



FUNDACIÓN
ALFONSO MARTÍN ESCUDERO

FUNDACIÓN ALFONSO MARTÍN ESCUDERO
CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y PESCA DE LA JUNTA DE ANDALUCÍA

Estudio del control de enfermedades de clavel producidas
por patógenos de suelo mediante la utilización de compost
y el cultivo hidropónico.



EQUIPO INVESTIGADOR

José María Melero Vara

Instituto de Agricultura Sostenible. C.S.I.C. Córdoba.

Manuel López Rodríguez

Delegación de Cádiz. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.

María José Basallote Ureba

CIFA “Las Torres- Tomejil”. IFAPA. Sevilla.

Carlos López Herrera

Instituto de Agricultura Sostenible. C.S.I.C. Córdoba.

Ana María Prados Ligeró

CIFA “Alameda del Obispo”. IFAPA. Córdoba.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el área dedicada a flor cortada en España supera las 2000 ha, que generan 31000 empleos directos y 570 millones de EUR de producto bruto. El clavel es el cultivo floral principal con unas 1250 ha, cuya producción se exporta mayoritariamente a la UE, destacando a este respecto los Países Bajos, que absorben más del 70% de las exportaciones. Le sigue, en superficie cultivada, el rosal con unas 450 ha., distribuidas principalmente en Canarias, Galicia, Andalucía, Baleares y Cataluña; siendo las exportaciones moderadas, principalmente a Alemania, Países Bajos y Suecia. Otras flores producidas en España, en menores superficies, son: Crisantemo, Gladiolo, *Gypsophila* y *Gerbera*, así como *Strelitzia*, mayoritariamente esta última en las Islas Canarias.

El desarrollo del sector de la flor cortada en Andalucía comenzó en la década de los 70 y actualmente ocupa una posición relevante en la agricultura de esta comunidad, con una superficie de cultivo que supera ampliamente las 1.000 ha y una producción estimada en más de 1.600 millones de tallos (Anónimo, 2000a). Así, se sitúa a la cabeza entre las comunidades autónomas españolas, con más del 50% de la producción de flor cortada. En el contexto de la UE, este dato es especialmente relevante si tenemos en cuenta que España es, tras Holanda, el segundo productor comunitario de flores. En términos económicos la producción de flor cortada en Andalucía superó en el año 2.000 los 192,32 millones de EUR, lo que supone un 3,5% de su producción final agrícola (Anónimo, 2000b).

Aunque la importancia de estas cifras a nivel andaluz es innegable, la producción de flor cortada es aún más relevante ya que más de un tercio de la superficie dedicada a estos cultivos está muy localizada en zonas muy reducidas de la costa noroccidental de Cádiz, como el término municipal de Chipiona (33 Km²) y, en menor medida, en la comarca limítrofe de las Marismas de Sevilla, en las que se concentra el cultivo y alcanza una mayor trascendencia social y económica. Unas 800 ha se destinan a estos cultivos en dichas zonas, con una producción anual que se estima en 1.400 millones de tallos. No es de extrañar, por tanto, que en la provincia de Cádiz la flor cortada supusiera un 13,4% de su producción final agrícola en el año 2.000, al mismo nivel de otros sectores emblemáticos en esta provincia, como el del vino.

Las explotaciones andaluzas de flor cortada se caracterizan por ser de pequeña dimensión, teniendo, en muchos casos, un carácter familiar. La superficie media de estas explotaciones se sitúa en torno a los 7.000 m², si bien la mayoría de ellas cuentan con una superficie de cultivo inferior a los 5.000 m², según una encuesta de la DAP a productores de flor cortada 2001, D.A.P.)

Estos cultivos generan una elevada demanda de mano de obra, en relación con la superficie que ocupan, alrededor de 2.800.000 jornales directos anuales, cifra considerable si se tiene en cuenta la localización de los cultivos en áreas en las que el desempleo presenta especial incidencia.

En las principales zonas de producción andaluzas, el cultivo de flor para corte se realiza bajo invernaderos. Tan sólo en algunas zonas no típicamente productoras (Granada), se cultiva al aire libre, estando limitados a un corto periodo dentro del año, y su destino habitual es el consumo local.

Las principales especies que tradicionalmente han constituido la base de la floricultura andaluza han sido el clavel y el miniclavel. Estas especies aún suponen más de dos tercios de la producción andaluza de flor cortada, que se ha diversificado considerablemente en los últimos años. Actualmente también comienzan a cobrar importancia en Andalucía el crisantemo, la rosa, las bulbosas, la gerbera y las especies verdes de acompañamiento (Fig. 1).

El sector andaluz de la flor cortada posee una clara vocación exportadora. En este sentido, baste apuntar que el 64% de la producción de flor andaluza se destina al mercado exterior, siendo la UE nuestro principal consumidor con el 98% del volumen exportado (Anónimo 2000b). En Andalucía, a diferencia de otras regiones españolas productoras, existe una estructura comercial especializada en productos de floricultura y orientada al mercado exterior. Actualmente, dicha estructura está formada por 61 empresas con fuerte tendencia a la concentración en las zonas productoras. De hecho, más de dos tercios de estas empresas se ubican en el entorno de Sanlúcar de Barrameda y Chipiona. Dada la pequeña dimensión de la mayoría de las entidades comercializadoras, la mayor parte del comercio está controlado por unas pocas empresas de mayor tamaño.

Como ya se ha comentado con anterioridad, el miniclavel y el clavel constituyen la principal producción de flor cortada en Andalucía. Se trata, en ambos casos, de variedades de una misma especie (*Dianthus caryophyllus* L). Esta especie ocupa casi un 64% de la superficie destinada al cultivo de flor cortada en Andalucía, y un 73% del número total de tallos producidos.

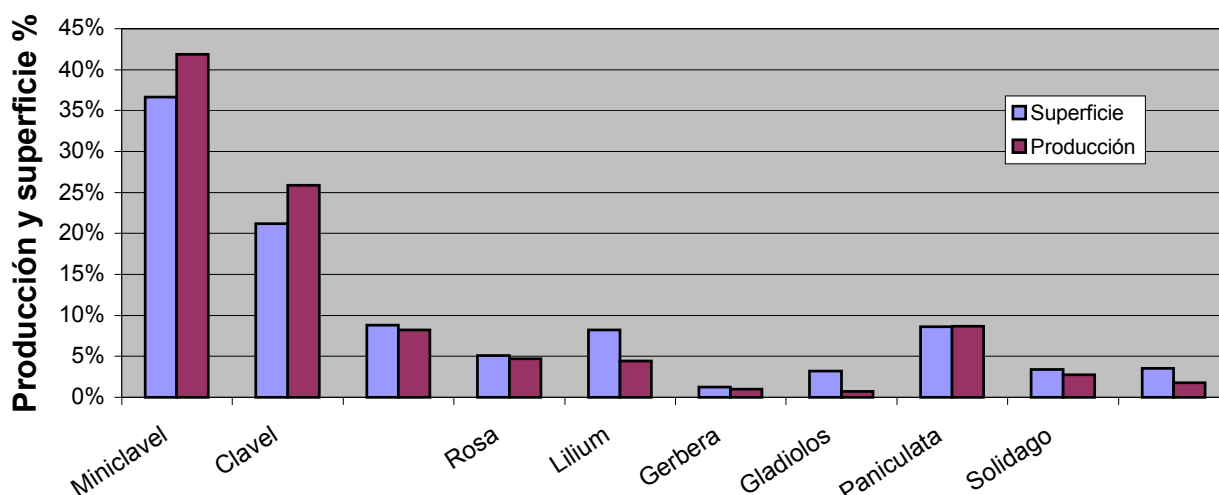


Figura 1. Superficie (%) y producción (%) de las principales especies de flor cortada en Andalucía.

