

**RESPUESTA DE VARIEDADES DE CLAVEL A LA INOCULACION CON
Fusarium oxysporum f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*:
PRODUCCION DE FITOALEXINAS ***

**Response of different carnation cultivars to inoculation by *Fusarium
oxysporum* f. sp. *dianthi* and *Phialophora cinerescens*:
Production of phytoalexins**

Martha Orozco de Amézquita¹, Emira Garcés de Granada¹ y Germán Arbeláez-Torres²

RESUMEN

La resistencia del clavel a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* se ha correlacionado con el metabolismo de compuestos fenólicos. Por lo tanto, con el fin de profundizar en el conocimiento de las relaciones que existen entre el patógeno vascular y su hospedante, en este trabajo, se propuso evaluar la producción de compuestos fenólicos en cinco variedades de clavel inoculadas con el aislamiento 15 de la raza 2, un aislamiento de la raza 4 y el aislamiento 71 de baja patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y un aislamiento de *Phialophora cinerescens*. En todas las variedades se presentó acumulación de compuestos fenólicos independientemente de si fueron o no inoculadas con los patógenos. La proporción de estos compuestos y el tipo de ellos fue diferente en los distintos tratamientos. Ya que los perfiles cromatográficos obtenidos en este experimento coinciden con los correspondientes a la muestra enviada por el doctor Schoffemeer, se puede señalar que los compuestos separados por cromatografía corresponden a dianthialexinas, pero que, los resultados de este trabajo aún no permiten establecer su relación con las respuestas de resistencia.

Palabras claves: Resistencia, Metabolismo, Compuestos fenólicos, Dianthialexinas.

SUMMARY

The involvement of the phenol metabolism in resistance of carnation to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* has recently been demonstrated. The present paper deals with the accumulation of phenolic compounds in five cultivars of carnation showing various levels of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. This study found accumulation of phenolic compounds in carnation at different times before and after inoculation of plants with race 2 and 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* and *Phialophora cinerescens*. The accumulation of several phenolic compounds in the cultivars was positively correlated to resistance, while the accumulation of other phenolic compounds was inversely related to resistance. However, valid correlations may not be established in this study.

Key words: Resistance, Metabolism, Phenolics compounds, Dianthialexins.

INTRODUCCION

El análisis de diversas variedades de clavel, realizado por Garibaldi en 1975, demostró que hay diferencias apreciables entre ellas en cuanto a susceptibilidad y resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

La resistencia de las plantas a los patógenos es conferida por una combinación de

* Recibido Febrero de 1997

1 Profesora Asociada, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá

2 Profesor Titular, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá

barreras físicas y químicas, algunas de las cuales son preformadas y otras inducidas (Lyon *et al.*, 1992).

Adicionalmente, de acuerdo con la respuesta a variedades diferenciales de clavel, el mismo autor, en 1983, encontró dos razas fisiológicas del patógeno, para, más tarde, reconocer ocho razas (Garibaldi y Rossi, 1987).

Las barreras químicas se presentan entre otros factores, por la acción de compuestos antimicrobiales denominados fitoalexinas, los cuales se caracterizan por tener bajo peso molecular y ser sintetizados y acumulados por las plantas luego de su exposición a microorganismos y aparentemente, estas sustancias son la principal causa de resistencia de las plantas a las enfermedades (Schroder *et al.*, 1992).

La resistencia del clavel a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* se ha correlacionado con el metabolismo de compuestos fenólicos, entre los cuales se han identificado las dianthramidas y las dianthialexinas (Baayen y Niemann, 1989; Schippers *et al.*, 1992.)

El clavel responde a la infección con *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* produciendo un amplio espectro de compuestos fenólicos, los cuales están libres o esterificados en la pared celular; algunos de estos fenoles tienen efecto fungistático sobre el patógeno vascular (Baayen y Niemann, 1989).

Recientemente, de las paredes celulares del micelio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* raza 2 se han extraído sustancias elicitoras (desencadenantes de las respuestas de defensa de las plantas). Dichas sustancias inducen la síntesis de la fenil alanina amonio liasa, algunos compuestos orgánicos solubles y ciertas fitoalexinas en cultivos de callos de variedades de clavel resistentes a la raza 2 del patógeno, pero no, en tejidos derivados de variedades susceptibles (Scala y Tegli, 1992).

Por retardar el crecimiento del hongo, las fitoalexinas, probablemente, permiten que el hospedante tenga tiempo para afectar los haces vasculares. El carácter parcial de la

resistencia del clavel a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, posiblemente, se debe a diferencias en la capacidad de las variedades para localizar al patógeno y, parcialmente, a diferencias en la producción de compuestos fenólicos (Baayen y Niemann, 1989).

Niemann y Baayen (1989) encontraron, en tres variedades de clavel, relaciones entre la producción de algunos compuestos fenólicos y el nivel de resistencia a la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

Los patógenos que son capaces de colonizar a un hospedero tienen que evadir la acción de estos compuestos durante su penetración en los tejidos de la planta. Una forma de contrarrestar el efecto antimicrobiano de las fitoalexinas es metabolizarlas, originando productos inactivos y otra es la supresión de su síntesis, realizando una interferencia con la fase de reconocimiento.

Con el fin de profundizar en el conocimiento de las relaciones que existen entre el patógeno vascular y su hospedante, en este trabajo, se propuso evaluar la producción de compuestos fenólicos, en cinco variedades de clavel inoculadas con el aislamiento 15 de la raza 2, un aislamiento de la raza 4 y el aislamiento 71 de baja patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y un aislamiento de *Phialophora cinerescens*.

MATERIALES Y METODOS

Para realizar la inoculación del material vegetal, se seleccionaron los aislamientos señalados, teniendo en cuenta que originan diferentes respuestas de patogenicidad.

Los aislamientos se sembraron en cajas de Petri con PDA (papa-dextrosa-agar). A partir de las colonias de cinco días, se tomaron secciones circulares de un cm de diámetro de cada una de las cepas seleccionadas y se pasaron al medio líquido de Czapeck suplementado con peptona. Los medios de cultivo se dejaron en agitación a 120 rpm, con el fin de proporcionar la aireación necesaria para el desarrollo del hongo y a una temperatura de aproximadamente 22 grados centígrados, durante siete días.

La solución conidial resultante, se ajustó a una concentración de un millón de conidias por ml con agua destilada estéril. La inoculación de las plantas de clavel se hizo por inmersión de las raíces durante 15 segundos en la suspensión conidial, luego de lo cual, se procedió a la siembra de los esquejes en bolsas de polietileno negro con 2 Kg de suelo estéril.

Se emplearon las variedades de clavel Giallo, Zaride, Mannon, Denia y Silvery Pink, que se caracterizan por presentar diferente respuesta a las razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y a *Phialophora cinerescens*. De cada variedad se inocularon 10 plantas con cada uno de los aislamientos, con el fin de determinar en ellas los síntomas de la enfermedad.

