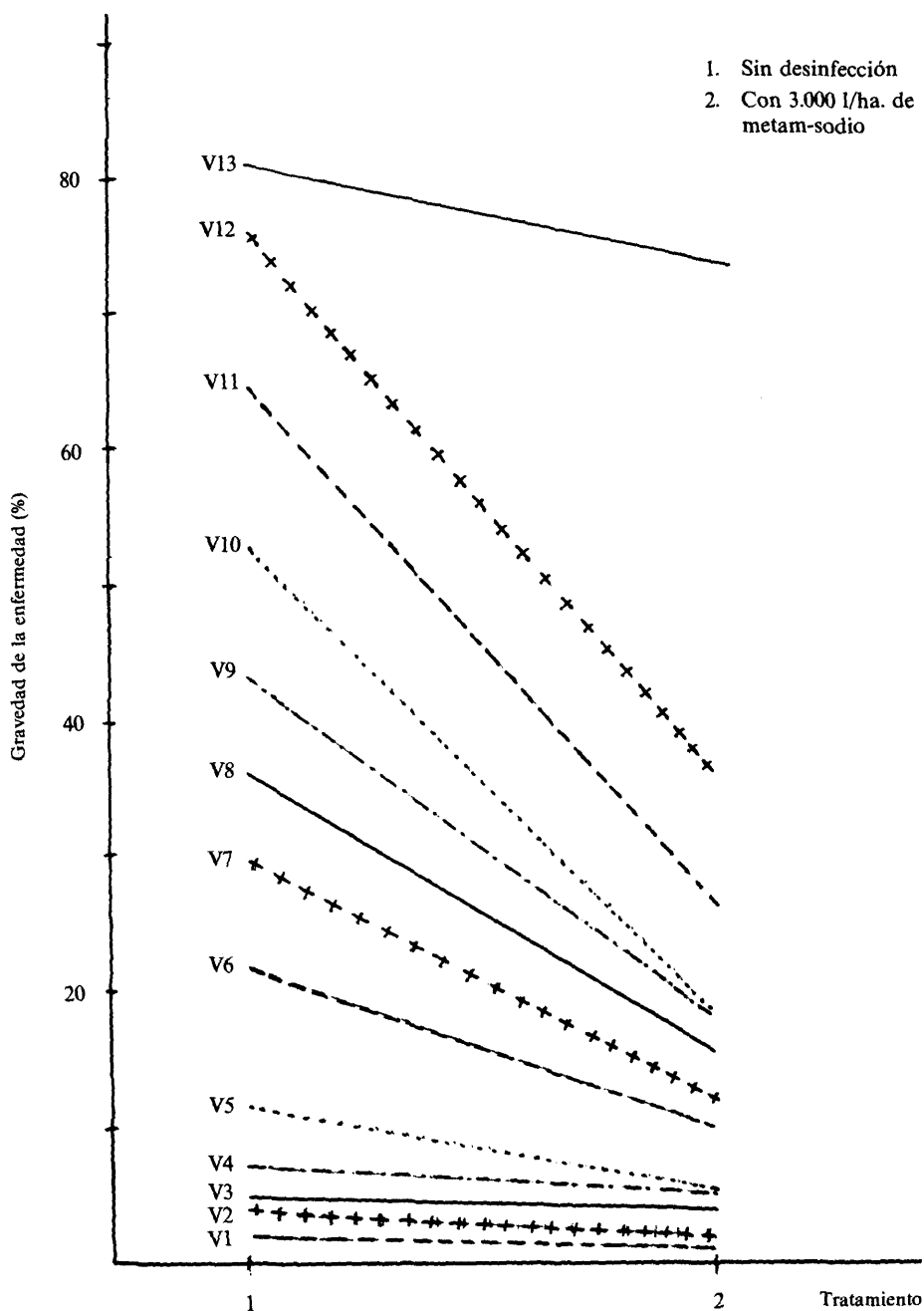
Como se indicó con anterioridad, esta interacción resultó significativa y de tipo cuantitativo, siendo el período 4 (julio 85) el que presenta la más elevada gravedad de la «Fusariosis vascular» (cuadro 51, gráfica 7). Dependiendo del período en que se hace la

valoración, varía el porcentaje de plantas enfermas y/o muertas por *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. Para los grupos de variedades 1, 5, 6, 7 y 9 la severidad de la «traqueomicosis» durante el tercer período (mayo 1985) es significativamente menor que en los restantes períodos. Para el grupo 2, de cultivares, son los períodos 1 y 2 (octubre 1984 a abril 1985)

Cuadro 51

**GRAVEDAD DE LA «FUSARIOSIS VASCULAR» (EN PORCENTAJE)
PARA CADA GRUPO VARIETAL Y PERIODO**

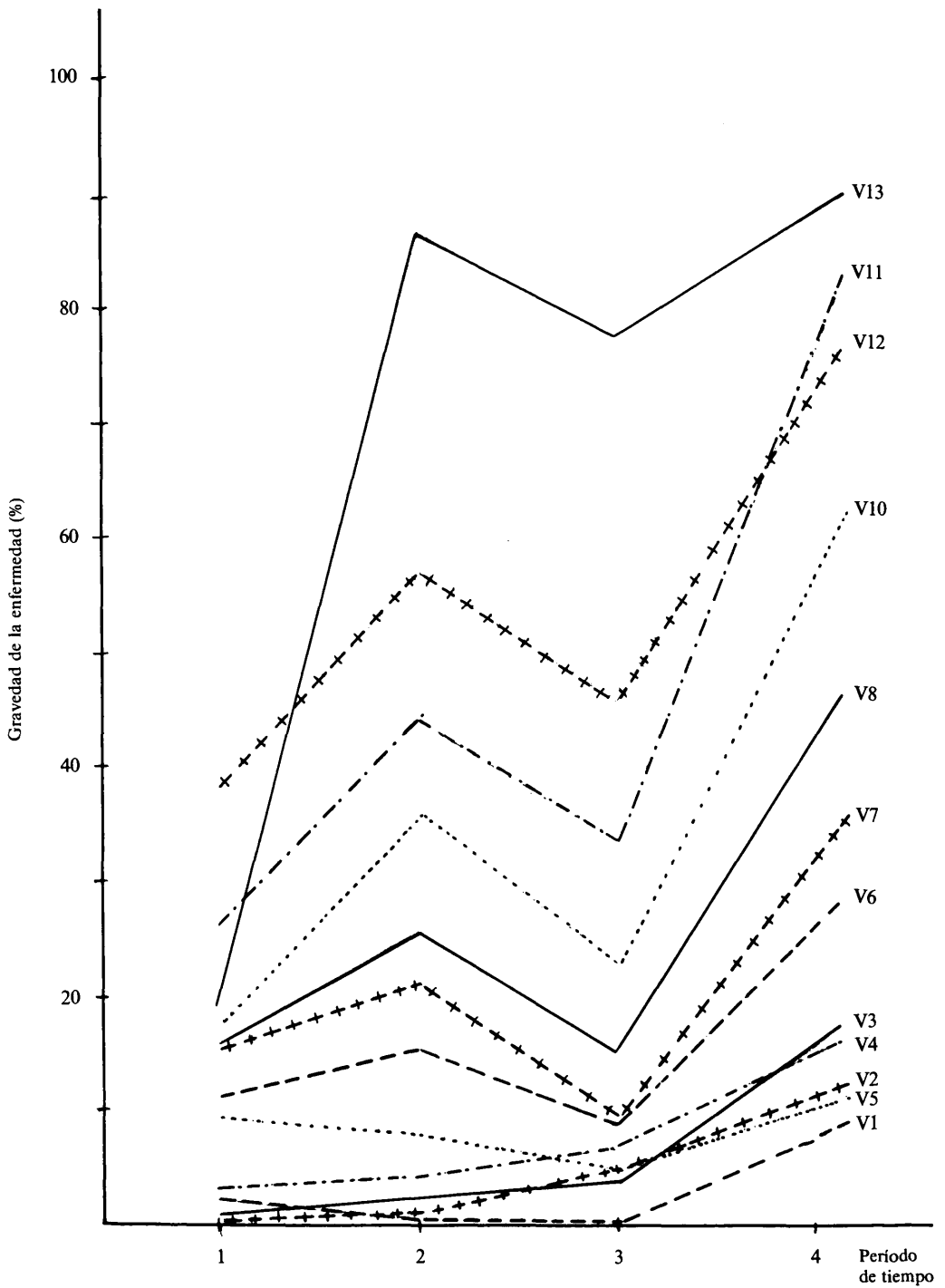
Variedad	PERIODO											
	1			2			3			4		
	Media	ET	N	Media	ET	N	Media	ET	N	Media	ET	N
V 1	2,48	3,74	12	0,27	1,05	60	0	0	12	8,89	7,43	12
V 2	0,82	1,94	12	1,26	2,81	60	4,07	5,43	12	12,61	10,50	12
V 3	1,08	2,58	24	2,44	4,30	120	3,89	5,04	24	17,36	11,92	24
V 4	3,59	4,63	12	4,28	6,65	60	6,74	7,25	12	16,74	8,38	12
V 5	9,60	7,64	12	8,14	7,47	54	4,98	5,09	12	11,24	9,19	12
V 6	11,61	10,29	18	15,58	10,25	90	8,82	7,15	18	28,90	23,73	18
V 7	15,51	12,47	42	21,03	16,53	240	9,42	6,26	48	35,60	30,65	48
V 8	15,64	10,39	78	25,81	18,42	360	15,21	17,03	72	46,51	34,82	72
V 9	28,05	13,45	12	31,53	21,14	60	16,46	7,46	12	41,75	36,80	12
V 10	18,30	12,18	36	36,11	28,26	186	23,13	24,66	36	62,13	33,85	36
V 11	26,31	18,87	48	44,18	30,79	240	33,72	33,18	48	82,57	22,19	48
V 12	38,08	18,01	42	57,13	32,18	210	47,79	37,18	42	77,39	26,57	42
V 13	19,14	20,42	12	86,65	14,79	60	77,86	28,37	12	90,00	0	12



Gráfica 6.—Interacción tratamiento de desinfección con grupos de variedades.

los que presentan menor porcentaje de enfermedad, existiendo diferencias significativas entre ambos. Para el grupo varietal 3, son los

períodos 2 y 3 (noviembre 1984 a mayo 1985) los que exhiben un mayor porcentaje de plantas atacadas. En el grupo 4, la menor tasa de



Gráfica 7.—Interacción variedad periodo de valoración de la enfermedad.

enfermedad se produce en los tres primeros periodos de tiempo. Si se revisan los grupos 8, 10, 11 y 12, son los periodos 1 (octubre 84) y 3 (mayo 85) los que, sin apreciarse diferencias entre ellos, aparecen con menor cantidad de enfermedad. Por último, para el grupo 13 se manifiesta la máxima ausencia del patógeno durante octubre de 1981, y para el resto del tiempo presenta los máximos niveles de daños. Una ordenación de los grupos varietales en cada periodo de tiempo, según la severidad de la «Fusariosis vascular», se expone en el cuadro 52.

Cuadro 52

ORDENACION DE LAS VARIEDADES SEGUN LA GRAVEDAD DE LA «FUSARIOSIS VASCULAR» (DE MENOR A MAYOR) EN CADA PERIODO DE TIEMPO.

Octubre 1984	Noviembre 1984 a Abril 1985	Mayo 1985	Julio 1985
V 2	V 1	V 1	V 1
V 3	V 2	V 3	V 5
V 1	V 3	V 2	V 2
V 4	V 4	V 5	V 4
V 5	V 5	V 4	V 3
V 6	V 6	V 6	V 6
V 7	V 7	V 7	V 7
V 8	V 8	V 8	V 9
V 10	V 9	V 9	V 8
V 13	V 10	V 10	V 10
V 11	V 11	V 11	V 12
V 9	V 12	V 12	V 11
V 12	V 13	V 13	V 13

4.3. *Discusión y conclusiones*

El estudio realizado para valorar la resistencia de 59 variedades monoflor «tipo mediterráneo» y el cultivar «tipo mini», ha puesto en evidencia varios hechos de interés, cuyo comentario parece pertinente.

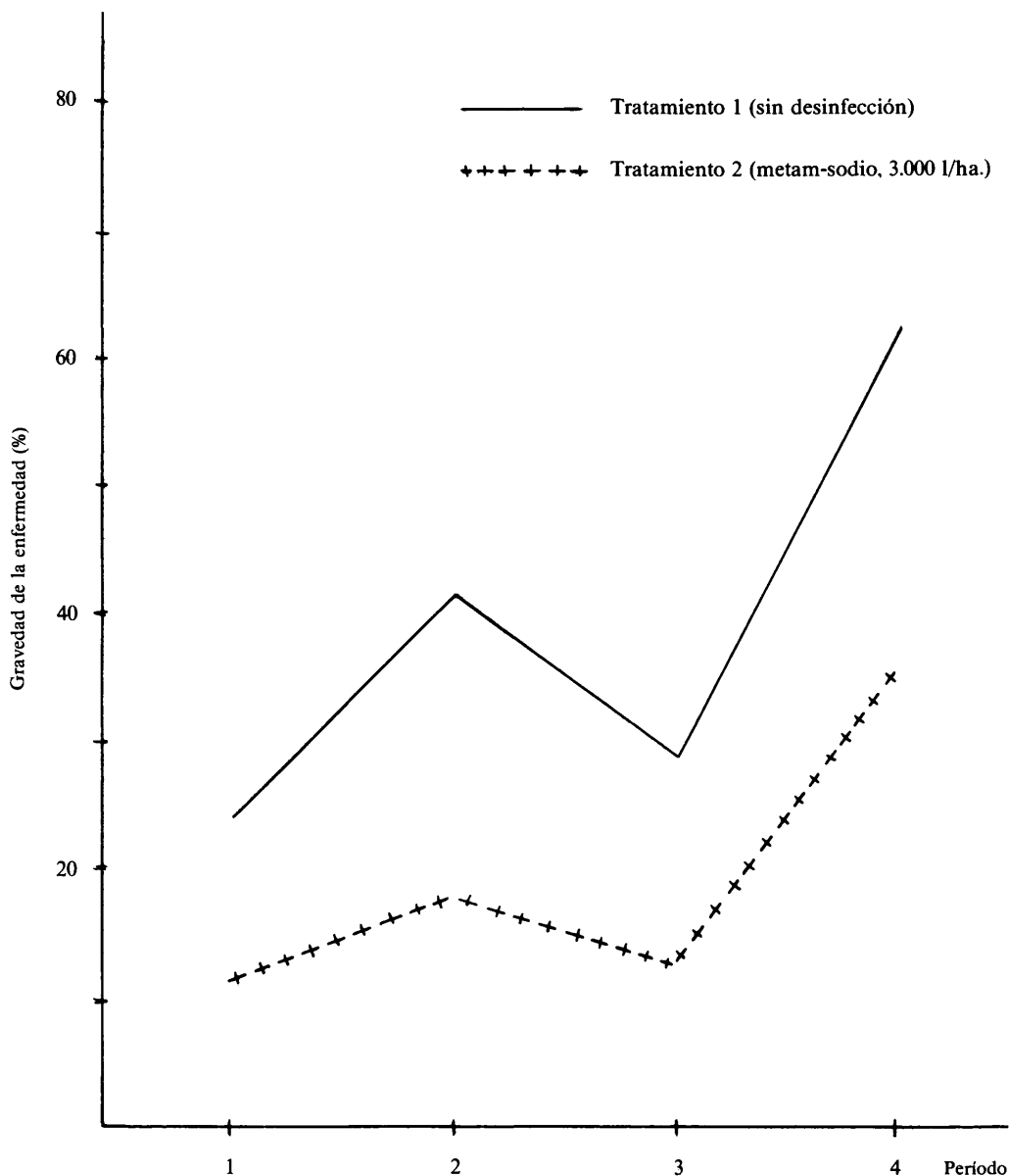
A. De un lado, una vez más, la contaminación ambiental ha sido medida, comprobando que sin la intervención del riego, los *Fusarium* están suspendidos en el aire del interior del invernadero, acrecentando su presencia en las «trampas» cuando el agua, proyectada por los microaspersores suspendidos a 2 m. sobre el suelo, ejerce un papel lavador.

También en menor medida que en otras ocasiones en la misma explotación (cuadro 31), lo están en el ambiente exterior del invernadero. Y la, notoriamente, menor proporción de *Fusarium* atrapados en la tecumbre del invernadero sobre las «trampas» colocadas no debe responder a la realidad que se pretendía medir, pues el análisis del polvo recolectado en 4 m² de plástico del techo mostraba no desdeñables concentraciones del hongo, donde, como ocurrió en otra explotación de las Islas Canarias, está ausente *F. oxysporum*, pero junto a *F. solani* y *F. roseum* aparece en proporción bien elevada *F. moniliforme*, sin poder explicar su abundante presencia en un medio tan, supuestamente, inhóspito para una especie carente de clamidosporas, órganos a quienes se les atribuye el papel de conservadores en el tiempo (cuadro 40).

B. El papel del desinfectante, a lo largo de todo el periodo de observación, tiene perfiles cuyo comentario no puede estar ausente:

La eficacia medida a los 20 días de aplicación es cierta, pero errática (cuadro 38). La densidad de inóculo contabilizada tiene notables diferencias entre un punto y otro, a pesar de la cuidadosa aplicación de metam-sodio realizada. Este hecho tiene un interés cierto cuando se pretende medir la resistencia de diferentes cultivares a *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. TRAMIER *et al.* (1983b) exhiben cómo según el lugar del invernadero donde se sitúan las variedades para valorar su resistencia, los resultados pueden diferir enormemente, en función de la densidad de inóculo variable en el suelo; obteniendo para el cv. Ember diferencias de hasta el 90 por 100 para la gravedad de la enfermedad. Aunque estos autores no muestran densidades de inóculo en el suelo, en el caso del invernadero de ensayo murciano es bien evidente su papel.

Debido a la distribución en bloques al azar de las 60 variedades estudiadas, como se indicó más atrás, el invernadero no se muestreó a lo largo de los meses de experiencia en puntos fijos, sino que las muestras se recogieron en superficies más amplias, seleccionadas al azar. Los resultados obtenidos (cuadro 39) parecen confirmar la corrección del muestreo, dado que la densidad de inóculo sigue

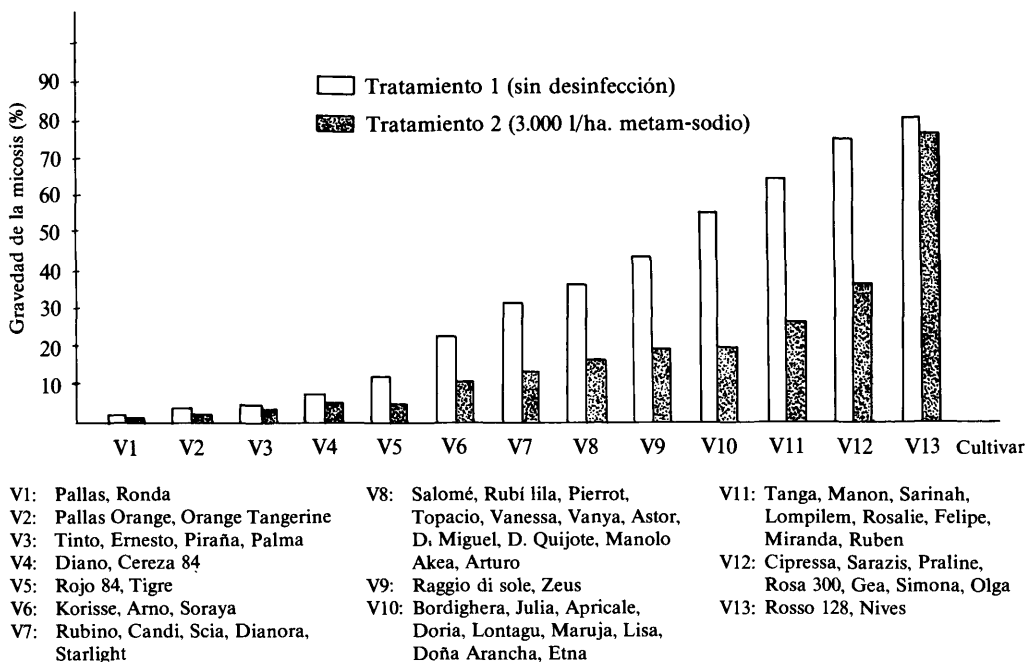


Gráfica 8.—Interacción período de observación y tratamiento al suelo antes de plantar.

evoluciones paralelas, en el tiempo, tanto en la mitad desinfectada como en su colindante sin tratar. Y, además, estas modificaciones se corresponden con la evolución de la «Fusariosis vascular» en las plantas, que de manera general presenta un mínimo en el mes de

mayo (gráfica 7, cuadro 51) de igual manera que le ocurre a la densidad de *F. oxysporum* en el suelo (gráfica 4, cuadro 39).

La eficacia de la desinfección practicada es significativamente diferente y proporciona una media en la reducción de la «Traqueo-



Gráfica 9.—Interacción tratamiento-variedad.

micosis» del 21,71 por 100, pasando las plantas enfermas del 48,28 por 100, en la zona sin metam-sodio, al 18,57 por 100, en la mitad tratada. Sin embargo, esta disminución no es uniforme para las variedades ensayadas (cuadro 50), interesando resaltar que no afecta a dos grupos de cultivares, de un lado los denominados V1, V2, V3 y V4 (Pallas, Ronda, Orange Tangerine, etc.) que son los menos atacados, y, del otro, al grupo V13 (Nives y Rosso 128), conformado por las más sensibles, en el cual no es posible encontrar diferencias significativas entre la zona tratada y la no tratada. Es evidente que la desinfección cumple un papel, desigual según variedades, procurando una eficacia en la disminución de la severidad de la «Fusariosis vascular» comparable al descrito por TRAMIER (1986), que a pesar de su significación estadística tiene un valor testimonial para conseguir un rendimiento económico tolerable en la explotación.

C.—El comportamiento en el tiempo de la «Fusariosis vascular» tiene un comentario obligado por su singularidad:

TRAMIER *et al.* (1983a) y TRAMIER (1986) han descrito cómo en sus condiciones de trabajo las temperaturas invernales, alrededor de 15° C, bloquean el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* en el interior del xilema del clavel, mientras que la planta continúa desarrollándose. A partir de aquí, los autores proponen como aplicación la siguiente base para la certificación de esquejes exentos de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*: los retallos recogidos de «pies-madres», sin síntomas de enfermedad, desde enero hasta mayo estarían libres del patógeno. Esto que presupone una parada de la «Fusariosis vascular», obviamente no ha ocurrido en las condiciones de Aguilas (Murcia), donde se desarrolló el ensayo. La intensidad de la «Traqueomicosis» aumenta hasta abril, lo que implica una continuada actividad de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* desde el momento del trasplante (julio) hasta abril del año siguiente (cuadro 51, cuadro 52 y gráfica 7). Podría asumirse el aserto de los mencionados autores para el mes de mayo solamente, puesto que en ese tiempo el inóculo en el suelo está

en su mínimo valor, las plantas tuvieron una exuberante brotación y la micosis una mínima valoración, como si el número de plantas atacadas hubiese disminuido con respecto al mes anterior, lo cual no es posible desde el punto de vista contable. Lo ocurrido fue que la notabilísima brotación iniciada en abril (ya en ese mes hay un defecto contable, ver cuadro 43) diluyó los síntomas en mayo, los enmascaró y el conteo reveló una cantidad menor de plantas enfermas. Pero asimilar la afirmación de TRAMIER *et al.* (1983a) no es posible, en tanto en cuanto la disminución de la «Traqueofusariosis» no ocurre para todas las variedades, y así, en los grupos V2 (Pallas Orange, Orange Tangerine), V3 (Tinto, Ernesto, Piraña, Palma) y V4 (Diano, Cereza 84) continúa incrementándose el número de plantas enfermas, indicando que hay una actividad de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, posiblemente menor —ello podría permitir la emisión de brotes sin síntomas—, pero no total con respecto a los períodos de tiempo anteriores y posteriores. Pero, además, dudosamente sería admisible la hipótesis del decremento térmico en el mes de mayo. Asumirla hubiese sido plausible en enero y febrero, cuando, por otra parte, la densidad de *F. oxysporum* comienza a disminuir (cuadro 39).

Ciertamente, la cantidad del inóculo en el suelo juega un papel en la progresión de la enfermedad, pudiendo aceptar que su disminución —por razones que se escapan a este trabajo— explicaría el «retroceso» de aquella durante el mes de mayo. Sin embargo, podría argumentarse que en enero y febrero también la densidad de *F. oxysporum* disminuye en el suelo y la «Fusariosis vascular» no lo hace. Habría, tal vez, que introducir la influencia de otros factores ambientales, como la intensidad y calidad luminosas para apoyar la observación, que probablemente estarían actuando sobre la población de plantas, en el sentido de aumentar su sensibilidad al patógeno. En efecto, TRAMIER *et al.* (1983b), estudiando la influencia de la iluminación sobre la resistencia del cultivar Pallas, encuentra que la baja intensidad luminosa —y no la duración del fotoperíodo— aumenta la gravedad de los ataques hasta alcanzar al 80

por 100 de las plantas, cuando en condiciones normales no se rebasa el 10 por 100.

D.—La resistencia varietal se discute para intentar dar respuesta a las preguntas, ¿qué significan las agrupaciones de cultivares obtenidas según la gravedad de la «Fusariosis vascular»? y ¿cuál es la posible proyección de los resultados sobre la práctica del cultivo del clavel en las diferentes latitudes españolas?

TRAMIER (1986) clasificaba las variedades frente a la «raza 2», la más común, según una escala de resistencia a *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*. En ella, la variedad Etna (clavel «mini») se agrupaba según una tasa de enfermedad entre el 5 y 15 por 100 de plantas afectadas, para un suelo «fuertemente infectado» (4-5.000 propágulos/g. suelo seco) y reconocía que la «clasificación arbitraria» podía ser alterada en función de la cantidad de inóculo y de los patotipos. En el caso del ensayo realizado, el cuadro 51 y la gráfica 9 ilustran cómo dicha variedad alcanza tasas de enfermedad del orden del 62,13 por 100 (grupo V10), y que ese porcentaje está en función de la densidad de *F. oxysporum*, ya que cuando se ha desinfectado el suelo dicha magnitud no llega al 20 por 100. Esta sencilla y simplificada comparación sirve de ajuste para dar una respuesta a la segunda pregunta formulada. Respuesta sólo parcial, pues anteriormente se ha especulado con la influencia de la intensidad luminosa sobre la gravedad de la enfermedad, y, posiblemente, otros aspectos no medidos hasta ahora pueden estar modificando esa resistencia. Resistencia que, tal y como se ha presentado, hasta ahora parece cuantitativa u horizontal en el sentido de VAN DER PLANK (1984). Si esto es así, ¿qué significan los *patotipos* anteriormente mencionados?: una aclaración terminológica previa parece pertinente.

Si se acepta que un *patotipo* está constituido, simplemente, por una población de una especie parasitaria en la que todos sus componentes tienen un mismo poder patógeno, nada se presupone sobre que ese patotipo sea vertical (virulencia, *sensu* VAN DER PLANK) y horizontal (agresividad *sensu* VAN DER PLANK). Es decir, si el poder patógeno (virulencia + agresividad) varía de todo a

nada, se tendría un patotipo vertical (o específico) y si varía según grados de enfermedad se estaría frente a un patotipo horizontal (o general). Es oportuno recordar, por el uso alternativo que en la literatura hacen los autores de raza y patotipo, que raza fisiológica es un término, para ROBINSON (1976), obsoleto, sustituyéndolo por patotipo vertical. Con estos presupuestos es conveniente un análisis sobre la existencia en la bibliografía consultada de ocho patotipos de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* (GARIBALDI, 1983; GARIBALDI y GULLINO, 1988), enfocando su significado desde el punto de vista de la genética del hospedador y del patógeno.

Recientemente, BAAYEN *et al.* (1988), estudiando la interacción entre variedades de clavel y cuatro patotipos de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, obtienen unos interesantes resultados que pueden aportar luz sobre el tema que nos ocupa. Inoculan tanto por las raíces como directamente al xilema caulinar de las variedades Early Sam (susceptible a la raza 2) y Novada (resistente a la raza 2) los patotipos 1, 2, 4 y 8 de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, obteniendo la siguiente respuesta:

Patotipo	Variedad	Novada (resistente a patotipo 2)	Early Sam (sensible a patotipo 2)
1		—	+ (2)
2		—	+ (1)
4		—	+ (1)
8		—	+ (2)

—: ausencia de enfermedad. +: desarrollo de la micosis.

(1) Síntomas típicos de «Fusariosis vascular», aunque menos acusados con el patotipo 4.

(2) Síntomas atípicos y desarrollo diferente de la micosis: Se presenta una ligera necrosis foliar. No existe degradación del xilema. Depósitos de «lignina» y otras reacciones de defensa, después de la invasión fúngica son apreciables, aunque no son efectivas frente al patógeno. Los síntomas pueden ser debidos a la acumulación de ciertos metabolitos fúngicos producidos en el xilema.

Esta experiencia, que demuestra dos formas distintas de producirse la «Traqueofusariosis» cuando se inoculan cuatro patotipos de GARIBALDI (1983), enseña, también, que sobre la variedad Novada se produce, frente a la infección, una reacción de hipersensibilidad típica, aislando los propágulos fúngicos de análoga manera que cuando sobre

ambas variedades de clavel, sensible y resistente, se inocula *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* patógeno no compatible con el clavel. En base al distinto comportamiento sobre el cultivar Early Sam, el patotipo 1, concluyen los autores, tiene una virulencia distinta a los patotipos 2 y 4, hecho al cual se aproximaron MATTHEWS (1979), GARIBALDI (1981) y DEMMINK *et al.* (1987), coincidiendo todos en que esa resistencia puede ser monogénica. Por el contrario, los patotipos 2 y 4 muestran una gradación cuantitativa en su ataque, que mostraría la existencia de una resistencia poligénica y parcial, inherente a la variedad de clavel e independiente de la interacción con el patógeno, es decir, horizontal en el sentido de VAN DER PLANK (1984). Pero si el patotipo 1 tiene una virulencia distinta a los patotipos 2 y 4, también es posible, según esta experiencia, que la especificidad en los patotipos de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* esté ligada a genes que codifican caracteres fisiológicos distintos: la diferente sintomatología sobre la misma variedad abonaría este aspecto. Esto no es raro en *F. oxysporum*, y, por tomar un ejemplo, en *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, el gen 1-2 codificaría los síntomas de «Wilt» (marchitamiento brusco, ausencia de necrosis vascular) y «yellow» (amarilleamiento foliar y necrosis xilemática) (MESSIAEN, 1981).

El trabajo comentado evidencia la dificultad que entraña la determinación de los patotipos en *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, comenzando por el desconocimiento sobre el sistema genético que los determina. En él puede, además, rastrearse una explicación a tanto resultado diferente sobre la resistencia varietal.

Una detenida lectura de los artículos de GARIBALDI (1981, 1983) y GARIBALDI *et al.* (1986) sobre la definición de los ocho prototipos de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, evidencia que su clasificación —arbitraria en su numeración, como mínimo— encierra una componente fundamental como medidora de agresividades, más que como separadora de patotipos verticales (razas fisiológicas, en su acepción obsoleta). Su propuesta encierra no pocos aspectos que hacen inviable su reproducción experimental (modificación de las clases de resistencia/susceptibilidad, imposibilidad de reproducir las condiciones am-

bientales, falta de precisión sobre el tiempo de valoración, ausencia en la descripción del sustrato utilizado, carencia sobre el devenir del inóculo patógeno, etc.). Esta imposible repetición puede explicar cómo el mismo autor, de un experimento a otro, agrupa la variedad Pallas como resistente al patotipo 8, o más tarde como medianamente sensible. O, como BONTEMPS *et al.* (1984) obtienen para el cultivar Duca una magnitud de enfermedad del 21 por 100, mientras que GARIBALDI (1986) la considera resistente a todos los patotipos (menos del 10 por 100 de plantas atacadas).

Esta larga discusión tiene, entre sus consecuencias, la de explicar la razón de no haber emprendido, en este trabajo, la determinación de patotipos en *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* como se ha hecho para *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y tomate. Pero otras razones justifican su extensión, entre las fundamentales,

la de incidir sobre el poco valor que el ensayo varietal presentado tiene para trasladar sus resultados a otras regiones que no sean el Sureste peninsular. Y en esta relatividad está su fuerza y su debilidad al evitar cualquier pragmática aplicación, y obligar a una vigilancia de las mismas variedades en otras latitudes, en espera de unos resultados deseablemente mejores, aunque, tal vez, puedan ser peores que los aquí presentados. En cualquier caso, necesarios. Tal vez una extensión lógica de este convencimiento se encuentre en la elevada resistencia mostrada por los grupos varietales V1, V2, V3 y V4 (Ronda, Pallas, Pallas Orange, Orange Tangerine, Tinto, Ernesto, Piraña, Palma, Diano y Cereza 84) en el invernadero murciano, que no está lejos de la encontrada por TRAMIER (1986), TRAMIER *et al.* (1983b) y GARIBALDI (1988) para las variedades Pallas y Diano, en latitudes bien diferentes a las de esta experiencia.

Parte II

**La «Fusariosis vascular» del tomate
(*Lycopersicum esculentum*).
Aproximación a su epidemiología y control**

INTRODUCCION: EL TOMATE

El tomate cultivado pertenece a la especie *Lycopersicon esculentum* MILL, compartiendo el género con una serie de importantes especies, habitantes de la región Andina, como *L. peruvianum*, *L. hirsutum* y *L. pimpinellifolium*, fuentes genéticas muy utilizadas para la obtención de nuevas variedades. *L. esculentum*, de gruesos frutos, parece ser una domesticación mejicana, cuya llegada a Europa después del descubrimiento de América sólo sirvió para admirar una novedad botánica, ya que su consumo fue despreciado durante mucho tiempo (RICK, 1978). Sin embargo, su privilegiada posición entre los consumidores no está estrictamente subrayada por sus gruesos frutos: *L. esculentum* var. *cerasiforme*, en estado salvaje en Ecuador y Perú, se ha extendido como cultivo por los trópicos y ha orientado el gusto de sus consumidores. A decir de MESSIAEN (1981), de ahí procedería la inclinación de los africanos por el sabor amargo de las salsas.

El tomate, con la *Drosophila* o el maíz, ha constituido uno de los soportes favoritos de la genética teórica. No debe, por lo tanto, sorprender la proporción «anormalmente elevada» de buenos genes de resistencia a enfermedades (I, I-2, Sm, Ve, Tm 1, Mi, etc.) descritos. La carta genética de sus doce cromosomas es muy completa, y algunos de sus genes de resistencia se distribuyen de la siguiente manera: en el cromosoma 1 se sitúa el gen C4 de resistencia a *Fulvia fulva* (ex *Cladosporium fulvum*); en el número 5, el Tm-1 de resistencia al Virus del Mosaico del Tabaco (ToMV); en el número 6, los de resistencia a *Meloidogyne* (Mi) y a la raza 2 (C2) de *Fulvia fulva*; en el noveno, el gen Tm-2 de resistencia al Virus del Mosaico del Tabaco (ToMV);

en el cromosoma 11, los genes de resistencia a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (I, I-2) y a *Stemphyllium solani* (Sm). Y para finalizar este breve inventario, el cromosoma 12 parece albergar el gen de resistencia a *Verticillium dahliae* (MESSIAEN, 1981).

Este muestrario de genes de resistencia ha sido extraído de un cierto número de especies salvajes, más o menos próximas, como *L. esculentum* var. *cerasiforme*, *L. pimpinellifolium* y *L. peruvianum*, por citar las de mayor variabilidad genética (RICK, 1978). En este sentido, dentro del subgénero *Eulycopersicum*, *L. pimpinellifolium* ha proporcionado genes como el Sw de resistencia al «Spotted Wilt», transmitido por *Thrips tabaci*, o el Sm de resistencia a *Stemphyllium solani*. Del subgénero *Eriopersicum*, la especie *L. hirsutum* ha provisto de resistencias a *Didymella lycopersici* (*Phoma lycopersici*) y a *Pyrenochaeta lycopersici*; *L. peruvianum* ha exteriorizado resistencias a un virus tipo «Leaf curl», transmitido por *Bemisia tabaci*; en fin, *L. chesmanii*, originaria de las islas Galápagos, tiene ecotipos que pueden crecer cuando se riegan con el agua del mar. Esta variabilidad, no agotada, se prolonga hasta el género *Solanum*, de manera que *Solanum pennelli*, tan próxima al *Lycopersicon* que ha inaugurado una sección denominada *Neolycopersicon*, de fácil hibridación con el tomate, aumenta el caudal genético disponible para modificarlo. Este breve recorrido sobre el genoma de *Lycopersicon esculentum* expresa una amplia realidad en lo tocante a las posibilidades de mejora genética frente a las enfermedades que azotan en todo el mundo al cultivo. Realidad que atañe, igualmente, a la versatilidad varietal, como se comenta seguidamente.

