

Växt- skydds- notiser

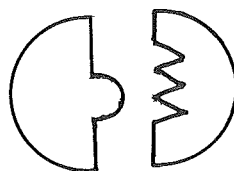
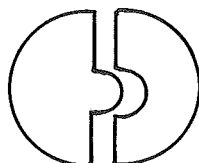


Nr 3—4, 1984 — Årg. 48

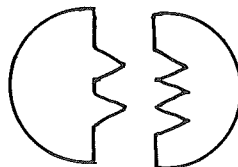
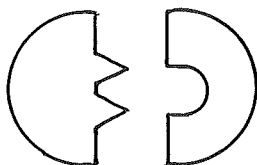
R 1

r 1

P 1



p 1



Temanummer: Resistens mot växtskadegörare

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Leif Sundheim:

Resistens mot plantepatogen 46

Dan Funch-Jensen & John Hockenhull:

Root exudation, rhizosphere microorganisms and disease control 49

Børre Robertsen:

Hvordan utløses resistensmekanismer i planter? Lignifiseringsreaksjonen i vert/parasitt-systemet agurk/*Cladosporium cucumerinum* 55

Per Ola Kjellbom, Cecilia Emanuelsson & Christer Larsson:

Mjöldaggsresistens hos korn — ett biokemiskt angreppssätt 59

Karl Tolstrup & Viggo Smedegaard-Petersen:

Saprophytic leaf fungi on barley and their effect on leaf senescence and grain yield 66

Seppo Nevalainen & Antti Uotila:

The susceptibility of Scots pine to *Gremmeniella abietina* 76

Gry Synnevåg:

Foredling for resistens mot løkgråskimmel i kepaløk 81

Nordisk lista över resistensbiologiska termer 87

Resistens mot plantepatogen

Leif Sundheim, Statens plantevern, Norges landbrukshøgskole, 1432 Ås-NLH, Norge

Nordisk forskarkurs om resistens mot plantepatogen

Med økonomisk støtte frå Nordiska forskarkurser vart det fjerde nordiske forskarkurset i plantepatologi arrangert 10.—17. november 1983 på Skogbrukets kursinstitutt Honne, Biri, Norge. Emnet for kurset var "Resistens mot plantepatogen". Målgruppa var først og fremst licentiat- og doktorgradstudentar i plantepatologi frå dei nordiske landa, men det vart og plass til nokre deltakarar med lang forskingserfaring i plantepatologi eller planteforedling. Hovedlærarar ved kurset var professor A. H. Ellingboe, Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, USA og forsøgsleder J. Helms Jørgensen, Afdeling for landbruksforsøg, Forsøgsanlæg Risø, Danmark.

Formålet med kurset var å gje deltakarane innsikt i det genetiske samspelet mellom planter og plantepatogen. Med utgangspunkt i gen for gen teorien vart dei nyaste forskingsresultata om genetisk interaksjon mellom planter og plantepatogen gjennomgått. Strategiar i bruk av resistens i multiliner, sortsblendingar og fordeling av resistensgen geografisk eller i tid vart presentert. Det vart også forelese om nye teknikkar som har gjort mogleg transformasjon av gen i planter. Det er truleg berre eit spørsmål om tid før resistensgen kan overførast ved hjelp av vektorar frå resistente planter til sortar med gode agronomiske eigenskapar.

Samandrag av alle studentforelesningar på forskarkurset er trykt i eit kurskompendium (Sundheim 1983). Nedanfor er det ei innføring i ein del sentrale problem som vart teke opp på dette forskarkurset. For særskilt interesserte kan ein vise til kurskompendiet og annan ny litteratur om resistens og resistensforedling.

Genetisk grunnlag for resistens og virulens

Etter at systematisk resistensforedling fekk eit vitenskapleg grunnlag først i dette århundre, har det vorte akkumulert mykje kunnskap om det genetiske grunnlaget for resistens i planter.

I dei fleste plantesjukdomar er det mogleg å vise at det er genetisk variasjon både i patogenet og vertplanta. I infeksjonsforsøk med fleire vertplanteliner og ulike isolat av patogenet er det i mange tilfelle funne slike samspel:

Patogen-isolat	Vertplanteline				
	A	B	C	D	E
1	+	—	—	+	—
2	+	+	—	+	—
3	+	—	+	—	+
4	+	—	+	—	—
5	+	+	+	+	+

Sett fra patogenet si side vil reaksjonen + bety at patogenet er i stand til å utvikle seg på verten og reaksjonen — betyr at utviklinga av patogenet blir hemma. Sett fra vertplanta si side betyr — ein resistent reaksjon og + ein mottakeleg reaksjon. Vertplanteline A differensierer ikkje mellom dei fem isolata av patogenet. Testen på dei fira andre vertplantelinene viser at patogenisolata er ulike. Vertplantelinene har ulike resistenseigenskapar etter smitting med patogenisolat 1, 2, 3 eller 4, medan isolat 5 ikkje differensierer mellom dei.

For snart 40 år sidan publiserte Flor resultatata frå studiar av samspelet mellom linrust og lin og på grunnlag av resultatata sine lanserte han den såkalla gen for gen teorien (Flor 1955). Flor valde ut vertplanteliner som var mottakelege for alle typar av patogenet. I eksemplet ovanfor er line A ei slik. Dei andre linene vart så kryssa med line A. Patogenisolat 1 kan differensiere mellom line A og B. Om F 2 planter frå ei kryssing mellom line A og line B blir smitta med patogenisolat 1 kan det vise seg at resistensen er styrt av eit gen. Om eit gen kan forklare skilnaden mellom A og B så vil ei kryssing mellom isolat 1 og isolat 5 vise segregering for eit gen. Dette gen for gen samspelet er funne i mange kombinasjonar av patogen og vertplante.

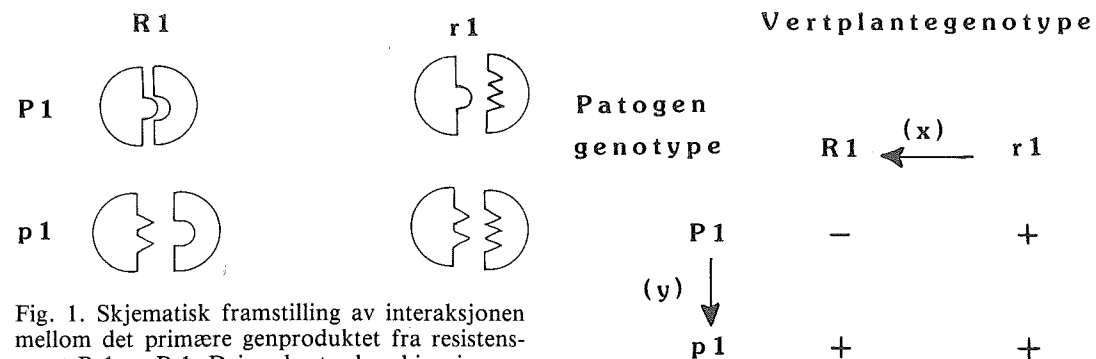


Fig. 1. Skjematisert framstilling av interaksjonen mellom det primære genproduktet fra resistensgenet R 1 og P 1. Dei andre tre kombinasjonane av vert/patogen har ingen interaksjon. (Etter Ellingboe 1982)

Fig. 2. Seleksjonspress i evolusjonen av gen for gen samspel.

Gjenkjenningsproblemet

Det grunnleggjande mønsteret kan framstilast slik i eit system med to vertplanteliner og genotypar av patogenet.

Patogen genotype	Vertplante genotype	
	R 1	r 1
P 1	—	+
p 1	+	+

Den enklaste forklaringa på dette mønsteret er at den spesifikke gjenkjenninga er for ein inkompatibel, med andre ord resistent, reaksjon mellom resistensgenet R 1 og gen for avirulens P 1. Dei andre tre kombinasjonar av patogen og vertplante genotypar gir mottakeleg reaksjon fordi det ikkje er nokon gjenkjenning. Ellingboe (1981) tolkar dette slik at eit produkt av P 1 reagerer med eit produkt av resistensgenet R 1 og det gir ein bestemt fenotypisk reaksjon. Mange plantepatologer har gått ut frå at det omvendte er tilfelle, slik at mottakelegheit er eit resultat av eit samspel mellom genprodukt frå patogenet og genprodukt frå verten. I så fall viser figuren nedanfor at tre ulike genotypar gir same fenotypiske reaksjon. I mange forskingsmiljø er det i dag ei intens jakt på dei genproduktata som styrer spesifisitet i samspelet mellom planter og plantepatogen. Ellingboe (1981) hevdar at den enklaste forklaringa er den mest sannsynlege, og han framstiller dette sjematisk som vist i fig. 1.

Evolusjon av resistens og virulens

Person (1959) hevda at evolusjonen følger pilene i fig. 2. Mutasjonen (x) fra r 1 til R 1 førde til at vertplanta vart resistent mot patogenet med genotypen P 1. Planter med resistensgenet R 1 hadde ein selektiv fordel så lenge dei var utsette for patogenet med denne genotypen.

Mutasjonen (y) i patogenet endra gentypan P 1 til p 1, og med det vart patogenet med denne genotypen virulent på vertplanten og hadde ein selektiv fordel overfor patogenet med genotypen P 1.

Transformasjon i sopp

Teknikkar brukt ved transformasjon av plasmidar frå bakteriar har nyleg vorte nytta til transformasjon av mitokondrie-DNA hos gjæringsopp. Det er difor sannsynleg at dette er det best kartlagde DNA frå ein eukaryot organisme. Dette har gjort det mogleg å samanlikne mitokondrie-DNA genkart laga ved hjelp av restriksjon-endonuklease enzym med genkart laga med konvensjonelle teknikkar. DNA-molekylet i mitokondria hos gjæringsopp har ei molekylvekt på 50×10^6 dalton, noko som tilsvarer 75 kb.

Eit anna ekstrakromosomalt DNA-molekyl med ei molekylvekt på omlag 4×10^6 har vorte funne i gjæringsopp. Dette plasmidet har vorte brukt til transformasjon av gjæringsopp inn i bakterien *Escherichia coli* og attende til gjæringsoppen. I ei gjæringscelle kan det vere mellom

50 og 100 kopiar av dette plasmidet. Det har vorte produsert hybridar mellom plasmid frå gjær og bakterieplasmid.

Denne type av forskning har vist at gjær-

celler har eit betydeleg potensiale for kloning av genetisk materiale. Teknikkar tidlegare reservert for *E. coli* kan såleis bli utnytta i ein eukaryot organisme.

Litteratur

Ellingboe, A. H. 1981. Changing concepts of host-pathogen genetics. *Ann. Rev. Phytopathol* 19, 125—143.

Ellingboe, A. H. 1982. Genetical aspects of active defense. In "Active defence mechanisms in plants" (R.K.S. Wood ed.) Plenum, New York.

Flor, H. H. 1955. Host-parasite interaction in flox rust — its genetics and implications. *Phytopathology* 45, 680—685.

Person, C. 1959. Gene-for-gene relationships in host: parasite systems. *Can. J. Bot.* 37, 1101—1130.

Sundheim, L. 1983 (red.). Nordic graduate course in plant pathology 1983. 124 s kurskompendium.

SUNDHEIM, L. 1984. Resistance against Plant Pathogens. *Växtskyddsnotiser* 48: 3—4, 46—48.

In November 1983 a Nordic graduate course in Plant Pathology was organized at the Forestry Course Center, Honne, Norway for graduate students and research workers from Denmark, Finland, Norway and Sweden. Resistance against Plant Pathogens was the topic of the course and lectures were presented on the genetic interaction between plant and plant pathogens based on the gene for gene theory. Strategies in the use of resistance genes in varietal mixtures and multilines were also covered. New technique which makes transformation of resistance genes possible in cultivated plants were discussed.

Root exudation, rhizosphere microorganisms and disease control

Dan Funck-Jensen and John Hockenhull, The Royal Veterinary and Agricultural University, Department of Plant Pathology, Copenhagen, Denmark

FUNCK-JENSEN, D. & HOCKENHULL, J. 1984. Root exudation, rhizosphere microorganisms and disease control. *Växtskyddsnotiser* 48: 3—4, 49—54.

Roots provide energy and nutrients for microorganisms in the rhizosphere. The rate of exudation is influenced by the age of the root, environmental factors, cultural factors and the presence of microorganisms. Root exudates may contain compounds which specifically influence processes such as spore germination etc. Differences in the exudate composition between resistant and susceptible cultivars have been found. Such differences may lead to changes in the composition of the microflora in the rhizosphere. Resistant cultivars have been noted to support greater populations of antagonistic microorganisms than susceptible cultivars. Plant genotype has been shown to be of importance in this respect and the deliberate selection of resistant cultivars, on the basis of root exudation, is a possibility worthy of serious consideration.

Additional keywords: Biological control, root pathogens.

Plant roots release various chemical compounds. These include amino acids, organic acids, carbohydrates, glycoproteins, enzymes and other proteins as well as nucleotides and a lot of unidentified compounds with various biological functions (Rovira, 1965). As can be seen from fig. 1, these compounds can have various origins.

Origin and types of microbial substrate in the rhizosphere

The terms used here are further defined in Bowen (1980). Around the root tip substances called mucilage accumulate. This material consists mainly of carbohydrates (Oades, 1978). Miki *et al.* (1980) investigated the young roots of several grasses and were of the opinion that mucilages were of two types. The gelatinous type, root cap mucilage, was easily sloughed off the roots as they grew through the soil. The other type, epidermis mucilage, was more firmly bound and covered the tip and other regions of the root. The layer of mucilage became thinner in the region of cell elongation and was difficult to distinguish from the wall of fully elongated cells.

Secretion and cell break down

The investigation of Paull & Jones (1975) indicates that mucilages are actively released (secreted) from cells in the root tip. However,

strong evidence has also been presented to show that mucilage arises following partial hydrolysis of primary cell wall material (Foster, 1981). Sloughed root cap cells, senescing root hairs, epidermal cells and even the cortical tissue of functional roots (Old & Nicolson, 1978) are also important sources of soluble and insoluble compounds. Epidermis mucilage is readily hydrolysed by bacteria (Foster, 1981) and much of the root system above the root hair zone is often covered by slime (mucigel) derived mainly from bacteria and microbially modified plant mucilage (Foster, 1981).

Exudation

From living cells in the cortex, molecules are released into the intracellular spaces from where they move to the root surface. Exudates (i.e. low weight molecules that leak from living cells) are thought to accumulate on the root surface at sites corresponding to the junction of cells. Exudation is most pronounced just behind the root tip and at the base of laterals (fig. 1).

Various methods have been used to estimate the quantity of organic materials released by roots and results have often been contradictory. As summarized by Prikryl & Vančura (1980) the amount of material released from roots has been reported to "range from 2%

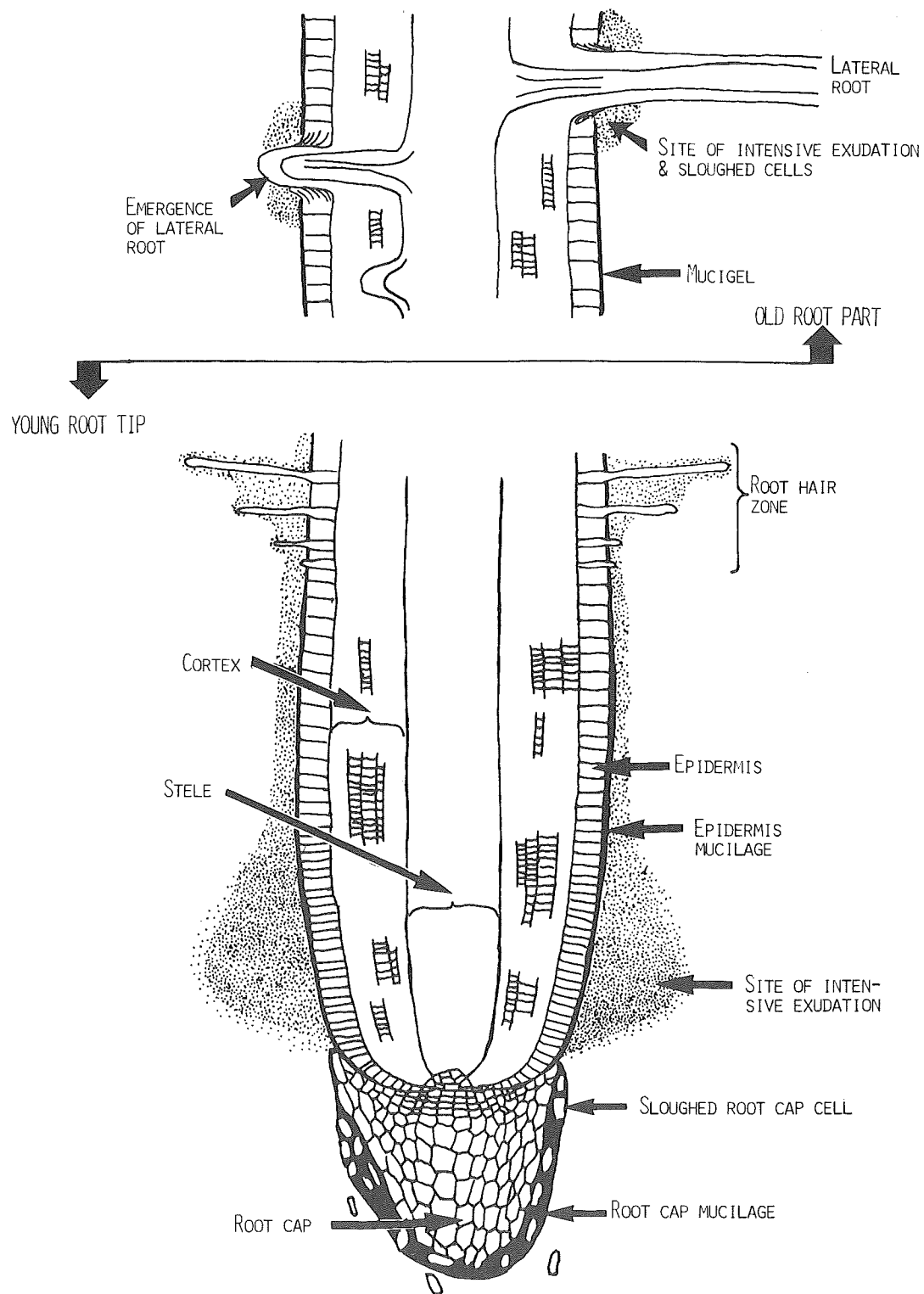


Fig. 1. A young root tip and part of an older root.

of root dry weight to several tens of percent". Expressed in another way, it has commonly been found that 1–10% and even 25% of the weight of material translocated to the roots from the shoots enters the rhizosphere (Newman, 1978).

In the following the term exudate is used to cover all types of chemical compounds released from the roots.

The rhizosphere effect

The zone which is enriched by the organic compounds released from living roots is called the rhizosphere. This zone is characterized by a much higher level of microbial activity than that found in the exudate devoid (non-rhizosphere) areas further away. The effect coming from the roots on microbial activity is called the rhizosphere effect.

Characteristics of the soil and the type of exudate are factors governing the ability of organic compounds to diffuse through the soil. Volatile exudates will diffuse greater distances than exudates dissolved in the soil water, and insoluble materials remain close to their source of origin at the root surface.

Foster & Rovira (1978) found that the number of bacteria a distance of 10–20 μm from the root was only about 10% of the number to be found on the root surface. Many other studies support the finding that the root zone is characterized by steep gradients in microbial activity and number of microorganisms.

Such gradients can be explained by limited diffusion of microbial substrate from the root and/or because microorganisms close to the root surface quickly use up the microbial substrate leaving little or no substrate to diffuse away.

It is generally accepted that most of the microorganisms occurring in non-rhizosphere soil are in an inactive or resting stage. The reason for this — which is in dispute — is either because the supply of substrate is severely limited or because of soil fungistasis. However, when a root enters such an area, a proportion of these inactive microorganisms germinate and grow. Organisms that are quick to utilize the nutrients coming from roots will have a competitive advantage over other, slower responding organisms.

Plant pathogens

Also a number of important root pathogens

Table 1. Examples of factors causing changes in root exudation. — *Eksempler på faktorer, der forårsager ændringer i rodekssudationen*

Some factors influencing root exudation	References
Temperature	Martin & Kemp, 1980
"Soil" texture	Barber & Gunn, 1974
Clipping of foliage	Hamlen <i>et al.</i> , 1972
Foliar sprays	Agnihotri, 1964
Herbicide treatment	Youssef & Heitefuss, 1983
Fungicide treatment	Bushan & Domsch, 1976

including species of *Pythium* have this ability. Indeed, access to an energy rich substrate is often necessary if they are to successfully infect and overcome host plant resistance (Hockenhull & Funck-Jensen, 1983). Infection of roots by *Pythium* is found at sites with intensive exudation, i.e. at the root tip region, and at the base of lateral roots (Funck-Jensen & Hockenhull, 1983).

Experiments carried out by Barber & Martin (1976) and Prikryl & Vančura (1980) have shown that roots colonised by microorganisms release up to twice the amount of compounds released by aseptically grown plants. The reason for this difference is unclear. It could be due to the ability of some bacteria to increase plant cell permeability as was proposed by Bowen (1980). If this is so, such strains would be favoured as root colonizers. Environmental and cultural practices can also influence root exudation (table 1) and thereby have an effect on the root microflora.

In addition to providing nutrients and energy, exudates have also been found to contain compounds with various more or less specific effects on microorganisms including plant pathogens (table 2). Although few of these effects have been thoroughly investigated in soil, it can be stated that exudates play an important part in the regulation of the many interactions between plants and microorganisms — including pathogens — in the rhizosphere.

