

30181 + 5703 ; 53.

Stamboek no. 952

5 DEK 60

Handwritten notes and stamps, partially illegible.

Verslag over:

De fysiologische specialisatie van *Cladosporium fulvum* Cooke,
welke schimmel de bladvlekkenziekte bij tomaat veroorzaakt.

februari 1960

Ir. G.P. Termohlen.

2236911

A
3
7
21

Inhoud

	pag.
1. Doel van het onderzoek.	1
2. Inleiding	1
3. Fysio's en resistentiegenen	2
4. Het toetsen van schimmelisolaties op een toetssortiment	4
4.1. Methodiek	4
4.1.1. Inoculatie	4
4.1.2. Invloed van de uitwendige omstandigheden op de reactiebeelden	5
4.1.3. Beoordeling van de aantasting	6
5. Het voorkomen van fysio's	8
5.1 Canada	8
5.2 Engeland	10
5.3 Nederland	11
6. Infectieproeven op afgesneden blad	13
7. Infectieproeven op entcombinaties	13
8. De reacties van mutanten, in vitro ontstaan	14
9. Relatie tussen fysio's en resistentiefactoren	15
9.1 Bespreking van symbolen	15
9.2 Canada	17
9.3 Engeland	19
9.4 Nederland	21
9.5 Introductie in de praktijk van nieuwe resistentiegenen	23
10. Samenvatting en conclusies	25
11. Suggesties voor verder onderzoek	26
12. Literatuur	27

De fysiologische specialisatie van *Cladosporium fulvum* Cooke, welke schimmel de bladvlekkenziekte bij tomaat veroorzaakt.

1. Doel van het onderzoek.

Het doel was na te gaan welke fysiologische rassen¹⁾ van de schimmel in Nederland aanwezig zijn. Tevens is getracht te bepalen in welke mate de fysio's voorkomen. Door het bekend zijn met de fysiologische specialisatie kunnen vatbaarheidstoetsen van selectiemateriaal ten behoeve van het kweken van resistente rassen betrouwbaarder worden uitgevoerd.

2. Inleiding.

Het onderzoek naar het voorkomen van fysio's in Nederland werd door de schrijver uitgevoerd in het laboratorium voor Fytopathologie te Wageningen in de jaren 1952, 1953 en 1954. Op het Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder Glas te Naaldwijk zijn in de jaren daarna aanvullende proeven genomen om de relatie na te gaan tussen fysio's en resistentiefactoren.

Behalve de resultaten van het eigen onderzoek worden een overzicht van de tot 1960 verschenen literatuur en een kritische beschouwing hiervan gegeven.

1) de term fysiologische rassen wordt in het vervolg afgekort tot fysio's (Oort - 1944).

3. Fysio's en resistentiegenen.

Voor een goed begrip van de symbolen, welke in de tekst gebruikt worden, wordt begonnen met een overzicht dat de relatie weergeeft tussen resistentiegenen en fysio's. In dit overzicht zijn zowel de oude (Langford 1937; Bailey 1950) als de nieuwe aanduiding (Butler 1953; Day 1956) voor genen en fysio's opgenomen.

Het in de tabel gevolgde systeem is te vergelijken met dat van *Phytophthora infestans* bij de aardappel (Black 1952). Het fysio met een bepaalde cijfercombinatie geeft op de overeenkomstige combinatie van de gastheer een vatbare reactie. In feite is dat de gen-om-gen hypothese van Flor (1954), welke wil zeggen dat bepaalde genen van de gastheer en de overeenkomstige genen van de parasiet de reactie bepalen. De tabel is gevormd aan de hand van 3 resistentiegenen van de tomaat, waartegenover 8 fysio's gesteld kunnen worden.

In de tekst en in de tabellen zullen in het vervolg uitsluitend de nieuwe aanduidingen gebruikt worden.

Tabel 1. Resistentiefactoren in cultuur- en wilde rassen en hun reactie ten opzichte van de fysio's.

Toetsrassen	resistentiegenen		fysio's en reactietype							
	oude aanduiding	nieuwe aanduiding	1	2	5	9	8	(10) ¹⁾	7	(6) ¹⁾
			0	1	2	3	1,2	(1,3)	2,3	(1,2,3)
Potentaat	cf	cf	V	V	V	V	V	V	V	V
Stirling Castle										
Leaf Mould Resister no. 1	Cf _{sc}	Cf ₁	R	V	R	R	V	V	R	V
Antimold A										
Hertford Cross										
Wormold										
Weibull's Immuna	Cf _p 1	Cf ₂	O	O	V	O	V	O	V	V
Single Cross I										
V 121										
Sapford's no. 1	Cf _p 2	Cf ₃	R	R	R	V	R	V	V	V
Single Cross II										
Antimold B										
V 473	Cf _{sc} Cf _p 1	Cf ₁ Cf ₂	O	O	R	O	V	O	R	V
Vulcan										
Lyc.pimpinellifolium 2)	Cf _{sc} Cf _p 1	Cf ₁ Cf ₃	R	R	R	R	R	V	R	V
59 - R 3)										
Lyc.pimpinellifolium 4)	Cf _p 1 Cf _p 2	Cf ₂ Cf ₃	O	O	R	O	R	O	V	V
Lyc.pimpinellifolium 5)										
F 101 6)	Cf _{sc} Cf _p 1 Cf _p 2	Cf ₁ Cf ₂ Cf ₃	O	O	R	O	R	O	R	V

1) fysio 1, 3 is hypothetisch; fysio 1,2,3 is éénmaal in Canada gevonden, verloren gegaan en nog niet herontdekt.

2) een selectie van dit wilde ras, afkomstig van het Instituut voor Veredeling van Tuinbouwgewassen, Wageningen.

3) door selectie verkregen zuivere lijnen uit de kruising *L. esculentum* x *Lyc. pimpinellifolium*.

4) Vineland strain, roodvruchtig.

5) een geelvruchtige selectie, aanwezig op het Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder Glas te Naaldwijk.

6) "breeding line" (Kerr, 1958).

4. Het toetsen van schimmelisolaties op een toetssortiment.

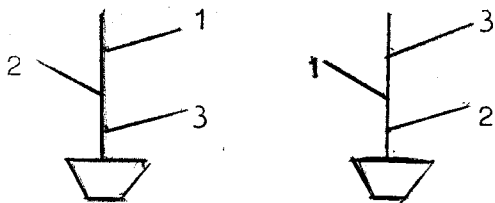
4.1. Methodiek.

4.1.1. Inoculatie.

Langford (1937) maakte rechtstreeks schimmelisolaties van een aange-
tast blad op cultuurbuizen aardappelglucoseagar. Sporensuspensies in water
voor inoculatieproeven waren afkomstig van kunstmatige culturen of van aan-
getast blad; in het laatste geval was de aantasting veroorzaakt door een
stam van bekende pathogeniteit. De proefplanten waren in de regel 1-2 maan-
den oud en krachtig groeiend. Ongeveer een uur nadat de sporensuspensie met
een handverstuivertje op de planten gebracht was, werden de planten geduren-
de 24 uur bij een relatieve luchtvochtigheid $>90\%$ geplaatst, daarna onder
normale omstandigheden.

Bailey (1950) inoculeert de planten in het 3^e-5^e blad-stadium; geduren-
de 24-48 uur blijven de planten bij een luchtvochtigheid boven 80% en een
temperatuur welke 32°C niet te boven gaat, daarna onder normale omstandig-
heden. De incubatietijd bedraagt 10-20 dagen, afhankelijk van temperatuur,
luchtvochtigheid en licht.

Day (1954) kweekte de schimmel, evenals Bailey op moutagar. Hij ging
uit van één - spore - culturen en maakte sporensuspensies van vitroculturen.
Aanvankelijk werd de gehele plant (3-4 bladeren) geïnoculeerd; later werkte
hij een methodiek uit waarbij op elk van drie bladeren (4^e, 5^e en 6^e blad)
van een plant met behulp van een penseel een suspensie van één isolatie
werd gebracht. Door hierbij in tweevoud te werken, kwam elk der drie isola-
ties in twee posities op de plant voor.



De planten waren op het moment van inoculeren ongeveer 1 maand oud en ble-
ven gedurende de incubatietijd (14-18 dagen) onder optimale omstandigheden
voor ontwikkeling van de schimmel, te weten een temperatuur van 22°C en een
relatieve luchtvochtigheid van 75-80%.

In het eigen onderzoek werd uitgegaan van méér - spore - culturen, wel-
ke rechtstreeks vanaf aangetast blad gekweekt werden op moutagar. Het ge-
vaar bestaat dan, dat meerdere fysio's tegelijk geïsoleerd worden. Dit ge-
vaar is echter niet zo groot; enkele opmerkingen hierover worden nog ge-
maakt op pag.12 onder punt5.3.