La planta de tomate con semillas pequeñas y peludas (300 semillas/g.) es de germina-

ción epigea. Después de haber desplegado dos cotiledones ovales, la joven planta produce de 7 a 14 hojas compuestas, con mayor número de folíolas, conforme van apareciendo, hasta la emisión del primer ramillete floral, provisto de 4 a 12 flores. Según las variedades, el crecimiento puede ser determinado o indeterminado. En el primer caso, después de producir el primero o segundo ramillete de flores (con 1 ó 2 hojas entre inflorescencias), el tallo deja de crecer por la aparición de una inflorescencia terminal (gen recesivo *sp.*). El tallo del tomate es, de su natural, rastrero si no se le sostiene mediante un tutor. Tallos, hojas y frutos jóvenes están recubiertos por pelos, unos simples y otros glandulosos, coronados por cuatro células, que contienen un aceite esencial notorio por el olor característico de la planta y por el color verde que confiere a las manos de quien la manipula. La flor de corola amarilla rodea el ovario, terminado por un estilo enfundado, en su práctica totalidad, por los estambres. Estambres que se abren por surcos interiores —diferencia esencial con el género *Solanum*—, fecundando automáticamente el estilo. Es, pues, el tomante considerado como planta autógena; sin embargo, en las regiones tropicales hay en todas las variedades una tendencia al alargamiento del estilo, facilitando una cierta fecundación cruzada (10-15 por 100) por la visita de algunos himenópteros (*Exomalopsis* spp. en las Antillas), desconocidos en las regiones templadas (MESSIAEN, 1975). Los frutos variables en forma y color, según las variedades, pueden ser aplastados o redondeados (lisos o acostillados), alargados y piriformes. Su sección transversal muestra una disposición bilocular (el primitivo tipo de las Solanáceas) o plurilocular, como más comunes. Es característico que una misma planta pueda producir frutos de dos tipos, bi y pluriloculares, por ejemplo, según sea su posición en el ramillete; todavía más, en algunas variedades el fruto producido por la primera flor de la inflorescencia tiene más lóculos que los otros (MESSIAEN, 1975, 1981).

Estos caracteres descritos y otros omitidos, los más, se han asociados en diferentes combinaciones, dando lugar a múltiples cultiva-

res, una de cuyas agrupaciones posibles se exponen a continuación:

— *Variedades precoces con frutos planos y acostillados*: Son las de tipo Marmande, muy tempranas en clima mediterráneo y con una gran aptitud a la fecundación en tiempo frío. Son de porte indeterminado.

— *Variedades tardías de frutos gruesos*: Sobre plantas robustas, con gruesos tallos, estos cultivares, quince o veinte días más tardíos que los anteriores, producen frutos globosos (esféricos o ligeramente aplastados) de 120 a 200 g. Porte, generalmente indeterminado, salvo en algunas variedades más modernas. Entre muchas, son conocidas a los que trabajan la Patología Vegetal, Marglobe, Rutgers, St. Pierre, Pelican, Walter (determinada), Manalucie, Floradel, etc.

— *Variedades del tipo anglo holándes*: Productoras de frutos de 60-80 g. bi o triloculares en ramilletes muy densos, sobre plantas indeterminadas de alta talla. Apropriadadas para días de luminosidad no muy intensa. Su prototipo lo da el cultivar Money maker.

— *Variedades industriales*: Según la forma de los frutos, dos grupos han sido descritos.

Los cultivares de fruto alargado son de origen italiano, siendo tanto de porte indeterminado, las más tradicionales, como San Marzano, y otras más recientes lo son de porte determinado, tal que Roma. Los frutos biloculares contienen pocas semillas, de sabor muy dulce y ricos en materia seca.

Las variedades de frutos redondos, más modernos que las anteriores, presentan nuevas combinaciones de caracteres: porte determinado, frutos redondos de tamaño mediano o grande, y algunas de ellas muy aptas para la recolección mecánica. La mayoría se denominan con el nombre de la empresa conservera obtentora: Heinz, Campbell, etc.

El trabajo que se expone a continuación se ha realizado con variedades de los tres primeros tipos expuestos, si se exceptúan las infecciones artificiales, en las cuales la var. Roma ha sido profusamente empleada. Desde el comienzo de la primegenia prospección fitopatológica realizada (TELLO y GARCÍA MORATO, 1977) en el Levante peninsular, el espectro varietal se ha modificado sustancialmente. Las antiguas variedades Mucha-

miel, Flor de Baladre, Melillero, Valenciano, etc., fueron sustituidas, primero, por Early Pack, Vemone, VS3, Pyros, etc., y posteriormente los potentes híbridos, orientados unos a las condiciones de invernadero, cada vez más extendidos, y otros al cultivo al aire libre, como explican TABARES RODRÍGUEZ *et. al.* (1981), generalizaron las variedades tales como Carmelo (GC-204), GC-757), Nancy (GC213), Vergel, Turquesa, Bornia, Dombo,

Dombito, etc., con calibres y producciones satisfactorias para las necesidades planteadas. Con ellos, con los híbridos, se introdujeron las resistencias a patógenos, y en particular, desde el interés de este trabajo, a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y a *Verticillium dahliae*, que han motivado cambios en el agro-ecosistema del tomate, y más concretamente en el Pato sistema por él determinado con sus enfermedades.

CAPITULO 1

LAS MICOSIS VASCULARES EN EL SURESTE PENINSULAR DE ESPAÑA

1. Introducción

Durante el trienio 1977-1979 se estudiaron en el Levante y Sureste peninsulares algunos aspectos epidemiológicos de las Traqueomicosis del tomate. Los resultados fueron presentados en trabajos anteriores (TELLO y GARCIA MORATO, 1977; TELLO, 1984), desprendiéndose de las indagaciones realizadas, que las criptógamas vasculares eran, por lo menos, las más generalizadas en los tomates muestreados. Y es necesario precisar que la mayor extensión no significa, obligadamente, la máxima gravedad si tal término se pretende estimar en pérdidas de cosecha.

En el período de muestreo, los cultivos de *Lycopersicum esculentum* se realizaban a lo largo de las cuatro estaciones, según la siguiente secuencia, variable en función de las toponimias:

— *Cultivo en invernadero o de primor*: Principalmente realizado en Murcia y Almería, se practicaba desde septiembre a junio o julio del año siguiente. Su meta fundamental, la obtención de una producción temprana orientada a la exportación a otros países europeos. Las variedades cultivadas en la época de la prospección fitosanitaria eran VS-3, Vemone, Flamingo, Pyros, Early Pack, todas ellas sin resistencia genética a los agentes de las Traqueomicosis; con los genes *Ve* (resistencia a *Verticillium dahliae*) y el I (resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 0) se comenzaba a introducir la variedad Carmelo (GC-204). Posteriormente, otros

híbridos resistentes a ambas micosis (Dombo, Dombito, Nancy, etc.) han ido generalizándose con un destacable denominador común, su resistencia a las micosis vasculares.

— *Cultivo temprano o extratemprano*: Practicado desde diciembre hasta julio del año siguiente en la provincia de Valencia, surtía los mercados nacionales con los atractivos frutos de la variedad Marmande Claudia («Cuarenteno»). Aislada y eventualmente, otros cultivares eran utilizados (Pyros, Montecarlo). En las comarcas de Cullera y Torrente se practicaba un cultivo «semiprotegido», al aire libre, por empalizadas a base de estacas de madera y paja de arroz, protección que desaparecía bien entrado el mes de marzo. Las variedades estaban desprovistas de toda resistencia específica.

— *Cultivo de verano o de plena estación*: Prácticamente desaparecido de los campos de Murcia, Alicante y Almería, debido, posiblemente, al solape de la producción en invernadero y al aire libre durante el invierno. Cuando la encuesta fitosanitaria se inició, las variedades locales, como Muchamiel, y otras de importación, tales como Pyros, Montecarlo, Flamingo y Vemone, pero todas ellas sin resistencia específica a los agentes de las Traqueomicosis, cubrían la mayor parte de la superficie. En la campaña 1978-1979 se comenzaron a ensayar algunos cultivares resistentes, tal que Carmelo (GC-204), por tomar un ejemplo.

— *Cultivo de otoño o invierno*: Típico de las comarcas tomateras de Murcia (Mazarrón y

Aguilas) y del sur de Alicante, se practicaba al aire libre aprovechando la bonanza del clima. Se trasplantaba al terreno de asiento en agosto-septiembre, prolongándose la cosecha, según el precio del mercado y las inclemencias de enero y febrero, hasta mayo, y su destino era, fundamentalmente, la exportación a otros países europeos. Patrimonio, antes de 1975, de la var. Muchamiel, cuando se encuestaron los tomates, cultivares como Vemone, Lucy y VS-3 comenzaban a desplazarla. Variedades resistentes, como Carmelo (GC-204), iniciaban su extensión, y los ensayos con nuevos híbridos era una labor profundamente desarrollada por el sector comercial obtentor. Actualmente, cultivares muy adaptados a las condiciones de cada microclima cubren toda la superficie. Todos ellos con resistencias a las Traqueomicosis, su enumeración supera el cometido de estas líneas, pero Vergel, Bornia, Dario F-150, Diego F-187 han jugado un importante papel en las variaciones de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

En el Patosistema del Levante y Sureste estaban ausentes —y todavía no se han manifestado— *Pyrenochaeta lycopersici* y *Colletotrichum coccodes*, descritos para otras zonas del país, como Canarias (RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, 1981) y el País Vasco (BERRA *et al.*, 1987). Tampoco se exteriorizó ningún miembro del género *Phytophthora* atacando a la parte hipógea de las plantas. Las micosis de evolución aérea estuvieron representadas por *Leveillula taurica* y los tremendos ataques de *Botrytis cinerea* durante épocas muy concretas del año. La permanente presencia de *Alternaria solani* contrastó con la esporádica y masiva acción del *Phytophthora infestans*, en algunas zonas concretas del litoral durante uno de los años del total de diez que duró la observación. La exteriorización de *Phoma lycopersici* (*Dydimella lycopersici*) ocurrió durante los primeros años de la encuesta fitosanitaria, y tal vez su presencia fue más llamativa al eliminar, por las resistencias introducidas, la manifestación de las Traqueomicosis, iniciándose así una transformación del Patosistema, que todavía no ha terminado, y que continuó muy precozmente con la posible introducción y exteriorización de bacteriosis, como las ocasionadas por *Corynebacterium*

terium michiganense y *Xanthomonas vesicatoria* (LÓPEZ *et al.*, 1985).

Este breve inventario de enfermedades, que apunta una evolución, no es ajeno a la transformación que el cultivo sufrió desde que se inició la encuesta fitosanitaria. A saber, el cultivo tradicional en Murcia y Alicante, sustentado por rotaciones más o menos amplias (3-4 años) que introducían la alternativa de cereal en secano, dejó de practicarse. La cada vez más extendida superficie de invernaderos obligaba a una utilización más rentable del suelo, exigiendo cultivos anuales de tomate. Las nuevas técnicas de cultivo (enarenados), de riego (sistemas gota a gota) y los nuevos híbridos resistentes a enfermedades, vigorosos y muy productivos, posibilitaron esta servidumbre a la rentabilidad, que imparablemente fue extendiéndose a los campos al aire libre, donde las tradicionales labores del suelo fueron reduciéndose hasta casi desaparecer.

Desde esta perspectiva, adquiere especial relieve la sostenida prospección fitopatológica, que arrancó de un Patosistema en el que los patodemos tenían una determinada composición genética, que desde el punto de vista del trabajo que se presenta permite subrayar la ausencia de genes de resistencia a *V. dahliae* y a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, lo que posibilitó una indagación continuada, durante diez años, de la evolución racial del causante de la «Fusariosis vascular».

2. Resultados de la encuesta fitosanitaria: Análisis de la infección por *V. dahliae* y *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*

La prospección dirigida a conocer la importancia de la Verticiliosis y de la Fusariosis en las provincias de Almería, Murcia y Valencia fue esporádicamente ampliada a Cádiz y Málaga. Un total de 28 campos y 24 invernaderos fueron muestreados de manera puntual, mientras que mensualmente, entre 1978 y 1979, se recogieron plantas de 9 cultivos al aire libre y 5 invernaderos situados en los términos de Cullera y Torrente (Valencia) y Mazarrón (Murcia). Las campañas 1979-1980 y 1980-1981 se dedicaron a encuestar, funda-

mentalmente, los tomates de Aguilas (Murcia). Posteriormente, se analizaron plantas de algunos términos de Alicante y de otros de Murcia, en los que se había introducido el cultivo. Los resultados globales, realizados sobre casi siete millares de plantas, exteriorizasen o no síntomas de Traqueomicosis, se recogen en el cuadro 53.

Cuadro 53

ANALISIS DE LA INFECCION EN EL XILEMA DEL TOMATE POR *F. OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI* Y *VERTICILLIUM DAHLIAE*. SE EXPRESA EN PORCENTAJE DE PLANTAS EN LAS QUE EL AISLAMIENTO FUE POSITIVO. CAMPAÑA 1978-1979.

Naturaleza del caso analizado	Total de casos (por 100)
Plantas en las que se aisló <i>F. oxysporum lycopersici</i>	14,59
Plantas en las que se aisló <i>V. dahliae</i>	12,59
Plantas en las que se aisló <i>V. dahliae</i> + F.o. f. sp. <i>lycopersici</i>	0,10
Plantas con aislamiento negativo	72,72
TOTAL PLANTAS ANALIZADAS.	6.745

Estos resultados se refieren a todos los tipos de cultivos, y se obtuvieron tanto de plantas sin resistencia a *V. dahliae* y/o *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Marmande Claudia, Marmande Gigante, Marmande Rex, Muchamiel, Valenciano, Flor de Baladre, Pyros, Montecarlo, Flamingo, Lucy, Early Pack, VS-3), como de los escasos cultivares resistentes que se empezaban a extender (Carmelo GC-204, y los híbridos experimentales X-19, 81-80 y 81-79). Y esta globalidad

de los datos se refiere solamente a la colonización del sistema vascular por uno o por los dos agentes de las Traqueomicosis. De ninguna forma pueden tomarse estos resultados como una valoración de la gravedad de Fusariosis y Verticilosis, prueba de ello son los datos analíticos expresados en función de las plantas con y sin síntomas recolectadas en el campo, que se resumen en el cuadro 54.

Las cifras presentadas en el cuadro 53 expresan unas tasas de colonización del xilema más bajas que las mostradas por PINEAU (1976) y BESRI (1977), que utilizaron una metodología comparable a la de este trabajo. Para ambos autores, el porcentaje de plantas en las que el aislamiento de uno de los hongos fue negativo oscila entre el 55 y el 60 por 100. Una primera explicación podría hallarse en el rendimiento de los métodos de análisis del material vegetal, como ya se discutió en un trabajo anterior (TELLO, 1984). La posibilidad de analizar una misma planta a lo largo de todo el tiempo de su permanencia en el campo se materializó analizando el peciolo de la hoja más próxima al suelo en una sencilla cámara húmeda. Para PINEAU (1976), esta manera de analizar no disminuye, en más de un 5 por 100, su eficacia con respecto a las técnicas tradicionales que emplean un medio agarizado. Sin embargo, en el caso de las plantas presentadas en el cuadro 53 este porcentaje puede ser de hasta 40 o más puntos, existiendo netas y amplias diferencias cuando se comparan medios agarizados con cámaras húmedas y tallos o peciolos incubados sobre estos sustratos. De forma que el mayor rendimiento se obtiene, tanto para *V. dahliae* como para *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, cuan-

Cuadro 54

ANALISIS DEL SISTEMA VASCULAR DE PLANTAS DE TOMATE CON Y SIN SINTOMAS DE TRAQUEOMICOSIS. SE EXPRESA EN POR 100 CON AISLAMIENTO POSITIVO. CAMPAÑA 1978-1979.

Naturaleza del caso	Plantas con síntomas (por 100)	Plantas sin síntomas (por 100)
Plantas en las que se aisló <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	24,35	2,87
Plantas en las que se aisló <i>V. dahliae</i>	17,56	6,59
Plantas en las que se aisló <i>V. dahliae</i> + F.o. f. sp. <i>lycopersici</i>	0,19	0,00
Plantas con aislamiento negativo	57,87	90,50

do se analiza el tallo sobre PDA (agar de papa glucosado).

El cuadro 54 llama la atención por un hecho nada desdeñable en lo tocante a la prospección realizada. Cuando se muestrea sobre síntomas, es *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* el más frecuentemente aislado, mientras que las plantas recolectadas con apariencia sana están más colonizadas por *V. dahliae*. El enfoque más nítido de la realidad debe tener en cuenta este hecho, ya que el muestreo en el campo puede favorecer más a la «Fusariosis» por ser más llamativos sus síntomas, menospreciando la amplitud de la «Verticiliosis». En cualquier caso, ambos patógenos pueden estar alojados en los xilemas de plantas asintomáticas.

3. Análisis de la infección en función del comportamiento estacional de *V. dahliae* y de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

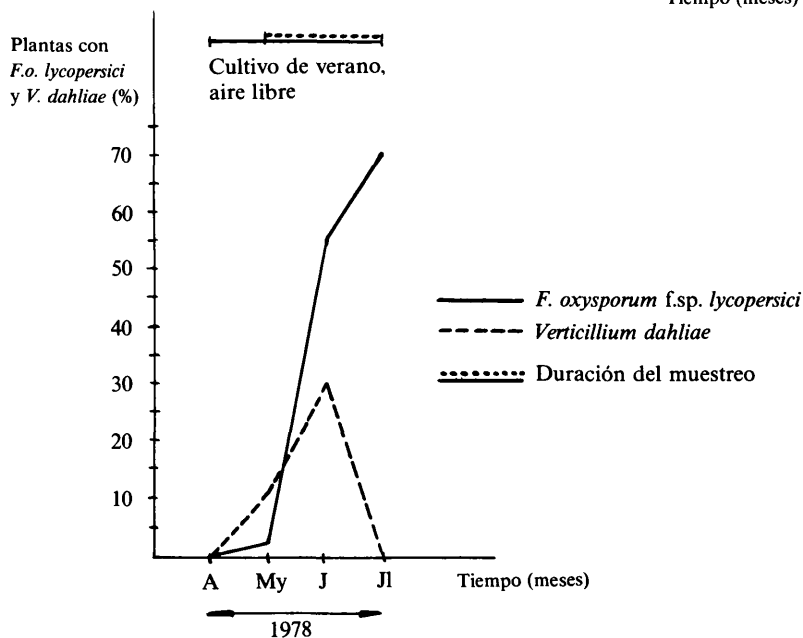
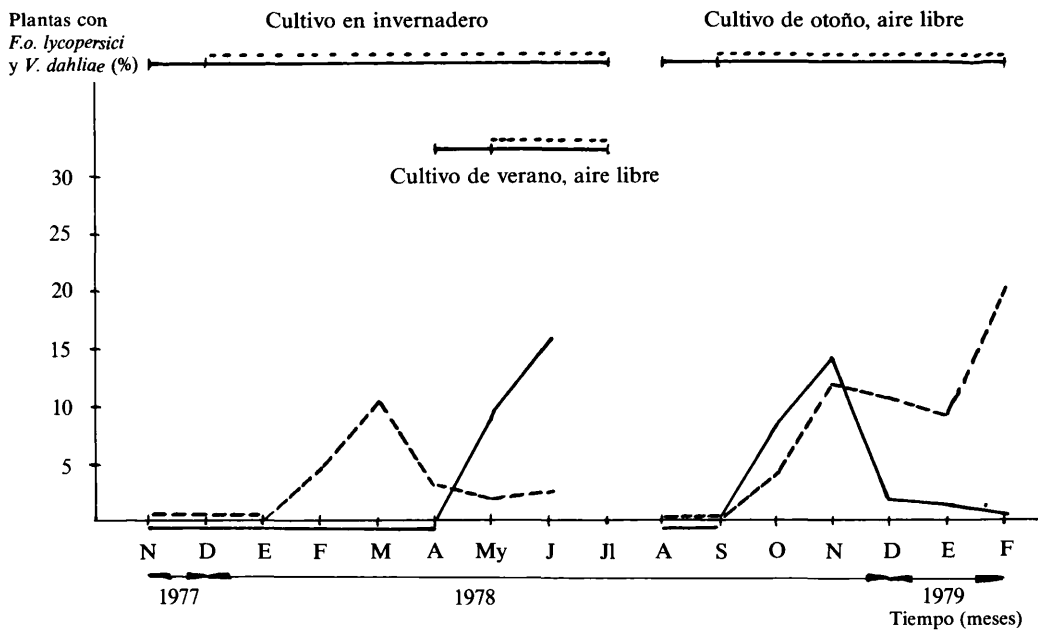
En el cuadro 53 se ha puesto de manifiesto que la infección de las plantas de tomate alcanza a más del 27 por 100 de las analizadas. El trabajo de laboratorio patentizó que los aislamientos positivos del xilema ocurren entre los días 60 y 75 después del trasplante (TELLO, 1984), y que el máximo de exteriorización de los responsables de las Traqueomicosis suele iniciarse alrededor de la primera cosecha, como expresión de que la fructificación constituye un «pozo metabólico» que favorece las micosis (MESSIAN, 1981). Pero el análisis de la infección enseña también cómo ocurre el comportamiento estacional de la Traqueofusariosis y de la Verticiliosis.

La Fusariosis vascular del tomate ha sido denominada, clásicamente, como una enfermedad de clima cálido. Su temperatura óptima de exteriorización es de 28° C (WALKER, 1971). Es CLAYTON (1923) quien demuestra que es la temperatura del suelo la que determina este comportamiento: una planta en un suelo infectado por el agente patógeno y colocada a una temperatura ambiente de 27° C, no exterioriza la enfermedad cuando los valores térmicos del suelo son de 20° C o de 34° C. Por el contrario, la Verticiliosis se ha considerado una micosis de temperaturas más suaves, y así EDGINTON y WALKER (1957) demuestran cómo el óptimo térmico, en el

suelo, para *V. dahliae* es del orden de 20 a 24° C. Estas observaciones han motivado que otros autores (MESSIAEN y LAFON, 1970) hayan considerado en las regiones mediterráneas a la Fusariosis como enfermedad estival y a la Verticiliosis como micosis invernal.

Este comportamiento en función de las temperaturas ha sido analizado en las gráficas 10, 11 y 12.

La gráfica 10 rinde cuentas de las variaciones analíticas en los tres cultivos practicados durante el muestreo en Mazarrón (Murcia). Pese a las diferencias varietales, aunque todos los cultivares analizados tenían en común la ausencia de genes de resistencia a los hongos valorados, hay dos tendencias claras en el comportamiento de los patógenos: mientras *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* se expresa desde mayo hasta diciembre con máximos desde junio a noviembre, *V. dahliae* muestra una cierta variación según sea el tipo de cultivo. Así, en invernadero su presencia empieza a exteriorizarse tres meses después del trasplante, coincidiendo su máximo con el mes de marzo que cae vertiginosamente, pero persistiendo en los análisis su presencia. Sin embargo, al aire libre, durante el denominado cultivo de verano, el máximo de presencia ocurre en junio y desaparece de los análisis durante el mes de julio, tal vez traduciendo los diferentes niveles térmicos existentes en los invernaderos (cultivos enarenados) y en la calle (suelo desnudo). En el cultivo de otoño, practicado sin protección alguna, es patente la presencia de *V. dahliae* durante todo el otoño e invierno, con una tendencia a ser máxima la colonización del xilema de las plantas comparable a la descrita para el cultivo bajo invernadero. Este comportamiento de Fusariosis y Verticiliosis se cumplimenta por igual en cada una de las parcelas e invernaderos muestreados, sin poderse apreciar desviación alguna (TELLO, 1984). Podría decirse, a partir de los datos expuestos, que tanto *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* como *V. dahliae* tienen un comportamiento con la época del año, de manera que el primero se manifiesta durante los meses más cálidos (junio a noviembre) y desaparece, prácticamente desde diciembre a mayo, en clara concordancia con las temperaturas. Por el contrario, *Verticillium dahliae*, según el



Gráfica 10.—Variación temporal de *V. dahliae* y de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* en los cultivos de tomate de Mazarrón (Murcia).

tipo cultivo, tiene máximos de exteriorización en los meses más frescos (febrero y marzo), pero opuestamente a *F. oxysporum* f.sp.

lycopersici su presencia es continua durante todo el año en los patodemos en mayor o menor proporción, pese a no haber sido po-

sible su medición durante los meses muy calurosos de agosto y septiembre, ya que aunque existían plantas en el campo (cultivo de otoño), es probable que los tratamientos de desinfección al suelo (metam-sodio) pudiesen retrasar el período de infección, impidiendo así interpretar lo ocurrido en julio en el cultivo de verano. Esta tendencia se ha venido observando durante los ocho años posteriores a la prospección aquí presentada, y a pesar de haberse generalizado los patógenos con los genes Ve e I de resistencia a ambos patógenos, y de haberse generalizado un nuevo patotipo vertical de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, en nada ha variado el marcado carácter cálido de la Fusariosis, o el máximo invernal de la Verticiliosis.

Esta interpretación no es aplicable al cultivo en otras condiciones. Es, en este sentido, paradigmático, lo ocurrido en Aguilas (Murcia), a escasos kilómetros de Mazarrón, donde durante la campaña 1981-1982, se valoró el comportamiento de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y de *V. dahliae* sobre la variedad Vemone (sin resistencia) cultivada en invernadero. La gráfica 12 resume los resultados analíticos, evidenciando una presencia máxima de *V. dahliae* durante prácticamente todo el cultivo, y una no despreciable proporción de plantas con Fusariosis vascular, que aunque muestra una neta tendencia a disminuir durante los meses más fríos, no desaparece su actividad.

Análogos resultados obtenidos para la comarca de Mazarrón se observaron en los dos puntos de Valencia muestreados. El comportamiento de ambos patógenos responde a las condiciones térmicas ambientales, las cuales propiciarían una más precoz colonización y exteriorización de Verticiliosis y Fusariosis vascular en la comarca más próxima a la costa (Cullera-El Prelló). La gráfica 11 que ilustra estas aseveraciones pone en evidencia, al mismo tiempo, que el concepto «enfermedad invernal» y «enfermedad estival» queda netamente desplazado en el calendario con respecto a las más cálidas comarcas murcianas. La tendencia en todas las parcelas muestreadas fue comparable, sin apreciar en ellas diferencias remarcables (TELLO, 1984).

Esta dependencia térmica de Verticiliosis y Fusariosis vascular fue patentizada en las

Islas Canarias, donde un único muestreo evidenció cómo *V. dahliae* se aislaba en los tomatales situados a mayor altitud sobre el nivel del mar, mientras que los muestreos casi a pie de playa sólo permitieron aislar *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (razas 0 y 1). Las altitudes intermedias dejaban exteriorizarse a ambos patógenos en las plantaciones (TELLO y PÉREZ, 1978).

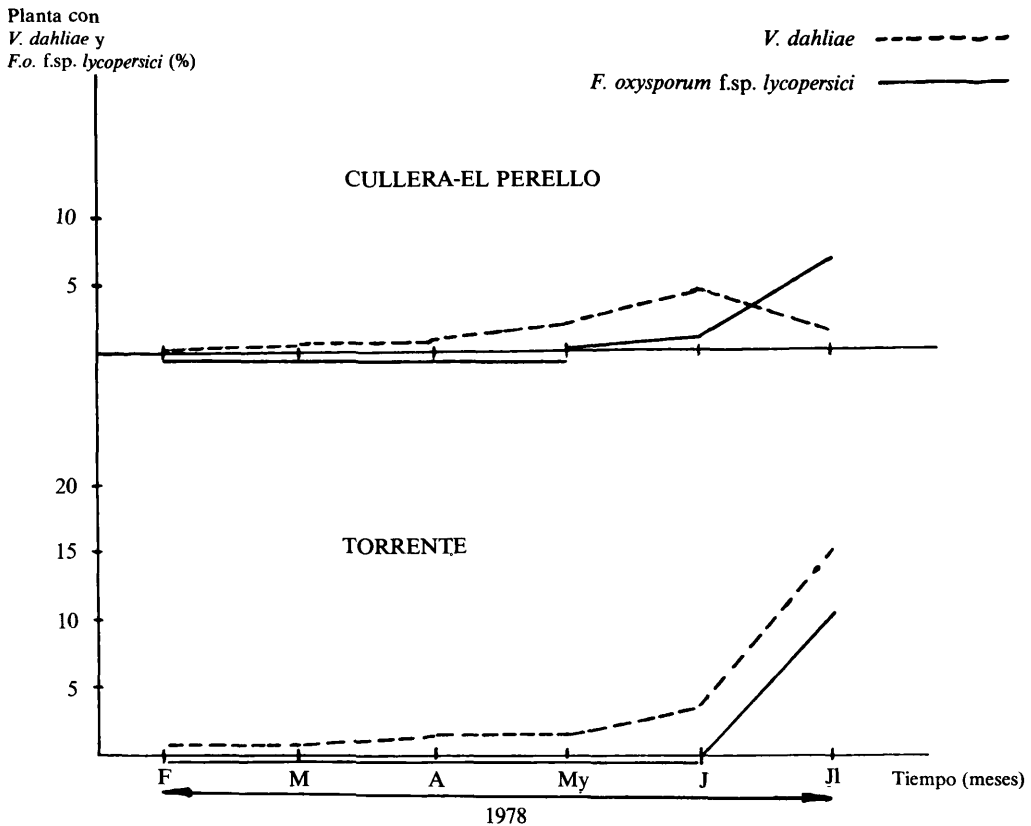
4. Análisis de la infección en función de la resistencia varietal a los micromicetos vasculares

La encuesta fitosanitaria realizada desde 1978 a 1979, ampliada posteriormente a las campañas 1980-1981 y 1981-1982, fue, esencialmente, elaborada en base a los cultivares sin resistencia a los hongos vasculares, por entonces generalizadas en todo el agroecosistema prospectado. Sin embargo, aislada y experimentalmente, ciertas variedades con genes de resistencia a *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *V. dahliae* habían sido introducidas en el Patosistema desde el año 1977. Su posterior generalización y las consecuencias desprendidas de este hecho, que serán analizadas en un capítulo posterior, no impiden exponer algunos perfiles de interés mostrados por este hecho en su fase de introducción.

El cuadro 55, que resume estas experiencias, exhibe algunos aspectos cuyo comentario parece pertinente.

La variedad Marmande RAF, cuyo cultivo no se ha encontrado después del analizado en 1977-1978, constituye, posiblemente, una excepción. Como más adelante se demuestra, los aislamientos de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* de ella obtenidos pertenecían a la raza común (raza 0) del patógeno. La enfermedad que se exteriorizó en, prácticamente, el 100 por 100 de las plantas y la pertenencia racial del patógeno, permiten dos argumentos explicativos: o bien estaba mal incorporado el gen I de resistencia, o bien no había sido introducido.

Los restantes cultivares mostraron un comportamiento normal, como después se ha comprobado, en la comarca de Mazarrón donde se originaron los datos. Por un lado,



Gráfica 11.—Variación estacional de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *V. dahliae* en plantaciones de tomate al aire libre en Torrente y Cullera-El Perelló (Valencia).

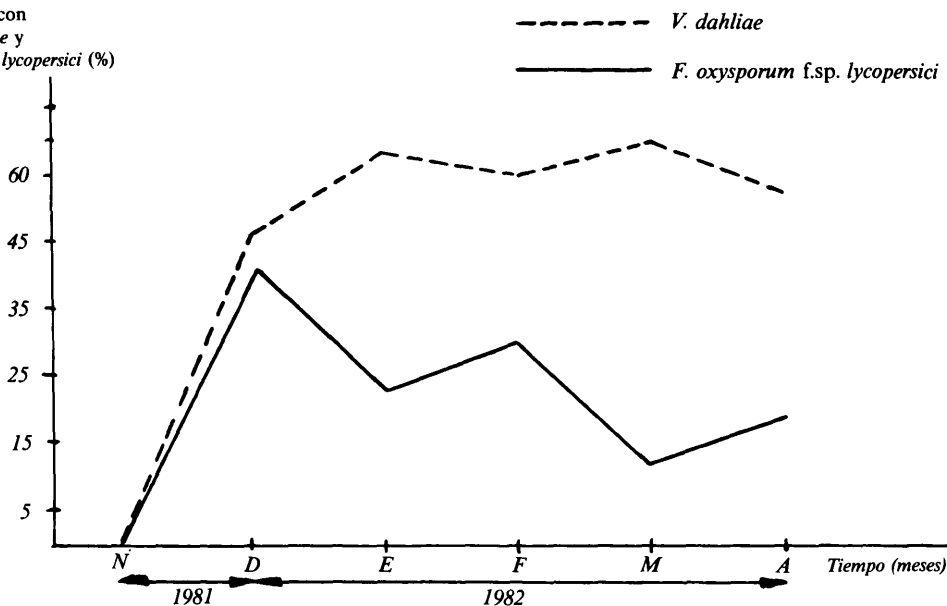
los aislamientos de ellos obtenidos pertenecían a la raza común (raza 0) de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; por otro, el porcentaje de infección y enfermedad representados en el cuadro 55 se repitieron campaña tras campaña hasta la aparición de un nuevo patotipo vertical del patógeno. Podría, tal vez, pensarse en la defectuosa obtención de los híbridos que son cada una de las variedades.

Hay, sin embargo, una necesaria descripción pormenorizada del comportamiento frente a *V. dahliae*. Comportamiento singular, no por lo expresado en el cuadro 55, que sería comparable a lo señalado por BESRI (1977) para Marruecos, sino por lo que en años sucesivos llegaría a constituir una verdadera preocupación para parte de agricultores, mejoradores y otros especialistas.

El gen *Ve* de resistencia a *V. dahliae*, escrito MESSIAEN (1981), confiere una alta resistencia, en el sentido de que ciertas variedades de tomate que lo poseen pueden ser invadidas por el hongo, pero exteriorizan síntomas muy diluidos. Y, a pesar de que se han aislado cepas de *V. dahliae* capaces de provocar síntomas sobre cultivares con la fórmula genética *Ve/Ve* y *Ve/+*, su aparición es rara y aleatoria, y el cultivo repetido de tomates con el gen de resistencia no selecciona, especialmente, cepas con una capacidad tal que induzcan la enfermedad sobre plantas homo o heterocigóticas para el gen en cuestión. Esta generalización presenta no pocas imperfecciones, y las observaciones que se presentan a continuación son buena prueba de ello:

Durante las campañas de cultivo 1980-

Plantas con
V. dahliae y
F.o. f.sp. lycopersici (%)



Gráfica 12.—Variación estacional de *F.o. f.sp. lycopersici* y *V. dahliae* en cultivos de tomate en invernadero. Aguilas (Murcia).