Para el análisis de compuestos fenólicos, de cada variedad se inocularon cinco plantas con cada uno de los aislamientos. El material vegetal inoculado se colocó en un invernadero con cubierta de polietileno, camas levantadas y riego por goteo. De cada variedad, se sembraron cinco plantas testigo, las cuales se trataron con agua destilada estéril.

Semanalmente, se realizaron evaluaciones de los síntomas de las enfermedades, utilizando la metodología propuesta por Arbelaez y Calderón (1992) y Arbelaez *et al.*, (1993).

En la quinta y décima semana después de la siembra, se tomaron tres plantas por tratamiento, con el fin de emplearlas para el análisis de los compuestos fenólicos por cromatografía en fase líquida de alta resolución (HPLC). El número de tratamientos fue de 50, organizados en un diseño de tres factores: cinco variedades de clavel; 4 aislamientos del patógeno más un patrón tratado con agua destilada y dos fechas de muestreo, 5 y 10 semanas después de la siembra (5 x 5 x 2). Se tomaron tres repeticiones por tratamiento, cada una de ellas correspondiente a una planta.

El material muestreado para la extracción de compuestos fenólicos se lavó previamente y, a continuación, se procedió a separar de cada planta los 6 cm basales del tallo,

los cuales se defoliaron, pesaron y almacenaron a -20 °C hasta el momento de la extracción.

A partir del material congelado, se procedió a la extracción de compuestos fenólicos; para ello, cada segmento de tallo se maceró con aire líquido y acetona durante cinco minutos y, luego, se filtró; los residuos se lavaron dos veces con acetona; en total, de este solvente se utilizaron 25 ml por muestra. La solución resultante se evaporó por burbujeo de nitrógeno gaseoso y el residuo se almacenó en frío y oscuridad. Al momento de efectuar las cromatografías, al residuo se añadió etanol (0,25 ml/g de biomasa fresca) y se centrifugó a 13.000 rpm durante tres minutos. El sobrenadante de cada muestra se analizó en un cromatógrafo (HPLC: High Performance Liquid Chromatography), usando un equipo «Autosampler» AS-2000A, con «Intelligent Pump» L-6200 A, «Lichrospher» 100 RP-18, L-4250 UV Vis «Detector», D-2500 «Chromato-integrator».

Las condiciones del equipo para los análisis fueron: 275 nm y rango de 0,5. Por cada muestra, se inyectaron 20 microlitros que se eluyeron con un gradiente creciente de concentraciones de metanol en solución acuosa de ácido fosfórico al 0,05%, iniciando con metanol del 25% desde 0 a 2 minutos, seguido por 25 al 75% de 2 a 5 minutos, 75 a 80% de 15 a 18 minutos y volviendo de 80 a 25% desde los 25 hasta los 30 minutos; con un flujo constante de 0,5 ml/minuto. Las áreas de los picos en los cromatogramas se calcularon en unidades arbitrarias de absorción (Baayen y Niemann, 1988).

Los picos a analizar en los cromatogramas se seleccionaron teniendo en cuenta la cromatografía de la muestra de referencia de los compuestos puros, obtenida por cortesía del Dr. A. M. Schoffemeer de la Universidad de Amsterdam, la cual se corrió bajo las mismas condiciones y en el mismo equipo en el que se realizaron las del experimento.

El análisis estadístico para determinar diferencias entre los tratamientos se efectuó a partir de las concentraciones relativas de los picos seleccionados, teniendo en cuenta los

tiempos de retención de la sustancias patrón y los picos correspondientes a los tiempos de retención que aparecían con mayor frecuencia en todos los tratamientos. Para evidenciar diferencias entre los tratamientos para cada uno de los picos, se realizó un análisis de varianza para tres factores: Variedad x Raza x Tiempo y una prueba de Tukey, para comparar los promedios respectivos.

RESULTADOS

La cromatografía de la muestra enviada por el doctor Schoffemeer y utilizada como patrón de comparación, presentó ocho picos correspondientes a tiempos de retención en minutos de 11,14; 12,58; 13,06; 14,72; 16,53; 19,09; 20,10 y 22,72. El perfil cromatográfico de esta muestra está en la Figura 1.

El material inoculado presentó un promedio de 12,4 y 11,7 picos, para el primer muestreo (t1) y segundo muestreo (t2), respectivamente. Los tiempos de retención y los patrones cromatográficos fueron similares. El testigo presentó 12,5 y 11,8 picos, para el primero y el segundo muestreo.

Teniendo en cuenta el perfil cromatográfico de la solución estándar y su frecuencia en las muestras de clavel, para el análisis se seleccionaron los picos correspondientes a tiempos de retención de 11,14; 13,06 y 14,72 minutos. Los picos de 6,70 y 13,33 minutos se seleccionaron debido a que se presentaron con mayor frecuencia en la mayoría de las muestras obtenidas, a partir de las variedades utilizadas. A los compuestos seleccionados se les asignó una denominación de F1 a F5.

En la Figura 2, se presentan los resultados de acumulación del compuesto 1 (F1), cuyo tiempo retención fue de 6,70 minutos, correspondiente a los muestreos realizados a las 5 y 10 semanas después de la inoculación de las variedades de clavel con los aislamientos seleccionados.

En el muestreo 1, para la mayoría de las variedades inoculadas con el aislamiento 15 de la raza fisiológica 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, la concentración relativa de F1 fue mayor que la correspondiente al efecto de los demás aislamientos.

