

# Phytophthora ramorum: een bedreiging voor inheemse bomen en struiken?

W.A. Man in 't Veld, H. de Gruyter en A.M. de Haas

Plantenziektenkundige Dienst, Postbus 9102, 6700 HC Wageningen

**De Plantenziektenkundige Dienst is een nieuwe schimmelaantasting van onder meer rhododendron op het spoor. Er is sprake van dat deze aantasting ook inheemse eiken zou kunnen aantasten. Is deze 'Sudden Oak Death' een bedreiging van ons openbaar groen? Een overzicht van de stand van zaken.**

## Inleiding

Sinds 1993 ontvangt de Plantenziektenkundige Dienst af en toe materiaal van *Rhododendron* struiken die een typische takinsterving

vertonen. Ook in Duitsland blijken *Rhododendron*-struiken met dergelijke ziekteverschijnselen voor te komen. In alle gevallen werd een niet nader te identificeren *Phytophthora*-soort gevonden die met

deze ziekteverschijnselen in verband gebracht kon worden. Er werden geen beheersmaatregelen genomen omdat de schade beperkt leek, temeer daar de ziekte niet letaal was voor *Rhododendron*. Overigens worden incidenteel ook bekende *Phytophthora*-soorten op *Rhododendron* aangetroffen (*P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. citricola*) waarbij de schade doorgaans eveneens beperkt blijft.

In 1998 werd een *Phytophthora*-soort, die morfologisch identiek was aan die uit *Rhododendron*, aangetroffen in zieke *Viburnum* planten van het ras *Viburnum bodnantense* (x) 'Dawn'. Anders dan in *Rhododendron* bleek de schimmel bij *Viburnum* een stambasisrot te veroorzaken resulterend in verwelkingsverschijnselen, en uiteindelijk afsterving van de plant.

## Identificatie

Het genus *Phytophthora* bevat tot nu toe een zestigtal erkende soorten, waarbij aangetekend moet worden dat bijna jaarlijks nieuwe soorten worden gevonden en beschreven. *Phytophthora*-soorten worden geïdentificeerd op grond van hun morfologische eigenschappen, zoals daar bijvoorbeeld zijn: de vorm van de sporangia (papillaat, semipapillaat, non-papillaat), de proliferatie van de sporangia, de vorm van de antheridia (amphigyn, paragyn), de aanwezigheid en dimensies van de oosporen

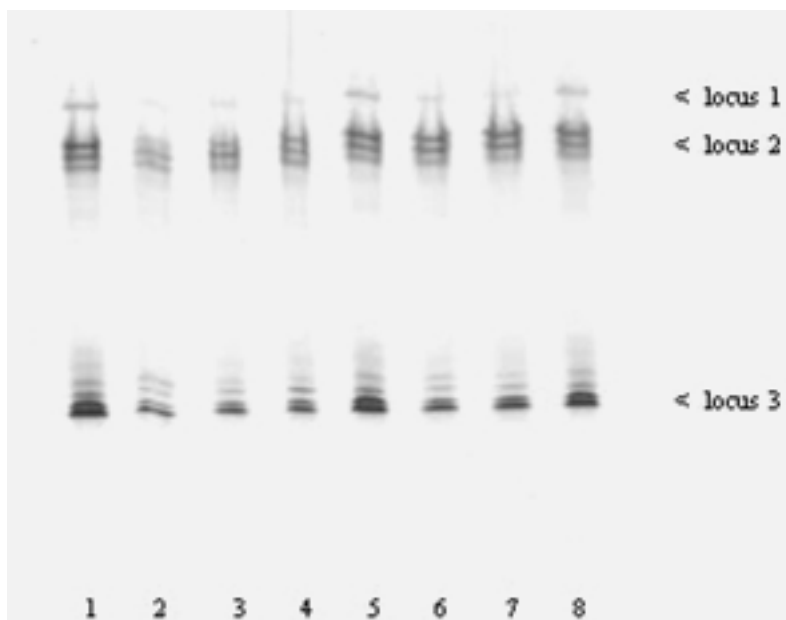


Fig. 1: Isozym patronen van *Phytophthora ramorum* gegenereerd door lactate dehydrogenase.