Cuadro 55

INFECCION DEL XILEMA DE CULTIVARES DE TOMATE RESISTENTES A *F. OXYSPORUM F.SP. LYCOPERSICI* Y/O *V. DAHLIAE* MUESTREADAS SOBRE SINTOMAS. SE EXPRESA EN TANTO POR CIENTO DE PLANTAS INFECTADAS

Denominación varietal	Genes de resistencias introducidos	Total de plantas analizadas	Plantas en las que se aisló <i>V. dahliae</i>	Plantas en las que se aisló <i>F. oxysporum f.sp. lycopersici</i>	Plantas en las que se aisló <i>V. dahliae</i> y <i>F. oxysporum f.sp. lycopersici</i>
Marmande RAF	I	213	5,16	64,79	2,35
Carmelo (GC-204)	Ve, I	472	6,99	4,45	—
81-79	Ve, I	20	—	55,00	—
81-80	Ve, I	25	—	52,00	—
X-19	Ve, I	6	—	—	—
TOTALES	—	736	5,98	24,86	0,68

1981 y 1981-1982, varios invernaderos de nueva construcción en Mazarrón (Murcia) fueron muestreados con periodicidad mensual. Los invernaderos se construyeron de la siguiente manera: parcelas cultivadas con tomate desde hacía 25 años, tal vez más, en las que la Verticiliosis no se manifestaba sobre los híbridos con el gen Ve, eran transformadas para cimentar el cierre plástico. Trans-

formación consistente en aplanar el terreno y retranquear, para nivelar, una parte del suelo superficial, rellenando aquellas zonas de la superficie con desnivel; posteriormente, se añadía abundante estiércol (50-80 km/m²) mal elaborado, y cuando se decidía se enarenaba la superficie con arena de playa lavada. El final comportaba una desinfección con metam-sodio y la plantación. En las expe-

riencias resumidas en los cuadros 56 y 57, los cultivares valorados fueron Carmelo (GC-204), Diego (F-187) y GC-213, todos ellos con resistencia a *V. dahliae*.

Cuadro 56

INFECCION POR *V. DAHLIAE* EN VARIEDADES CON EL GEN *Ve* INCORPORADO. MAZARRON (MURCIA). SE EXPRESA EN TANTO POR CIENTO DE PLANTAS CON SINTOMAS EN LAS QUE LOS AISLAMIENTOS FUERON POSITIVOS

Campaña de análisis (años)	Total plantas analizadas	Plantas con <i>V. dahliae</i>	Plantas con <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
1980-1981	309	60,19	0,45
1981-1982	1.777	31,06	—

Los resultados globales del cuadro 56 no estarían completos sin detallar cómo fue la distribución de la Verticiliosis en los invernaderos muestreados. Verticiliosis, como se indicó anteriormente, con un máximo de expresión durante el mes de marzo. Expresión sumamente llamativa y espectacular, consistente en un marchitamiento total de la planta, reversible al llegar las frescas horas de la tarde, que se acompañaba de una permanente tinción del sistema vascular. Esta sintomatología desaparecía por completo y en el mes de mayo no se exteriorizaba.

Las plantas enfermas raramente llegaban a morir por el síndrome descrito, no alcanzando las pérdidas más allá del 0,1 por 100 del total del cultivar. Este hecho, insistente durante el primer año del cultivo bajo plás-

tico, no volvía a repetirse en los años sucesivos. Una simplificación de la distribución de la Verticiliosis en cuatro invernaderos se expone en el cuadro 57.

Los datos resumidos en los cuadros 56 y 57 ponen en evidencia que en las condiciones culturales de Mazarrón (Murcia) no se comportan los cultivares con el gen *Ve* de resistencia a *V. dahliae* como describe MESSIAEN (1981). Sin embargo, la experiencia permite subrayar, cómo determinadas condiciones favorecen la exteriorización de la Verticiliosis en los tomates. Una explicación podría ser: en los suelos originales de los invernaderos se cultivaron variedades sensibles durante mucho tiempo (25-30 años), y la micosis tenía una exteriorización concreta y en cada plantación. A partir del momento en que se procede a la transformación del terreno (explanación, nivelación, adición de estiércol abundante, etc.) y se introducen los híbridos con el gen *Ve*, se produce una notable exteriorización de la enfermedad, con una gravedad máxima en aquella zona del invernadero donde se rellenaron los desniveles con la tierra superficial de la parcela. Este fenómeno, que sólo ocurre durante el primer cultivo bajo plástico, y en años sucesivos su amplitud es prácticamente nula, podría explicarse por la acumulación del inóculo conservado en el suelo en las capas más superficiales, rastrillado hacia las zonas menos planas. Pero podría argüirse que el estiércol mal hecho —prácticamente paja de cereal y otros restos vegetales parcialmente descompuestos— influiría en el fenómeno de una manera no despreciable, a juzgar por el porcentaje de plantas enfermas en el resto del invernadero. Aunque no ha sido posible detectar diferen-

Cuadro 57

DISTRIBUCION DE LA VERTICILIOSIS EN INVERNADEROS DE PRIMER AÑO DE CULTIVO EN MAZARRON (MURCIA). SE EXPRESA EN TANTO POR CIENTO DE PLANTAS CON SINTOMAS PORTADORAS DEL GEN *Ve* DE RESISTENCIA

Código de invernadero	Total plantas cultivadas	Plantas enfermas y/o muertas en la zona del invernadero rellenada con la tierra superficial	Plantas enfermas y/o muertas en el resto del invernadero
I 1	3.800	50,00	4,03
I 2	3.800	46,50	3,99
I 3	3.800	40,85	4,73
I 4	3.200	22,29	4,03

cias importantes en las densidades de inóculo de *V. dahliae* medidas en ese suelo —posiblemente por la imperfección de los medios de cultivo utilizados— la literatura apoya el razonamiento expuesto. Así, LACY y HORNER (1965, 1966) y POWELSON (1970) demuestran cómo el incremento de la densidad de inóculo en el suelo son capaces de remontar la resistencia a *V. dahliae*. Y ésta sería, posiblemente, la explicación más próxima a la realidad, ya que la hipótesis de nueva raza capaz de remontar el gen Ve, no sería válida al no observar manifestación de la micosis en años sucesivos. Esta interpretación se opone a las especulaciones de BESRI (1977) para las Traqueomicosis de los tomates marroquíes.

La situación descrita para la Verticiliosis no se ha observado para *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, posiblemente no porque la acumulación y multiplicación del inóculo en el suelo no ocurra, sino por estar frenada su expresión por la barrera interpuesta a ella por la fuerza de los genes I e I-2 de resistencia (MESSIAEN, 1981).

5. Efecto de las desinfecciones del suelo sobre la expresión de las Traqueomicosis

En las zonas de cultivo donde se realizó el muestreo, la desinfección del terreno antes de plantar es una práctica más del cultivo. Normalmente, la utilización de metam-sodio a razón de 1.000-1.500 l/ha. de producto comercial (35-45 por 100 de m.a) se justifica no sólo para combatir las enfermedades, sino, también, para eliminar malas hierbas y vigorizar los cultivos. En la actualidad, su extendida aplicación se hace a través del sistema de riego gota a gota, aunque originalmente se practicaba por un abundante riego a manta o por surcos. Más raramente, algunos agricultores empleaban nematicidas como única intervención. En aquellas comarcas donde no se plantaban variedades resistentes, la desinfección con bromuro de metilo (dosis entre 29 y 65 g/m²) tenía un cierto predicamento, a pesar del encarecimiento adicional. En cualquier caso, y pese a todas las posturas críticas, la obligada reutilización de la tierra para el monocultivo del tomate encontraba, en este proceder, una respuesta inmediata en

la producción final; de manera que la utilización de bromuro de metilo en los suelos arenosos de Cullera-El Perelló (Valencia) incrementa la cosecha en 20-25 Tm/ha. (TELLO, 1984).

El cuadro 58 resume los resultados referentes a la colonización del xilema de las variedades de tomate sin resistencia a los agentes causales de las micosis vasculares, obtenidos durante la campaña 1978-1979 en las comarcas de Mazarrón (Murcia) y Cullera-El Perelló (Valencia).

El cuadro 58 refleja sólo la tasa de infección, pero no la gravedad de las Traqueomicosis traducida en pérdidas. Infección que no tiene una respuesta uniforme como es natural, ya que los antecedentes de cada invernadero o parcela son distintos y posiblemente las diferencias en la «calidad» de la aplicación de un mismo desinfectante no sean despreciables. Sin embargo, a pesar de los elevados porcentajes de infección detallados, los desinfectantes cumplen un papel importante. Importancia subrayada por las observaciones de BESRI (1977) y PINEAU (1976), quienes en parcelas intensamente cultivadas con tomate —comparables a las presentadas en el cuadro 58— y sin tratamientos de desinfección, encuentran tasas de infección por *V. dahliae* del 100 por 100.

6. Discusión y conclusiones

Una primera cuestión, casi previa podría decirse, motiva una reflexión sobre la valoración de la gravedad de las Traqueomicosis en el sureste de España: la dificultad en la cuantificación de daños ha subyocado en los razonamientos explicitados en el texto. Se infiere, por tanto, que la prudencia será quien oriente las lecturas de muchos autores, cuando éstos se deciden a expresar en pérdidas los efectos de las micosis vasculares en los tomates. Así, SCHOROEDER (1950) describe que la Verticiliosis alcanza hasta el 50 por 100 de los tomates de la región de los grandes lagos de Estados Unidos. Sin salir del país, pero para el estado de Florida, CONOVER (1960) evoca mermas de cosecha del orden del 30 al 40 por 100. En latitudes más próximas, MATTÁ y GARIBALDI (1963) estiman los

Cuadro 58

**COLONIZACION DEL SISTEMA VASCULAR DEL TOMATE (VARIETADES SIN RESISTENCIA)
POR *F. OXYSPORUM* F.SP. *LYCOPERSICI* Y *V. DAHLIAE* EN SUELOS DESINFECTADOS
ANTES DE PLANTAR**

Código de parcela o invernadero	Desinfectante aplicado y dosis	Tiempo transcurrido entre el tratamiento y el primer aislamiento positivo (meses)	Porcentaje de plantas en las que se aisló <i>V. dahliae</i> y/o <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
P-1	—	—	13,33
P-2	Bromuro de metilo (65 g/m ²)	5	6,27
P-3	Bromuro de metilo (29 g/m ²)	4	9,49
P-4	Bromuro de metilo (65 g/m ²)	5	8,14
I-2	Metam-sodio (*)	5	3,11
I-3	Metam-sodio (*)	5	20,34
I-4	Metam-sodio (*)	6	4,92
I-5	Metam-sodio (*)	5	5,71
I-7	Metam-sodio (*)	5	27,16
I-8	Metam-sodio (*)	5	38,64
PV-1	Metam-sodio (*)	2,5	24,87
PV-3	Metam-sodio (*)	2,5	14,55
FA-1	Metam-sodio (*)	3	24,60
FA-4	Metam-sodio (*)	3	18,99
FA-2	DD (**)	4	32,43
FA-3	DD (**)	3	22,06
PV-2	—	—	46,40

(*) 1.000-1.500 l/h. de producto comercial (40-50 por 100 de m.a.).

(**) 1-3 dicloropropeno, 1-2 dicloropropano (nematicida, fundamentalmente).

daños en los invernaderos italianos en cifras próximas al 85 por 100. Un quiebro en esta tendencia la representa el trabajo de PINEAU (1976) en los tomates marroquíes, quien se plantea dudas a partir de observaciones como la siguiente: una parcela con el 98,7 por 100 de las plantas infectadas por *Verticillium dahliae* tuvo rendimientos en la recolección muy satisfactorios. Una consecuencia, bien nítida, del estudio realizado sobre la colonización del xilema de las plantas, es la de que es relativamente fácil, en el campo, tener una idea subjetiva de la importancia de la Verticiliosis y de la Fusariosis vascular, pero es muy difícil expresar de forma precisa las pérdidas habidas en la recolección, pues, obviamente, éstas no están ligadas, solamente, a la presencia de uno u otro hongo. Efectivamente, cuando las plantas mueren precozmente —caso nunca observado en las comarcas

muestreadas—, no hay dudas en las mermas de cosecha. Pero aquellas plantas que se infectan en el momento de la recolección tienen un comportamiento bien diferente, pudiendo dar una producción tan elevada como las sanas. Si la cuestión se plantea para una parcela o invernadero, como si se hace para una comarca, hay precisiones que parecen insalvables: las cifras empiezan a relativizarse cuando se carecen de datos sobre el potencial óptimo de productividad de las variedades, que se determina, normalmente, en las mejores condiciones para el desarrollo de las plantas. Pero, además, si en una parcela, en las condiciones reales, se comparan las producciones de plantas sanas y enfermas, hay una limitación evidente en las cifras que impiden el ajuste de la valoración. Baste, por ejemplo, recordar cómo una desinfección con bromuro de metilo en los cam-

pos de Cullera (Valencia) puede, independientemente de las tasas de colonización por ambos micromicetos, elevar la producción final en 20-30 Tm/ha.

Hay una segunda consecuencia de la encuesta fitosanitaria que delimita el alcance, al especificar ciertos peligros en la valoración de la prospección realizada. Cuando se efectúa el muestreo sobre plantas con síntomas de Traqueomicosis, la presencia de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* es netamente mayor que la de *V. dahliae*. Por el contrario, cuando se muestrea regularmente sobre un grupo de plantas sin reparar en su sintomatología, es mayor la proporción de *V. dahliae*. La conclusión es trascendente para el trabajo presentado: un muestreo sobre síntomas puede desequilibrar el balance a favor de la Fusariosis vascular, desenfocando la realidad. De hecho, tanto sobre cultivares sensibles como resistentes a ambos patógenos, la mortandad por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* es más contundente, mientras la Verticiliosis, a pesar de su llamativa sintomatología en ciertas condiciones, permite una recuperación total de las plantas. En este sentido, la observación coincide con la de BESRI (1977) cuando afirma que la Fusariosis vascular es más grave que la Verticiliosis. Pero en esta conclusión, queda pendiente una pregunta: ¿qué papel se debe atribuir a las plantas que colonizadas por ambos patógenos no expresan sintomatología alguna? BESRI (1977) ha mostrado cómo los aislamientos de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* son patógenos aunque se hayan obtenido de tomates sin síntomas; pero en el caso de *V. dahliae*, hay una gran heterogeneidad en la respuesta, incluyendo una elevada proporción de plantas asintomáticas. Hay, en la resolución de la cuestión, varios aspectos implicados sobre las habilidades parasitarias de los hongos: el comportamiento saprófito que puede tener en tejidos senescentes o muertos de las plantas y en el suelo (LACY, 1965, y SEWELL, 1959), incrementando la densidad de inóculo. O el efecto preinmunizante para impedir la instalación de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* como han supuesto MATTA (1966) y PINEAU (1976) después de sus experiencias. Por citar sólo algunas de las posibilidades.

La prospección realizada ha permitido es-

pecular sobre las variaciones estacionales de ambos patógenos. Es ya clásico, en las regiones mediterráneas, oponer a la Verticiliosis, enfermedad invernal, la Fusariosis vascular como micosis estival (DAVET *et al.*, 1966). La literatura abunda, para diferentes hospedadores, en que ambas micosis son diferentes y están disociadas bien sea en el tiempo, bien sea en el espacio (BERRY y THOMAS, 1961; ABDEL-RAHEEM y BIRD, 1963; BELL y PRESLEY, 1969; GARBER y PRESLEY, 1971). La delimitación geográfica, afirman MESSIAEN y LAFON (1970), de las enfermedades vasculares del tomate, resulta, ante todo, de las exigencias térmicas de ambos agentes responsables. A esto hay que oponer los estudios críticos, ambos coincidentes, realizados por PINEAU (1976) y BESRI (1977): a los dos autores les resulta difícil aplicar a sus resultados este simplificado esquema, especialmente cuando a lo largo de todo el año encuentran la muy apreciable presencia de *Verticillium dahliae*, cualquiera que fuere la estación climática en que realizan los aislamientos. En las comarcas de Valencia y Murcia muestreadas hay, sin duda, un hecho incontestable y es la presencia de *V. dahliae* y de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* en todos los cultivos, sean al aire libre o en invernadero. También es neta la máxima exteriorización de la Fusariosis y de la Verticiliosis, en el otoño la primera y en la primavera la segunda, dependiendo su desplazamiento, en el tiempo, de cada una de las comarcas y en clara concordancia con los niveles térmicos. Pero esto que es cierto, no puede ser generalizado, y así el cultivo en invernadero en Aguilas (Murcia) y el de Torrente (Valencia) se encargan de impedirlo. El solape en la exteriorización de *V. dahliae* y de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* puede estar indicando que otros factores distintos de las temperaturas pueden estar interactuando, teniendo como consecuencia que en el Patosistema no pueda abordarse el estudio de la Fusariosis por un lado y el de la Verticiliosis por otro. Tanto PINEAU (1976) como BESRI (1977) consideran que puede existir entre ambos micromicetos una interacción en las raíces del hospedador, modulada por algunos factores que van a favorecer la penetración de uno u otro en el xilema de la planta. Prueba de ello la aportaría el hecho de las

infecciones dobles en el sistema vascular de un solo hospedante.

La explicación sobre la actividad térmica de *V. dahliae* puede encontrarse abundantemente representada en la literatura, sin considerar la complicación añadida de la, para muchos, diferente especie *V. albo-atrum*. Numerosos autores convienen en atribuir a *V. dahliae* una buena actividad a 30° C (ISAAC y GRIFITH, 1962; KRIKUN y CHORIN, 1966; EDGINTON y WALKER, 1957; OVERMAN *et al.*, 1970), que sostendría su presencia estival en los tomates muestreados. Sin embargo, más difícil resulta justificar la exteriorización de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* durante el otoño y el invierno (temperaturas medias mínimas de 8-10° C y medias máximas de 18-22° C), máxima cuando no ha sido posible encontrar el efecto inversor en la manifestación atribuido a las sales sódicas por DAVET *et al.* (1966) aportadas con el agua de riego (TELLO, 1984).

La encuesta fitosanitaria ha evidenciado cómo los productores encaran ambas micosis vasculares en su conjunto, y las medidas de control practicadas para paliar sus efectos

así los subrayan: desinfecciones del suelo y variedades resistentes a ambos patógenos. Si JONES *et al.* (1966, 1972) han obtenido buenos resultados tratando con DD + metilisotiocianato y con bromuro de metilo en los tomates de Florida (EE.UU.), no puede negarse que aunque en algunos casos el nivel de infección es alto, la extendida utilización de biocidas cumple un papel, tanto por comparación con parcelas no tratadas, como tomando el contrapunto de las altas tasas de infección obtenidas por BESRI (1977) y PINEAU (1976) en los tomates de la costa atlántica de Marruecos. Esta parcial acción de los desinfectantes aplicados al suelo se patentiza, sobre todo, cuando la previsible acumulación de inóculo patógeno eleva los porcentajes de infección en los invernaderos de primer año de cultivo, construidos sobre suelos intensamente cultivados desde antiguo. Incremento de la densidad de inóculo de *V. dahliae* cuya influencia se deja sentir, llamativamente, sobre la eficacia del gen de resistencia (Ve). El comportamiento varietal frente a *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tuvo una dinámica que ha merecido una atención especial en capítulo aparte.

CAPITULO 2

FUSARIUM OXYSPORUM EN EL AMBIENTE DE LOS TOMATALES

1. Introducción

Comprobada, en los capítulos dedicados al clavel, la importancia que el aire y algunas prácticas culturales tienen en la dispersión del inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, se procedió a una medición análoga en los cultivos de tomate en el término de Mazarrón (Murcia). De igual manera, teniendo como punto de referencia las variaciones de las especies de *Fusarium* en los suelos plantados con clavel, y comprobada la relación entre la densidad de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en el suelo y la gravedad de la Fusariosis vascular, se estudiaron en los tomates murcianos las modificaciones de *F. oxysporum* en el suelo, así como los cambios del resto de la micoflora telúrica, durante varios años (1980 a 1985).

2. Presencia de diferentes especies de *Fusarium* en el ambiente aéreo de un invernadero

Desde diciembre de 1983 hasta mayo de 1985 se observó la presencia de los miembros del género *Fusarium* en el aire del interior y del exterior de un invernadero cultivado con la variedad Carmelo (GC-204). Las «trampas» compuestas por placas de Petri con medio selectivo para *Fusarium* (KOMADA, 1975), con una superficie de exposición de 2.000 cm² en cada posición y mes de muestreo, se colocaron a 2 m. sobre el suelo en el interior del invernadero y a 2,5 m. de altura fuera del

cierro de polietileno. Ocasionalmente, alturas de 15 y 30 cm. fueron ensayadas. Las «trampas» se expusieron durante 3 h. cada vez, desde las 11 a las 14 h. del día. Los resultados, expresados en número de colonistas, se han resumido en el cuadro 59.

Las posturas de trampas a cotas de 15 y 30 cm. no revelaron una mayor densidad de colonias de la aquí presentada.

Los *Fusarium* spp., sobre la totalidad de los atrapados, se distribuyeron por especies de la siguiente manera: en el exterior del invernadero: 86,61 por 100 de *F. roseum* «*gibbosum*», 1,15 por 100 de *F. roseum* «*arthrosporioides*», 2,56 por 100 de *F. solani* y 3,6 por 100 de *F. moniliforme*. Debajo del plástico, en el interior del invernadero: 70,83 por 100 de *F. roseum* «*gibbosum*», 19,44 por 100 de *F. solani* y 2,78 por 100 de *F. moniliforme*.

El cuadro 59 demuestra, una vez más, la importancia del aire como vehiculador de distintas especies de *Fusarium*. Y si la presencia de *F. oxysporum* no es muy elevada ni regular, vuelve a sorprender la alta expresión en las trampas de *F. roseum* var. *gibbosum* (*F. equiseti* típico, en las taxonomías de BOOTH, 1971 y NELSON et al., 1983).

3. Presencia de *F. oxysporum* en los suelos de los tomates

Durante dos campañas de cultivo sucesivas (1980-1981 y 1981-1982) se estudiaron, mensualmente, la micoflora total y la flora fusárica, respectivamente, en tres invernade-

Cuadro 59

COLONIAS DE *FUSARIUM* SPP. ATRAPADAS EN EL AIRE DEL AMBIENTE EXTERIOR E INTERIOR DE UN INVERNADERO DE TOMATE SITUADO EN MAZARRON (MURCIA), PARA UNA SUPERFICIE DE TRAMPA DE 2.000 cm²

Mes y año de muestreo	Exterior del invernadero		Interior del invernadero	
	<i>F. oxysporum</i>	<i>Fusarium</i> spp.	<i>F. oxysporum</i>	<i>Fusarium</i> spp.
Diciembre 1983	1	26	—	3
Enero 1984	—	23	—	1
Febrero 1984	5	183	4	22
Marzo 1984	—	6	—	—
Abril 1984	—	4	—	1
Mayo 1984	—	5	—	1
Junio 1984	5	50	—	15
Julio 1984	—	13	—	2
Octubre 1984	3	113	—	—
Noviembre 1984	—	30	—	12
Diciembre 1984	1	62	—	2
Enero 1985	5	56	—	3
Febrero 1985	—	63	—	5
Marzo 1985	—	63	—	2
Abril 1985	1	40	1	3
Mayo 1985	4	43	—	—

ros con análogos características en lo referente a antigüedad del cultivo, intensificación, técnicas culturales y variedades explotadas. Los resultados se exponen a continuación.

A) *La micoflora total*

Durante la campaña 1980-1981, tres invernaderos con cultivo enarenado de la variedad Carmelo (GC-204), resistente a *V. dahliae* y a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, que habían sido desinfectados con metam-sodio (1.500 l/ha. de producto comercial con el 40 por 100 de m.a.), fueron muestreados mensualmente mientras las plantas permanecieron. Los tres invernaderos estaban en su segundo cultivo bajo plástico, habiendo sufrido una espectacular exteriorización de la Verticiliosis durante el primer año. El cuadro 60 presenta los resultados de los análisis de uno de ellos, omitiendo los otros dos por no aportar ninguna información diferente; los resultados se expresan en densidad de inóculo (propágu-los/g. suelo) y en porcentaje relativo de cada género y/o especie fúngica. Los análisis muestran cómo los *Fusarium* son los únicos

hongos que se exteriorizan a lo largo de todo el cultivo, y especialmente las especies *F. oxysporum* y *F. solani*. En general, los micromicetos aislados en estos suelos no difieren de los hallados en el Campo de Cartagena y en Aguilas, como se presentó en el estudio sobre clavel; sin embargo, su densidad es notablemente menor, del orden de diez veces.

El efecto de la rizosfera, que no puede apreciarse en el mes de febrero cuando se compara la densidad de inóculo total, es, no obstante, apreciable cuando se hace la lectura para los *Fusarium*. En el mes de junio, con el cultivo prácticamente finalizado, la acción de las raíces es bien neta tanto para la flora total como para los *Fusarium*, en particular, pese a la relativización de su presencia con respecto a los otros micromicetos. Como ya se ha avisado en otras partes de este trabajo, el tipo de análisis aplicado (diluciones sucesivas) puede tener errores importantes, pero las tendencias por él expresadas pueden ser válidas para orientar determinadas indagaciones.

Hay, finalmente, que precisar algo sobre la Fusariosis vascular: no se manifestó en los invernaderos muestreados. Y si en febrero

Cuadro 60
VARIACION MENSUAL DE LA MICOFLORA TOTAL EN EL SUELO DE UN INVERNADERO ENARENADO Y CULTIVADO CON TOMATE
 (var. GC-204, Carmelo). MAZARRON (MURCIA). CAMPAÑA 1980-1981. SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO

Género y/o especie fúngica	Mes de muestreo																	
	Septiembre		Noviembre		Diciembre		Febrero		Marzo		Mayo		Junio					
	Suelo	Rizosfera	Suelo	Rizosfera	Suelo	Rizosfera	Suelo	Rizosfera	Suelo	Rizosfera	Suelo	Rizosfera	Suelo	Rizosfera				
Micoflora Total	518.10 ²	100	185.10 ²	100	852.10 ²	100	947.10 ²	100	454.10 ²	100	90.10 ²	100	80.10 ²	100	1.017.10 ²	100		
Alternaria sp.	—	—	1.10 ²	0,54	2.10 ²	4,88	—	—	89.10 ²	12,59	—	—	2.10 ²	2,22	—	69.10 ²	6,78	
Cladosporium sp.	—	—	—	—	662.10 ²	77,70	—	—	244.10 ²	34,51	—	—	2.10 ²	2,22	—	—	—	
Fusarium sp.	30.10 ²	5,79	29.10 ²	15,67	187.10 ²	21,95	2.10 ²	0,21	362.10 ²	51,2	124.10 ²	27,31	39.10 ²	43,33	15.10 ²	43,33	207.10 ²	20,35
Humicola so.	—	—	—	—	—	—	—	—	191.10 ²	42,07	—	—	—	—	—	—	718.10 ²	70,60
Penicillium sp.	3.10 ²	0,58	14.10 ²	7,57	—	—	741.10 ²	78,24	—	—	7.10 ²	1,54	31.10 ²	34,44	53.10 ²	66,25	1.10 ²	0,09
Rhizopus sp.	—	—	—	—	1.10 ²	2,44	—	—	12.10 ²	1,70	—	—	—	—	1.10 ²	1,25	1.10 ²	0,09
Staphylotrichum sp.	—	—	—	—	—	—	204.10 ²	21,54	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stemphyllium sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16.10 ²	17,78	11.10 ²	13,75	21.10 ²	2,06
Bacteria	485.10 ²	93,63	141.10 ²	76,22	—	—	—	—	132.10 ²	29,07	—	—	—	—	—	—	—	—
F. oxysporum	30.10 ²	5,79	—	—	41.10 ²	4,81	—	—	17.10 ²	2,40	—	—	29.10 ²	2,58	7.10 ²	8,75	150.10 ²	14,75
F. roseum	—	—	—	—	—	—	—	—	12.10 ²	1,70	124.10 ²	27,31	9.10 ²	10,00	—	—	7.10 ²	0,69
F. solani	—	—	29.10 ²	15,67	146.10 ²	17,14	2.10 ²	0,21	333.10 ²	47,10	—	—	1.10 ²	1,11	8.10 ²	10,00	50.10 ²	4,92

podría imputarse la ausencia de infección a la baja densidad de inóculo y al efecto de las temperaturas; en junio tales impedimentos habrían desaparecido y podría estar ejerciéndose la resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* de la variedad cultivada.

B) *La micoflora fusárica*

Los tres invernaderos estudiados en el apartado anterior fueron muestreados durante el cultivo siguiente (1981-1982) para conocer exclusivamente el comportamiento de *F. oxysporum* en el suelo. En este caso, además del suelo, se analizó la arena que constituía el enarenado. El método de muestreo fue análogo al empleado en el apartado anterior.

Sin embargo, unas indagaciones previas fueron realizadas sobre la micoflora asociada a los restos de la cosecha anterior. Los agricultores, finalizado el cultivo, cortan la parte aérea de las plantas, dejando la parte epigea en el suelo, que cuando está enarenado no recibe ningún tipo de labor. El análisis de 231 raíces fue practicado para el rizoplano y para la denominada rizosfera próxima (aquella tierra fuertemente adherida a las raíces que se desprende mediante lavado en agitación continua). Las raíces fueron

recolectadas en dos de los invernaderos, setenta días después de finalizado el cultivo. Los resultados se tabulan en el cuadro 61.

La micoflora detectada, salvando las limitaciones del medio de cultivo (PDA), es muy pequeña, si se compara con la puesta en evidencia por DAVET (1976) para los tomates del Líbano. Dimensión que incumbe tanto al número de géneros y/o especies fúngicas, como a su densidad.

Los resultados de los análisis mensuales de suelo y arena se han resumido en el cuadro 62.

Ni la Fusariosis vascular ni la Verticiliosis se exteriorizaron durante el periodo de muestreo. El cuadro 62 evidencia un hecho casi general, y es el de la menor densidad de *Fusarium* en la arena que en el suelo subyacente. La observación queda relativizada por el invernadero codificado como Inv 1, en el que la presencia de *Fusarium* es prácticamente nula en el suelo, siendo que no había ocurrido así durante la campaña 1980-1981 (ver cuadro 60); por esta sorprendente situación se analizó la rizosfera de las plantas en el mes de mayo, los resultados mostraron la siguiente composición: $186 \pm 48,88$ propág./g. de *F. oxysporum*, $104 \pm 10,22$ propág./g. de *F. solani*, y 38 ± 12 propág./g. de *F. roseum*. Población no muy elevada, pero que indicaba,

Cuadro 61

MICROFLORA ASOCIADA A LAS RAICES DE TOMATE DE LA COSECHA ANTERIOR, ENTERRADAS EN EL SUELO DEL INVERNADERO. ANALISIS SOBRE PDA, SE EXPRESA CADA HONGO EN PORCENTAJE SOBRE EL NUMERO DE RAICES COLONIZADAS. MAZARRON (MURCIA)

Género y/o especie fúngica	Inv. 1		Inv. 2	
	rizoplano	rizosfera próxima	rizoplano	rizosfera próxima
<i>Alternaria</i> sp.	—	—	2,78	2,04
<i>Botrytis cinerea</i>	—	1,08	—	—
<i>Botryotrichum</i> sp.	29,62	44,56	—	—
<i>Cladosporium</i> sp.	3,70	—	5,55	12,24
<i>F. oxysporum</i>	—	—	—	8,16
F.r. « <i>gibbosum</i> »	1,85	6,52	16,67	4,08
<i>F. solani</i>	—	3,26	5,55	10,20
<i>Gliocladium</i> sp.	12,96	—	2,78	2,04
<i>Penicillium</i> sp.	18,51	1,08	—	—
<i>Rhizoctonia bataticola</i>	—	—	—	2,04
<i>Rhizopus</i> sp.	3,70	—	16,67	—

Cuadro 62

F. OXYSPORUM EN TRES INVERNADEROS ENARENADOS DE MAZARRON (MURCIA), CULTIVADOS CON TOMATE (var. Carmelo). SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO SECO

Mes y año de muestreo	SUELO						ARENA					
	Inv. 1		Inv. 2		Inv. 3		Inv. 1		Inv. 2		Inv. 3	
	Fo	F _T	Fo	F _T	Fo	F _T	Fo	F _T	Fo	F _T	Fo	F _T
Octubre 1981	53	131	110	2.560	75	1.464	—	—	122	172	—	84
Noviembre 1981 ...	—	—	158	839	334	683	—	—	37	83	—	—
Diciembre 1981	—	—	—	—	—	3.187	—	—	—	—	26	107
Enero 1982	—	—	59	554	665	1.830	—	—	—	—	—	—
Febrero 1982	—	—	85	750	154	154	—	—	31	134	—	219
Marzo 1982	—	—	—	8	—	1.689	—	—	—	—	33	107
Abril 1982	—	14	71	928	9	167	—	55	—	6	6	226
Mayo 1982	—	—	54	535	39	2.787	—	9	—	—	6	727
Junio 1982	—	—	24	172	11	34	—	4	14	54	90	312
Julio 1982	—	—	168	433	17	32	2	24	112	312	—	—

Fo = *F. oxysporum* F_T = *Fusarium* total = *F. oxysporum* + *F. moniliforme* + *F. roseum* + *F. solani*.

al menos, la presencia de *F. oxysporum* en el suelo, aunque fuese por el efecto del «nicho ecológico» tan neto, que es la rizosfera. Rizosfera no comparable con la encontrada por BESRI (1977) para los tomates marroquíes, en la que el mencionado autor contabiliza densidades de *F. oxysporum* comprendidas entre 2.000 y más de 5.000 propágulos/g. de suelo. Y, desde luego, tampoco pueden igualarse los resultados obtenidos con los encontrados para una tierra de invernadero cultivado con tomate en Aguilas (Murcia), en la que los *Fusarium* llegaban a 11.544 propágulos/g. de suelo, si bien los *F. oxysporum* no rebasaban el 2,79 por 100 del total.

4. Discusión y conclusiones

Tradicionalmente considerados como hongos del suelo («soil-borne»), pueden, a pesar de la escasez de trabajos sobre el tema, *F. oxysporum* (y otros *Fusaria*) y *V. dahliae* comportarse como patógenos aéreos («air-borne»). A lo largo del trabajo presentado hasta ahora, así se ha puesto de manifiesto, en lo concerniente a distintos miembros del género *Fusarium*. Otros autores, en general puntualmente, mostraron este aspecto epidemiológico (NELSON *et al.*, 1975; OOKA, 1975; WEINDENSAULT, 1968). Son ROWE *et al.* (1977) quienes comprueban la enorme importancia

que tiene en la recolonización de suelos de invernadero desinfectados la contaminación por las conidias de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* vehiculados por el aire, hasta el punto de basar la estrategia de control de la micosis, denominada «Podredumbre del cuello y de las raíces por *Fusarium*», en este aspecto de la infección (ROWE y FARLEY, 1978; ROWE y FARLEY, 1981). Es la consideración realizada, como mínimo, complementaria, de la especulación sobre la recolonización de los suelos desinfectados por el patógeno conservado a profundidades en el suelo inalcanzables por los biocidas (FARLEY *et al.*, 1974). En el caso de *Verticillium*, no contemplado en las experiencias presentadas, fue, primero, WILHEM (1950) quien atribuyó a *V. albo-atrum* una posibilidad de diseminación por el viento a largas distancias; hipótesis confirmada posteriormente por DAVIES e ISAAC (1958), y por ISAAC y HEALE (1961). Y es PINEAU (1976) quien, ateniéndose al apunte epidemiológico de los anteriores, explica con ella la masiva infección de plantaciones de tomate por *V. dahliae* instaladas en terrenos totalmente vírgenes para el cultivo.

Las experiencias especificadas en este capítulo confirman estas observaciones en lo referente a los miembros del género *Fusarium*. Es sorprendente la no desdeñable concentración, así como su continua presencia, de *F. roseum* «*gibbosum*» (*F. equiseti*, sensu

BOOTH, 1971). Contrasta, por el contrario, la escasa e irregular exteriorización de *F. oxysporum*, sobre todo si se compara con lo ocurrido en el cultivo de clavel, descrito en este mismo trabajo. Y tal vez esta escasa presencia tenga algún tipo de relación con la baja densidad de inóculo hallada en los suelos de los tomates. Escasez que se ha encontrado en los restos de cosecha (raíces enterradas) analizados y que no es explicable por la acción de las desinfecciones del suelo practicadas, pues el mismo principio activo a dosis tres veces mayores no proporcionaron en lugares cercanos, y en plantaciones de clavel, comportamiento comparable en el caso de los *F. oxysporum*. Podría, tal vez, intentarse una explicación en base a la no manifestación de la Fusariosis vascular por el efecto de la resistencia varietal, que no dejaría una

multiplicación del inóculo en el suelo, tan elevada como cuando existen plantas enfermas. Sin embargo, para estos mismos suelos no ha ocurrido en el caso de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (TELLO y LACASA, 1987). Sería posible entonces, puesto que con variedades sensibles la Traqueofusariosis se manifiesta, emitir la hipótesis de que estos suelos, condicionados por las técnicas culturales, tienen una micoflora telúrica muy pobre. Situación, por otro lado, nada novedosa, como bien demuestran ROUXEL (1978) y ALABOUVETTE (1983) al trabajar suelos sensibles y resistentes a las Fusariosis vasculares, de modo que aquellas tierras que permiten la exteriorización de la micosis tienen una escasa flora fúngica y fusárica, en particular, en comparación con las que impiden la manifestación de la enfermedad vascular.