Controlling root pathogens by changing exudation

A number of studies have shown that there are both qualitative and quantitative differences in exudation between susceptible and resistant plants (see e.g. Booth (1974), Kraft (1974), Naqvi & Chauhan (1980), Youssef &

Table 2. Factors in root exudate affecting rhizosphere organisms. — *Faktorer i rodekssudater, der har en virkning på rhizosfære organismer*

AFFECTS & FACTORS	PLANT	MICROORGANISM	REFERENCE	
mycelium growth	stimulators	strawberry	<i>Rhizoctonia sp.</i>	Husain & McKeen, 1962
	inhibitors	oats	<i>Byssoschlamys nivea</i>	Schönbeck, 1958
spore germination	stimulators	tomato	<i>Fusarium spp.</i>	Jackson, 1960
		turnip	<i>Pythium mammillatum</i>	Barton, 1957
	inhibitors	pea	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>	Whalley & Taylor, 1976
		pea	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>capsici</i>	Naqvi & Chauhan, 1980
		pea	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>	Buxton, 1957
chemotaxi	chilli	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>capsici</i>	Naqvi & Chauhan, 1980	
	avocado	<i>Phytophthora spp.</i>	Zentmyer, 1970	
	pea	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Chang-Ho & Hickman, 1970	
	sugar beet	<i>Aphanomyces cochlioides</i>	Rai & Strobel, 1966	
binding to root surface	various	<i>Rhizobium spp.</i>	Currier & Strobel, 1976	
	Zea	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Ralton, Hinch & Clarke, 1983	
	Xanthorrhoea	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Ralton, Hinch & Clarke, 1983	
	soybean	<i>Rhizobium spp.</i>	Bhuvaneswari & Bauer, 1978	

Heitefuss (1983). This knowledge leads to the obvious idea that root pathogens may be controlled by changing root exudation.

One way of achieving this might be by manipulating the host genetically.

Genetic manipulation of the host

Atkinson *et al.* (1975) carried out experiments with wheat varieties resistant and susceptible to common root rot caused by *Cochliobolus sativus*. By using two series of disomic whole chromosome substitution lines they established that resistance was connected to chromosome 5B. *In vitro* experiments with *C. sativus* demonstrated that resistant varieties supported a high proportion of antagonistic bacteria. Whether antibiosis was the mechanism operating *in vivo* was not conclusively demonstrated, but the data of Atkinson *et al.* (1975) does indicate that host genotype can play a major role in determining the characteristics of the microbial population in the rhizosphere.

In the Texas breeding program for genetic improvement of cotton, the bearing hypothesis is that cotton has the genetic potential, via exudation, to alter the microflora on seed and root surface so that microorganisms antagonistic to pathogens and insects dominate (Bird, 1982). Root exudate composition (Bird *et al.*, 1978) is one of several selection criteria used in this successful breeding pro-

gram which has resulted in the selection of cotton cultivars multiply resistant to major soil borne diseases (Bird, 1982).

Discussion

It is well established that the plant, via the energy-rich compounds it releases into the soil, is the driving force behind the microbial activity in the rhizosphere. What are the possibilities for steering this microbial activity in the direction of less attack by root pathogens, reduced incidence of root diseases and consequent improved root health and function?

Many, and possibly most, of the cultural practices used in modern growing systems, cause increases in the amount of exudate released by the plant into the soil. If this increase is utilized by the pathogens rather than by the beneficial microorganisms, then the net result will be an increase in the amount of disease. Alternatively, the rhizosphere might be populated by beneficial microorganisms having the ability to rapidly use up available supplies of energy and nutrient around the root. In this case, pathogens will be at a disadvantage and the amount of disease will be reduced. The "starvation" mechanism for the control of plant pathogens has been suggested as a possible explanation for the low incidence of root disease problems in modern hydroponic growing systems (Hockenull & Funck-Jensen, 1983). This mecha-

nism may also be widespread in the field and glasshouse where successful crops are produced using "good agricultural & horticultural practices".

A number of studies have shown qualitative differences in exudate composition between resistant and susceptible cultivar. In some of these cases it has been shown that the mechanism involved was some type of direct stimulation or inhibition of the pathogen in the root zone resulting in more or less disease (table 2). A second mechanism, that of the stimulation of antagonistic microorganisms and the consequent inhibition of the pathogen in the rhizosphere, is also a concept of considerable interest. Evidence from work with wheat (Atkinson *et al.*, 1975) and cotton (Bird, 1982) strongly indicates that plant geno-

type can play a major role in determining which microorganisms establish, and which microbial activities dominate, in the rhizosphere.

It would be of great value to know whether this is a widespread phenomenon involving other plant species. For if it is, then it should be possible, by selecting plants with a well developed antagonistic microflora around their roots, to breed cultivars with improved resistance to a range of root pathogens. Alternatively, such plants might be selected on the basis of the composition of their root exudates. It might, however, prove more practical to look for key components in the exudate as was done in the cotton breeding program (Bird *et al.*, 1978).

References

- Agnihotri, V. P. 1964. Studies on Aspergilli XIV. Effect of foliar spray of urea on the *Aspergilli* of the rhizosphere of *Triticum vulgare* L. *Pl. Soil* 20: 364—370.
- Atkinson, T. G., Neal, J. L. & Larson, R. I. 1975. Genetic control of the rhizosphere microflora of wheat. In Bruehl, G. W. (ed) *Biology and Control of Soil-Borne Plant Pathogens*. Am. Phytopathological Soc., Minnesota: 116—122.
- Barber, D. A. & Gunn, K. B. 1973. The effect of mechanical forces on the exudation of organic substances by the roots of cereal plants grown under sterile conditions. *New Phytol.* 73: 39—45.
- Barber, D. A. & Martin, J. K. 1976. The release of organic substances by cereal roots in soil. *New Phytol.* 76: 69—80.
- Barton, R. 1957. Germination of oospores of *Pythium mammillatum* in response to exudate from living seedlings. *Nature* 180: 613.
- Bhuvaneswari, T. V. & Bauer, W. D. 1978. Role of lectins in plant-microorganism interactions. *Pl. Physiol.* 62: 71—74.
- Bird, L. S. 1982. The MAR (Multi-Adversity Resistance) system for genetic improvement of cotton. *Plant Disease* 66: 172—176.
- Bird, L. S., Bush, D. L., Percy, R. G. & Bourland, F. M. 1978. Genetic research improves disease resistance in cotton. *Texas Agric. Progress* 24: 22—23.
- Booth, J. A. 1974. Effect of cotten root exudate constituents on growth and pectolytic enzyme production by *Verticillium albo-atrum*. *Can. J. Bot.* 52: 2219—2224.
- Bowen, G. D. 1980. Misconceptions, concepts and approaches in rhizosphere biology. In Ellwood, D. C., Latham, M. J., Hedger, J. M., Lynch, J. M. & Slater, J. H. (eds). *Contemporary Microbial Ecology*. Acad. Press: 283—304.
- Bushan, L. J. & Domsch, K. H. 1976. Effect of some fungitoxicants on the amino acid spectrum of wheat root exudates. *Phytopath. Z.* 90: 22—26.
- Buxton, E. W. 1957. Some effects of pea root exudates on physiologic races of *Fusarium oxysporum* Fr. f. *pisi* (Linf.) *Trans. Br. mycol. Soc.* 40: 145—154.
- Chang-Ho, Y. & Hickman, C. F. 1970. Some factors involved in the accumulation of Phycomycete zoospores on plant roots. In Toussoun, T. A., Bega, R. V. & Nelson, P. E. (eds). *Root Diseases and Soil-Borne Pathogens*. Calif. Univ. Press: 103—111.
- Currier, W. W. & Strobel, G. A. 1976. Chemotaxis of *Rhizobium spp.* to plant root exudates. *Plant Physiol.* 57: 820—823.
- Foster, R. C. 1981. The ultrastructure and histochemistry of the rhizosphere. *New Phytol* 89: 263—273.
- Foster, R. C. & Rovira, A. D. 1978. The ultrastructure of the rhizosphere of *Trifolium subterraneum* L. In Loutit, M. W. & Miles, J. A. R. (eds) *Microbial Ecology*. Springer-Verlag, Berlin: 278—290.
- Funck-Jensen, D. & Hockenull, J. 1983. The influence of some factors on the severity of *Pythium* root rot of lettuce in soilless (hydroponic) growing systems. *Acta Hort.* 133: 129—136.

- Hamlen, R. A., Lukezic, F. L. & Bloom, J. R. 1972. Influence of clipping height on the neutral carbohydrate levels of root exudates of alfalfa plants grown under gnotobiotic conditions. *Can. J. Pl. Sci.* 52: 643—649.
- Hockenhuil, J. & Funck-Jensen, D. 1983. Is damping-off, caused by *Pythium*, less of a problem in hydroponics than in traditional growing systems? *Acta Hort.* 133: 137—145.
- Husain, S. S. & McKeen, W. E. 1962. Stimulation of a new *Rhizotonia* species by Strawberry root exudates (Abstr.). *Phytopathology* 52: 14.
- Jackson, R. M. 1960. Soil fungistasis and the rhizosphere. In Parkinson, D. & Waid, J. S. (eds). *Ecology of Soil Fungi*. Liverpool Univ. Press: 168—181.
- Kraft, J. M. 1974. The influence of seedling exudates on the resistance of peas to *Fusarium* and *Pythium* root rot. *Phytopathology* 64: 190—193.
- Martin, J. K. & Kemp, J. R. 1980. Carbon loss from roots of wheat cultivars. *Soil Biol. Biochem.* 12: 551—554.
- Miki, N. K., Clarke, K. J. & McCully, M. E. 1980. A histological and histochemical comparison of the mucilages on the root tips of several grasses. *Can. J. Bot.* 58: 2581—2593.
- Naqvi, S. M. A. & Chauhan, S. K. 1980. Effect of root exudates on the spore germination of rhizosphere and rhizoplane microflora of Chilli (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Pl. Soil* 55: 397—402.
- Newman, E. I. 1978. Root microorganisms: their significance in the eco-system. *Biol. Rev.* 53: 511—554.
- Oades, J. M. 1978. Mucilages at the root surface. *J. Soil Sci.* 29: 1—16.
- Old, K. M. & Nicolson, T. H. 1978. The root cortex as part of a microbial continuum. In Loutit, M. W. & Miles, J. A. R. (eds). *Microbial Ecology*. Springer-Verlag, Berlin: 291—295.
- Paull, R. F. & Jones, R. L. 1975. Studies on the secretion of maize root-cap slime. III Histochemical and autoradiographic localization of incorporated fucose. *Planta* 127: 97—110.
- Přikryl, Z. & Vančura, V. 1980. Root exudates of plants. VI. Wheat root exudation as dependent on growth, concentration gradient of exudates and the presence of bacteria. *Pl. Soil* 57: 69—83.
- Rai, P. V. & Strobel, G. A. 1966. Chemotaxis of zoospores of *Aphanomyces cochlioides* to sugar beet seedlings. *Phytopathology* 56: 1365—1369.
- Ralton, J. E., Hinch, J. M. & Clarke, A. E. 1983. The effect of inoculum concentration on adhesion of *Phytophthora cinnamomi* zoospores to modified root surfaces. *Fourth International Congress of Plant Pathology, Melbourne, Australia, Aug. 17—24, 1983*: 190.
- Rovira, A. D. 1965. Plant root exudates and their influence upon soil microorganisms. In Baker, K. F. & Snyder, W. C. (eds). *Ecology of Soil-Borne Pathogens*. Univ. Calif. Press Berkeley, Los Angeles: 170—186.
- Schroth, M. N. & Hancock, G. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science* 216: 1376—1381.
- Schönbeck, F. 1958. Untersuchungen über den Einfluss von Wurzelabscheidungen auf die Entwicklung von Bodenpilzen. *Naturwissenschaften* 45: 63—64.
- Whalley, W. M. & Taylor, G. S. 1976. Germination of chlamydospores of physiologic races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* in soil adjacent to susceptible and resistant pea cultivars. *Trans. Br. mycol. Soc.* 66: 7—13.
- Zentmyer, G. A. 1970. Tactic responses of zoospores of *Phytophthora*. In Toussoun, T. A., Bega, R. V. & Nelson, P. E. (eds). *Root Diseases and Soil-Borne Pathogens*. Calif. Univ. Press: 109—111.
- Youssef, B. A. & Heitefuss, R. 1983. Side-effects of herbicides on cotton wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* II. Effect of herbicides on the quantitative and qualitative composition of sugars and amino acids in cotton seed and root exudates. *Z. PflKrankh. PflSchutz.* 90: 36—49.

FUNCK-JENSEN, D. & HOCKENHULL, J. 1984. Rodekssudation, rhizosfære mikroorganismer og sygdomsbekæmpelse. *Vækstskyddsnotiser* 48: 3—4, 49—54.

Rødder forsyner mikroorganismer i rhizosfæren med energi og næring (ekksudater). Ekksudationen påvirkes af rodens alder, faktorer i omgivelserne, kulturforanstaltninger og tilstedeværelse af mikroorganismer. Rodekssudater kan indeholde forbindelser, der specifikt influerer på processer som sporespiring etc. Der er fundet forskelle i sammensætningen af rodekssudater fra modtagelige og resistente planter. Sådanne forskelle kan bevirke, at der også er forskel på sammensætningen af mikrofloraen i planternes rhizosfære. Resistente sorter, der havde en større antagonist population etableret i rhizosfæren end modtagelige sorter er fundet. Plantens genotype har vist sig at være vigtig i denne forbindelse og en selektion af resistente sorter på basis af rodekssudationen er en mulighed, der synes værd at overveje.

Hvordan utløses resistensmekanismer i planter? Lignifiseringsreaksjonen i vert/parasitt-systemet agurk/*Cladosporium cucumerinum*

Børre Robertsen, Universitetet i Tromsø, Institutt for biologi og geologi, Postboks 3085 Guleng, 9001 TROMSØ, Norge

ROBERTSEN, B. 1984. Hvordan utløses resistensmekanismer i planter? Lignifiseringsreaksjonen i vert/parasitt-systemet agurk/*Cladosporium cucumerinum*. *Vækstskyddsnotiser* 48: 3—4, 55—58.

Lignifisering synes å være en viktig del av resistensmekanismen hos agurkplanter. Når agurk-skabb-soppen *Cladosporium cucumerinum* infiserer resistente agurksorter, dannes lignin inne i vortscellene og i vortscelleveggene. Produksjon av lignin kan bli induert i hypokotylesegmenter fra agurkfrøplanter av oligosakkarider som er isolert fra pektin eller agurkcellevegger. Enzymet pektin lyase fra *C. cucumerinum* er også i stand til å induere lignifisering i hypokotylesegmentene. Elektronmikroskopiske undersøkelser indikerer at soppen degraderer midtlamellen når den infiserer resistente agurkplanter. Disse observasjonene tyder på at *C. cucumerinum* utløser forsvarsreaksjoner i resistente agurkplanter ved en enzymatisk nedbrytning av pektinet i midtlamellen til oligosakkarider.

En patogen mikroorganisme kan som regel bare framkalle sykdom i en bestemt art av en plante. Saprophyttiske mikroorganismer er ikke patogener for planter i det hele tatt selv om de har hele det enzymapparat som skal til for å degradere døde planter.

Ofta er imidlertid både saprophytter og patogener i stand til å trengje inn i det ytre cellelaget hos planter, men videre infeksjon blir stoppet ved at de utløser forsvarsreaksjoner i plantevevet. En plante er altså resistent overfor mikroorganismer den ikke er vert for, ved at den er i stand til å gjenkjenne eller oppdage inntrengere gjennom en eller annen biokjemisk mekanisme. Denne formen for resistens ligner mye på den en finner i vert/parasitt-systemer der bare bestemte sorter av vortspilanten blir angrepet av en parasitt som bare har en patotype. Agurk og soppen *Cladosporium cucumerinum* Ell. and Arth. er et eksempel på slike vert/parasitt-systemer. Vår gruppe ved Universitetet i Tromsø har valgt å ta utgangspunkt i dette systemet for å studere hvordan resistensmekanismer utløses i planter når de infiseres av mikroorganismer.

Nedarving av resistens mot *C. cucumerinum* i agurk

C. cucumerinum framkaller råtelignende symptomer i mottakelige agurkplanter og dreper vekstpunkt og stengler. Sykdommen kalles agurk-skabb eller gummiflod. Resistente agurksorter blir også infisert av soppen, men

får bare små nekrotiske flekker som aldri blir livstruende for planten.

J. C. Walker (1950) undersøkte nedarvingen av resistens mot skabb i agurk. Som foreldreplanter valgte han den resistente sorten Maine 2 og de mottakelige sortene Chicago Pickling, National Pickling, Ohio 31 og Stays Green. Alla F₁-planter fra kryssninger mellom Maine 2 og en mottakelig sort var resistente mot *C. cucumerinum*. Resistens mot skabb måtte derfor være en dominant karakter hos agurk. Da F₂-plantene ble infisert med soppen, fikk Walker resistente og mottakelige planter i et forhold på 3:1. Dette og andre kryssningsforsøk tydet på at resistens og mottakelighet i agurk overfor *C. cucumerinum* er kontrollert av et enkelt genpar. Biokjemisk kan dette tolkes som at mottakelighet og resistens i dette systemet bestemmes av et enkelt molekyl.

C. cucumerinum er ikke inndelt i patotyper. En vet derfor ikke om et eller flere gener i soppen er involvert i gjenkjennelsemekanismen i dette vert/parasitt-systemet.

Produksjon av lignin kan være en viktig forsvarsmekanisme i agurkplanter

Planter har sannsynligvis en rekke forskjellige forsvarsmekanismer mot infeksjon av mikroorganismer. Best karakterisert er foreløpig produksjonen av såkalte fytoaleksiner som er små lipofile molekyler med antibiotiske egen-

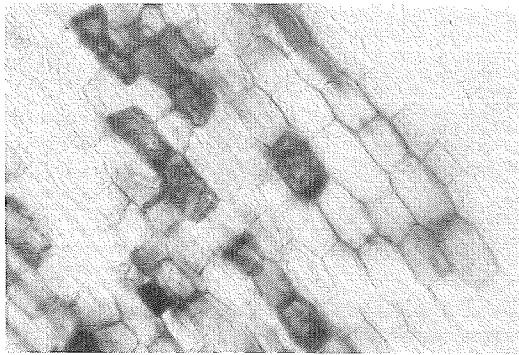


Fig. 1. Typisk utseende hos epidermisceller fra hypokotylen av resistente agurkplanter 2 dager etter inokulering med *C. cucumerinum*. Soppens forsøk på infeksjon resulterer i at plantecellene får et kornet brunt innhold. Reaksjonen ligner mye på en hypersensitivitetsreaksjon. — Typical appearance of epidermal cells from the hypocotyl of resistant cucumber plants 2 days after inoculation with *C. cucumerinum*. The plant cells become brown and granulated upon infection by the fungus. This reaction appear to be similar to the hypersensitive response in other host-parasite interactions.

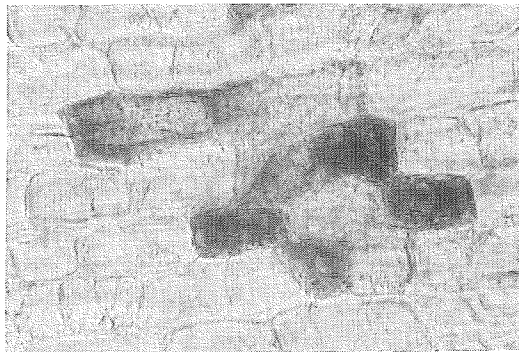


Fig. 2. Epidermis fra hypokotylen av resistente agurkplanter 2 dager etter inokulering med *C. cucumerinum*. Vevet er behandlet med phloroglucinol/HCl som farger lignin rødt. Lignin er produsert inne i flere celler og i cellevegger som resultat av infeksjon med sopp. — The epidermis from the hypocotyl of resistant cucumber plants 2 days after inoculation with *C. cucumerinum*. The tissue has been treated with phloroglucinol/HCl which stains lignin red (black in the picture). Lignin is produced inside many of the cells and in their cell walls as a result of infection by the fungus.

skaper. Phytoaleksiner er hittil ikke påvist i agurk. Mye tyder imidlertid på at produksjon av lignin kan fungere som resistensmekanisme i agurk og flere andre planter (Kuč, 1982).

Nederlenderen Hijwegen (1963) viste at resistente agurkplanter dannet lignin når de ble infisert av *C. cucumerinum*. Lignin kunne ikke påvises i infisert vev av mottakelige planter bortsett fra det som naturlig forekommer i f.eks. ledningsvevet.

Lysmikroskopiske undersøkelser av infeksjonen i resistente frøplanter av agurk viser at det framtrer nekrotiske celler med et brunt og kornet innhold i epidermis 2 dager etter inokulering (Fig. 1). Dersom vi behandler remser av epidermis fra dette vevet med phloroglucinol/HCl som spesifikt farger ligninpolymerer røde, kan vi se at det er dannet lignin i cellevegger og inne i flere av epidermiscellene (Fig. 2).

Agurk og flere andre planter produserer forøvrig lignin når de såres. Lignifisering antas å være en mekanisme som beskytter såret mot infeksjon av mikroorganismer.

Kjemisk er lignin et nettverk av de tre aromatiske alkoholene coniferylalkohol, sinapylalkohol og p-coumarylalkohol. Stoffet har livsviktige funksjoner i alle friske planter fordi det gir styrke til plantecelleveggene.

I følge Ride (1978) kan produksjon av lignin i planter tenkes å hemme soppinfeksjon på flere måter. Lignin øker den mekaniske styrken på plantecelleveggene, gjør dem mer motstandsdyktig mot hydrolytiske enzymer og blir derfor vanskeligere å trenge gjennom for soppmycel. Lignifiserte cellevegger blir sannsynligvis også mindre gjennomtrengelige for toksiner fra sopp og for næringsstoffer som lekker ut fra plantecellene. Muligens kan lignin direkte hemme soppvekst ved at det avsettes på hyfespissene. Lavmolekylære forløpere til lignin, som coniferylalkohol, kan dessuten virke som fungicider (Kuč, 1982).

Hvordan blir agurkcellene stimulert til å produsere lignin?

De siste årene er det vist at mange typer plantevev blir stimulert til å produsere phytoaleksiner når de tilføres polysakkaridfragmenter fra soppcellevegger. De aktive stoffene stammer fra et glukon (Albersheim og Valent, 1978). Ikke-patogene mikroorganismer kan tenkes å bli gjenkjent av slike planter ved at det frigjøres glukonfragmenter fra soppcelleveggene under infeksjonen. Glukonfragmen-

tene utløser produksjon av phytoaleksiner i plantecellene og veksten av sopp stopper opp.