De planten werden geïnoculeerd in het 2^e-3^e blad-stadium (2-3 weken oud). Gedurende twee dagen na de inoculatie werd een relatieve luchtvochtigheid gehandhaafd >85%, daarna tot het eind der incubatietijd 70-80%. De temperatuur werd steeds op 20-24°C gehouden. Gedurende de incubatietijd werden temperatuur en luchtvochtigheid geregistreerd. Afhankelijk van het handhaven der optimale omstandigheden was de incubatietijd 11-20 dagen. De inoculaties werden uitgevoerd met een handverstuivertje. De planten stonden opgesteld in glazen kooien; per kooi kwam éénmaal het toetssortiment en één stam van de schimmel voor. Als controle naast de isolaties uit de praktijk dienden steeds de bekende fysio's 0, 1, 2, 3, (1,2) en (2,3) ¹⁾.

Oudere onderzoekingen melden geringe afwijkingen van de bovenbeschreven voorwaarden. Sengbusch en Loschakowa-Hasenbusch (1932) gebruikten gedroogd aangetast blad als inoculatiemateriaal. Gedurende de incubatietijd (10-15 dagen) adviseren zij een temperatuur van 20-25°C en een luchtvochtigheid van 100%, Small (1930) stelt deze waarden respectievelijk op 20-22°C en 95% en Makemson (1918) op 20-24°C en 88%.

Bond (1938) vermeldt dat de incubatietijd voor vatbare rassen korter is dan die voor resistente rassen. Deze waarneming is nimmer door andere onderzoekers bevestigd. In onze proeven hebben wij nooit een verschil kunnen constateren.

4.1.2. Invloed van de uitwendige omstandigheden op de reactiebeelden.

Langford (1937) wijst reeds op de variabiliteit van de reactie van *Cladosporium fulvum* onder invloed van temperatuur, luchtvochtigheid en licht, waarbij de daglengte een grotere rol speelt dan de lichtintensiteit. Een temperatuur beneden 20°C remt de ontwikkeling van de schimmel in de plant, een relatieve luchtvochtigheid <70% onderdrukt het sporuleren, terwijl gebrek aan licht de werkzaamheid van de resistentiefactor gedeeltelijk kan teniet doen. Een bekend voorbeeld hiervan is het ras Stirling Castle; in Canada is dit ras in de zomer resistent tegen fysio 0; in de winter treedt echter een vatbare reactie op, hoewel de vlekken kleiner zijn dan die van een "normale" vatbare reactie. Een andere waarneming is, dat een vatbaar ras na inoculatie bij een lage luchtvochtigheid (<60%), de indruk wekt resistent te zijn. Het is dus belangrijk zorg te dragen voor constante uitwendige omstandigheden gedurende verschillende achtereenvolgende proeven, om vergelijkingen tussen deze proeven mogelijk te maken.

1) De fysio's 0, 1, 2, (1,2) en (2,3) zijn in 1951 welwillend door Bailey afgestaan en in 1953 door schrijver van Bakker (1951) overgenomen; fysio 3 is in 1953 in Nederland gedetermineerd.

Bailey (1950) geeft een uitvoerige beschrijving van verschillende reactietypen onder invloed van geringe wijzigingen in de uitwendige omstandigheden. Onafhankelijk van de uitwendige omstandigheden kunnen bij vatbare rassen echter verschillen bestaan in symptomen ten opzichte van hetzelfde fysio; in sterkere mate geldt dit voor resistente rassen. De vatbaarheidsreactie van Vetomold (Cf_2) ten opzichte van fysio 7 is niet identiek aan die van V 121 (Cf_3). In het algemeen zijn de vlekken op bladeren van Vetomold groter en is het sporuleren heftiger. Zo bestaat er ook verschil tussen de resistente reacties van V 121 en Stirling Castle ten opzichte van fysio 5. Op de bladeren van Stirling Castle blijven de vlekken kleiner en scherper begrensd; het sporuleren wordt sterk onderdrukt; op de bladbovenzijde zijn gele vlekken eerder zichtbaar dan op blad van V 121.

4.1.3. Beoordeling van de aantasting.

Het tijdstip van de beoordeling werd door Bailey afhankelijk gesteld van het controle-ras Potentaat. Als hierop sterk sporulerende vlekken te zien waren, werden alle rassen van het toetssortiment beoordeeld. Hoewel dit ook in onze proeven een juiste maatstaf is gebleken, meenden wij toch het aantal door Bailey gegeven beoordelingsklassen te moeten uitbreiden. Bailey gebruikt de klassen S (susceptible), R (resistant) en I (immune). Wij gebruikten de volgende klassen:

tabel 2. Vatbaarheidsklassen van de reactie van *Cladosporium fulvum* op een toetssortiment.

Klasse	Beoordeling	Symptomen
1	zeer vatbaar	sterk sporulerende vlekken op de bladonderzijde; lichte verkleuring op de bladbovenzijde, later hierop ook vorming van sporen; spoedig afstervende bladeren.
2	vatbaar	sterk sporulerende vlekken op de bladonderzijde; weinig verkleuring en weinig of geen sporen op de bladbovenzijde.
3	weinig vatbaar	minder sporevorming op de bladonderzijde; op de bladbovenzijde toenemende geelkleuring der vlekken corresponderend met die op de bladonderzijde.

4	matig resistent	weinig sporevorming op de bladonderzijde; vlekken scherper begrensd, lichter van kleur op de bladonderzijde, geel van kleur op de bladbovenzijde; geringe necrose in het centrum der vlekken.
5	resistent	geen sporevorming; vlekken als bij 4; soms toenemende necrose, beginnend in het centrum van de vlekken.
6	onvatbaar	geen.

Om een vergelijking mogelijk te maken met de beoordelingswijze van Bailey werden de klassen 1, 2 en 3 samengevoegd tot vatbaar, 4 en 5 tot resistent. In een aantal gevallen is bij de beoordeling een keuze tussen de Klassen 3 en 4 zeer moeilijk geweest. Deze moeilijkheden traden vooral op bij de rassen V 121 (fysio 1, 2 en (1,2)), Stirling Castle (fysio 2 en (2,3)) en in mindere mate bij de rassen V 473 (fysio 2 en (2,3)) en Red Currant Vine-land strain (fysio 2). Onder omstandigheden van een verminderde lichthoeveelheid of die van een zeer hoge luchtvochtigheid gedurende langere tijd, was het reactietype voor de genoemde gevallen eerder weinig vatbaar dan matig resistent. In het bijzonder veroorzaakt de reactie van V 121 t.o.v. fysio 2 moeilijkheden. Waarnemingen van Bailey wijzen in dezelfde richting. Dat Day in zijn proeven meermalen gebruik maakt van het ras Sappford's no 1 inplaats van V 121, wijst ook in deze richting, hoewel hij geen opmerkingen maakt over de variabiliteit van de reactie van dit ras.

Uit het bovenstaande blijkt dat het belangrijk is in elke proef een "standaardreeks" op te nemen, dat wil zeggen de rassen van het toetssortiment en hun reactie t.o.v. de bekende fysio's. Het maken van vergelijkingen tussen een bekend fysio en een te toetsen isolatie is dan binnen één proef steeds mogelijk.

Onze proeven konden genomen worden in een kas, waarin het gehele jaar bij benadering de gewenste temperatuur^{en} luchtvochtigheid konden worden gehandhaafd. Gedurende de maanden oktober-maart werden de planten met behulp van 40 Watt TL-daglichtlampen bijbelicht. De te verwachten invloed der uitwendige omstandigheden op het reactietype werd hierdoor voldoende uitgeschakeld, hetgeen bleek uit de standaardreeks.

5. Het voorkomen van fysio's.5.1. Canada

Langford (1937) heeft het bestaan van fysiologische rassen aangetoond door 22 isolaties, afkomstig van 11 verschillende plaatsen in Ontario, op twee tomaterrassen te toetsen. Op de rassen Potentaat en Stirling Castle gaven 7 isolaties een vatbaarheids reactie, terwijl 15 isolaties op Potentaat een vatbaarheids reactie en op Stirling Castle een resistentie-reactie veroorzaakten. Deze reactie-typen worden door Langford toegeschreven aan fysio 0 en fysio 1. De vatbaarheids reactie uitte zich door sterk sporulerende, zich uitbreidende vlekken aan de bladonderzijde, de resistentie-reactie door vrij scherp begrensde gelige vlekken, zonder of met weinig sporen. Langford onderscheidde nog twee reactie-typen, veroorzaakt door twee, respectievelijk van fysio 0 en fysio 1 geïsoleerde mutanten die in vitro optraden¹⁾. Fysio 0 gaf op Potentaat en Stirling Castle een vatbaarheids reactie bestaande uit een zich uitbreidende necrose, fysio 1' veroorzaakte op Potentaat een vatbaarheids reactie en op Stirling Castle een resistentie-reactie, hetgeen tot uiting kwam in een scherp begrensde necrose. De fysio's 0' en 1' veroorzaakten nooit sporulerende vlekken. De resultaten van Langford kunnen worden samengevat in de volgende tabel.

tabel 3. Fysio's door Langford (1937) gedetermineerd²⁾.

fysio ras	0	1	0'	1'
Potentiaat	V	V	V ⁿ	V ⁿ
Stirling Castle	R	V	R ⁿ	V ⁿ

2) V = vatbaar, sporulerend.

R = resistent, weinig of niet sporulerend.

Vⁿ = vatbaar, necrotiserend.

Rⁿ = resistent, weinig necrotiserend.