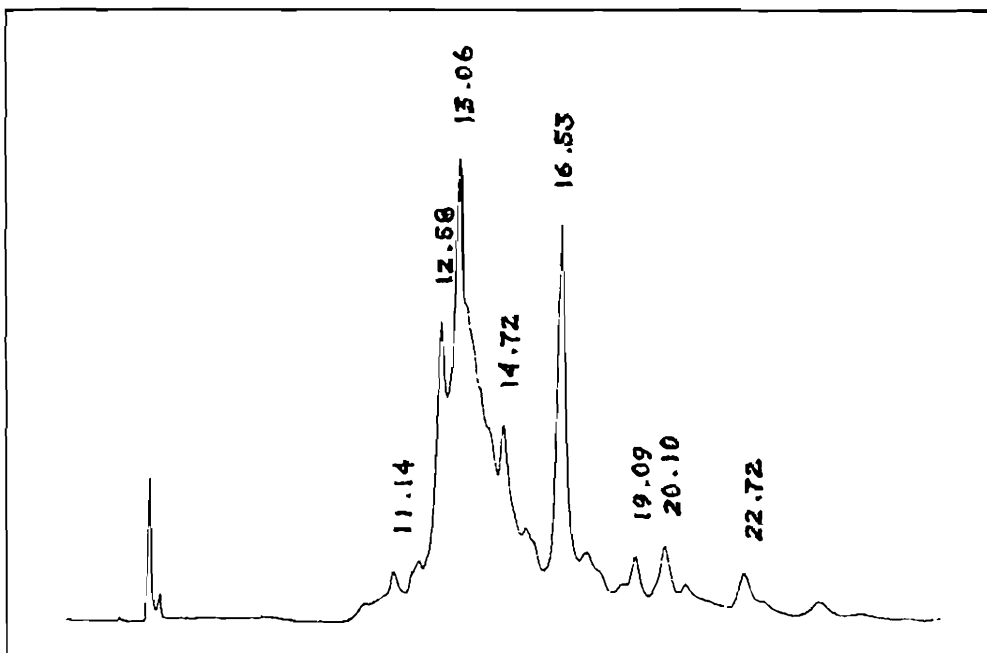


Figura 1. Perfil cromatográfico de la muestra estándar enviada por el doctor Schoffemeer de la Universidad de Amsterdam.

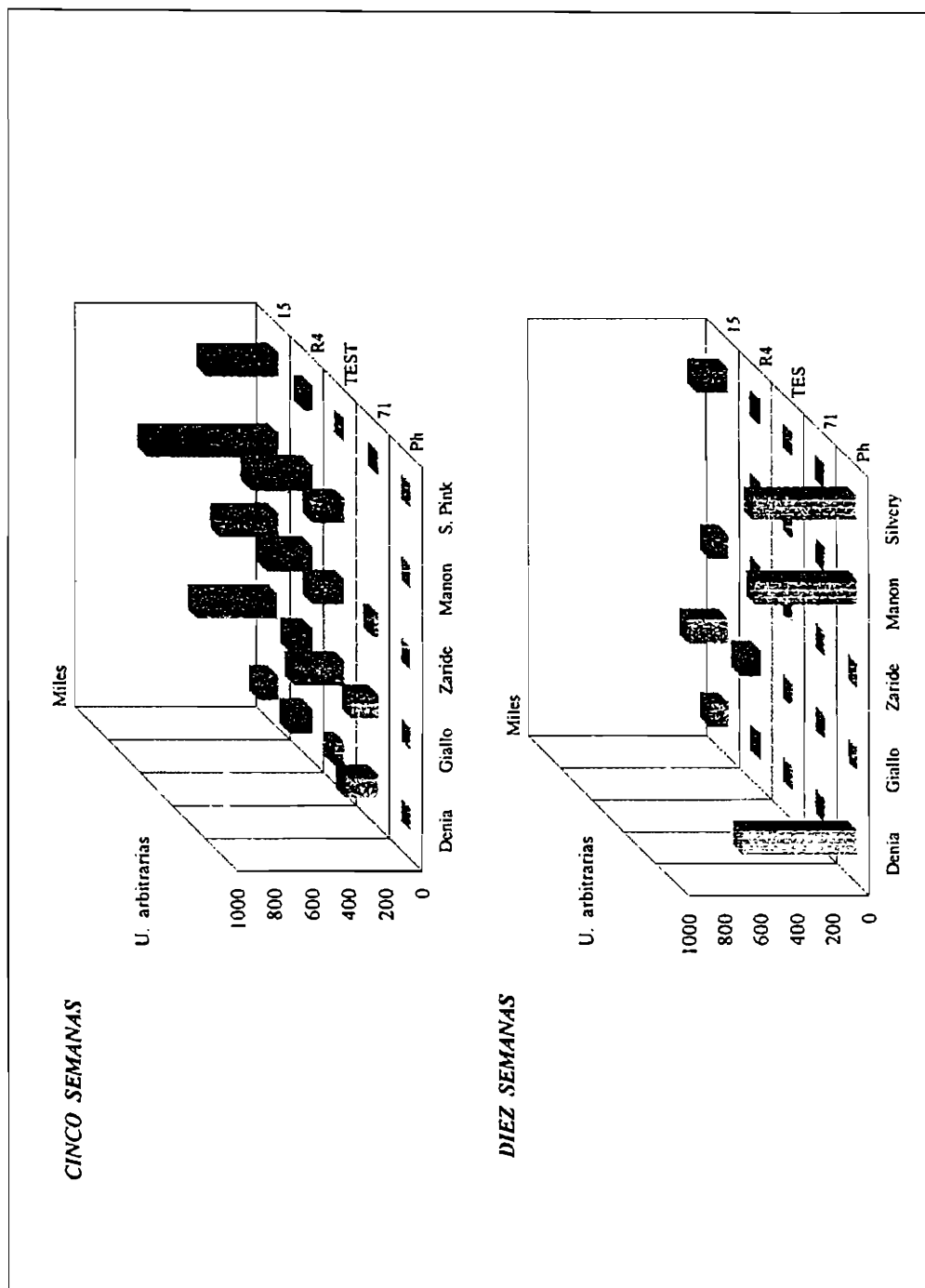


Figura 2. Comparación de la concentración media del compuesto F1 (tiempo de retención 6.7 minutos), en millones de unidades arbitrarias, medidas en cinco variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), inoculadas con aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*.

La concentración de F1 fue muy baja para el muestreo 1 en todas las variedades de clavel inoculadas con *Phialophora cinerescens*. Sin embargo, para el segundo muestreo la concentración de este compuesto aumentó considerablemente en las variedades Denia, Manon y Silvery Pink. Los resultados del análisis de varianza del cuadro 1 muestran que, para F1, se presentaron diferencias altamente significativas entre las variedades de clavel, el inóculo y el tiempo de muestreo y no se observó interacción entre los factores variedad, inóculo y tiempo de muestreo.

En la prueba de Tukey (Cuadro 2) se observa que la mayor concentración de F1, para el muestreo 2 (t2), se obtuvo en los testigos de las variedades Manon, Silvery Pink y Denia y del muestreo 1 (t1), la mayor concentración relativa fue para la variedad Manon inoculada con el aislamiento 15.

El análisis de los resultados permite señalar que la acumulación de F1 no está positivamente correlacionada con la respuesta de patogenicidad de las variedades (Cuadro 3), ni con los índices de la enfermedad vascular, tal como se presenta para las variedades Zaride y Giallo inoculadas con los aislamientos de los patógenos en las Figuras 3 y 4.

En la Figura 5, se presentan los resultados del compuesto F2 (tiempo de retención 11,14), corresponden a los muestreos realizados en las semanas 5 y 10 (t1 y t2) después de la inoculación de las variedades de

clavel con el aislamiento 15 de la raza 2, un aislamiento de la raza 4, el aislamiento 71 de *Fusarium oxysporum* que se caracteriza por tener baja patogenicidad y un aislamiento de *Phialophora cinerescens*.