For å undersøke om lignende gjenkjennelsemekanismer fungerer ved lignifiseringsreaksjonen i agurk, utviklet jeg en enkel metode til å påvise stoffer som potensielt kan stimulere agurkvev til å produsere lignin: Fra agurkfrøplanter som var dyrket 3 døgn i mørke ble det skåret ut et segment på ca. 1 cm fra den øvre delen av stengelen. Segmentene ble delt i to på langs med et barberblad og deretter vasket i vann. Segmentdelene fikk så ligge i ulike testløsninger 20 timer i mørke. Dagen etter ble segmentene behandlet med phloroglucinol/HCl for påvisning av lignin (Johanson, 1940). Sårflaten på segmenter som var inkubert i rent vann viste ingen farge, mens segmenter som var inkubert i ekstrakter med evne til å stimulere til ligninproduksjon fikk helt røde sårflater. Det viste seg at ekstrakter av mycel og cellevegg fra *C. cucumerinum* ikke hadde evne til å inducere lignifisering. Det hade imidlertid ekstrakter fra agurkcellevegger. Celleveggene ble ekstrahert ved å autoklavere dem i vann. De eksperimenter vi hittil har gjort, tyder på at de lignin-induserende faktorene fra agurkcelleveggene er fragmenter (oligosakkarider) av pektin. Dette stemmer med at også rent pektin og polygalakturonsyre har evne til å stimulere lignin etter autoklavering, men ikke før. Autoklaveringen fører nemlig til at polysakkaridene til en viss grad blir spaltet opp i mindre fragmenter.

Disse observasjonene kan muligens forklare hvorfor agurkplanter produserer lignin når de såres f.eks. ved å skrape i planteoverflaten med en skalpel. Slik såring kan føre til frigjøring av pektinfragmenter fra midtlamellen som så inducerer ligninproduksjonen. Stengelsegmentene som brukes i metoden som er beskrevet overfor, blir skåret med barberblad som gir relativt pene snittflater og er en "mild" form for såring som ikke fører til lignifisering. Eventuelle frigjorte pektinfragmenter blir forøvrig vasket bort med vann etterpå.

Foreløpig er vi ikke sikre på om pektinfragmentene er involvert i lignifiseringsreaksjonen som inntreffer når *C. cucumerinum* infiserer resistente agurkplanter, men flere observasjoner tyder på dette. Soppen skiller ut enzymet pektin lyase som har evne til å spalte opp pektinet i agurk i mindre fragmenter. Renset pektin lyase viste seg også å kunne

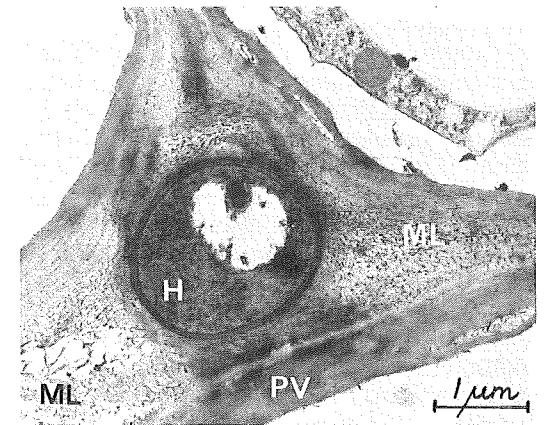


Fig. 3. Hyfe (H) av *C. cucumerinum* som vokser i midtlamellen (ML) hos en resistant agurkplante. Pektinet i midtlamellen har blitt spaltet opp av sopp. (PV = plantecelleveggen.) — Hypha (H) of *C. cucumerinum* which grows in the middle lamellae (ML) of a resistant cucumber plant. The pectin in the middle lamellae has been degraded by the fungus. (PV = the plant cell wall).

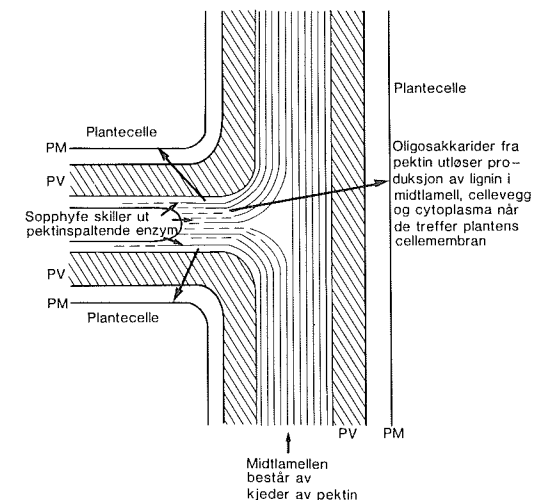


Fig. 4. Modell som viser hvordan vi tenker oss at *C. cucumerinum* utløser ligninproduksjon når den vokser i resistente agurkplanter. (PM = plasma membranen, PV = plantens cellevegg, — = oligosakkarider av pektin.) — A model which illustrate how we imagine that *C. cucumerinum* elicits lignification when it grows in resistant cucumber plants. (PM = the plasma membrane, PV = the plant cell wall, — = pectin oligosaccharides).

indusere lignifisering i agurksegmentene. Elektronmikroskopiske undersøkelser viser dessuten at *C. cucumerinum* spalter opp den pektinrike midtlamellen når den vokser i resistente planter, men ikke i mottakelige planter (Fig. 3) (Robertsen, 1983). Pektin finnes imidlertid både i resistente og mottakelige planter, og pektin lyase stimulerer ligninproduksjonen i begge sorter. Vår arbeidshypotese går derfor ut på at *C. cucumerinum* skiller ut mer pektin lyase i begynnelsen av infeksjonen i resistente agurkplanter enn i mottakelige planter (Fig. 4). Sammenholdt med den genetiske analysen av systemet, kan

det bety at resistente planter, men ikke mottakelige, inneholder et stoff som inducerer pektin lyase i *C. cucumerinum*. Flere andre hypoteser kan imidlertid også formuleres på bakgrunn av disse observasjonene.

Nylig har det blitt rapportert at pektinfragmenter også kan inducere produksjon av fytoaleksiner i planter (Nothnagel, 1983). Mye tyder altså på at midtlamellen har en viktig funksjon i planter som en slags alarmmekanisme. Når den blir skadet ved såring eller av inntrengende mikroorganismer, utløser den forsvarsreaksjoner i planten.

Litteratur

- Albersheim, P. and B. Valent. 1978. Host-pathogen interactions in plants. Plants, when exposed to oligosaccharides of fungal origin, defend themselves by accumulating antibiotics. *J. Cell Biol.* 78, 627—643.
- Hijwegen, T. 1963. Lignification, a possible mechanism of active resistance against pathogens. *Neth. J. Plant Path.* 69, 314—317.
- Johanson, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. Mc. Graw Hill, New York.
- Kuc, J. 1982. Induced immunity to plant disease. *Bio-Science*. 32, 854—860.

- Nothnagel, E. A., M. Mc Neil, P. Albersheim and A. Dell, 1983. Host-pathogen interactions. XXII. A galacturonic acid oligosaccharide from plant cell walls elicits phytoalexins. *Plant Physiol.* 71, 916—926.
- Ride, J. P. 1978. The role of cell wall alterations in resistance to fungi. *Ann. Appl. Biol.* 89, 302—306.
- Robertsen, B. 1983. Infection of scab resistant cucumber seedlings by *Cladosporium cucumerinum* during growth in the dark. *Plant Physiol.* 72, 131.
- Walker, J. C. 1950. Environment and host resistance in relation to cucumber scab. *Phytopathology* 40, 1094—1102.

ROBERTSEN, B. 1984. How is disease resistance mechanisms elicited in plants? The lignification reaction in the host-parasite interaction between cucumber and the fungus *Cladosporium cucumerinum*. *Växtskyddsnotiser* 48: 3—4, 55—58.

Lignification appear to be important in the disease resistance mechanism of cucumber plants. When the scab fungus *Cladosporium cucumerinum* infects resistant cucumber cultivars, lignin is formed inside the host cells and in their cell wall.

Production of lignin can be induced in hypocotyl segments of cucumber by oligosaccharides obtained from pectin or cucumber cell walls. Pectin lyase from *C. cucumerinum* is also able to induce lignification in hypocotyl segments. Electron microscope studies indicate that the fungus degrades the middle lamellae upon infection of resistant cucumber plants. These observations suggest that *C. cucumerinum* elicits the defense mechanism of scab resistant cucumber plants through the enzymatic degradation of the middle lamellae.

Mjöldaggsresistens hos korn — ett biokemisk angreppssätt

Per Ola Kjellbom, Cecilia Emanuelsson och Christer Larsson, Avdelningen för Biokemi, Lunds Universitet, Kemicentrum, Box 740, 220 07 Lund

KJELLBOM, P. O., EMANUELSSON, C. & LARSSON, C. 1984. Mjöldaggsresistens hos korn — ett biokemisk angreppssätt. *Växtskyddsnotiser* 48: 3—4, 59—65.

Växtförädlingen står idag inför en ny snabb utvecklingsfas möjliggjord genom en revolutionerende teknik, hybrid-DNA-tekniken. Denna teknik kommer med stor sannolikhet att inom de nærmaste 5—10 åren möjliggjøre introducerandet av *enstaka* nye egenskaper i redan befintlige og vel utprøvede sorter.

Eftersom resistens hos eksempelvis korn mot mjöldagg ofta visat sig bero på ett fåtal gener (förmodligen *en enda gen* i exempelvis ml-o och Ml-a mutanter) lämpar sig resistensgener väl för denna teknik. Målsättningen är att identifiera och isolera de primära genprodukter (proteiner) som ansvarar för resistensen, för att sedan kunna isolera resistensgener lämpade för växtförädling med hybrid-DNA-teknik.

Av det stora antalet kornmutanter vi har oppvisar Ml-a mutanterna rasspecifik resistens, medan ml-o mutanterna oppvisar icke rasspecifik resistens.

Plasmamembranet (plasmalemma) spelar förmodligen en avgörande roll för växtens resistens genom närvaron eller frånvaron av proteinreceptorer i membranet, vilka exempelvis kan "känna igen" en angripande parasit. Våra undersökningar koncentreras därför till plasmamembranet. Proteinsammansetningen hos isolerade plasmamembran från resistente mutanter respektive icke resistente modersorter jämförs, för att hitta det protein som ändrats genom mutationen och därmed orsakat resistensen. Påvisande av ett sådant protein skulle redan nu vara av mycket stor betydelse inom den traditionella växtförädlingen som ett nytt och effektivt urvalskriterium.

Sedan ett par år pågår vid avdelningen för Biokemi, Lunds Universitet, ett projekt med det långsiktiga målet att isolera de gener som ger resistens mot mjöldagg (*Erysiphe graminis*) hos korn (*Hordeum vulgare*). Förutsättningarna för projektet är det unika och genetiskt väldefinierade material av resistente mutanter som finns tillgängliga vid resistensavdelningen i Svalöv, samt den kunskap inom växtbiologi, separationsteknik, proteinkemi och immunologi som finns vid avdelningen för Biokemi i Lund.

Molekylärbiologer arbetar idag rutinmässigt med introduktion av nya gener i bakterier. När man inom den nærmaste 10-årsperioden på detta sätt kan introducera enstaka nye egenskaper i växter är det lätt att forstå att detta kommer att innebära nye revolutionerende muligheter inom växtförädlingen. Speciellt skulle detta kunna spela en stor roll inom växtskyddet och resistensförädlingen, eftersom man sedan länge känner till att resistens-egenskaper kan hänföras till en eller ett fåtal gener.

Innan man tar steget in i hybrid-DNA tekniken måste man emellertid kunna förklara

resistensreaktionen i biokemiska termer. I det projekt som i det följande ska beskrivas vill vi utröna vad som skiljer resistente sorter från andra. Kan resistentes bindas till en förändring i något protein, förslagsvis i cellmembranet, som är växtens "levande" barriär mot omgivningen?

Växtens plasmamembran

Alla växter, djur och människor är uppbyggda av celler. Ytterst på en växtcell (Fig. 1) finns cellväggen som huvudsakligen består av cellulosa-fibrer. Cellväggen stöder och stabiliserar cellen och växten. Cellväggen utgör inget större hinder för inträngning i cellen av lösta ämnen som salter, främmande protein eller kolhydrater. Cellväggens sammansättning skiljer sig vidare mycket litet mellan olika växtarter eller sorter (2). Cellens, och därmed växtens, "levande" begränsning mot omvärlden är cellmembranet, eller plasmamembranet (plasmalemma), som biokemisten kallar det för att skilja det från cellens alla inre membran. Det ligger som en tunn hinna innanför cellväggen (se pilen Fig. 1) och förmår skilja ut minsta molekyl som inte hör hemma i cellen.

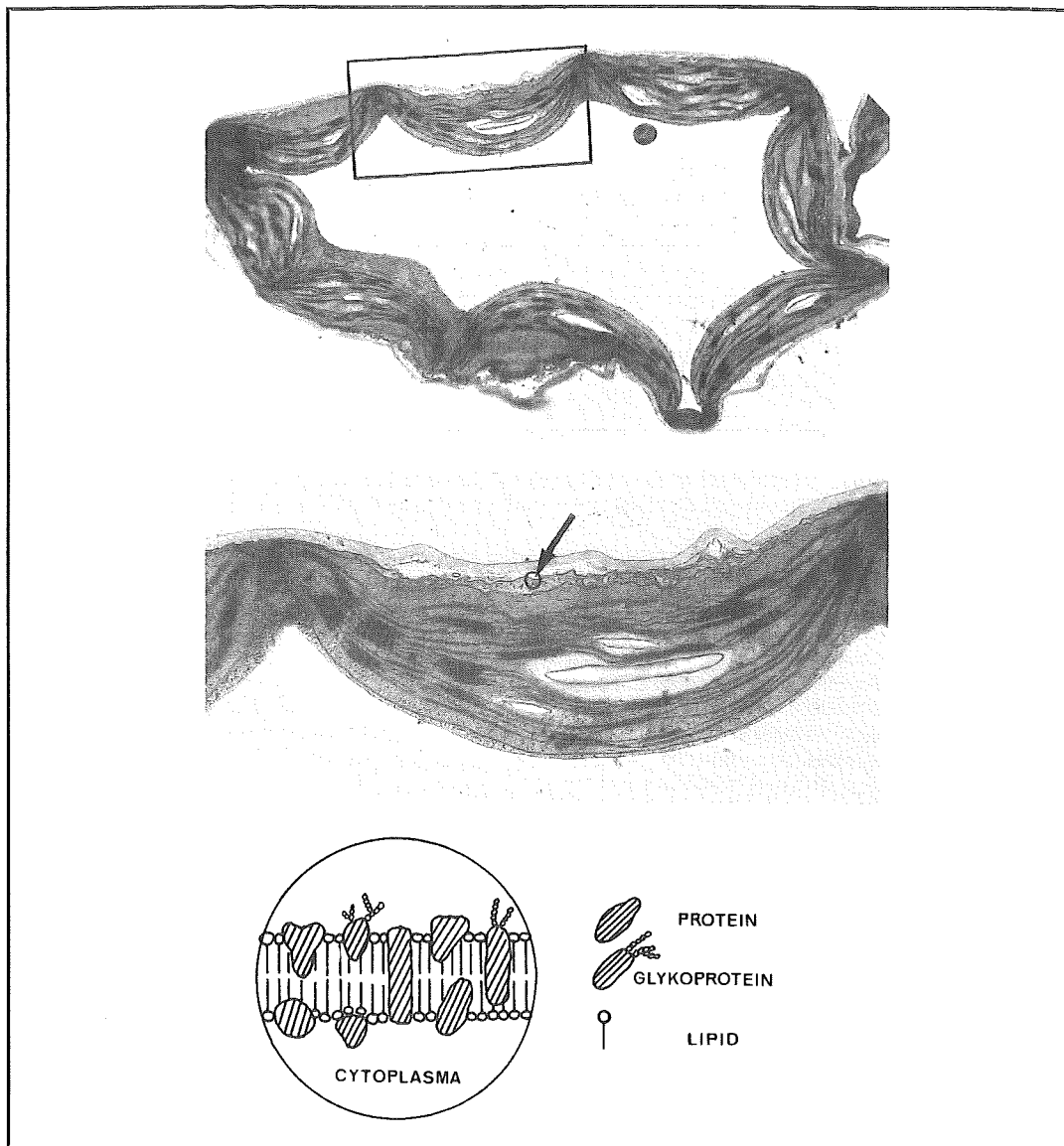


Fig. 1.
 Överst: Växtcell. Cellväggen och plasmamembranet omger cellen. Inne i denna syns huvudsakligen kloroplaster med klorofyllbärande membran och några stärkelsekorn; samt i centrum vakuolen.
 Mitten: I högre förstoring syns plasmamembranet (pilen) som en tunn svart linje innanför cellväggen.
 Nederst: Plasmamembranet består av ett stort antal olika proteiner med olika funktioner och ett stort antal olika lipider som tillsammans är arrangerade på ett ordnat sätt. Membranet är en tunn ($\approx 0,01 \mu\text{m}$) men effektiv och flexibel barriär mot omvärlden. Via de olika proteinerna påverkar plasmamembranet cellens metabolism.
 Foto: C. Collin och C. Larsson
 Top: A plant cell. The cell wall and the plasma membrane surround the cell. Within the cell mainly chloroplasts are seen with chlorophyll-containing membranes and some starch grains; in the centre the vacuole.
 Middle: The plasma membrane (arrow) is seen as a thin dark line close to the cell wall.
 Bottom: The plasma membrane consists of a great number of different proteins with different functions and a great number of different lipids which altogether are arranged in an ordered way. The plasma membrane is a thin ($\approx 0,01 \mu\text{m}$) but efficient and flexible barrier against the surroundings; and via its different proteins the plasma membrane influences the metabolism of the cell.

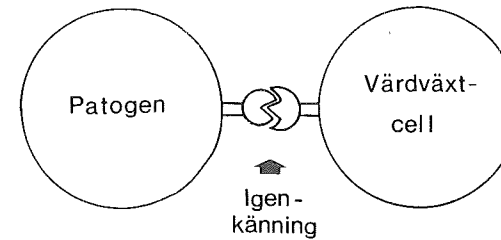


Fig. 2. Genom en specifik igenkänningsreaktion mellan patogenen och den presumtiva värdväxtcellen avgörs hur växtcellen kommer att reagera på nykomlingen. — Through a specific recognition reaction between the pathogen and the presumptive host plant cell, it is determined how the plant cell will react upon the newcomer.

Plasmamembranet kontrollerar transporten av allt som skall ut ur eller in i cellen och påverkar på så sätt cellens metabolism. Plasmamembranet är en mycket komplicerad struktur med uppskattningsvis ett 100-tal olika proteiner, glykoproteiner och lipider som sitter arrangerade på ett ordnat sätt. Det finns så många möjligheter att variera plasmamembranet att det kan vara olika utformat inte bara hos olika arter av växter, utan också hos olika sorter av samma art. Man tänker sig (2) att patogen och värdväxt kan "känna igen" (2) att patogen och värdväxt kan "känna igen" (2) denna igenkänningsreaktion som det avgörs om resultatet blir ett angrepp eller inte. Dessa igenkänningsställen (receptorer) sitter förmodligen i plasmamembranet hos värden. Sådana exempel från humanpatologin är många och det är beklagligt att konstatera att växtpatologin på detta område ligger åtskilliga år efter humanpatologin. Vid många typer av angrepp, som t.ex. mjöldaggsangrepp på korn, tränger patogenen heller inte genom plasmamembranet in i växtcellen utan näringsupptaget till haustorierna sker via värdcellens plasmamembran.

Det är därför mycket troligt att det är här, i plasmamembranet, som vi kan hitta de skillnader i egenskaper som gör att en kornsort angrips så svårt av mjöldagg, medan en annan sort är resistent.

Resistensgenens primära genprodukt — ett förändrat protein i plasmamembranet?

Inom projektet skall resistent ml-o och Ml-a mutanter från Kristina, Foma, Mari, Pallas

och Bonus jämföras med sina motsvarande modersorter. Varför vi i samråd med växtpatologer, genetiker och förädlare bestämt oss för att söka efter ett förändrat protein i de resistent sorterna, skall vi redogöra för i det följande.

Gen-för-genhypotesen

Sedan 40-talet då Flor (5) publicerade sina arbeten där han studerat Melampsora-rost på lin (*Linum usitatissimum*) har genetiker och växtförädlare sett att om man jämför en resistent växtsort med en mottaglig, så kan dessa skilja sig åt i bara en enda gen. Till denna resistensgen finns en motsvarande gen hos parasiten.

Vad är då en gen, och vad är ett protein och hur har de två med varandra att göra?

Protein = primär genprodukt

Varje protein i cellen tillverkas med hjälp av en mall. Mallen är den gen som kodar för proteinet (Fig. 3). En gen utgörs av DNA som är en ordnad sekvens av byggstenar. Dessa byggstenar, s.k. nukleotider, finns i fyra olika former som brukar betecknas med bokstäverna A, C, G och T. Denna sekvens "översätts" till en sekvens av aminosyror; och en sekvens av aminosyror, det är just ett protein. Översättningen sker med hjälp av den s.k. genetiska koden som innebär att en kombination av tre nukleotider i följd (en s.k. triplett) svarar mot en viss aminosyra, t.ex. A-A-G svarar mot aminosyran lysin. För att förstå hur en mutation i t.ex. Ml-a locus skulle kunna manifestera sig i ett förändrat protein i plasmamembranet är det viktigt att hålla tre saker i minnet:

1. En gen svarar mot ett protein.
2. Ett protein kan få helt andra egenskaper om så bara en enda aminosyra byts ut mot en annan.
3. Detta sker om man byter ut en av de tre byggstenarna (nukleotiderna) i en triplett någonstans i genen (t.ex. A-A-G = aminosyran lysin, men A-A-C = aminosyran asparagin). Ett utbyte av en nukleotid, det är just vad som sker vid en mutation.