Het is Langford niet gelukt uit de natuur mutanten van het bovenbeschreven karakter te isoleren. In verband met de fysiologische specialisatie merkt hij op: "cultures from other localities may possess different parasitic capabilities and new differential hosts may be found".

1) een nadere bespreking van vitro-mutanten volgt op pag. 14.

Op grond van het vinden van enkele mutanten mag men echter geen onbeperkt aantal fysio's verwachten, zoals Langford doet. Bovendien gaven de door hem gesignaleerde mutanten hetzelfde reactiespectrum op Potentaat en Stirling Castle als de fysio's waaruit ze zijn voortgekomen. Toch veronderstelt Langford dat eventuele nieuwe vormen van Cladosporium fulvum in de natuur ook door mutatie ontstaan.

Uit het onderzoek van Bailey (1950) is naar voren gekomen dat de door veredeling verkregen resistente tomaterrassen het mogelijk maakten "nieuwe" fysio's te determineren. Hij veronderstelt dat in 1940 in Canada slechts de door Langford gevonden fysio's 0 en 2 aanwezig waren. Doordat in Canada de bladvlekkenziekte vooral in de herfstteelt een belangrijke rol speelt, werd veel werk verricht op het gebied van de resistentie-veredeling.

In 1937 werd het voor fysio 0 en 1 onvatbare ras Vetomold geïntroduceerd; in 1940 kon vrij algemeen het nieuwe fysio 2 geïsoleerd worden, niet slechts van Vetomold, doch ook van andere rassen. In de loop van een tiental jaren werden achtereenvolgens de resistente rassen V 121 en V 473 in de handel gebracht, waarbij steeds vrij kort na de introductie een nieuw fysio kon worden aangetoond en wel fysio 2, 3 na V 121 en fysio 1, 2 na V 473. Het nieuwe fysio trad spoedig sterk op de voorgrond, vermoedelijk tengevolge van de algemene verbreiding van het aanvankelijk resistente ras, aldus Bailey. Evenals Langford, is Bailey van mening, dat nieuwe fysio's door mutatie ontstaan, evenwel sterk onder invloed van een in de praktijk gebracht resistent ras. Tussentijds werden door Bailey nog twee fysio's geïsoleerd, aangeduid met 1, 2, 3 en 3, respectievelijk van het ras Stirling Castle in 1940 en van V 121 in 1947. Ter verduidelijking volgt de determinatietabel van Bailey. Red Currant Vineland strain en Stirling Castle zijn het uitgangspunt geweest voor de veredeling; hieruit zijn Vetomold, V 121 en V 473 voortgekomen. Red Currant Vineland strain en no 160 zijn vormen van *Lyc. pimpinellifolium*; H 11-22-15 M is een vorm van het wilde ras *Lyc. hirsutum*.

tabel 4. De reactie op een toets assortiment van de in 1950 bekende fysio's ¹⁾.

ras	fysio						
	0	1	2	1,2,3	2,3	1,2	3
Potentaat	V	V	V	V	V	V	V
Vetomold	O	O	V	V	V	V	O
V 121	R	R	R	V	V	R	V
Stirling Castle	R	V	R	V	R	V	R
V 473	O	O	R	V	R	V	O
Red Currant, Vineland strain	O	O	R	V	V	R	O
No 160	O		O	R	R	R	R
H 11-22-15 M	O		O	O	O	O	O
L. hirsutum	O		O	O	O	O	O
L. hirsutum var. glabratum	O		O	R	R	O	O

1) In de oorspronkelijke tabel van Bailey zijn de symbolen S (susceptible), R (resistant) en I (immune) gebruikt; in deze tabel zijn de symbolen respectievelijk V (vatbaar), R (resistent) en O (onvatbaar).

Bailey vermeldt niet waarom enkele reactie-typen t.o.v. fysio 1 ontbreken. Uit eigen ervaring is komen vast te staan dat no 160 resistent is tegen fysio 1

5.2. Engeland

Zowel in Engeland als in Nederland kon het onderzoek naar het voorkomen van fysio's worden gebaseerd op de door de bekende resistentiefactoren gegeven mogelijkheden (zie tabel 1, pag. 3). Ten behoeve van het toetsen van isolaties uit de praktijk bracht Day (1954) in onderstaande tabel een vereenvoudiging aan en stelde dat de tot nu toe bekende fysio's met behulp van drie rassen van elkaar konden worden onderscheiden. Day verving het ras Stirling Castle door het ras Leaf Mould Resister no 1 (in het vervolg afgekort tot L.M.R.), dat hetzelfde reactietype heeft. De tabel ziet er als volgt uit:

tabel 5.

ras	gen	fysio's							
		0	1	2	3	1,2	2,3	1,3	1,2,3
L.M.R.	Cf ₁	R	V	R	R	V	R	V	V
Vetomold	Cf ₂	O	O	V	O	V	V	O	V
V 121	Cf ₃	R	R	R	V	R	V	V	V

Fysio 1,3 is hypothetisch; op grond van de bekende resistentiefactoren kan dit fysio wel in de tabel worden opgenomen.

In 1951 isoleerde Day van 52 monsters bladvlekkenziekte uit Engeland en Wales de fysio's 0, 1, 2 en 1,2 en in 1953 van 113 monsters de fysio's 0, 1, 2, (2,3), (1,2) en 3. De frequentie van voorkomen der fysio's wordt duidelijk gemaakt in de volgende tabel:

tabel 6.

jaar	fysio						totaal
	0	1	2	1,2	2,3	3	
1951	27	6	17	2	0	0	52
1953	82	11	24	3	1	3	113

Fysio 1,2,3 werd gedurende het onderzoek niet gevonden. Omdat Day verwachtte dat fysio 0 meer zou voorkomen op de vatbare rassen en de overige fysio's meer op de resistente rassen, maakte hij een indeling naar de ras-herkomst, welk overzicht er als volgt uit ziet.

tabel 7.

jaar	resistente rassen		vatbare rassen		onbekende rassen
	fysio 0	andere fysio's	fysio 0	andere fysio's	
1951	7	16	16	7	6
1953	8	21	61	16	18

5.3. Nederland

Uit eigen onderzoek is naar voren gekomen, dat in 1953 en 1954 de fysio's 0, 1, 2, 3, (1,2) en (2,3) in Nederland voorkwamen. In deze jaren zijn 300 isolaties getoetst, welke verspreid over geheel Nederland zijn geïsoleerd.

Het voorkomen van fysio's in Nederland.

tabel 8.

1953/'54	fysio					totaal
	0 en 1	2	2,3	1,2	3	
aantal isolaties	204	33	30	19	14	300
in%	68	11	10	6,3	4,7	100

Bij het toetsen van 250 isolaties werd helaas een foutief Stirling Castle-type gebruikt, waardoor geen onderscheid gemaakt kon worden tussen fysio 0 en fysio 1. Voor de toets van de overige 50 isolaties hadden wij wel de beschikking over de juiste Stirling Castle, waardoor 11 maal fysio 1 kon worden aangetoond, tegen 39 maal fysio 0 (in de tabel zijn alle reactietypen voor fysio 0 en 1 samengevat onder 1 + 2). Waarschijnlijk speelt fysio 0 dan ook een overheersende rol in Nederland. Dit is begrijpelijk, omdat slechts rassen van het volledig vatbare type worden geteeld.

In Canada zijn de door veredeling verkregen resistente rassen vrijwel steeds op grote schaal door de praktijk geaccepteerd; in Engeland is dit in veel mindere mate het geval geweest. In Nederland zijn slechts incidenteel voor proefnemingen resistente cultuur- en wilde rassen in de praktijk aanwezig geweest. (een uitzondering voor één ras wordt op pag.22 nader toegelicht).

In tabel 8 wordt de onderlinge verhouding van de fysio's weergegeven, zoals deze in Nederland in de jaren 1953 en 1954 voorkwam. De verhouding per provincie wordt vermeld in de volgende tabel:

tabel 9. Verspreiding van fysio's over Nederland in de jaren 1953, 1954.

provincie	aantal isolaties	fysio's									
		0 en 1		2		2,3		1,2		3	
		aantal	%	aantal	%	aantal	%	aantal	%	aantal	%
Noord Holland	13	9	69,2	1	7,7	1	7,7			2	15,4
Zuid Holland	89	62	69,7	6	6,7	12	13,5	2	2,2	7	7,9
Zeeland	2									2	100
Noord Brabant	2	2	100								
Limburg	43	41	95,3	2	4,7						
Gelderland	58	28	48,3	12	20,7	10	17,2	7	12,1	1	1,7
Utrecht	44	42	95,4							2	4,6
Overijssel	-										
Drente	-										
Groningen	38	10	26,3	12	31,6	6	15,8	10	26,3		
Friesland	11	10	90,9			1	9,1				
Nederland	300	204	68	33	11	30	10	19	6,3	14	4,7

Ook per provincie is fysio 0 dus in de meerderheid. Slechts de provincie Groningen maakt hierop een uitzondering. Enkele malen werd fysio 0 samen met één der andere fysio's geïsoleerd, hetgeen uit de reactie op het toetssortiment bleek; fysio 0 werd nimmer onderdrukt.