El cultivo de *D. caryophyllus* (clavel y miniclavel) suele tener una duración de dos años. El periodo de recolección se prolonga durante todo el año, exceptuando los meses de verano, en los que, debido a las altas temperaturas, la calidad de las flores recolectadas se ve muy mermada. Dependiendo de las temperaturas registradas en cada año, el periodo no productivo del cultivo puede comenzar en torno al mes de junio y se prolonga hasta mediados de octubre. La evolución de la facturación de flor cortada, cuantificada a partir de la superficie ocupada por dichos cultivos ha sido desfavorable en la mayoría de las zonas. Aparte de los problemas comerciales que afectan de forma importante al sector, una limitación no menos importante se deriva del uso continuo del monocultivo y de la desaparición del bromuro de metilo (BM), un desinfectante de suelo que suele controlar enfermedades de especial importancia como la Fusariosis vascular (FV) y las Agallas radiculares (AR), cuyos agentes causales son *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Fod) (Melero *et al.*, 2002) y *Meloidogyne incognita* (Mi) (Navas *et al.*, 2000, 2002; Vega *et al.*, 2002), respectivamente.

El cultivo del clavel requiere elevadas inversiones, 15.000 € en gastos fijos y 4.000-5.500 € en gastos variables, lo que obliga a garantizar el mantenimiento de la producción al menos durante dos años continuados, para hacerlo rentable. Por ello resulta esencial conseguir un control de las enfermedades, que llegan a ocasionar pérdidas muy elevadas, particularmente en el caso de *F. oxysporum* y *M. incognita*.

Los cultivos de flor cortada utilizan habitualmente la desinfestación del suelo previa a la plantación a fin de asegurar condiciones sanitarias que eviten problemas ocasionados por organismos nocivos del suelo tales como hongos, insectos y malas hierbas. Este requerimiento se plantea como más necesario en el caso de cultivos de ciclo más prolongado, como es el caso de clavel, donde las oportunidades de acumulación de niveles altos de dichos organismos y, por tanto, de la gravedad de los problemas fitopatológicos, son mayores. Los sistemas de monocultivo son, asimismo, propicios a tal efecto y tienden también a utilizar desinfestaciones del suelo antes de iniciar el siguiente ciclo de cultivo.

Tradicionalmente, esta problemática se ha resuelto satisfactoriamente con los tratamientos de suelo con BM, cuya efectividad, amplio espectro, facilidad de manejo, corto plazo de espera para la siembra tras el tratamiento, consistencia de resultados, y costos aceptables resultan ventajosos frente a otros métodos de control. Sin embargo, el BM constituye uno de los compuestos que destruyen la capa de ozono de la atmósfera, con graves perjuicios a nivel planetario. Esto ha implicado una reducción progresiva del empleo de este fumigante en la UE y otros países, que culminará con su prohibición (excepto para usos críticos) en el año 2005, y ha obligado a buscar métodos alternativos de control de las enfermedades antes mencionadas, que sean más respetuosos con el medio ambiente.

En experimentos realizados en España, tendentes a buscar alternativas al BM para controlar los patógenos de suelo más importantes del clavel, se ha observado que la mezcla de 1,3-dicloropropeno + cloropicrina podría sustituir al BM como fumigante por su similar eficacia frente a Fod y a Mi. Sin embargo, esta alternativa química al BM presenta el inconveniente de tener una toxicidad elevada, que podría resultar, a un corto-medio plazo, en la supresión de su uso en la UE.

La eficacia del vapor de agua en la erradicación de los organismos nocivos del suelo, también corroborada en los experimentos anteriores (Melero *et al.*, 2002; Navas *et al.*, 2002),

tendría los inconvenientes del elevado costo y de la limitación de la superficie tratada por día con los equipamientos disponibles. El calentamiento del suelo utilizando la energía solar mediante la práctica de la solarización del suelo (Davis, 1991; Elena & Tjamos 1997; Frápolli *et al.*, 1994; González-Torres *et al.*, 1993; Jiménez- Díaz *et al.*, 1991; 1992; Katan, 1980; 1981; 1987; Melero-Vara *et al.*, 1995; Stapelton & DeVay, 1986), parece insuficiente para el control de los anteriores patógenos, más bien termófilos, dado que los agricultores requerirían la realización de dicha práctica en primavera (principios de mayo – mediados de junio) por la conveniencia de no retrasar la plantación del cultivo hasta el verano, por razones agronómicas. Así, la realización de la solarización en época subóptima no ha sido eficaz en el cultivo del clavel, alcanzándose niveles de enfermedad sólo ligeramente menores a los tratamientos testigo, puesto que no anula el inóculo del suelo a más de 15 cm de profundidad, ya que no se alcanzan las temperaturas requeridas. Sin embargo, cuando este tratamiento se realizó durante las seis semanas centrales del verano (7 Julio al 22 de agosto), los resultados en el control de la FV del clavel mejoraron sustancialmente, llegando a superar a los obtenidos con el tratamiento de cloropicrina aplicada mediante el sistema de riego por goteo.

Cabe, no obstante, efectuar técnicas de control integrado que incluyen tratamientos fumigantes a baja dosis y enmiendas orgánicas del suelo, combinados con el empleo de solarización del suelo en época subóptima (primavera) dentro de los invernaderos cerrados para lograr mayores incrementos térmicos. Así, el aporte de gallinaza fresca, con reacción exotérmica al confinarse en el suelo mediante su acolchamiento con polietileno transparente (biofumigación), ha mostrado una eficacia relativamente buena en el control de FV del clavel (Melero *et al.*, 2002), y en los consiguientes rendimientos del cultivo (Navas *et al.*, 2002), que podría optimizarse con el empleo de cultivares de clavel con un elevado grado de resistencia a Fod (Ben-Yephet *et al.*, 1996; Prados Ligeró *et al.*, 2003).

Por ello, a pesar de que los tratamientos de solarización, sola o en combinación con el aporte de gallinaza o microorganismos antagonistas, realizados en época óptima durante unas seis semanas, están siendo satisfactorios (López-Herrera *et al.*, 2001; Prados Ligeró *et al.*, 2002), el uso de esta medida implicaría un retraso en la siembra del cultivo, lo que conllevaría, a su vez, grandes pérdidas económicas, puesto que la producción se iniciaría cuando ha finalizado el periodo en que los precios de la flor son más altos.