Sekundära genprodukter

Andra typer av ämnen som förekommer i cellen, såsom polysackarider och lipider, samt sekundära metaboliter såsom fenoliska substanser, glykosinolater och fytoalexiner tillverkas med hjälp av enzymer; och enzymer är proteiner. Dessa föreningar skulle därför kun-

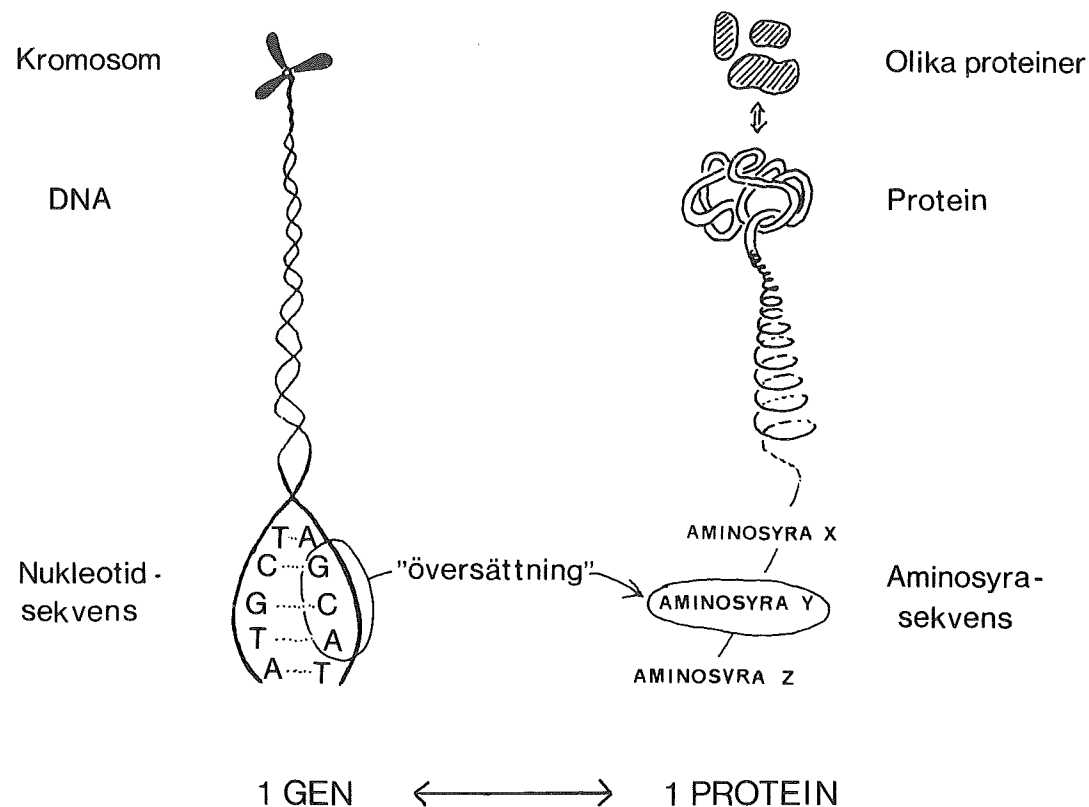


Fig. 3. I kromosomerna lagras arvsanlagen i form av nukleotidsekvenser, vilka tillsammans utgör cellens DNA. Arvsanlagen "översätts" till proteiner. En gen kodar för ett protein och på detta sätt får varje organism sin specifika och ärftliga uppsättning proteiner. En mutation i en gen ger upphov till ett förändrat protein. — *In the chromosomes the genetic information is stored as nucleotide sequences, which together constitute the cells DNA. The genetic information is "translated" into proteins. One gene codes for one protein, and in this way every organism yields its specific and inherited collection of proteins. A mutation in a gene gives rise to an altered protein.*

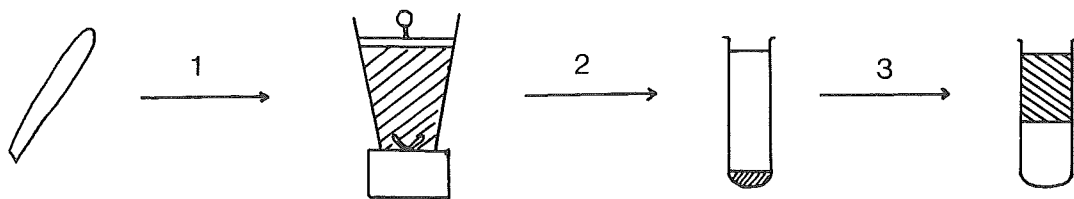


Fig. 4.

Isolering av plasmamembran från korn:

1. Cellerna slås sönder genom att bladen sönderdelas i en homogenisator med roterande knivar.
2. Ur detta homogenat avskiljs membran (den s.k. mikrosomfraktionen) genom ett antal olika centrifugeringssteg.
3. Plasmamembran separeras från växtens övriga membran i ett vattenbaserat tvåfassystem.

Isolation of plasma membrane from barley:

1. The cells are disrupted in a homogenizer with rotating knives.
2. From the homogenate, membranes (the so called microsomal fraction) are collected by a few centrifugation steps.
3. The plasma membrane is separated from other plant cell membranes in an aqueous two-phase systems.

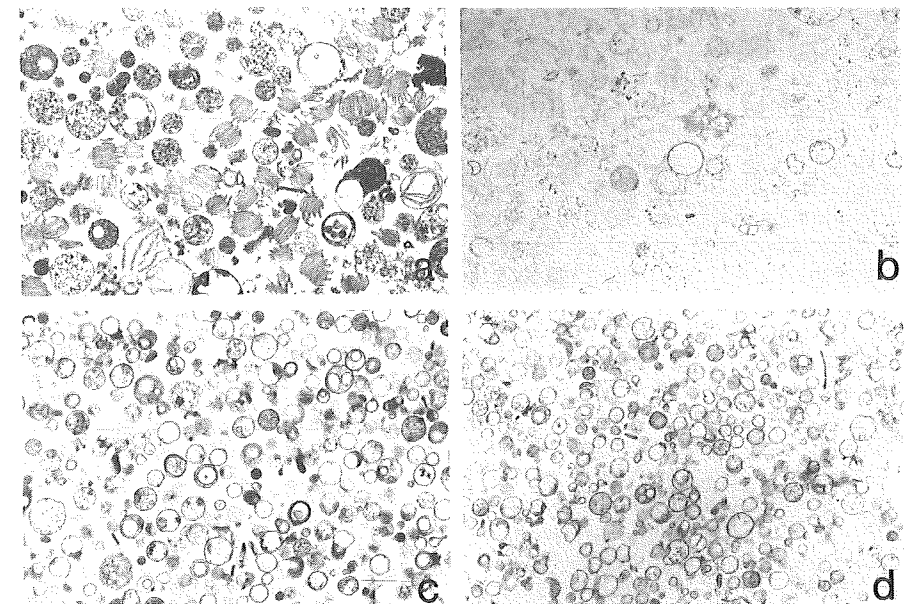


Fig. 5.

Bild a och b visar mikrosomfraktionen, vilken är utgångsmaterialet vid preparation av plasmamembran. Snitt a är behandlat med uranylacetat, vilket medför en ospecifik infärgning av samtliga membranstrukturer. Snitt b är behandlad med periodiska-kiselvolframsyra, vilket medför en specifik infärgning av plasmamembran.

Bild c och d visar plasmamembranfraktionen. Snitt c är behandlat med uranylacetat enligt ovan. Snitt d är behandlat med periodiska-kiselvolframsyra enligt ovan.

Observera att den specifika färgningen endast visar ett fåtal membranvesiklar i mikrosomfraktionen, medan i stort sett 100% av vesiklarna i plasmamembranfraktionen framträder klart. Uppreningen kan uppskattas till 30—50 gånger.

Picture a and b show the microsomal fraction, which is the starting material for preparation of plasma membranes. Section a was stained with uranylacetate, which results in an unspecific staining of all membrane structures. Section b was stained with periodic acid-silicotungstic acid, which results in a specific staining of the plasma membrane.

Picture c and d shows the plasma membrane fraction. Section c was stained with uranyl acetate, as above (a). Section d was stained with periodic acidsilicotungstic acid, as above (b).

Note: When specific staining is used only a few membrane vesicles are stained in the microsomal fraction, whereas almost 100% of the vesicles in the plasma membrane fraction are stained. The enrichment can be estimated to 30—50 times.

na kallas *sekundära genprodukter* för att skilja dem från proteiner som är *primära genprodukter*.

Den roll som sekundära metaboliter som t.ex. fytoalexiner spelar för resistensen har länge diskuterats. Eftersom *flera gener* är inblandade vid syntes av sekundära genprodukter så kan inte resistensegenskapers nedärvning enligt gen-för-gen hypotesen förklaras med den typen av reaktioner (4). Fytoalexinbildning är förmodligen ett förlopp som inte har att göra med själva resistensegenskaperna,

utan är snarare ett generellt sätt att förhindra sekundära infektioner i redan skadade celler (7).

Hur kan man isolera och studera plasmamembranet?

Plasmamembranet utgör, trots att det är av så avgörande betydelse för växten, bara ca: 0,1% av växtens torrmasa. Det räcker alltså därför inte att bara mala ner en kornplanta och försöka hitta "skillnader i proteiner" mellan resistenta och mottagliga sorter. Bland

de tusentals proteiner som hela växten innehåller skulle det vara omöjligt att upptäcka de små skillnader som det här är frågan om.

Vid institutionen för Biokemi har vi tagit fram en metod med vilken vi kan isolera denna lilla mängd plasmamembran i mycket ren form (6) (Fig. 4). Blad från 8—10 dagar gamla kornplantor mals ner. Snabbt och vid låg temperatur avskiljs en del av växtens alla olika membran (den s.k. mikrosomfraktionen (Fig. 5)) från de nedbrytande enzym och giftiga substanser som frigörs då växtcellerna slås sönder. Plasmamembranet har nu fragmenterats till små s.k. membranvesiklar. Man kan jämföra det intakta plasmamembranet med en såpbubbla som sitter innanför cellväggen och omger cytoplasman. De små membranvesiklarna kan då jämföras med *mindre* och tomma såpbubblor (se Fig. 5). Plasmamembranvesiklarna, som utgör ungefär 2% av membranblandningen, skiljs sedan från de övriga intracellulära membranerna genom separation i vattenbaserade tvåfassetter, en teknik som utvecklats av professor Per-Åke Albertsson vid avdelningen för Biokemi (3).

För att konstatera närvaron eller frånvaron av olika membrantyper mäter vi aktiviteten på olika s.k. markörenszymer, dvs. enzym som vi vet är belägna i de olika membranerna. De 2—3% plasmamembran som ingår i blandningen av olika membran renas upp 30—50 ggr och är då i det närmaste 100% rena. (Det enzym som används som markör för plasmamembranet är f.ö. glukansyntetas II, dvs. det enzym som svarar för syntes av kallos — "papilla formation" — vid patogenangrepp). Ytterligare ett sätt att konstatera upprepningen av plasmamembranet är att studera materialet vid mycket hög förstoring i elektronmikroskop. Man kan då specifikt färga in plasmamembranet med kisel-wolframsyra. I figur 5 kan man se att i plasmamembranfraktionen är alla membranvesiklar mörka (5d) medan i utgångsmaterialet är mycket få mörka, dvs. specifikt infärgade (5b).

Hur kan man jämföra olika proteiner i växtens plasmamembran?

Så här långt hade alltså projektet kommit sommaren 1983 (6). Därefter gäller det att fastställa vilka proteiner som finns i plasmamembranet för att se om mutanterna har ett gemensamt, avvikande protein.

Hitintills har vi jämfört proteinmönstret hos några ml-o mutanter och modersorter med s.k. SDS-gelelektrofores, en metod som

separerar proteiner efter molekylvikt, dvs. storlek. Med den tekniken fann vi inga skillnader i proteinsammansättningen. Det hade vi ej heller väntat oss, ty en förändring i en enda aminosyra skulle inte påverka molekylvikten märkbart. Däremot finns det en annan och nyare elektroforesteknik, s.k. *isoelektrisk fokusering*, med vilken man kan detektera en *skillnad i en enda aminosyra* mellan två proteiner. Det är denna teknik vi nu arbetar vidare med.

Vilken betydelse kan resultaten från projektet komma att få för växtskyddet?

Om vi hittar ett protein som är förändrat i alla mutanterna, då har vi lyckats *identifiera resistensgenens primära genprodukt*, dvs. ett protein som ansvarar för resistensreaktionen. Detta kommer då helt säkert att innebära helt nya och mycket effektiva urvalsmetoder även för den traditionella resistensförädlingen. Man kan föreställa sig vilken tidsvinst det finns att göra vid framtagningen av en ny sort om det räcker att undersöka närvaron av ett visst protein i korsningsmaterialet, istället för att så ut, infektera och selektera. Jämför med det nya sättet att kontrollera att utsädespotatis är virusfri med s.k. ELISA-teknik (1).

Vidare; kan man *isolera* det protein som är den *primära genprodukten* är det faktiskt en tämligen enkel procedur att med rutinmässig molekylärbiologisk teknik baklänges *tillverka resistensgenen*. Denna kan sedan klonas upp, dvs. mångfaldigas, och därefter föras in i en befintlig, väl utprovad kornsort den dag då metoder tagits fram för rutinmässig genetisk transformation till växter. Som nämnades inledningsvis finns sådana metoder redan för bakterier och en del svampar och det bedöms vara möjligt att utföra detta på majs, den genetiskt bäst karakteriserade växten, inom de närmaste fem åren.

Om de molekylärbiologiska landvinningarna inom hybrid-DNA teknik på växter ska kunna utnyttjas den dag de finns tillgängliga gäller det att redan nu inom växtskydd och förädling förbereda sig och formulera de problem man vill lösa med den nya tekniken.

För det första: vilka åtråvärda egenskaper vill man inkorporera i och i vilka växter?

För det andra: för att detta skall kunna förverkligas så måste växtförädlaren tillsammans med biokemister och molekylärbiologer initiera projekt där den önskvärda genprodukten och därefter genen kan isoleras.

Dessa projekt bör ha burit frukt den dag molekylärbiologerna tagit fram en metod för introduktion av arvsanlag i växter.

Projektet har stötts av Växtförädlingsnämnden via Svalöf AB. Vi vill rikta ett tack till: Thore Denward som 1981 initierade detta

projekt. Han var då anställd som växtförädlare vid Svalöf AB. Åke Gustavsson, Genetiska Institutionen i Lund, och Udda Lundquist, Svalöf AB, vilkas unika och väldefinierade material av Ml-a och ml-o mutanter är en förutsättning för detta projekt.

Litteratur

1. Akius, M., Nilsson, L. & Rosberg, M.-B. 1983. Eliminering av potatisvirus genom meristemtoppkultur för kommersiell produktion av potatisutsäde. *Växtskyddsrapporter, Jordbruk 26*, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. 1—20.
2. Albersheim, P. & Andersson-Prouty, A. J. 1975. Carbohydrates, proteins, cell surface and the biochemistry of pathogenesis. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 26, 31—52.
3. Albertsson, P.-Å. 1971. *Partition of cell particles and macromolecules*, 2nd edn., Wiley, New York.
4. Ellingboe, A. H. 1982. Genetical aspects of active defence. In: *Active defence mechanisms in plants*. R.K.S. Wood ed. Plenum, New York.
5. Flor, H. H. 1946. Genetics of pathogenicity in *Melampsora lini*. *J. Agric. Res.*, 73, 335—357.
6. Kjellbom, P. O. & Larsson, C. 1983. Isolation of plasma membrane vesicles from leaves of spinach and barley, useful for studies on transport of carbon assimilation products. *Proceedings of the VI:th International congress of Photosynthesis, Brussels, 1983*.
7. VanderPlank, J. E. 1982. *Host-pathogen interaction in plant disease*. Academic Press, New York.

KJELLBOM, P. O., EMANUELSSON, C. & LARSSON C. 1984. Barley powdery mildew resistance — a biochemical approach. *Växtskyddsnotiser 48*: 3—4, 59—65.

Plant breeding will probably change dramatically in the near future due to the new technique of genetic engineering. This technique will enable the introduction of single new properties into already well-established varieties of different crops. Since resistance against e.g. powdery mildew in barley often seems to depend on only one gene (e.g. in ml-o and Ml-a mutants), resistance genes are particularly suitable for this technique. The purpose of this project is to identify and isolate primary gene products (proteins) responsible for resistance, as a first step towards the isolation of resistance genes. For this purpose we are investigating Ml-a mutants of barley having race-specific resistance, and ml-o mutants with general resistance.

The plasma membrane (plasmalemma) is thought to have a decisive role in plant resistance by the presence or absence of protein receptors on the membrane, which e.g. may recognize an invading pathogen. Our investigations are therefore concentrated to the plasma membrane. The protein composition of isolated plasma membrane from resistant mutants and susceptible parents, respectively, are compared to find the protein which has been modified by the mutation and thereby causes the resistance. Demonstration of such a protein should already now be of great importance to traditional plant breeding, as a new and effective criterion for selection.

Additional key words: Powdery mildew, primary gene-products, resistance gene, genetic engineering, plasma membrane.

Saprophytic leaf fungi on barley and their effect on leaf senescence and grain yield

K. Tolstrup & V. Smedegaard-Petersen, Department of Plant Pathology, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark

TOLSTRUP, K. & SMEDEGAARD-PETERSEN, V. 1984. Saprophytic leaf fungi on barley and their effect on leaf senescence and grain yield. *Vækstskyddsnotiser* 48: 3-4, 66-75.

Investigations were carried out in 1981-83 to examine the qualitative and quantitative composition of the mycoflora on green spring barley leaves in fungicide treated field trials and in untreated crops. Saprophytic filamentous fungi belonging to the genus *Cladosporium* and pink yeasts of the species *Sporobolomyces roseus* were the dominant organisms found. A strong increase in growth and propagation of these fungi was found on the upper leaves from the end of June. Treatments with the fungicides captafol, propiconazol and prochloraz had a strong reducing effect on the filamentous fungi, while triadimefon treatments had no measurable effect. The field trials in which no essential disease attacks were found showed that a fungicide-caused reduction of saprophytic fungi resulted in a delay of leaf senescence and in a significant increase of grain yield. Yield trials under controlled greenhouse conditions demonstrated that repeated inoculations of barley plants with leaf saprophytes of the genus *Cladosporium* elicit energy-requiring defence reactions, drain the plants for energy reserves, promote senescence and reduce grain yield.

Additional key words: Phyllosphere-mycoflora, *Cladosporium*, resistance, fungicide-effect.

Introduction

In nature the green parts of plants are exposed to a great number of different micro-organisms including bacteria, yeasts and filamentous fungi. Most of these are saprophytes, and only a small number are pathogenic causing visible disease symptoms. Vigorously growing cereal crops are well suited for the growth of such organisms. The plants stand close to one another, and as the lower leaves die, they provide nutrients for the production of great numbers of spores which spread to the upper green and active leaves. Multiplication and growth of these micro-organisms occur under moist conditions (Warnock, 1973) and is greatly promoted by pollen grains, aphid honey dew and other energy rich nutrients on the leaves (Fokkema, 1968, 1981). Under extreme conditions the covering of moulds may be so dense that it can be seen with the naked eye.

The microflora in the phyllosphere (the aerial environment of the leaves) has been studied on different species of cultivated and wild plants, and this work is reviewed by Preece and Dickinson (1971), Dickinson and Preece (1976), and Blakeman (1981). Investigations of the barley phyllosphere have been made in England by Last (1955) and Dickinson (1973), and in France by Diem (1974).

It has been known for several years that

saprophytic fungi on the leaves may have an antagonistic effect on plant pathogens (Fokkema, 1976, 1981). Other investigations, however, indicate that some of the saprophytic filamentous fungi in the phyllosphere may be harmful to the plants by hastening senescence (Dickinson, 1981), or by eliciting energy-requiring resistance mechanisms in a similar way as avirulent mildew races on highly resistant cultivars (Smedegaard-Petersen and Stølen, 1981; Smedegaard-Petersen, 1980, 1981, 1982).

Several foreign as well as Danish field trials including treatment with broad-spectrum-fungicides have given unexpectedly high significant increases of grain yield which cannot alone be explained by the low visible attacks of disease (Jenkins *et al.*, 1972); Dickinson, 1973; Lindegaard & Elbek Pedersen, 1975). Furthermore it was observed in English trials that fungicide treatments simultaneously reduced saprophytic colonization, delayed senescence and increased grain yield (Dickinson and Walpole, 1975).

In the light of these results it is of great value to know how fungicides which are commonly used in agriculture affect the mycoflora of the phyllosphere.