6. Infectieproeven op afgesneden blad.

Bond (1936) kon afgesneden bladeren na afspoelen met steriel water, op vochtig filtreerpapier in petrischalen in het licht ongeveer 5 weken goed houden; de bladeren maakten zelfs adventiefwortels. De symptomen van aantasting door Cladosporium fulvum kwamen echter niet zo duidelijk naar voren als op de bladeren van een intakte plant.

In het eigen onderzoek werden bladeren van het toetssortiment gestekt in een mengsel zand-turfmolm (1:2) en één dag na het stekken geinoculeerd (bijlage 1, foto 1). Het reactietype kwam toen ook niet duidelijk naar voren; voor het merendeel ontstonden vlekken van het resistentie-type, of in het geheel geen vlekken. Werd echter de inoculatie verricht na voldoende beworteling der stekken dan kwam bijna steeds ^{het} juiste reactietype tevoorschijn. In bepaalde gevallen kan deze methode dus gebruikt worden als na-contrôle van selectiemateriaal der veredeling, door een proef uit te voeren op bewortelde stekken van bladeren of zij-scheuten.

Day (1951) vermeldt dat afgesneden bladeren van planten met een resistentie factor geen symptomen te zien gaven indien deze ⁱⁿ sterk licht gehouden worden; bij verlaging van de lichtintensiteit verschenen vlekken van het resistentie-type. Daar de schimmel onder vrijwel alle omstandigheden het blad binnendringt (van vatbare zowel als van resistente planten), wordt de uitbreiding van de infectie blijkbaar bepaald door de hoeveelheid in het blad aanwezige assimilaten. Opeenhoping hiervan gaat de uitbreiding van de infectie ^{tegen}; de werking van de resistentiefactor is dan blijkbaar in het minimum. Dit is in overeenstemming met de bovenbeschreven proeven met bladstekken. De waarneming in de praktijk, dat na een periode van donker weer een naar voren treden van de ziektesymptomen te verwachten is, is hiermee ook in overeenstemming.

7. Infectieproeven op entcombinaties.

De fysio's 0, 2 en 1,2 werden geinoculeerd op de volgende combinaties:

fysio 0:	<u>Potentaaat</u> Vetomold	,	<u>Potentaaat</u> V 121	en beide reciproom
	<u>Vetomold</u> V 121	,	<u>Potentaaat</u> V 473	" " "
fysio 2:	<u>Vetomold</u> V 121	,	<u>V 473</u> L. pimp.160	" " "
fysio 1,2:	<u>V 473</u> L. pimp.160	,	<u>Potentaaat</u> L. pimp.160	" " "

Potentaaat = cf V 121 = Cf₃
 Vetomold = Cf₂ V 473 = Cf₁ Cf₂
 L.pimp.160 = ?

In een eerste serie werd de onderstam geinoculeerd; pas na het verstrijken van de incubatietijd werd de ent geinoculeerd. In een tweede serie werden onderstam en ent tegelijk geinoculeerd. In alle gevallen werd een normaal reactiebeeld verkregen van het fysio op de desbetreffende gastheer. Er gaan dus geen invloeden uit van ent of onderstam, welke de reactie van de component kunnen wijzigen (bijlage 1, foto 2).

Bond (1936) entte tomaat op andere Solanaceeën, zoals Solanum tuberosum, S. nigrum, Atropa belladonna, Datura stramonium. Na inoculatie van de ent (tomaat vindt hij geen invloeden op het reactiebeeld, welke mogelijk van de onderstam zouden kunnen uitgaan. Bond stelde ook vast, dat Cladosporium fulvum wel in andere Solanaceeën dan tomaat kan binnendringen; de uitbreiding der infectie was steeds zeer gering, conidiënvorming kwam niet voor.

Volk (1931) stelde ook reeds vast dat Cladosporium fulvum niet agressief werd op een antagonistische gastheer, wanneer deze geënt was op een vatbare plant. Wel was de ontwikkeling van de schimmel op een vatbare ent afhankelijk van de ontwikkeling van de tomaat op een onderstam van een Solanumsoort.

8. De reacties van mutanten, in vitro ontstaan.

De variabiliteit van de schimmel in vitro is ontstellend groot; deze variabiliteit uit zich in de kleur van het mycelium, de vorming van sporen en het vormen van mutanten en is in belangrijke mate afhankelijk van het substraat en de temperatuur. De kleur van alle fysio's is op gebruikelijke voedingsbodems als mout-, kers-, haver- en aardappelglucoseagar gewoonlijk olijfgroen. De mutaties in vitro zijn gemakkelijk te herkennen door een afwijkende kleur (wit, oranje, zeemkleurig) en groeiwijze (veel luchtmycelium). De mutanten, welke uit culturen in vitro geïsoleerd werden, bleven bij verder kweken constant; de sporevorming der mutanten varieert van 0% tot ongeveer 50% vergeleken met die van de oorspronkelijke culturen. In het algemeen neemt bij regelmatig overenten de sporevorming der mutanten geleidelijk af.

Infectieproeven met niet-sporevormende mutanten werden reeds door Langford (1937) beschreven: "a progressive necrosis of the infected tissue occurred which, on susceptible varieties, resulted in enlarging dried-out spots resembling those following inoculation with "normal strains" of the fungus under conditions of low relative humidity".

In onze infectieproeven met niet-sporevormende mutanten van de fysio's 0, 1, 2, (1,2) en 3 - geinoculeerd werd met myceliumsuspensies - werd op het toetsortiment vrijwel steeds hetzelfde reactiespectrum verkregen als met de fysio's waarvan de mutanten afkomstig waren. Opvallend was hierbij, dat de incubatietijd

van een mutant, afhankelijk van de omstandigheden, 3-5 dagen korter was dan die van het oorspronkelijke fysio. Eén uitzondering werd gevormd door een mutant van fysio 7, welke op alle rassen een resistentie-reactie veroorzaakte; in dit geval was de incubatietijd normaal. De infectie door niet sporevormende (necrotische) mutanten komt tot stand doordat een hyphe een huidmondje binnendringt. De uitbreiding in het bladweefsel verloopt op dezelfde wijze als bij de normale fysio's. Het mycelium sterft niet af; het lukte bijna steeds de mutant te herisoleren, in enkele gevallen zelfs tot vier weken na de inoculatie, toen het blad tengevolge van de zich uitbreidende necrose vrijwel was afgestorven (bijlage 2, foto 3). Nimmer werd geconstateerd dat een niet-sporevormende mutant op de plant sporen vormde. Sporevormende mutanten sporuleerden op de plant ook, maar in mindere mate dan de normale fysio's.

Omdat de reactie door mutanten veroorzaakt aan een toxine zou kunnen worden toegeschreven, zijn planten gezet op een myceliumvrije suspensie, verkregen door een mutant op kaasdoek in moutextract te kweken en daarna te filtreren. (bijlage 2, foto 4). Op de planten kon geen reactie worden waargenomen, ook niet na injectie of bestuiving van de planten met deze suspensie. Dergelijke inoculaties zijn ook verricht met extract van bladeren aangetast door een mutant, eveneens zonder resultaat. De reactie van een niet-sporevormende mutant doet denken aan overgevoeligheid. De mutant zou dus minder pathogeen genoemd mogen worden. De agressiviteit is identiek aan die der normale fysio's. (De begrippen virulent en agressief worden door Zadoks (1959) duidelijk gemaakt. Een fysio is virulent wanneer het op een toetsras ernstige symptomen opwekt; een fysio is agressief wanneer het veel rassen van een toetssortiment aantast. Voor de term virulent zouden wij liever de term pathogeen gebruiken). De niet sporevormende mutanten vormen in elk geval geen gevaar voor de praktijk, daar instandhouding via sporen niet mogelijk is.

9. Relatie tussen fysio's en resistentiefactoren.

9.1. Bespreking van symbolen (zie tabel 1 op pag. 3).

Het wilde ras Lycopersicum pimpinellifolium Vineland Strain is als uitgangspunt voor de veredeling op resistentie gebruikt (Langford, 1937). Dit ras bezit twee dominante, onafhankelijk van elkaar splitsende factoren voor resistentie, namelijk Cfp_1 en Cfp_2 : de eerste faktor is epistatisch over de tweede. Langford had reeds een resistentiefaktor in het ras Stirling Castle gevonden welke faktor hij $Cfsc$ noemde. De faktor is eveneens dominant.

Het cultuurras Vetomold is ontstaan uit de kruising Potentaat (Lycopersi-

cum esculentum) x *Lycopersicum pimpinellifolium* en bezit de faktor Cfp_1 . Het ras V 121, ontstaan uit dezelfde kruising, bezit de faktor Cfp_2 . Uit een kruising tussen Stirling Castle en genoemd wilde ras is het ras V 473 voortgekomen, dat de factoren Cfp_1 en $Cfsc$ in zich verenigd heeft.

