

Pseudomonas syringae en vorst: een gevaarlijke combinatie

Pseudomonas syringae and frost: a dangerous combination

M. de Kam

Rijksinstituut voor onderzoek in de bos- en landschapsbouw
De Dorschkamp, Wageningen

Inleiding

In de fytopathologische literatuur wordt vaak verband gelegd tussen het optreden van ziekten bij verschillende planten, veroorzaakt door de bacterie *Pseudomonas syringae* en vorstschade. Veelal werden conclusies getrokken op grond van veldwaarnemingen, waarbij werd vastgesteld dat de betreffende ziekte heviger optrad op plaatsen waar gewoonlijk meer nachtvorst voorkwam. Daarnaast werden doelgerichte proeven uitgevoerd om de relatie tussen *P. syringae* en vorst aan te tonen.

Ook bij populier is enkele malen verband gelegd tussen het optreden van de zogenaamde "Pseudomonas kanker" en vorst, maar de conclusies waren niet eensluidend. Zo suggereert Day (1948), dat vorstschade bij populier de inleiding vormt voor een aantasting door *P. syringae*. Sabet (1953) kwam na een aantal inoculatieproeven evenwel tot de conclusie dat de bacterie *P. syringae* éérs in de populier aanwezig moet zijn, waarna de aantasting wordt gestimuleerd door vorst. Ook sterk wisselende temperaturen blijken een gunstige invloed te hebben op de ontwikkeling van *P. syringae*, zoals onder andere door Klement (1974) en zijn medewerkers werd aangetoond bij het onderzoek naar de bacterieziekte van abrikoos.

Een belangrijke bijdrage aan het onderzoek naar de relatie tussen *P. syringae* en vorstschade werd geleverd door een groep onderzoekers aan de universiteit van Wisconsin. Tijdens hun onderzoek naar een blad-vlekkenziekte van maïs, veroorzaakt door de schimmel *Helminthosporium turcicum*, werden zij geheel onverwachts met dit probleem geconfronteerd. Na een nachtvorst was een deel van hun proefplanten bevroren, waarbij duidelijk bleek dat de maïs die met genoemde schimmel was geïnoculeerd, veel meer vorstschade vertoonde dan de niet behandelde planten (Hoppe, Arny en Martens, 1964). Deze conclusie was wel wat voorbarig, gezien het feit dat de maïs niet met een reincultuur van deze schimmel geïnoculeerd werd,

Summary

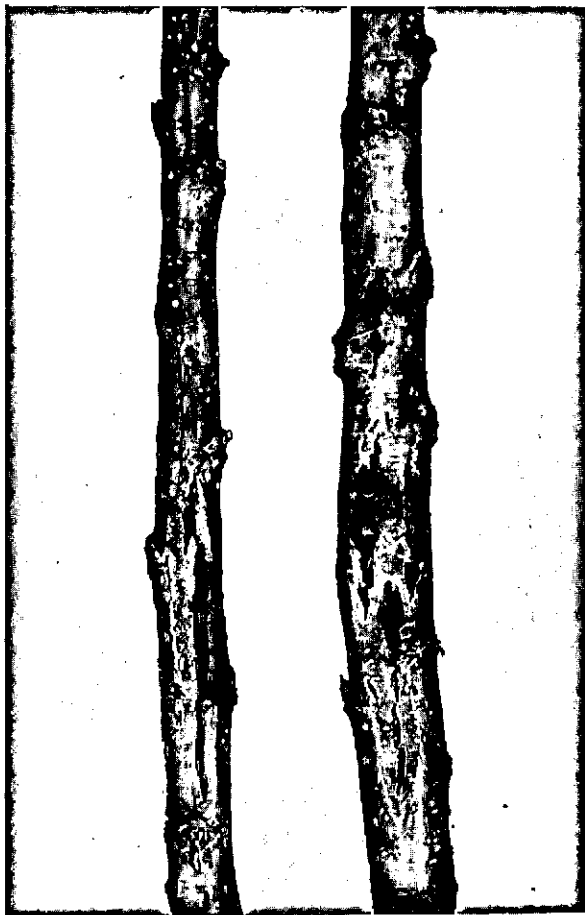
Symptoms on Populus trichocarpa caused by Pseudomonas syringae in combination with frost are described. They almost exclusively occur on the south side of the stems, just above soil level. Although this damage is commonly considered as the result of frost, P. syringae was regularly isolated from these so-called "frost-cracks", and when inoculated into healthy plants, developed the same symptoms of the disease. It is demonstrated that P. syringae increases frost sensitivity in poplar leaves. Fluctuating temperatures promote the development of P. syringae in poplar bark, provided the temperature drops below freezing point. Symptoms often considered to be caused by frost, are in reality in many cases the result of the cooperation between P. syringae and frost.

maar bestoven met gedroogde, gemalen maïsbladeren die door de schimmel waren aangetast.