Los resultados del análisis de varianza del Cuadro 1, muestran que se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y que hubo efecto debido a interacciones entre las variables analizadas.

En general, la concentración del compuesto fenólico 2 fue menor en el primer muestreo. Sobre el índice de patogenicidad, la prueba de Tukey, el Cuadro 3 y la Figura 5 no muestran una tendencia clara que permita correlacionar la concentración del compuesto 2 con la resistencia al patógeno, ya que, para la mayoría de las variedades en el primer muestreo, el aislamiento 15 presentó la mayor concentración, mientras que, para el segundo muestreo, la mayor concentración correspondió al testigo.

Para la acumulación de los compuestos fenólicos F3 y F4 con tiempos de retención de 13,06 y 13,33 minutos (Figuras 6 y 7 y Cuadro 1) no se presentó relación entre la concentración relativa de los compuestos fenólicos y la respuesta de resistencia o susceptibilidad a los patógenos inoculados en las variedades de clavel.

El análisis de varianza indica que, para el compuesto con tiempo de retención de 13,06 minutos, no se presentaron diferencias entre las variedades, pero sí entre los aislamientos y entre las fechas de muestreo. Para

Cuadro 1. Resultados del análisis de varianza para la concentración de compuestos fenólicos en variedades de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*

Tiempo de retención	Variedad	Raza	Tiempo	Var. x Tiempo	Raza x Tiempo	Var. x T x Raza
11,14	11,75**	21,13**	108,93**	5,93**	26,06**	5,25**
13,06	2,18NS	2,32**	3,11**	1,72**	0,55NS	1,92NS
13,33	5,33**	19,31**	28,42**	2,67**	2,35NS	1,22NS
14,72	4,07**	13,13**	5,00**	2,62**	1,45NS	0,34NS
6,70	4,08**	14,40**	3,82*	3,51**	18,50**	2,38*

** Diferencias altamente significativas (99%)
NS Sin diferencias significativas

* Diferencias significativas (95%)

Cuadro 2. Prueba de agrupamiento de Tukey para el compuesto F1 con el tiempo de retención de 6.70 minutos.

Variedad	Aislamiento	Muestreo	Agrupación
Manon	Testigo	1	1
Silvery Pink	Testigo	1	1
Denia	Testigo	1	1
Zaride	Testigo	1	1
Silvery Pink	71	1	1
Silvery Pink	R4	2	1
Giallo	Testigo	1	1
Denia	R4	2	1
Denia	<i>Phialophora</i>	2	1
Giallo	Raza 4	2	1
Zaride	Raza 4	2	1
Silvery Pink	<i>Phialophora</i>	2	1
Manon	Raza 4	2	1
Zaride	<i>Phialophora</i>	2	1
Manon	<i>Phialophora</i>	2	1
Silvery Pink	71	2	1
Manon	71	2	1
Zaride	71	2	1
Zaride	Testigo	2	1
Giallo	Testigo	2	1
Denia	71	2	1
Giallo	71	2	1
Silvery Pink	Raza 4	2	1
Zaride	71	1	1
Silvery Pink	<i>Phialophora</i>	1	1
Denia	Raza 4	1	1
Denia	15	1	1
Denia	15	2	1
Zaride	15	2	1
Giallo	<i>Phialophora</i>	2	1
Giallo	<i>Phialophora</i>	1	1 - 2
Denia	<i>Phialophora</i>	1	1 - 2
Giallo	71	1	1 - 2 - 3
Silvery Pink	15	2	1 - 2 - 3
Manon	Raza 4	1	1 - 2 - 3
Zaride	Raza 4	1	1 - 2 - 3
Denia	71	1	1 - 2 - 3 - 4
Giallo	15	2	1 - 2 - 3 - 4
Zaride	<i>Phialophora</i>	1	1 - 2 - 3 - 4
Giallo	Raza 4	1	1 - 2 - 3 - 4
Zaride	15	1	1 - 2 - 3 - 4 - 5
Manon	<i>Phialophora</i>	1	1 - 2 - 3 - 4 - 5
Silvery Pink	15	1	1 - 2 - 3 - 4 - 5
Giallo	15	1	1 - 2 - 3 - 4 - 5
Manon	Testigo	2	2 - 3 - 4 - 5
Silvery Pink	Testigo	2	3 - 4 - 5
Denia	Testigo	2	4 - 5
Manon	15	1	5

*Tratamientos con los mismos números son estadísticamente iguales.

Cuadro 3. Respuesta de las variedades de clavel a la inoculación con los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*

	Aislamiento			
	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>			<i>Phialophora</i> <i>cinerescens</i>
Variedad	15	R4	71	R
Giallo	S	R	S	R
Zaride	S	R	MS	R
Manon	MS	R	R	R
Silvery Pink	R	R	R	R
Denia	MS	R	R	R

S: Susceptible

MS: Medianamente susceptible

R: Resistente

el pico, con tiempo de retención de 13,33, se presentaron diferencias altamente significativas entre las variedades (Cuadro 1).

En el Cuadro 1 y en la Figura 8, se presenta la respuesta para el compuesto F5 (tiempo de retención 14,72 minutos). En el muestreo realizado cinco días después de la siembra, la variedad Silvery Pink, resistente al aislamiento 15 de la raza 2, acumuló la mayor cantidad relativa de F5, mientras que, en las variedades susceptibles Giallo y Zaride, la acumulación de estos compuestos fue menor (Cuadro 3). Sin embargo, la respuesta no fue igual para el muestreo realizado a las 10 semanas después de la siembra.

En general, se puede señalar que se presentó acumulación de compuestos fenólicos en todas las variedades, independientemente de si fueron o no inoculadas con los patógenos. Sin embargo, la proporción de compuestos fenólicos y el tipo de ellos fue diferente en los distintos tratamientos.

Teniendo en cuenta que los perfiles cromatográficos obtenidos en este experimento coinciden con los correspondientes a la muestra enviada por el doctor Schoffemeer, se puede señalar que los compuestos separados por cromatografía corresponden a dianthalexinas, pero que la cantidad de los compuestos analizados en este trabajo no fue suficiente para originar una respuesta de resistencia.

El aislamiento 15 de la raza 2, caracterizado por una gran virulencia, indujo, en todas las variedades, una mayor acumulación de compuestos fenólicos, mientras que las variedades tratadas con el aislamiento 71 (de baja patogenicidad) y el testigo mostraron menor acumulación de dichos compuestos.

Para un próximo trabajo, sería conveniente analizar la producción total de compuestos fenólicos, ya que, según Schoffemeer et al. (1992), la producción de compuestos fenólicos depende más del genotipo de la variedad y menos de la interacción específica con el hongo.