Ter voorkoming van misverstanden heeft Butler (1953) een standaardisering van gen- symbolen voorgesteld. De resistentiefactoren worden in volgorde van ontdekking genummerd, waardoor $Cfsc$, Cfp_1 en Cfp_2 respectievelijk worden Cf_1 , Cf_2 en Cf_3 . Day suggereert bovendien een andere nomenclatuur voor de fysio's dan Langford en Bailey gebruikt hebben. Een fysio krijgt diè cijfercombinatie, welke de werking der betreffende factorencombinatie kan teniet doen. Het symbool Cf voor resistentie past beter in het genoverzicht van de tomaat dan het symbool R ; het vermijden van het symbool R kan het voordeel hebben dat geen verwarring optreedt, indien in genen- schrift de resistentie tegen meerdere ziekten moet worden weergegeven. Naar onze mening zou in overweging genomen kunnen worden het symbool R voor resistentie in het systeem voor *Phytophthora infestans* door een ander symbool te vervangen. Voor het aangeven van de reactie wordt bij *Phytophthora* gebruik gemaakt van de symbolen R en V (resistent en vatbaar). Bij *Cladosporium* is nog een derde symbool O (onvatbaar) gebruikt.

Zowel voor de O - als voor de R -reacties kunnen verschillen bestaan tussen de toetsrassen ten opzichte van hetzelfde fysio. De faktor Cf_2 geeft steeds een volledige onvatbaarheidsreactie ten aanzien van de fysio's O en 1 , ook al geschiedt dit in combinatie met de factoren Cf_1 en/of Cf_3 . De faktor Cf_2 oefent blijkbaar een sterkere werking uit dan de factoren Cf_1 en Cf_3 . Op grond van deze waarnemingen dient men te besluiten de symbolen O en R van elkaar te onderscheiden.

Het reactietype voor de factorencombinatie Cf_1 , Cf_2 , Cf_3 is opgesteld door de reacties der afzonderlijke factoren te combineren, waarbij rekening is gehouden met het feit dat O en R steeds dominant zijn over respectievelijk R en V (genoemde factorencombinatie was niet beschikbaar om kunstmatig te worden getoetst). De reactie van de combinatie Cf_2 , Cf_3 is met deze werkhypothese in overeenstemming, omdat ook in Nederland bij het toetsen is waargenomen, dat steeds met fysio 2 een R - en met fysio 3 een O -reactie optreedt.

Toxopeus (1956) gebruikt de parasietymbolen p_1 , p_2 , p_1p_2 , enz. om de fysio's van *Phytophthora infestans* aan te duiden. Bij *Cladosporium fulvum* wordt dus, om de resistentiefactoren aan te geven, gebruik gemaakt van de symbolen voor de parasiet, terwijl de fysio's worden aangeduid met een cijfercombinatie. Bij *Phytophthora infestans* wordt R voor de resistentiefaktor en p voor de fysio's gebruikt. Zou niet te overwegen zijn de genen in de gastheer aan te duiden

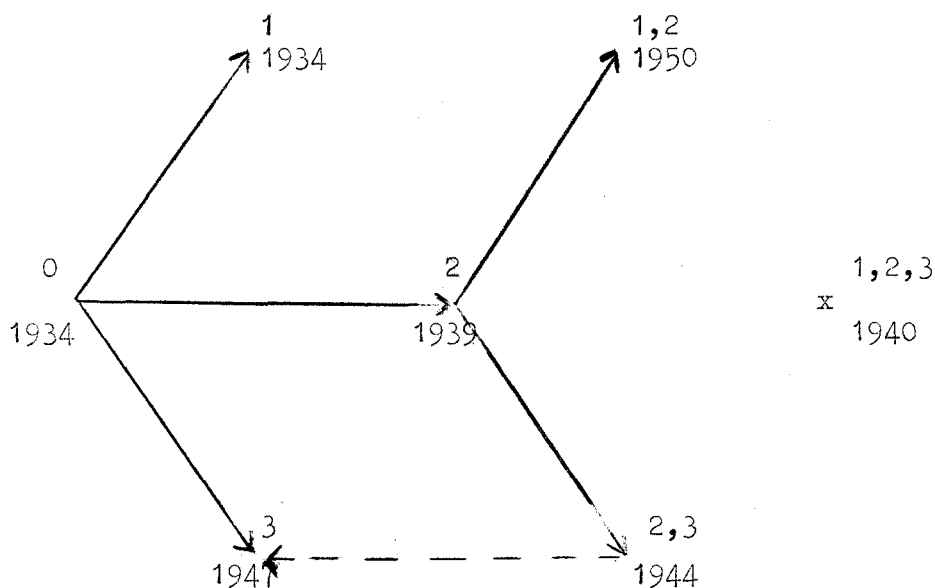
met hoofdletters en de genen in de parasiet die daarop aansluiten, met kleine letters, waarbij de letters steeds betrekking hebben op de parasiet. Voor *Cladosporium fulvum* zou het nieuwe symbolenschrift er dan als volgt uit zien:

tabel 10.

aanduiding resistentiegenen		aanduiding fysio's	
dit verslag	voorgesteld	dit verslag	voorgesteld
cf	CF ₀	0	cf ₀
Cf ₁	CF ₁	1	cf ₁
Cf ₂	CF ₂	2	cf ₂
Cf ₃	CF ₃	3	cf ₃
Cf ₁ Cf ₂	CF _{1,2}	1,2	cf _{1,2}
Cf ₁ Cf ₃	CF _{1,3}	1,3	cf _{1,3}
Cf ₂ Cf ₃	CF _{2,3}	2,3	cf _{2,3}
Cf ₁ Cf ₂ Cf ₃	CF _{1,2,3}	1,2,3	cf _{1,2,3}

9.2 Canada

Bailey (1950) vermeldt dat het in 1937 geïntroduceerde en voor fysio 0 en 1 onvatbare ras Vetomold in 1940 vrij algemeen werd aangetast, nadat in 1939 voor 't eerst een lichte aantasting geconstateerd was. Van het op grote schaal geteelde ras werd uitsluitend het nieuwe fysio 2 geïsoleerd. Ook op rassen die niet onvatbaar waren voor fysio 0 en 1, kon slechts fysio 2 worden aangetoond, met uitzondering van enkele isolaties gemaakt van geïsoleerd staande vatbare rassen. Fysio 0 is dus vrijwel geheel verdrongen door fysio 2. Het na het bekend worden van fysio 2 in de handel gebrachte ras V 121 (1941), resistent tegen dit fysio, werd enkele jaren later vatbaar. Het nieuwe fysio 2,3 bleek in de jaren 1947, 1948 en 1949 volledig te domineren over fysio 2. Kort na de introductie van het ras V 473, resistent tegen fysio 2,3 werd fysio 1,2 geïsoleerd waarvoor dit ras vatbaar was. Tussentijds werden de fysio's 1,2,3 en 3 geïsoleerd, respectievelijk van het ras Stirling Castle in 1940 en van het ras V 121 in 1947. Het chronologisch overzicht van het ontdekken der fysio's in Canada ziet er als volgt uit.



De gedachten van Bailey over het door mutatie ontstaan van nieuwe fysio's zijn eveneens in het overzicht weergegeven.

Fysio 2 zou ontstaan zijn uit fysio 0 en fysio 1,2 uit 2. Omdat fysio 2 door het algemeen telen van het ras V 121 vrijwel werd verdrongen, vermoedde Bailey dat fysio 1,2 geen sterke uitbreiding zou ondergaan. Bailey stelt dus de uitbreiding van een nieuw fysio afhankelijk van de aanwezigheid van het fysio waar uit het nieuwe fysio is voortgekomen. Hij zegt ook, dat het ontstaan van een nieuw fysio in hoge mate geïnduceerd wordt door het introduceren van resistente tomaterrassen. Nemen we als voorbeeld fysio 1,2, dan zou het ontstaan ervan dus enerzijds afhankelijk zijn van de aanwezigheid van fysio 2 en anderzijds van de introductie van het ras V 473 ($Cf_1 Cf_2$). Is eenmaal fysio 1,2 aanwezig, dan is het echter aannemelijker dat de uitbreiding van dit fysio afhankelijk is van het telen van het ras V 473, omdat dit ras als het specifieke selectiemedium voor fysio 1,2 beschouwd kan worden.

Bailey veronderstelt dat fysio 3 uit fysio 0 kan zijn ontstaan, of uit fysio 2,3 door verlies van pathogeniteit ten opzichte van de faktor Cf_2 . Fysio 3 werd vermoedelijk geïsoleerd van het ras V 121 (Cf_3), in elk geval in een streek waar Vetomold (Cf_2) niet aanwezig was.

Ten tijde van het ontdekken van fysio 3 bleek ook fysio 2,3 volledig te domineren over fysio 2. Over de oorsprong van fysio 1,2,3 wordt geen mededeling gedaan. Dit fysio is nooit algemeen verspreid. Zelfs de cultuur van dit fysio is verloren gegaan.