Uit hun verdere onderzoek bleek later dat het niet de schimmel *Helminthosporium* was die de planten gevoeliger had gemaakt voor vorst, maar de bacterie *Pseudomonas syringae*, die eveneens op dit fijn gemalen blad aanwezig was.

Proeven in klimaatkamers toonden aan, dat maïsplanten die vooraf werden bespoten met een reincultuur van *P. syringae*, bevroren bij een temperatuur van -4°C , terwijl de planten die geen *P. syringae* op hun bladeren hadden, pas bij -8°C bevroren. Hiermee was het bewijs geleverd dat de vorstgevoeligheid van maïs sterk wordt beïnvloed door de aanwezigheid van *Pseudomonas syringae* op het blad (Arny, Lindow en Upper, 1976).

Hoewel nog steeds niet is opgehelderd hoe dit merkwaardige mechanisme precies werkt, is intussen wel bekend geworden dat veel bacteriën van het geslacht *Pseudomonas* kernen produceren, waaromheen zich ijskristallen kunnen vormen (Maki e.a., 1974). Gebleken is, dat het uitsluitend deze "ijskernvormers" zijn, die de vorstgevoeligheid van planteweefsels verhogen



Figuur 1 *Pseudomonas syringae* of vorst? Natuurlijke aantasting van twee jaar oude *Populus trichocarpa*, Wageningen.

Figure 1 *Pseudomonas syringae* or frost? Natural attack of 2-year-old *P. trichocarpa*, Wageningen.

(Arny e.a., 1976). In hun studie naar de vorming van ijskernen door soorten van het geslacht *Pseudomonas* onderzochten Hirano en anderen (1978) ook een vier-tal *P. syringae* isolaten en populier, waarvan er drie in staat bleken ijskernen te vormen.

Uit al dit onderzoek is onweerlegbaar gebleken dat er een duidelijk verband bestaat tussen het optreden van vorstschade en het vóórkomen van *P. syringae*. Het onderzoek dat in dit artikel wordt beschreven had ten doel na te gaan, of ook bij populier dit verband kon worden aangetoond.

Vorstschade bij populieren is een veel voorkomend verschijnsel. Joachim (1957) heeft hierover uitvoerig bericht en noemt daarbij ook de rol van sterk wisselende temperaturen, evenals Van der Meiden (1965), die de ernstige vorstschade aan populieren in 1962 vooral toeschrijft aan sterk fluctuerende temperaturen in de eerste vier maanden van dat jaar.

Eigen onderzoek

1 Ziektesymptomen

In 1978 bleken een groot aantal 1 jaar oude *Populus trichocarpa* kruisingen in de kwekerij van "De Dorschkamp" het volgende ziektebeeld te vertonen. In de bast van de stammetjes zaten kleine overlappende scheurtjes die tot ongeveer 30 cm hoogte aan de zuidkant van de planten voorkwamen. Uit deze scheurtjes droop sap langs de stam, dat later zwart werd. De bast naast de scheurtjes zag er bij aansnijden glazig uit en het cambium was lichtbruin verkleurd. De aangetaste bast stierf vervolgens af maar later in het jaar trad herstel op: er werd callus gevormd, dat de ontstane wonden weer gedeeltelijk overgroeide (figuur 1). De algemene opvatting is, dat de hier beschreven symptomen door vorst worden veroorzaakt.

2 De rol van *Pseudomonas syringae*

Isolaties toonden aan, dat in het glazige weefsel en het verkleurde cambium zeer veel bacteriën van de soort *Pseudomonas syringae* voorkwamen. In het najaar van 1978 werden met 2 isolaten, de nummers 111 en 112, acht eenjarige *P. trichocarpa*'s geïnoculeerd, door 30 cm boven de grond een wondje in de bast te maken en daar wat bacteriesuspensie in te brengen. De inoculaties werden uitgevoerd aan de zuidzijde van de planten. Vier andere planten werden op dezelfde manier verwond, maar met water behandeld. Het jaar daarop vertoonden alle geïnoculeerde planten dezelfde symptomen als hierboven werd beschreven, terwijl de wondjes waar geen bacteriën in waren gebracht, helemaal overgroeiden (figuur 2). Herisolaties uit de aangetaste weefsels leverden opnieuw *P. syringae* op.