The present investigations were carried out between 1981-1983 to examine the qualita-

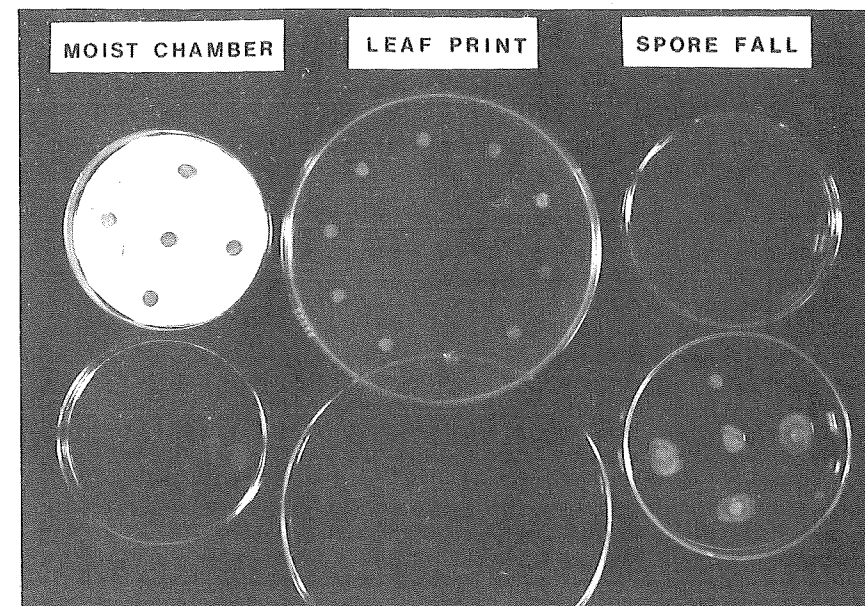


Fig. 1. Some methods used in the phyllosphere studies. Moist chamber: Incubation on wet filter paper. Leaf print: Incubation on a meagre nutrient medium. Leaf pieces were removed before counting. Spore fall: Leaf pieces were mounted on a petri dish lid. Ballistospore-forming yeasts were counted on the agar surface underneath. — *Nogle metoder anvendt til fylløsfærestudierne. Fugtigkammer: Inkubation på fugtigt filterpapir. Bladaftryk: Inkubation på et magert næringsmedium. Bladstykkerne fjernes og svampekolonier optælles på agaren. Sporefald: Bladstykker monteres på petriskållåget. Kolonier af ballistosporedannende gærsvampe tælles på agaren nedenunder.*

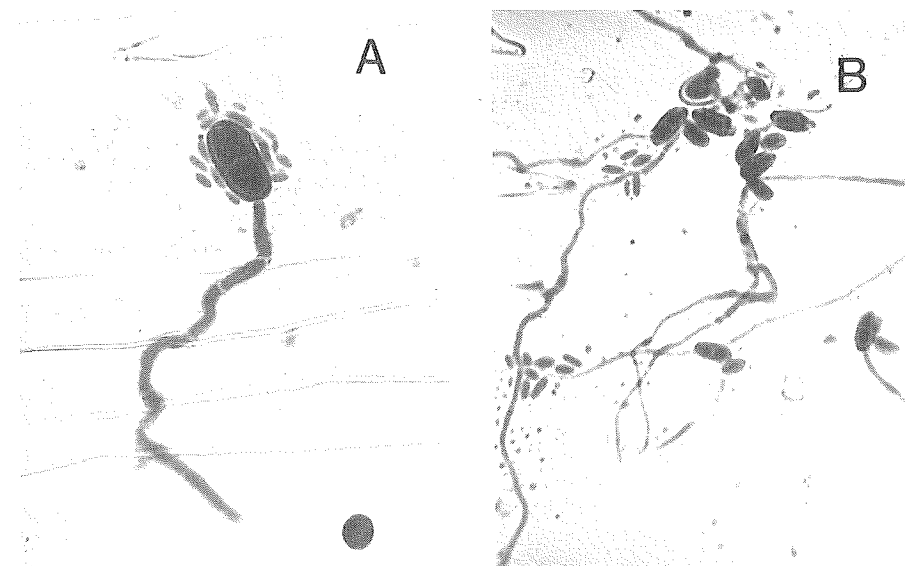


Fig. 2. Impression films method. The leaf microflora was embedded in a thin film of cellulose nitrate which was removed from the leaf and studied microscopically. A. Germinating spore of *Cladosporium* surrounded by yeast cells ($\times 760$). B. Microcolony of *Cladosporium* ($\times 470$). — *Impression film metoden. Bladets mikroflora indlejres i en tynd cellulosenitrat film, som fjernes fra bladet og undersøges med mikroskop. A. Spirende Cladosporium spore omgivet af gærceller ($\times 760$). B. Mikrokoloni af Cladosporium ($\times 470$).*

tive and quantitative composition of the mycoflora on the aerial parts of spring barley crops during the growing season. In field trials were investigated the effects of fungicide application on the saprophytic leaf fungi, on leaf senescence, and on grain yield. Some of the results have been published by Tolstrup and Smedegaard-Petersen (1983).

Under controlled greenhouse conditions the most commonly occurring saprophytic fungi from the barley phyllosphere were studied on the leaves. Spore germination and attempts to penetrate were observed. Finally plants grown for maturity were exposed to repeated inoculations with some of these fungi in order to measure their effect on growth and yield.

Field trials

The composition and development of the leaf mycoflora of barley was investigated by several different microbiological methods. Indirect methods included leaf print, moist chamber and spore fall (fig. 1), while direct microscopical observations were made on impression films (fig. 2). Sporulation in the phyllosphere was studied with a Schwartzbach spore-sampler.

The composition of the mycoflora of the green leaves from an untreated barley crop appears from table 1. Filamentous fungi belonging to the genus *Cladosporium* and pink yeasts of the species *Sporobolomyces roseus* were dominant in all countings.

A strong increase in the number of fungal spores and in mycelial growth mainly of *Cladosporium* was measured on the upper leaves from the end of June in 1982 and 1983 (fig. 3). The precipitation was low in July of both years and in June 1983 as well. Under more humid conditions a much greater fungal multiplication and growth could be expected.

To examine the possible role of leaf saprophytes on growth and yield of barley, field trials were carried out in which attempts were made to keep the leaves "clean" by repeated applications of the fungicides captafol (Ortho Difolatan FW 2.0 l/ha), triadimefon (Bayleton 25 WP 0.5 kg/ha), propiconazol (Tilt 250 EC 0.5 l/ha) and prochloraz (Sportak 45 EC 1.0 l/ha). Since the prerequisite for such experiments is that they are carried out in nearly disease-free plots, precautions were taken to avoid inoculum from neighbouring barley fields. In 1981–82 the experimental plots were, therefore, isolated in oat fields, and in 1983 they were situated in a pea field.

Table 1. The composition of the mycoflora on green barley leaves in untreated plots, 1982 — *Svampefloraens sammensætning på grønne blade af byg i ubehandlede bygparceller, 1982*

Very common <i>Meget almindeligt forekommende</i>
<i>Cladosporium cladosporioides</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>
<i>Cladosporium macrocarpum</i>
<i>Sporobolomyces roseus</i> (pink yeasts)
Common <i>Almindeligt forekommende</i>
<i>Aternaria alternata</i>
<i>Alternaria tenuissima</i>
<i>Ascochyta</i> sp.
<i>Aureobasidium pullulans</i>
<i>Bipolaris sorokiniana</i>
(syn.: <i>Helminthosporium sativum</i>)
<i>Botrytis cinerea</i>
<i>Cephalosporium</i> sp.
<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i>
<i>Cryptococcus laurentii</i> var. <i>laurentii</i>
<i>Cryptococcus</i> spp. (and other white yeasts)
<i>Drechslera teres</i>
<i>Epicoccum nigrum</i>
<i>Erysiphe graminis</i>
<i>Fusarium nivale</i>
<i>Fusarium</i> spp.
<i>Mycosphaerella</i> spp.
<i>Septoria nodorum</i>
<i>Stemphylium botryosum</i>
<i>Ulocladium atrum</i>
<i>Mycelia sterilia</i>
Seldomly occurring <i>Sjældent forekommende</i>
<i>Itersonilia</i> sp.
<i>Gonatobotrys</i> sp.
<i>Periconia byssoides</i>
<i>Phleospora</i> sp.
<i>Phyllosticta</i> sp.
<i>Puccinia hordei</i>
<i>Rhynchosporium secalis</i>
<i>Septoria passerini</i>
<i>Tilletiopsis minor</i>
<i>Torula herbarum</i>
other unidentified species

Despite these efforts to prevent disease, minor attacks of the leaf spot pathogen, *Pyrenophora teres*, could not be avoided (fig. 4A and C). Treatment with propiconazol and prochloraz reduced the disease, captafol only reduced the disease slightly, and treatment with triadimefon had no effect.

The growth of saprophytic filamentous fungi on the leaf surface was significantly

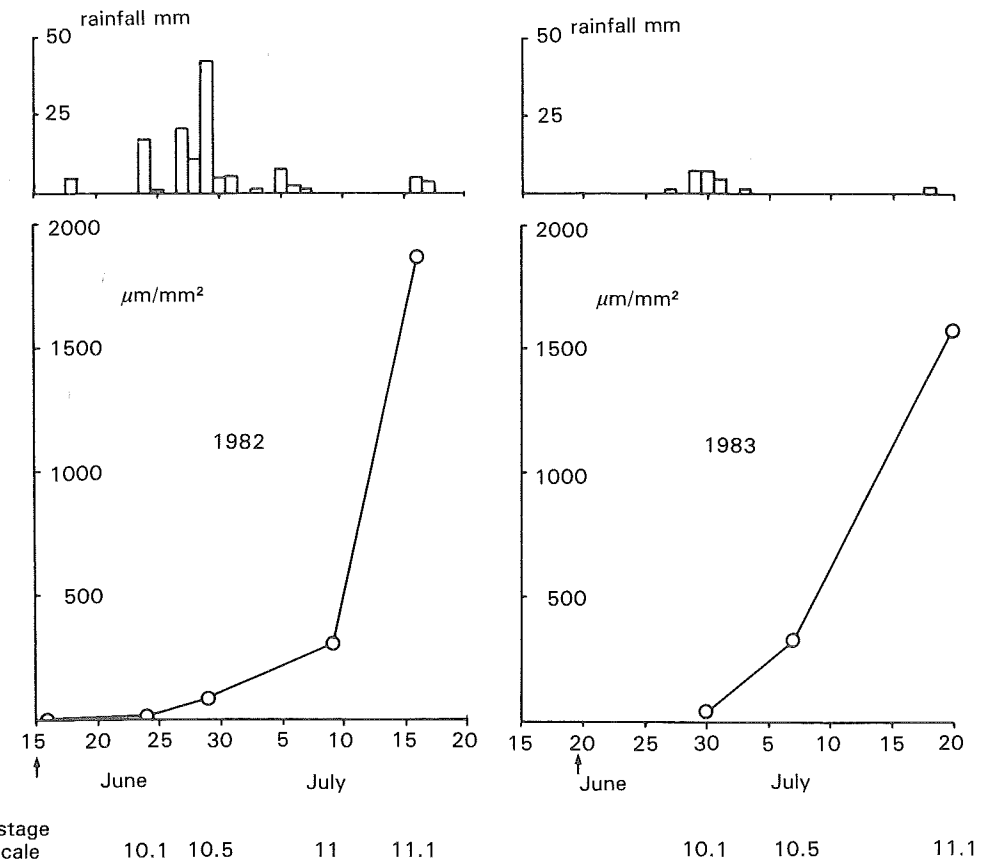


Fig. 3. The development of filamentous fungi during the growing seasons 1982 and 1983 illustrated by the hyphal length on the 2nd leaf from the top. Arrows indicate the time for leaf emergence. Daily rainfall is shown at the top of the figure. The number of saprophytic fungi and their activity on the upper green leaves increase strongly from the end of June. — *Udviklingen af myceliedannende svampe gennem vækstsæsonen 1982 and 1983 udtrykt ved hyfælængden på det 2. øverste blad. Med pile er markeret, hvornår bladet er dannet. Øverst ses den daglige nedbørmængde. Antallet af rådsvampe og deres aktivitet på de øverste blade stiger stærkt fra slutningen af juni.*

reduced by repeated application of captafol, propiconazol and prochloraz, while application of triadimefon had no measurable effect on the growth of these fungi (fig. 5). Yeasts were significantly reduced by captafol treatments. Propiconazol had a weak and brief reducing effect, while treatments with prochloraz and triadimefon had no measurable effect on these organisms.

The fungicide treatments all delayed the leaf senescence considerably in 1982 (fig. 4A and B). Also in 1983, there was a delay of senescence in fungicide treated plots. The effect was, however, not as clear as in 1982, probably due to the extremely dry weather conditions which gave unfavourable conditions for fungal propagation.

The delay of leaf senescence caused by the triadimefon spray in 1982 may have been due to a direct physiological effect of this fungicide on the leaves (Förster, 1977, 1978). A similar effect of propiconazol and prochloraz cannot be excluded.

Treatment with captafol, propiconazol and prochloraz gave in 1982 a 10–16% increase in grain yield compared with the control, while triadimefon gave no significant increase in grain yield (table 2). The kernel weight showed the same patterns of differences although not significantly. In 1983 the grain yield increases in field trials were low, presumably because of the late sowing date and the following dry summer. Only two applications of propiconazol and five applications of captafol gave

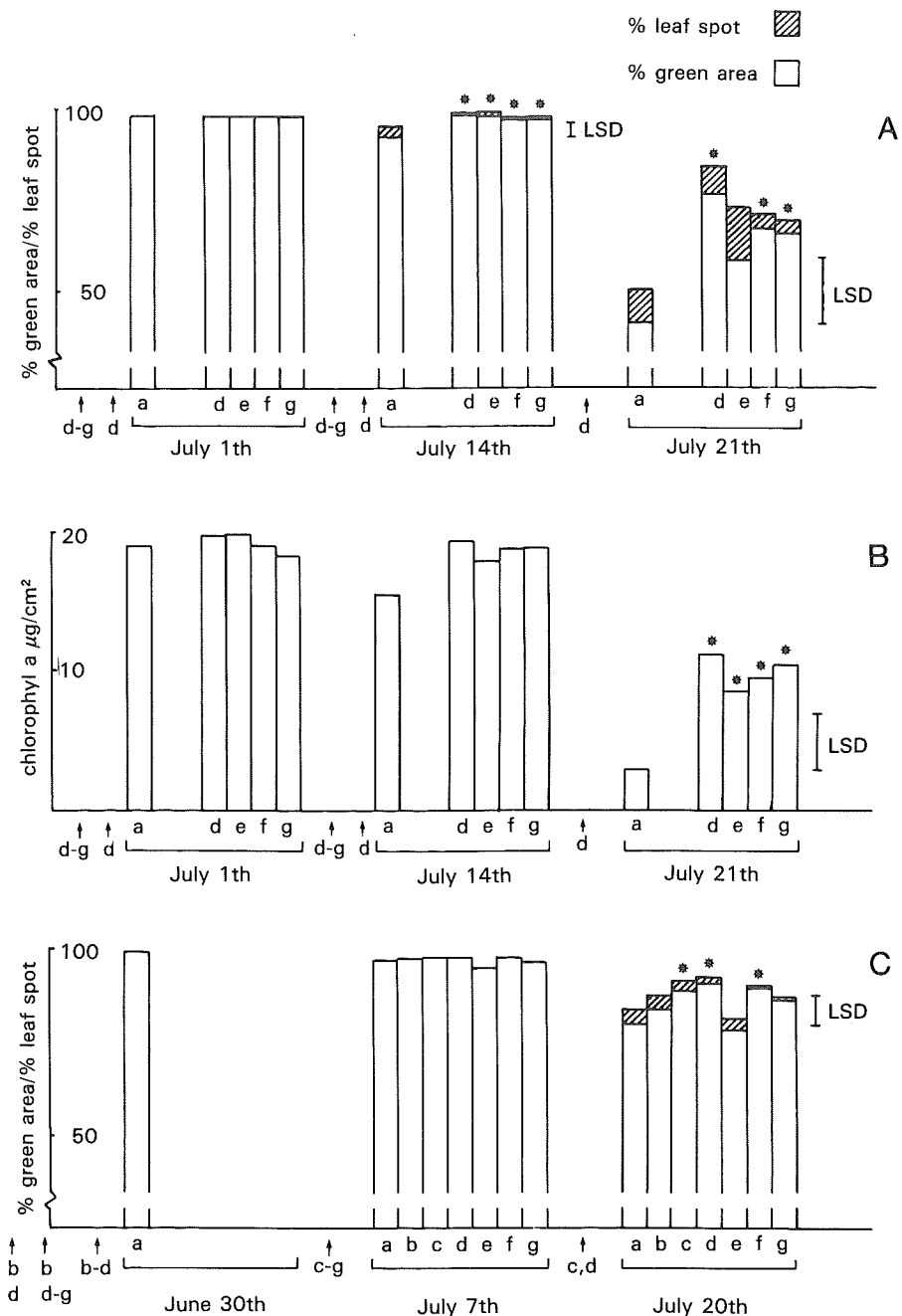


Fig. 4. The effect of fungicide treatment on the green leaf area and chlorophyll content of the 2nd leaf from the top.

A. Visual assessment of green leaf area and leaf spot disease 1982.

B. Chlorophyll content 1982.

C. Visual assessment of green leaf area and leaf spot disease 1983.

a = untreated; b = captafol 3 × early season; c = captafol 3 × late season; d = captafol 5 ×; e = triadimefon 2 ×; f = propiconazol 2 ×; g = prochloraz 2 ×. Treatment b and c were only carried out in 1983. Arrows indicate fungicide applications. LSD = least significant difference ($p \leq 0.05$). * indicates a significant difference compared to untreated. In 1982 the fungicide-treated leaves were much greener than (text continued on next page)

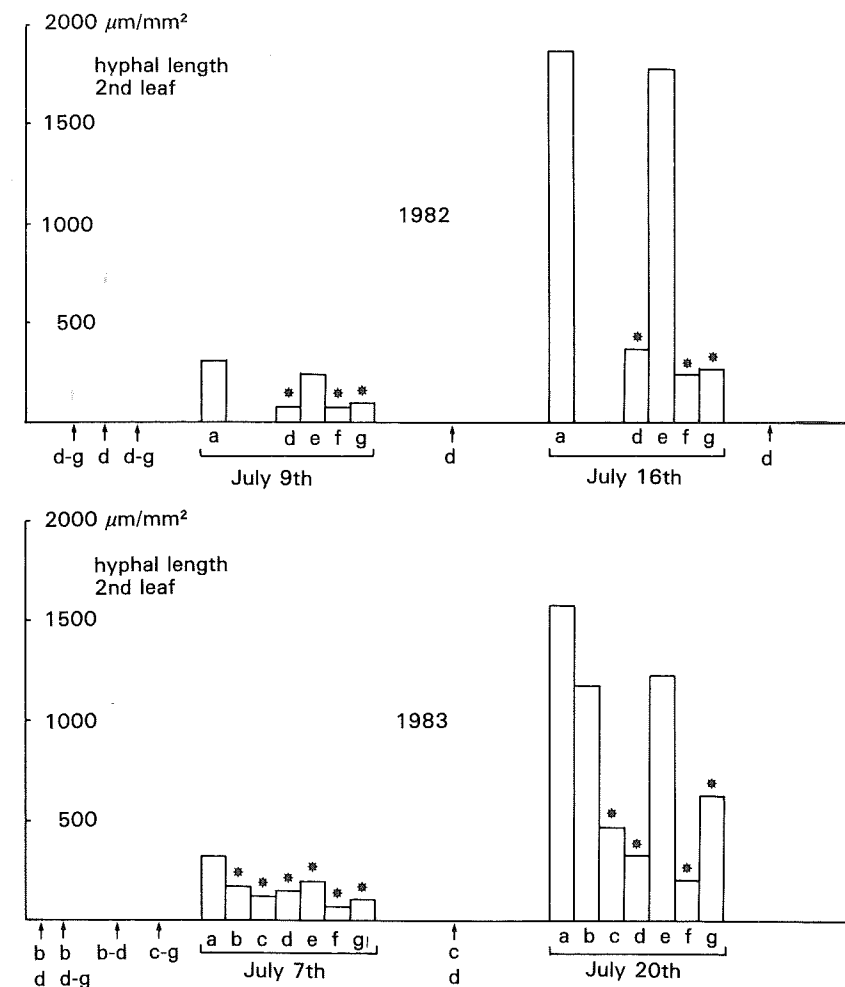


Fig. 5. The effect of fungicide treatment on the growth of filamentous fungi (mainly *Cladosporium*). a = untreated; b = captafol 3 × early season; c = captafol 3 × late season; d = captafol 5 ×; e = triadimefon 2 ×; f = propiconazol 2 ×; g = prochloraz 2 ×. Treatment b and c were only carried out in 1983. Arrows indicate application of fungicides. * indicates a significant difference ($p \leq 0.05$) compared to the control. Treatment with captafol, propiconazol and prochloraz reduced the growth of these fungi considerably, while the effect of triadimefon was negligible. — Virkningen af fungicidbehandling på væksten af myceliedannende svampe (hovedsageligt *Cladosporium*). a = ubehandlet; b = captafol 3 × tidligt på sæsonen; c = captafol 3 × sent på sæsonen; d = captafol 5 ×; e = triadimefon 2 ×; f = propiconazol 2 ×; g = prochloraz 2 ×. Behandlingerne b og c blev kun udført i 1983. Behandling med fungicider er angivet med pile. * viser en signifikant forskel ($p \leq 0.05$) i forhold til ubehandlet. Sprøjtning med captafol, propiconazol og prochloraz reducerede væksten af disse svampe betydeligt, mens triadimefon stort set var uden effekt.

Fig. 4 continued

the control leaves, while the difference between these was smaller in 1983. — Virkningen af fungicider på grønningen af 2. øverste blad.

A. Karakterer for grønt bladareal og bladpletsyge 1982.

B. Klorofylindhold 1982.

C. Karakterer for grønt bladareal og bladpletsyge 1983.

a = ubehandlet; b = captafol 3 × tidligt på sæsonen; c = captafol 3 × sent på sæsonen; d = captafol 5 ×; e = triadimefon 2 ×; f = propiconazol 2 ×; g = prochloraz 2 ×. Behandling b og c er kun udført i 1983. Sprøjtninger er markeret med pile. LSD = least significant difference ($p \leq 0.05$). * angiver en signifikant forskel i forhold til ubehandlet. I 1982 var de fungicidbehandlede blade langt grønnere end de ubehandlede, mens forskellen var mindre i 1983.

Table 2. Grain yield and kernel weight in field trials with fungicide treatment. — *Udbytte og kernevægt i markforsøg med svampebekæmpelse*

Treatment Behandling	1982		Kernel weight Kerne- vægt rel.	1983		Kernel weight Kerne- vægt rel.
	Grain yield Udbytte kg/ha	rel.		Grain yield Udbytte hkg/ha	rel.	
a. untreated — <i>ubehandlet</i>	44.5	100	100	38.6	100	100
b. captafol 3 × early season — <i>captafol 3 × tidligt på sæsonen</i>	—	—	—	1.4	104	103
c. captafol 3 × late season — <i>captafol 3 × sent på sæsonen</i>	—	—	—	1.0	103	104
d. captafol 5 ×	7.3*	116*	105	1.8*	105*	103
e. triadimefon 2 ×	2.8	106	102	-0.2	99	100
f. propiconazol 2 ×	4.5*	110*	103	2.3*	106*	103
g. prochloraz 2 ×	4.4*	110*	105	0.3	101	103

* Indicates a significant difference ($p \leq 0.05$) compared with the control.
— Angiver en signifikant forskel ($p \leq 0.05$) i forhold til ubehandlet.