- 1,5,8 : ex *Rhododendron* (Nederland)
- 2 : ex *Rhododendron* (USA)
- 3 : ex *Quercus agrifolia* (USA)
- 4 : ex *Lithocarpus densifloris* (USA)
- 6 : ex *Quercus* sp. (USA)
- 7 : ex *Quercus* sp. (USA)

Tabel 1. Waardplanten en symptomen van *Phytophthora ramorum* in Californië (boven) en in Nederland (onder)

Latijnse naam	Engelse naam	Familie	Symptomen
<i>Acer macrophyllum</i>	Bigleaf maple	<i>Aceraceae</i>	bladvlekken
<i>Aesculus californica</i>	Californië buckeye	<i>Hippocasta-naceae</i>	bladvlekken
<i>Arbutus menziesii</i>	Madrone	<i>Ericaceae</i>	stambasisrot, taksterfte
<i>Arctostaphylos manzanita</i>	Manzanita	<i>Ericaceae</i>	bladvlekken en twijgkankers
<i>Heteromeles arbutifolia</i>	Toyon, christmas berry	<i>Rosaceae</i>	bladvlekken, twijgsterfte
<i>Lithocarpus densiflorus</i>	Tanoak	<i>Fagaceae</i>	stambasisrot
<i>Lonicera hispidula</i>	Californië honeysuckle	<i>Caprifoliaceae</i>	bladvlekken
<i>Quercus agrifolia</i>	Coast live oak	<i>Fagaceae</i>	stambasisrot, taksterfte
<i>Quercus kelloggii</i>	Californië black oak	<i>Fagaceae</i>	stambasisrot, taksterfte
<i>Quercus palustris</i>	Pin oak	<i>Fagaceae</i>	afsterving na inoculatie
<i>Quercus parvula</i> var. Shrevei	Shreve's oak	<i>Fagaceae</i>	stambasisrot, taksterfte
<i>Quercus rubra</i>	Northern red oak	<i>Fagaceae</i>	afsterving na inoculatie
<i>Rhamnus californica</i>	Californië coffeeberry	<i>Rhamnaceae</i>	bladvlekken
<i>Rhododendron macrophyllum</i>	Californië rhododendron	<i>Ericaceae</i>	bladvlekken, stamkankers
<i>Umbellularia californica</i>	Bay laurel	<i>Lauraceae</i>	bladvlekken en twijgsterfte
<i>Vaccinium ovatum</i>	Huckleberry	<i>Ericaceae</i>	stamkankers, twijgsterfte
<i>Viburnum</i>	Arrowwood	<i>Caprifoliaceae</i>	niet bekend
<i>Viburnum</i> (x) <i>bodnantense</i> 'Dawn'			Stambasisrot
<i>Rhododendron ponticum</i>			Bladvlekken, twijgsterfte, twijgkankers; stambasisrot
<i>Rhododendron Catawbiense</i>			Bladvlekken, twijgsterfte, twijgkankers; stambasisrot

\* Tot dusverre alleen aantasting gevonden na kunstmatige besmetting

en chlamydosporen en nog een aantal criteria. Verschillende *Phytophthora*-soorten hebben bovendien vaak hun eigen unieke waardplantenreeks.

De *Phytophthora*-soort, die uit *Rhododendron* werd geïsoleerd, bleek unieke morfologische eigenschappen te hebben, die niet leken te passen bij de reeds bekende

soorten. Er werd dan ook geconcludeerd dat er waarschijnlijk sprake was van een nieuwe soort.

De bestudering van *Phytophthora* soorten op basis van morfologische kenmerken is moeilijk, zelfs voor specialisten, doordat morfologische eigenschappen binnen een soort nogal eens variabel zijn, en bovendien bijna altijd overlap vertonen met andere soorten. Naast het verrichten van moeizame en tijdrovende morfologische studies is het de laatste jaren steeds meer gebruikelijk geworden om met behulp van moleculaire technieken te bepalen of er inderdaad sprake is van een nieuwe soort, en welke reeds bekende soorten de meeste verwantschap vertonen.

Sequentie-analyse van een bepaald deel van het ribosomale gen, het zogenaamde 'Internal Transcribed



Fig. 2: Scheutinsterving bij *Rhododendron* sp. veroorzaakt door *Phytophthora ramorum*.

Spacer' gedeelte (ITS), blijkt in de praktijk zeer geschikt te zijn om *Phytophthora*-soorten genetisch te karakteriseren. De variatie van de ITS-sequentie binnen een soort is laag, en de verschillen tussen soorten zijn in het algemeen groot genoeg om ze van elkaar te onderscheiden.