De los compuestos seleccionados para este análisis, únicamente el compuesto fenólico F5, obtenido a partir de material muestreado a las cinco semanas después de la siembra, presentó relación positiva entre la acumulación de la sustancia y el nivel de resistencia de las variedades, en especial, para las respuestas obtenidas luego de la inoculación con el aislamiento 15 de la raza 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, que fue el aislamiento inoculado de mayor patogenicidad.

BIBLIOGRAFIA

ARBELAEZ, G., CALDERÓN, O. L., CEVALLOS, J. F. y GONZÁLEZ, D. 1993. Determinación de las razas fisiológicas de

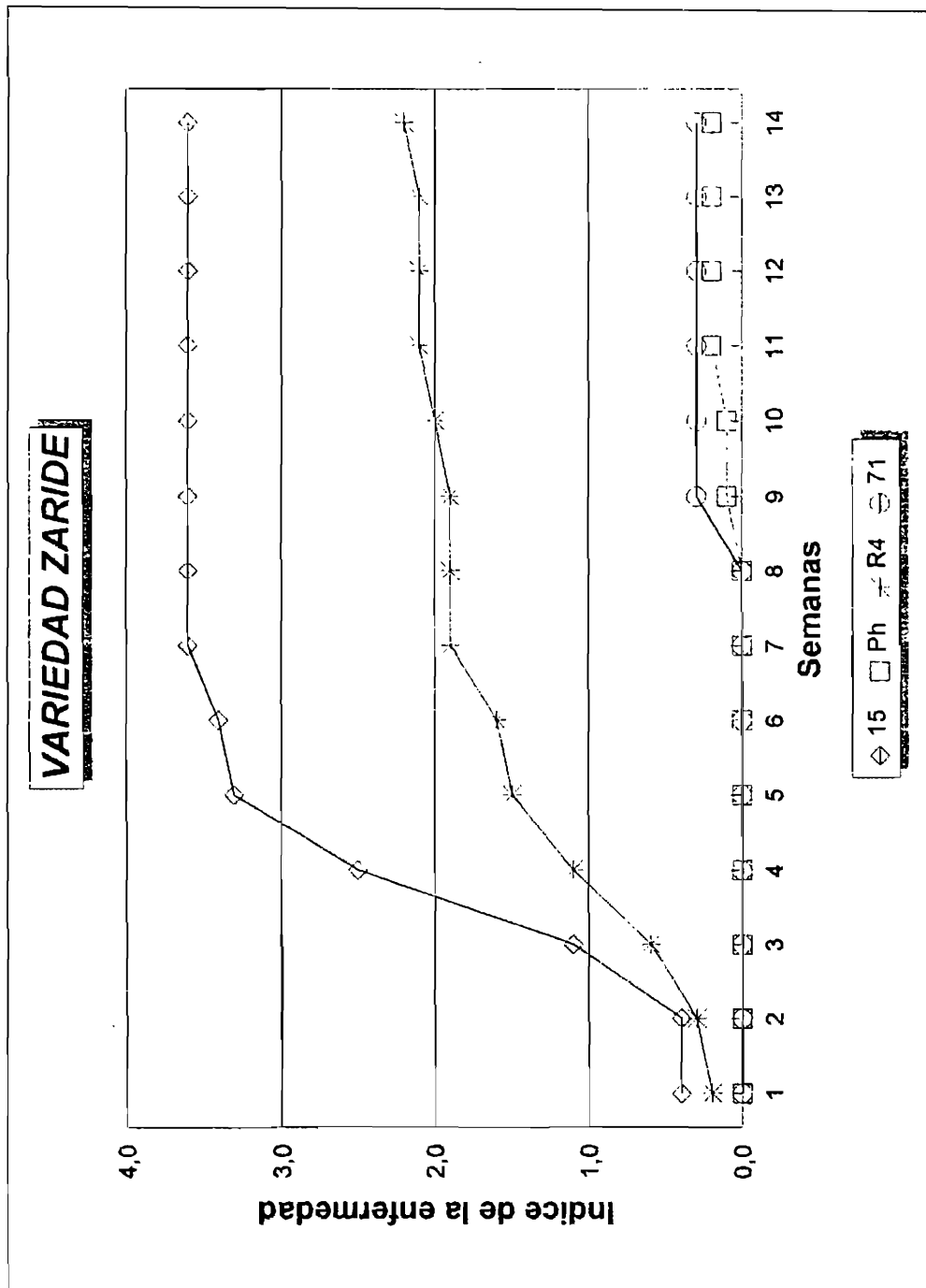


Figura 3. Respuesta de la variedad Zaride a la inoculación con los aislamientos 15 de la raza 2, uno de la raza 4 y el 71 de baja patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y un aislamiento de *Phialophora cinerescens*.