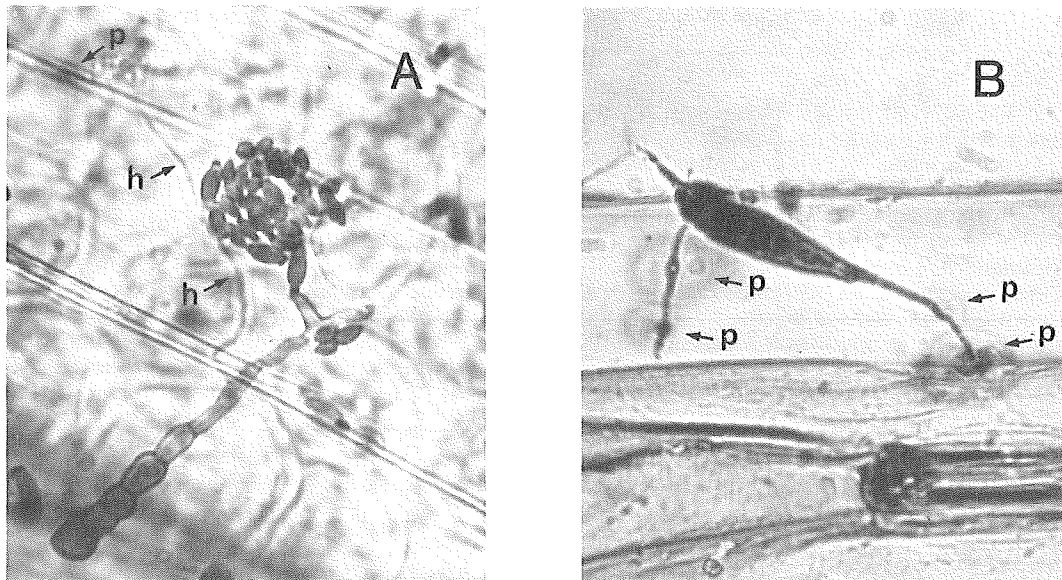


Fig. 6. Saprophytic fungi attempt penetration into the green leaves thus eliciting the formation of papillae and other active resistance-reactions. A. *Cladosporium*. B. *Alternaria*. p = papilla; h = fungal hypha ($\times 760$). — *Saprophytiske svampe der forsøger indtrængning i de grønne blade og provokerer planten til papil-dannelse og andre aktive forsvarsreaktioner*. A. *Cladosporium*. B. *Alternaria*. p = papil; h = svampehyfe ($\times 760$).

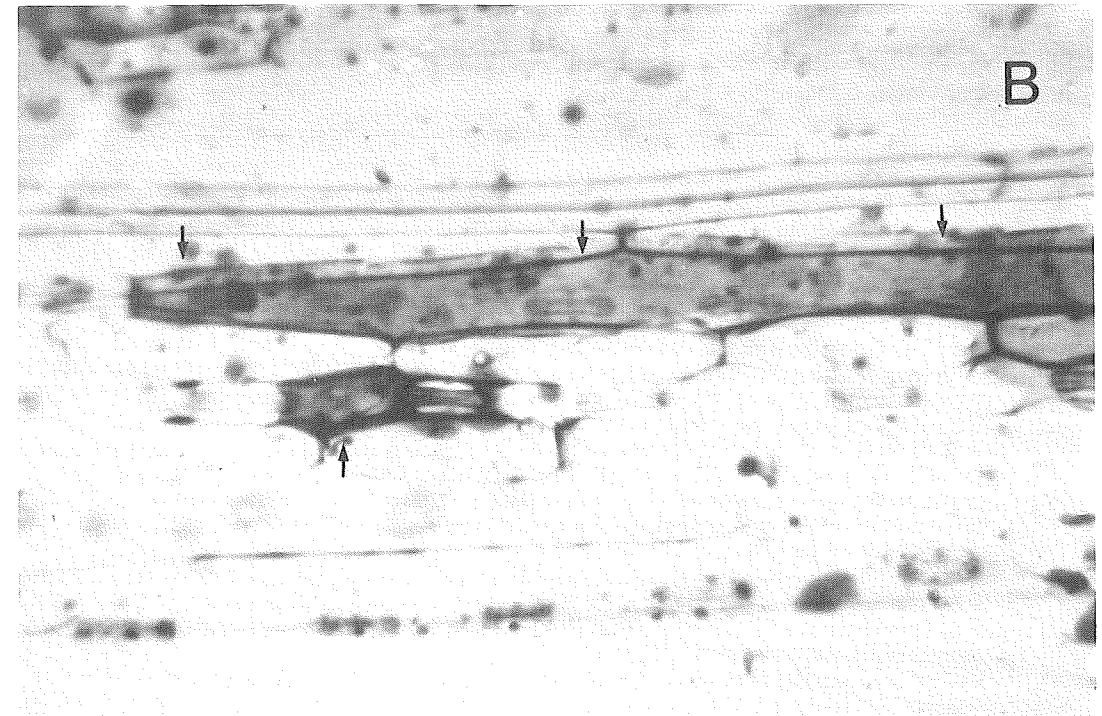
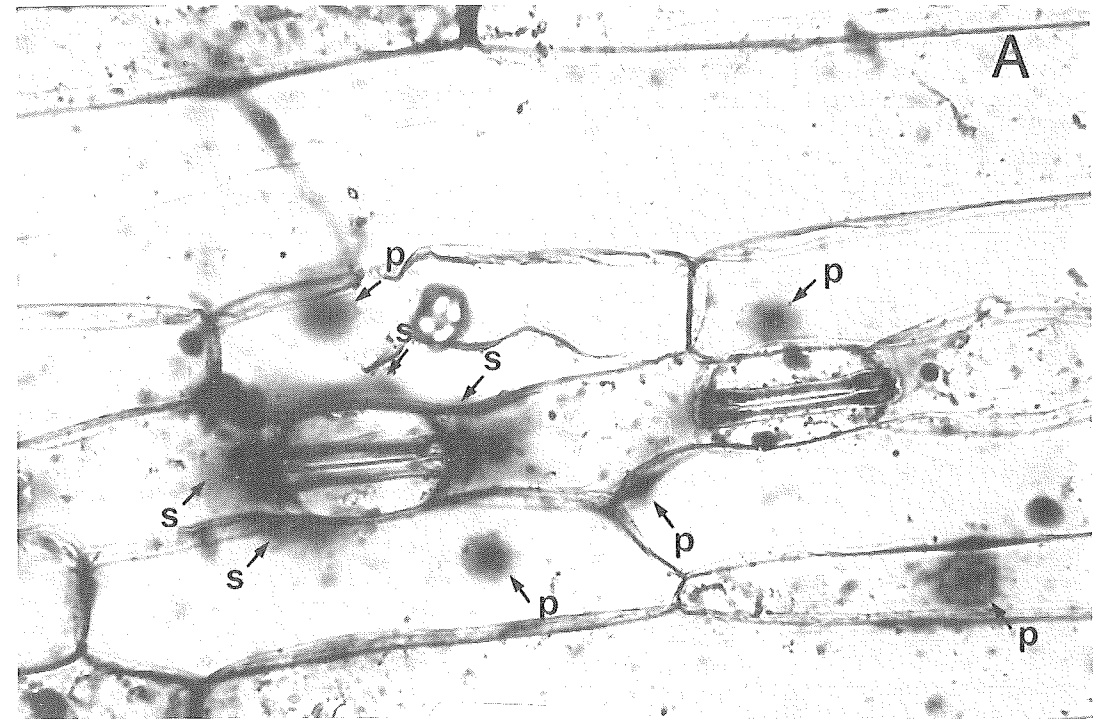


Fig. 7. Cytological changes in the epidermal cells caused by the attempted penetration of *Cladosporium*. A. Papilla formation (p) and a strongly reacting stoma region (s) ($\times 760$). B. Hypersensitively reacting cells (\uparrow) ($\times 470$). — *Cytologiske forandringer i epidermiscellerne der skyldes, at Cladosporium har søgt at trænge ind i cellerne*. A. Papildannelse (p) og et kraftigt reagerende stoma område (s) ($\times 760$). B. Hypersensitivt reagerende celler (\uparrow) ($\times 470$).

significant increases in grain yield.

Particularly in 1982 the treatment with broad-spectrum-fungicides resulted in a delay of senescence and in considerable increases in grain yield compared to the control, even though there were essentially no disease attacks. A complete evaluation of the results strongly suggests that the control of filamentous saprophytes on the leaf surface is a major reason for the observed increases in grain yield, although it cannot be excluded that some of the fungicides may have a direct positive effect on the plants. Thus triadimefon did on some occasions delay senescence, but it did not reduce the mycoflora significantly and no significant increase in grain yield could be measured.

Greenhouse trials Microscopical investigations

Barley seedlings were inoculated with spore suspensions of pure isolates of the most commonly occurring fungal leaf saprophytes collected in the field.

Saprophytic fungi of the species *Cladosporium herbarum*, *C. cladosporioides*, *C. macrocarpum* and *Alternaria alternata* all behaved similarly to avirulent races of pathogenic fungi e.g. *Erysiphe graminis*. A few hours after inoculation many spores began to germinate and as early as 8–10 hours after inoculation the first signs of attempted penetration were observed in the walls of the epidermal cells. The fungi were able to penetrate the cell wall and cause cytological alterations, i.e. wall appositions or papillae (fig. 6 and 7A). Only in extreme cases were they able to invade the cells, but hypersensitive reactions of affected tissues could be observed after a few days (fig. 7B).

References

- Blakeman, J. P. 1981. *Microbial ecology of the phylloplane*. Acad. Press. London. 502 p.
Dickinson, C. H. 1973. Effects of ethirimol and zineb on phylloplane microflora of barley. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 60, 423–431.

Compared with previous results showing an increased respiration in barley seedlings inoculated with saprophytic *Cladosporium* or *Alternaria* isolates (Smedegaard-Petersen, 1981, 1982) the results suggest that these fungi are able to elicit active defence reactions which require energy.

Inoculations of plants grown for maturity

To measure the effect of saprophytic *Cladosporium* isolates on senescence and on yield, barley plants were exposed to 5–6 repeated inoculations throughout the growing period. Chlorophyll content, density of fungal growth on the leaves, and the resulting number of tillers, grain yield etc. were measured and compared with control plants.

Preliminary results from two of these trials show that *Cladosporium*, at high densities on the leaf surface, is able to advance senescence, drain the plants' energy reserves, and significantly reduce grain yield.

Conclusions

The results show that saprophytic filamentous fungi attempt penetration into green leaves of barley and at high densities drain the plants' energy reserves, advance senescence, and reduce grain yield. They are most likely to be important under rainy conditions and in dense crops with a humid microclimate, while they are of limited importance in dry summers like 1983.

These investigations were supported by grants from The Danish Agricultural and Veterinary Research Council.

- Dickinson, C. H. 1981. Biology of *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium herbarum* in respect of their activity on green plants. In J. P. Blakeman (Ed.): *Microbial ecology of the phylloplane*. Acad. Press. London. pp. 169–184.

- Dickinson, C. H. & Preece, T. F. 1976. *Microbiology of aerial plant surfaces*. Acad. Press. London. 669 p.
Dickinson, C. H. & Walpole, P. R. 1975. The effect of late application of fungicides on the yield of winter wheat. *Experimental Husbandry* 29, 23–28.
Diem, H. G. 1974. Micro-organisms of the leaf surface: Estimation of the mycoflora of the barley phylloplane. *Journ. Gen. Microbiology* 80, 77–83.
Fokkema, N. J. 1968. The influence of pollen on the development of *Cladosporium herbarum* in the phylloplane of rye. *Neth. J. Pl. Path.* 74, 159–165.
Fokkema, N. J. 1976. Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. In C. H. Dickinson & T. F. Preece (Eds.): *Microbiology of aerial plant surfaces*. Acad. Press. London. pp. 487–506.
Fokkema, N. J. 1981. Fungal leaf saprophytes, beneficial or detrimental? In J. P. Blakeman (Ed.): *Microbial ecology of the phylloplane*. Acad. Press. London. pp. 433–454.
Förster, H. 1977. Einfluss von Triadimefon auf den Pigment-, Nucleinsäure- und Proteingehalt junger Gerstennpflanzen. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land Forst-wirt. Berlin Dahlem* 178, 159.
Förster, H. 1978. Mechanism of action and side effects of triadimefon and triadimenol in barley plants. In "3rd Int. Congr. Plant Pathol. 1978 (München, 13–23 August)". p. 365.
Jenkins, J. E. E., Melville, S. C. & Jemmett, J. L. 1972. The effect of fungicides on leaf diseases and on yield in spring barley in south-west England. *Plant Path.* 21, 49–58.

- Last, F. T. 1955. Seasonal incidence of *Sporobolomyces* on cereal leaves. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 38, 221–239.
Lindegaard, J. & Elbek Pedersen, H. 1975. Bekæmpelse af plantesygdomme, skadedyr og ukrudt. In Johs. Olesen (ed.): *Oversigt over forsøg og undersøgelser i Landbo- og Husmandsforeningerne*. 54–89.
Preece, T. F. & Dickinson, C. H. 1971. *Ecology of leaf surface micro-organisms*. Acad. Press. London. 640 p.
Smedegaard-Petersen, V. 1980. Increased demand for respiratory energy of barley leaves reacting hypersensitively against *Erysiphe graminis*, *Pyrenophora teres* and *Pyrenophora graminea*. *Phytopath. Z.* 99, 54–62.
Smedegaard-Petersen, V. 1981. Betydningen af fyllo-sfærens svampeflora for bygplanters resistensprocesser. *Vækstskyddsnotiser* 45, 44–50.
Smedegaard-Petersen, V. 1982. The effect of defence reactions on the energy balance and yield of resistant plants. In R. K. S. Wood (Ed.): *Active defence mechanisms in plants*. NATO Advanced Study Institutes Series. Plenum Press. London. 299–315.
Smedegaard-Petersen, V. & Stølen, O. 1981. Effect of energy-requiring defense reactions on yield and grain quality in a powdery mildew-resistant barley cultivar. *Phytopathology* 71, 396–399.
Tolstrup, K. & Smedegaard-Petersen, V. 1983. Virkningen af fungicider på bygblades svampeflora. *Ugeskrift for Jordbrug* 9, 159–160.
Warnock, D. W. 1973. Origin and development of fungal mycelium in grains of barley before harvest. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 61, 49–56.

TOLSTRUP, K. & SMEDEGAARD-PETERSEN, V. 1984. Saprophytiske bladsvampe på byg og deres virkning på vækst og udbytte. *Vækstskyddsnotiser* 48: 3–4, 66–75.

I 1981–83 gennemførtes undersøgelser over den kvalitative og kvantitative sammensætning af svampefloraen på grønne blade af vårbyg i fungicidbehandlede markforsøg og i ubehandlede marker. Saprophytiske myceliedannende svampe tilhørende slægten *Cladosporium* og røde gærsvampe af arten *Sporobolomyces roseus* var dominerende ved alle prøveudtagninger. En kraftig vækst og opformering af disse svampe kunne konstateres på de øverste blade fra slutningen af juni måned. Behandlinger med fungiciderne captafol, propiconazol og prochloraz havde en stærkt reducerende effekt på de myceliedannende svampe, mens behandlinger med triadimefon var næsten uden virkning. Markforsøgene, hvori kun kunne konstateres ubetydelige sygdomsangreb, viste, at en reduktion af rådsvampenes aktivitet ved fungicidbehandling resulterede i en forsinkelse af bladenes visning og i et signifikant merudbytte. Udbytteforsøg under kontrollerede vækstforhold viste, at gentagen inokulation af bygplanter med saprophytiske svampe af slægten *Cladosporium* provokerer planterne til energikrævende forsvarsreaktioner, der tapper planternes energireserver, fremmer visningen og reducerer udbyttet.

The susceptibility of Scots pine to *Gremmeniella abietina*

Seppo Nevalainen, The Finnish Forest Research Institute, Box 68, SF-80101, Joensuu 10, Finland
Antti Uotila, The Finnish Forest Research Institute, Uniokatu 40A, SF 00170 Helsinki 17, Finland

NEVALAINEN, S. & UOTILA, A. 1984. The susceptibility of Scots pine to *Gremmeniella abietina*. *Växtskyddsnotiser* 48: 3—4, 76—80.

The most important environmental factors increasing host susceptibility are frost damage, shading, cool and rainy growing seasons, the harmful effects of topography and unsuitable edaphic conditions. According to an Finnish inventory, there were clear differences in disease susceptibility among Scots pine clones in a seed orchard and differences were also found among provenances in two plus three progeny trials. Transfer to north slightly increased mortality. So far environmental factors seem to be more important in affecting disease susceptibility. The degree of adaptation of trees to the prevailing environmental conditions is most important.

Introduction

Gremmeniella abietina (Lagerb.) Morelet causes diseases to conifers through Europe, Northern America and Asia. *Pinus* species seem to be the most susceptible among conifers, although species of *Picea*, *Abies*, *Larix* and *Pseudotsuga* have also been seriously damaged (Donaubauer 1972, Roll-Hansen 1972). Examples of severe epidemics of *Gremmeniella* on Scots pine, *Pinus sylvestris* L., in Scandinavia have been reported e.g. by Kohn (1964) from Sweden between 1950—1960, by Roll-Hansen (1967) from Norway in the 1960's and by Kurkela (1967) and Norokorpi (1971) from Finland in the 1960's. In the past few years there has been a severe epidemic of *Gremmeniella* in the Scots pine stands of South Finland. At least twenty thousand hectares suffered from the disease.

Gremmeniella abietina can be described as a facultative parasite. Thus the infection requires that the trees are susceptible. Wind borne ascospores or splash-dispersed conidia infect the bud or shoot scales from May to September. The fungus penetrates the host during autumn and winter (Lang and Schutt 1974, Siepmann 1976). Infection is also possible through wounds in the stem and branches (Roll-Hansen 1964, Sletten 1917) and in small seedlings the infection may happen through needle epidermis (Skilling and Krogh 1970).

Gremmeniella abietina is suggested to have at least three continentally disjunct physiological races (Dorworth and Krywienczyk

1975). Two different morphological and physiological races exist e.g. in Finland (Uotila 1983).

Environmental factors, such as weather conditions are important in predisposing conifers to infection by *Gremmeniella*. Both the amount of inoculum and the susceptibility of the host may increase. It is also useful to know the role of genetic variation in susceptibility, because this can give us a possibility to use resistant planting material in the future.

The effect of environmental factors

The effect of temperature and humidity is often connected with the winter hardiness and the lignification processes of pine tissues, which in turn affect the susceptibility to frost damage. Frost damage has been considered to be the primary cause of the differences in resistance to *Gremmeniella* (Dietrichson 1968), although after a severe frost damage no fungal infection is necessarily needed to kill the trees (Venn 1970, Pomerleau 1971). Frost hardiness seems to correlate well with the high autumn dry-matter content of the needles.

The damages to the nursery seedlings in Finland in the 1960's were perhaps more due to the cold weather conditions (or the nutrient contents in the soil) than the fungal invasion (Kurkela 1967).

Incomplete lignification can result from several combinations of weather factors. A warm summer followed by a rainy, cool

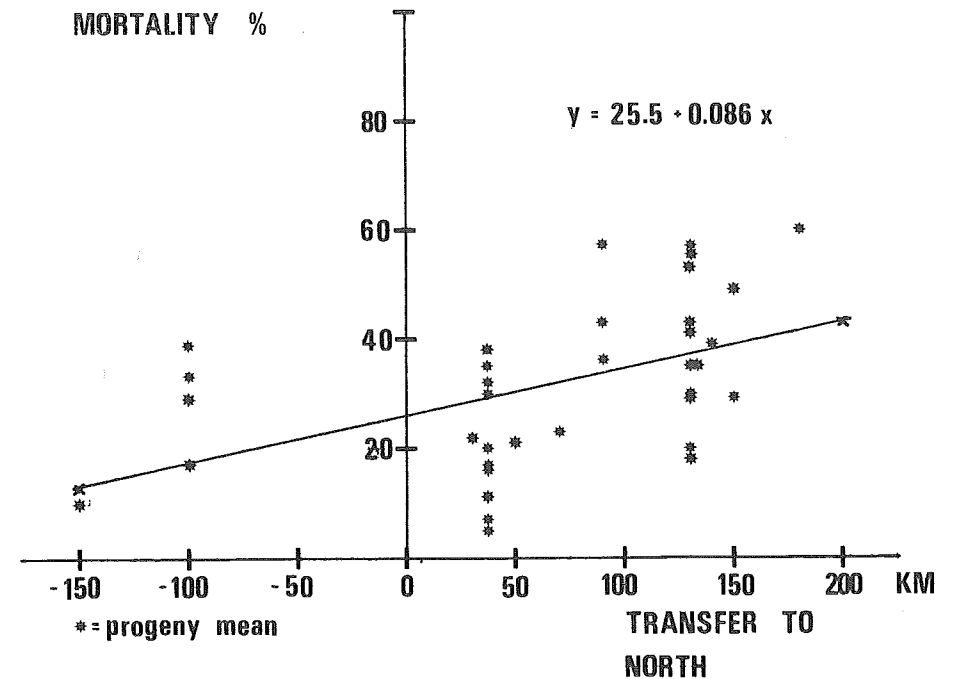


Fig. 1. The effect of seed transfer to *Gremmeniella* mortality in 23 years old Scots pine progeny test at Kuorevesi.

growing period is perhaps the worst situation for pine: the height growth is good, but the winter hardiness is low, and at the same time the amount of inoculum may increase.

Edaphic factors often work together with climatic conditions. In several cases the disease incidence has been greater on fine-textured soils, which formerly may have been spruce stands. On such sites, the roots may suffer from anaerobic conditions. Disease is sometimes more severe in topographic depression. In such places, the trees are more often damaged by frosts. Moreover, the spores may recirculate, thus intensifying the amount of inoculum (Dorworth 1974). Sometimes the disease has been found to be more frequent on higher levels above the sea (Roll-Hansen 1972). This might be due to the extreme climatic conditions plus the harmful effects of the snow cover.

The effect of shading as a predisposing factor is due to the weakening of the trees in overly dense stands and the effect of greater and prolonged humidity on amounts and survival of spores (e.g. Gremmen 1968). Read (1966, 1967, 1968) found that the disease on Corsica pine in Great Britain was more severe on north facing slopes. In addition to the differences in humidity conditions in different

aspects, he believed that the disease was due to the loss of soluble carbohydrates during the periods of low light intensity.

In general, the photoperiod and temperature are the most important factors determining the annual cycle of forest trees. Actively growing plants seem to be able to resist the penetration of the fungus into living tissues. At least in very small seedlings, the susceptibility is different in different phases of development (Hamnede and Dunberg 1983).