Een andere genetische benadering is isozym-analyse door middel van elektroforese. Met behulp van isozym-analyse is het mogelijk de expressie van genen die coderen voor isozymen te bestuderen. Het blijkt in de praktijk dat bepaalde isozymen karakteristiek zijn voor de éne *Phytophthora*-soort, terwijl weer andere isozymen uniek zijn voor andere soorten.

Voor de combinatie van beide voornoemde moleculaire methoden vormt een krachtige analyse methode die de basis legt voor een eerste hypothese over isolaten met nieuwe, ongebruikelijke morfologische kenmerken.

Na uitvoerige bestudering van moleculaire en morfologische kenmerken werd geconcludeerd dat er inderdaad sprake is van een nieuwe *Phytophthora*-soort, die in 2001 is beschreven als *Phytophthora ramorum* (Werres *et al.*, 2001). Sindsdien is *P. ramorum* in verschillende Europese landen aangetroffen, waaronder het Verenigd Koninkrijk en Polen.

## Phytophthora ramorum op eiken

Sinds 1995 sterven specifieke eikensoorten in Californië massaal af. De ziekte, die daar 'Sudden Oak Death' wordt genoemd, werd aanvankelijk toegeschreven aan schade door insecten. In 2000 is bekend geworden dat de aantasting veroorzaakt wordt door een nieuwe *Phytophthora* soort. Nadien is deze *Phytophthora*-soort tot nu toe op veertien waardplanten in Amerika



Fig. 3: Basisrot bij *Viburnum* (x) bodnantense veroorzaakt door *Phytophthora ramorum*.

aangetroffen (Tabel 1). Twee eikensoorten (*Quercus palustris* en *Quercus rubra*) bleken vatbaar voor de ziekte na inoculatie; in het veld zijn van beide soorten nog geen zieke planten aangetroffen (ze komen van nature niet voor in Californië). De meeste Amerikaanse waardplanten komen niet of sporadisch in Europa voor, behalve *Quercus palustris* en *Quercus rubra*. Overigens bestaan van vele Amerikaanse waardplanten Europese soorten, die ook vatbaar zouden kunnen zijn, bijv. *Acer* spp. (esdoorn), *Aesculus hippocastanum* (paardekastanje), *Lonicera periclymenum*

(kamperfoelie) en *Vaccinium myrtillus* (bosbes).

Zowel ITS-sequentieanalyse als isozym-analyse (fig. 1) maakten duidelijk dat de *Phytophthora* soort, geïsoleerd uit *Rhododendron* en *Viburnum* (Europa) en *Quercus* (Amerika) mogelijk een en dezelfde soort vertegenwoordigt met genetische karakteristieken die niet eerder in reeds bekende soorten waargenomen zijn. Na uitvoerige bestudering van moleculaire en morfologische kenmerken werd geconcludeerd dat de Amerikaanse *Phytophthora*-soort, die 'Sudden

Oak Death' veroorzaakt, een vorm is van *Phytophthora ramorum* (Rizzo *et al.*, 2002). Het blijft echter desalniettemin mogelijk dat de Europese en Amerikaanse vormen verschillen in pathogeniteit. Hiervoor is nader onderzoek geboden.

## Surveys onder waardplanten van *Phytophthora ramorum*

Bij een vorig jaar gehouden survey in Nederland werden op twaalf kwekerijen door *Phytophthora ramorum* aangetaste *Rhododendron* en *Viburnum* planten aangetroffen en op tien plaatsen in het openbaar groen geïnficeerde *Rhododendron* planten. In alle gevallen werden op naburige eiken geen ziektesymptomen waargenomen. Op dit moment is het ook nog niet duidelijk of de Europese eiken vatbaar zijn voor *Phytophthora ramorum*. Infectieproeven zijn gaande, maar hebben nog geen eenduidige resultaten opgeleverd.

In Californië is *Phytophthora ramorum* tot nu toe op veertien waardplanten aangetroffen (tabel 1). In al deze gevallen is de betrokkenheid van *Phytophthora ramorum*

aangetoond door middel van een speciaal voor dit doel ontwikkelde, zeer specifieke, PCR (Polymerase Chain Reaction) toets, gevolgd door uitkweken van de schimmel. De ziektesymptomen variëren nogal, afhankelijk van de waardplant: soms worden alleen bladvlekken waargenomen (*Rhododendron ponticum*), of is er slechts sprake van takinsterving (*Rhododendron* sp., fig. 2), maar in andere gevallen ontwikkelt de plant een stambasisrot (*Viburnum* (x) *bodnantense*, fig. 3) en/of takkankers en is de ziekte letaal (*Quercus agrifolia*, fig. 4).