Otros factores que podrían contribuir en sistemas de control integrado de las enfermedades serían, además del control biológico, la utilización de compost de distintos subproductos vegetales que, además de incrementar la capacidad de retención de agua y constituir un magnífico fertilizante, restauran la flora natural con microorganismos beneficiosos para el cultivo (Hoitink *et al.*, 1996; Pizano, 2002).

Desde los años 60, la industria de producción hortícola en invernaderos, principalmente en Estados Unidos y Holanda, ha estado utilizando compost con diferente grado de maduración, como alternativa a las turbas. Desde los primeros años de su utilización se observó que las pérdidas originadas por podredumbres radiculares causadas por *Phytophthora* descendía a niveles similares a los obtenidos con fungicidas (Hoitink & Fahy, 1986).

La maduración del compost está relacionada con una mejora del crecimiento de las plantas debido en ocasiones a la capacidad supresora que tiene éste sobre algunas enfermedades producidas por patógenos de suelo, entre las que se incluyen las causadas por *Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Pythium spp.*, y *Rhizoctonia solani*.

En la última fase del proceso de compostaje, en que la temperatura del compost ha descendido a <30 °C y la concentración de compuestos biodegradables procedentes de la materia orgánica original ha disminuido, es el momento en el que microorganismos mesofílicos son capaces de recolonizar el compost (Hoitink *et al.*, 1991). Entre estos microorganismos, y como posibles agentes de biocontrol, se incluyen *Bacillus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Flavobacterium balustinum*, *Pseudomonas spp.*, *Streptomyces spp.*, así como *Trichoderma spp.*, *Gliocladium virens*, *Penicillium spp.* y otros hongos (Chung & Hoitink, 1990; Hardy & Sivasithamparam, 1991; Hoitink & Fahy, 1986).

Una alternativa viable, que puede complementar a la solarización, apunta hacia el estudio de la supresividad, asociada a diferentes tipos de composts elaborados a partir de residuos orgánicos industriales, forestales y agropecuarios, frente a diversos patógenos del suelo. Durante la última década se han publicado bastantes trabajos generales sobre este fenómeno (Campbell, 1994; De Ceuster & Hoitink, 1999a; 1999b; Goldstein, 1998; Hoitink & Kuter, 1985; Hoitink & Fahy, 1986; Hoitink *et al.*, 1993; 1996; 1997; Santos *et al.*, 2003).

Desde el punto de vista de la agricultura sostenible, la supresividad asociada a estos composts resulta sumamente útil debido a la posibilidad de eliminar o disminuir el número de tratamientos necesarios para el control de enfermedades. La cantidad de residuos orgánicos que se pueden reciclar mediante el compostaje para su uso como sustrato, abono o enmienda, es amplia. Para ello se precisa estudiar su composición química y microbiológica para su caracterización, y analizar la naturaleza de la supresividad de las enfermedades causadas por agentes fitopatógenos del suelo, que puede tener como mecanismos de acción la competición, la antibiosis, el hiperparasitismo o la resistencia sistémica inducida en la planta huésped (Hoitink *et al.* 1997).

Entre las enmiendas orgánicas de fácil disponibilidad en el área de cultivo de clavel más importante de España, cabe destacar los compost de restos de plantas hortícolas, de orujo de oliva y de subproductos de la elaboración del corcho. Este último ha mostrado su eficacia en reducir poblaciones de *M. incognita* en viveros de olivo (Nico, 2002), y constituye además un sustrato para el crecimiento de clavel en cultivo hidropónico que se ha mostrado muy adecuado (López Rodríguez, datos no publicados). Este tipo de cultivos sin suelo, entre los que también destaca el cultivo en cascarilla de arroz tostada, que se utiliza en Colombia (Pizano, 2002) y que ha sido también ensayado con relativo éxito en Lebrija (Sevilla) (Navas *et al.*, datos no publicados), constituye otra medida alternativa al uso de BM, ya que separa al cultivo del suelo natural, infestado por diversos patógenos, y que es además de utilidad en áreas con suelos pobres donde el cultivo hidropónico es requerido para conseguir rendimientos competitivos. La disponibilidad de ambos tipos de sustrato es actualmente abundante en el área mayoritaria de cultivos de clavel en España, y tienen precios bastante asequibles.

La finalidad del presente trabajo es el control de la Fusariosis vascular (FV) y de las Agallas radicales (AR) del clavel, mediante la aplicación al suelo del fumigante dicloropropeno+cloropicrina, de composts de hortícolas y de corcho, así como el cultivo sobre sustrato constituido por compost de residuo de corcho.

OBJETIVOS

1. Determinación de la efectividad de los tratamientos sobre las poblaciones de *Fusarium oxysporum* f sp. *dianthi* y de *Meloidogyne incognita* en el suelo.
2. Estudio del progreso epidémico de FV y de AR en dos cultivares de clavel con distinto nivel de susceptibilidad a dichas enfermedades.
3. Determinación del efecto de dichos tratamientos en el rendimiento del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental ha consistido en dos experimentos desarrollados, uno bajo invernadero climatizado en el Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA) de Córdoba y el otro bajo invernadero tipo comercial en el CIFA de Chipiona.

Experimento en invernadero climatizado.

Se ha llevado a cabo un experimento en plantas de clavel cv. Exótica, susceptible a Fod (raza 2), plantadas en suelo infestado artificialmente con Fod e incubadas durante 4.5 meses en condiciones controladas de luz y temperatura (10 h de fotoperiodo y 15-28°C) (Fig. 2).



Fig. 2. Plantas de clavel inoculadas con Fod en invernadero climatizado.

Para ello, a una bolsa con 14 kg de mezcla de suelo estéril (arena:lmo:turba, 2:1:2, v) se le añadieron 65 ml de una suspensión de 10^7 conidias/ml de Fod y 10 discos de agar patata dextrosa (PDA) de 1.2 cm de diámetro, colonizados por el patógeno.

Se utilizaron, separadamente, tres aislados monoconídicos de Fod, raza 2 (A3, A4 y A7). El suelo inoculado se dispuso en bolsas de plástico que se mantuvieron durante 10 días a 24°C en oscuridad, agitándose en días alternos. Tras el periodo de incubación, para determinar la densidad de inóculo, se tomaron tres muestras de 1 g de cada una de las bolsas inoculadas (2 bolsas/inóculo, conteniendo 14 kg suelo/bolsa).

Cada una de estas muestras se agitó durante 1 min en un frasco con 150 ml de agar agua al 0.1%, y se realizaron diluciones de 10^{-1} , vertiendo cinco repeticiones de 1 ml en sendas placas con medio semiselectivo (agar V8) para *Fusarium* (Komada, 1975). Se mantuvieron dos días en oscuridad a 24°C y tres días con fotoperiodo de 12 h (Figs. 3 y 4).



Fig. 3. Incubación de Fod en medio nutritivo líquido.