The expression of genetic variation in resistance

After the last epidemic in Finland, two plus three progeny trials and one seed orchard were inventoried in order to find out the differences in disease susceptibility between trees of different origin:

1. Loppi (670), 21 years old, 30 provenances from Southern and Middle Finland, 3 provenances from Siberia. Planned by the Finnish Foundation of Forest Breeding.

2. Kuorevesi (159/1), 23 years old, 36 provenances from Southern and Middle Finland. Planned by the Department of Forest Genetics, the Finnish Forest Research Institute.

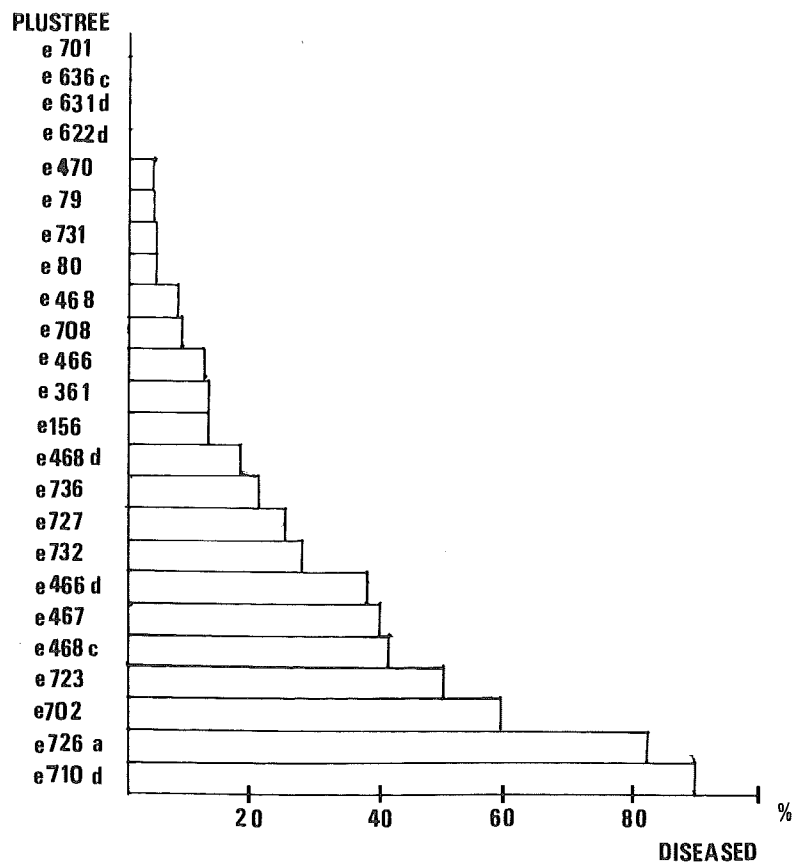


Fig. 2. The percent of slightly diseased crafts in clone in Oitti seed orchard.

3. Oitti seed orchard, 25—27 years old, 25 clones from Southern Finland. Owned by Keskumetsälautakunta Tapio.

In progeny tests the trees were classified in three damage classes: healthy or slightly infected, diseased, dead or heavily infected. In the seed orchard the craftings were healthy or diseased. The results were tested using the two-way analysis of variance.

In the Loppi experiment the Finnish progenies were only slightly infected whereas the Siberian provenances were totally destroyed. It also seemed that the trees in *Myrtillus* site type were more diseased than in *Vaccinium* type.

At Kuorevesi 5—60% of the trees were dead or heavily attacked. The differences among progenies were statistically significant. The seed transfer did not affect very much to the mortality if the transfer was shorter than 200 km (fig. 1). However, transfer from south to north increased the mortality slightly.

In the Oitti seed orchard the differences

between clones were clear (fig. 2), but only the lower branches were infected. Clones E 726 A and 710 D were most susceptible: they were infected to upper whorls than the others.

The slight differences in resistance among the plus tree progenies, and clear differences among the seed orchard clones can be explained on the basis of the population genetics of Scots pine. The plus tree progenies are genetically not as homogenous as the clones in the seed orchard. The father tree is unknown in open-pollinated progenies. The pollen flies long distances, and only 0.8—3.0% comes from a single neighbouring tree even in a seed orchard (Rudin and Ekberg 1982). There is a clinal variation among the populations of Scots pine, and the variation within a population is wide, also when survival is concerned (Eriksson 1982, Eriksson *et al.* 1976).

The results of this inventory support the earlier findings of Dietrichson (1968) and Björkman (1972) that the southern provenan-

ces are more susceptible than the local, and that the local provenances are less resistant than the northern ones. Dietrichson also found a positive correlation between disease susceptibility and the earliness of growth cessation and the relative growth rate. Repo (1983) found clear differences in the electric impedance of needles of different Scots pine provenances. The northernmost provenance, which probably start their hibernation earlier and have better winter hardiness, had lower impedances.

There have been efforts to explain the differences among the provenances with biochemical factors. Studying *P. nigra* clones, Stephan and Scholz (1979) found a positive correlation between the contents of myrcene and limonene monoterpenes and disease resistance. Also buffering capacity of bark tissues was positively correlated with the resistance to *Gremmeniella*.

Discussion

The broad host spectrum of *Gremmeniella abietina*, its diversity and the complex effect of environmental factors cause some difficulty in determining the real resistance mechanisms of Scots pine against the disease. Probably there are genetical differences in disease resistance even within the local pines. Many problems are still left, if we want to start a breeding program on the basis of these differences.

Gremmeniella resistance is likely horizontal resistance and when perennial plants are concerned the only acceptable type for resistance

breeding would be horizontal (Simmonds 1983, Stelzer *et al.* 1983). As to field observations, provenance trials can give valuable information, but only if the natural inoculum has been even and sufficient, and thus artificial inoculation experiments are needed. We need screening methods, which can be successfully repeated without the disturbing effects of the environment and the developmental phase of the host plant. The differences among the clones may be different in different environmental conditions and that is why the testing for resistance should always be performed in the climatic zone in which the plants will be used (Martinsson 1975).

So far it seems that the environmental factors are much more important in determining the susceptibility of Scots pine to the *Gremmeniella* infection. The genetic variations in disease susceptibility often reflect genetically controlled differences in the adaptation of the trees to their environment. The degree of adaptation is most important. We have enough examples of bad damages to trees introduced into unsuitable environmental conditions (eg. the Siberian or Polish provenances of Scots pine when planted in Finland). The outbreak of epidemics can be made less probable by many silvicultural practices: for example by selecting seed of right origin, by right-timed thinnings, by removing the diseased trees, by burning the diseased logging waste, by tilling the soil for better air conditions and by using species other than pine in places most liable to *Gremmeniella* infection.

References

- Björkman, E. 1972. Die Prüfung forstlicher Baumarten auf Resistenz gegen Parasitäre Pilze. *Eur. J. For. Path.* 2: 229—237.
- Dietrichson, J. 1968. Provenance and resistance to *Scleroderris lagerbergii* Gremmen (*Crumenula abietina* Lagerb.). The international Scots pine provenance experiment of 1938 at Matrand. *Medd. Norske Skogs-forsöksves.* 25: 398—410.
- Donaubauer, E. 1972. Distribution and hosts of *Scleroderris lagerbergii* in Europe and North America. *Eur. J. For. Path.* 2: 6—11.
- Dorworth, C. E. 1974. Epiphytology of *Scleroderris lagerbergii* in a kettle frost pocket. *Eur. J. For. Path.* 3: 233—242.
- Dorworth, C. E. & Krywienczyk, J. 1975. Comparisons among isolates of *Gremmeniella abietina* by means of growth rate, conidia measurement, and immunogenic reaction. *Can. J. Bot.* 53: 2506—2525.
- Eriksson, G. 1982. Ecological genetics of conifers in Sweden. *Silva Fennica* 16 (2): 149—156.
- Eriksson, G., Andersson, S., Eiche, V. & Persson, A. 1976. Variation between and within populations in a provenance trial of *Pinus sylvestris* at Nordanås. *Stud. For. Suec.* 133, 46 p.
- Gremmen, J. 1968. Bijdrage tot de biologie van *Brunchorstia pinea* (Karst.) Höhn., de oorzaak van het taksterven bij Oostenrijkse en Corsicaanse den. *Ned. Bosb. Tijdschr.* 40 (6): 221—231.

- Hamnede, M. & Dunberg, A. 1983. The *Pinus sylvestris*-*Gremmeniella abietina* host-parasite system. II. Effects of provenance, family, age, season and stage of development on the susceptibility of *Pinus sylvestris* seedlings toward *Gremmeniella*. Umeå. *Manuscript*.
- Kohh, E. 1964. Om tallens gren- och granens topptorka och dess bekämpning. *Skogen* 51: 200—203.
- Kurkela, T. 1967. Keväällä havaitusta männyn taimitarhataudista ja *Scleroderris lagerbergii*. [On the nursery disease of pine observed in the spring of 1967 and the fungus *Scleroderris lagerbergii*]. *Metsätal. Aikakausl.* 12: 391—392.
- Lang, K. J. & Schutt, P. 1974. Anatomische Untersuchungen zur Infektionsbiologie von *Scleroderris lagerbergii* Gr. (*Brunchorhiza pinea* (Karst.) von Höhn). *Eur. J. For. Path.* 4: 166—174.
- Martinsson, O. 1975. Resistensprövning mot två olika parasitvampar på samma plusträdsavkomor. *Fören. Skogsträdsförädl. Inst. Skogsförbättr. Årsbok 1975*: 145—151.
- Norokorpi, Y. 1971. Männyn viljelytaimistojen tuhot Pohjois-Suomessa. [Damages to Scots pine seedling stands in North Finland]. *Metsä ja Puu* 4: 23—26.
- Pomerleau, R. 1971. Considerations on the cause of conifer damage in plantations attributed to the *Scleroderris* cancer. *Eur. J. For. Path.* 1: 114—122.
- Read, D. J. 1966. Dieback disease of pines with special reference to Corsican pine *Pinus nigra* var. *Calabrica* Schn. I. The nature of the disease symptoms and their development in relation to the crown and aspect. *Forestry* 39: 151—161.
- 1967. II. The relationship between frost resistance, microclimate, and disease. *Forestry* 40: 83—97.
- 1968. Some aspects on the relationship between shade and fungal pathogenity in an epidemic disease of pines. *New Phytol.* 67: 39—48.
- Repo, T. 1983. Männynversosyövälle alttiiden ja vastustuskykyisten taimialkuperien erottaminen. Neulasten ominaisimpedanssin mittaus. [Separating Scots pine clones susceptible and resistant to *Gremmeniella abietina*. Measurements on the electric impedance of needles]. M. Sci.-thesis. Department of Biophysics. University of Oulu.

NEVALAINEN, S. & UOTILA, A. 1984. Tallens mottaglighet för *Gremmeniella abietina*. *Växtskyddsnotiser* 48: 3—4, 76—80.

De viktigaste miljöfaktorerna som ökar tallens mottaglighet för *G. abietina* är frost, beskuggning, kylig och fuktig vegetationsperiod, ogynnsam topografi och olämpliga edafiska förhållanden. Enligt en finsk inventering fanns tydliga skillnader i mottaglighet mellan olika kloner av tall (*Pinus sylvestris* L.) i en fröodling. Det fanns även skillnader mellan provenienser i två avkomorförsök. Vid förflyttning norrut ökade plantornas dödlighet något. Miljöfaktorerna tycks dock vara av större betydelse för mottagligheten för sjukdomen i fråga. Den största betydelsen har trädens anpassningsförmåga till rådande förhållanden.

- Roll-Hansen, F. 1964. *Scleroderris lagerbergii* Gremmen (*Crumenula abietina* Lagerb.) and girdling of *Pinus sylvestris* L. *Medd. Norske Skogsforsöksves.* 19: 153—175.
- Roll-Hansen, F. 1964. *Scleroderris lagerbergii* Gremmen (*Crumenula abietina* Lagerb.) and girdling of *Pinus sylvestris* L. *Medd. Norske Skogsforsöksves.* 19: 153—175.
- 1967. On diseases and pathogens on forest trees in Norway 1960—1965. *Medd. Norske Skogsforsöksves.* 21: 173—262.
- 1972. *Scleroderris lagerbergii*: Resistance and differences in attack between pine species and provenances. *Eur. J. For. Path.* 2: 26—39.
- Rubin, D. & Ekberg, I. 1982. Genetic structure of open-pollinated progenies from a seed orchard of *Pinus sylvestris*. *Silva Fennica* 16 (2): 87—93.
- Siepmann, R. 1976. Ein Beitrag zur Infektionsbiologie des durch *Scleroderris lagerbergii* verursachten Schwarzkiefertriebsterbens. *Eur. J. For. Path.* 6: 103—109.
- Simmonds, N. W. 1983. Strategy of disease resistance breeding. *FAO Plant Prot. Bull.* 31 (1): 2—10.
- Stelzer, H. E., Polk, R. B. & Loegering, W. Q. 1983. Rapid methods of rating forest trees for general resistance to foliar pathogens. *Forest Sci.* 29 (2): 215—221.
- Stephan, B. R. & Scholz, F. 1979. Weitere Untersuchungen zur unterschiedlichen Anfälligkeit von *Pinus nigra* — Klonen gegenüber *Scleroderris lagerbergii*. *Eur. J. For. Path.* 9: 46—51.
- Skilling, D. D. & Krogh, N. K. 1970. Infection of *Pinus resinosa* tissue fluorescent-labeled spores of *Scleroderris*. *Phytopathology* 59: 1050.
- Sletten, A. 1971. Infection biology and chemical control of *Scleroderris lagerbergii* Gremmen on *Pinus sylvestris* L. *Medd. Norske Skogsforsöksves.* 112 (3): 117—134.
- Uotila, A. 1983. Physiological and morphological variation among Finnish *Gremmeniella abietina* isolates. *Commun. Inst. For. Fenn.* 119. (In print).
- Venn, K. 1970. Studies on the particular dieback of terminal shoots of *Pinus sylvestris* L. *Medd. Norske Skogsforsöksves.* 27: 510—536.

Foredling for resistens mot løkgråskimmel i kepaløk

Gry Synnevåg, Statens forskingsstasjon Landvik, 4890 Grimstad, Norge

SYNNEVÅG, G. 1984. Foredling for resistens mot løkgråskimmel i kepaløk. *Växtskyddsnotiser* 48: 3—4, 81—87.

Angrep av løkgråskimmel (*Botrytis allii*), er den viktigste årsaken til råtning av kepaløk på lager i Norge. Ved Statens forskingsstasjon Landvik, ble det i 1970-årene startet et prosjekt med formål å finne resistensklider, og hvis mulig å inkorporere eventuell resistens i aktuelle handelssorter. Resistensstesting ble foretatt på fullt moden løk, etter metode opprinnelig utviklet i Nederland. Foredlingsmetodene som ble brukt var avkomsprøving etter åpen blomstring og seleksjon, i noen tilfeller kombinert med innavl. Resultatene viste signifikante genetiske forskjeller i resistensnivå mellom sorter og populasjoner. Variasjonen innen populasjon var kontinuerlig. Resistensnivået ble betraktelig forbedret ved gjentatt avkomsprøving og seleksjon. Resistens mot løkgråskimmel kan ansees som en kvantitativ karakter.

Innledning

Angrep av løkgråskimmel (*Botrytis allii* Munn) er den viktigste årsaken til råtning av kepaløk (*Allium cepa* L.) på lager i Norge. Infeksjonen skjer på feltet, men sykdomssymptomene viser seg ikke i vesentlig grad før etter en lagringsperiode. Inokulum er tilstede hele vekstsesongen, og plantene kan smittes på alle utviklingstrinn. Infeksjon sent i vekstsesongen kan imidlertid forårsake den største skaden. Hvor store konsekvensene av et sent angrep blir, avhenger av værforholdene på denne tiden, og av tørkingen før lagring. Optimale forhold for soppens vekst, sporulering, spredning og etablering av infeksjon er fuktige og kjølige værforhold. Denne værtypen inntreffer ofte i norske løkdistriktet i august og september mens løken modner.

Det er utviklet forskjellige metoder for bekjempelse av denne sykdommen. Det er viktig med optimalisering av kultur, tørkings- og lagringsbetingelsene. Bruk av kjemiske midler til beising av frø og sprøyting i vekstida har hatt god virkning. Enda har det likevel ikke lyktes å bekjempe sykdommen på en fullt ut tilfredsstillende måte. Resistente kepaløksorter er derfor ønskelig for dyrking i marginale områder.

Sykdomssymptomer i lagringsperioden

Løken har ved inntak på lager en begynnende eller latent infeksjon. Symptomene kan utvikle seg på hele overflaten, men i de fleste

tilfellene er de først synlige i løkhalsen. Vevet er først vassent og får siden en brunlig farge. I en gjennomskåret løk er det en skarp avgrensning mellom friskt og infisert vev. Figur 1 viser halsrate og siderate i løk angrepet av løkgråskimmel. Etter en tid dannes det karakteristiske grå belegget av konidioforer og konidier. Soppen er aktiv ved lave temperaturer og kan forårsake store skader selv ved temperaturer på 0—5°C.

Primær infeksjon og symptomer på felt

Soppen overvintrer som sklerotier, mycel eller konidier i jorda og på gammelt plante-materiale. Den sporulerer på dødt eller skadet plantevev og har vindspredning av konidiene. Hovedkilden til smitte er imidlertid infisert frø. Slik smitte kan forårsake blad-død av unge planter, sporulering og rask spredning til friskt plantemateriale (Currah 1973).

Løkgråskimmel kan angripe planter uten å påvirke plantens videre vekst og utvikling. Spirehyfene trenger inn i friskt plantevev, enten direkte eller gjennom stomata, og infeksjonen forblir latent i epidermiscellene. Først ved en viss fysiologisk alder av bladet invaderer soppen det underliggende parenkymatiske vevet, og vokser fra bladene ned i løken. Det er påvist at soppen er tilstede i løkhalsen 4—7 uker etter inokulering av bladene (Tichelaar 1967). Tilsynelatende frisk løk kan således være infisert med mycel.

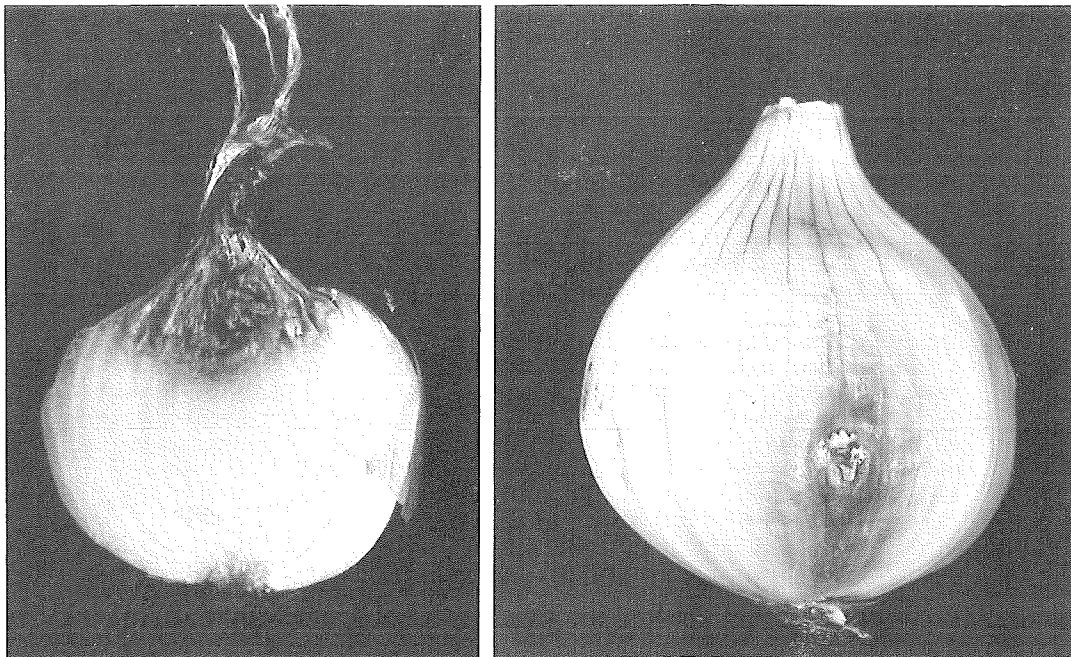


Fig. 1. Halsr te (gjennomskåret løk), og sider te på lagret kepaløk forårsaket av løkgråskimmel. — Neck rot and lateral rot on stored onions caused by onion grey mould. (Foto L. Semb)

Det eksisterer uenighet om hvorvidt og i hvilken grad angrep av løkgråskimmel forårsaker symptomer på bladene i form av flekking (Segall and Newhall 1960, Hancock and Lorbeer 1962). Det er vist at etablering av infeksjon og infeksjonstype er avhengig av mange faktorer som: Resistensmekanismer i vertplanten, alder av infektet vev, mengde inokulum og mange klimatiske og dyrkings-tekniske forhold (Coley-Smith, Verhoeff and Jarvis 1980).

Variasjon i patogen og vert, og resistensmekanismer

Løkgråskimmel er funnet på fire *Allium*-arter, og har et snevert vertplantespekter sammenlignet med andre *Botrytis*-arter. Heterokaryose er den viktigste årsaken til variasjon i patogenet. Konidiene er mangekjernede, antall kjerner pr. celle er imidlertid lite (5—7) og relativt konstant (Coley-Smith 1980). Løkgråskimmel er kjent for   være den mest stabile av *Botrytis*-artene.

I løk er det funnet sorter og foredlingsmateriale med varierende grad av resistens. Generelt er resistensmekanismene mot *Botrytis*-artene kompliserte. Vert-parasitt-samspeillet kan sees på som en kompleks kamp mellom

enzymssystemer i vert og parasitt. Noen av disse samspillene fører til redusert angrep av patogenet. Salem og Michail (1981), som arbeidet med løk og løkgråskimmel, fant at polyfenoler og oksyderende enzym-system (polyfenoloksydase og peroksydase) i verten og celleveggedbrytende enzymaktivitet, hovedsaklig pektinaser i patogenet, var av avgjørende betydning. Magro, Marciano og Lenna (1983) sammenlignet to l ksorter og fant at den minst mottakelige var karakterisert ved lavere polygalaturonase-aktivitet, tidligere og raskere akkumulering av fenolforbindelser, og raskere aktivering av peroksydase. Polyfenoloksydase ble ikke funnet verken i friskt eller sykt vev.