Een resistent ras is steeds plotseling volledig vatbaar geworden; intermediaire reacties, welke op aanpassing zouden kunnen wijzen, zijn nooit waargenomen. Het is onwaarschijnlijk dat een nieuw fysio vóór het signaleren ervan

reeds aanwezig geweest is, omdat dan het resistente genenmateriaal voor de veredeling hierop had moeten reageren, aldus Bailey. Hij toonde echter wel aan, dat een fysio op de kiemlobben van een niet-passende gastheer in leven gehouden kon worden; fysio 0 kon 8 generaties lang op cotylen van *Vetomold* (Cf_2) in stand gehouden worden, terwijl dit op cotylen van *Lycopersicum pimpinellifolium* Vineland (Cf_2Cf_3) gedurende 18 generaties lukte. Van aanpassing was geen sprake. De herisolatie van binnengedrongen mycelium slaagde ook nog na enkele weken. Interactie tussen parasiet en gastheer is dan mogelijk. Deze interactie geeft volgens Bailey aanleiding tot de vorming van mutanten. Nimmer konden evenwel in interactie-proeven mutanten worden aangetoond. Het is echter mogelijk dat bij deze proeven de frequentie-drempel der natuurlijke mutatie niet bereikt werd. Zelfs is het mogelijk dat de natuurlijke mutatie een lage frequentie heeft, gegeven het feit dat de wilde rassen blijkbaar geen indicator kunnen zijn voor nieuw-optredende fysio's. Een pathogene of agressieve mutant heeft op een voor deze mutant vatbare gastheer zeer goede kansen in de concurrentie, strijd met minder pathogene of niet-agressieve mutanten. Een nieuw fysio zou gelijktijdig op verschillende plaatsen kunnen ontstaan.

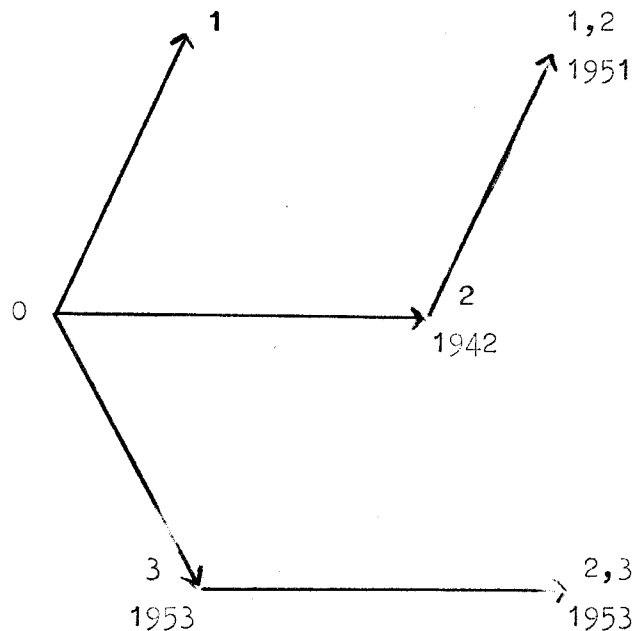
9.3. Engeland

In tegenstelling tot Bailey ging Day (1954) bij het onderzoek naar de fysiologische specialisatie uit van de door de bekende resistentiefactoren gegeven mogelijkheden.

In 1951 kwam in Engeland fysio 2 meer voor dan fysio 1 (zie tabellen 6 en 7 op pag. 11). Day veronderstelt nu, dat fysio 1,2 uit fysio 2 ontstaan is. Uit de situatie van 1953 leidt hij af dat fysio 2,3 vermoedelijk uit fysio 3 is ontstaan. Op grond van het betrekkelijk geringe aantal waarnemingen moet de juistheid dezer veronderstelling worden betwijfeld. Hierover staan geen waarnemingen vóór 1951 ter beschikking. Het moet echter onwaarschijnlijk geacht worden, aldus Day, dat toen andere fysio's dan fysio 0 gedomineerd hebben.

Volgens Bailey is fysio 3 ontstaan uit fysio 0 of fysio 2,3; volgens Day is fysio 2,3 uit fysio 3 ontstaan. Vermoedelijk veronderstelt Day dus dat fysio 3 ontstaan is uit fysio 0.

Het schema volgens Day ziet er als volgt uit (vgl. schema Bailey op pag. 18)



Day vermeldt, dat het aantal fysio's in een gastheerpopulatie voor een groot deel afhankelijk is van het aantal en de mate van voorkomen van resistentiegenen in die populatie; feitelijk zegt Bailey hetzelfde als hij het ontstaan van nieuwe fysio's afhankelijk stelt van de introductie van nieuwe resistentiefactoren. De volgorde van ontstaan van fysio's kan in dat geval slechts worden vastgesteld, indien precies bekend is welke rassen van de gastheer in de loop der jaren geteeld zijn. Dit kan in elk land en in elke streek verschillend zijn.

Het perfecte stadium van *Cladosporium fulvum* is nooit gevonden. Indien dit toch bestaat, zouden veranderingen in het fysio-sortiment door kruising aannemelijk zijn. Day (thesis, 1954, niet gepubliceerd) heeft door proefneming en getracht aan te tonen of de begrippen mutatie en heterokaryose als bronnen van variatie in aanmerking zouden kunnen komen.

De conidiën van *Cladosporium fulvum* zijn 1-, 2-, 3- of meercellig (bijlage 3, foto 5). Tussen de fysio's bestaan geen verschillen wat betreft het aantal cellen per conidie. Alleen in zeer jonge culturen zijn 2-kernige conidiën geconstateerd, voordat een dwarswand gevormd wordt. Tussen conidiën en tussen hyfen van kiemende sporen kunnen anastomosen optreden. De mogelijkheid tot het vormen van heterokaryons is dus aanwezig. De mogelijkheid tot het ontstaan van nieuwe fysio's is dus ook aanwezig, mits een tot nu toe niet bekende combinatie van agressie-factoren optreedt.

Noch proeven van Day, noch eigen proeven hebben het ontstaan van nieuwe fysio's door heterokaryose kunnen aantonen. Day inoculeerde een gastheer, welke de genetische samenstelling $Cf_1 Cf_2$ had, met een mengsuspensie van de fysio's 1 en 2. Zou nu het heterokaryon 1 + 2 gevormd worden en bovendien in pathogeen opzicht

aequivalent zijn met fysio 1,2, dan moesten op Cf₁Cf₂ vatbaarheidssymptomen waargenomen worden. Dit was niet het geval, noch na inoculatie gevolgd op geruime tijd samengroeien van fysio 1 en 2, noch na menging van deze fysio's direct voor de inoculatie. In eigen proeven hebben fysio-combinaties, gebaseerd op de in cultuur- en wilde rassen aanwezige combinaties van resistentie factoren, evenmin resultaten opgeleverd. Hoewel het onwaarschijnlijk is dat heterokaryose een rol speelt bij het ontstaan van nieuwe fysio's, mogen bovenbeschreven negatieve proeven niet als bewijs hiervoor gelden. Day neemt uiteindelijk mutatie als bron van variatie aan. Bij een interactie tussen een fysio en een resistente gastheer ontstaat een mutant met een specifiek agressiviteitsgen ten opzichte van deze gastheer. Hij toonde in proeven aan, dat fysio's met een nauw spectrum (dus met een beperkt agressiviteitspatroon) fysio's met een wijder spectrum onderdrukken op de cotylen van een vatbaar ras, terwijl op de cotylen van een resistent ras de pathogene component werd geselecteerd. In deze proeven werd gewerkt met "pigment"-mutanten, welke t.o.v. de oorspronkelijke cultuur dezelfde pathogeniteit hadden, doch onmiddellijk op kleur te herkennen waren in mengsels met andere fysio's. Ook werd aangetoond dat fysio's met het grootste spectrum het minst virulent waren op oorspronkelijke vatbare rassen. Wanneer in de praktijk een dergelijke strijd tussen de fysio's plaats heeft, mag verwacht worden dat de samenstelling van het fysio-sortiment afhankelijk is van de aard en de frequentie van voorkomen der gastheer-genotypen. Enerzijds zal het gebruik van resistentie rassen leiden tot een hoger percentage gespecialiseerde fysio's, anderzijds zal de virulentie dezer fysio's op voorheen reeds vatbare rassen eerder af- dan toenemen.

Bailey vermeldt (zie pag.9) dat een nieuw fysio spoedig domineerde over het aanvankelijk overheersende fysio, ook op voor het oorspronkelijke fysio vatbare rassen. De wisselwerking tussen beide fysio's was blijkbaar niet ten gunste uitgevallen van het oorspronkelijke fysio (nauw spectrum). Zou jaar in jaar uit op dezelfde plaats hetzelfde vatbare ras geteeld worden, dan zou waarschijnlijk het oorspronkelijke fysio wel (opnieuw) de overhand krijgen.

9.4. Nederland

Bezien we nu opnieuw de in Nederland voorkomende fysiopopulatie (zie tabel 9 op pag.12). Tot 1955 is het niet mogelijk gebleken de herkomst van de generna te gaan van de in praktijk geteelde cultuurrassen. De meest gangbare rassen zijn getoetst op hun vatbaarheid; daarbij bleek dat deze rassen door alle in Nederland voorkomende fysio's konden worden aangetast. Ervaringen uit de praktijk leren dat enkele vatbare rassen minder sterk aangetast worden door de bladvlekkenziekte. Zeer waarschijnlijk berust dit meer op fysiologische fakto-

ren (b.v. ruimere bladstand, iets krachtiger groei) dan op het bezit van resistentiefactoren.