Fig. 4. Preparación de suspensión de conidias de Fod para la inoculación

Para cada maceta se mezcló 50% (volumen) de suelo infestado con A3, A4 ó A7 y dos dosis diferentes (10 y 20%, v) de compost hortícola o de corcho, más 40 ó 30% (volumen) de mezcla de suelo estéril no infestado con Fod, respectivamente. Además, se consideraron los tratamientos testigo: mezcla de suelo estéril, mezcla de suelo infestado con A3, A4 ó A7 más mezcla de suelo estéril (1:1, v), y mezcla de suelo estéril (90 ó 80%,v) más compost (10 ó 20%,v) hortícola o de corcho. A continuación se plantaron los esquejes enraizados de clavel de 5 semanas. El diseño experimental fue de bloques al azar con cinco repeticiones (unidad experimental de dos elementos) (Fig. 5).



Fig. 5. Aspecto general del experimento de empleo de compost en el control de la FV del clavel, en invernadero climatizado.

El desarrollo de la FV de clavel se evaluó mediante lecturas semanales de síntomas aéreos de la enfermedad, según una escala de severidad 1-5, donde 1= planta sana y 5= planta muerta (López- Herrera *et al.* 2001) (Fig. 6).



Fig. 6. Escala de severidad de síntomas de FV en clavel inoculado artificialmente con Fod.

A lo largo del experimento se realizaron aislamientos de tallos y raíces de plantas con necrosis foliares procedentes de los tratamientos testigo con composts. Para ello, se desinfectaron superficialmente durante 2 min en una solución de hipoclorito sódico al 10% y se sembraron en placas de PDA y agar V8. Al finalizar el experimento se realizaron también aislamientos de las plantas de todos los tratamientos testigo no infestados con Fod.

Experimento en invernadero de plástico tipo comercial.

El experimento se estableció en un invernadero de 700 m², situado en el CIFA de Chipiona (Cádiz), cuyo suelo fue infestado artificialmente durante el verano del 2002, mediante

aporte de plantas de clavel infectadas por Fod procedentes de otro invernadero afectado por FV de clavel y ubicado en el mismo Centro (Fig. 7). Las plantas, una vez troceadas, fueron incorporadas al suelo con una labor de rotovator (Fig. 8). Del mismo modo, se aportaron plantas afectadas por el nematodo de las AR procedentes de otro invernadero.



Fig 7. Invernadero con suelo infestado, en el CIFA de Chipiona.



Fig. 8. Preparación de las parcelas tras las aportaciones de inóculos al suelo y la aplicación de los tratamientos.

Con objeto de incrementar la población de Fod y Mi en el suelo, se sembraron (en el verano de 2003) esquejes de clavel de los cvs. Laredo y Medea, susceptibles a Fod, y plantas de tomate del cultivar Merlín, susceptible al nematodo de las AR.

Posteriormente, a fin de incrementar las densidades de inóculo de Mi y de Fod, se incorporaron al suelo raíces trituradas de plantas afectadas por AR, y limo infestado con 5 aislados monoconídicos de Fod, raza 2 (A3, A4, A5, A6 y A7), que se habían desarrollado durante diez días en erlenmeyer con caldo de patata-dextrosa e incubados en agitador orbital a 150 rpm a 24°C, y bajo fotoperiodo de 12 horas (Fig. 3). Cada erlenmeyer se vertió, por separado, en bandejas conteniendo limo tamizado que se mantuvieron a temperatura ambiente durante 16 días. Al cabo de este tiempo se tomaron muestras del suelo donde había estado creciendo cada aislado, se procesaron en el laboratorio y se determinó la densidad de inóculo de cada uno de ellos. Se mezclaron todos los aislados y se distribuyó homogéneamente, en el suelo del invernadero, un total de 60 Kg de limo infestado, que resultó en una aportación global de 23.8×10^6 ufc de Fod por m^2 .

Los tratamientos incluidos en el experimento fueron los siguientes:

1. Testigo no tratado.
2. Aporte mediante el sistema de riego por goteo, de 1,3-dicloropropeno + cloropicrina (40 ml/m²)
3. Aporte al suelo de compost (0,54 m³ / parcela) procedente de plantas hortícolas (CH), básicamente de pimiento.
4. Aporte al suelo de compost (0,54 m³ / parcela) de subproductos del corcho (CC).
5. Cultivo sobre sustrato constituido por compost de residuos de corcho.

La plantación se llevo a cabo a los 18 días de la realización de los tratamientos, excepto para el tratamiento del fumigante químico, que se aplicó 28 días antes del aporte de los composts (Fig. 9).



Fig. 9. Aspecto general del cultivo de clavel en invernadero del CIFA de Chipiona

El diseño experimental fue en parcelas divididas (6 x 1 m²) con tres bloques al azar. En cada parcela experimental se plantaron dos variedades de clavel: Pícaro susceptible a Mi y resistente a Fod, y Master susceptible a Fod y resistente a Mi. A las parcelas de los tratamientos 1 y 2 se le aportaron 2 kg/m² de “pellet” de oveja para equiparar los aportes de

materia orgánica con los de los otros tratamientos. El cultivo se mantuvo durante un año y se tomaron secuencialmente datos de síntomas de FV y AR, así como de producción, según tratamientos y bloques.

Para el estudio de las poblaciones de los patógenos en el suelo, se tomaron muestras de suelo a distintas profundidades (0-15 y 15-30 cm para Fod, 0-30 cm para Mi) antes y después de efectuar los tratamientos, y se determinó la densidad de inóculo (DI).

Una vez desecadas las muestras de suelo a temperatura ambiente en el laboratorio, se añadieron 5-7 g de suelo en un erlenmeyer con 150 ml de agar- agua al 0.1%. Se vertió 1 ml de esta suspensión sobre cada una de cinco placas (repeticiones) con medio de cultivo semiselectivo para *Fusarium* (Komada, 1975). También se realizaron siembras en cinco placas de las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} , para cada una de las profundidades, tratamientos y repeticiones. Tras la incubación durante 2 días a 25°C en oscuridad y 3 días con fotoperiodo de 12 horas, se contabilizó el número de propágulos de *F. oxysporum* (ufc/g de suelo) en dichas placas.

De ellas se seleccionaron distintos tipos morfológicos de colonias para cada tratamiento y bloque, y se determinó su patogenicidad sobre plántulas de clavel del cv. Exótica. Para ello, cada aislado se incrementó en caldo de patata-dextrosa en agitación a 150 rpm durante 10 días, bajo fotoperiodo de 12 horas y a 25°C. Posteriormente se filtró la suspensión y se inocularon esquejes de clavel mediante inmersión de las raíces en una suspensión acuosa de 7×10^6 conidias/planta durante 5 min. Se plantaron en mezcla de arena:lomo:turba (2:1:2, v) y se mantuvieron en invernadero a 15-25°C bajo fotoperiodo de 10 h, hasta tres meses. Secuencialmente, se anotó la incidencia de plantas con síntomas de FV del clavel, según la escala de severidad descrita anteriormente.