CAPITULO 3

VARIACIONES DE LOS PATOTIPOS VERTICALES DE *F. OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI* EN FUNCION DE LOS GENES DE RESISTENCIA DE LOS PATODEMOS INTRODUCIDOS

1. Introducción

La lucha genética contra las traqueomicosis del tomate ha sido uno de los principales éxitos de los seleccionadores, realizado por el hecho de que la utilización de otros procedimientos de control es difícil y onerosa, y de resultados dudosos, por contradictorios, sin considerar su ineficacia.

Entre los dos micromicetos que enferman al tomate colapsando su sistema vascular, hay una diferencia epidemiológica sustancial: mientras *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* es un patógeno específico del tomate, *V. dahliae* es muy polífago.

Como escribe MESSIAEN (1981), existen en el tomate resistencias de naturaleza poligénica a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y a *V. dahliae*, expresadas, por ejemplo, en las variedades Rutgers y Marglobe. Estas resistencias no específicas varían en su expresión, según la abundancia del inóculo patógeno, las condiciones ambientales o el equilibrio en la planta entre hojas y frutos. Sin embargo, desde su descubrimiento han sido preferidas por los genetistas y mejoradores las resistencias monogénicas de expresión constante, fáciles de detectar en estado de plántula y de heredabilidad menos compleja.

El gen de resistencia a *V. dahliae*, *Ve*, fue extraído de la especie *L. pimpinellifolium* (SCHAIBLE *et al.*, 1951) y confiere una alta resistencia a las variedades cultivadas, a las que se les introdujo a partir del cultivar Peru

Wild (WALTER, 1967). Aunque MESSIAEN (1981) opina que el gen actúa eficazmente, pues las plantas son invadidas por algunos filamentos del hongo, pero no exteriorizan síntomas, admite que las escasas cepas capaces de provocar el síndrome de la Verticilliosis han aparecido de una manera aleatoria y la repetición del cultivo no las ha seleccionado en especial. Sin embargo, no es este el pensamiento de otros autores, que han encontrado aislamientos capaces de remontar la resistencia (ALEXANDER, 1962; CIRULLI, 1969), y en algunos casos de manera generalizada (BESRI *et al.*, 1984).

El gen dominante I entraña una resistencia total a las cepas comunes de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (raza 1), y ha sido remontado por la raza fisiológica 2 (1). El gen I fue extraído de la especie *L. pimpinellifolium* e introducido a la variedad Pan América (PORTE y WALKER, 1941). Cinco años más tarde, ALEXANDER y TUCKER (1945) refieren cómo este gen fue remontado por una nueva raza del hongo, señalada con el número dos. Fue,

(1) Tradicionalmente, la denominación de los patotipos verticales ha sido: raza 1, raza 2, raza 3. GABE (1975) propuso un cambio en la división racial, de manera que la antigua raza 1 pasaba a ser raza 0, y la modificación se transmitía así: raza 1 (= antigua raza 2), raza 2 (= antigua raza 3). A pesar de este intento racional de equiparar con otras nomenclaturas más convencionales, en la actualidad se continúa usando el sistema antiguo con mayor frecuencia. Por lo tanto, y por mor de la claridad comparativa bibliográfica, se utiliza en este trabajo la primera nomenclatura definida.

otra vez, *L. pimpinellifolium* quien proveyó el gen I-2, eficaz, a la vez, frente a las cepas comunes y a la, entonces nueva, raza 2 CIRULLI y ALEXANDER, 1966). Situado en el mismo cromosoma que el gen I es difícil precisar si son genes diferentes, si I-2 es un alelo del I, o si el nuevo gen es una versión más completa de un locus más complejo.

A partir de aquí, los lugares en los que se ha descrito la raza 2 son numerosos. WALKER (1971) relataba que este patotipo vertical había sido evidenciado en un número reducido de regiones mundiales: EE.UU. (Ohio, Florida, Arkansas, New Jersey), Israel, Brasil y Marruecos. Desde entonces, las toponimias mundiales donde los tomates albergan la raza fisiológica 2 se ha descrito, entre otros países, en Túnez (EL MAHJOUR, 1974), Francia (BOUHOT *et al.*, 1978) y España (TELLO y PÉREZ, 1979). Pero la especialización racial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* no ha concluido, de tal manera que un nuevo patotipo vertical se ha encontrado en diferentes regiones mundiales, como Túnez (EL MAHJOUR, 1974) o Australia (GRATTIDGE, 1982). Es en Australia donde GRATTIDGE y O'BRIEN (1982) subrayan su rápida expansión, de manera que desde la aparición de la raza 3, en 1978, su extensión alcanzó, en 1981, a más del 5 por 100 de las plantaciones de la provincia de Bowen.

Pero si los trabajos sobre las resistencias poligénica y oligogénica a los hongos vasculares del tomate han sido más ampliamente estudiadas desde antiguo. Hay otros aspectos de la genética de la planta que también inciden sobre su comportamiento frente a la resistencia. VAN DER PLANK (1978) no pudo postular de una manera general la polivalencia de las resistencias poligénicas, pues en algunos casos conocidas se encuentra una correlación nula o incluso negativa entre las resistencias poligénicas a dos patógenos de naturaleza diferente. En el caso del tomate, una resistencia poligénica a *Pseudomonas solanaceum* entraña, por pleiotropía, una buena resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 2 y a *Corynebacterium michiganense* (KAAN y LATERRROT, 1977). Otro ejemplo de estos efectos múltiples de los genes lo brinda la línea de tomate japonesa «Okitsu sozai 1», obtenida del cruzamiento con *L.*

hirsutum, que es resistente a la vez a *Corynebacterium michiganense* en estado muy precoz, y a las dos razas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (MESSIAEN, 1981).

2. Origen de los aislamientos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Los aislamientos monospóricos (clonados de un microcondio) estudiados se recolectaron desde 1976 hasta 1987 en los tomates del litoral mediterráneo peninsular. Los cultivares de tomate y, sobre todo, su resistencia monogénica a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, marcaron netamente el sentido de los muestreos. La resistencia, que fue generalizándose en el agroecosistema, no estaba restringida «sensu stricto» a los genes I, I-2 y Ve; sino, que, al mismo tiempo, los patógenos aportaban barreras, más o menos eficaces, a nematodos (*Meloidogyne* spp.), virus (Virus del Mosaico del Tabaco), entre otros. No es posible resaltar la experiencia adquirida sobre la eficacia de algunos de estos genes, como se detalló anteriormente para el Ve de resistencia a *V. dahliae*; pero sí parece oportuno precisar alguna observación puntual sobre el comportamiento del gen Mi, dada la relación existente entre los ataques de *Meloidogyne* y la pérdida de eficacia de los genes de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (HIRANO, 1983). La no desinfección del suelo en los tomates da lugar, en Murcia, a importantes ataques de nematodos, aunque el cultivar tenga incorporada la resistencia al patógeno. El hecho es de fácil comprobación en las proximidades de las escasas higueras (*Ficus carica*) repartidas en los campos de tomate: para preservarlas de los efectos letales de los biocidas, se eximen de tratamientos los suelos colonizados por sus raíces, pero no se excluye la plantación en ellos; en esas plantas es donde, a pesar del gen Mi, pueden verificarse las importantes agallas radicales que denuncia la presencia de los nematodos.

De las 285 cepas inoculadas desde el año 1980 al 1988 en las mismas condiciones experimentales y a los mismos cultivares diferenciadores se han detallado en el cuadro 63 características de interés para el estudio realizado.

Cuadro 63.

ALGUNAS CARACTERISTICAS SOBRE EL ORIGEN DE LOS AISLAMIENTOS DE *F. OXYSPORUM* OBTENIDOS DEL XILEMA DEL TOMATE

Período de aislamiento (años)	Origen geográfico del aislamiento	Variedades de donde se aisló el hongo	N.º de aislamientos monospóricos (clonados de un microconidio)
1976 a 1982	Murcia	Muchamiel, VS-3	83
		Carmelo (GC-204) (*)	11
	Valencia	Montecarlo	45
		Marmande Claudia	
	Almería	Lucy, VS-3	23
		Vemone	
Marmande Carmelo (GC-204) (*)			
Cádiz	Marmande	3	
Málaga	VS-3	6	
1983	Murcia	Vergel (*)	22
		Tipo Cherry	11
1986 a 1987	Murcia	Bornia (*)	68
		Vergel (*)	
		Carmelo (GC-204) (*)	
		Lorena (B-354) (*)	
Alicante	Bornia (*)	Turmalina (X-104)	4
			4

(*) Resistentes a la raza 1 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

El cuadro 63 quiere reflejar cómo durante el tiempo que duró la experiencia, concretamente hasta el año 1980, los cultivares con resistencia monogénica no estaban extendidos en el Potosistema. A partir de esa fecha su preponderancia en los tomates de Alicante y Murcia fue, en la práctica, total.

Esta necesaria generalización en cuanto a la previsible variación de la virulencia de los patotipos, necesitaba de un conocimiento puntual, es decir, entre la población del hos-

pedador y del parásito en una parcela o invernadero, podría haber o no una composición de patotipos análoga a la obtenida de manera general. Desde esta óptica, varias plantaciones se muestrearon, algunas de las cuales se han detallado en el cuadro 64.

3. El poder patógeno de los aislamientos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

VAN DER PLANK (1968) definió el poder pa-

Cuadro 64

ORIGEN DE CEPAS DE *F. OXYSPORUM* AISLADAS AL AZAR EN CULTIVARES CON LA MISMA DOTACION GENETICA PARA LA RESISTENCIA AL PATOTIPO 1 DEL HONGO

Fecha de muestreo	Código de parcela	Lugar geográfico	Variedad de donde se obtuvo la cepa	N.º de aislamientos monospóricos (clonados de un microconidio)
Octubre 1987	P1	Aguilas (Murcia)	Bornia	10
Octubre 1987	P2	Mazarrón (Murcia)	Lorena (B-354)	14
Octubre 1987	P3	Aguilas (Murcia)	Bornia	8

Cuadro 65

**ORDENACION SEGUN SU PODER PATOGENO (AGRESIVIDAD + VIRULENCIA)
DE AISLAMIENTOS DE *F. OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI***

AÑO DE AISLAMIENTO		1976-1982			1983		
Agresividad	Virulencia	raza 1	raza 2	No patógenas	raza 1	raza 2	No patógenas
Clase 1		53	—	—	—	5	—
Clase 2		21	—	—	1	15	—
Clase 3		6	—	—	—	—	—
Clase 4		12	—	—	6	—	—
Clase 5		36	—	—	—	—	—
Clase 6		8	—	—	2	—	—
No patógenas		—	—	40	—	—	4
TOTALES			176			33	

tógeno como aquel que incluye a la vez agresividad y virulencia. En el cuadro 65 se resume la patoneicidad de los 209 aislamientos recogidos entre 1976 y 1983. El cuadro 66 sintetiza la virulencia de las 72 cepas recolectadas entre 1986 y 1987, completando así el total de 281 aislados inoculados en los cultivares diferenciadores (Marmande, Roma y Walter 742) y ordenados en su mayoría según la escala convencional elaborada por PINEAU (1976) y detallada en el apartado general de materiales y métodos.

Los resultados detallados para las cepas aisladas de tres parcelas cultivadas con tomates resistentes a la raza 1 se expresan en el cuadro 67.

Cuadro 66

**VIRULENCIA DE CEPAS DE *F. OXYSPORUM*
F. SP. *LYCOPERSICI* AISLADAS
DE CULTIVARES CON RESISTENCIA
A LA RAZA 1**

Año de aislamiento	N.º cepas inoculadas	N.º cepas raza 1	N.º cepas raza 2
1986	34	—	34
1987	38	3	35

De los cuadros 65, 66 y 67 varias evidencias merecen ser resaltadas:

A.—Las cepas aisladas durante los siete primeros años de prospección —cuando dominaban las variedades sin resistencia a la raza 1— pertenecen a la raza común del

hongo. Su agresividad, a grandes rasgos, se ordenó de la siguiente manera: el 42 por 100 de los aislamientos son muy agresivos (clases 1 y 2: un mínimo del 75 por 100 de las plantas inoculadas estaban muertas y/o enfermas antes del decimoquinto día después de la inoculación). Un 25 por 100 resultaron muy poco agresivos (clases 5 y 6), y casi el 23 por 100 no exteriorizaron ninguna patogenicidad en el tiempo que duró la experiencia (cuadro 65).

Cuadro 67

**VIRULENCIA DE CEPAS DE *F. OXYSPORUM*
F. SP. *LYCOPERSICI*, DETALLADA
PARA AISLAMIENTOS OBTENIDOS
EN TRES CAMPOS, A PARTIR
DE VARIEDADES RESISTENTES A LA RAZA 1**

Código de parcela	N.º de cepas testadas	N.º de cepas de la raza 1	N.º de cepas de la raza 2
P1	10	1	9
P2	14	1	13
P3	8	1	7

B.—Las cepas aisladas durante 1983 demostraron la existencia en el Patosistema de un nuevo patotipo vertical, la raza 2 (cuadro 65). Estos proceden solamente de la variedad con el gen I de resistencia a la raza común (cv. Vergel) y no de cultivar desprovisto de resistencia. Este nuevo patotipo, en concordancia con lo observado en el campo, exhibe una mayor agresividad que las cepas de la raza 1: 60,60 por 100 de los aislamientos se

agrupan entre las clases 1 y 2, frente al 72,72 por 100 de los patotipos comunes que se ordenan dentro de las clases 4 y 6.

C.—Las cepas recolectadas durante los años 1986 y 1987 de cultivares con resistencia a los patotipos comunes (raza 1), pertenecen en su mayoría (más del 95 por 100) a la raza 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (cuadro 66). Y esto, que es cierto de manera general para las comarcas tomateras de Murcia y Alicante, se comprueba en cada parcela tomada individualmente (cuadro 67).

D.—Las cepas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* aisladas entre 1976 y 1982 de variedades con el gen de resistencia a la raza 1 no pertenecen a la raza 2 del hongo. Este fenómeno se detecta, aunque en menor proporción, cuando la raza 2 del patógeno está generalizada en el Patosistema.

3.4. Discusión y conclusiones

GENDERMAN y FINLEY (1951) pusieron en evidencia la raza 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomates resistentes a la raza 1 del hongo cultivados sobre un suelo inoculado originalmente (5 años atrás) con la raza 1. Los autores concluyen que la raza 2 deriva de la raza 1 bajo el efecto de selección de la planta. En este mismo sentido se expresan GOODE *et al.* (1969). Esta manera de pensar no es compartida por otros autores, que suponen la preexistencia de todos los patotipos del patógeno en el Patosistema (BOUHOT, 1970; BOUHOT y LOUVET, 1971; PINEAU, 1976). VAN DER PLANK (1968) parece compartir ambas posturas, justificando que, existiendo la raza 2, no se generaliza en el cultivo en tanto en cuanto no se haya extendido el gen I, debido a la acción de la selección estabilizadora que tiende a eliminar toda virulencia innecesaria, y el hecho es tanto más patente en un sistema medio saprofítico-hospedador-patógeno, como el aquí presentado, que en uno hospedador-hospedador-patógeno, como es el caso de los parásitos estrictos o casi obligados.

Este papel de la fase no parasitaria en los patógenos tiene una interpretación fundamental desde el punto de vista de VAN DER PLANK (1968): el medio saprofítico estabiliza

las razas, ya que los patotipos capaces de contrarrestar a genes fuertes de resistencia en el hospedador pierden una parte de su aptitud para la vida saprofítica.

La perspectiva interpretativa hasta aquí expuesta permite orientar las conclusiones siguientes:

A) Mientras que las variedades cultivadas carecían, en general, de genes de resistencia (I, I2) a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ninguna virulencia diferente fue hallada en el patosistema, lo cual no coincide con lo ocurrido a otros investigadores (GENDERMAN y FINLEY, 1951; PINEAU, 1976; TELLO y PÉREZ, 1979). La afirmación queda sustentada por el hecho de que las 176 cepas recolectadas entre 1976 y 1982 pertenecían a la raza menos virulenta del patógeno. Siete años después de comenzada la prospección, generalizado el gen I, apareció un nuevo patotipo vertical, que se hizo común en los tomatales en menos de un lustro.

La rápida extensión de la raza 2 tiene, previsiblemente, una relación con el sistema de cultivo. Si VAN DER PLANK (1968) afirmaba que la fase no parasitaria del patógeno eliminaba la virulencia no necesaria, la intensificación del cultivo tiende a eliminar parte de esa fase no parasitaria. De manera que en los tomatales de Murcia y Alicante las nuevas técnicas culturales (sistemas de riego, invernaderos, nuevos híbridos, etc.) eliminaron rotaciones culturales (habitualmente de 3 a 5 años), labores al suelo, estercoladuras y otras prácticas que incidían netamente sobre la fase saprofítica de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, han posibilitado, igualmente, la generalización rápida de la raza más virulenta (raza 2). Pero no ha sido ésta la única consecuencia habida en el Patosistema: la aparición y fulgurante propagación de nuevos patógenos (*Corynebacterium michiganense*, *Xanthomonas vesicatoria*), la exteriorización de micosis antes relegadas a un papel secundario (*Phoma lycopersici*/*Dydimella lycopersici*), y, sobre todo, la *salinización* del suelo plantean un complejo porvenir no exento de la previsible aparición de un patotipo más virulento.

B) Se ha postulado que parece existir una correspondencia negativa entre virulencia y agresividad, de manera que una virulencia acrecentada puede ir acompañada de una

agresividad reducida (LATERROT, 1972; MESSIAEN, 1981). El aserto fue evidenciado para los *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* de las Islas Canarias (TELLO y PÉREZ, 1979). En el trabajo presentado, sin embargo, se demuestra cómo los patotipos tienen una agresividad comparablemente mayor cuando pertenecen a la raza más virulenta. En el cuadro 65 puede comprobarse lo dicho, pero añadiendo el dato ilustrativo de que en el año 1983 ambos grupos de cepas fueron recolectadas el mismo día y en la misma comarca.

En los cultivos es comprobable la contundente acción de la raza 2 del hongo. Un ejemplo: durante 1987 la valoración de la gravedad de la micosis, transcurridos 4 meses desde el trasplante, osciló entre un 2,85 por 100 de plantas muertas y/o con síntomas, en una parcela desinfectada con bromuro de metilo (50 g/m²), y un 14 por 100 en una plantación tratada con metam-sodio (1.500 l/ha.) en Murcia.

C) La infección de cultivares con el gen I de resistencia al patotipo menos virulento (raza 1) por éste ocurre tanto cuando en el Patosistema se ha generalizado la raza 1 como cuando se ha difundido la más virulenta.

JONES y CRILL (1974) constataron que una cierta proporción de plantas teóricamente resistentes pueden ser atacadas por la raza a

la que tienen introducida la resistencia. Los autores apuntan varias explicaciones: 1) una pérdida del gen durante el proceso de elaboración de la variedad; 2) influencia del medio sobre la expresión del gen, y 3) la resistencia podría estar gobernada por dos genes. Cabría, en el caso que ocupan estas observaciones, aceptarse la primera de las posibilidades: los cultivares estudiados son híbridos elaborados manualmente, lo cual no sería, precisamente, un eximente de imperfección.

D) Existe un problema de interpretación para explicar la presencia de cepas que no manifestaron su patogeneidad durante la experiencia de inoculación. Excluida, por el tipo de cultivo del tomate y por la técnica de aislamiento empleada, la masiva contaminación externa de los tallos y peciolo por *F. oxysporum* no patógenos, como apuntaba PINEAU (1976), podrían contemplarse otras hipótesis: los sucesivos repicados en medio agarizado y el mantenimiento en micoteca serían operaciones no ajenas a la pérdida de patogeneidad. Pero esta pérdida pudiera ser imputada con el mismo valor especulativo, al clonado de los aislamientos. PINEAU (1976) gana virulencia (¡cambia de raza!) al tomar de una misma cepa dos aislamientos de sendos microconidios, ¿qué nivel de seguridad se tiene de que un cambio tal no ocurra en el sentido contrario?

Parte III

La micoflora de los suelos no cultivados de la Comunidad Autónoma de Murcia

INTRODUCCION

«Las especies de *Fusarium* se encuentran en los suelos no cultivados de todo el mundo, sin embargo, la mayor parte de la literatura sobre *Fusarium* se refiere a los suelos cultivados. El énfasis puesto en los suelos cultivados, juntamente con las aisladas referencias sobre la ausencia o los bajos niveles de *Fusarium* en ciertas áreas salvajes, ha alentado la impresión de que los *Fusarium* son raros o poco importantes en las tierras incultas.» Así se expresaba STONER (1981) sobre la cuestión, cuyo interés suscitó el trabajo experimental que se presenta a continuación. Trabajo sustentado por la idea de que los suelos de labor tienen poblaciones de *Fusarium* mayores que las de las tierras incultas. El tema, tal cual fue abordado por NASH y SNYDER

(1965), evidenciando con sus investigaciones esta marcada diferencia entre unos suelos y otros. La experiencia, desarrollada en suelos colindantes incultos y cultivados de California (EE.UU.), patentizó que en las tierras de labor los *Fusaria* totales eran de 11.000 a 27.000 propágulos/g. suelo, en tanto que en los terrenos vecinos sin cultivar era del orden de 1.500-3.000 prop/g. suelo. Mientras ciertas variedades de *F. roseum* y *F. episphaeria* estaban en proporciones análogas en unas tierras y en otras, los *F. oxysporum* y *F. solani* variaban notablemente.

Para conseguir el propósito deseado, no solamente se analizaron suelos incultos, próximos a campos cultivados, de los que no se guardaba memoria de su roturación para sembrar o plantar; sino que también se muestrearon otros dedicados a montes de pinos,

Cuadro 68

CARACTERISTICAS DE LOS TERRENOS INCULTOS MUESTREADOS EN LA C.A. DE MURCIA DURANTE EL BIENIO 1983-1984

Códigos de las muestras	Lugar de muestreo	Especificaciones sobre la toponimia
TV1, TV2, TV3	Puerto de Purias	<ul style="list-style-type: none"> • Esparto y tomillo • 550-300 m.s.n.m.
TV4, TV5, TV6, TV18, TV19, TV20	Aguilas	<ul style="list-style-type: none"> • Esparto y tomillo • Nivel del mar
TV7, TV8, TV9, TV21, TV22, TV23, TV24, TV25	Mazarrón	<ul style="list-style-type: none"> • Esparto, tomillo, romero, adelfa (*), pino (**) • Nivel del mar • TV21, TV22 arenas de playa sin vegetación
TV10, TV11, TV12, TV13, TV14, TV15	Bálsicas San Pedro del Pinatar	<ul style="list-style-type: none"> • Sin vegetación • Aproxim. nivel del mar • Tierra del desmonte del canal del transvase Tajo-Segura
TV16, TV17	Cresta del Gallo	<ul style="list-style-type: none"> • Pinos • Monte rodeado de cultivo de huerta

(*) *Nerium oleander*.

(**) *Pinus* sp.

tanto fueran o no explotados para su aprovechamiento forestal y ganadero (figura 4). Una precisión sobre el término no cultivado parece necesaria: los campos próximos a terrenos cultivados presentaban una no desdeñable población de esparto (*Macrochloa tenacissima* o *Stipa tenacissima*), a veces con una cierta ordenación de las plantas, que podrían haber sido plantados para su explotación, muy común en otras épocas de la historia de nuestro país. Pero en las tierras incultas muestreadas, exceptuando las arenas de una pla-

ya, estaban siempre cubiertas de una vegetación determinada de la que las plantas perennes eran su más llamativo distintivo, fuesen éstas arbóreas, herbáceas o arbustivas. Los restos de plantas y materia orgánica no eran fácilmente evitables en la toma de muestras de los denominados «suelos desnudos», máxime en las prospecciones efectuadas después de las lluvias habidas durante, por ejemplo, los meses de octubre y noviembre de 1983 que posibilitaron el crecimiento de múltiples especies anuales, proporcionando una

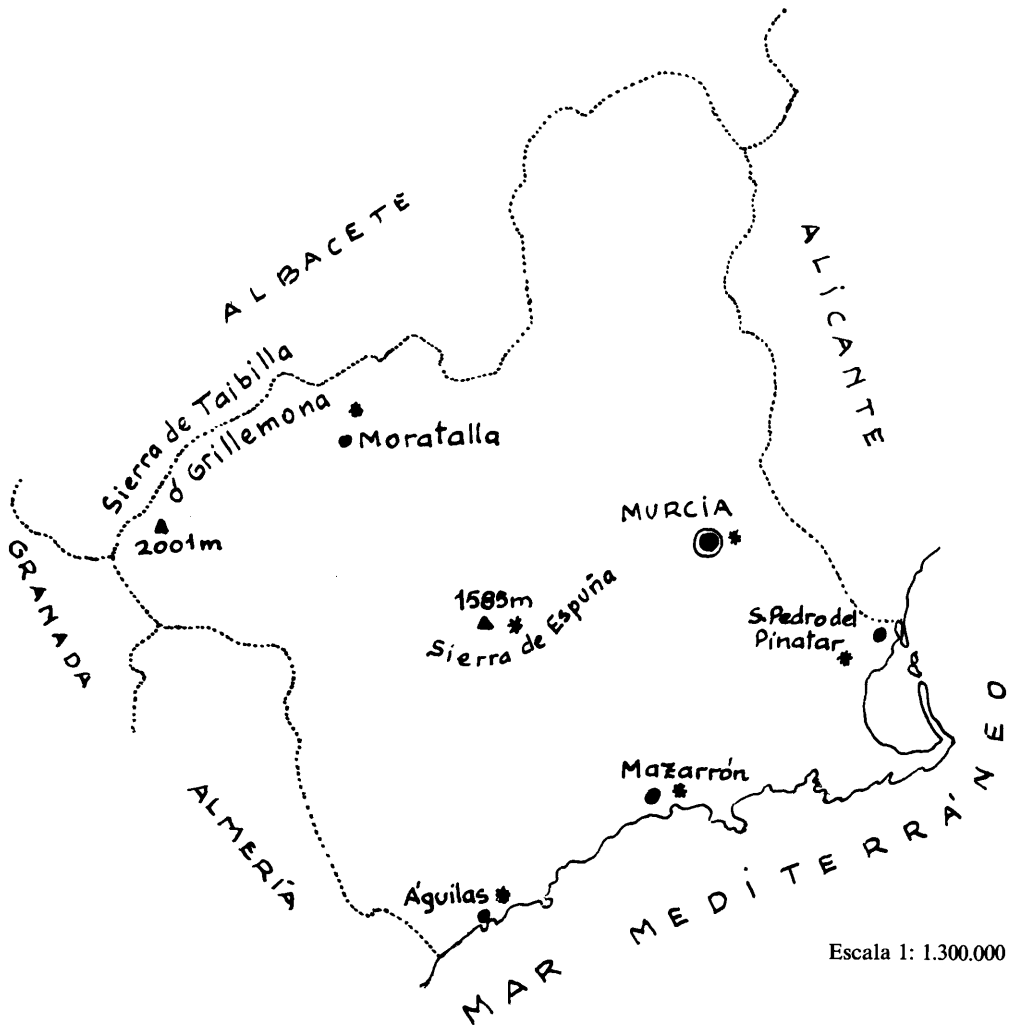


Figura 4.—Lugares (*) de la C.A. de Murcia donde se muestrearon suelos incultos.

espléndida primavera en el invierno con el florecimiento de romeros (*Rosmarinus officinalis*) y tomillos (*Thymus vulgaris*).

RESULTADOS

A) Terrenos incultos más o menos próximos a campos cultivados

Las muestras recogidas entre 10 y 40 cm. de profundidad fueron tomadas entre 1983 y 1985. Durante 1983 y 1984 se muestrearon 28

puntos cuyo detalle queda reflejado en el cuadro 68, la tierra analizada había soporado una pertinaz sequía de 14 meses. Del total de 28 puntos, diez volvieron a ser analizados después de las lluvias caídas entre octubre y noviembre de 1983, que totalizaron entre 70 y 100 l/m² en los campos de Mazarrón y Aguilas (Murcia) y propiciaron una olorosa y colorista primavera en pleno mes de diciembre.

Los resultados de los análisis selectivos para determinar la flora fusárica se han resumido en el cuadro 69.

Cuadro 69

FLORA FUSARICA DE TIERRAS INCULTAS COLINDANTES CON SUELOS CULTIVADOS (SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO SECO)

Código de muestra	Junio-septiembre			Diciembre		
	Fo	Fs	Fr	Fo	Fs	Fr
TV1	887 ± 40	86 ± 17	1.229 ± 69	376 ± 49	124 ± 22	712 ± 91
TV2	412 ± 30	41 ± 5	319 ± 18	15 ± 15	13 ± 7	129 ± 27
TV3	138 ± 29	96 ± 18	—	11 ± 6	573 ± 106	68 ± 20
TV4	1.648 ± 73	78 ± 19	1.205 ± 60			
TV5	70 ± 19	35 ± 6	98 ± 33			
TV6	170 ± 19	35 ± 6	1.039 ± 188			
TV7	483 ± 59	61 ± 15	181 ± 73			
TV8	2.560 ± 89	81 ± 37	781 ± 181			
TV9	101 ± 49	63 ± 18	31 ± 13	74 ± 19	159 ± 43	26 ± 16
TV10	382 ± 77	72 ± 11	154 ± 30			
TV11	—	932 ± 170	772 ± 123	105 ± 14	609 ± 84	319 ± 30
TV12	159 ± 30	168 ± 34	79 ± 19			
TV13	40 ± 14	23 ± 12	72 ± 13	—	—	—
TV14	—	—	16 ± 2			
TV15	21 ± 4	67 ± 5	932 ± 23	288 ± 40	165 ± 42	1.231 ± 91
TV16	49 ± 6	177 ± 18	26 ± 2	154 ± 17	422 ± 40	122 ± 42
TV17	4 ± 4	99 ± 11	8 ± 4			
TV18	232 ± 34	264 ± 41	1.506 ± 11			
TV19	—	—	—			
TV20	101 ± 20	22 ± 13	72 ± 11			
TV21	—	—	—			
TV22	—	—	—			
TV23	418 ± 69	426 ± 27	1.157 ± 48			
TV24	24 ± 11	78 ± 14	101 ± 29	44 ± 12	7 ± 7	230 ± 13
TV25	341 ± 56	92 ± 21	824 ± 58	203 ± 18	70 ± 7	49 ± 16
TV26	21 ± 7	—	43 ± 9			
TV27	4 ± 4	962 ± 28	162 ± 38			
TV28	1.815 ± 343	1.173 ± 107	2.893 ± 334			

Fo = *F. oxysporum*

Fs = *F. solani*

Fr = *F. roseum*

Estos resultados merecen un par de comentarios:

a) La no exteriorización en los análisis de *Fusarium* en las muestras recogidas en la playa, necesitaría una más cuidadosa atención en futuros trabajos que esclareciesen su significación.

b) La repetición del muestreo en diez puntos, marcando la diferencia las importantes lluvias caídas, no patentizó una multiplicación de los *Fusaria* en el suelo que pudiese responder a la sorprendente movida de la vegetación en pleno invierno.

B) Terrenos incultos de áreas forestales

B.1. Sierra de Espuña

Durante 1985 se muestrearon, a 1.250 m. de altitud, la rizosfera de plantas de tomillo y romero, así como la de plántulas de encina (*Quercus* s.p.), jara (*Cistus* sp.) y retama (*Retama* sp.). También se recogieron muestras de tres puntos sin vegetación aparente. Los resultados de los análisis para conocer las flores fusárica y total se han sintetizado en los cuadros 70 y 71.

Hay en los resultados presentados un efec-

Cuadro 70

MICOFLORA FUSARICA EN SUELOS DESNUDOS Y EN LA RIZOSFERA DE PLANTAS DE SIERRA DE ESPAÑA (MURCIA) A 1.250 M. S.N.M.

Código de muestra	Flora fusárica (propág/g. suelo)		
	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
Rizosfera tomillo	2.200 ± 121	447 ± 8	390 ± 96
Rizosfera encina	90 ± 33	212 ± 11	34 ± 18
Rizosfera romero	36 ± 17	377 ± 28	323 ± 76
Rizosfera retama	154 ± 75	277 ± 28	1.232 ± 27
Rizosfera jara	114 ± 75	186 ± 48	1.518 ± 215
Suelo 1	11 ± 6	14 ± 8	18 ± 12
Suelo 2	47 ± 21	12 ± 7	39 ± 2
Suelo 3	140 ± 29	20 ± 7	13 ± 7

Cuadro 71

MICOFLORA DE LOS SUELOS DE SIERRA DE ESPUÑA (1.250 M.S.N.M.). MURCIA

Género y/o especie	Suelo 1	Suelo 2	Suelo 3
<i>Alternaria</i>	5.10 ³	—	—
<i>Aspergillus</i>	—	—	9.10 ³
<i>Cladosporium</i>	6.10 ³	—	9.10 ³
<i>F. oxysporum</i>	3.10 ³	2.10 ³	47.10 ³
<i>F. solani</i>	6.10 ³	3.10 ³	1.10 ³
<i>F. roseum</i>	—	—	1.10 ³
<i>Fusarium</i>	—	9.10 ³	99.10 ³
<i>Penicillium</i>	564.10 ³	968.10 ³	1.443.10 ³
<i>Rhizopus</i>	1.10 ³	—	1.10 ³
<i>Stemphyllium</i>	—	4.10 ³	14.10 ³
<i>Trichoderma</i>	4.10 ³	7.10 ³	—

to patente de las rizosferas de las plantas sobre la micoflora fusárica, cualquiera que fuere la planta, con respecto al mismo suelo desnudo. Y esta influencia es más marcada para *F. oxysporum* cuando la planta es tomillo, mientras que si es retama o jara se deja sentir aquella sobre los *F. roseum*. La micoflora total no difiere mucho con la hallada en los suelos cultivados, presentados a lo largo de este trabajo.

B.2. Sierra de Taibilla (término de Moratalla):

Un total de ocho puntos fueron muestreados entre diciembre de 1985 y octubre de 1986, con una vegetación compuesta de pinos, romeros y tomillos. Del total de muestras analizadas dos fueron positivas en lo referente a *Fusarium*, precisamente las recogidas a orillas del río Moratalla. Los resultados se presentan en el cuadro 72.

Cuadro 72

FLORA FUSARICA EN LOS SUELOS DE LA SIERRA DE TAIBILLA (MORATALLA, MURCIA). SE EXPRESA EN PROPAGULOS/G. SUELO

Código de muestra	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
M 1	29 ± 12	202 ± 30	78 ± 63
M 2	70 ± 30	177 ± 43	14 ± 9

B.3. *Cresta del Gallo*
(alrededores de Murcia):

Desde enero a julio de 1984 se analizaron tres muestras tomadas al pie de los pinos, sin otra vegetación y con una importante cama de acículas. Los resultados, en el cuadro 73.

Cuadro 73

**FLORA FUSARICA EN LOS SUELOS DE
PINAR DE LA CRESTA DEL GALLO.
SE EXPRESA EN PROPAG/G. SUELO**

Código de muestra	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>
CG 1	49 ± 6	177 ± 18	26 ± 2
CG 2	4 ± 4	99 ± 11	8 ± 4
CG 3	154 ± 17	422 ± 40	122 ± 42

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos, aunque para un pequeño territorio, parecen abonar la idea de BURGESS (1981) sobre que los *Fusaria* están ampliamente repartidos en los suelos, partes aéreas y subterráneas de las plantas, en los restos vegetales y materia orgánica. Y su presencia es común en todas las geografías: regiones templadas, tropicales, desiertos y áreas alpinas y árticas. Sin embargo, su densidad en el suelo es comparable, al menos, con la determinada para los suelos de los tomates, lo cual se opone al trabajo de NASH y SNYDER (1965) que compara suelos colindantes cultivados e incultos.