## Ongeslachtelijke voortplanting

Qua manieren van verspreiding zijn er twee levensstijlen te onderscheiden in het genus *Phytophthora*. Soorten in de ene groep hebben sporangia (blaasjes die infectieuze zwemsporen bevatten) met een steeltje dat makkelijk breekt. Onderzoek bij *Phytophthora infestans* heeft aangetoond dat onder ideale atmosferische omstandigheden (gematigde temperatuur, hoge luchtvochtigheid en wind) sporangia over verscheidene kilometers per dag vervoerd kunnen worden (Aylor *et al.*, 2001). Het is bij *Phy-*

*tophthora infestans* aangetoond dat zelfs gedehydrateerde sporangia nog kiemkrachtige zwemsporen hebben na rehydratie (Minogue & Fry, 1981). Soorten in de tweede groep daarentegen hebben sporangia met een steeltje dat niet breekt, en na het openbarsten van de sporangia verspreiden de vrijgekomen zwemsporen zich via vochtige bodem en water. De schimmel kan overigens ook overgebracht worden door transport van geïnficeerde plantendelen. Genetisch gezien verspreidt de schimmel zich in alle gevallen als een zuivere klonale lijn.

*Phytophthora ramorum* heeft, net als *Phytophthora infestans*, afvallende sporangia en kan zich in elk geval gemakkelijk verspreiden met regenwater en spatwater. Onderzocht zal moeten worden of de schimmel zich ook door de lucht kan verspreiden zoals *P. infestans* dat doet.

## Geslachtelijke voortplanting

Er zijn *Phytophthora*-soorten die volkomen autonoom mannelijke en vrouwelijke seksuele organen kunnen vormen en die zich kunnen voortplanten door middel van zelfbevruchting. Andere soorten daarentegen, waaronder *Phytophthora ramorum*, hebben altijd een partner (zogenaamd complementair 'mating type') nodig. Er zijn in *Phytophthora* twee soorten partners, A1 en A2 'mating types', die in elkaars fysieke aanwezigheid zowel mannelijke als vrouwelijke seksuele organen induceren in elkaar. Van *Phytophthora ramorum* bestaan beide 'mating types', echter, A1 is tot nu toe alleen in Europa gevonden en A2 uitsluitend in Amerika. Merkwaardig genoeg reageren de A1 en A2 'mating types' van *Phytophthora ramorum* tot nu toe in het geheel niet op elkaar, maar uitsluitend op compatibele 'tester' isolaten van andere *Phytophthora* soorten (zonder overigens daad-



Fig. 4: Stambasisrot bij eik in Californië (*Quercus agrifolia*) veroorzaakt door *Phytophthora ramorum*.

werkelijk hiermee te kruisen). Dit is zeer ongewoon en hier is ook nog geen goede verklaring voor. Mogelijk zijn beide 'mating types' niet in staat hun zogenaamde 'mating' hormonen te synthetiseren. Deze 'mating' hormonen triggeren de inductie van seksuele structuren. Het is echter ook denkbaar dat kruisingen in de natuur incidenteel wel voorkomen, maar dat in het laboratorium de condities wellicht niet goed genoeg zijn om kruisingen te doen plaatsvinden. Hoe het ook zij, tot nu toe heeft *Phytophthora ramorum* in het laboratorium nog niet laten zien dat hij in staat is een seksuele cyclus te voltooien en bleef genetische recombinatie achterwege. Grootschalig onderzoek moet hier uitsluitsel over geven. Omdat genetische recombinatie een bron is van nieuwe pathogene vormen (bijvoorbeeld meer agressieve vormen) beschouwt de Plantenziektenkundige Dienst introductie van het Amerikaanse A2 'mating type' vooralsnog als een extra risico. Dit naar analogie van de situatie bij *Phytophthora infestans*, die na de introductie van het A2 'mating type' in de jaren tachtig in staat was een seksuele cyclus te voltooien waarbij door genetische recombinatie nieuwe, meer agressieve varianten ontstonden. Genetische recombinatie kan overigens ook leiden tot resistentie tegen bestrijdingsmiddelen.