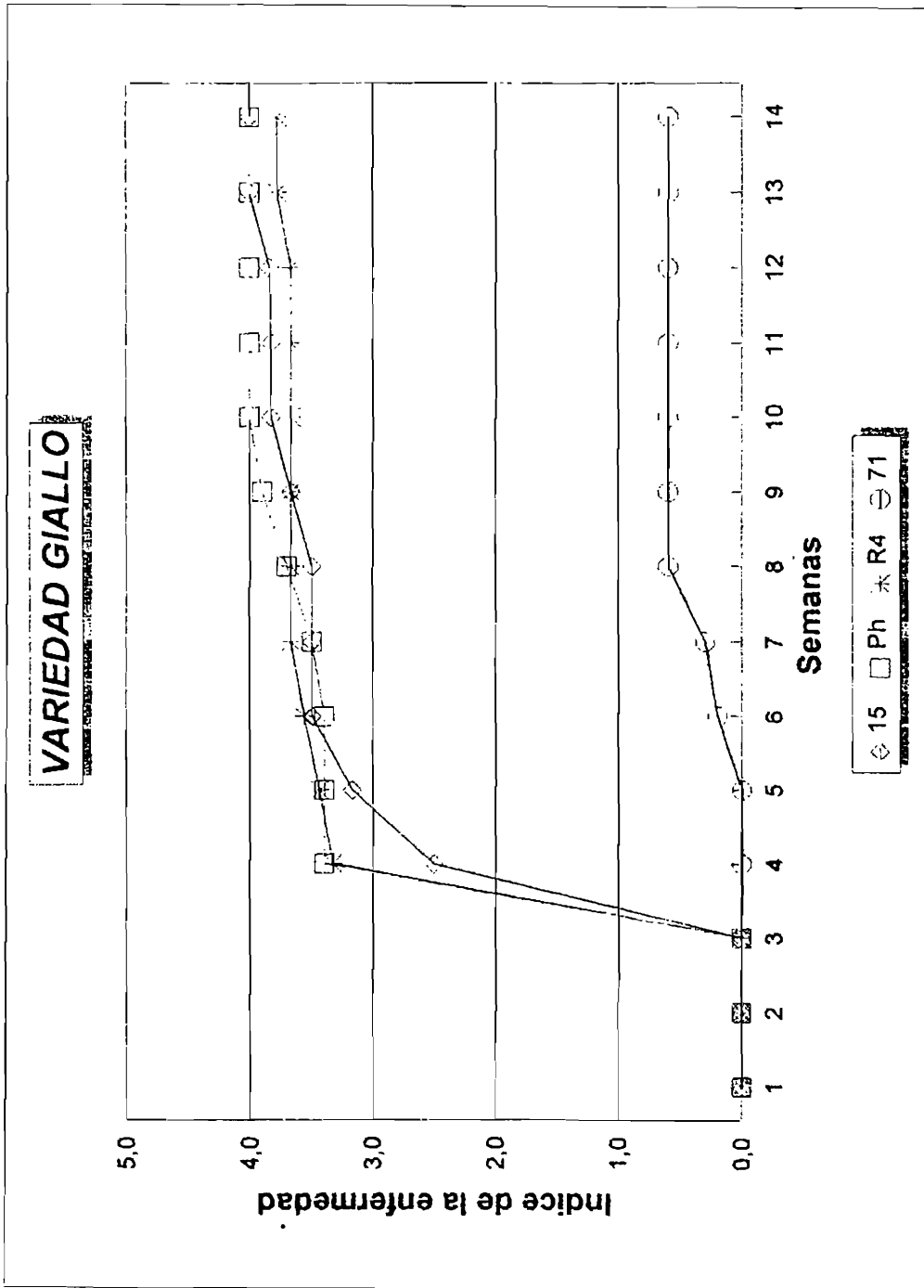


Figura 4. Respuesta de la variedad Giallo a la inoculación con los aislamientos 15 de la raza 2, uno de la raza 4 y el 71 de baja patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y un aislamiento de *Phialophora cinerescens*.

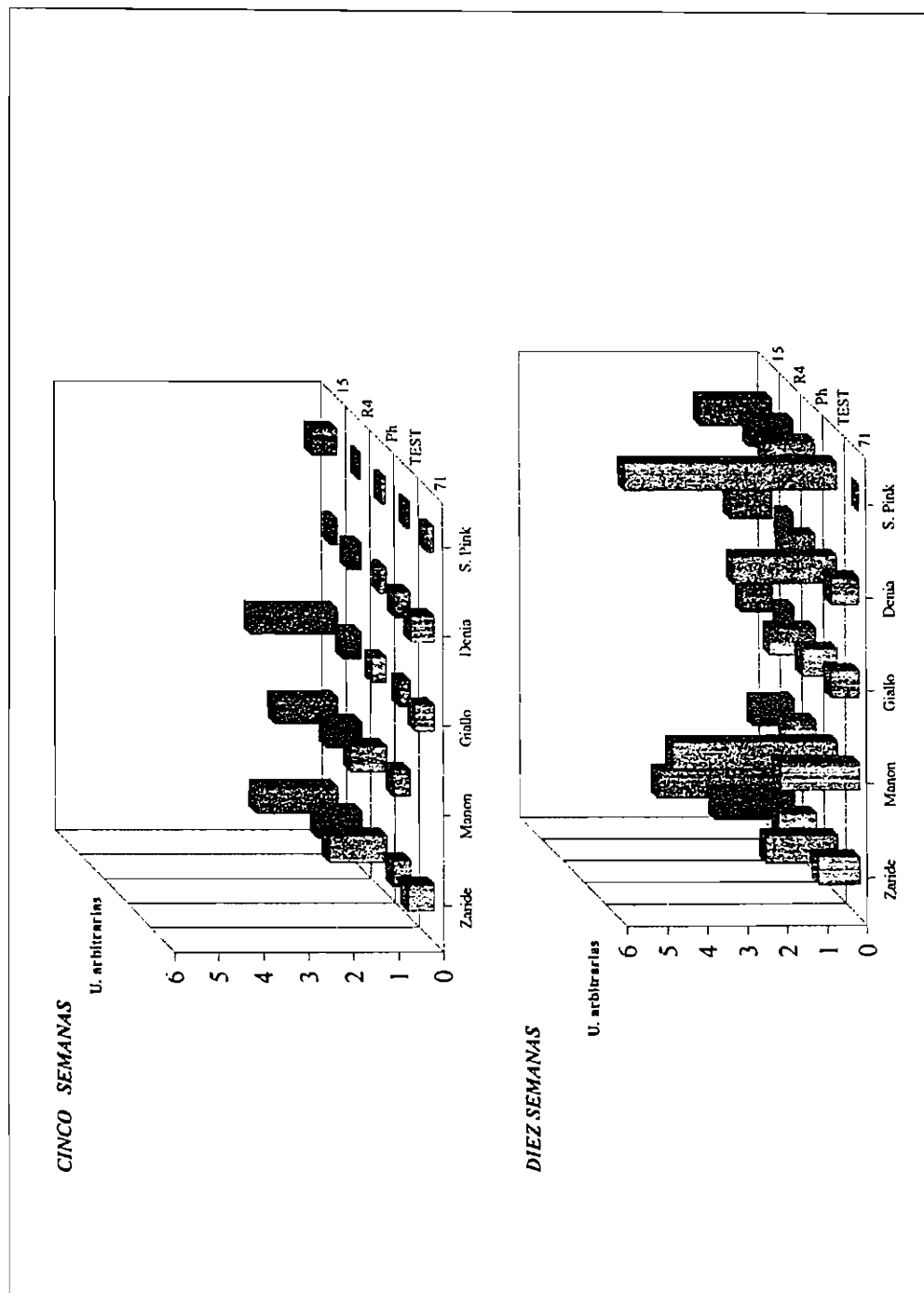


Figura 5. Comparación de la concentración media del compuesto F2 (tiempo de retención 11.14 minutos), en millones de unidades arbitrarias, medidas en cinco variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), inoculadas con aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*.

