

Scheutsterfte en bastnecrose, veroorzaakt door *Sphaeropsis sapinea* in Nederland¹⁾

Shoot blight and bark necrosis caused by Sphaeropsis sapinea in the Netherlands

M. de Kam en B. C. van Dam

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

1 Inleiding

Sphaeropsis sapinea, de oorzaak van scheutsterfte bij *Pinus* soorten, heeft sinds 1982, toen de symptomen voor het eerst in Nederland werden waargenomen (Van Dam en De Kam, 1984), epidemische vormen aangenomen. De schade nam in 1983 en 1984 explosief toe (De Kam, 1985a). Ook in 1985 breidde de schade zich nog uit, maar in 1986 kwamen minder alarmerende berichten uit de bosbouwpraktijk dan in 1985. Eigen kwantitatieve waarnemingen in een viertal jonge opstanden van groveden in de jaren 1984 tot en met 1986 wezen eveneens op een afnemende aantasting in 1986 ten opzichte van 1985.

Nadat van 1982 tot en met 1984 een aantal incidentele waarnemingen waren verricht, werd in het voorjaar van 1985 op De Dorschkamp een onderzoeksproject gestart getiteld: "Epidemiologie en bestrijding van *Sphaeropsis sapinea* (= *Diplodia pinea*), oorzaak van scheutsterfte bij *Pinus*". Enkele resultaten van dat onderzoek zijn inmiddels gepubliceerd (De Kam, 1985a,b; Van Dam, 1986). Daarnaast voerden studenten van de Landbouwniversiteit Wageningen een doctoraalonderzoek op De Dorschkamp uit, waarvan de resultaten in scripties werden verwerkt (Smits, 1986; De Winter, 1986). Het onderzoek aan dit project is momenteel in volle gang en van verschillende proeven zijn nog geen definitieve resultaten beschikbaar. Gezien echter de actualiteit van het onderwerp leek het ons gewenst om de huidige stand van zaken reeds nu te publiceren. In dit artikel wordt een deel van het onderzoek, dat in 1985 en 1986 is verricht, kort samengevat. Gedetailleerde gegevens zijn vastgelegd in de genoemde publikaties en scripties, en in uitvoerige onderzoeksverslagen die bij De Dorschkamp ter inzage liggen.

De symptomen, die *S. sapinea* bij de den veroorzaakt zijn verschillend van aard en geven soms aanleiding tot verwarring. In deze bijdrage wordt daarom met name aandacht besteed aan de twee voornaamste ziekteverschijnselen, die in Nederland door *Sphaeropsis* worden veroorzaakt, te weten: het afsterven van scheu-

Summary

The research carried out since 1982 on Sphaeropsis sapinea in the Netherlands is reviewed. The first symptoms of the disease were found in 1982. Damage increased in pine plantations in the following years: it seemed to be most serious in 1985. Two kinds of inoculation experiments were carried out. Firstly, in spring, spore suspensions of the fungus were sprayed on the developing shoots of 2-year-old Pinus nigra and P. sylvestris. The fungus killed the shoots within a week. Wounding appeared not to be necessary for infection. Secondly, in August, 8-14-year-old branches of P. sylvestris were inoculated with mycelium. In this experiment, wounding appeared to be necessary and necroses developed significantly faster in the bark of branches that had been cut from the trees immediately before inoculation, than in the bark of branches that remained on the trees. These results, plus already existing literature data lead to the conclusion that S. sapinea, acting as a primary pathogen, is the cause of shoot blight. S. sapinea may also cause bark necrosis in older branches and in the main stem. Weakening appears to favour such necroses and wounding seems to be necessary to allow the fungus to enter the tissue. The reasons for the epidemic of S. sapinea in the Netherlands are not yet clear. The fungus occurred in the country long before any disease symptom was observed. The temperature relations of 27 isolates originating from various continents and from the Netherlands were compared to detect possible variations. Their optimum temperature for mycelial growth in vitro varied from 26.5 to 31.7 degrees Celcius. Temperature relations did not correlate with the geographical origin of the isolates, and the isolates could not be grouped on the basis of their optimum temperature or growth curve model. Thus, to date there is no evidence that the epidemic is the result of the introduction of a virulent strain from another country. No positive correlation was found in the field between the occurrence of shoot blight and supposed variations in NH₃ emissions (as defined on the basis of the occurrence of intensive livestock enterprises). Future research on S. sapinea in the Netherlands is being

¹⁾ Verschijnt tevens als Mededeling 233 van De Dorschkamp. Foto's: De Dorschkamp.



Figuur 1 *Sphaeropsis sapinea*. Scheutsterfte bij *Pinus sylvestris*, voorjaar 1986.

Figure 1 *Sphaeropsis sapinea*. Shoot blight on *Pinus sylvestris*, spring 1986.

ten van het lopende jaar en bastnecrose bij oudere takken en in de stam.