El estudio de la población de Mi en el suelo se realizó mediante el método de centrifugación en solución de sacarosa. Para lo cual, las muestras de suelo se tamizaron y se centrifugaron repetidamente, hasta su completo lavado. Posteriormente, se dejaron en reposo durante 24 h a temperatura ambiente y se centrifugaron en una solución de sacarosa a 1800 rpm. El sobrenadante se tamizó y lavó, añadiéndose unas gotas de formol para su observación al microscopio.

Para la valoración de los resultados de la FV del clavel se han realizado los correspondientes análisis de varianza para los datos de DI, de incidencia de enfermedad, del área estandarizada bajo la curva del progreso epidémico (AEBCPE) de la enfermedad, y de la producción de tallos de clavel.

RESULTADOS

Experimento en invernadero climatizado.

El aporte de compost hortícola (CH) al suelo manifestó fitotoxicidad en las plantas para las dos dosis de compost empleadas (10% y 20%, v), y retrasó, respecto al testigo, 37 y 14 días el inicio de la enfermedad, respectivamente, cuando se infestó el suelo con Fod-A3. En el suelo infestado con Fod-A4, el compost no fue efectivo a ninguna de las concentraciones, mientras que Fod-A7 retrasó la enfermedad 7 días.

El aporte de compost de residuo de corcho (CC) (10% y 20%, v) en suelo infestado con Fod- A3, retrasó el inicio de la enfermedad en 7 y 14 días, respectivamente, comapardo con el testigo. Cuando el suelo fue infestado con Fod-A4 ó Fod-A7 y el aporte de CC fue del 10% no se produjo retraso de la enfermedad, mientras que para la dosis del 20%, dicho retraso fue de 7 y 37 días, respectivamente.

Al cabo de 137 días desde la plantación, el CH-10% redujo la incidencia de enfermedad en un 42, 50 y 30% , respecto a los testigos de Fod A3, A4, y A7, mientras que el CH-20% lo hizo en un 56, 34 y 34% respectivamente. El aporte de CC a la concentración del 10% en la mezcla de suelo infestado con Fod A3, A4 y A7, redujo la incidencia (%) de plantas con síntomas en un 16, 28 y 0% y en un 24, 20 y 19% cuando se aportó CC al 20 % (Tabla 1).

Tabla 1. Índice medio de síntomas (%) de Fusariosis vascular en plantas de clavel (cv. Exótica) plantadas en suelos infestados con Fod raza 2 tratados con aportes al suelo de compost hortícola y de residuos de corcho.

Aislados de Fod	Testigo	Compost hortícola		Compost corcho	
		10%	20%	10%	20%
A3	98	56	42	82	74
A4	94	44	60	66	74
A7	95	66	62	96	76

De los aislamientos realizados de raíces al final del experimento, no se obtuvo ningún organismo a partir de las plantas tratadas con CC, mientras que para las plantas testigo no tratadas se detectaron *Fusarium* (10%), *Alternaria* (10%) y *Aspergillus terreus* (10%), y en el

tratamiento de CH se aisló *Alternaria* (25%), *Fusarium* (8%) y *Trichoderma* (8%). De los aislamientos realizados de tallos de las plantas tratadas con CC se obtuvo el 45% de *Fusarium* y el 25% de *Alternaria*, mientras que para las tratadas con CH se aisló 50% de *Fusarium* y 66% de *Alternaria*, y para las plantas del tratamiento testigo 70% de *Fusarium* y 20% de *Alternaria*. Estos hongos, inoculados en plantas de clavel, no produjeron ningún síntoma en las mismas.

Experimento en invernadero de plástico, de tipo comercial.

No se detectó *M. incognita* a lo largo del experimento.

La viabilidad del inóculo de Fod en el suelo, a las dos profundidades consideradas, se redujo a niveles indetectables en el tratamiento de 1,3-dicloropropeno + cloropicrina. Para los demás tratamientos considerados, se incrementó la densidad de propágulos de Fod en el suelo. En los tratamientos testigo, CH y CC la población de Fod aumentó, a 0-15 cm de profundidad, 1.5, 2.5 y 2.7 veces su valor inicial, respectivamente, mientras que a 15-30 cm de profundidad el incremento fue de 16 y 15.3 veces en testigo y CH respectivamente, en tanto que en CC pasó de 0 a 124 ufc/g (Tabla 2).

Tabla 2. Densidad media de colonias de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (ufc/g) a distintas profundidades de suelo en las subparcelas con dos cvs. de clavel, antes y después de realizar los tratamientos de suelo

Tratamiento	Cultivar	Profundidad (cm)	Densidad de inóculo	
			Antes	Después
Testigo	Master	0-15	35	52
		15-30	0	73
	Pícaro	0-15	0	0
		15-30	8	55
1,3-Dicloropropeno + Cloropicrina	Master	0-15	151	0
		15-30	25	0
	Pícaro	0-15	33	0
		15-30	205	0
Compost hortícola	Master	0-15	46	32
		15-30	7	37
	Pícaro	0-15	0	82
		15-30	10	223
Compost corcho	Master	0-15	69	76
		15-30	0	32
	Pícaro	0-15	25	178
		15-30	0	92

En general, para todos los tratamientos ensayados, la incidencia final (%) de plantas afectadas por FV y el AEBCEPE fueron menores en el cultivar Pícaro que en Master, debido a la

mayor susceptibilidad del último. Al final del experimento, el cultivo hidropónico sobre sustrato de residuos de corcho fue el que presentó menor incidencia de plantas enfermas (0.4 y 1% en Pícaro y Master, respectivamente) (Tabla 3 y Fig. 11).

En el cv. Pícaro, el aporte de CH y de CC resultó en una baja incidencia de enfermedad (1.7 y 3.8% respectivamente) mientras que en el tratamiento químico se alcanzó el mayor nivel de enfermedad (14.6%). En el cultivar Master, las mayores incidencias de enfermedad se correspondieron con los tratamientos CH (37.3%), testigo (25.7%) y CC (24%), mientras que en el tratamiento de 1,3-dicloropropeno + cloropicrina la incidencia de plantas enfermas fue inferior al 20% (Figura 11). Para ambos cvs. las AEBCE mostraron tendencias similares a las de la incidencia de la enfermedad (Tabla 3).

La producción total de flores no mostró diferencias significativas entre tratamientos cuando el cultivar fue resistente a Fod (Pícaro), mientras que para el cultivar moderadamente susceptible (Master), las producciones en testigo y 1,3-dicloropropeno + cloropicrina fueron significativamente inferiores ($P < 0.05$) a las producciones de los tratamientos restantes.

El aporte de compost (CH o CC) al suelo infestado moderadamente con Fod aumentó la población del patógeno en el suelo, pero determinó un aumento de la producción de flores totales respecto del testigo y del tratamiento químico.

Tabla 3. Efecto de diferentes tratamientos de suelo sobre, la incidencia final de plantas afectadas por FV, el área estandarizada bajo la curva de progreso epidémico y la producción total en un invernadero artificialmente infestado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*.