Hiermee was aangetoond, dat *P. syringae* de oorzaak was van de beschreven symptomen. Waarom de bacterie echter de planten steeds aan de zuidzijde aantast was nog niet verklaard, al gaven de literatuurgegevens (zie inleiding) duidelijke aanwijzingen dat het antwoord moest worden gezocht in de richting van vorst of fluctuerende temperaturen.

3 Toename van de vorstgevoeligheid veroorzaakt door *P. syringae*

In 1980 werden 46 drie maanden oude *P. trichocarpa* zaailingen, die in een kas waren gekweekt, onderzocht op aanwezigheid van *P. syringae* bacteriën op het blad. Nadat was vastgesteld dat deze bacterie niet in aantoonbare hoeveelheden voorkwam, werden 23 planten bespoten met een suspensie van *P. syringae* stam 112, terwijl de andere 23 met water werden bespoten. Vervolgens werden van beide behandelingen

18 planten één of twee uur blootgesteld aan een temperatuur van -3° tot -4° C. De andere planten bleven in de kas bij $+20^{\circ}$ C.

Zodra ze uit de cel gehaald werden bleek, dat de met *P. syringae* bespoten planten totaal bevroren waren, waarbij het geen verschil maakte of ze één of twee uur koud hadden gestaan. De met water bespoten planten vertoonden nauwelijks enige vorstschade. Een soortgelijke proef met *Populus nigra* zaailingen leverde dezelfde resultaten op (figuur 3).

4 Toename van de activiteit van *P. syringae*, veroorzaakt door sterke wisseling van de temperatuur

In november 1980 na de bladval werden 100 *P. trichocarpa* zaailingen, die buiten waren opgekweekt en ongeveer 30 cm hoog waren, in de kas gezet. Vijfenzeventig planten werden daarna met een injectienaald halverwege het stammetje geïnoculeerd met *P. syringae* stam 112, terwijl de overige 25 op dezelfde manier werden behandeld met water. Vervolgens werden de planten in vijf groepen verdeeld, waarbij elke groep bestond uit vijftien geïnoculeerde en vijf met water behandelde planten. Elke groep kreeg een andere temperatuurbehandeling, te weten:

groep I: 21 dagen $+15^{\circ}$ C.

groep II: 7 dagen $+15$, daarna 5 dagen $+2$, daarna 9 dagen $+15^{\circ}$ C.

groep III: 7 dagen $+15$, daarna wisselde de temperatuur 5 dagen lang elke dag van $+17$ naar $+2$, daarna 9 dagen $+15^{\circ}$ C.

groep IV: 7 dagen $+15$, daarna 5 dagen -2 , daarna 9 dagen $+15^{\circ}$ C.

groep V: 7 dagen $+15$, daarna wisselde de temperatuur 5 dagen lang elke dag van $+17$ naar -2 , daarna 9 dagen $+15^{\circ}$ C (zie figuur 4).

De eerste week na de inoculatie, toen de planten bij $+15^{\circ}$ C stonden, was er nog geen reactie te zien, maar zodra de planten werden blootgesteld aan temperatuurschommelingen, begon een aantal ervan zwarte plekken op de bast te vertonen, die zich vanaf de inoculatieplaats uitbreidden. Deze zwarte plekken zijn typisch voor een aantasting door *P. syringae*. De met water behandelde planten reageerden niet.

Figuur 4 laat zien hoe de geïnoculeerde planten reageerden op de temperatuurbehandeling. Het minst aangetast werden de groepen I en III. Iets meer planten werden aangetast in de groepen II en IV, waarbij de zwarte plekken in groep IV gemiddeld twee keer zo groot waren als in groep II. De meeste planten werden ziek in groep V en daar waren de zwarte plekken ook het grootst. Opmerkelijk was het verschil tussen groep III en V: in groep III (geen aantasting) had de temperatuur sterk gefluctueerd, maar was niet onder nul geweest, terwijl bij groep V (sterkste aantasting) bij eenzelfde fluctuatiefrequentie de temperatuur wél voorbij het vriespunt was geweest.

Hieruit blijkt, dat fluctuatie van de temperatuur de ontwikkeling van *P. syringae* bevordert, maar vooral dán, als het vriespunt de fluctuatie ligt.