ELLIS (1940) refiere la ausencia de *Fusarium* spp. en los suelos de los pinares. Y es en este sentido donde convergen las observaciones de SMITH (1967) y de TOUSSOUN *et al.* (1969) al no encontrar *F. oxysporum* en los bosques de pinos (*Pinus radiata*) de California (EE.UU.), atribuyendo el hecho a la acción de la cama de acículas, que actuaría, incluso, sobre los *F. oxysporum* introducidos por la rizosfera de las plantitas procedentes de semilleros y viveros. Así, tal vez, podría explicarse lo sucedido en el muestreo al pie de los pinos de la Sierra de Taibilla. Pero es demasiado parco el material analizado para conclusión tan excluyente. Máxime cuando no

ha ocurrido lo mismo en el pinar de la Sierra de Espuña, y tampoco toda la bibliografía consultada está de acuerdo con los mencionados autores. Así, BHATT (1970), WIDDEN y PARKINSON (1973), CHRISTENSEN y WHITTINGHAM (1965) y STONER (1981) refieren para los bosques de coníferas la presencia de *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. roseum* y *F. episphaeria*.

De una manera más general, STONER (1981) afirma que todas las especies de *Fusarium*, exceptuando *F. nivale*, han sido encontradas en los suelos forestales, aunque ciertamente las densidades son más bajas que las halladas en otras comunidades de plantas más abiertas (praderas, p.e.). De manera amplia, en los bosques forestales templados y subtropicales son comunes *F. oxysporum* y *F. solani*, mientras son raramente citadas *F. roseum*, *F. moniliforme*, *F. tricinctum* y *F. epishaeria*, alcanzando esta distribución hasta las masas boscosas boreales del Canadá (REDDY y KNOWLES, 1965). En las masas forestales del trópico son *F. oxysporum* y *F. solani* las más citadas, reservándose los *F. roseum* a los bosques más cerrados, inaccesibles y espesos, pero también *F. tricinctum*, *F. moniliforme*, *F. lateritium*, *F. epishaeria* y *F. rigiduscula* han sido más o menos señalados (STONER, 1981; RAO, 1970).

La ausencia de *Fusarium* en las arenas de playa de Mazarrón (Murcia) sin vegetación, merecería una atención más extensa y profunda, que confirmase o denegase los resultados obtenidos. Es, según refiere STONER (1981), en las arenas de las playas de Hawaii (EE.UU.) donde se han aislado *F. lateritium*, *F. moniliforme*, *F. roseum* y *F. solani*, sobresaliendo, por su frecuencia, este último, obtenido bajo el agua en condiciones de anaerobiosis. Cuando estas tierras litorales tienen una vegetación concreta, como es el caso de los manglares, sobresale *F. oxysporum* por su potente presencia frente a otros *Fusaria* antes citados para las arenas desnudas.

El resto de los suelos incultos analizados presentan, en su práctica totalidad, *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. roseum*. La tremenda sequía padecida durante el período de muestreo y el imparable proceso de desertización a que están sometidas estas tierras, permite una posible comparación con los *Fusaria*

encontrados en diferentes desiertos del mundo: *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. roseum*, *F. tricinatum*, *F. lateritium* y *F. nivale* han sido citados en Irak (ALDOORY *et al.*, 1959), Israel (JOFFE y PALTÍ, 1977) y EE.UU. (RANZONI, 1968).

STONER (1981) apunta que es la comunidad de plantas que habita un territorio incul-tado la que determina la presencia de *Fusarium* en éste. Así se explicaría la presencia de *F. oxysporum* en la tundra (DOMSCH y GAMS, 1972). Y tendría una interpretación en el apreciable efecto rizosférico ejercido por plantas no hospedantes (tomillo, romero, jara, encina y retama) medido para sierra de Espuña.

Pero hay, sin embargo, excepciones concre-tas: los suelos de brezo (*Calluna*, spp.) de las Islas Británicas parecen estar exentos de *Fu-sarium* (PARK, 1963; SEWELL, 1959b; THORN-TON, 1956). El hecho tiene una coincidencia con las tierras de brezo de Galicia, donde a pesar de existir pinares, la insistente ausen-cia de los *Fusaria* va pareja a los múltiples muestreos practicados (TELLO, datos no pu-blicados). No es, en general, lo ocurrido en los análisis presentados para Murcia compa-rable a los montes de Pontevedra (Galicia), pero la ausencia de *Fusarium* en las laderas de la Sierra de Taibilla merecería una aten-ción más detenida.

Parte IV

Indagaciones sobre la fase no parasitaria de *F. oxysporum*

INTRODUCCION

Una comparación entre los trabajos realizados sobre *Fusarium oxysporum* ilustra sobre el pequeño número de aquellos que abordan el comportamiento saprofítico en el suelo de los antiguos miembros de la sección Elegans. Hay, sin embargo, ejemplos de autores que han consagrado una parte importante de su trayectoria profesional al tema. Así, PARK, en el Reino Unido; SNYDER y NASH, en USA, y sin agotar la lista, la preocupación mostrada por los investigadores indúes en el Simposio sobre «Pathological wilting of plants», celebrado en Madrás (Indias) durante el año 1971.

La cuestión es, sin duda, importante y a la vez difícil, por la propia opacidad del medio suelo, que imposibilita una experimentación capaz de remontar la voluntad de la persona que se consagra a este tipo de paciente observación, casi benedictina. Desde 1979, y con periodicidad trianual, se ha dedicado una parte importante del tiempo a esta tarea, desarrollada en el marco de la Station de Recherches sur la Flore Pathogène dans le sol (INRA-Dijon, Francia). Los resultados presentados a continuación son el fruto de tales investigaciones, que tienen un norte común con el de otros especialistas. Orientación cuya formulación podría ser planteada así: ¿tienen los *Fusarium oxysporum* una capacidad saprofítica como para considerarlos verdaderos «hongos habitantes del suelo»?

Los trabajos de TRAMIER *et al.* (1979), ALABOUVETTE *et al.* (1982, 1984), COUTEAUDIER y ALABOUVETTE (1981), GROUET y BEDIN (1979), participan todos de la idea de los primeros, surgida del estudio del modelo clavel *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*: «la modificación de los métodos culturales y, en particular, las en-

miendas orgánicas excesivas permiten la evolución de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, que de otra manera se mantiene sin manifestar sus capacidades infecciosas.» Hay, en los capítulos anteriores de este trabajo, una tendencia que puede ir en un sentido análogo al expresado por los investigadores franceses. Así, la flora Fusárica es netamente menor en los suelos de los tomates y en las tierras incultas que en aquellos terrenos plantados con clavel, en los cuales las aportaciones de materia orgánica son muy elevadas. Aunque esta generalización ha sido particularizada por otros en trabajos puntuales, con resultados contradictorios, no deja de tener un fondo importante: el papel de la materia orgánica sobre la micoflora telúrica.

PARK (1959) escribía, concluyendo sus experiencias, de la siguiente manera: «en un suelo normal, sin materia fresca descomponible, el hongo (*F. oxysporum*) sobrevive en forma de clamidosporas, independientemente de que éste sea introducido en áquel en forma de micelio o de conidias.» En un trabajo anterior, este mismo autor (PARK, 1958), muestra cómo el micromiceto tiene una elevada habilidad para la competición saprofítica («competitive saprophytic ability»), que permitiría considerarlo como un habitante del suelo. El autor precisa cómo esta capacidad la expresa *F. oxysporum* bajo ciertas condiciones: puede colonizar la materia orgánica muerta solamente en los estadios muy tempranos de su descomposición, lo que le valió el calificativo de «sugar fungus», aunque PARK (1959) prefiere denominarlo como «pionero», reconociéndole algún éxito en la competición con los saprofitos del suelo. Los trabajos de DAVET (1976) sobre tomate, y el de LECHÂPPE (1986) subrayan bien esta idea, que más radicalmente expuesta

por VENKATA RAM (1978), lleva a considerar a *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* como «soil inhabiting fungi» en el estricto sentido dado por GARRET (1956), al afirmar que el hongo es capaz de extenderse en el suelo creciendo sobre soportes orgánicos.

Son MARZIANO *et al.* (1984) quienes recogen otra vertiente del tema, que resumidamente podría expresarse así: los macroconidios de *Fusarium* en el suelo no estéril se convierten, rápidamente y en un porcentaje elevado, en clamidosporas. A pesar de ello, los macroconidios de algunas especies del género pueden germinar en el terreno, y producir, inmediatamente, en el tubo germinativo una clamidospora. Esta efímera fase saprofítica fue definida por GARRET (1970) como «oportunismo parasitario». De esta idea participan no pocos de los trabajos más relevantes sobre el tema (NEWCOMBE, 1960; KOMADA, 1976; SEQUEIRA, 1962; GRIFFITHS, 1973; NASH *et al.*, 1961; SCHIPPERS y VOETBERG, 1969; SMITH, 1977). Idea que, interpretada por MARZIANO *et al.* (1984), podría expresarse de la siguiente manera: la transformación de macroconidios en clamidosporas constituye una suerte de inversión del ciclo, de notable importancia para la supervivencia. Una clamidospora puede germinar, por ejemplo, como respuesta a una falsa señal, y el protoplasma sobrevive reconvirtiéndose en clamidospora. El fenómeno es un notable ejemplo de plasticidad fenotípica.

Es lugar común, como acaba de exponerse, considerar a los *Fusarium oxysporum* dotados de un pobre poder saprofitario, debido a su escasa habilidad competitiva. De esa manera, el hongo permanece durmiente en forma de clamidosporas, que germinan en respuesta a estímulos nutritivos (GRIFFITHS, 1973). Estímulos provenientes no sólo del hospedador sensible, sino de otros no compatibles, como malas hierbas y otros cultivos (KALAYANASUNDARAM *et al.*, 1978; BANIHASHEMI, 1968). La influencia en la multiplicación de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* de los restos de cosechas no sensibles ha sido puesta de manifiesto por SMITH y SNYDER (1975), al comprobar cómo el rastrojo labrado de cereales aumentaba la población, en el suelo, del patógeno vascular del algodón. Este hecho, que significa una capacidad saprofítica neta

del micromiceto, no responde al reto lanzado por RAO (1978) cuando instaba a aportar conocimientos sobre el comportamiento de *F. oxysporum* en la interfase suelo-raíz del hospedador, sin duda, con una gran importancia en la infección y, por ende, en la enfermedad.

El trabajo que se expone en las páginas siguientes pretende aportar alguna luz sobre el comportamiento del inóculo de diversas formas especializadas de *Fusarium oxysporum*, algunas saprofitas y otras no patógenas de *Fusarium solani*. Conocimiento que incide sobre las variaciones de estos hongos en diferentes suelos y sustratos, tratados de diferentes maneras.

RESULTADOS

Tres aspectos del saprofitismo de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* han sido abordados: La conservación durante largos períodos en anhidrobiosis, utilizando el talco como soporte; la persistencia en el suelo desnudo de los microconidios, y la multiplicación de los hongos en diferentes sustratos.

A) Conservación de *F. oxysporum* f. sp. *melonis* en el talco

El conjunto de observaciones han sido realizadas con un inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, incorporado al talco 17 meses antes, y conservado en el laboratorio desde esa fecha. La densidad de inóculo, determinada por la técnica de suspensiones-diluciones sucesivas en un medio agar-malta, era de 55.10^3 propágulos por g. de talco seco. Recién preparado, la concentración de inóculo era del orden de 60.10^4 .

La observación directa del talco coloreado con azul de anilina reveló la presencia de tres tipos de propágulos: *macroconidios*, en una débil proporción; *microconidios* y *clamidosporas*. Bajo el término microconidios se agruparon los típicamente unicelulares y las formas *intermedias*, más alargadas y con un tabique. Todas estas conidias mostraron una pared delgada, no engrosada, y un contenido débilmente coloreado. La denominación de

clamidospora acoge todos los propágulos, presentando una doble pared neta y un contenido celular que se coloreaba intensamente, cualquiera que fuere su forma o su presumible origen. En efecto, si la mayoría son de forma globosa, con un diámetro comprendido entre 8 y 10 μ , otros propágulos, de menor tamaño, poseían la forma ovoide de los microconidios, pero con su pared engrosada. Estos últimos podrían ser clasificados como *microclamidosporas*, según el término acuñado por SEQUEIRA (1962).

En el cuadro 74 puede apreciarse que los microconidios no transformados constituyen la fracción más importante, tanto en el talco seco como en el humedecido, para observar la germinación. Es, efectivamente, muy importante determinar el poder germinativo de los microconidios conservados en estado de anhidrobiosis después de 17 meses. El cuadro 75 indica que los microconidios mantienen una buena germinabilidad, alcanzando a un 68 por 100 después de 19 h. de incubación, a 25°C., en agar-agua. Es conveniente indicar, sin embargo, que en estas condiciones, los tubos germinativos producidos por las clamidosporas son más vigorosos que los emitidos por los microconidios. Su longitud media es, respectivamente, de $657 \pm 8 \mu$ y de $193 \pm 32 \mu$. En un caso se observó la formación de conidios en un tubo germinativo procedente de una clamidospora. En el talco humedecido en contacto con una raíz de melón el porcentaje de germinación de los microconidios alcanza el 95 por 100 después de 48 h. de incubación. Estos resultados prueban que la germinación de microconidios, como el de clamidosporas, es estimulado por la proximidad de una raíz de melón.

Cuadro 75

PORCENTAJE DE GERMINACION DE MICROCONIDIOS Y DE CLAMIDOSPORAS, CONSTITUTIVOS DEL INOCULO, DESPUES DE 19 h. DE INCUBACION EN AGAR-AGUA Y 48 h. EN LA PROXIMIDAD DE UNA RAIZ DE MELON

	Microconidios	Clamidosporas
Suspensión del talco en agar-agua (19 h. de incubación)	68	52
Talco húmedo en contacto con una raíz de melón (48 h. de incubación)	95	76

B) Persistencia de microconidios de *Fusarium oxysporum* en el suelo

B.1. Caracterización de la población de *F.o. f. sp. lycopersici* en el medio de cultivo y en el talco

Muestreos del medio de cultivo fueron efectuados, después de una semana de incubación, antes de proceder a la mezcla de propágulos con el talco. La población de *F.o. f. sp. lycopersici* estuvo, casi exclusivamente, constituida por microconidios, tabicados o no. Después de un mes de conservación en el talco, la estructura morfológica de la población evolucionó muy poco, representando los microconidios más del 90 por 100 de los propágulos observados (cuadro 76).

Puede apreciarse un 14 por 100 de microconidios con pared engrosada, lo que puede constituir verosimilmente la primera etapa de la transformación en microclamidospo-

Cuadro 74

PORCENTAJE DE DIFERENTES TIPOS DE PROPAGULOS QUE CONSTITUYEN EL INOCULO TALCO. OBSERVACIONES EN TRES CONDICIONES EXPERIMENTALES DIFERENTES

	Macroconidios	Microconidios	Clamidosporas
Talco seco	2	55	43
Suspensión del talco en agar-agua	0	54	46
Talco húmedo en contacto con una raíz de melón	4	50	44

ras. Existe, sin embargo, y es necesario subrayarlo, una gradación continua entre microconidios de pared delgada y clamidosporas con doble pared, de tal suerte que la distinción no es siempre fácil. La figura 5 es una ilustración de los diferentes tipos de propágulos observados. Es importante hacer notar cómo la proporción de clamidosporas aumenta con la permanencia en el talco: para la misma cepa de *F.o. f. sp. lycopersici*, a los seis meses de conservación la proporción aumentó hasta un 22 por 100.

Cuadro 76

PORCENTAJES DE DIFERENTES TIPOS DE PROPAGULOS DE *F.O. F. SP. LYCOPERSICI* OBSERVADOS EN EL MEDIO DE CULTIVO, DESPUES DE 8 DIAS DE INCUBACION, Y EN EL TALCO UN MES DESPUES DE MEZCLAR LOS PROPAGULOS PRODUCIDOS EN CULTIVO AGITADO (DENSIDAD DE POBLACION = 10^7 PROPAG./G. TALCO)

Diferentes tipos de propágulos	En el medio de cultivo	En el talco un mes después de la infección	
Microconidios	82	78	pared normal 71 pared engrosada 7
Microconidios monoseptados	15	16	pared normal 9 pared engrosada 7
Clamidosporas	1	6	globosas 2 microclamidosporas 4
Fragmentos miceliares	2	—	

El cuadro 77 expresa el porcentaje de propágulos que presentaron un tubo germinativo, después de 19 h. de incubación en agar-agua, a 25°C, detallando cada tipo de propágulos. En estas condiciones, la tasa de germinación media es del 58 por 100, y los microconidios germinan más que las clamidosporas.

Los resultados hasta ahora presentados fueron, también, observados para otras 5 cepas de *F. oxysporum* (*F.o. f. sp. lini*, *F.o. f. sp. dianthi*, *F.o. f. sp. melonis* y 2 aislamientos no patógenos) y 2 cepas de *Fusarium solani*, producidas y conservadas en idénticas condiciones.

B.2. Caracterización de la población de *F.o. f. sp. lycopersici* presente en el suelo, un mes después de la infección artificial

El inóculo de *F.o. f. sp. lycopersici* anteriormente descrito fue utilizado para infectar un suelo a la concentración teórica de 10^5 propágulos/g. de suelo. El inóculo fue introducido, por una parte, en el natural, y, por otra, en un suelo tratado con vapor de agua (100°C, 30 min.), de forma que se eliminase la mayor parte de su microflora. Los suelos inoculados se incubaron húmedos a la temperatura del laboratorio y a un potencial hídrico de -1 bar (aproximadamente). Las observaciones resumidas en el cuadro 78 se realizaron después de 1 mes de incubación.

Cuadro 77

PORCENTAJES DE GERMINACION DE PROPAGULOS DE *F.o. F.sp. LYCOPERSICI*, CONSERVADOS EN EL TALCO DURANTE 1 MES, DESPUES DE INCUBARLOS 19 h. EN LA SUPERFICIE DE UNA PLACA DE AGAR-AGUA

	Tasa de germinación por 100 propágulos observados	Porcentajes de germinación por cada tipo de propágulos
Microconidios	49	63
Microconidios monotabacados	7	44
Clamidosporas	2	33
TOTAL	58	

En el suelo tratado con vapor se observaron el 47 por 100 de microconidios con pared delgada y el 53 por 100 de clamidosporas. La población de microconidios es abundante, aunque la proporción de clamidosporas sea netamente más importante que en el talco de origen. En el suelo no tratado las observaciones son más difíciles, tanto en su realización como en su interpretación. Sin embargo, mientras en el suelo no infectado sólo se encontraron el 6 por 100 de formas microconídicas, el suelo infectado revela un 27 por 100. Este resultado indica, pues, que todos los microconidios no han sido lisados al contacto con la microflora telúrica.

Cuadro 78

PORCENTAJES DE DIFERENTES TIPOS DE PROPAGULOS OBSERVADOS UN MES DESPUES DE LA INFECCION DEL SUELO CON UN INOCULO DE *F.o. F. sp. LYCOPERSICI* CONSERVADO EN EL TALCO (densidad de inóculo = 10^5 propágulos/g. de suelo)

	Número propágulos observados	Porcentajes de diferentes tipos de propágulos	
		Microconidios	Clamidosporas
Suelo tratado con vapor e infectado	232	47	53
Suelo no tratado e infectado	200	27	73
Suelo no tratado y no infectado	49	6	94

Cuadro 79

PORCENTAJES DE GERMINACION DE PROPAGULOS DE *F.o. F. sp. LYCOPERSICI* GERMINADOS DESPUES DE 24 h. DE INCUBACION EN LOS SUELOS: a) EN PRESENCIA DE UNA RAIZ DE TOMATE (RIZOSFERA); b) ABONADOS CON GLUCOSA (1 mg/g. suelo)

	Número propágulos opservados	Porcentajes de propágulos germinados	
		Microconidios	Clamidosporas
Suelo tratado con vapor			
rizosfera	280	17	10
glucosa	261	26	8
Suelo no tratado			
rizosfera	298	7	7
glucosa	303	14	11

Estas observaciones, sin embargo, no permiten saber si estos conidios son o no capaces de dar nacimiento a un tallo. Por esta razón, se intentó inducir su germinación mediante el cultivo de una plántula de tomate y por adición de glucosa a la dosis 1 mg/g. de suelo. Los resultados se han resumido en el cuadro 79.

Las observaciones realizadas después de 19 y 48 h. de incubación proporcionaron resultados similares. Es, por tanto, necesario admitir, después de los resultados presentados, que una fracción no despreciable de la población de gérmenes de *Fusarium* está constituida por microconidias capaces de germinar un mes después de su introducción en el suelo. En las condiciones experimentales, el aporte de glucosa a razón de 1 mg/g. de suelo es más eficaz para inducir la germinación de estos propágulos que la presencia de una joven raíz de plántula de tomate.

Sin embargo, se carece de seguridad sobre el origen de estos microconidios. Es plausible que procedan del inóculo inicial; pero no

puede excluirse que hayan estado formados en el suelo después de un desarrollo saprofitico y de una esporulación de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* una vez introducido en el suelo. El hecho de haber observado la formación de fiálidas y de conidias a partir de tubos germinativos procedentes de clamidosporas, avalan la reflexión. El fenómeno parece bastante excepcional y sólo se ha visualizado después de abonar el suelo con glucosa. En esta situación, el 3 por 100 de los tubos germinativos observados en el suelo tratado con vapor de agua y el 1 por 100 en el suelo no tratado, presentaron fiálidas. Así pues, parece existir una posibilidad de formación de microconidios en el suelo en presencia de una fuente nutritiva importante.

C) *La multiplicación de F. oxysporum y de F. solani en diferentes suelos y sustratos en ausencia de plantas*

En el epígrafe anterior se especulaba sobre la posible multiplicación saprofitica de *F.*

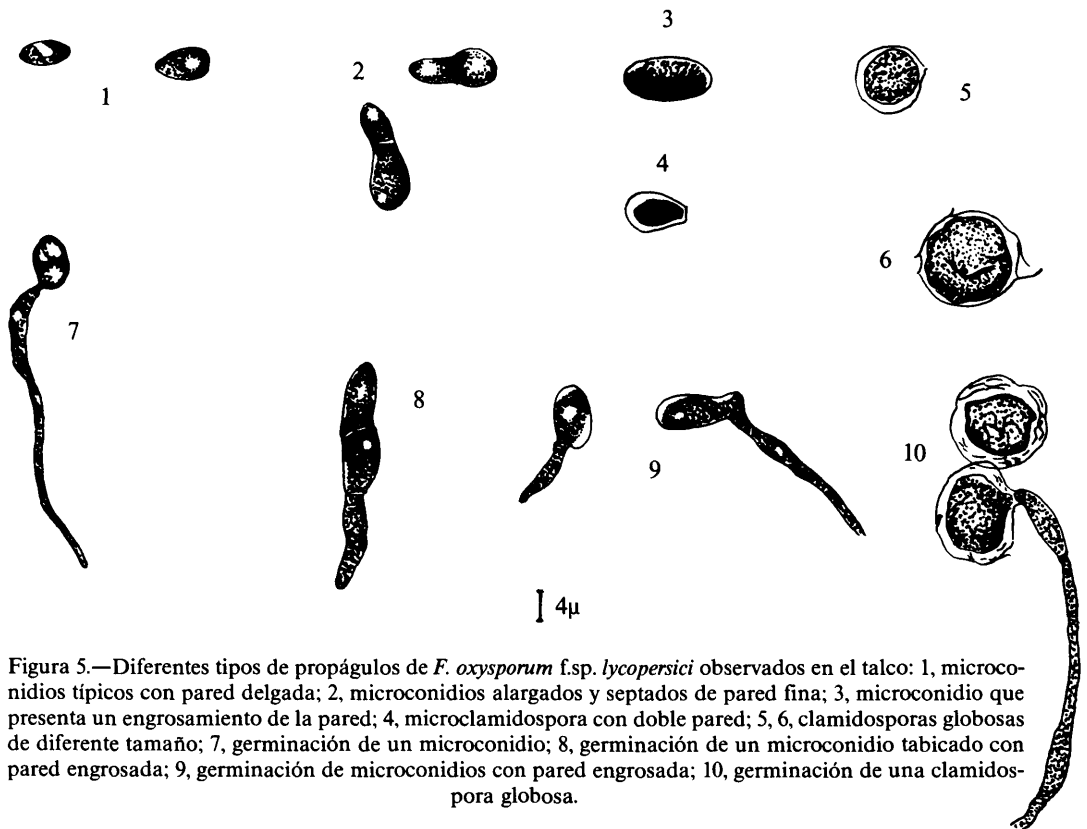


Figura 5.—Diferentes tipos de propágulos de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* observados en el talco: 1, microconidios típicos con pared delgada; 2, microconidios alargados y septados de pared fina; 3, microconidio que presenta un engrosamiento de la pared; 4, microclamidospora con doble pared; 5, 6, clamidosporas globosas de diferente tamaño; 7, germinación de un microconidio; 8, germinación de un microconidio tabicado con pared engrosada; 9, germinación de microconidios con pared engrosada; 10, germinación de una clamidospora globosa.

oxysporum f.sp. *lycopersici* en el suelo, en base a la observación sobre la esporulación del hongo cuando se abonaba con glucosa. En este apartado se presenta la multiplicación de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en distintos suelos y sustratos.

C.1. Multiplicación de *F. solani*

ALABOUVETTE *et al.* (1984) demostraron cómo un inóculo de *F. oxysporum* f.sp. *melonis* conservado en el talco se instala en el suelo a un nivel 10 veces menor que aquel al cual fue introducido. Esta disminución de la densidad de la población podría, verosímelmente, traducir la lisis de los propágulos cuando entran en contacto con la microflora telúrica. Pero cabría preguntarse si además de la lisis podría existir multiplicación del inóculo añadido, derivando hacia otras formas morfológicas del hongo diferentes de las constitutivas del talco.

Esta cuestión ha sido abordada con *Fusarium solani* —que sufre el mismo fenómeno enunciado— y tres soportes: perlita embebida en medio czapeck líquido y un suelo desinfectado con vapor de agua (autoclave) 1 y 3 veces. La cepa no patógena del hongo fue introducida en los tres supuestos experimentales a la dosis de 10^5 propágulos/g. de suelo o perlita. Efectuada la inoculación, se mantenían los suelos y sustrato en botes herméticos, para evitar la pérdida de humedad, a 25° C. Las lecturas diarias durante los diez primeros días han permitido una aproximación a la transformación del inóculo, que permanecía sin modificarse después de la décima lectura hasta el final de la experiencia, veintiún días después de comenzada.

a) Los resultados obtenidos para la perlita embebida en czapeck se han detallado en el cuadro 80 y en la figura 6. El inóculo talco utilizado tenía la siguiente composi-

ción en tipos de propágulos: Macroconidios, 18 por 100; Microconidios (mono y bicelulares), 63 por 100; Clamidosporas, 19 por 100.

Introducido el inóculo talco, es evidente la disminución del número de propágulos visualizable, para la misma cantidad de sus-

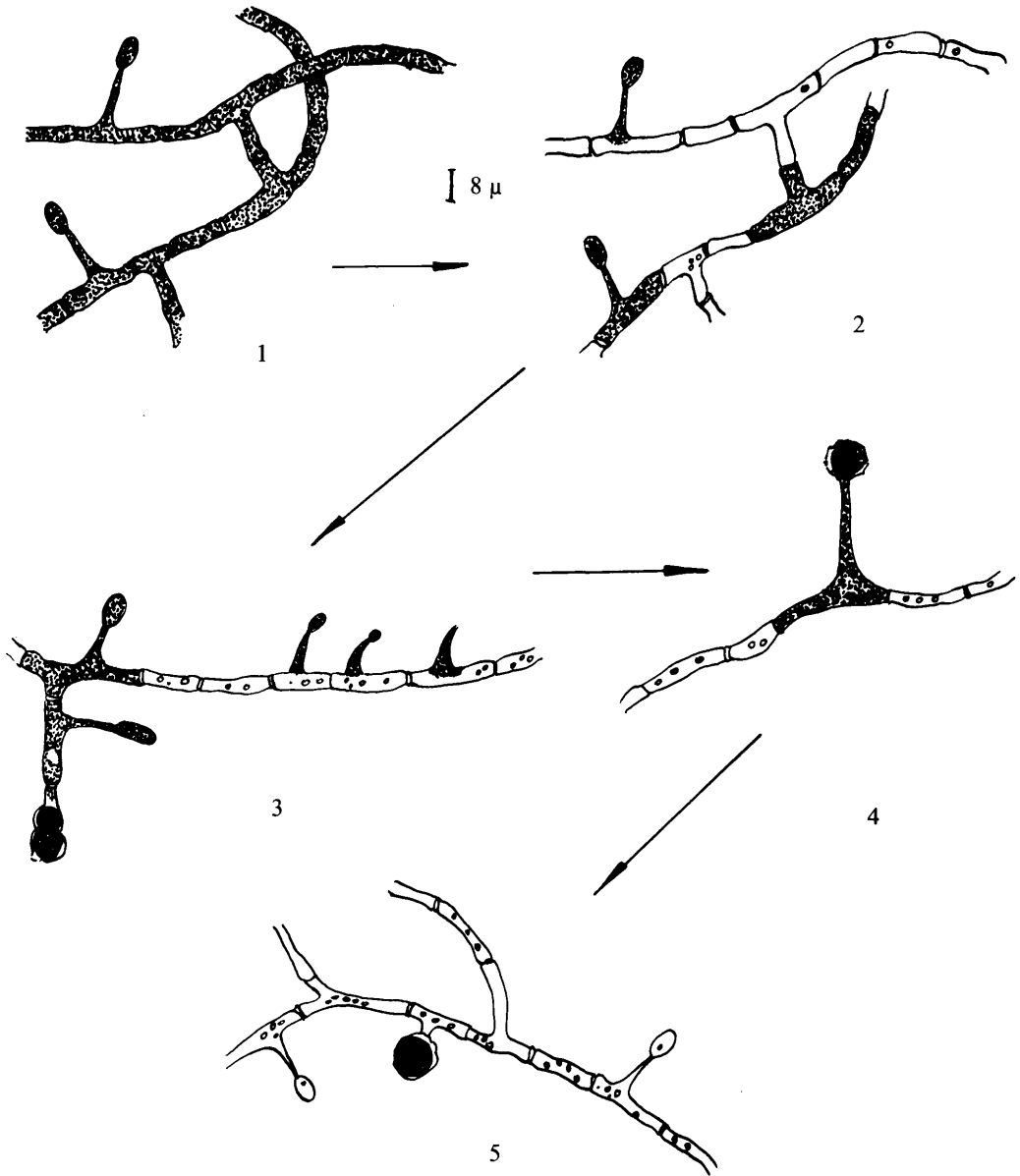


Figura 6.—Multiplicación de *F. solani* en perlita embebida en czapect líquido.

1, 2: Desde el 2.º y 4.º día de incubación se visualizan filidias bien teñidas, portando conidios.

3, 4: La formación de clamidosporas se observa a partir del 4.º día de incubación.

5: A partir del 8.º día de incubación las filidias y el micelio aparecen sin teñir (vacíos de citoplasma). Sólo aparecen intensamente coloreadas las clamidosporas.

Cuadro 80

**MULTIPLICACION DE *F. SOLANI* EN PERLITA EMBEBIDA EN CZAPECK LIQUIDO.
PORCENTAJE DE PROPAGULOS OBSERVADOS A LO LARGO DEL TIEMPO**

Tiempo de observación (días)	Núm. propágulos observados	Macroconidios	Microconidios	Clamidosporas	Trozos de micelio		
					Totales	Con fiálidas (*)	
1	34	6	44	29	21	—	
2	414	19	5	1	68	7	
3	1.905	84	13	—	3	1	
4	1.599	81	13	3	3	0,2	
6	2.986	67	9	22	2	—	
7	2.909	60	10	23	7	—	
8	2.865	69	9	18	4	—	
10	2.090	65	13	22	—	—	
21	2.011	53	5	42	—	—	
Composición del inóculo talco		1.547	18	63	19	—	—

(*) Pudieron observarse hifas portadoras de varias fiálidas.

trato leída. Disminución marcada para microconidios y macroconidios, tal vez compensada por la aparición de los filamentos miceliarios presentes a las 24 h. de incubación. Es, por tanto, imaginable una desaparición de propágulos en las primeras 48 h., tal vez los más envejecidos. Después del primer día de incubación se constata la presencia de micelio portador de las primeras fiálidas formadoras de conidios. Conidiogénesis activa durante los días 2, 3 y 4, acompañada de un notable incremento de los macroconidios (figura 6, 1, 2, 3), seguramente producidos sobre las bien teñidas fiálidas, a pesar de que algunas células hifales comienzan a estar vacías, después de los dos primeros días de incubación. no hay, a partir del cuarto día, aumento en el número de conidios, y son visualizados conidióforos vacíos, incluso con las conidias formadas, pero vacías, sobre filamentos sin citoplasma. Las clamidosporas comienzan a ser vistas a partir de las 96 h. de la inoculación, sólo en micelio (figura 6, 3 y 4) y su número crece más moderadamente que el de macroconidios... Al cabo de 21 días las imágenes observadas son las diseñadas en la figura 6, 5, y el inóculo introducido se ha transformado quedando constituido, casi exclusivamente, por macroconidios y clamidosporas (cerca del 95 por 100 del total). Los macroconidios tienen el aspecto presen-

tado en la figura 7, 1, en ellos pueden apreciarse células no teñidas por el azul del colorante. Cuando se intentó inducir a su germinación y la de las clamidosporas mediante la adición de glucosa (0,5 g. glucosa/100 g. de sustrato) no se consiguió que emitiesen filamento alguno, pero sí pudo apreciarse en los conidios (macroconidios y formas intermedias) un rápido, espectacular y generalizado hinchamiento seguido de su transformación en clamidosporas, tal y como se ha diseñado en la figura 7, 2, ocurrido entre las 24 y 120 h. de incubación.

La experiencia fue repetida para *F. oxysporum* f.sp. *lini*, encontrándose, globalmente, resultados análogos a los obtenidos para *F. solani*. Sin embargo, algunas diferencias fueron notadas, y su detalle no carece de interés. Las fiálidas «activas», bien teñidas, aparecen durante un período más dilatado, desde el 2.º al 8.º días después de la inoculación. Las clamidosporas empiezan a visualizarse a partir del 6.º día, originadas tanto en el micelio como en microconidios (microclamidosporas), bien que sean casi totalmente predominantes las miceliarias y globosas. Al cabo de 21 días, en el micelio de *F. oxysporum* pueden observarse porciones todavía «activas» si se juzga por la tinción del citoplasma, cosa que no ocurrió con *F. solani*. Diferencia que debe sumarse a la no formación de macroconidios

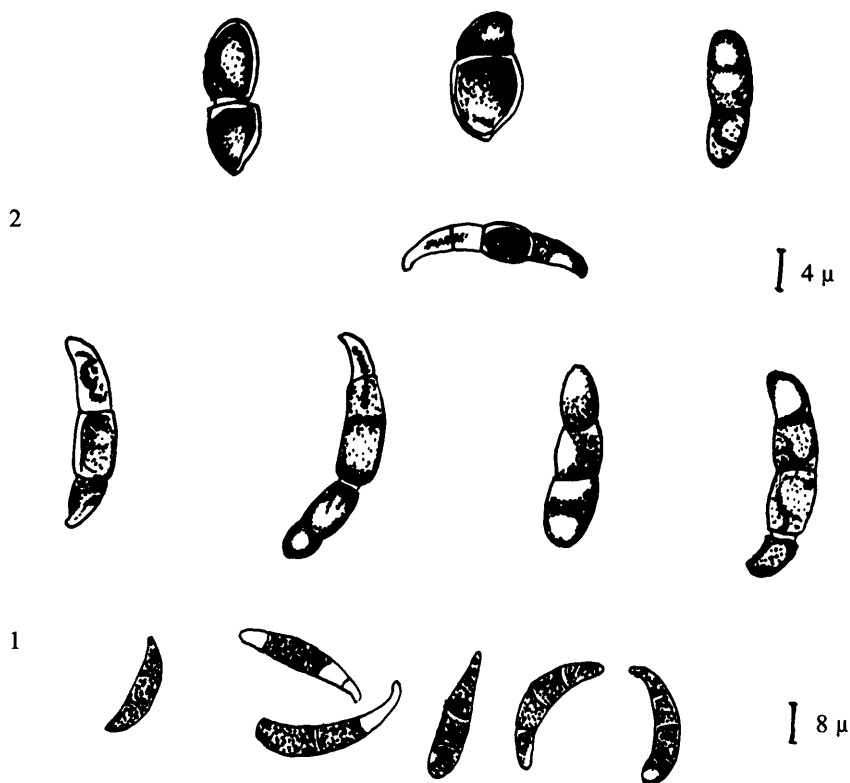


Figura 7.—Macroconidios de *F. solani* en perlita embebida en czapeck líquido.