Als hypothese zou kunnen worden aangenomen dat de fysio's 1, 2, 3, (1,2) en (2,3) toevallig ontstaan zijn. Het is zeer onwaarschijnlijk dat vòòr 1940 resistentiefactoren in Nederland geïntroduceerd zijn. Na 1940 is het ras Vetomold (Cf_2) gedurende enkele jaren op zeer beperkte schaal geteeld en dan nog slechts in het Westen des lands. Dit kan mogelijk geleid hebben tot het ontstaan van fysio 2. Het is dan echter waarschijnlijker dat dit fysio ontstaan is na de meer algemene introductie van het ras Single Cross, een F_1 tussen Vetomold en een vatbaar cultuurras. Dit ras is door de kweker Bruinsma te Naaldwijk in de handel gebracht. Na enkele jaren werd deze Single Cross op grond van een toenemende vatbaarheid (nimmer werd aangetoond of dit ras ten tijde van de introductie volledig onvatbaar was) vervangen door Single Cross II. In plaats van Vetomold, werd het ras V 121 (Cf_3) als een der ouders voor de F_1 gebruikt. Volgens de gedachtengang van Bailey zouden hierdoor de fysio's 2,3 en 3 ontstaan kunnen zijn. De rassen Single Cross I en II waren in Nederland in het begin der vijftiger jaren echter praktisch weer verdwenen.

Het waarnemen van de fysio's 2, 3, (1,2) en (2,3) in Nederland is mogelijk geweest doordat de verzamelde isolaties getoetst zijn op een toetssortiment, waarin de selectiemedia voor deze fysio's aanwezig waren. Het overheersen van fysio 0 in Nederland moet een gevolg zijn van het feit, dat rassen van het vatbare type (cf) verre in de meerderheid zijn. Het toevallig ontstaan der fysio's hoeft niet in tegenspraak te zijn met de argumenten van Bailey en Day, mits men aanneemt dat de frequentie van het ontstaan toeneemt met de introductie van resistentiegenen.

Het is waarschijnlijk ook niet zo, dat het selectie- specifieke medium voor een bepaald fysio aanwezig moet zijn, om aan dit fysio de grootste kans op verspreiding te bieden. Bailey vond namelijk fysio 2,3 het eerst op het ras V 121 (Cf_3), waarna dit fysio zich via dit ras sterk heeft verspreid. Voor de toevalsfactor moet blijkbaar een grotere plaats worden ingeruimd dan Bailey en Day veronderstellen. Als dus maar een ras aanwezig is dat vatbaar is voor een nieuw fysio, krijgt dit fysio een verspreidingskans. Het is echter waarschijnlijk dat in aanwezigheid van een ras dat in genetisch opzicht volledig overeenstemt met het agressiviteitspatroon van de parasiet, het fysio een optimale verspreidingskans krijgt. Dit blijkt wel uit het feit dat in Nederland fysio 0 een overheersende rol speelt. Dit is in overeenstemming met de waarneming van Day (zie pag.21) dat een fysio met een nauw spectrum, fysio's met een wijder spectrum kan onderdrukken.

De fysio's (1,3) en (1,2,3) zijn in Nederland nooit gevonden. Of beide fysio's komen zeer weinig voor, òf ze zijn in het geheel niet aanwezig. De verklaring kan in twee richtingen gezocht worden. Enerzijds is het mogelijk dat de ze fysio's zeer sterk onderdrukt worden door de andere fysio's, anderzijds kunnen beide fysio's voor hun ontstaan en/of verspreiding een grotere behoefte ^{hebben} aan de aanwezigheid van de specifieke selectiemedia $Cf_1 Cf_3$ en $Cf_1 Cf_2 Cf_3$. In Nederland zijn deze combinaties niet in de praktijk aanwezig. De combinatie $Cf_1 Cf_2 Cf_3$ is als "breeding line" in Canada aanwezig (Kerr, 1958). Het is niet bekend of hierop fysio 1,2,3 is aangetroffen.

Bailey heeft éénmaal fysio 1,2,3 kunnen isoleren van het ras Stirling Castle (Cf_1). In die tijd waren in de praktijk slechts de resistentiefactoren Cf_1 en Cf_2 aanwezig. Dit wijst er op, dat fysio 1,2,3 toevallig ontstaan is en zeer weinig voorkomt. Dit fysio is niet in Engeland gevonden.

De combinatie $Cf_1 Cf_3$ zal in de komende jaren op beperkte schaal in Nederland in de praktijk worden beproefd. Het moet worden afgewacht of van dit ras fysio 1,3 geïsoleerd kan worden. Fysio 1,3 is evenmin in Canada of Engeland gevonden.

Day (1954) merkt nog op, dat het proces van de agressiviteitsveranderingen in Engeland langzamer verlopen is dan in Canada. Het is wellicht beter te zeggen "minder opvallend verlopen", door het minder voorkomen van resistentiegenen in de geteelde cultuurrassen. Voor Nederland is dit in nog sterkere mate het geval.

9.5. Introductie in de praktijk van nieuwe resistentiegenen.

Het ontdekken van 3 resistentiefactoren (Cf_1 , Cf_2 en Cf_3) gaf de mogelijkheid theoretisch 8 typen van resistentie op te stellen. Hiertegenover konden theoretisch 8 fysio's voor mogelijk worden gehouden. Alle typen van resistentie zijn in cultuurvormen van de tomaat gerealiseerd; van de fysio's zijn 1,3 en 1,2,3 nog niet gevonden.

Zijn behalve de genoemde factoren nog andere resistentiegenen in wilde vormen van de tomaat aanwezig? In Canada is het wilde ras *Lycopersicon hirsutum* betrokken in de veredeling op bladvlekkenresistentie. Tabel 4 op pag. 10 leert dat bepaalde vormen van *Lyc. hirsutum* onvatbaar zijn voor de fysio's, welke op grond van de 3 factoren Cf_1 , Cf_2 en Cf_3 verwacht kunnen worden. Het lijkt aanmerkelijk te veronderstellen dat *Lyc. hirsutum* beschikt over een resistentiefactor (of factoren) waarvan de werking anders gericht is dan die van de reeds genoemde factoren. Indien deze veronderstelling juist is, mag in de toekomst het ontdekken van nieuwe fysio's voor mogelijk gehouden worden. Enerzijds zal dit afhankelijk zijn van de wijze waarop *Lyc. hirsutum* in het veredelingswerk wordt

betrokken, anderzijds speelt de agressie-capaciteit van de schimmel een rol. Combinaties tussen de reeds bestaande factoren en die uit *Lyc. hirsutum* geven theoretisch de mogelijkheid tot het ontdekken van een volgende groep van 8 fysio's. In Canada zijn rassen gekweekt welke de resistentie tegen de bladvlekkenziekte ontlennen aan beide groepen van factoren. (*Lyc. pimpinellifolium* en *Lyc. hirsutum*). Rassen met de factoren uit deze rassen afzonderlijk zijn ook voorhanden. In Nederland zijn in 1959 op beperkte schaal rassen geïntroduceerd, welke hun resistentie ontlennen aan *Lyc. hirsutum*. Van de bekende factoren is slechts de combinatie $Cf_1 Cf_3$ in 1959 op beperkte schaal in de praktijk beproefd. De factoren Cf_2 (Vetomold en Single Cross I) en Cf_3 (Single Cross II) zijn weer uit de praktijk in Nederland verdwenen.

Tenslotte wordt gewezen op de reactie van no 160 (een type van *Lyc. pimpinellifolium*) ten opzichte van de bekende fysio's.

Deze is niet in overstemming te brengen met de factoren Cf_1 , Cf_2 en Cf_3 (zie tabel 1 op pag.3). De resistentiefactor van dit ras wijkt dus in zijn werking af van die der bekende factoren. Voorzover bekend is dit wilde ras niet betrokken bij veredelingswerk.

In een afzonderlijk verslag zal uitvoeriger worden ingegaan op de veredeling op resistentie tegen de bladvlekkenziekte, zowel de veredeling in het buitenland als die in Nederland.