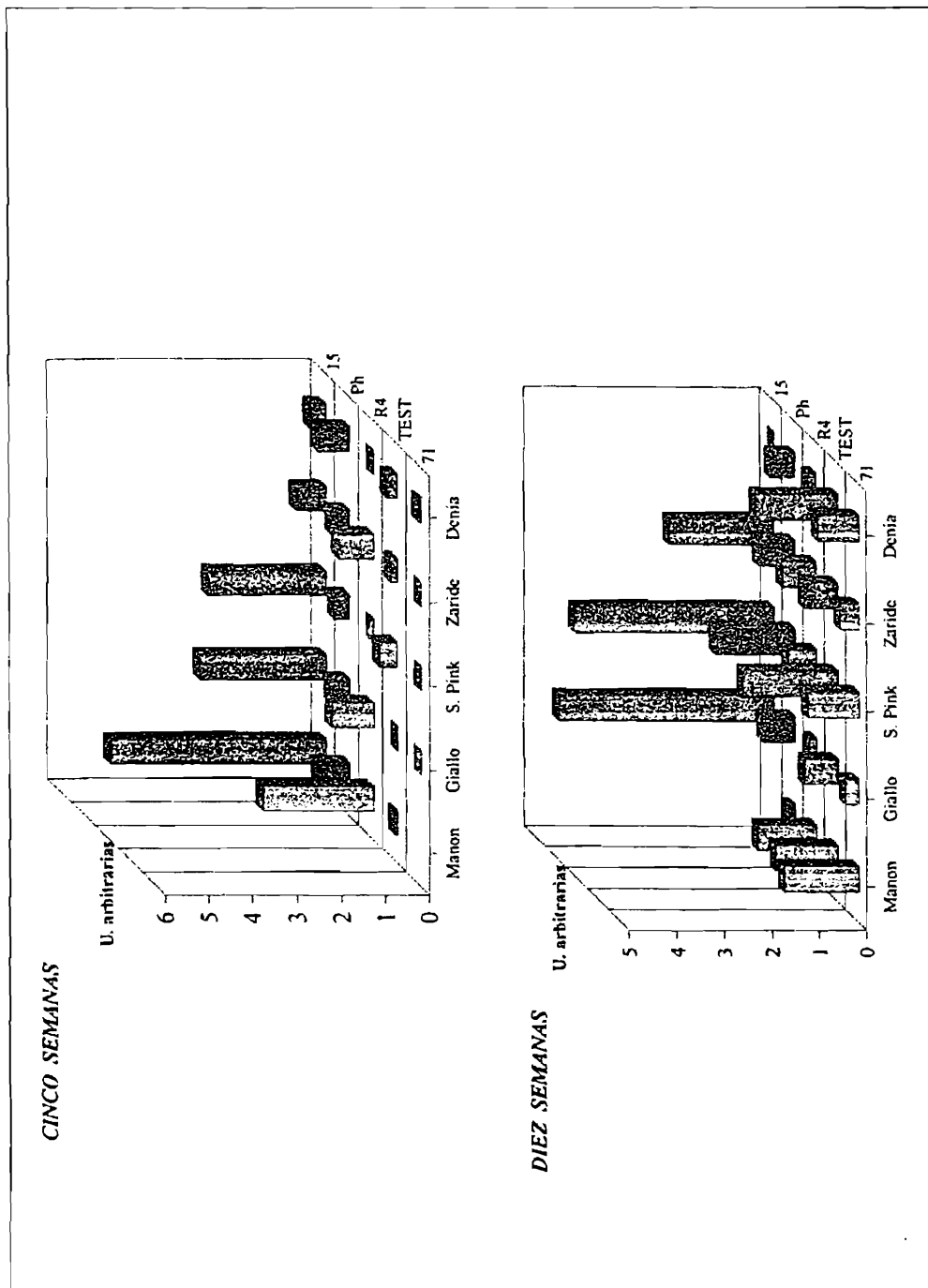


Figura 6. Comparación de la concentración media del compuesto F3 (tiempo de retención 13.06 minutos), en millones de unidades arbitrarias, medidas en cinco variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), inoculadas con aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*.

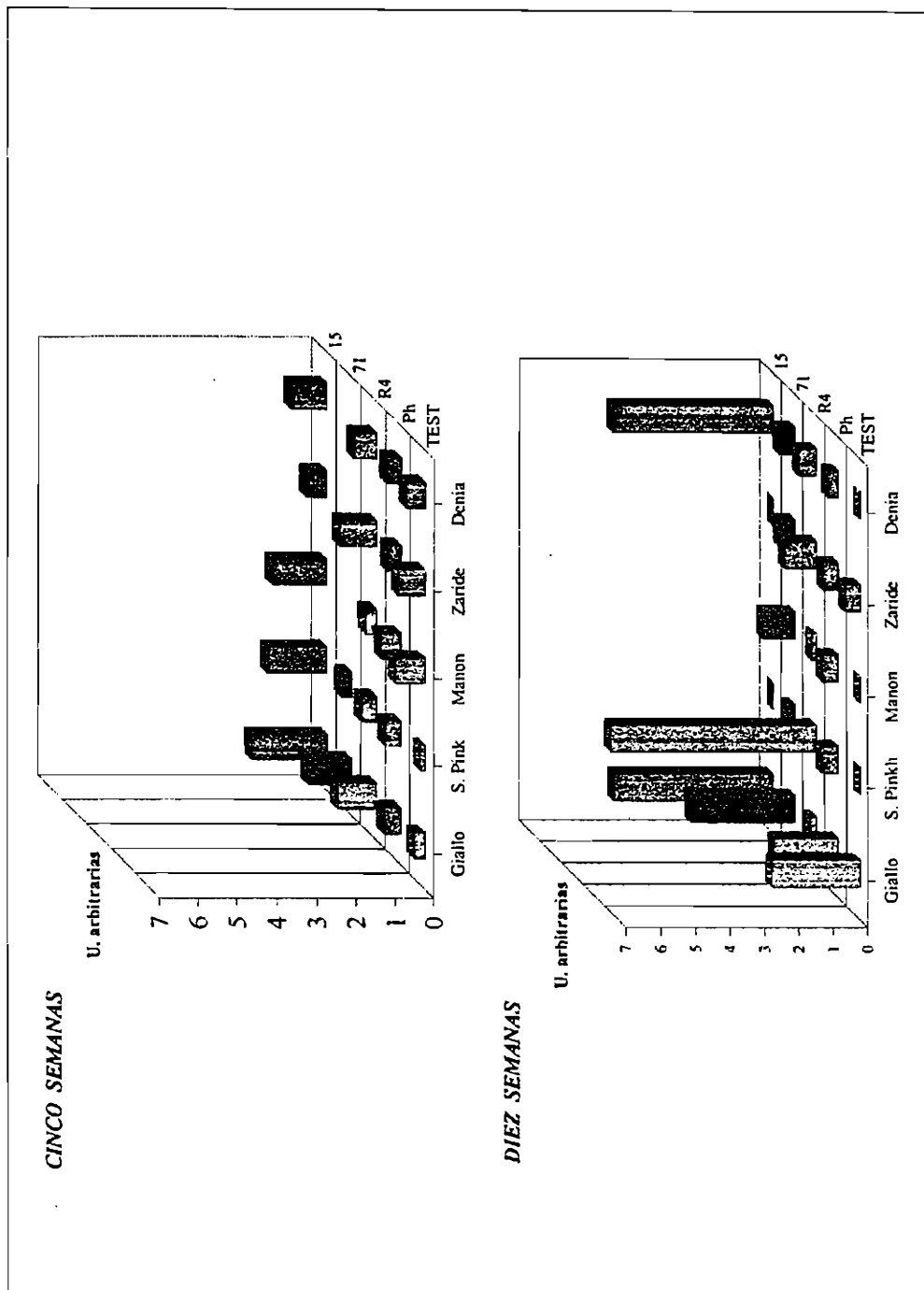


Figura 7. Comparación de la concentración media del compuesto F4 (tiempo de retención 13.33 minutos), en millones de unidades arbitrarias, medidas en cinco variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), inoculadas con aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*.