- 1) 21 días de incubación.
- 2) 21 días de incubación y 5 días después de añadir glucosa al sustrato (0,5 g. glucosa/100 g. sustrato).

en *F. oxysporum*, pero sí una abundantísima proporción de macroconidios unicelulares (79 por 100) frente a una menor cantidad de clamidosporas (21 por 100). Los intentos de inducir la germinación de los propágulos a los 21 días de iniciada la experiencia, por adición de glucosa, tal y como se hizo para *F. solani*, también aportó una pequeña diferencia: entre el 2.º y 5.º día de observación, germinaron entre el 30 y el 50 por 100 de microconidios y clamidosporas, pero el filamento emitido fue muy corto, muy grueso, muy tabicado y se produjo, igualmente, un aumento notable de volumen de estos esbozos germinativos que no crecieron.

b) Los resultados obtenidos para la incubación de *Fusarium solani* en los suelos desinfectados en autoclave 1 y 3 veces, mostraron

diferencias entre ellos. En el caso de una sola «dosis» de vapor, pudo observarse un comportamiento distinto con respecto al tratamiento con tres «dosis», que estuvo más próximo a la multiplicación en perlita embebida en czapeck líquido.

Los resultados se presentan en el cuadro 81, donde para mayor facilidad se han resumido los datos para ambos tratamientos, una desinfección («dosis») en el autoclave (30 min., 120° C) y tres desinfecciones consecutivas, durante los 13 días que duraron las observaciones.

Ateniéndose al tratamiento tres «dosis», la descripción posible a partir del cuadro 81 y de la figura 8, teniendo en cuenta que el talco introducido tenía la composición detallada en el cuadro 78, podría ser la siguiente:

Cuadro 81

MULTIPLICACION DE *F. SOLANI* EN EL SUELO UNA VEZ (A) Y TRES VECES (B) TRATADO CON VAPOR. PORCENTAJE DE PROPAGULOS OBSERVADOS A LO LARGO DEL TIEMPO

Tiempo de observación (días)	N.º total propágulos		Macroconidios		Microconidios		Clamidosporas		Fragmentos miceliars			
	A	B	A	B	A	B	A	B	A		B	
									L	L̄	L	L̄
1	10	64	—	1	10	22	20	11	—	70	—	66
2	8	414	—	1	37	1	—	—	12	51	10	88 (*)
3	9	239	—	3	—	—	44	39	—	56	37	21
4	2	238	—	9	—	—	—	41	—	100	34	16 (*)
5	3	329	—	—	—	—	33	38	—	67	39	23 (*)
6	0	377	—	8	—	—	—	59	—	—	17	16 (*)
7	17	176	—	5	12	—	—	72	70	18	21	2 (*)
8	7	134	—	3	—	1	29	66	28	43	22	8 (*)
9	27	191	—	3	—	—	67	71	11	22	22	4
11	34	176	—	1	—	—	85	86	12	3	12	1
12	20	264	—	1	5	—	95	75	—	—	15	9
13	56	155	—	1	—	—	68	62	9	23	24	13

(*) Observación de conidiogénesis.

L̄ = Sin lisis.

L = Con lisis total o parcial.

Hay, como en el medio perlita + czapeck líquido, una notable disminución de la cantidad de inóculo, apreciable 24 h. después de introducir el inóculo. A las 48 h. se observan numerosos fragmentos miceliars, bien teñidos y vigorosos que, en algunos casos, exhiben esbeltas filíidas con conidios (figura 8, 1), fenómeno detectable hasta el 6.º día, a lo que puede responder el incremento de macroconidios visualizados entre el 4.º y 7.º días (figura 8, 2), que en ninguna ocasión se vieron germinar o transformarse en clamidosporas, aunque su número disminuye desde el 6.º día de observación. Las clamidosporas incrementan su presencia conforme transcurre el tiempo de incubación. También siguen esta tónica las hifas miceliars, cuyo origen no fue posible ver en ninguna ocasión, aunque el incremento de la lisis en éstas es más patente a partir del 6.º día. La existencia de la multiplicación del inóculo por la producción de conidias no es exclusiva: un único filamento miceliar puede producir varias clamidosporas (figura 8, 4, 5). Una aproximación a esta realidad se ha resumido en el cuadro 82.

Al cabo de trece días de experiencia, todavía pueden visualizarse fragmentos miceliars completamente teñidos que pueden estar indicando una activa transformación del

inóculo. Imagen que puede completarse con la abundante presencia de clamidosporas, y la ausencia de los otros propágulos introducidos con el talco.

Estas observaciones, inevitablemente, establecen un paralelismo con las realizadas en la perlita embebida en czapeck líquido. La multiplicación del inóculo ocurre en ambos soportes de manera análoga, aunque menos abundantemente en el suelo tres veces desin-

Cuadro 82

FRECUENCIA OBSERVADA DE FORMACION DE VARIAS CLAMIDOSPORAS EN UN MISMO FILAMENTO, POR UNA CEPA DE *F. SOLANI* INOCULADA EN UN SUELO DESINFECTADO 3 VECES CON VAPOR DE AGUA

Núm. de clamidosporas en un filamento miceliar	Frecuencia de observación (núm. de veces)
20	1
10	1
8	1
7	3
6	1
5	5
4	7
3	12
2	7

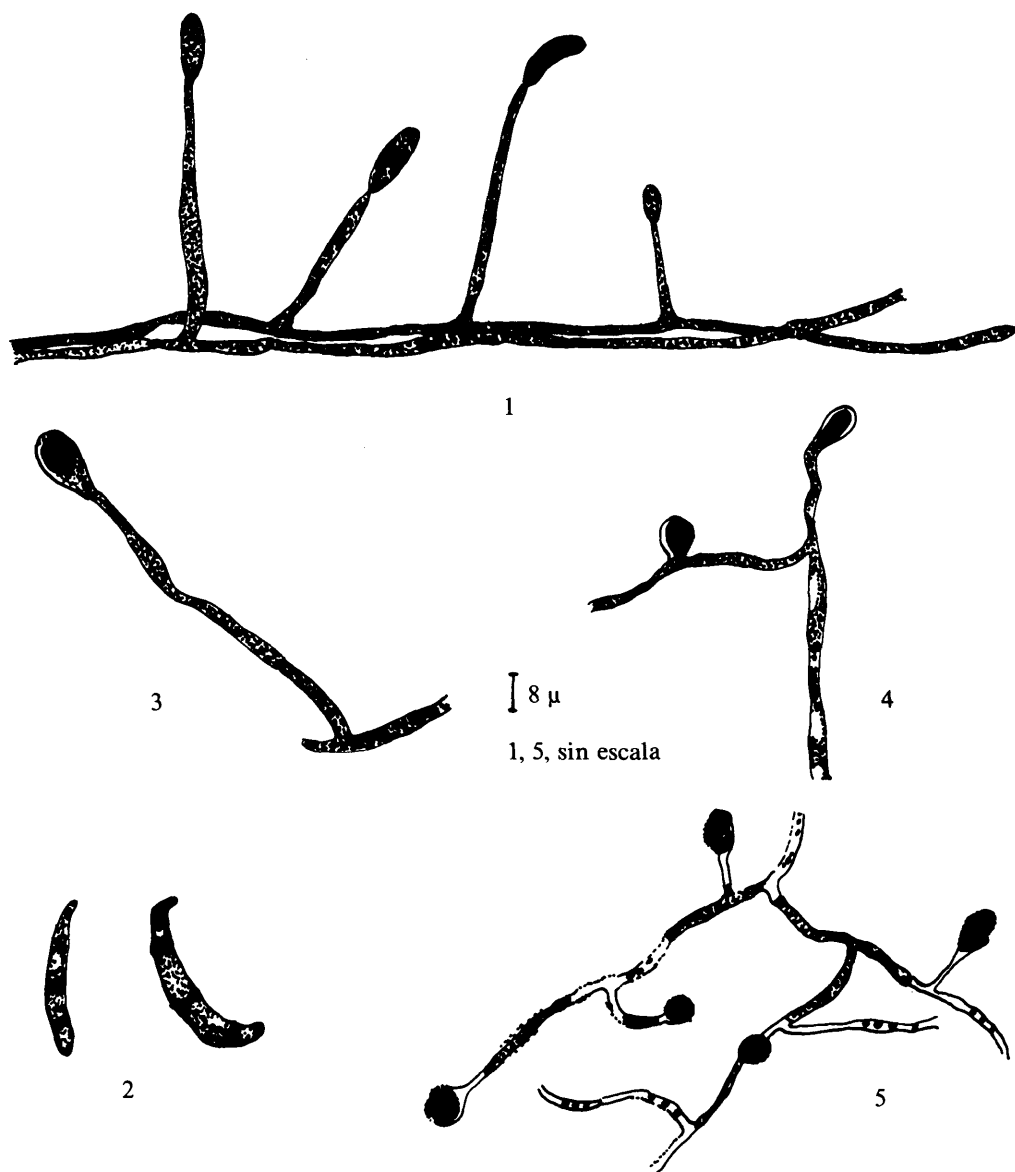


Figura 8.—Multiplicación de *F. solani* en un suelo tratado tres veces con vapor de agua.
 1: Desde el 2.º al 6.º día se visualizan esbeltas fiálidas portadoras de conidios.
 2: Macroconidios formados en el suelo, cuya presencia aumenta entre el 4.º y 7.º días.
 3 y 4: Clamidosporas formadas en el suelo, cuyo número aumenta apreciablemente a partir del 3.º día.
 5: Clamidosporas formadas en un mismo filamento. Obsérvese la lisis parcial del micelio.

fectado con vapor de agua. Y hay, obviamente, en ambas experiencias un comportamiento morfológico común: *Fusarium so-*

lani, introducido en el suelo y en el sustrato, disminuye drásticamente su densidad, aseveración basada en la no visualización, funda-

mentalmente, de microconidios y macroconidios. Después, el inóculo se multiplica, durante una primera fase en base a la esporulación en las células conidiógenas típicas de la especie y en menor proporción a la aparición de clamidosporas miceliarias. Forma de multiplicación, esta última, que continúa durante el período restante de observación.

Esta secuenciación puede estar en relación con la cantidad de alimento adecuado, disponible en cada medio, y, por tanto, explicaría, en parte, la multiplicación del inóculo en el suelo desinfectado una sola vez (cuadro 81). Hay, en principio, una diferencia notable entre el número de propágulos contabilizados cuando se aplica uno u otro tratamiento con vapor de agua. El número de propágulos es netamente menor en el suelo una vez desinfectado, como indicando que la lisis ha sido mayor, presumiblemente por la presencia de microorganismos termorresistentes. La ausencia de fiálidas y de conidios establece una diferencia notable, pero permanece la producción de clamidosporas en hifas miceliarias como única, pero cierta, forma de multiplicación del inóculo original.

C.2. *Multiplicación de F. solani y de F. oxysporum en turba y sustrato para uso hortícola*

La experimentación se realizó en una turba rubia, codificada TKS-2, cuyo análisis reveló la siguiente micoflora, 557.10⁴ propágulos de *Penicillium* spp. por g. de turba. Y, en un sustrato enriquecido preparado para cultivo «fuera del suelo», codificado Vapo, y

cuya micoflora fue de 251.10⁴ propágulos de *Penicillium* spp. por g. de sustrato. Las cepas de *Fusarium* estudiadas fueron: una de *F. solani* y otra de *F. oxysporum*, ambas no patógenas, y una de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Las cepas se inocularon a la dosis teórica de 10⁴ propágulos por g. de sustrato, y la multiplicación del inóculo se siguió diariamente durante 6 días, en este tiempo se incubó en el dispositivo de la figura 1, a 25° C y humedad constante.

En el cuadro 83 se presentan los resultados de algunas observaciones para *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*.

Los filamentos germinativos procedentes de microconidios, aseptados y monotabacados (casi los únicos componentes del talco), podían formar desde una a varias fiálidas tal y como se han dibujado en la figura 9.

La diferencia entre ambos sustratos es notoria. Mientras en uno la multiplicación conídica ocurre a lo largo de toda la experiencia, en la turba rubia no pudo apreciarse el fenómeno. En ninguno de los dos soportes pudo observarse la formación de clamidosporas y en el Vapo tampoco se vieron macroconidios. En ambos fue patente la continua lisis parcial de filamentos.

Análogos resultados compusieron el comportamiento de la cepa saprofita de *F. oxysporum* ensayada. No puede decirse lo mismo para el aislamiento de *F. solani*: en ninguno de los sustratos se visualizó formación de conidios ni de clamidosporas. Sin embargo, la lisis fue patente y bastante drástica desde la primera lectura (a las 24 h.) en los filamentos germinativos, tanto que disminuyó en

Cuadro 83

PORCENTAJE DE PROPAGULOS GERMINADOS DE *F. OXYSPORUM* F.SP. *RADICIS-LYCOPERSICI* EN DOS SUSTRATOS DE USO HORTICOLA

Tiempo de incubación (días)	Turba (TKS-2)			Sustrato (Vapo)		
	Total propágulos	Propágulos germinados	Filamentos con fiálidas	Total propágulos	Propágulos germinados	Filamentos con fiálidas
1	593	70	—	1.045	95	4
2	657	81	—	857	97	1
3	570	92	—	824	100	4
4	422	73	—	1.579	96	2
5	355	78	—	1.148	97	6
6	252	77	—	1.105	97	3

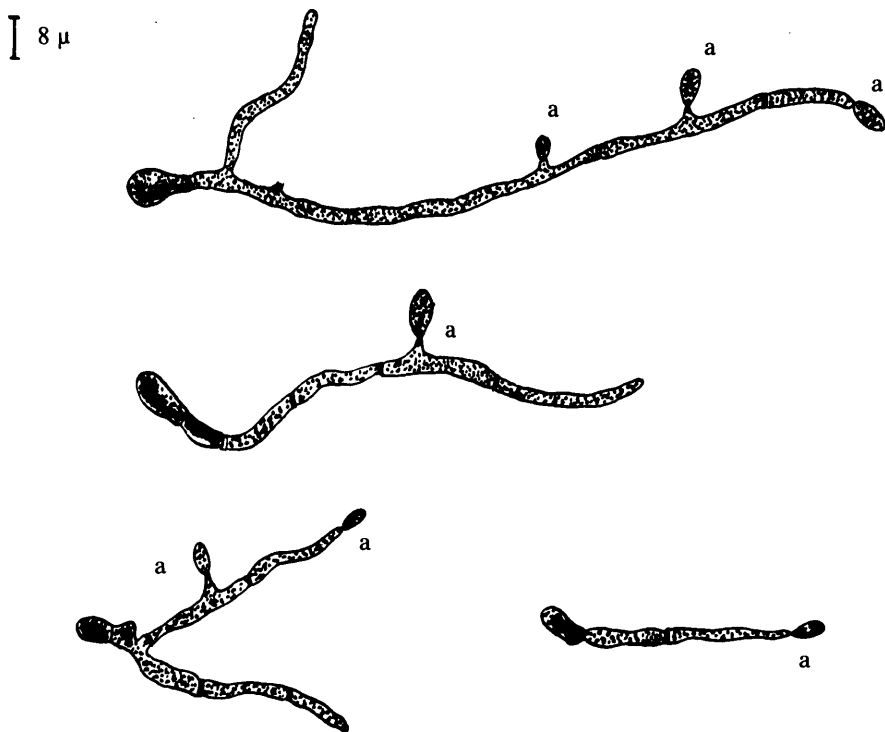


Figura 9.—Multiplicación del inóculo de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* en un sustrato enriquecido de uso hortícola.
a, fiálidas y conidios.

más del 50 por 100 el número de propágulos contabilizados entre el 1.º y 6.º días de experiencia.

La diferencia, en cuanto a la esporulación de *F. oxysporum*, manifestada en la turba rubia y en el sustrato enriquecido, fue eliminada cuando se trató la turba con vapor de agua (3 veces consecutivas en autoclave, 30 min., 120° C). En esas condiciones, las fiálidas y conidios aparecieron a las 22 h. de incubación en la turba codificada como TKS-2.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las observaciones sobre el talco con una cepa de *F. oxysporum* f.sp. *melonis* indican de manera cierta que los microconidios de *Fusarium* se conservan en el talco en estado de

anhidrobiosis, en las condiciones de laboratorio, durante más de 17 meses. Su poder germinativo se mantiene muy elevado, y es comparable, de mayor magnitud, con el exteriorizado por las clamidosporas conservadas en las mismas condiciones. El fenómeno ha sido comprobado, también, para otros *F. oxysporum*: *F.o.* f.sp. *lini*, *F.o.* f.sp. *dianthi*, *F.o.* f.sp. *radicis-lycopersici* y tres cepas no patógenas. Y además para *F. solani*. En el transcurso de la observación desarrollada se han visualizado microconidios de doble pared, asimilables a las microclamidosporas descritas por SEQUEIRA (1962) como microconidios de pared gruesa conservados en el suelo. SCHIPPERS y VOETBER (1969) mostraron la formación de clamidosporas en el suelo por transformación directa, sin germinación, de los microconidios de *F. oxysporum* f.sp. *pisi*, y estos autores indicaron que sus modalidades germinativas no

permiten diferenciarlas de las clamidosporas típicas de la especie. Es verosímil, por tanto, que todos los *F. oxysporum* son, en ciertas condiciones, capaces de dar nacimiento a microclamidosporas. Estas observaciones conducen a reconsiderar el papel de los microconidios en la biología de los *F. oxysporum*. Así, las experiencias aquí presentadas muestran que es falso que sólo las macroconidias y el micelio den lugar a la formación de clamidosporas, constituyéndose éstas en la forma de conservación en el suelo. Esta generalizada forma de pensar, que no de observar, para todos los *Fusarium*, parece proceder de las experiencias llevadas a cabo por NASH *et al.* (1961) con una cepa de *F. solani* f.sp. *phaseoli* que sólo producía macroconidios.

Como clamidosporas fueron denifidas por SNELL y DICK (1957) aquellas «thick walled secondary spores developing from mycelium but not from conidiophores or basidia, usually intercalary». Actualmente, el término no es tan excluyente y han sido reconocidas como tales las formadas también en conidias (RAO, 1978). En este trabajo ha sido adoptada la definición de SCHIPPERS y VAN ECK (1981), que propusieron acoger bajo la denominación de clamidosporas «todo propágulo con pared engrosada, cualquiera que fuere su origen, cuya función esencial es la conservación en el suelo». Aunque su formación a partir de microconidios ha sido señalada por algunos autores (SEQUEIRA, 1962; MESSIAEN *et al.*, 1965; SCHIPPERS y VOETBERG, 1969), la mayoría de éstos consideran que los microconidios de *Fusarium oxysporum* son muy sensibles a la lisis, y desaparecen rápidamente cuando son introducidos en el suelo. Los resultados presentados no permiten sostener esta forma de pensar, puesto que ha sido posible observar, siempre, una proporción no despreciable (25 por 100 en suelo natural) de microconidios con pared delgada, un mes después de su introducción en el suelo. Estos micropropágulos son capaces de germinar y su viabilidad se exterioriza cuando una fuente nutritiva es añadida al suelo. Sin embargo, el hecho de que la proporción de clamidosporas sea mucho más elevada en el suelo que en el talco de origen, indica que los microconidios pueden ser más sensibles a la lisis que

los propágulos de pared gruesa. Estas observaciones microscópicas tienen un paralelismo concordante con los estudios de dinámica de poblaciones realizados por ALABOUVETTE *et al.* (1984). Estos autores demuestran que un inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *melonis* conservado en talco se instala en el suelo a un nivel unas diez veces más débil que aquel al cual fue introducido. Esta disminución traduce, posiblemente, la lisis de propágulos más frágiles cuando son enfrentados a una micoflora telúrica compleja.

Pero, cabría preguntarse, si el fenómeno observado traduce sólo la lisis de propágulos o puede existir una verdadera transformación del inóculo en el suelo o sustrato donde ha sido introducido. La observación en condiciones particulares (abonado con glucosa) de formación de fiálidas y conidias, a partir de tubos germinativos de clamidosporas, puede orientar la matización sobre el papel eventual de los conidios en el ciclo de los *Fusarium oxysporum*. Orientación reforzada por las observaciones de COUTEAUDIER y ALABOUVETTE (1981), que afirman cómo ciertos sustratos orgánicos, particularmente ricos en elementos nutritivos, permitirían el desarrollo saprofitico y la esporulación de los *F. oxysporum* en los suelos en ausencia del hospedador. Esta hipótesis debería ser abonada en el caso de sustratos particulares, tales como las turbas enriquecidas utilizadas como soportes a los cultivos hortícolas, que presentan, en general, una gran receptividad a las «Fusariosis vasculares».

La tercera parte del trabajo aquí presentado indaga sobre esta hipótesis. La multiplicación de *F. solani*, en tres condiciones diferentes, evidencia cómo hay distintas secuencias de transformación del inóculo, según sean aquéllas. En efecto, para un suelo tres veces tratado con vapor y sustrato enriquecido con czapeck, las cosas ocurren de análoga manera: al introducir el inóculo talco hay una disminución notable de los propágulos más frágiles aparentemente (microconidios). Se inicia, a partir de aquí, una multiplicación del inóculo basada, fundamentalmente, en la aparición de macroconidios formados en las células conidiógenas que definen la especie. La aparición de fiálidas activas se solapa con la formación de

clamidosporas globosas típicas en el micelio, forma de multiplicación que continúa en solitario hasta el final de la experiencia, que duró 21 días. Ninguna germinación o transformación en clamidosporas fue observada en los macroconidios producidos en el suelo y en la perlita; y cuando se ensayó su germinación por adición de una fuente energética (glucosa) no sólo no se consiguió, sino que se inició su transformación en clamidosporas de una forma masiva y rápida. Pero cuando las observaciones se hicieron en un suelo desinfectado una sola vez, la drástica reducción de propágulos visualizables podría estar traduciendo una lisis mayor que en el suelo desinfectado tres veces, proporcionada, verosímilmente, por microorganismos termorresistentes residuales, que influirían, igualmente, sobre la diferente manera de multiplicarse el inóculo. Inóculo que no produjo conidios, y solamente dio lugar a la formación de nuevas clamidosporas en el suelo durante las tres semanas de experimentación. Estas observaciones ilustran bien sobre que, además de la lisis de propágulos, qué podrían explicar la reducción a la décima parte del inóculo talco introducido en suelos y sustratos, hay una verdadera transformación del inóculo, cuya multiplicación orienta el resultado final, según el condicionamiento experimental, hacia la sola presencia de clamidosporas, o a la de éstas y la de macroconidios.

Condicionamiento cuya influencia sobre el devenir del inóculo de *F. oxysporum* y de *F. solani* ha sido comprobado, también, sobre un sustrato hortícola abonado para cultivo «fuera del suelo», y sobre una turba sin elementos nutritivos. Mientras que en ambos sustratos *F. solani* ha sido incapaz de multi-

plicarse, y los filamentos germinativos de los propágulos fueron drásticamente destruidos por la lisis, los *F. oxysporum* tuvieron un comportamiento bien diferenciado. Así, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* esporuló, produciendo microconidios, en el sustrato enriquecido; por el contrario, en la turba sólo fue capaz de germinar. Siendo la misma micoflora la componente de turba y sustrato (*Penicillium* spp.), con niveles poblaciones muy próximos, la triple desinfección de la turba permitió que el hongo produjese células conidiógenas y microconidios a las 22 h. de introducido el inóculo. Este hecho parece indicar que no sólo el posible antagonismo de los *Penicillium* podría haber actuado, sino que la competición por el alimento jugaría un papel no despreciable en el fenómeno observado.

Hay, en esta última parte, no sólo la comprobación de cómo el inóculo de *F. solani* y de *F. oxysporum* se multiplican dentro de suelos y sustratos de manera diferente, sino que, además, una parte de esa multiplicación, bajo ciertas condiciones, puede producirse en ausencia del hospedador mediante la formación de nuevas conidias. Ello podría explicar, tal vez, cómo VENKATARAMAN (1978) observa conidios y micelio de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en suelos desinfectados y no tratados a los 60 y 40 días, respectivamente, de introducir el inóculo, aunque la infección la realizara con portaobjetos cubiertos de medio de cultivo. Y, desde luego, estos resultados pueden aportar una inteligencia sobre las densidades de inóculo, tan elevadas en los suelos cultivados con clavel en el Sureste de España, frente a las medidas en suelos incultos o plantados con tomate.

Parte V

Ensayo de síntesis y reflexiones finales

El estudio sobre *Fusarium oxysporum* presentado en este trabajo se ha realizado desde una doble óptica. Por un lado se ha indagado sobre la fase parasitaria del hongo, y, por otro, sobre la no parasitaria, motivando una serie de observaciones experimentales tendentes a explicar su comportamiento en los suelos. Para cumplimentar este planteamiento, dos Fusariosis vasculares han sido tomadas como ejemplo —impuestas por la realidad de los cultivos de clavel y tomate—, causadas, respectivamente, por *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Estas especializaciones de *F. oxysporum*, otros miembros de la especie considerados como no patógenos y *F. solani* han sido observados microscópicamente en suelos y sustratos diferentes, con objeto de conocer su posible safitismo activo, así como sus formas de conservación en ausencia del hospedador.

El área geográfica del trabajo ha sido lo que se ha denominado Sureste Peninsular de España, acogiéndose bajo tal denominación el sur de la provincia de Alicante y las provincias de Murcia y Almería. Esporádicamente, otras observaciones se han efectuado en las Islas Canarias, Valencia, C. La Mancha, País Vasco y Galicia. Los cultivos muestreados se practicaban tanto al aire libre como bajo invernaderos de polietileno, siendo en su concepción y realización netamente intensivos.

Se apuntaba anteriormente que la importancia de las Fusariosis vasculares del tomate y del clavel había impuesto la necesidad de su estudio. En efecto, unas encuestas y prospecciones fitosanitarias previas sobre ambos cultivos, necesarias por la ausencia de conocimientos anteriores sobre el tema, evidenciaron:

a) En el caso del clavel los patógenos

productores de podredumbres en la raíz, cuello y base del tallo estuvieron representados por *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora* spp. (*P. parasitica* y posiblemente *P. capsici*). Mientras que el primero tiene una incidencia sólo evaluable en función de los obligados y eficaces tratamientos fitosanitarios, los segundos se han exteriorizado puntualmente y su importancia no ha pasado de ser una curiosidad fitopatológica, fácilmente eliminable con los fitofármacos adecuados.

Entre los microorganismos telúricos causantes de micosis vasculares, *Phialophora cinerescens* ha tenido una manifestación discreta, ceñida a una sola explotación del Sureste, habiéndose comprobado, con el transcurso de los años, que su carácter como micosis no ha sido endémico ni epidémico. Por el contrario, *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, ha exteriorizado su comportamiento epidémico con carácter limitante, a partir de la primera plantación en la cual se ha manifestado.

b) En los cultivos de tomate ha sido notable la ausencia de los componentes del denominado «Complejo parasitario de las raíces» (DAVET, 1976), compuesto, fundamentalmente, por *Colletotrichum coccodes*, *Pyrenochaeta lycopersici* y *Rhizoctonia solani*, descrito en otras áreas de la ribera mediterránea y en comarcas atlánticas de España. Entre los productores de podredumbres radiculares se ha detectado la amenazante presencia de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, cuya rápida y fulminante expansión son motivo de inquietud entre los productores.

Los habitantes del suelo, responsables de las traqueomicosis, han estado ampliamente representados por *Verticillium dahliae* y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Su carácter casi limitante para el cultivo en otras épocas, que obligaba a los agricultores a realizar prácti-

cas culturales hoy en desuso, ha retrocedido gracias a los métodos de lucha actualmente empleados. El comportamiento epidemiológico de ambos patógenos, como se comenta más adelante, ha permitido concluir que no es posible entablar un plan de lucha orientado hacia uno de ellos, sino que deben considerarse en conjunto si se quiere tener alguna esperanza de control.

A partir de estos necesarios y obligados trabajos previos, el estudio sobre *F. oxysporum* se ha concebido de una manera conceptual a partir de la teorización sobre el Patosistema (ROBINSON, 1980), cuyo atractivo esencial reside en la propuesta basada en la necesidad de observar cómo un sólo sistema, como un conjunto, al hospedador y al parásito, unidos entre sí por el vínculo del parasitismo. Los modelos impuestos por la realidad, *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*/clavel y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*/tomate, tienen como denominador común el de ser componentes de un sistema hospedador-medio saprofito-patógeno (VAN DER PLANK, 1968, 1984), cuyo emblema diferenciador lo constituye, precisamente, el medio saprofito. Medio saprofito que en este trabajo ha sido, fundamentalmente, el suelo, considerado en todo momento como un *medio vivo*, capaz de modular la expresión de una enfermedad de origen telúrico (ROUXEL, 1978; ALABOUVETTE, 1983). La mesurabilidad de esta realidad se ha plasmado en la formulación de la gravedad de una enfermedad infecciosa originada en el suelo (LOUVET y ALABOUVETTE, 1988), que integra con igual dependencia a:

— Estado sanitario del suelo, definido por la densidad de inóculo y las capacidades infecciosas y saprofitas propias del inóculo.

— Efectos del ambiente-suelo sobre el inóculo o *receptividad* del suelo.

Ambas componentes constituyen lo que se ha dado en llamar infectividad o potencial infeccioso de un suelo (BOUHOT, 1980).

— Receptividad del cultivo a la enfermedad, interaccionando en la composición del concepto, la sensibilidad propia de la planta y la predisposición del cultivo ligada al ambiente.

Es a partir de estos conceptos donde la síntesis de resultados, minuciosamente discutidos en cada una de las partes de esta memoria,

adquiere un sentido y posibilita algunas interpretaciones:

A) *La densidad de inóculo en los ambientes telúricos estudiados*

A lo largo de varios años de análisis se han intentado conocer las Micofloras total y fusárica en numerosos suelos y sustratos, sometidos a diferentes influencias. Ello ha comportado un primer y amplio inventario de hongos pobladores de las tierras del Sureste Peninsular de España. Inventario cuya comparación con otros, elaborados para otras regiones del país, no ha sido posible dada su ausencia en la bibliografía consultada. El contraste con la escasa literatura extranjera hallada sólo es posible, cualitativamente, por la imperfección de los métodos de análisis empleados y por las diferencias existentes en las técnicas empleadas. Métodos de análisis que, junto con la parcialidad de los muestreos, producen unos resultados excesivamente variables, avisando con ello de las limitaciones de este tipo de trabajos. Pero sí puede decirse que son suelos pobres en cuanto a su micoflora, tanto en lo concerniente al número de especies y géneros como a sus densidades, variables entre las potencias cuadráticas y cúbicas de diez. Entre los más comunes destaca *Fusarium*, que en ocasiones constituyen más del 60 por 100 de la micoflora. Y acompañanlos *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus* (raramente otros Mucorales), *Alternaria*, como más frecuentes; *Botryotrychum*, *Cephalosporium*, *Stemphyllium* y *Trichoderma* con una presencia más esporádica.

Entre los Fusaria, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *F. roseum* los más habitualmente aislados. En menor proporción, a veces casi puntual, *F. moniliforme* y *F. dimerum*. La «amplia especie *F. roseum*» (sensu MESSIAEN y CASSINI) ha comportado como más comunes *F. avenaceum*, *F. fusarioides*, *F. equiseti*, *F. culmorum* y *F. semitectum* (sensu BOOTH).

Pero es la importancia de *F. oxysporum* en los suelos la que interesa subrayar, dado el cometido del trabajo presentado. Y vaya por delante, como es lógico, que no todos los *F. oxysporum* aislados del suelo son el inóculo patógeno responsable de las micosis estudia-

das, ya que sólo la inoculación, colonia a colonia, sobre el hospedador sensible, permitiría, hoy por hoy, tal distinción. Por esta razón, se ha supuesto, y tal vez sea demasiado suponer, que las variaciones de las formas patógenas y no parásitas son análogas, lo cual posibilita una interpretación global de los resultados.

Una primera aproximación permite decir que si *F. oxysporum* está presente en la mayoría de tierras cultivadas e incultas, la excepción es aportada por las arenas de playa de Mazarrón (Murcia) y los suelos de las estribaciones de la Sierra de Taibilla (Murcia). Si en el primer caso la ausencia de vegetación podría justificar la ausencia del miembro de la antigua sección *Elegans*; los arbustos, matorrales y árboles de la sierra no permitirían tal afirmación. Y este papel de la vegetación, casi determinante en la presencia de *Fusarium* (STONER, 1981), no ha sido detectado en la multiplicación de *F. oxysporum* cuando, después de una larga sequía, las lluvias posibilitaron una exuberante primavera en pleno invierno. Tal vez las técnicas de análisis no permitieron la expresión de la esperada acción rizosférica.

En los suelos de invernadero, *F. oxysporum* se ha encontrado en todas las profundidades muestreadas, incluida la hondura entre 80 y 100 cm. Este hecho, muchas veces relatado y pocas publicado, ha servido entre los especialistas para especular sobre la posible recolonización, a partir de estas capas, de los horizontes «vacíos» por la aplicación de los biocidas. De forma general, puede decirse que la máxima densidad de inóculo de *F. oxysporum* se alcanza entre la superficie y los 50-60 cm. de profundidad, siendo remarcable cómo el gradiente de la densidad, excepciones aparte, presente un máximo en los suelos muestreados a honduras comprendidas entre 10 y 30 cm. Un comentario aparte merece la peculiaridad del cultivo enarenado, practicado para el tomate en los campos murcianos. La densidad de inóculo en la arena es mucho menor que en el suelo que cubre, y ello pese a la colonización radicular de la que es objeto por parte de las plantas.

Podría concluirse que la densidad de inóculo de *Fusarium*, y concretamente de *F. oxysporum*, es diferente según el manejo que de

los suelos cultivados se haga. Así, cuando el cultivo es clavel, *F. oxysporum*, medido por la técnica de WARCUP (1960) en un medio selectivo (KOMADA, 1975), alcanza proporciones mayores de 45.000 propágulos/g. suelo, mientras que en los tomates la densidad cae hasta máximos menores de 700 propágulos/g. suelo. Y es notable cómo este descenso es, en parte, enjugado por el crecimiento de *F. solani*. Este comportamiento tiene un interés certero desde el punto de vista de la epidemiología, por cuanto se consideran dosis elevadas de inóculo las comprendidas entre 5.000 y 6.000 propágulos/g., y como «muy elevadas», la de 28-30.000 propágulos/g., hasta el punto de ser estas últimas capaces de «romper» la alta resistencia de algunos suelos a la Fusariosis vascular del melón (ALABOUVETTE, 1983).

¿Qué explicación dar a estas diferencias tan enormes en la densidad de inóculo? Tal vez la respuesta esté en los abonados y en la presencia de materia orgánica en el suelo. En efecto, en las experiencias y observaciones presentadas, se ha podido comprobar cómo la utilización de distintas fuentes de energía (glucosa, nitrógeno, fósforo, potasio) añadidas al suelo, turbas y otros sustratos, permite una multiplicación saprofítica de *F. oxysporum* en ausencia de hospedador alguno. El fenómeno tiene, en sus efectos, una semejanza con la multiplicación del hongo en suelos y sustratos esterilizados, en los que la micoflora competidora ha desaparecido. Ningún aporte bibliográfico ha sido encontrado, pero tiene la observación, a buen seguro, una enorme transcendencia epidemiológica. Pues no sólo se ha visualizado la multiplicación del micromiceto en suelos y sustratos en ausencia de plantas, sino que ha permitido poner en duda el papel atribuido a los microconidios, al comprobar cómo pueden permitir la conservación del hongo durante cierto tiempo en suelos y en otros sustratos en condiciones de prácticamente total anhidrobiosis.