10. Samenvatting en Conclusies.

- a. Voor het verrichten van toetsen met isolaties uit de praktijk om de fysiologische specialisatie na te gaan van *Cladosporium fulvum*, is het gebruik van een goed toetssortiment een eerste eis. Een standaardsortiment van rassen met respectievelijk de factoren Cf_1 , Cf_2 en Cf_3 is voldoende om onderscheid te kunnen maken tussen de theoretisch mogelijke 8 fysio's.
- b. Tijdens de incubatieperiode moeten temperatuur en luchtvochtigheid optimaal zijn voor de ontwikkeling van de juiste symptomen (resp. 22-24°C en 80%). Vermindering van de lighthoeveelheid gedurende de incubatieperiode doet de reactie-type verschuiven naar het vatbare type.
- c. In infectieproeven op afgesneden blad werd het juiste reactie-type slechts verkregen indien de bladstekken op het tijdstip van de inoculatie voldoende beworteld waren; opeenhoping van assimilaten (niet bewortelde stekken) remt de ontwikkeling van de schimmel.
- d. Uit proeven met entcombinaties tussen vatbare en resistente rassen bleek dat geen invloeden uitgaan van ent of onderstam welke de reactie van de component kunnen wijzigen.
- e. Mutanten, *in vitro* ontstaan, hebben een incubatietijd welke 3-5 dagen korter is dan die van de oorspronkelijke culturen (11-18 dagen). In het bijzonder geldt dit voor niet-sporevormende mutanten. Deze groep veroorzaakt een snelle afsterfing van het geïnoculeerde blad. Het reactie-type is hetzelfde als dat van de oorspronkelijk culturen.
- f. In Canada zijn de fysio's 0, 1, 2, 3, (1,2) en (2,3) gedetermineerd; fysio 1,2,3 is éénmaal gevonden. Het ontstaan van nieuwe fysio's wordt door Bailey (1950) afhankelijk gesteld van het invoeren in de praktijk van resistente to-materassen. Een nieuw resistent ras wordt in Canada vrij algemeen aanvaardt. Aan het nieuwe fysio wordt dus de mogelijkheid tot verspreiding geboden. Nieuwe fysio's zouden door mutatie ontstaan.
- g. In Engeland zijn de fysio's 0, 1, 2, 3, (1,2) en (2,3) gedetermineerd. Nieuwe fysio's zouden door mutatie ontstaan. Day (1954) vermeldt, dat het aantal fysio's in een gastheerpopulatie voor een groot deel afhankelijk is van het aantal en de mate van voorkomen van resistentiegenen in die populatie. Feitelijk is deze veronderstelling dus dezelfde als de onder f genoemde. Resistente rassen zijn in Engeland slechts op beperkte schaal geteeld. Day heeft niet kunnen aantonen dat heterokaryose leidt tot het ontstaan van nieuwe fysio's. Fysio's met een nauw spectrum kunnen fysio's met een wijder spectrum onderdrukken. Fysio's met het wijdeste spectrum zijn het minst pathogeen op oorspronkelijk vatbare rassen.

- h. In Nederland zijn de fysio's 0, 1, 2, 3, (1,2) en (2,3) gedetermineerd. De fysio's (1,3) en (1,2,3) zijn niet gevonden, evenmin als dat in Engeland het geval was. Verondersteld wordt, dat de fysio's toevallig ontstaan zijn. Resistentie rassen zijn in Nederland vrijwel niet geteeld. Evenals in Engeland, speelt in Nederland fysio 0 een overheersende rol.
- i. Indien behalve de reeds bestaande resistentiefactoren Cf_1 , Cf_2 en Cf_3 , afkomstig uit de rassen Stirling Castle en *Lycopersicum pimpinellifolium*, ook resistentiefactoren uit *Lyc. hirsutum* in de praktijk geïntroduceerd worden, mogen in de toekomst nieuwe fysio's verwacht worden mits de agressie-capaciteit van de schimmel dat toelaat.
- j. De reactie-typen tussen resistentiefactoren en fysio's zijn opgesteld in een schema dat vergeleken kan worden met het schema dat door Black (1952) voor *Phytophthora infestans* is ontwikkeld.

Voor de aanduiding der resistentiefactoren zijn de symbolen van de parasiet gebruikt (Cf_1 , Cf_1Cf_2 , enz.); de fysio's worden door cijfers weergegeven, corresponderend met diè faktorencombinatie waarop een vatbare reactie veroorzaakt wordt. In het systeem voor *Phytophthora* wordt de letter R gebruikt voor de resistentiefactoren; de fysio's worden eveneens door cijfers weergegeven. Voor de laatste aanduiding stelt Toxopeus (1956) voor, voor de cijfercombinatie de letter p (parasiet) te plaatsen.

In dit verslag wordt voorgesteld een internationaal aanvaardbaar systeem te maken dat er als volgt uitziet.

De resistentiefactoren worden weergegeven door de symbolen van de parasiet: CF. De notering voor alle vatbare rassen wordt CF_0 , die voor resistente rassen CF_1 , CF_2 , CF_3 , $CF_{1,2}$, $CF_{1,3}$, $CF_{2,3}$ of $CF_{1,2,3}$. De fysio's worden weergegeven door cijfercombinaties, voorafgegaan door de symbolen van de parasiet: cf_0 , cf_1 , cf_2 , cf_3 , $cf_{1,2}$, $cf_{1,3}$, $cf_{2,3}$, of $cf_{1,2,3}$.

11. Suggesties voor verder onderzoek.

- a. Het is van belang na te gaan in hoeverre de reactie van een resistent (doch niet onvatbaar) ras variabel is onder invloed van de uitwendige omstandigheden (temperatuur, luchtvochtigheid en licht). Het beter bekend zijn met deze variabiliteit kan de betrouwbaarheid van een toets ten goede komen.
- b. In de komende jaren verdient het aanbeveling regelmatig isolaties uit de praktijk te maken, zowel van vatbare rassen als van geïntroduceerde resistente rassen indien daarop aantasting voorkomt. Door deze isolaties op een toetssortiment te toetsen zullen nieuwe fysio's sneller gesignaleerd kunnen worden.

12. Literatuur.

1. BAILEY, D.L., 1950: Studies in racial trends and constancy in *Cladosporium fulvum* Cooke. Can. J. Res., section C, 28: 535-565.
2. BAKKER, M., 1951: De verandering van de virulentie van *Cladosporium fulvum* Cooke tengevolge van het invoeren van nieuwe tomatenrassen. Meded. Dir. Tuinb. 14: 309-313.
3. BLACK, W., 1952: A genetical basis for the classification of strains of *Phytophthora infestans*. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, section B, 65: 36-51.
4. BOND, T.E.T., 1938: Infection experiments with *Cladosporium fulvum* Cooke and related species. Ann. Appl. Biol. 25: 277-306.
5. BOND, T.E.T., 1936: *Phytophthora infestans* (Mout.) de Bary and *Cladosporium fulvum* Cooke on varieties of tomato and potato and on grafted solanaceous plants. Ann. Appl. Biol. 23: 11-29.
6. BRUIN, H.L.G. de, 1951: Pathogenic differentiation in *Phytophthora infestans* (Mout.) de Bary. Phytop. Zschr. 18, Heft 3: 339-359.
7. BUTLER, L., 1953: Changes in gene symbols. Report of the Tomato Genetics Cooperative 3: 7-8.
8. DAY, P.R., 1956: Race names of *Cladosporium fulvum*. Report of the Tomato Genetics Cooperative 6: 13-14.
9. DAY, P.R., 1954: Physiologic races of *Cladosporium fulvum* in England and Wales. Plant Pathol. 3: 35-39.
10. DAY, P.R., 1953: Genetics and Plant Pathology. Nature 172: 989-990.
11. DAY, P.R., 1954: Physiologic specialisation in *Cladosporium fulvum* Cooke. Thesis, niet gepubliceerd.
12. FLOR, H.H., 1954: Identification of races of flax rust by lines with single rust-conditioning genes. Tech. Bull. 1087, U.S. Deptm. of Agric.
13. KERR, E.A., 1958: 548, an emigrant greenhouse tomato with resistance to F)
14. LANGFORD, A.N., 1937: The parasitism of *Cladosporium fulvum* Cooke and the genetics of resistance to it. Can. J. Res., section C, 15: 108-128.
15. MAKEMSON, W.K., 1918: The leaf mould of tomatoes caused by *Cladosporium fulvum* Cooke. Rept. Mich. Ac. Sci., 20: 309-350.
16. OORT, A.J.P., 1944: Onderzoekingen over stuifbrand, II. Overgevoeligheid van tarwe voor stuifbrand (*Ustilago tritici*). T. Pl. Ziekten 50: 73-106.

F) *Cladosporium* leaf mold. Rep. Hort. Exp. Sta., Vineland Station, Ontario, for 1957 and 1958.

17. SENGBUSCH, R. von und N. LOSCHAKOWA HASENBUSCH, 1932: Immunitätszüchtung bei Tomaten. Vorläufige Mitteilung über die Züchtung gegen die Braunfleckenkrankheit (*Cladosporium fulvum* Cooke) resistenter Sorten. Züchter 4: 257-264.
18. SMALL, T., 1927: Tomato Leaf Mould. Ann. Rep. Exp. and Res. Station Turner's Hill Cheshunt, Kertof: 45-51.
19. TOXOPEUS, H.J., Reflections on the origin of new physiologic races in *Phytophthora infestans* and the breeding for resistance in potatoes. Euphytica 5: 221-237.
20. VOLK, A., 1931: Einflüsse des Bodens, der Luft und des Lichtes auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Krankheiten. Phytop. Z. schr. 3: 1-88.
21. ZADOKS, J.C., 1959: Rasvorming bij parasitaire schimmels. Resistentie in de landbouw, voordracht gehouden in de A-cursus van het Koninklijk Genootschap voor Landbouwwetenschap, 27-35.



foto 1: infectiemethodiek bladstekken in zand +
turfmolm 1:2.



foto 2: entplant tomaat Potentiaat
Vetomold geinoculeerd met
fysio 3; onderstam onvatbaar, ent vatbaar.



- foto 3: v.l.n.r.:

1. Vetomold geinoculeerd met fysio 2
2. " " " mutant van f.2
3. L.pimp.Vineland geinoculeerd " fysio 2
4. " " " mutant van f.2

De mutant veroorzaakt snellere afsterving van het aangetaste blad.



foto 4: cultuur van *Cladosporium fulvum* op kaasdoek, vochtig gehouden door moutextract.

foto 5: 1-, 2- en 3- cellige conidiën van
Cladosporium fulvum.