Det er gjort forsøk på   forklare overgangen fra et latent til et aktivt parasitt rt forhold. En av forklaringene går ut på at patogenets enzympotensiale er utilstrekkelig for invadering av umodent vev. Flere undersøkelser er nødvendige for   klarlegge hvilken rolle disse enzymene spiller i sykdomsutviklingen.

Den svært begrensende litteratur som er tilgjengelig tyder på at patogeniteten står under kontroll av mange gen. Dette forhold gjen-speiles kanskje av det faktum at det til nå ikke er funnet fullstendig resistens mot noen *Botrytis*-art.

Foredling for resistens mot løkgråskimmel

A) Testmetoder

Arbeidet med foredling av løk for gr skimmelresistens startet i 1959 ved instituttet for hagebrukets planteforedling på landbruksuniversitetet i Wageningen (IVT). Flere *Allium*-arter ble testet for resistens. Van der Meer (1970) testet plantemateriale på tre forskjellige utviklingsstadier: Fr plantestadiet, fullt utviklede blad og fullt moden løk.

Frøplante-testen ble utviklet for   undersøke hvorvidt populasjoner av kepaløk og andre *Allium*-arter viste resistens mot løkgråskimmel. Mer enn 500 kepal ksorter og seleksjoner ble testet og det ble ikke funnet resistens i noen av dem. Flere *Allium*-arter viste h g grad av resistens. Inokulering av fullt utviklede blad viste at artene som hadde høyt resistensnivå på fr plantestadiet var mindre resistente senere. Det var ikke mulig   finne forskjeller i resistens i kepal kmaterialet ved bruk av metoden. En bladsegment-test ble imidlertid utviklet av Currah (1982), og ved hjelp av denne metoden ble det påvist høy grad av resistens i *A. fistulosum* L., en art som lar seg krysse med *A. cepa*.

Testing av fullt moden løk har til nå hatt størst praktisk betydning i foredlingsarbeidet. En testmetode ble først utviklet av Groendijk og Petiet (1963), og testen ble siden forbedret og beskrevet i detalj av Van der Meer og hans medarbeidere (1970). De tørre, ytre l kskjellene ble fjernet, og friske l kskjell inokulert ved såring med en rissef r dyppet i en sporesuspensjon. Optimal sporekonsentrasjon var 5×10^6 til 10×10^6 sporer pr ml konidiesuspensjon. Løken ble lagt på fuktig filterpapir i plastposer, ved 10—12 C i 8 dager. Symptomene viste seg som vanntrukne flekker i vevet omkring inokuleringen. Flere undersøkelser har vist signifikante forskjeller i mottakelighet ved bruk av denne metoden (Van der Meer *et al.* 1970, Kotlinska 1978).

Det er vist at graden av infeksjon er avhengig av mengde inokulum, soppkulturenes lagringstemperatur og lagringens varighet. Infeksjonen influeres også av forbehandlingen av de infekte l kene, inokulasjonsmetode og de miljømessige forholdene etter inokulering (Coley-Smith 1980).

Metoder for testing av feltresistens ble utviklet av Currah og hennes medarbeidere i (1981). Usmittet fr  ble kunstig smittet, og sådd som smittekilde i rekker mellom friskt

plantemateriale.

Feltresistensen ble også testet direkte ved sprøyting av testsorter med inokulum av blandede isolater av løkgråskimmel. Skaden forårsaket av soppen ble målt som % løk med halsr te etter en bestemt lagringsperiode.

B) Foredlingsmetoder

To metoder har vært benyttet for   øke resistensnivået i høyt foredlede l ksorter:

1) Kryssing til andre *Allium*-arter med høyt resistensnivå. Det er spesielt arbeidet med kryssningen *A. fistulosum* x *A. cepa*.

2) Gjentakende seleksjon i kepal kmateriale som viser et visst resistensnivå.

Den siste metoden har til nå vært av størst interesse i foredlingsarbeidet.

C) Foredlingsarbeid ved Statens forskingsstasjon Landvik

Metoder

Ved SF Landvik ble det i 1970-årene startet et prosjekt med følgende formål:

1) Finne resistensilder.

2) Hvis mulig inkorporere resistensen i praktisk anvendelige sorter.

I alle forsøkene ble løken plantet ut på felt etter oppaling i torvpotter. Etter høsting ble løken lagret til januar f r resistenstesting ble foretatt. Testen ble utført på fullt moden løk etter tidligere beskrevet metode. Inokulum ble produsert fra isolat av gråskimmel fra r tten løk, isolert i 1971 og holdt i kultur ved Statens plantevern, Botanisk avdeling,  s. Retningslinjer for tillaging av inokulum er utarbeidet av Semb (1979), ved samme institusjon.

I 1979 ble patogeniteten av det opprinnelige gr skimmelisolatet testet og sammenlignet med nye soppisolat fra Landvik og andre steder i landet. Isolatet viste seg fremdeles   være blant de mest virulente.

Smittefors kene ble utført med 5—10 løk pr rute i 3 eller 4 gjentak. Hver løk ble såret i 5 punkt, og inokuleringen medførte symptomer som tidligere beskrevet. Tverrm let på r teflekken ble målt, og på grunnlag av diameterm let ble angrepet karakterisert på følgende måte:

Indeks	Karakteristikk
0	Ikke angrep
1	1 mm — svakt angrep
2	1—3 mm — svakt/middels angrep
3	3—7 mm — middels angrep
4	7—10 mm — middels/sterkt angrep
5	<10 mm — sterkt angrep

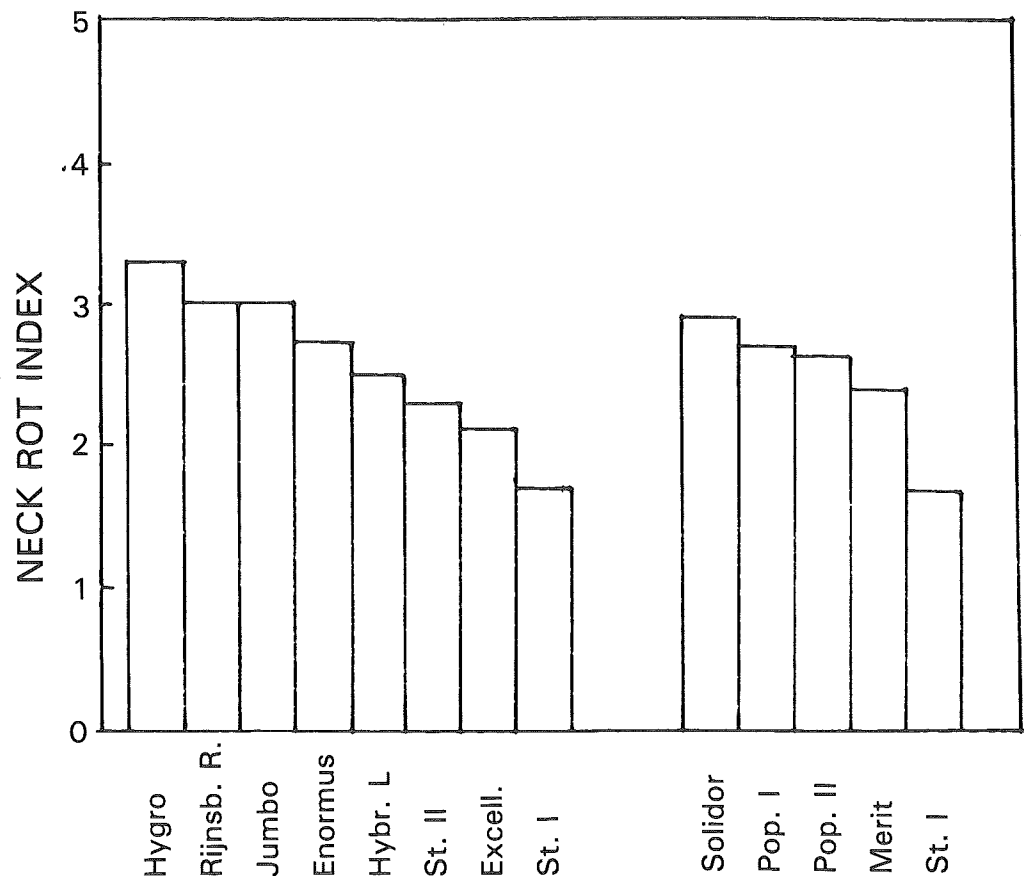


Fig. 2. Gråskimmelindeks for handelssorter og syntetiske populasjoner dyrket i to forsøk, 1977. — Neck rot index of some market varieties and synthetic populations grown in two experiments, 1977.

Resultater

I løpet av årene som er gått siden prosjektet startet er alle sorter av praktisk interesse for våre dyrkingsforhold testet for resistens mot løkgråskimmel. Det viste seg tidlig at materialet ikke viste klare forskjeller med hensyn til resistens. En kontinuerlig og i mange tilfeller signifikant variasjon eksisterte imidlertid mellom sorter, populasjoner og linjer (Vik 1982). Variasjonen mellom sorter og noen syntetiske populasjoner er illustrert i figur 2. Figuren viser at den syntetiske populasjonen St I har en lavere gråskimmelindeks enn noen av handelssortene i begge forsøkene. En annen syntetisk populasjon, St II, merket seg også ut ved forholdsvis høyt resistensnivå. St I og St II er resultat av gjentatte avkomsprøvinger etter polycross og masseleksjon i 7 Rijnsburger-stammer (Vik, 1972, Vik og Aasteveit, 1977).

Siden St I og St II viste et forholdsvis høyt

resistensnivå, ble formålet for det videre arbeidet forbedring av resistensnivået i disse populasjonene. Følgende metoder ble benyttet i arbeidet:

1) Gjentatte avkomsprøvinger etter åpen blomstring og seleksjon mellom og innen familier.

2) Innavl og seleksjon innen St I og St II.

3) Kryssing av St I og St II med hverandre og til andre stammer, fulgt av avkomsprøving og seleksjon for gråskimmelresistens og for andre karakterer av praktisk verdi.

Gjentatte avkomsprøvinger med påfølgende seleksjon har ført til en markert reduksjon i gråskimmelindeks som vist i figur 3. Figuren viser også at etter 4 generasjoners avkomsprøvinger, får en ikke lenger virkning av seleksjonen og grensen for videre forbedring av dette materialet med hensyn til resistens er nådd.

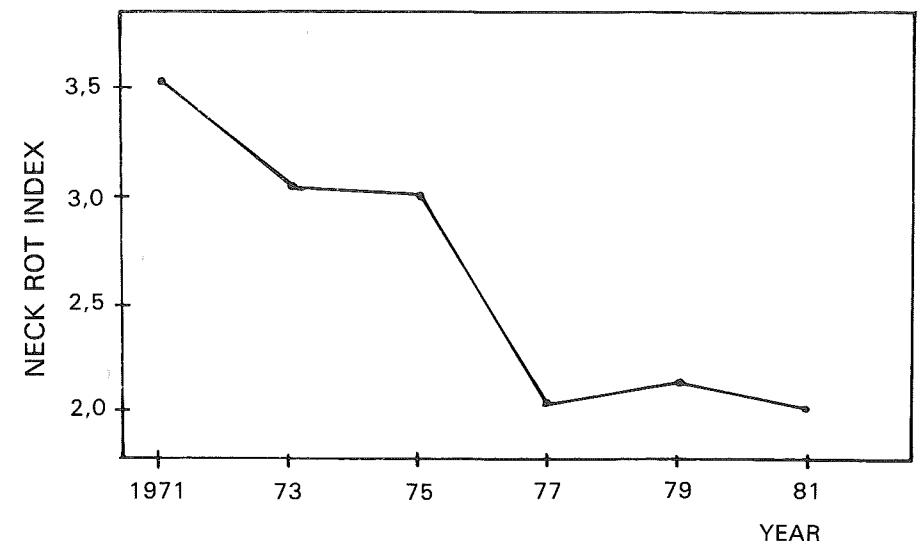


Fig. 3. Reduksjon av gråskimmelindeks for familier selektert fra St. I over en 10-års periode (5 generasjoner). — Decrease in neck rot index of families selected from St. I over 10 years (5 generations).

Tabell 1. Testing av innavlede linjer og populasjoner selektert for resistens mot løkgråskimmel (*B. allii*) — Testing of inbred lines and populations selected for resistance to neck rot

Linje/populasjon	Gråskimmelindeks
1. St I, fam. seleksjon 5 generasjoner	2,28
2. St I, S ₄ , linje nr. 27	1,81
3. St I, S ₃ , fam. 27—84	2,09
4. St I x Lemi. Pop. Ikke innavl	2,21
5. St I x Lemi. Innavl og seleksjon	1,53
6. St I x Lemi. Linje nr. 10 og 13	2,37
7. St II x St I. S ₂ pop.	2,21
8. Hygro (Kontroll)	3,31
Gjennomsnitt	2,20

Innavl og seleksjon i St I førte til en innavlet linje: St I nr. 27. Tabell 1 presenterer resultatene fra et forsøk utført i 1981, hvor selekterte familier og innavlede linjer ble sammenlignet med annet materiale, bl.a. populasjoner framkommet ved kryssning mellom St I og den finske potatløkestammen Lemi (*A. cepa* var. *aggregatum*).

Tabellen viser at innavl og seleksjon i kryssningen St I x Lemi har ført til den laveste indeksen. Alle linjene eller populasjonene hadde et høyere resistensnivå enn kontrollsorten Hygro.

I et forsøk i 1981, ble det mest lovende foredlingsmaterialet sammenlignet med de beste handelssortene både med hensyn til resistens og andre egenskaper. Figur 4 presenterer middelverdier for gråskimmelindeks over blokker.

Figuren viser at populasjoner framkommet ved stadige avkomsprøvinger og familieseleksjon i St I har de laveste indeksene i dette forsøket.

Konklusjoner

1. Det er ikke funnet spesifikk resistens mot løkgråskimmel (*B. allii*) i dette løkmaterialet.

2. Signifikante genetiske forskjeller i resistensnivå eksisterer mellom sorter og syntetiske populasjoner.

3. Variasjonen i gråskimmelindeks innen populasjonene er kontinuerlig.

4. Resistensnivået i populasjonene er økt ved gjentatte avkomstprøvinger og seleksjoner.

5. Resistens mot løkgråskimmel bør ansees som en kvantitativ karakter.

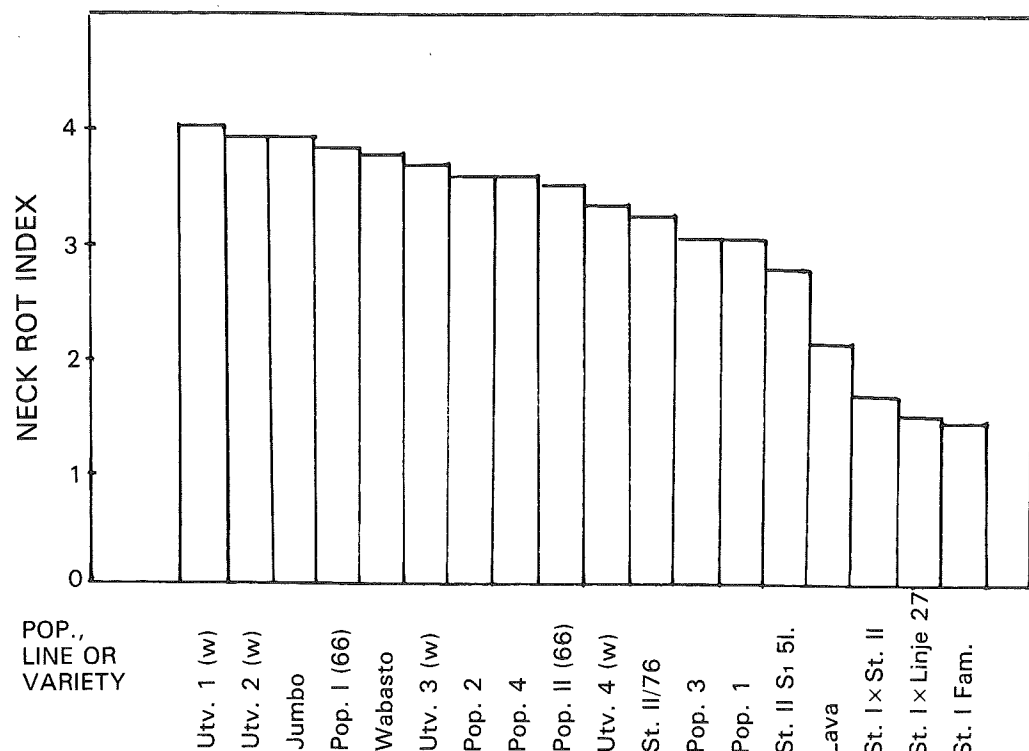


Fig. 4. Gjennomsnittlig gråskimmelindeks for populasjoner, innavlede linjer og handelssorter. — Means of populations, inbred lines and varieties for neck rot index.

Litteratur

- Coley-Smith, J. R., Verhoeff, K., Jarvis, W. R. 1980. *The biology of Botrytis* — Academic Press inc. (London) LTD: 317 pp.
- Currah, L. 1973. Neck Rot of Bulb Onions — *Annual report 1972—1973. UK, Agricultural Research Council.*
- Currah, L., Maude, R. B., Presly, A. H., Ockedon, D. J. and Bolland, C. J. 1981. Botrytis disease of onions — *32nd Annual Report. National Vegetable Research Station, Wellesbourne.*
- Currah, L. 1982. A leaf segment test for resistance in onions to *B. squamosa* and *B. allii* — (Abstract) *Seventh Botrytis Symposium, Sept. 6—10, 1982 Aberdeen.*
- Groendijk, J. and Petiet, J. 1963. A method to test onions on their sensitivity to *Botrytis allii* — *Euphytica* 12: 94—96.
- Hancock, J. G., Lorbeer, J. W. 1962. Pathogenesis of *Botrytis cinerea*, *B. squamosa*, og *B. allii* on onion leaves — *Phytopathology* 53: 669—673.
- Kotlinska, T. 1978. Study of resistance to the neck rot (*Botrytis allii* Munn.) in polish varieties of onion (*Allium cepa* L.) — *Biuletyn Warzwnicy* 22: 93—97.

- Magro, P., Marciano, P. and Lenna, P. D. 1983. Metabolic alteration induced by *Botrytis allii* in two onion cultivars with different resistances to neck rot — *Plant Pathology* 32: 295—302.
- Salem, M. A., Michail, S. H. 1981. The Role of Polyphenols, Oxidative and Macerating Enzymes in Onion Bulb Cultivars Infected with *Botrytis allii* — *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 16 (1—2): 59—65.
- Segall, R. H., Newhall, A. G. 1960. Onion blast or leaf spotting caused by species of *Botrytis* — *Phytopathology* 50: 76—82.
- Semb, L. 1979. Resistenstesting av kepaløk mot løk-gråskimmel (*Botrytis allii*). *Retningslinjer for tillaging av inokolum for smitting. Stensiltrykk. Statens plantevern, Botanisk avdeling, 1432 Ås-NLH.*
- Tichlaar, G. M. 1967. Studies of the biology of *Botrytis allii* on *Allium cepa* — *Neth. J. Pl. Path.* 73: 157—160.
- Van der Meer, Q. P., van Bennekom, J. L. and van der Giessen, A. C. 1970. Testing onions (*Allium cepa* L.) and other *Allium* species for resistance to *Botrytis allii* Munn. — *Euphytica* 19: 152—162.

- Vik, J. 1972. Onion breeding. 1956—1971 — *Forskning og Forsøk i Landbruket* 23: 235—273.
- Vik, J. and Aastveit, K. 1977. Breeding in Onions. Progeny testing of St. I — *Forskning og Forsøk i Landbruket* 53: 397—406.

- Vik, J. and Aastveit, K. 1982. Breeding for resistance to neck rot in onion — (Abstract) *Seventh Botrytis Symposium, Sept. 6—10, 1982 Aberdeen.*

- SYNNEVÅG, G. 1984. Breeding for neck rot resistance in common onion. *Væxtskyddsnotiser* 48: 3—4, 81—87.

Neck rot disease in common onion caused by *Botrytis allii* is the most serious onion disease in Norway, causing considerable losses during storage.

Since 1970, research has been in progress at the Landvik Agricultural Research Station, Norway, to find sources of resistance and, if available, incorporate such resistance into highbred onion varieties. The bulb test method originally developed in the Netherlands was used. The breeding methods were progeny testing and selection, in some cases combined with inbreeding. The results showed no specific resistance to neck rot, but significant genetic differences in degree of resistance existed between varieties and populations. The variation within populations was continuous. Resistance was considerably improved by repeated progeny testing and selection. The trait should be regarded as a quantitative character.

Nordisk lista över resistensbiologiska termer

har utarbetats av samarbetsgruppen för stråsådens resistensbiologi under Nordisk Jordbruksforskarens Förening. Huvudansvariga för listans utformning har varit professorerna James Mac Key och Vilhelm Umaerus men ett stort antal växtpatologer, entomologer och växtförädlare i Norden har bidragit med synpunkter och kritisk granskning av dess innehåll. Ambitionen har varit att definiera begrepp och synonymer för att underlätta förståelsen av resistensbiologiskt språkbruk oberoende av läsarens vetenskapliga hemvist.

Listan kan kostnadsfritt rekvireras från Konsulentavdelningen/försäljning, Box 7075, S-750 07 Uppsala.

Tjänste
Sveriges lantbruksuniversitet
Konsulentavd./försäljning
Box 7075
750 07 Uppsala

MASSBREV

VÄXTSKYDDSNOTISER

Utgivna av Sveriges lantbruksuniversitet, Konsulentavd./växtskydd

Ansvarig utgivare: *Göran Kroeker*

Redaktör: *Annika Djurle*

Redaktionens adress: Sv. lantbruksuniversitet, Konsulentavd./växtskydd,
Box 7044, 750 07 UPPSALA. Tel. 018/17 10 00

Prenumerationsavgift för 1984: 60 kronor
Postgiro 78 81 40-0 Sv. lantbruksuniversitet, Uppsala

ISSN 0042-2169

Reklam & Katalogtryck Uppsala 1984