La incidencia epidemiológica del estado sanitario de los estiércoles y de los sustratos, en general, y de los empleados en el enraizado del clavel, en particular, merecen un comentario aparte por las novedades aportadas. La generalizada mezcla perlita-turba empleada entre los productores de esquejes

puede aportar al suelo densidades de inóculo de *F. oxysporum* superiores a 3.000 propágulos/g., siendo digno de subrayarse que en el clásico y recomendado análisis del «callo» de enraizado puede mostrarse éste libre del hongo en los análisis microbiológicos. Por otro lado, los estiércoles pueden aportar hasta 400 propágulos/g. de *F. oxysporum*, y si éstos proceden de excrementos de rumiantes, alimentados con los desechos de cosechas de clavel que tienen plantas enfermas de Fusariosis vascular, esta materia orgánica puede ser portadora del inóculo patógeno. Es decir, que el proceso de rumia no es suficiente ni para eliminar los Fusaria, ni de entre ellos a *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Es lugar común entre los especialistas considerar que la reducción de inóculo en un suelo o sustrato disminuye, cuando menos, la gravedad de la enfermedad. La *desinfección* adquiere en los cultivos intensivos del Sureste Peninsular de España una preponderancia inusitada, pocas veces suficientemente razonada. Podría decirse, sin gran riesgo de error, que tomates y cultivos de clavel han incorporado, como una práctica cultural más, el empleo de biocidas, como bromuro de metilo y metam-sodio, quedando relegadas a intervenciones puntuales la solarización y el vapor de agua. La eficacia de las desinfecciones depende de numerosos factores; así, la relación existente entre la densidad de inóculo y el nivel de enfermedad, los riesgos de reinfección y de recolonización y la localización de los ataques, si son en superficie o en profundidad, por enumerar algunos de ellos.

Este principio, base de un sinnúmero de observaciones, no excluye a las «formas especiales» de *F. oxysporum*. Los resultados presentados en este trabajo demuestran cómo el principio es válido pero insuficiente para controlar las traqueomicosis estudiadas, incluso para reducirlas a umbrales económicamente aceptables, pese a la significación estadística sobre su eficacia. En las experiencias presentadas se comprueba cómo en el mejor de los casos el desinfectante elimina parte de los *F. oxysporum* no más allá de los 40 cm. de profundidad, pero hongos como *Penicillium* pueden proporcionar niveles poblacionales tan elevados como toda la micoflora existente antes de practicar la desinfección.

El estudio conducente a conocer la recolonización de un suelo desinfectado una vez plantado con clavel evidenció cómo a pesar de no exteriorizarse el hongo en los análisis de suelo, practicados después de la desinfección, éste estaba presente en el suelo superficial a los 40 días de plantar, a los 79 en la rizoplana y a los 90 días había alcanzado el xilema de las plantas. A pesar de ello, ha sido notorio cómo el efecto del desinfectante permanece a lo largo de doce meses de observaciones, de manera que la densidad de inóculo mantiene una diferencia casi constante con la del suelo no tratado.

La rápida reinfección de los suelos desinfectados en sus capas más superficiales y las elevadas densidades de inóculo en las tierras cultivadas con clavel, nos motivó una serie de largas experiencias para conocer la contaminación por *F. oxysporum* a partir del aire. Este aspecto epidemiológico ha sido poco estudiado para los Fusaria, tal vez por considerarlos como típicos habitantes del suelo. En el trabajo presentado se demuestra, para ambientes tan diferentes como las Islas Canarias y la región de Murcia, que el fenómeno es común y continuo tanto para las plantaciones de clavel como para las de tomate, pudiendo constituir esta vía de aporte de inóculo no solamente una fuente de reinfección del suelo, si no también una posibilidad de incrementar y uniformizar a *F. oxysporum* en el suelo, máxime cuando determinadas técnicas de riego son utilizadas. Técnicas que posibilitaron el depósito de unos 9.000 propágulos del hongo por m² de suelo, de manera que el 85,71 por 100 de las colonias recolectadas a 15 cm. sobre la superficie de un invernadero de clavel resultaron pertenecientes a la forma patógena *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

En la ordenación de esta memoria, la modelización elegida comportaba un amplio factor referido a la *Receptividad del cultivo*, en el que interaccionaban, por un lado, la *sensibilidad propia de la planta* (ligada a la esencia genética de la especie y de la variedad), y, por otro, el *efecto del ambiente* sobre el cultivo. Ambos aspectos han sido abordados.

B) *Efectos del ambiente sobre el cultivo*

Las persistentes observaciones a lo largo

de los años han posibilitado ligar las estaciones del año a la exteriorización de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

La tajante afirmación de MESSIAEN y LAFON (1970) sobre que las micosis vasculares del tomate tienen una concreta delimitación geográfica, debido, sobre todo, a las exigencias térmicas de ambos agentes responsables, se ha reflejado en las experiencias presentadas, pero cambiando la geografía por las variaciones térmicas habidas a lo largo del tiempo como clima. Según los mencionados autores, *Verticillium dahliae* tendría una exteriorización invernal, mientras que *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* la tendría estrictamente estival. Esto no ocurre exactamente así en las comarcas estudiadas de Valencia y Murcia. Ciertamente que la Fusariosis vascular tiene un máximo de expresión en los invernaderos y al aire libre durante el verano, desplazándose este máximo al otoño en el cultivo en la calle, para después desaparecer hasta finales de mayo. Pero si esto ocurre en Mazarrón (Murcia), a muy pocos kilómetros, en Aguilas (Murcia), el cultivo bajo invernadero, ya que no al practicado sin protección, puede permitir la exteriorización durante el otoño, el invierno y parte de la primavera de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. En las comarcas valencianas de Torrente y Cullera la no manifestación de la traqueovorticiliosis durante el invierno y la primavera llevan a que se comience a observar entrado el verano, con cierto retraso con respecto a los más cálidos tomatales murcianos. Estas variaciones no pueden ser contempladas excluyendo a *Verticillium dahliae*, el otro generalizado patógeno vascular. Sí puede concluirse que el máximo de expresión de la traqueovorticiliosis ocurre en los meses primaverales (marzo, esencialmente), en la comarca de Mazarrón, en los tomatales valencianos vuelve a apreciarse un desplazamiento de dos otros meses en la dirección del estío. Este hecho no tiene más que un valor testimonial para establecer su exteriorización con el gradiente térmico, puesto que, en mayor o menor proporción, *V. dahliae* se expresa a lo largo de todo el año, desdiciendo así su papel de «enfermedad invernal». Pero estas observaciones epidemiológicas tienen una transcendencia en el

planteamiento de la lucha contra ambas micosis, y es la de considerar a Fusariosis y Verticiliosis como un conjunto que no puede disgregarse para adoptar medidas de control.

La Fusariosis vascular del clavel también tiene un comportamiento térmico, como ha podido comprobarse en la experimentación realizada en Madrid. En este trabajo, *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* deja de exteriorizarse en noviembre para volver a manifestarse en el mes de junio. La Fialoforosis, con un área de expresión ceñida a las zonas frías, no ha podido ser observada en los cultivos del Sureste Peninsular de España. Pero la traqueofusariosis en el campo y los invernaderos no ha tenido la interrupción descrita para otras áreas mediterráneas durante los meses de invierno y primavera (TRAMIER, 1986); y solamente se ha podido detectar un breve retardo en la progresión de la enfermedad en plena primavera sobre ciertas variedades, aunque no en otras, sobre las cuales pudo apreciarse una exuberante brotación carente de síntomas. Este comportamiento, que diferencia a las dos Fusariosis vasculares, tiene para el clavel una traducción inmediata sobre la gravedad de la enfermedad, haciendo que el patógeno adquiera un carácter limitante para el cultivo. Imposibilitando, además, que determinadas propuestas para la selección de material vegetal y para su multiplicación puedan ser aplicadas en las zonas muestreadas.

C) Sensibilidad propia de la planta

El comportamiento de los genes de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* y a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* también ha sido valorado desde el punto de vista de la enfermedad en los tomatales de Murcia (Aguilas y Mazarrón).

Patodemos y patotipos verticales en el caso del tomate han sido observados a lo largo de diez años. La situación ha transcurrido de la siguiente manera: Durante el período de tiempo en que los cultivares no portadores del gen I (confiere una protección total frente a la raza común de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) no estaba en el agroecosistema, las razas (o patotipos verticales) eran las comu-

nes (raza 1) y las únicas que se exteriorizaban. En esa época, la superficie cubierta de invernadero comenzaba a crecer, practicándose la desinfección del suelo para paliar los daños de Verticiliosis y Fusariosis. Al aire libre se realizaba un cultivo itinerante, con rotaciones de 3 a 5 años, en las que habas y cereal conformaban la alternativa. Con el incremento de la superficie cubierta por plástico, la rentabilidad del suelo impuso una utilización intensiva de éste. En el éxito primigenio de esta transformación intervinieron de manera determinante los nuevos cultivares (híbridos con múltiples resistencias incorporadas, eficaces en todas las latitudes del mundo), que presentaban la ventaja, aparte su elevada productividad, de un control prácticamente total de *V. dahliae* y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Progresivamente, la transhumancia del cultivo al aire libre fue desapareciendo, posibilitando una situación fija caracterizada por acortar la fase no parasitaria de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (eliminación de rotaciones culturales, estercoladuras, etc.), de tal manera, que al igual que en los invernaderos, el suelo permanece con cultivo de tomate prácticamente durante todo el año. Estas modificaciones hicieron posible que siete años después de comenzar a introducir el gen I, y un lustro después de su generalización, se exteriorizó un nuevo patotipo vertical del hongo (raza 2), extendido en todo el patosistema tres años después de hacer su aparición. De esta manera, nueve años después de que el gen I se introdujera, la situación en cuanto a la «Fusariosis vascular» es aproximadamente igual, desde la gravedad de la micosis, que antes de hacer su aparición los híbridos resistentes. Y los daños no son menores, como algunos han postulado, pues el nuevo patotipo vertical (raza 2) no sólo es más virulento, sino más agresivo que la raza 1 (MESSIAEN, 1981).

A partir de aquí, otro gen de resistencia (I-2) a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ha comenzado a introducirse en el patosistema cultivado de Murcia y Alicante, habiendo mostrado hasta ahora, durante los dos años últimos, un comportamiento análogo al que tuvo el gen I antes de «fallar». Y si se tiene en cuenta la experiencia adquirida y la descrita

para otros lugares del mundo (GRATTIDGE y O'BRIEN, 1982) es esperable un nuevo patotipo vertical capaz de remontarlo.

En la base del fenómeno descrito está muy plausiblemente el acortamiento de la fase no parasitaria del hongo, cuyo papel, tal y como VAN DER PLANK (1968, 1984) lo hipotetizó, está en la «estabilización de las razas del patógeno», suprimiendo o reduciendo toda virulencia no necesaria en el agroecosistema.

Pero el relato realizado hasta ahora no es más que una parte de la realidad vivida. La intensificación del cultivo de tomate no sólo ha afectado a la evolución racial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, sino a todo el patosistema cultivado. En efecto, micosis no exteriorizadas anteriormente han comenzado a manifestarse, tales como *Phoma lycopersici* (*Dydimella lycopersici*) y *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (TELLO y LACASA, 1988). Bacteriosis como las ocasionadas por *Corynebacterium michiganense* y *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* se generalizaron después de una aparición explosiva (LÓPEZ *et al.*, 1985). Y, sobre todo, una degradación del suelo por salinización, con una sintomatología bien concreta en las plantas, que ha comenzado a transformar en saladares lo que antes fueron tomates (RINCÓN, 1987; com. person.).

En el caso de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, no se le ha podido medir en las plantaciones de clavel un comportamiento comparable al de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Hay, de entrada, una situación cultural diferente, pues son escasas las ocasiones en que en el Sureste Peninsular de España se repite el cultivo sobre el mismo suelo. Y, sobre todo, porque en clavel la genética de la resistencia a la Fusariosis vascular está mal conocida, comenzándose ahora a estudiar el comportamiento de los genes implicados (BAAYEN *et al.*, 1988). En el ensayo para conocer el comportamiento de 59 cultivares del «tipo mediterráneo» frente a *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, teniendo presente que la confrontación se haya hecho con una mezcla de cepas que pueden aportar las interferencias descritas por PARLEVLIE (1983), ciertos cultivares han tenido un comportamiento que podría calificarse de «alta resistencia», de interacción

diferencial. Sin embargo, la validez de estos datos es puntual, puesto que ha sido demostrado cómo alguno de esos cultivares en otras latitudes ha tenido un comportamiento diferente, alcanzando tasas de enfermedad mucho más elevadas; y, sobre todo, en condiciones experimentales bien precisas, la calidad de la iluminación puede inducir que la variedad se comporte como si no tuviese resistencia (TRAMIER *et al.*, 1983 b).

En consecuencia, la utilización de los genes de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ha conducido a una «degradación» del medio, cuyo final, de continuar así, se puede asegurar como de peligroso para el mantenimiento del cultivo en los actuales enclaves. Y el carácter limitante que para el cultivo de clavel, en su concepción actual, tiene *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* han posibilitado la siguiente reflexión general: el estudio del Patosistema de cultivo de una manera

integrada, que permita racionalizar los medios disponibles para una convivencia equitativa con los patógenos. Esta aseveración, desde el punto de vista de los hongos telúricos, necesita una adquisición de conocimientos sobre el suelo, considerado como «medio vivo», que hagan posible la utilización de la lucha microbiológica, cuyos fundamentos están siendo cada vez más investigados, comportando con ello una vuelta al conocimiento del ecosistema. La manipulación genética de los microorganismos, la simbiosis micorrícica y la utilización de microbios antagonistas surtirán de conocimientos y realidades que ayudarán a romper la opacidad que actualmente presenta el suelo. Pero sus aplicaciones podrán ser defectuosas, cuando no contraproducentes, si previamente conocimientos sobre la epidemiología y la etiología de las micosis del suelo no son adquiridos, tal y como se ha pretendido en este trabajo.

Referencias bibliográficas

- ABDEL-RAHEEM, A., y BIRD, L. S., 1968: The interrelationship of resistance and susceptibility of cotton to *Verticillium albo-atrum* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* as influenced by soil temperature. *Phytopathology*, 58, 725 (abstr.).
- ALABOUVETTE, C., 1983: La réceptivité des sols aux Fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse doctorales-sciences Naturelles. Université de Nancy I.
- ALABOUVETTE, C.; COUTEAUDIER, Y., y LOUVET, J., 1982: Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux Fusarioses vasculaires. *Agronomie*, 2, 1-6.
- ALABOUVETTE, C.; COUTEAUDIER, Y., y LOUVET, J., 1984: Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IX. Dynamique des populations de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* dans un sol résistant et dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. *Agronomie*, 4, 85-92.
- ALBERTOS, J., y ODRIOZOLA, J. M., 1976: Cultivos intensivo del clavel. *Hojas divulgadoras*, del Ministerio de Agricultura. Núm. 22-23-71 H. 2.^a ed. Madrid.
- ALBERTOS, J., y ODRIOZOLA, J. M., 1976: Plagas y enfermedades del clavel. *Hojas divulgadoras*, del Ministerio de Agricultura. Núm. 24-71 HD. Madrid.
- AL-DOORY, N.; TOLBA, M. K., y AL-ANI, H., 1959: On the fungal flora of Iraqi soils. II Central Iraq. *Mycologia*, 51, 429-439.
- ALEXOPOULOS, C. J., 1976: Introducción a la Micología. Ed. Eudeba S.E.M. (2.^a edición), 615 pp.
- ALEXANDER, L. J., 1962: Susceptibility of certain *Verticillium* resistant tomato varieties to an Ohio isolate of the pathogen. *Phytopathology*, 52, 998-1.000.
- ALEXANDER, L. J., y TUCKER, C. M., 1945: Physiological specialisation in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *J. Agr. Res.*, 70, 303-313.
- ALOJ, B., y GARIBALDI, A., 1982: Prove di lotta contro il marciume dell colletto del garofano. *Culture Protette*, 1, 41-43.
- ANONIMO, 1923: Enciclopedia Universal Ilustrada Europeo Americana. Tomo XIII. Hijos J. Espasa Editores. Barcelona.
- ARMSTRONG, G. M., y ARMSTRONG, J. K., 1968: Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing a tracheomycosis in the syndrome of disease. *Phytopathology*, 58, 1.242-1.246.
- ARMSTRONG, G. M., y ARMSTRONG, J. K., 1981: Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A., y COOK, R. I. (eds.), *Fusarium: Diseases, biology, and taxonomy*. Pennsylvania State University Press. University Park and London: 391-399.
- BAAYEN, R. P.; ELGERSMA, D. M.; DEMMINK, J. F., y SPARNAALI, L. D., 1988: Diferences in pathogenesis observed among susceptible interactions of carnation with four races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. *Neth. J. Pl. Path.*, 94, 81-94.
- BAKER, R. R., 1971: Analyse in volving inoculum density of soil-borne plant pathology in epidemiology. *Phytopathology*, 61, 1.280-1.292.
- BAKER, R. R., 1980: Measures to control *Fusarium* and *Phialophora* wilt pathogens of carnation. *Plant Diseases*, 64, 743-749.
- BANIHASHEMI, Z., 1968: The biology and ecology of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* in soil and the root zone of host and non host plants. Ph. D. Thesis. Michigan State University.
- BAREA, J. M., y AZCON-AGUILAR, C., 1982: La rizosfera: interacciones microbiana. *Anal. Edaf. Agrobiol.*, 61, 1.517-1.532.
- BECKMAN, C. H.; MACE, M. E.; HALMOS, S., y MC GAHAN, M. W., 1961: Physical barriers associated with resistance in *Fusarium* wilt of bananas. *Phytopathology*, 51, 507-515.
- BECKMAN, C. H., y HALMOS, S., 1962: Relation of vascular occluding reactions in banana roots to pathogenicity of root-invading fungi. *Phytopathology*, 52, 893-897.
- BELL, A. A., y PRESLEY, J. T., 1969: Temperature effects upon resistance and phytoalexin synthesis in cotton inoculated with *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, 59, 1.141-1.146.
- BERRA, D.; CUESTA, E., y MANCHO, M., 1987: Ensayos sobre control de «Corky root» en cultivos de tomate. *Sustrai*, 8, 39-45.
- BERRY, S. Z., y THOMAS, C. A., 1961: Influence of soil temperature, isolate and method of inoculation on resistance of mint to *Verticillium* wilt. *Phytopathology*, 51, 169-174.
- BESRI, M., 1977: Etude de quelques aspects de l'écologie de *Fusarium oxysporum* (Schl.) f.sp. *lycopers-*

- sici* (Sacc.) Snyd. y Hant. et de *Verticillium dahliae* Klebahn le long du litoral atlantique marroccain. Thèse doctures-sciences. Université de Nancy I.
- BESRI, M.; ZROURI, M., y BEYE, I., 1984: Appartenance raciale et pathogénie comparée de quelques isolats de *Verticillium dahliae* (Kleb) obtenues à partir de tomates résistantes au Maroc. *Phytopath. Z.*, 109, 289-294.
- BHATT, G. C., 1970: The soil microfungi of white cedar forest in Ontario. *Can. J. Bot.*, 48, 333-339.
- BOMPEIX, G., COLENO, A., 1984: Problèmes de terminologie des subdivisions intraespécifiques des plantes hôtes et des agents pathogènes. In: Variation y variabilité des agents phytopathogènes, 26ème colloque SFP. Ed. INRA Publi., 45-52.
- BONNET, Ph.; MAIA, N.; TELLO-MARQUINA, J., y VENARD, P., 1978: Pouvoir pathogène du *Phytophthora parasitica* DASTUR: Facteurs de variabilité et notion d'especialization parasitaria. *Ann. Phytopathol.*, 10, 15-29.
- BONTEMPS, J.; GRESSINO, Ph.; METAY, C.; TRAMIER, R., y ANTONINI, C., 1984: Que peut-on attendre des variétés d'oeillet tolérantes a *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, P.H.M., 24, 57-62.
- BOOTH, C., 1971: The Genus *Fusarium*. Kew, England: Commonwealth Mycol. Inst., 237 pp.
- BOOTH, C., 1975: The present status of *Fusarium* taxonomy. *Ann. Rev. Phytopathology*, 13, 83-93.
- BORNAS DE URCULLU, G., 1942: Floricultura. Ed. Sección de Publicaciones, Prensa y Propaganda. Ministerio de Agricultura. Madrid.
- BORNAS DE URCULLU, G., 1953: Floricultura. Salvat Editores, S. A., Barcelona.
- BOUHOT, D., 1970: Variations induites du pouvoir pathogène chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Ann. Acad. Sci. fenn. A, IV Biologica*, 168, 25-27.
- BOUHOT, D., 1972: Une technique de production des macroconidies de *Fusarium oxysporum*. *Ann. Phytopathol.*, 4, 183-186.
- BOUHOT, D., 1980: Le potentiel infectieux des sols. Thèse Docteur-ès-Sciences. Université de Nancy.
- BOUHOT, D., y LOUVET, J., 1971: Some observations and experiments on the origin of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* races in France. International Symposium on Pathological Wilting of Plant, Madras.
- BOUHOT, D.; ERARD, P., y CAMPOROTA, P., 1978: Apparition en France de la race 2 de la Fusariose vasculaire de la tomate. *Ann. Phytopathol.*, 10, 485-487.
- BURGESS, L. W., 1981: General Ecology of the Fusaria. In: *Fusarium, Diseases, Biology and Taxonomy*. Ed. P. NELSON, T. A. TOUSSON, R. J. COOK. The Pennsylvania State University, 225-235.
- CAMPOROTA, P., y ROUXEL, F., 1977: Interêt du broyage et du tamisage à sec dans les techniques d'isolement du *Verticillium dahliae* à partir du sol. *Ann. Phytopathol.*, 9, 77-81.
- CARRERA, C. J. M., 1954: El género *Fusarium*. Estudio e identificación de especies de la República argentina y países limítrofes. *Rev. de Investig. Agrícolas*, 8, 311-456.
- CEBOLLA, V., 1982a: Estado actual del cultivo del clavel ante el problema de la Fusariosis vascular. *Horticultura*, 5, 5-10.
- CEBOLLA, V., 1982b: Las enfermedades más graves del clavel. La Fusariosis vascular. *Agricultura*, 692-697.
- CHRISTENSEN, M., y WHITTINGHAM, W. F., 1965: The soil microfungi of open bogs and conifer swamps in Wisconsin. *Mycologia*, 57, 882-896.
- CIRULLI, M., 1969: Un ceppo di *Verticillium dahliae* dotato di interessanti caratteri di virulenza. Second Congr. Mediterranean Phytopathol. Union Proc. Avignon-Antibes, 229-230. In: *Ann. Phytopathol.*, 1 (núm. hors-serie).
- CIRULLI, M., y ALEXANDER, L. J., 1966: A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. *Phytopathology*, 56, 1301-1304.
- CLAYTON, L. E., 1923: The relation of soil temperature to the *Fusarium* wilt of the tomato. *Amer. J. Bot.*, 10, 133-147.
- CONOVER, R. A., 1969: Annual report of the agricultural experiment station, Florida, for the year ending June 30, p. 358.
- COUTEAUDIER, Y., y ALABOUVETTE, C., 1981: Fusarium wilt diseases in soilless cultures. *Acta Horticulturae*, 26, 153-157.
- DAVET, P., 1976: Etude des pourritures des racines de la Tomate au Liban et du complexe parasitaire qui leur est associé. Thèse Docteur-ès-Sciences Naturales. Université de Nancy I.
- DAVET, P.; MESSIAEN, C. M., y RIEUF, P., 1966: Interprétation des manifestations hivernales de la fusariose de la tomate en Afrique du Nord, favorisée par la présence des sels dans les eaux d'irrigation. First Congr. Mediterranean Phytopathol. Union Proc. Bari-Naples, 407-416.
- DAVIES, R. R., y ISAAC, I., 1958: Dissemination of *Verticillium albo-atrum* through atmosphere. *Nature*, 181, 649.
- DEMMINK, J. F., 1987: Interactions between races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* and cultivars of carnation. Third International Symposium on Carnation. Noordwijkerhout, The Netherlands, 17-23 May (Abstr.).
- DEMMINK, J. F.; SPARNAAIJ, L. D., y BAAJEN, R. P., 1987: Interaction between races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* and cultivars of carnation. *Acta Horticulturae*, 216, 125-129.
- DIXON, G. R., y PEEG, G. P., 1960: Hiphal lysis and tylose formation in tomato cultivars infected by *Verticillium albo-atrum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 53, 109-118.
- DOMMERGES, Y., y MANGENOT, F., 1970: Ecologie microbienne du sol. Ed.: Masson y Cie. Paris, 796 pp.

- DOMSCH, K. H., y GAMS, W., 1972: Fungi in agricultural soil. Ed. Halstead Press Division. John Wiley and sons, Inc. New York.
- ECHANDI, E., 1971: Manual de laboratorio para Fitopatología general. Ed. Herrero Hnos., S. A. México.
- EDGINGTON, L. V., y WALKER, J. C., 1957: The influence of soil and air temperature on *Verticillium* wilt of tomato. *Phytopathology*, 47, 8.
- EL MAHJOUR, M., 1974: Mise en évidence d'une nouvelle race de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Ann. INRA Tunisie*, 47, 1-17.
- EL MAHJOUR, M., 1985: La Fusariose vasculaire du melon, approche biochimique et ultrastructurale. Thèse docteur-ès-sciences. Université Bretagne Occidentale.
- ELLIS, M., 1940: Some fungi isolated from pine-wood soil. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 24, 87-97.
- EMBERGER, L., 1960: Traité de botanique systématique. Tomo II: Les végétaux vasculaires. Ed. Masson et Cie. Paris.
- ENGLISH, S. W., 1974: Producción comercial de claveles. Ed. Acribia. Zaragoza, 241 pp.
- FARLEY, J. D.; HUBBELING, N., y JABERG, C., 1974: Vertical distribution of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 2 in a greenhouse soil. *Plant Dis. Rep.*, 58, 320-321.
- FAVERGER, C., 1946: Recherches caryologiques sur la sous-famille des silenoidées. *Bull. Soc. Bot. Suisse*, 56, 364-465.
- GABE, H. L., 1975: Standardization of nomenclature for pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 156-159.
- GABRIEL, D. W.; BURGESS, A., y LAZO, G. R., 1986: Gene-for-gene interactions of five cloned avirulence genes from *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. With specific resistance genes in cotton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 6415-6419.
- GARBER, R. N., y PRESLEY, J. T., 1971: Relation of air temperature to development of *Verticillium* wilt in the field. *Phytopathology*, 61, 204-207.
- GARIBALDI, A., 1966: Osservazioni preliminari sulla resistenza di cultivars di garofano all'avizzimento da *Phialophora cinerescens*. *Atti 1.º Congr. Un. fitopat. mediter.*, 571-573.
- GARIBALDI, A., 1981: Ulteriori ricerche sulla specializzazione biologica di *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. *Riv. Ortoflorofruttic. ital.*, 65, 353-358.
- GARIBALDI, A., 1983: Resistenza di cultivar di garofano nei confronti di otto patotipi di *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Prill-et Del.) Snyder et Hans. *Riv. Ortoflorofruttic. ital.*, 67, 261-270.
- GARIBALDI, A.; LENTO, G., y ROSSI, G., 1986: Indagine sulla diffusione dei diversi patotipi nelle colture di garofano. *Errata Corrige (dossier n. 1/86)*, 4 pp.
- GARIBALDI, A., y GULLINO, M. L., 1988: Fusarium vascular del clavel: situación actual, problemas y perspectivas. *Horticultura*, 37, 13-21.
- GARRET, S. D., 1956: Biology of root-infecting fungi. Ed. Cambridge University Press, U.K.
- GARRET, S. D., 1970: Pathogenic root-infecting fungi. Ed. Cambridge University Press, U.K.
- GARZÓN RUIZ, J., ¿1915?: Manual de Floricultura. Ed.: Casa Editorial Gallach. Barcelona.
- GENDERMANN, J. W., y FINLEY, A. M., 1951: The pathogenicity of races 1 y 2 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, 41, 238-244.
- GERLACH, W., y NIRENBERG, H., 1982: The Genus *Fusarium* — a Pictorial Atlas. Ed. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft. 406 pp.
- GERLAGH, M., y BLOK, W. J., 1988: *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucurbitacearum* n.f. embracing all formal speciales of *F. oxysporum* attacking cucurbitaceous crops. *Neth. J. Pl. Path.*, 94, 17-31.
- GOODE, M. J.; MCFERRAN, J., y FUDGE, T. G., 1969: New occurrence of race 2 of Tomato *Fusarium* wilt. *Arkans. Fm. Res.*, 18, 6.
- GORDON, W. L., 1965: Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Botany*, 43, 1309-1318.
- GRATTIDGE, R., 1982: Screening for resistance to a third race of *Fusarium* wilt in tomato. *Australasian Plant Pathology*, 11, 29-30.
- GRATTIDGE, R., y O'BRIEN, R. G., 1982: Occurrence of a third race of *Fusarium* with of tomatoes in Queensland. *Plant Disease*, 66, 165-166.
- GRIFFITHS, D. A., 1973: Fine structure of chlamydospore germination in *Fusarium oxysporum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 61, 7-12.
- GROUET, D., y BEDIN, M., 1979: Influence du substrat sur le développement de la fusariose vasculaire du cyclamen. *Ann. Phytopathol.*, 11, 125-126.
- HALL, R., y BUSCH, L. U., 1971: *Verticillium* wilt of chrysanthemum: colonization of leaves in relation to symptoms development. *Can. J. Bot.*, 49, 181-185.
- HERREROS DESGADO, L. M., 1979: Enfermedades fúngicas del clavel. *Hojas divulgadoras*, del Ministerio de Agricultura. Núm. 17-18/79 HD, 19 pp.
- HIRANO, K., 1983: Conceptual consideration of complex disease caused by root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus in tomato. *Technical Bulletin of Horticulture, Chiba Univ.*, 32, 129-206 (en japonés).
- HOOPER, S. S., 1974: La historia de los claveles. *In: Producción comercial de claveles*. Ed. Acribia. Zaragoza.
- ISAAC, I., y HEALE, J. B., 1961: Wilt of lucerne caused by species of *Verticillium* III. Viability of *Verticillium albo-atrum* carried with seed: effects of seed dressing and fumigants. *Ann. Appl. Biol.*, 49, 675-691.
- ISAAC, I., GRIFFITH, A., 1962: Studies of *Verticillium* wilt of tomato. *In: XVIth International Horticultural Congress. Brussels, Belgium. Vol. I: Book of Sumaries, Ducolot, Gembloux*, 101-102.
- JARVIS, W. R., y SHOEMAKER, R. A., 1978: Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing Foot

- and Root Rot of tomato. *Phytopathology*, 68, 1679-1680 (letter to the Editor).
- JOFFE, A. Z., y PALTÍ, J., 1977: Species of *Fusarium* found in uncultivated desert-type soil in Israel. *Phytoparasitica*, 5, 119-121.
- JONES, J. P.; OVERMAN, A. J., y GERALDSON, C. M., 1966: Effects of fumigants and plastic film on the control of several soil-borne pathogens of tomato. *Phytopathology*, 56, 929-932.
- JONES, J. P.; OVERMAN, A. J., y GERALDSON, G. M., 1972: The effect of mulching on the efficacy of DD-MENCs for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant. Dis. Repr.*, 56, 953-956.
- JONES, J. P., y CRILL, P., 1974: Susceptibility of «resistant» tomato cultivars to *Fusarium* wilt. *Phytopathology*, 64, 1507-1510.
- KAAN, F., y LATERROT, H., 1977: Mise en évidence de la relation entre des résistances de la Tomate à deux maladies vasculaires: le Flétrissement bactérien et la Fusariose pathotype 2. *Ann. Amélior. Plantes*, 27, 25-34.
- KALAYANASUNDARAM, R.; VENKATARAMAN, S., y ARJUNARAO, V., 1978: On the occurrence and significance of a symptomless carrier of *Fusarium vasinfectum*. In: *Pathological wilting of plants*. Ed. The University of Madras. Madras. India, 154-163.
- KANNAIYAN, S., y PRASAD, N. N., 1974: Influence of foliar nutrient sprays on the population of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* and other soil microflora in the rhizosphere of muskmelon. *Indian Phytopathol.*, 27, 4.
- KOMADA, H., 1975: Development of a selective medium for quantitative insolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Review of Plant Protection Research*, 8, 114-125.
- KOMADA, H., 1976: Studies on the evaluation of activity of *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* wilt pathogen of vegetable crops, in the soil. *Bull. Tokai-Ninki National Agricultural Experiment Station*, 29, 235-269 (en japonés).
- KRIKUN, J., y CHOPIN, M., 1966: *Verticillium*, a new soil pathogen in the Negev Region of Israel. *Israel Inl. agric. Res.*, 16, 177-178.
- LACY, M. L., 1965: Influence of hosts and non hosts plants upon population of *Verticillium dahliae* in soil. *Diss. Abstr.*, 26, 19.
- LACY, M. L., y HORNER, C. E., 1965: *Verticillium* wilt of mint: Interaction of inoculum density and host resistance on *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, 55, 1176-1178.
- LACY, M. L., y HORNER, C. E., 1966: Behaviour of *Verticillium dahliae* in the rhizosphere and on roots of plants susceptible, resistant and immune to wilt. *Phytopathology*, 56, 427-430.
- LATERROT, H., 1972: Selection de tomates résistantes a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *phytopath. Mediterranea*, 11, 154-158.
- LECHAPPE, J., 1986: Place et evolution des equilibres microbiens dans l'ecosysteme cultural: cas du complexe parasitaire du pied du haricot associant *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, *Thielaviopsis basicola* et *Fusarium oxysporum*. Thèse docteur-es-Sciences. Université de Rennes I.
- LEMANCEAU, Ph., 1988: Réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires: étude critique des théories proposées. Thèse docteur de l'Université. Université C. Bernard. Lyon I.
- LOCKE, T., y COLHOUN, J., 1974: Contributions to a method of testing oil palme seedling for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaidis*. *Phytopathol Z*, 79, 77-92.
- LOPER, J. E.; SUSLOW, T. V., y SCHROTH, M. N., 1984: Lognormal distribution of bacterial populations in the rhizosphere. *Phytopathology*, 74, 1454-1460.
- LÓPEZ, M. M.; SALCEDO, C. I., y PÉREZ, M. A., 1985: Características de aislados españoles de *Corynebacterium michiganense* path. *michiganense* y de *Xanthomonas campestris* path. *vesicatoria*. *Ann. INIA. Ser. Agric.*, 28, 235-243.
- LOUVET, J., y ALABOUVETTE, 1988: Les conditions de développement du parasitisme racinaire. *Phytoma*, 402, 32-34.
- MARZIANO, F.; ZOINA, A.; SCALCIONE, M., y NOVIELLO, C., 1984: Le clamidospore nel genere *Fusarium*. I. Definizione e funzione, significato tassonomico, induzione. *Annali Facolta Science Agrarie. Università di Napoli*, XVIII, 48-70.
- MATTA, A., 1966: Effetto immunizzante di alcuni micromiceti verso le infezioni di *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* su pomodoro. *Annali Fac. Sc. Agr. Univ. Torino*, 3, 85-98.
- MATTA, A., y GARIBALDI, A., 1963: Comportamento di alcune cultivar di pomodoro in serra nei confronti della Verticilliosi. *Riv. Pat. Veg. Pavia*, 3, 75-86.
- MATTEWS, P., 1979: Variation in English isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. *Proc. Eucarpia Meeting on Carnation and Gerbera*, Alassio, 115-126.
- MERCIER, S., y TRAMIER, R., 1966: *Phytophthora parasitica* f. *parasitica* (DASTUR), WATERH. agent d'une pourriture du collet de l'oeillet. *Actes I Cong. Un. Phytopathol. Medit.*, Bari-Naples, 585-588.
- MESSIAEN, C. M., 1975: *Le Potager Tropical*. Ed. Presses Universitaires de France. Paris.
- MESSIAEN, C. M., 1981: Les variétés résistantes. Ed. INRA.
- MESSIAEN, C. M.; MAS, P.; BEYRIES, A., y VENDRAN, H., 1965: Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. IV. Lyse mycélienne et forme de conservation dans le sol chez les *Fusarium*. *Ann. Epiphyties*, 16, 107-128.
- MESSIAEN, C. M., y CASSINI, R., 1968: Recherches sur les Fusarioses. IV. La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyties*, 19, 387-454.
- MESSIAEN, C. M., y MAS, P., 1969: Recherches sur les Fusarioses. VI. Mise au point sur l'activité parasitaire du *Fusarium oxysporum* et sur les divers facteurs rendant les plantes plus ou moins