2 *Sphaeropsis* als veroorzaker van scheutsterfte

In het voorjaar van 1985 werden veldwaarnemingen verricht in een vier- tot zesjarige natuurlijke verjonging van groveden op het landgoed Renkumse Beek. Op 21 mei werden bij nauwkeurige waarnemingen kleine, glazige en lichtbruine vlekjes gevonden op de zich strekkende scheuten. Isolaties uit zulke vlekjes toonden aan, dat deze door *Sphaeropsis* waren veroorzaakt. Tien dagen daarna werden vele duidelijk zichtbare necrosen aangetroffen en ook reeds een aantal geheel dode scheutjes. Op 18 juni 1985 werden op deze necrotische plekken en op de dode scheuten, pycniden van *Sphaeropsis* gevonden met de eerste rijpe conidiën. Uit opname van de aantasting bleek, dat zich na half juni geen nieuwe necrosen meer ontwikkelden.

In 1986 werden infectieproeven uitgevoerd op tweejarige planten van groveden en Corsicaanse den in

directed on the alleged effects of excess nitrogen on the development of the fungus, and on possible differences related to the morphology and virulence of the fungus.

potten in de kas. Dit soort proeven hebben het voordeel, dat de ontwikkeling van de ziekte in de waardplant vanaf het moment van infectie nauwkeurig kan worden gevolgd. Tijdens het uitlopen van de scheuten werden de planten bespoten met sporensuspensies van *S. sapinea* zonder dat de scheuten werden beschadigd. Als gevolg van de behandeling werden de jonge scheuten binnen een week door de schimmel gedood. Deze proeven, en de waarnemingen in het veld hebben tot de conclusie geleid, dat *S. sapinea* gezonde, zich strekkende scheuten van *Pinus* kan doen afsterven, zonder dat daarbij verwonding noodzakelijk is. De resultaten van de inoculatieproeven komen overeen met onderzoekingen door Chou (1978) in Nieuw Zeeland en door Brookhouser en Peterson (1971) in de Verenigde Staten van Amerika, die eveneens tot de conclusie komen, dat verwonding van de zich strekkende scheut niet noodzakelijk is, omdat de schimmel in staat is, de epidermis van de zich strekkende scheut direct te penetreren, of via stomata in de jonge naald binnen te dringen.

Er zijn tot nu toe geen aanwijzingen, dat de conditie van de waardplant van doorslaggevende invloed is op het optreden van het symptoom scheutsterfte. Hiermee is weliswaar niet gezegd dat zo'n effect moet worden uitgesloten, maar de waarnemingen tot nu toe wijzen niet in die richting. Scheutsterfte is het meest karakteristieke symptoom dat door *S. sapinea* wordt veroorzaakt en is voor de veldwaarnemer het meest betrouwbare diagnostische kenmerk (figuur 1).

3 *Sphaeropsis* als veroorzaker van bastnecrose op takken en in de stam

In de bast van stam en takken van bomen die in een slechte conditie verkeren of bezig zijn af te sterven, worden veelvuldig necrotische plekken aangetroffen. In een aantal gevallen werd uit deze necrosen *S. sapinea* geïsoleerd, maar ook andere schimmels blijken regelmatig voor te komen in zulke necrosen. Wanneer de bast eenmaal is afgestorven, ontstaan op de necrosen, die door *Sphaeropsis* zijn veroorzaakt, massaal pycniden van de schimmel. Ook de bast van achtergebleven dunningshout en takmateriaal op kaalstagen wordt vaak gekoloniseerd door *Sphaeropsis*: op zulk materiaal fructificeert de schimmel overvloedig.

In tegenstelling tot het onderzoek naar het symptoom scheutsterfte is het symptoom bastnecrose aan oudere takken en zijn de factoren, die bij het ontstaan daarvan