Tratamientos	Cultivar	Incidencia final de enfermedad (%)	AEBCE	Producción total (tallos/m ²)
Testigo	Master	25.7	18.5 ns	63.0 a
	Pícaro	6.7	3.1 ns	83.0 ns
1,3-Dicloropropeno+ cloropicrina	Master	19.0	11.0 ns	73.3 a
	Pícaro	14.6	8.2 ns	107.3 ns
Compost hortícola	Master	37.3	23.5 ns	102.3 b
	Pícaro	1.7	1.3 ns	109.0 ns
Compost corcho	Master	24.0	13.3 ns	99.0 b
	Pícaro	3.8	2.9 ns	104.0 ns
Sustrato hidropónico	Master	1.0	1.1 ns	105.3 b
	Pícaro	0.3	0.4 ns	96.0 ns

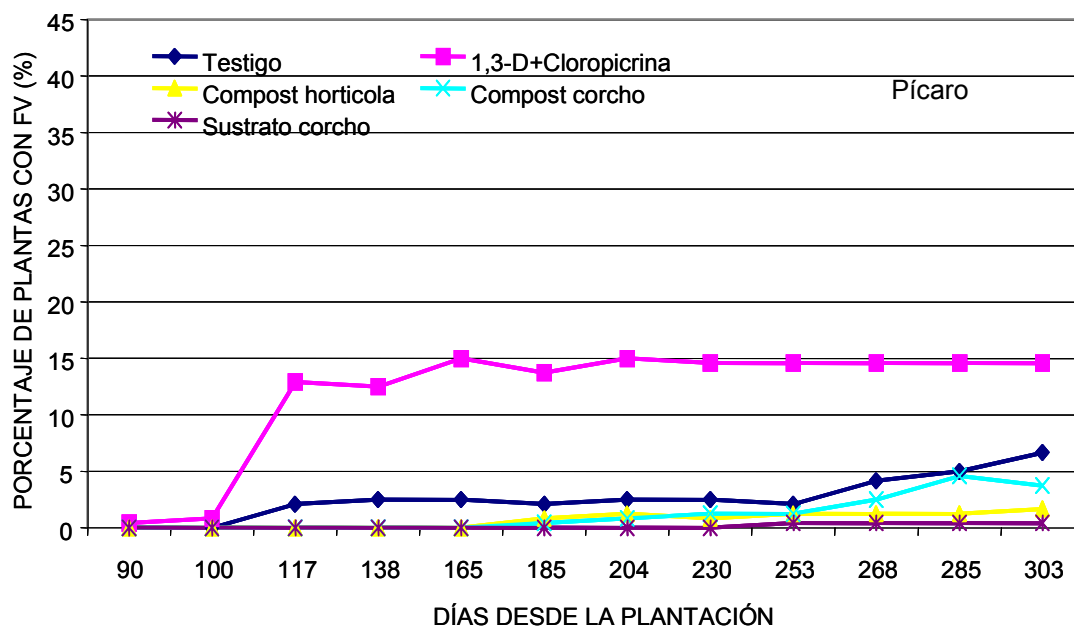
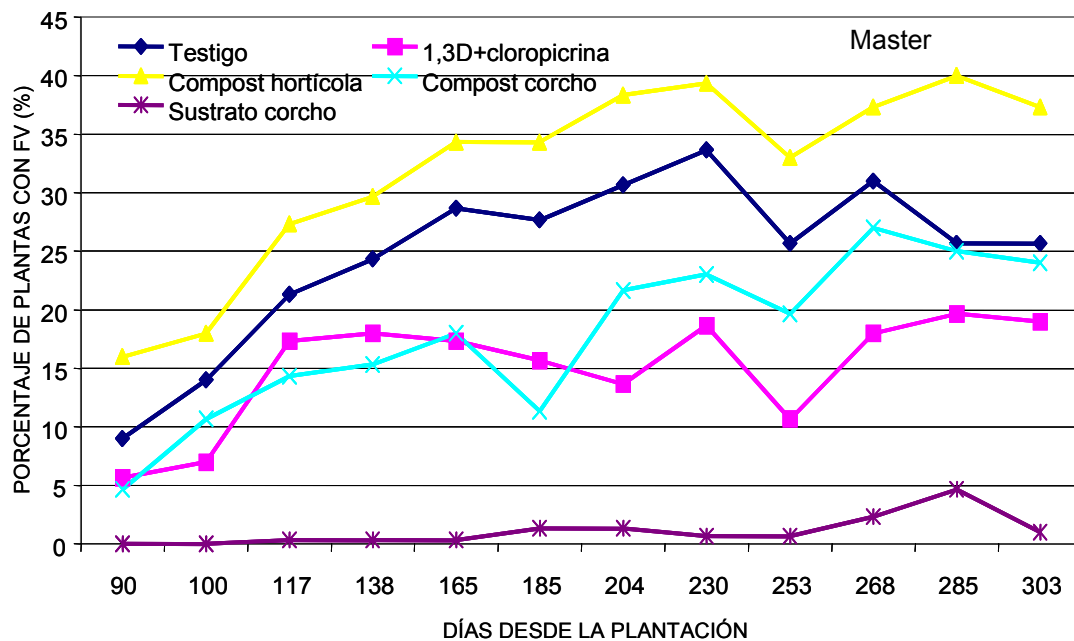


Fig. 11. Progreso epidémico de la Fusariosis vascular (FV) del clavel en función del cultivar empleado y los tratamientos de suelo realizados.