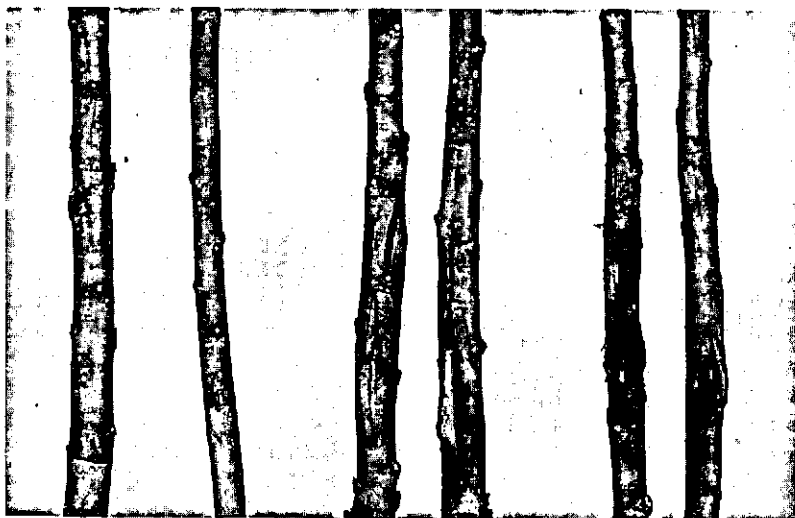
Conclusies

Uit het bovenstaande blijkt, dat bij populieren minstens twee factoren een rol spelen bij het ontstaan van vorstschade en aantasting door *P. syringae*.

1 De vorstgevoeligheid van de populier neemt toe bij aanwezigheid van *P. syringae*.

2 Een aantasting door *P. syringae* wordt gestimuleerd door sterke temperatuurwisselingen, vooral als het vriespunt binnen de fluctuatie valt.

Hieruit blijkt, dat *P. syringae* en vorst een gevaarlijk



Figuur 2 Twee jaar oude *P. trichocarpa*, één jaar na kunstmatige inoculatie. Links: controleplanten; midden en rechts: geïnoculeerd met *P. syringae*.

Figure 2 Two-year-old *P. trichocarpa*, one year after artificial inoculation. Left: check plants; centre and right: inoculated with *P. syringae*.



Figuur 3 *P. nigra* zaailingen na twee uur vorst (-3 tot -4 °C). Links onbehandeld, rechts vooraf bespoten met *P. syringae*.

Figure 3 *P. nigra* seedlings after two hours frost (-3 till -4 °C). Left untreated, right pretreated with *P. syringae*.

	temperatuurbehandeling/ temperature treatment		aantasting/attack		
	inoculatie/inoculation		planten behandeld plants treated	planten aangetast plants attacked	lengte necrose*) length of necrosis*)
groep I group I	+ 15	—	15	1	10 mm
groep II group II	+ 15	—	15	3	14 mm
	+ 2	—			
groep III group III	+ 15	—	15	0	—
	+ 2				
groep IV group IV	+ 15	—	15	3	28 mm
groep V group V	+ 15	—	15	7	49 mm
	- 2				
		7 dagen days		9 dagen days	

Figuur 4 Bastnecrose bij *P. trichocarpa*, drie weken na inoculatie met *P. syringae*; de invloed van wisselende temperaturen.

Figure 4 Bark necrosis with *P. trichocarpa*, three weeks after inoculation with *P. syringae*; the effect of fluctuating temperatures.

*) gemiddelde van de positief reagerende planten
mean of the positively reacting plants

duo vormen: de bacterie verhoogt de vorstgevoeligheid van de plant, terwijl vorst het risico van een aantasting door *P. syringae* doet toenemen. Het is nu ook duidelijk, waarom de "vorstschade" aan de zuidkant van de planten vlak boven de grond het hevigst is. In het vroege voorjaar, als de plant uit zijn winterrust komt maar nog geen bladeren heeft, kan de zon direct op de bast schijnen. Hierdoor loopt de temperatuur bij helder weer overdag sterk op, terwijl juist bij dit weerty-

pe 's nachts sterke uitstraling plaatsvindt. Daardoor kan de temperatuur met name vlak boven de grond tot onder het vriespunt dalen. Dat zijn precies de omstandigheden waaronder *P. syringae* zich optimaal kan ontwikkelen en waarbij bovendien de vorstgevoeligheid van de weefsels toeneemt, zodat bij voldoende lage temperatuur er eerder vorstschade optreedt. Op deze wijze ontstaat een ziektebeeld dat door *P. syringae* en vorst samen wordt veroorzaakt.