- sensibles aux fusarioses vasculaires. Ann. Phytopathol., 1, 401-420.
- MESSIAEN, C. M., y LAFON, R., 1970: Les maladies des plantes maraicheres. Ed. INRA. Paris.
- MOREAU, M., 1975: Le dépérissement des oeillets. In: Encyclopédie mycologique. Ed. Paul Leclervalier. Paris.
- MOREAU, M., 1958: Le verticilliose de l'oeillet. Rev. Horticole, 130, 1831-1834.
- MOREAU, M., 1963: Un hôte indésirable qui apprécie le froid sur la côte d'Azur, le *Phialophora cinerescens*. Science et Nature, 56, 19-23.
- MOREAU, M., y PERESSE, M., 1969: Influence de quelques facteurs sur l'expression de symptômes dans la Verticilliose de l'oeillet. Phytopathol. Z., 66, 280-290.
- MOREAU, M. y CATESSON, A. M., 1984: Modulation de la réponse du xylème selon la nature de l'agression vasculaire. Phytopath. Z., 111, 133-154.
- NASH, S. M.; CHRISTOU, T., y SNYDER, W. S., 1961: Existence of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* as chlamydospores in soil. Phytopathology, 51, 308-312.
- NASH, S. M., y SNYDER, W. C., 1965: Quantitative and qualitative comparisons of *Fusarium* populations in cultivated fields an uncultivated parent soil. Can. J. Bot., 43, 939-945.
- NELSON, R. R., 1978: Genetics of horizontal resistance to plant diseases. Ann. Rev. Phytopathology, 16, 359-378.
- NELSON, P. E.; PENNYPACKER, B. W.; TOUSSOUN, T. A., y HORST, R. K., 1975: Fusarium stub dieback of carnation. Phytopathology, 65, 575-581.
- NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A., y MARASAS, 1983: *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. Ed: The Pennsylvania State University Press, 193 pp.
- NEWCOMBE, M., 1960: Some effects of water and anaerobic conditions on *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in soil. Trans. Brit. Mycol. Soc., 43, 51-59.
- NEWHOOK, F. J.; WATERHOUSE, G. M., y STAMPS, D. J., 1978: Tabular key to the species of Phytophthora de BARY. Mycological Papers, 143.
- NIRENBERG, H., 1981: A simplified method for identifying *Fusarium* spp. on wheat. Can. J. Bot., 59, 1599-1609.
- OOKA, J., 1975: Species of *Fusarium* isolated form wind borne dust in winter. Proc. Am. Phytopathol. Soc., 2, 88 (abstr.).
- OVERMAN, A. J.; JONES, J. P., y GERALDSON, C. M., 1970: Interaction of cultivars, nematodes, and fumigants on development of *Verticillium* wilt on tomatoes. Florida Agr. Exp. Sta. J. serie n.º 3717, 203-208.
- PARK, D., 1958: The saprophytic status of *Fusarium oxysporum* causing vascular wilt of oil palm. Ann. Bot., 22, 19-35.
- PARK, D., 1959: Some aspects of the biology of *Fusarium oxysporum* in soil. Ann. Bot., 23, 36-49.
- PARK, D., 1963: The presence of *Fusarium oxysporum* in soil. Trans. Brit. Mycol. Soc., 46, 444-448.
- PARLEVLLET, J. E., 1983: Can horizontal resistance be recognized in the presence of vertical resistance in plants exposed to a mixture of pathogen races? Phytopathology, 73, 379 (Letter to the Editor).
- PARLEVLLET, J. E., y ZADOCKS, J. C., 1977: The integrated concept of disease resistance: a new view including horizontal and vertical resistance in plants. Euphytica, 26, 5-21.
- PEREAU-LEROY, P., 1965: Amelioration des plantes et rayonnements ionisants. Bull. Inf. Scient. Tech. CEA, 93, 1-8.
- PERESSE, M., 1975: Relations hôte — parasite dans les trachéomycoses. Quelques uns de leurs aspects dans le modèle oeillet— *Phyalophora cinerescens*. Thèse docteur-es-Sciences Naturalles. Université de Bretagne Occidentale.
- PERGOLA, G., y GARIBALDI, A., 1977: Esperienze di lotta contro il marciume dell colletto del garofano. Colture Protette, 6, 19-24.
- PINEAU, R., 1976: Etude sur les tracheomycoses de la Tomate au Maroc. Thèse Docteur ingenieur. Université de Nancy I.
- POCHON, J., y BARJAC, H., 1958: Traité de Microbiologie des sols. Ed: Dunod. Paris, 685 pp.
- POCHON, J., y TARDIEUX, P., 1962: Techniques d'analyse en Microbiologie du sol. Ed. de la Tourelle. Saint-Mandé.
- POMERLEAU, R., y MEHRAN, A. R., 1966: Distribution of spores of *Ceratocystis ulmi* Labelled with phosphorus 32 in green shoots and leaves of *Ulmus americana*. Naturaliste can., 93, 577-582.
- PONCHET, J., y AUGÉ, G., 1969: La mycoflore associée aux racines de l'oeillet. Ann. Phytopathol, 1, 133-136 (Numb. hors-série).
- PONCHET, J.; RICCI, P.; ANDREOLI, C., y AUGÉ, G., 1972: Méthodes sélectives d'isolement du *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* (DASTUR) WATERH. à partir du sol. Ann. Phytopathol, 4, 97-108.
- PONZ ASCASO, R., 1975-1976: Variedades de clavel: aire libre e invernadero. Anuario Español de Horticultura ornamental.
- PORTE, W. S., WALKER, H. B., 1941: The pan America tomato a new red variety highly resistant to *Fusarium* wilt. U.S. Dept. Agric. Circ., 611.
- POWELSON, R. L., 1970: Significance of population level of *Verticillium* in soil. In: TOUSSOUN, T. A.; BEGA, R. V., y NELSON, P. E., Ed. Root diseases and soil borne pathogens. Univ. California Press. Berkeley, 31-33.
- RANZONI, F. V., 1968: Fungi isolated in culture from soils of the Sonoran Desert. Mycologia, 60, 356-371.
- RAO, P., 1970: Studies on soil fungi. III Seasonal variation and distribution of microfungi in some

- soils of Andhra Pradesh (India). *Mycopath. Mycol. Appl.*, 40, 227-298.
- RAO, A. S., 1978: Chlamydozoosporos and saprophytic behaviour of vascular wilt *Fusaria*. In: *Pathological wilting of plants*. Ed: The University of Madras. India, 130-134.
- RAPILLY, F., 1968: Les techniques de mycologie en Pathologie Végétale. *Ann. Epiphyties*, 19, 102 pp. (hors Série).
- RATTINK, H., 1979: Phytophthora wilt of carnation in the Netherlands. *Neth. J. Pl. Path.*, 85, 83-84.
- REDDY, T. K. R., KNOWLES, R., 1965: The fungal flora of a boreal forest raw humus. *Can J. Microbiol.*, 11, 837-843.
- RICK, C. M., 1978: El tomate. *Investigación y Ciencia*, 25, 45-55.
- ROBINSON, R. A., 1969: Disease resistance terminology. *Rev. appl. Mycol.* 48, 593-606.
- ROBINSON, R. A., 1976: *Plant Pathosystems*. Advanced Series in Agriculture. Sc., 3. Springer Verlag, 184 pp.
- ROBINSON, R. A., 1980: New concepts in breeding for disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathology*, 18, 189-210.
- RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, J. M., 1975: Evidencia de ataques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en cultivos de claveles en invernadero en Gran Canaria. *Granja Agrícola Experimental. Serie Fitopatología*, 75/1, 7 pp.
- RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, R., 1981: Plagas y enfermedades del tomate. *XOBA, Monografía*, n.º 2, 49-99.
- ROWE, R. C.; FARLEY, J. D., y COPLIN, D. L., 1977: Airborne spore dispersal and recolonization of steamed soil by *Fusarium oxysporum* in tomato green-house. *Phytopathology*, 67, 1513-1517.
- ROWE, R.C., y FARLEY, J.D., 1978: Control of *Fusarium Crown and Root Rot* of greenhouse tomatoes by inhibiting recolonization of Steam—disinfested soil with a captafol drench. *Phytopathology*, 68, 1221-1224.
- ROWE, R.C., y FARLEY, J.D., 1981: Strategies for controlling *Fusarium Crown and root rot* in greenhouse tomatoes. *Plant Disease*, 65, 107-112.
- ROUXEL, F, y BOUHOT, D., 1971: Recherches sur l'ecologie des champignons parasites dans le sol. IV. Nouvelles mises au point concernant l'analyse selective et quantitative des *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* dans le sol. *Ann. Phytopathol.*, 3, 171-188.
- SCHAIBLE, L., CANNON, O.S., y WADDOUPS, V., 1951: Inheritance of resistance to *Verticillium* wilt in a Tomato cross. *Phytopathology*, 41, 986-990.
- SHIPPERS, B., y VOETBERG, J.S., 1969: Germination of chlamydozoosporos of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 1 in the rhizosphere, and penetration of the pathogen into roots of a susceptible and resistant pea cultivar. *Neth. J. Pl. Path.*, 75, 241-258.
- SCHIPPERS, B., y VAN ECK, W.H., 1981: Formation and survival of chlamydozoosporos in *Fusarium*. In: NELSONS, P.E.; TOUSSON, T.A., y COOK, R.J. eds. *Fusarium, Diseases, Biology and Taxonomy*. State Univ. Press, 250-260.
- SCHROEDER, W.T., 1950: *Verticillium* wilt of tomato. *Farm. Res.*, 16,7.
- SEQUEIRA, L., 1962: Influence of organic amendments on survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in the soil. *Phytopathology*, 52, 976-982.
- SEWELL, G.W.F., 1959a: Direct observation of *Verticillium albo-atrum* in soil. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 42, 312-321.
- SEWELL, G.W.F., 1959b: The ecology of fungi in Calluna-heathland soils. *New Phytol*, 50, 5-15.
- SMITH, R.S., Jr., 1967: Decline of *Fusarium oxysporum* in the roots of *Pinus lambertiana* seedling transplanted into forest soils. *Phytopathology*, 57, 1265.
- SMITH, S.N., 1977: Comparison of germination of pathogenic *Fusarium oxysporum* chlamydozoosporos in host rhizosphere soils conductive and suppressive to wilts. *Phytopathology*, 67, 502-510.
- SMITH, S.N., y SNYDER, W.C., 1975: Persistence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in fields in the absence of cotton. *Phytopathology*, 65, 190-196.
- SNEL, W.H., y DICK, E.A., 1975: *A Glossary of Mycology*. Ed. Harward Univ. Press. USA.
- SNYDER, W.C., y HANSEN, H.N., 1940: The species concept in *Fusarium*. *Amer. J. Bot.*, 27, 64-67.
- SNYDER, W.C., y TOUSSON, T.A., 1965: Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfect stages. *Phytopathology*, 55, 833-837.
- STONER, M.F., 1981: Ecology of *Fusarium* in non-cultivated soils. In: NELSON, P.E.; TOUSSON, R.J., y COOK, R.J. (editr.). *Fusarium, Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University, 276-286.
- TABARES RODRÍGUEZ, R.; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, F., y ALAMO ALAMO, M., 1981: Estudio de variedades de tomate. *XOBA. Monografía* n.º 2, 27-46.
- TELLO, J. C., 1984: Enfermedades criptogámicas en hortalizas. *Comunicaciones INIA. Sr. Prot. Veg.*, n.º 22, 274 pp.
- TELLO, J. C., y GARCÍA MORATO, M., 1977: Prospección de enfermedades micológicas en plantas hortícolas (tomate, pimiento, melón, sandía, judía...). *Información Técnica S.E.A.*, 28 pp.
- TELLO, J. C., y PÉREZ, M.A., 1978: Presencia en la isla de Tenerife de las razas fisiológicas 1 y 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *XOBA*, 2, 197-204.
- TELLO-MARQUINA, J. C.; ALABOUVETTE, C., y LOUVET, J., 1980: Aptitude á la conservation de microconidies de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Ann. Phytopathol.*, 12, 227-233.
- TELLO-MARQUINA, J. C., y ALABOUVETTE, C., 1984: Observations sur la persistance dans le sol de

- microconidies de *Fusarium oxysporum*. *Agronomie*, 4, 885-890.
- TELLO, J.C., y LACASA, A., 1984: Una enfermedad de los claveles (*Dianthus carioophylus*) causada por diversas especies de *Phytophthora*. Comunicaciones del III Congreso Nacional de Fitopatología. Puerto de la Cruz (Islas Canarias), 70.
- TELLO, J.C., y LACASA, A., 1988: «La podredumbre del cuello y de las raíces» causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, nueva enfermedad en los cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) españoles. *Bol. San. Veg. Plagas*, 14, 307-312.
- THORTON, R.H., 1956: Fungi occurring in mixed oakwood and heath soil profiles. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 39, 485-494.
- TOUSSOUN, T.A., 1981: The genus *Fusarium*: Taxonomy. Prologue. In: *Fusarium*, diseases, biology, and taxonomy. Ed: NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A., y COOK, R.J. The Pennsylvania State University Press. University Park and London, 457 pp.
- TOUSSOUN, T.A.; MENZINGER, W., y SMITH, R.S., Jr., 1969: Role of conifer litter in ecology of *Fusarium*: Stimulation of germination in soil. *Phytopathology*, 59, 1396-1399.
- TRAMIER, R., 1967: Les principales maladies de l'oeillet. *Bulletin Technique d'Information*, 217, 1-10.
- TRAMIER, R., 1982: La Fusariose vasculaire de l'oeillet. *Phytoma*, Fevrier, 28-30.
- TRAMIER, R., 1985: La culture de l'oeillet: exemple d'integration des methodes de lutte contre la Fusariose vasculaire. C.R. 1^{eres} Journées Sur les Maladies des Plantes. Versailles. France. 263-270.
- TRAMIER, R., 1986: La Fusariose vasculaire de l'oeillet: dix ans de recherche. *Phytoma*, Fevrier, 45-48.
- TRAMIER, R.; PIONNAT, J.C.; BETTACHINI, C., y ANTONINI, C., 1979: Recherches sur la résistance des sols aux maladies. V. Ecolution de la Fusariose de l'oeillet en fonction des substrates de culture. *Ann. Phytopathol.*, 11, 477-482.
- TRAMIER, R.; PIONNAT, J.C., y METAY, C., 1983a: Epidemiology of *Fusarium* wilt during propagation of carnation cuttings. *Acta Horticulturae*, 141, 71-77.
- TRAMIER, R.; ANTONINI, C.; BETACHINI, A., y METAY, C., 1983b: Studies on *Fusarium* wilt resistance in carnation. *Acta Horticulturae*, 141, 49-54.
- VAN DER PLANK, J.E., 1968: Disease Resistance in Plants. Ed. Academic Press 206 pp.
- VAN DER PLANK, J.E., 1978: Genecit and Molecular Basis of Plant Pathogenesis. *Advanced Series in Agricult. Sc.* 6. Springer Verlag, 167 pp.
- VAN DER PLANK, J.E., 1984: Disease Resistance in Plants (2nd. Edition). Ed. Academic Press. London, 194 pp.
- VENKATARAMANN, M.N., 1978: On the saprophytic phase of four isolates de *Fusarium vasinfectum*. In: *Pathological wilting of plants*. Ed. The University of Madras. India, 140-153.
- WARCUP, J.H., 1960: Methods for isolation estimation of activity of funfi in soil. In: *The ecology of soil fungi*. PARKINSON, D., y WAID, J.S., Eds. Liverpool University Press.
- WALKER, J.C., 1971: *Fusarium* wilt of tomato. The American Phytopathological Society, Monograph, 6, 55 pp.
- WALTER, J.M., 1967: Hereditary resistance to disease in tomato. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 5, 131-182.
- WARREN, H.L., y KOMMEDAHL, T., 1973a: Fertilization and wheat refuse effects on *Fusarium* species associated with wheat roots in Minnesota. *Phytopathology*, 63, 103-108.
- WARREN, H.L., y KOMMEDAHL, T., 1973b: Prevalence and pathogenicity to corn of *Fusarium* species from corn roots, rizosphere, residues and soil. *Phytopathology*, 63, 1288-1290.
- WARREN, H.L., y KOMMEDAHL, T., 1973c: Root infecting species of *Fusarium* in soil and in the roots, rhizosphere, and residues of oats. *Phytopathology*, 63, 1401-1403.
- WATERHOUSE, G., 1970: The genus *Phytophthora* de BARY. *Mycological Papers*, 122.
- WEIDENSAUL, T.C., 1968: The occurrence of *Fusarium* in the air in northern hard wood forests. *Phytopathology*, 58, 1701 (abstr.).
- WEIMER, J.L., 1944: Some root rots and foot rot lupines in the southeastern part of the United States. *Agr. Res.* 68, 441-457.
- WIDDEN, P., y PARKINSON, D., 1973: Fungi from canadian coniferous forest soils. *Can. J. Bot.*, 51, 2275-2290.
- WILHELM, S., 1950: Vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in soil. *Phytopathology*, 40, 368-376.
- WINDELS, C.L., y KOMMEDAHL T., 1971: Comparison of *Fusarium* spp. and populations in cultivated and noncultivated soils. *Phytopathology*, 61, 1026 (abstr.).
- WOLLENWEBER, H.W., y REINKING, O.A., 1935: Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. Paul Parey. Berlin.
- ZADOKS, J.C., 1966: Problems in race identification of wheat rusts. In: *Fifth Yugoslav Symposium on Research in wheat* (Novi Sad, 1966). *Contemp. Agric.* 11/12, 299-305.

Resumen y abstract

RESUMEN

Fusarium oxysporum en los cultivos intensivos del litoral mediterráneo de España. Fases parasitaria (*Fusariosis vascular del tomate y del clavel*) y no parasitaria.

Dentro de los Patosistemas del tomate y del clavel, varios aspectos epidemiológicos de sus *Fusariosis* vasculares han sido estudiados desde el punto de vista del modelo hospedador —medio saprofítico— patógeno. El comportamiento de *F. oxysporum* (diferentes «formae speciales») y de *F. solani*, en ausencia de plantas, ha sido indagado en diferentes suelos y sustratos de uso hortícola.

Las encuestas fitosanitarias y las prospecciones fitopatológicas, elaboradas para los cultivos de tomate y de clavel de la costa mediterránea del Sureste Peninsular de España, durante 10 años, evidenciaron la gravedad de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, frente a otros patógenos de estos cultivos. Para explicar este comportamiento, varios aspectos epidemiológicos fueron abordados, al tiempo que se revisaban los procedimientos de lucha utilizados en las explotaciones.

Tanto la *Fusariosis* vascular del clavel como la del tomate tuvieron una exteriorización máxima en concordancia con las temperaturas más elevadas. Sin embargo, mientras *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* no se expresó durante los meses más fríos, *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* se manifestó a lo largo de las estaciones climáticas del año. La ausencia de *Phialophora cinerescens* como micosis de los claveles contrastó con la continuada acción de *Verticillium dahliae* en los tomates. Esta peculiaridad permitió concluir que el

estudio de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y de *V. dahliae* en los cultivos deberá hacerse en conjunto cuando se pretenda diseñar una estrategia de lucha con un mínimo de eficacia.

La inoperancia real de los métodos de lucha química contra la *Fusariosis* vascular del clavel (desinfecciones de suelo, fundamentalmente) ha patentado varios hechos: a) *F. oxysporum* puede encontrarse en el suelo a profundidades comprendidas entre 80-100 cm., donde la acción de los desinfectantes no se detectó. Acción, por otro lado, muy pequeña, cuando no nula, a 40-60 cm. por debajo de la superficie del suelo; b) la eficacia biocida del desinfectante en las capas más superficiales del suelo no fue uniforme, siendo su acción poco apreciable cuando las aplicaciones se practicaron a través de las instalaciones de riego, y c) aunque la densidad de inóculo de *F. oxysporum* en el suelo disminuía con los tratamientos y este decremento se mantenga a lo largo del cultivo, traduciéndose en una merma significativa de la gravedad de la enfermedad, ésta es prácticamente inoperante desde el punto de vista de la producción.

Estos hechos probados motivaron varios estudios: a) la sanidad del material vegetal de plantación puso en evidencia la limitación del análisis de esquejes, puesto que *F. oxysporum* podía aislarse del sustrato de la rizosfera y no del material vegetal. Este aspecto y otros fue comprobado en explotaciones productoras de clavel; b) la recolonización de los suelos desinfectados y la contaminación de plantas de clavel en explotaciones comerciales seguía la siguiente secuencia: a los 40 días después de plantar, *F. oxysporum* se había instalado en la rizoplana, y a los 70 días en el sistema vascular; c) tra-

tando de explicar la rápida infección y recolonización del suelo por *F. oxysporum*, así como la uniforme y masiva exteriorización de la Fusariosis vascular en las explotaciones, se investigó la importancia de la contaminación ambiental por *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, comprobándose que el hongo estaba presente en el ambiente aéreo a lo largo de todo el año, aportando hasta 9.10^3 propágulos por m^2 de suelo, bajo ciertas condiciones, y d) la importancia de los estiércoles de origen animal, fue evaluada para conocer su papel como portadores de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. Los resultados permitieron concluir que el aparato digestivo del ganado ovino y caprino no eliminaron el inóculo patógeno ingerido con las plantas de clavel enfermas.

El aspecto de la lucha contra la Fusariosis vascular del clavel, basado en la utilización de cultivares resistentes, fue abordado sobre 59 híbridos «tipo mediterráneo» y 1 cultivar tipo «mini». Los resultados obtenidos permitieron agrupar las variedades según clases de resistencia, pero las observaciones de otros autores ajustaron la relatividad que encierra esta ordenación.

Estudios análogos fueron realizados en el modelo tomate y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Sin embargo, la resistencia varietal al patógeno permitió conocer el efecto de la suboptimización de un gen de resistencia al hongo. la introducción de la resistencia hizo posible la exteriorización de un nuevo patotipo, que se generalizó en el cultivo cinco años después de extenderse los patodemos resistentes a la raza común. Este comportamiento pudo estar motivado, en parte, por la intensificación de los cultivos, que suprimió, prácticamente, la fase saprofitaria del patógeno en el suelo. Intensificación que comportó una degradación del medio, expresada en la aparición de nuevas enfermedades fúngicas y bacterianas, y en la salinización del suelo.

Las importantes diferencias entre las densidades del inóculo de *F. oxysporum* en los suelos cultivados con clavel y con tomate motivaron, para ensayar su comprensión, varias investigaciones: a) el estudio de la presencia de *F. oxysporum* en suelos no cultivados; los resultados revelaron que el hongo está presente en la práctica totalidad de los

suelos muestreados, exceptuando las arenas de playa y algunas tierras de montaña, y b) el estudio del comportamiento de *F. oxysporum* y *F. solani* en algunos suelos y sustratos de uso agrícola. Los trabajos realizados pusieron de manifiesto el papel de los microconidios en la conservación del hongo en suelos y otros sustratos. De igual manera, se observó la acción de las fuentes nutritivas, añadidas a suelos y sustratos, en la multiplicación de los Fusaria, probándose la producción de fialidas y formación de conidias en dichos medios por parte de *F. oxysporum*.

Palabras clave: conservación en suelos, contaminación aérea, clamidosporas, densidad de inóculo, desinfección, ecología, epidemiología, *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Patosistema, patotipos, patodemos, resistencia varietal.

ABSTRACT

Fusarium oxysporum in the intensive crops of the Spanish Mediterranean coast. Parasitic (*Fusarium* wilt of tomato and carnation) and not parasitic phases.

Within the tomato and carnation Patohosystems, several epidemiological aspects of their *Fusarium* wilt have been studied according to the model host-saprophytic medium-pathogen. The behaviour of *Fusarium oxysporum* (several «formae specialis») and *F. solani* in absence of plants have been studied in different soils and horticultural substrates.

The phytosanitary inquiries and the phytopathologic explorations which have been elaborated for the tomato and carnation crops in the Mediterranean coast of the Spanish Peninsular South eastern, for 10 years, have made evident the seriousness of *F. oxysporum* f. *dianthi* and *F. oxysporum* f. *lycopersici* compared to other pathogens of these crops. In order to explain this behaviour several epidemiological aspects were studied, and at the same time, the control systems which were used in the farms were reviewed.

Both the *Fusarium* wilt of carnation and tomato one had maximum symptoms according

ding to the highest temperatures. Nevertheless, while *F. oxysporum* f. *lycopersici* didn't show during the coldest months, *F. oxysporum* f. *dianthi* did during the climatic season of the year. The absence of *Phialophora cinerescens* as a carnation mycosis, contrasted with the continuous action of *Verticillium dahliae* in tomato. This peculiarity allowed to conclude that the study of *F. oxysporum* f. *lycopersici* and *V. dahliae* in the crops ought to be done jointly when designing a control strategy with minimum efficiency.

The actual inefficiency of the chemical control systems against the Fusarium wilt of carnation (soil disinfection, fundamentally) has made evident several facts: a) *F. oxysporum* can be found in the soil between 80 and 100 cms. deep, where the action of the disinfectants wasn't detected. Action, on the other hand, very slight, even null, at 40-60 cms. under the soils surface; b) the biocid effectiveness of the disinfectants in the most superficial layers of the soil wasn't uniform, its action being slightly appreciated when the applications were done by the spraying systems, and c) although the inoculum density of *F. oxysporum* in the soil is reduced by the treatments and this decrease is prolonged during the crop, resulting in a meaningful decrease of the seriousness of the disease, this one is practically ineffective from the point of view of production.

These proven facts, gave rise to several studies: a) the sanity of the vegetable planting material, it showed the limitation of the analysis of cuttings, since *F. oxysporum* could be isolated from the rhizospheric substrate and not from the vegetal material. This aspect and others were verified in the farms which produced cuttings; b) the recolonization of disinfected soils and the contamination of carnation plants in commercial farms was as follows 40 days after planting, *F. oxysporum* had settled in the rhizoplan and by 70 days in the vascular systems; c) trying to explain the quick infection and recolonization of the soil by *B. oxysporum*, as well as the uniform and massive manifestation of Fusarium wilt in the farms, the importance of the environmental contamination by *F. oxysporum* was studied, and the fungus presence in the atmosphere during the whole year was prove, rea-

ching even 9.10^3 prop./m² of soil, under some conditions, and d) the importance of manures of animal origin was assessed in order to know their role as carriers of *F. oxysporum* f. *dianthi*. The results proved that the digestive system of sheep and goats didn't eliminate the pathogenic inoculum taken with the sick carnation plants.

The control of Fusarium wilt of carnation based on using resistant cultivars was carried out on 59 «mediterranean type» hybrids and one «mini type» cultivar. The results enabled the gathering of the varieties in different classes of resistance, but other authors observations fitted the relativity that this arrangement implies.

Similar studies were carried out on the model tomato and *F. oxysporum* f. *lycopersici*. Nevertheless, the varietal resistance to the pathogen enabled us to know the effect of the suboptimization of a fungus resistance gen. The introduction of resistance enabled the manifestation of a new Pathotype, which became general in the crop 5 years after the spread occurrence of pathodems that are resistant to the common race. This behaviour could be due, in part, to the intensification of crops, that practically suppressed the saprophytic phase of the pathogen in the soil. This intensification involved a degradation in the medium, which manifested it self by the appearance of new fungal and bacterial diseases and the soil salinization.

The important differences between the *F. oxysporum* inoculum density in soils cultivated with carnation and tomato, brought about several investigations to try understand it, a) studying the presence of *F. oxysporum* in uncultivated soils. The results revealed that the fungus is present in almost all the sampled soils, except in the beach sands and in some mountain soils, and b) studying the behaviour of *F. oxysporum* and *F. solani* in several soils and horticultural substrates. The studies showed the role of microconidia in this fungus conservation in soils and other substrates. In the same way, the action of nutritive sources, added to soils and substrates, was observed, in the Fusaria multiplication, proving the production of phialides and the formation of conidia by *F. oxysporum* in such media.

Key words: conservation in soils, atmospheric contamination, chlamyospores, inoculum density, disinfection of soil, Ecology, Epidemiology, *Fusarium oxysporum*, *Fusa-*

rium oxysporum f. *dianthi*, *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, Pathosystem, pathotype, pathodeme, varietal resistance.

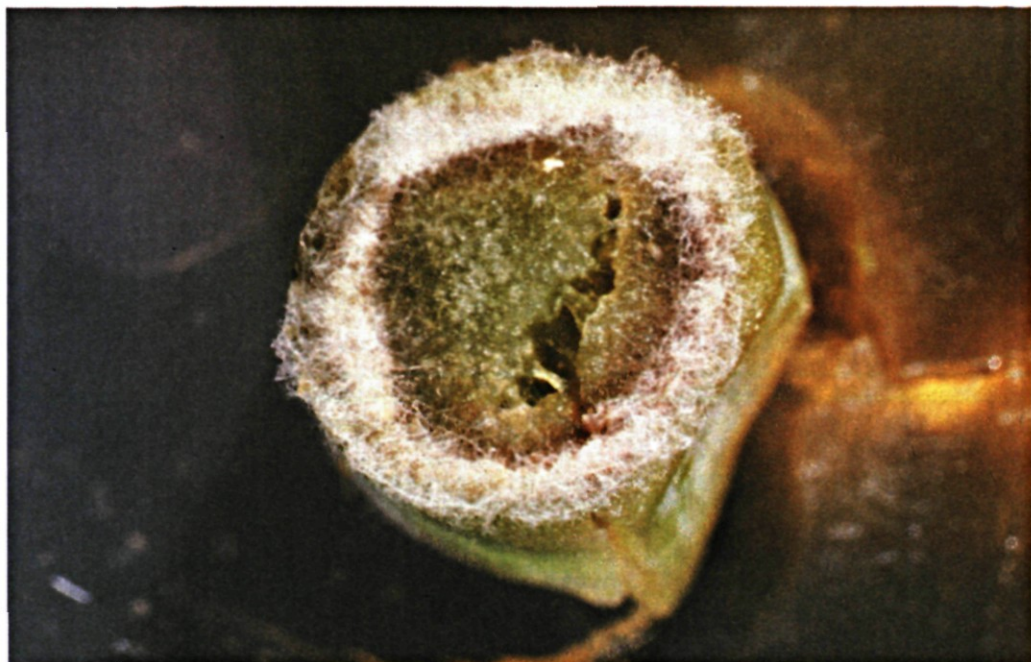
Fotografías



Cultivo al aire libre de tomate. Mazarrón (Murcia).



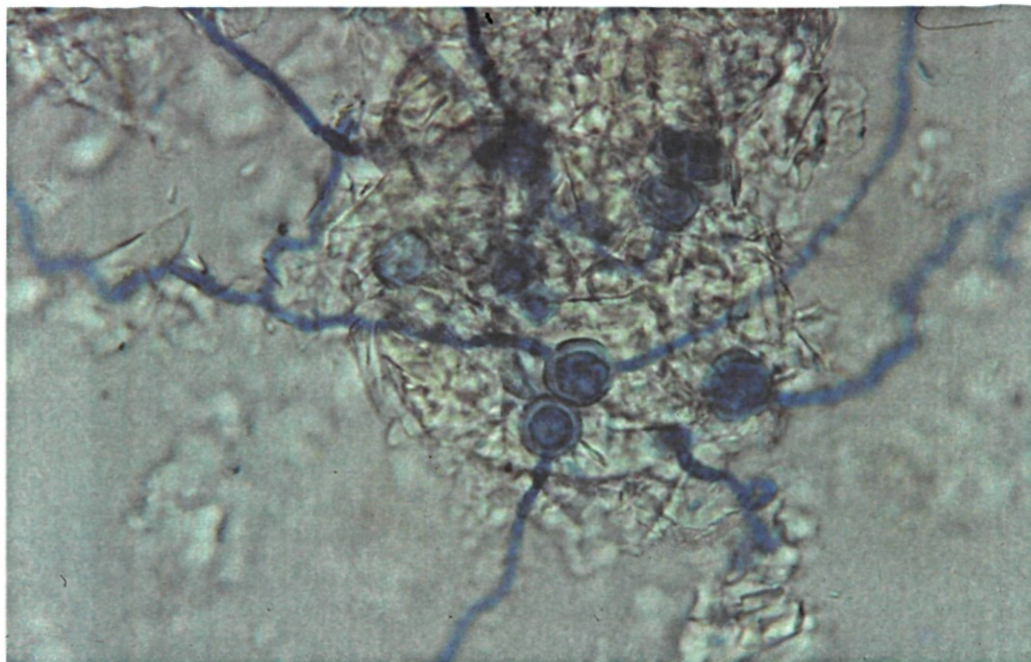
Vista panorámica de la comarca del Campo de Dalías (Almería).



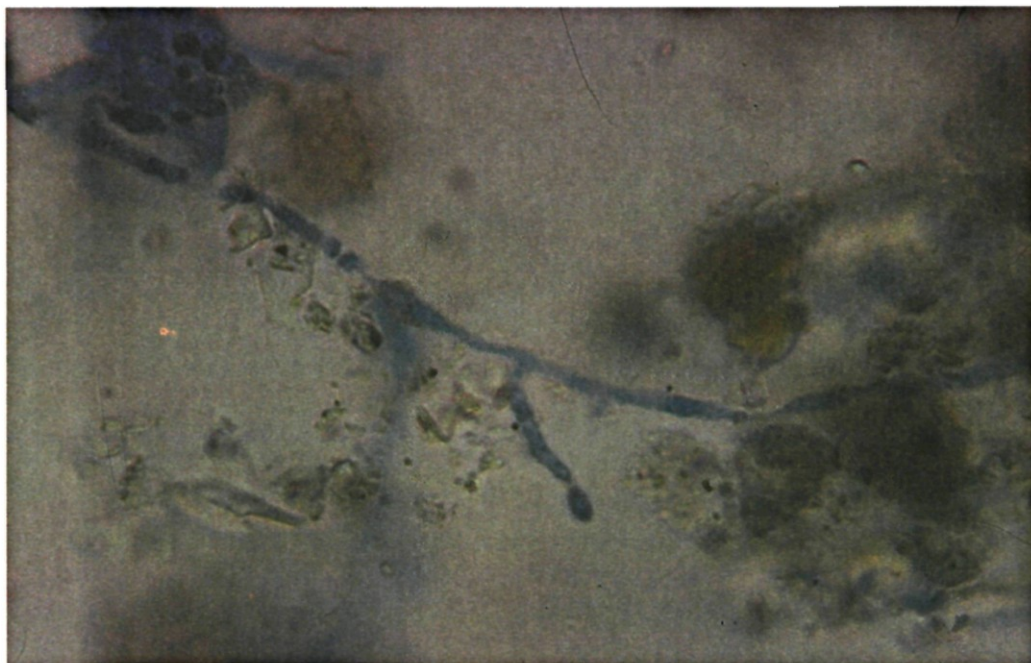
Fusarium oxysporum f. sp. *dianthi* en el xilema de una planta de clavel.



Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* en el xilema de una planta de tomate.



Clamidosporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Germinación en talco humedecido (x 600).



Fiálida de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, formada en un suelo natural abonado con glucosa (x 600).



Síntomas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, obtenidos en inoculación artificial.

Síntomas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* patotipo 1, obtenidos en inoculación artificial.



La responsabilidad por las opiniones emitidas en esta publicación corresponde exclusivamente a los autores de las mismas.

EDITA



MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION

SECRETARIA GENERAL TECNICA

Centro de Publicaciones

Paseo Infanta Isabel, 1 - 28071 MADRID

N.I.P.O.: 251-90-057-1 - I.S.S.N.: 0213-6910 - Depósito legal: M. 40.818-1990
Imprime: Neografis, S. L. - Santiago Estévez, 8. 28019 Madrid



MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION

DIRECCION GENERAL DE LA PRODUCCION AGRARIA

FUSARIUM OXYSPORUM EN LOS CULTIVOS
INTENSIVOS DEL LITORAL MEDITERRANEO
DE ESPAÑA. FASES PARASITARIA
(FUSARIOSIS VASCULARES DEL TOMATE
Y DEL CLAVEL) Y NO PARASITARIA

J. C. TELLO MARQUINA
Dpto. de Protección Vegetal
C.I.T., I.N.I.A.
Apdo. 8111 - 28080 Madrid

A. LACASA PLASENCIA
Dpto. de Protección Vegetal
C.R.I.A., La Alberca (Murcia)