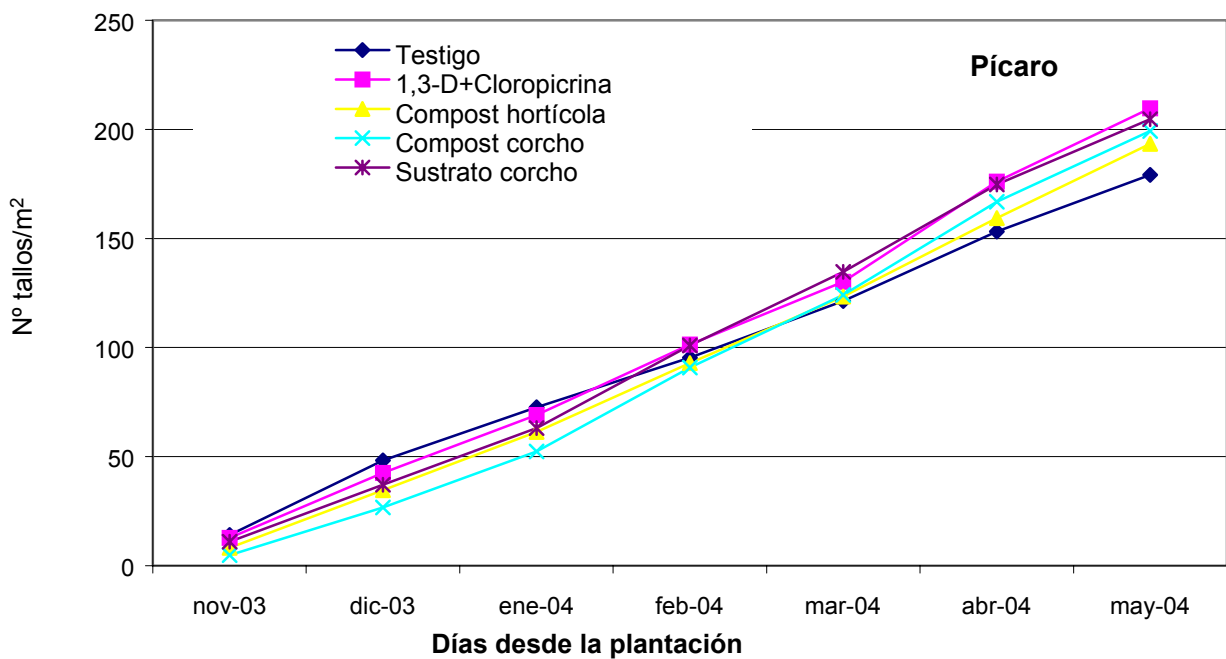
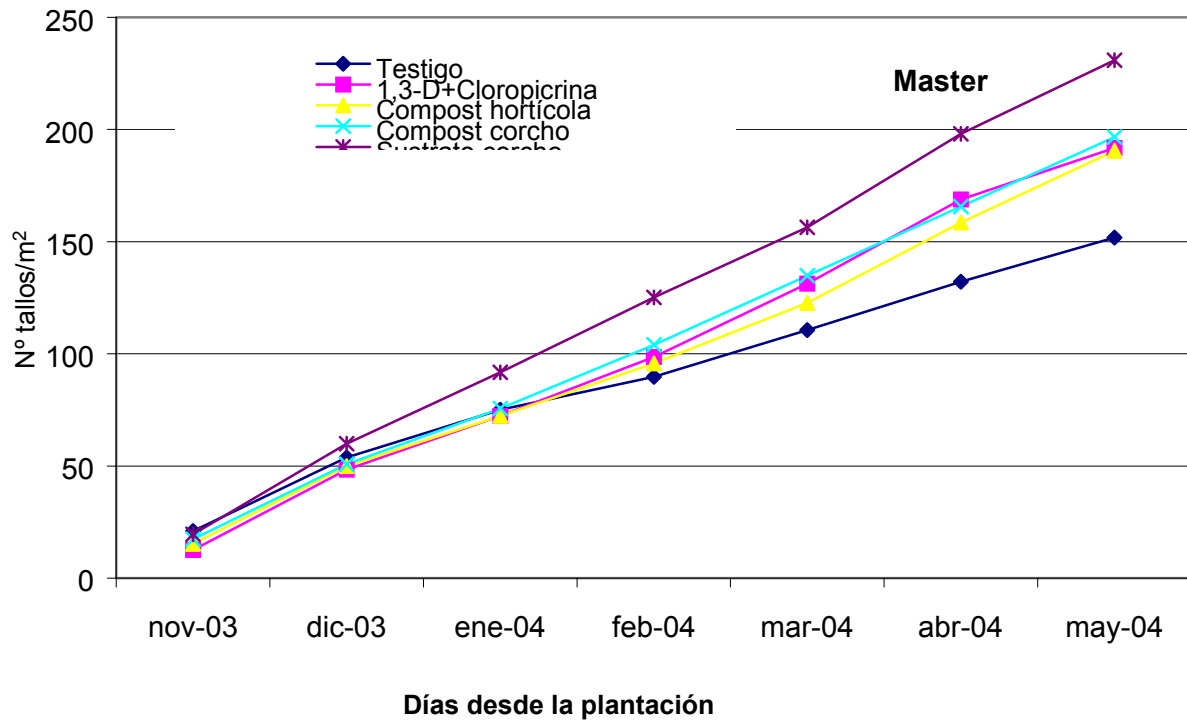


Fig. 12. Producción total acumulada de tallos en parcelas de diversos tratamientos de suelo, plantadas con dos cultivares de clavel.

DISCUSIÓN

Aunque el experimento en invernadero climatizado apuntó hacia el retraso del comienzo de la epidemia de algún aislado de Fod, su efecto más consistente se mostró en la reducción de la incidencia de FV al finalizar el experimento. Esta fue mucho más marcada en el caso de aporte de compost hortícola (CH), sin que hubiera diferencias significativas entre las dos concentraciones de CH ensayadas, por lo que sería recomendable emplearlo al 10% de concentración. En cambio, el menor efecto del compost de residuo de corcho sí mostró diferencias a favor de la concentración del 20%.

Estos resultados no pudieron confirmarse en el experimento en invernadero de plástico, donde la DI inicial en suelo fue errática y generalmente baja. Los niveles de enfermedad en las parcelas con enmienda de compost fueron, en el cv. susceptible, similares o superiores al del testigo. Sin embargo, en el cv. resistente se mostraron niveles inferiores de FV, en el tratamiento de compost de hortícola, lo que sugiere una tendencia similar a la del experimento anterior. No obstante, no hubo diferencias significativas entre tratamientos, respecto a la producción total del cv. resistente, mientras que para el cv. susceptible, se mostraron producciones significativamente superiores (en casi un 60%, respecto al testigo) en los dos tratamientos en que se aportó compost al suelo.

Se manifestó un nivel de enfermedad prácticamente nulo en las parcelas con el sustrato hidropónico de compost de residuo de corcho que repercutió en unas producciones totales más elevadas, lo que significa que este sistema de cultivo es de utilidad práctica y constituye una alternativa conveniente al empleo del Bromuro de metilo.

En general, el aporte de compost, y en especial el cultivo en sustrato hidropónico de residuo de corcho, podría repercutir en una disminución de la incidencia de la enfermedad utilizando variedades resistentes de clavel a la FV y plantearse como alternativas el uso del Bromuro de metilo.