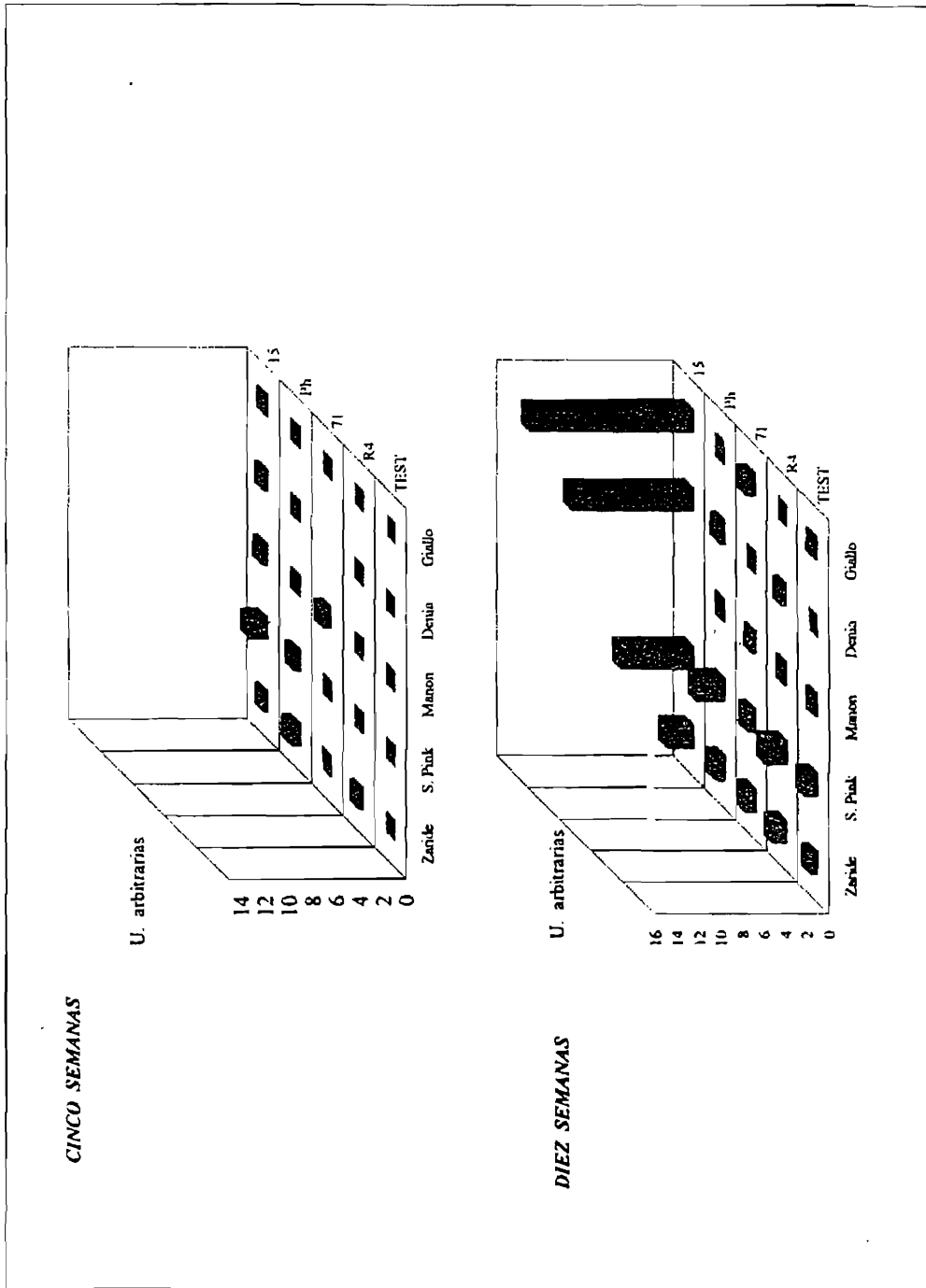


Figura 8. Comparación de la concentración media del compuesto F5 (tiempo de retención 14.72 minutos), en millones de unidades arbitrarias, medidas en cinco variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), inoculadas con aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Phialophora cinerescens*.

- Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* del clavel en Colombia. Agronomía Colombiana 10(1): 19-27.
- ARBELAEZ, G. y O. L. CALDERÓN.** 1992. Determination of the physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* on carnation in Colombia. Acta Horticulturae 307: 43-49.
- BAAYEN, R. P. y NIEMANN, G. J.** 1989. Correlations between accumulation of dianthramides, dianthialexin and unknown compounds, and partial resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in eleven carnation cultivars. Phytopathology 126: 281-292.
- GARIBALDI, A. y ROSSI, G.** 1987. Osservazioni sulla resistenza dei garofano nei confronti del *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Panorama Floricolo 12: 5-9.
- LYON, G. D., REGLINSKI, T. y NEWTON, A. C.** 1992. Assessment of the potential to use phytoalexin elicitors as a crop protectant. p. 452 *In*: B. Fritting y M. Legrand (Eds). Mechanisms of plant defense responses. Kluwer Academic Publishers.
- SCALA, A. y TEGLI, S.** 1992. Necrogenic activity of a *Fusarium* elicitor toward *in vitro* carnation cells. p. 167 *In*: B. Fritting and M. Legrand (Eds) Mechanisms of plant defense responses. Kluwer Academic Publishers.
- SCHIPPERS, B., BAKER, H. M., VAN PEER, R., NIEMANN, G. J. y HOFFLAND, E.** 1992. Pseudomonas-induced resistance in carnation against *Fusarium* wilt. *In*: B. Fritting and M. Legrand (Eds) Mechanisms of plant defense responses. Kluwer Academic Publishers. p. 453.
- SCHOFFELMEER, E. A. M., TOET, S., BAAYEN, R. P. y ELGERSMA, D. M.** 1992. Phytoalexin production by carnation in response to a crude cell wall preparation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* race 2. p. 172. *In*: B. Fritting & M. Legrand (Eds) Mechanisms of plant defense responses. Kluwer Academic Publishers.
- SCHRODER, J., SCHANZ, S., TROPF, S., KARCHER, B. y SCHRODER, G.** 1992. Phytoalexin biosynthesis: stilbene and coaction of a reductase with chalcone synthase. p. 257-267 *In*: B. Fritting & M. Legrand (Eds). Mechanisms of plant defense responses. Kluwer Academic Publishers.