## Oorsprongsgebied

In het midden van de jaren negentig werd *Phytophthora ramorum* ongeveer gelijktijdig ontdekt in Europa en in Amerika. Dit maakt het waarschijnlijk dat *P. ramorum* niet inheems is deze twee continenten, maar geïmporteerd is vanuit een nog onbekend oord. Omdat *Rhododendron* inheems is in de Himalaya's (China, Nepal) en Japan, zou Azië wel eens het oorsprongsgebied van *P. ramorum* kunnen zijn geweest. Merkwaardig genoeg werd tot nu toe in Europa uitsluitend het A1 'mating type' aangetroffen, en in Amerika uitsluitend A2. We gaan er

daarom vanuit dat de introducties van *P. ramorum* in Europa en Amerika onafhankelijk van elkaar hebben plaatsgevonden.

## Onderzoek

Het is duidelijk dat *Phytophthora ramorum* een pathogeen is dat tot nu toe vooral in Californië veel schade aan eiken veroorzaakt, en daarmee een bedreiging vormt voor ecosystemen waar eiken deel van uitmaken. Het potentiële risico van *Phytophthora ramorum* voor de Nederlandse inheemse eiken en andere loofbomen en struiken in de groene ruimte lijkt groot. *Phytophthora ramorum* is (selectief) polyfaag en geïnfecteerde waardplanten maken deel uit van natuurlijke ecosystemen. Eiken vormen in Nederland de belangrijkste groep loofbomen, zowel in bossen als bij laanbeplanting.

Het is evenwel nog niet duidelijk of de Europese verschijningsvorm van *Phytophthora ramorum* in staat is de inheemse eiken in Nederland te infecteren. Er zijn tot nu toe in Nederland geen aangetaste eiken waargenomen. Ook is het nog geen uitgemaakte zaak of de inheemse eiken in Nederland vatbaar zijn voor de Amerikaanse verschijningsvorm, mocht deze ooit onbedoeld alhier geïntroduceerd worden. Daarom is meer onderzoek nodig.

Nieuw onderzoek zal zich richten op de beantwoording van de volgende vragen:

- Is het 100 % zeker dat in Europa alleen het A1 'mating type', en in Amerika uitsluitend het A2 'mating type' voorkomt?
- Zijn de Europese en Amerikaanse isolaten in alle gevallen niet kruisbaar?
- Zijn er met moleculaire methoden (DNA fingerprinting, sequentie analyse, isozym analyse) genetische verschillen aan te tonen tussen de Europese en Amerikaanse isolaten?

- Zijn er verschillen in pathogeniteit tussen de Europese en Amerikaanse isolaten?
- Zijn de inheemse eiken in Nederland vatbaar voor *P. ramorum* (Europese dan wel Amerikaanse isolaten)?

De potentiële dreiging die van *Phytophthora ramorum* uitgaat voor loofbomen en struiken in de groene ruimte lijkt groot. Onderzocht wordt of de schimmel nog kan worden uitgeroeid op *Rhododendron* en *Viburnum* beplantingen, dan wel op een voldoende laag peil kan worden gehouden om aantasting bij eiken te voorkomen. Momenteel vindt nationaal en internationaal intensief overleg plaats over de te nemen maatregelen. Vooruitlopend op besluitvorming binnen de EU heeft de Plantenziektenkundige Dienst voor Nederland maatregelen genomen om verdere verspreiding tegen te gaan. Deze maatregelen zijn erop gericht boomkwekerijproducten die in de handel worden gebracht vrij te houden van *P. ramorum*. In 2002 worden alle boomkwekerijen met *Rhododendron* en *Viburnum* geïnspecteerd op *P. ramorum* door de Naktuinbouw. Bij vondsten is verdere actie gericht op het uitroeien van de schimmel op het betreffende bedrijf.

## Literatuur

- Aylor, D.E., Fry, W.E., Mayton, H. & Andrade-Piedra, J.L., 2001. Quantifying the rate of release and escape of *Phytophthora infestans* sporangia from a potato canopy. *Phytopathology* **91**: 1189-1196.
- Minogue, K.P. & Fry, W.E., 1981. Effect of temperature, relative humidity, and rehydration rate on germination of dried sporangia of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* **71**: 1181-1184.
- Rizzo, D.M., Gabelotto, J.M., Davidson, G.W. Slaughter, G.W. & Koike, S.T., 2002. *Phytophthora ramorum* as the cause of extensive mortality of *Quercus* spp. and *Lithocarpus densifloris* in California.
- Werres, S., Marwitz, R., Man in 't Veld, W.A., de Cock, A.W.A.M., Bonants, P.J.M., de Weerd, M., Themann, K., Ilieva, E. & Baayen, R.P., 2001. *Phytophthora ramorum* sp.nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*. *Mycological Research* **105** (10): 1155-1165.

ARTIKEL