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo, 2000a. Boletín de Información Agraria y Pesquera de la Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Anónimo, 2000b. Macromagnitudes Agrarias de Andalucía. Año 2000. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Ben-Yephet, Y., Reuven, M., Zvicbil, A. and Shtienberg, D. 1996. Effects of initial inoculum and cultivar resistance on incidence of *Fusarium* wilt and populations densities of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* on carnation and in soil. *Phytopathology*, 86:751-756.
- Campbell, R. 1994. Biological control of soil-borne diseases: some present problems and different approaches. *Crop Protection* 13: 4-13.
- Chung, Y.R. & Hoitink, H.A.J. 1990. Interactions between thermophilic fungi and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in a bark compost-amended container medium. *Phytopathology* 80: 73-77.
- Davis, J.R. 1991. Soil solarization: pathogen and disease control and increases in crop yield and quality: short-and long-term effects and integrated control. In: Katan, J. & DeVay, J.E. (eds.). *Soil solarization*.
- De Ceuster, T.J.J. & Hoitink, H.A.J. 1999a. Using compost to control plant diseases. *BioCycle Magazine* (June), 61 pp.
- De Ceuster, T.J.J. & Hoitink, H.A.J. 1999b. Prospects for composts and biocontrol agents as substitutes for methyl bromide in biological control of plant diseases. *Compost Science and Utilization* 7, 3: 6-15.
- Elena, K. y Tjamos, E.C. 1997. Soil solarization for the control of *Fusarium* wilt of greenhouse carnation. *Phytopathologia Mediterranea* XXXVI: 87-93.
- Frápolti, E., Garijo, C. & García, E. 1994. La desinfección de suelo por energía solar. 8/94 Comunicación I+D Agroalimentaria. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Goldstein, J. 1998. Compost suppresses disease in the lab and on the fields. *BioCycle* 39, 11: 62-65.
- González-Torres, R., J.M. Melero-Vara, J. Gómez-Vázquez, y R.M. Jiménez-Díaz. 1993. Use of soil solarization and fumigation to control *Fusarium* wilt of watermelon in plastic houses. *Plant Pathology* 42:858-864.
- Hardy, G.E. St. J. & Sivasithamparam, K. 1991. Suppression of *Phytophthora* Root Rot by a composted *Eucalyptus* bark mix. *Aust. J. Bot.* 39: 153-159.
- Hoitink, H.A.J. & Fahy, P.C. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24: 93-114.
- Hoitink, H.A.J. & Fahy, P.C. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24: 93-114.
- Hoitink, H.A.J. & Kuter, G.A. 1985. Effect of composts in container media on diseases caused by soilborne plant pathogens. *Acta Hort. (ISHS)* 172: 191-198.

- Hoitink, H.A.J., Boehm, M.J. & Hadar, Y. 1993. Mechanims of suppression of soilborne plant pathogens in compost-amended substrates. En: Hoitink, H.A.J. & Keener, H.M. (Eds.). Sciences engineering of composting: design, environmental, microbiological and utilization aspects. Renaissance Publication, Worthington. Ohio (U.S.A) pp. 601-621.
- Hoitink, H.A.J., Daugherty, M. & Tayama, H.K. 1997. Control of cyclamen Fusarium wilt. A preliminary report. Ohio Florist's Assn. Bul 693: 1-3.
- Hoitink, H.A.J., Inbar, Y. & Boehm, M.J. 1991. Status of Compost-Amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. Plant Disease 75: 869-873.
- Hoitink, H.A.J., Madden, L.V. & Boehm, M.J. 1996. Relationships among organic matter decomposition level, microbial species diversity and soilborne disease severity. En: Hall, R. (Ed.). Principles and practice of managing soilborne plant pathogens. APS. Press, St. Paul, Minnesota (U.S.A.) pp. 237-249.
- Hoitink, H.A.J., Madden, L.V. & Boehm, M.J. 1996. Relationships among organic matter decomposition level, microbial species diversity and soilborne disease severity. In: Hall, R. (Ed.). Principles and practice of managing soilborne plant pathogens. APS. Press, St. Paul, Minnesota (U.S.A.) pp. 237-249.
- Hoitink, H.A.J., Stone, A.G. & Han, D.Y. 1997. Suppression of plant diseases by composts. Hortscience 32 (2): 184-186.
- Jiménez Díaz, R.M., J. Bejarano, M.A. Blanco, J. Gómez, R. González, J.M. Melero. 1991. Control of Verticillium wilt and Fusarium wilt diseases by soil solarization in Southern Spain. Págs. 94-107. In: Soil solarization (FAO Plant Production and Protection paper n° 109) Rome, 396 pp.
- Katan, J., 1980. Solar pasteurization of soil for disease control: status and prospects. Plant Disease, 64:450-454.
- Katan, J., 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. Ann. Rev. Phytopathol. 19:211-236.
- Katan, J., 1987. Soil solarization. In: Chet, 1. (Ed.) Innovative Approaches to Plant Disease Control. John Wiley & Sons, New York, NY. pp. 77-105.
- Komada, H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Rev. Plant. Prot. Res. 8: 114-125.
- López-Herrera, C., Melero-Vara, J.M., Zea Bonilla, T., Prados-Ligero, A.M. 2001. Preliminary studies of fungal agents for biocontrol of Fusarium wilt of carnation. Proceedings of the 11 Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Évora, Portugal.
- Melero, J.M., M.A. Blanco, J. Bejarano y R.M. Jiménez. 1992. Utilización de la solarización del suelo para controlar la Verticilosis del algodónero en Andalucía. DGITFAP, Congresos y Jornadas. 25(91): 67-75.
- Melero-Vara, J.M., Blanco-López, M.A., Bejarano-Alcázar, J., y Jiménez-Díaz, R.M. 1995. Control of Verticillium wilt of cotton by means of soil solarization and tolerant cultivars in southern Spain. Plant Pathology 44: 250-260.

- Melero, J.M., J.A. Navas, M. López-Rodríguez, R. Moraza, M.D. Vela, C.J. López-Herrera, M.J. Basallote, F. Montes, J.M. Vega, J.I. Paez and J.M. López-Aranda. 2002. Alternatives to Methyl Bromide for cut-flower production in southern Spain. Proceedings of International Conference on Alternatives to Methyl Bromide. The Remaining Challenges. Págs: 224-227.
- Navas, J.A., J.M. Melero Vara, A.M. Prados Ligeró, M. López Rodríguez, M.J. Basallote Ureba and C.J. López Herrera. 2002. Methyl Bromide alternatives for cut-flower production in Chipiona. Proceedings of International Conference on Alternatives to Methyl Bromide. The Remaining Challenges. Págs: 252-255.
- Nico, A.I. 2002. Incidencia y patogenicidad de nematodos fitopatógenos en plantones de olivo (*Olea europaea* L.) en viveros de Andalucía, y estrategias para su control.
- Pizano, M. 2002. Alternatives to methyl bromide for use in cut-flower production. Proceedings of International Conference on Alternatives to Methyl Bromide. The Remaining Challenges. Págs: 218-222.
- Prados Ligeró, A.M., Basallote Ureba, M.J., López-Herrera, C.J. & Melero Vara, J.M. 2002. Control biológico de la Fusariosis vascular del clavel mediante *Fusarium* no patogénicos. In: XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, España.
- Prados, A.M., E. Suárez, M.J. Basallote,., C.J. López & J.M. Melero. 2003. Effect of soil solarization on the eradication of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* and on Fusarium wilt of carnation. Pan American Plant Disease Conference. Texas, U.S.A.
- Santos, M., Diánez, F., Blanco, R. & Tello, J.C. 2003. Supresividad de la microbiota bacteriana y fúngica presente en el compost de orujo de vid frente a hongos fitopatógenos. Phytoma, 147: 56-63.
- Stapleton, J.J. & DeVay, J.E. 1986. Soil solarization: a non-chemical approach for management of plant pathogens and pests. Crop Protection 5: 190-198.
- Vega, J.M^a, Páez, J.I., López Aranda, J.M., Medina, J.J., Miranda, L., López-Medina, J., Montes, F. 2002. Effects of Chemicals and Non-Chemical Alternatives to Methyl Bromide on Strawberry Nematodes in southern Spain. Proceedings of International Conference on Alternatives to Methyl Bromide. The Remaining Challenges. Pág. 190.