Literatuur

- Amy, D. C., S. E. Lindow & C. D. Upper. 1976. Frost sensitivity of *Zea mays* increased by application of *Pseudomonas syringae*. *Nature* 262: 282-284.
- Day, W. R. 1948: A note on canker development in poplars and willows. *Nederlands Bosbouw tijdschrift* 20: 323-330.
- Hirano, S. S., E. A. Maher, A. Kelman & C. D. Upper. 1978. Ice nucleation activity of fluorescent plant pathogenic *Pseudomonads*. In: *Proc. 4th. Int. Conf. Pl. Path. Bact., Angers, part 2*: 717-724.
- Hoppe, P. E., D. C. Amy & J. Martens. 1964. Frost susceptibility in corn increased by leaf blight infections. *Plant Disease Reporter* 48: 815-816.
- Joachim, H. F. 1957. Ueber Frostscha den an der Gattung *Populus*. *Archiv. Forstwesen* 6: 601-678.
- Klement, Z., D. S. Rozsnyay & M. Arsenyevic. 1974. Apoplexy of Apricots III. Relationship of winter frost and the bacterial canker and die-back of Apricots. *Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung.* 9: 35-45.
- Maki, L. R., E. L. Galyan, M. M. Chang-Chien & D. R. Galdwell. 1974. Ice nucleation induced by *Pseudomonas syringae*. *Applied Microbiology* 28: 456-459.
- Meiden, H. A. van der. 1965. Schade door late wintervorst bij populier. *Populier* 2: 6-8.
- Sabet, K. A. 1953. Studies on the bacterial die-back and canker disease of poplar III. Freezing in relation to the disease. *Annals Applied Biology* 40: 645-650.

Bespreking

J. G. Addink: *Natuur en recreatie in nationale parken*

Doctoraalscriptie planologie, Planologisch Demografisch Instituut, Universiteit van Amsterdam 1982. 255 p.

De auteur heeft gepoogd door middel van literatuuronderzoek en eigen bevindingen een afweging te maken tussen de recreatiebelangen en de natuurbelangen in de (toekomstige) Nationale Parken. Aangegeven worden criteria die een rol kunnen spelen bij deze belangenafweging. Ingegaan wordt verder op de invloed die recreatie heeft op het natuurlijk milieu, waarbij veel aandacht wordt besteed aan de gevolgen voor flora en fauna. Jammer genoeg wordt vrijwel niet ingegaan op de onderzoeks-

technieken en methoden, zodat niet duidelijk wordt in hoeverre de genoemde onderzoeken met elkaar vergelijkbaar zijn. Wel wordt duidelijk, dat het leggen van verbanden tussen aantallen bezoekers en beïnvloeding van de flora meer onderzocht is en ook beter aan te tonen is dan van de (avi)fauna. De uitkomsten van de onderzoeken zijn voor de praktijk, d.w.z. voor specifieke problemen in bepaalde natuurgebieden, lang niet altijd algemeen bruikbaar. Zo wordt er bijvoorbeeld lang stilgestaan bij onderzoek in de duinstreken, die dusdanig specifiek zijn qua natuur en qua recreatief gebruik, dat andere gebieden daarmee niet vergelijkbaar zijn.

Door de auteur worden verder mogelijkheden aangegeven om het recreatief gebruik in goede banen te leiden.

De waarde van het rapport ligt

daarin dat van de problematiek: recreatie versus natuur een vrij uitgebreid overzicht wordt gegeven en aangegeven wordt hoe een keuze is te maken tussen de verschillende belangen aan de hand van diverse criteria. Zeker voor outsiders is het rapport een goede inleiding. Voor insiders zal het rapport weinig nieuwe gezichtspunten opleveren en zullen er zelfs punten in staan waarover men goed van mening kan verschillen. Voor onderzoekers geeft het rapport een (niet compleet) overzicht van onderzoeken die er op dit gebied zijn uitgevoerd. Een bruikbare evaluatie ervan ten behoeve van verder onderzoek wordt echter nauwelijks gegeven. De titel van de scriptie is te beperkt: de gesignaleerde problematiek geldt niet alleen voor Nationale Parken maar voor alle natuurgebieden in ons land.

J. C. Heijtze