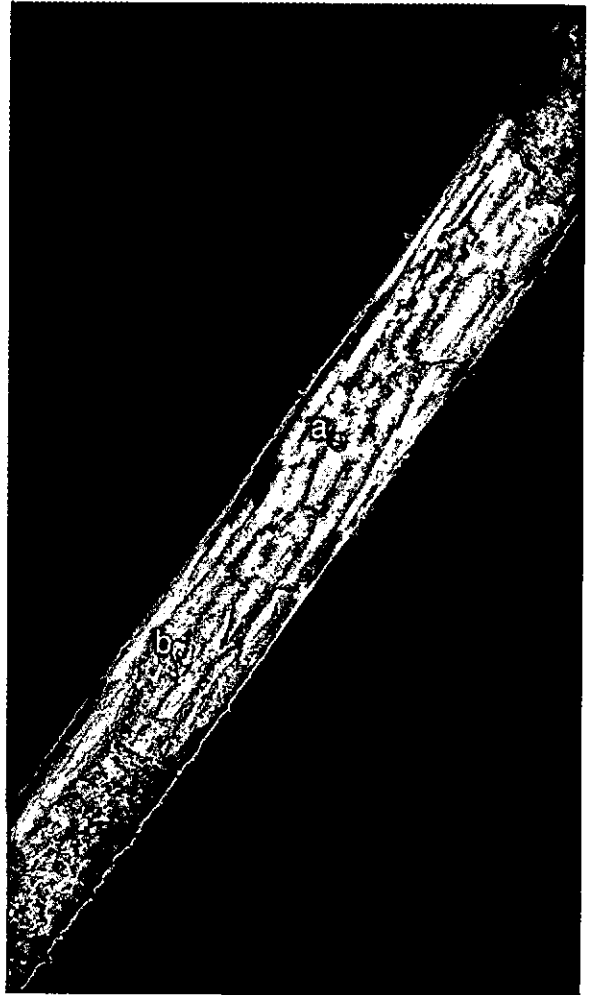
een rol spelen, nog maar weinig onderzocht. Chou (1987) concludeert op grond van inoculatieproeven, dat de bast van *P. radiata* onder normale omstandigheden zeer resistent is tegen *S. sapinea*. De Winter (1986) voerde in augustus 1986 inoculaties uit met mycelium van *S. sapinea* in 8-14 jaar oude takken van 20 jaar oude *P. sylvestris*. Een deel van de takken werd direct voorafgaande aan het inoculeren afgezaagd. De schimmel bleek het beste te groeien in de bast van de afgezaagde takken: alle inoculaties resulteerden binnen vier weken in ernstige necrosen (figuur 2). In de takken die niet waren afgezaagd trad weliswaar enige groei van de schimmel op, maar deze was significant langzamer dan in de afgezaagde takken. Verder ontstonden er alleen necrosen, zowel op de afgezaagde als op de niet-afgezaagde takken, wanneer de bast vooraf werd verwond. Het afzagen van takken is weliswaar een zeer kunstmatige en grove manier om de conditie van de bast negatief te beïnvloeden, maar de resultaten van deze proef geven toch duidelijk aan, dat een slechte conditie van de bast de groei van *Sphaeropsis* in de bast bevordert. Gezien echter het gegeven, dat *Sphaeropsis* necrosen aan oudere takken en op de stam veelvuldig in het veld optreden, ook bij niet-afgezaagde takken en bij staande bomen, blijft het de vraag aan welke factoren de bast moet worden blootgesteld, en in welke mate, om gevoelig te worden voor *Sphaeropsis*. In de literatuur worden verschillende factoren genoemd, die de boom gevoelig zouden maken voor een aantasting door *Sphaeropsis*, zoals droogte, slechte groeiplaats (Waterman, 1943), vorst (Johnson, 1985) en vermindering van de conditie tengevolge van luchtverontreiniging (Vitaliteit, 1984). Tot nu toe is echter geen van deze verbanden experimenteel aangetoond.

4 Onderzoek met het doel de *Sphaeropsis* epidemie in Nederland te verklaren

In een eerder artikel (De Kam, 1985a) werd een aantal theoretische verklaringen voor de *Sphaeropsis* epidemie opgesomd. Twee van die hypothesen zijn momenteel in onderzoek. Ten eerste: de introductie of het ontstaan van een meer virulente stam in Nederland, en ten tweede: achteruitgang van de conditie van de waardplant. Het onderzoek, dat tot nu toe is uitgevoerd om deze vooronderstellingen te toetsen, wordt hieronder in het kort weergegeven.

4.1 *Introductie of het ontstaan van een virulente stam*

Om vast te stellen of er mogelijk een introductie van de schimmel heeft plaatsgevonden werd eerst nagegaan of, en in welke mate, *Sphaeropsis* in Nederland voorkwam, voordat van enig probleem sprake was.



Figuur 2 Necrose in de bast van een afgezaagde tak van *P. sylvestris*, 4 weken na inoculatie via verwonding met mycelium van *S. sapinea*. a = inoculatie; b = controle (alleen verwonding).

Figure 2 Necrosis in the bark of an excised branch of P. sylvestris, 4 weeks after inoculation through wounding with mycelium of S. sapinea. a = inoculation; b = control (merely wounding).

Daartoe werd alle Nederlandse mycologische herbaria verzocht opgave te verstrekken of zich in hun collectie exemplaren van *Sphaeropsis sapinea* (eventueel onder een synoniem) bevonden, die voor 1982, het begin van de epidemie, in de herbaria waren gedeponeerd. Ook werd in de literatuur naar gegevens gezocht over de aanwezigheid van de schimmel in Nederland.

De resultaten waren de volgende.

- De schimmel (onder de naam *Diplodia pinea*) is gevonden op de schors van *P. sylvestris* door Van Hall omstreeks 1866. De vindplaats wordt niet vermeld, maar aangenomen mag worden dat dat in Nederland was. Herbariummateriaal kon niet worden achterhaald.
- De schimmel is onder de naam *Sphaeropsis ellisii*

Sacc. in maart 1959 door Gremmen in Wageningen gevonden op dode naalden van *P. sylvestris* en in september 1960 in Lunteren op dode bast van *P. sylvestris*. Beide exsiccaten bleken nog aanwezig te zijn in het Plant Pathology Herbarium van de Cornell Universiteit van Ithaca. Ze bleken inderdaad *S. sapinea* te bevatten.

- Tenslotte werd de schimmel aangetroffen op denekegels (*P. sylvestris*) in een kerstversiering. Volgens de eigenaar waren de kegels verzameld "ergens op de Veluwe, in elk geval voor 1980". De conclusie uit het bovenstaande is, dat *S. sapinea* in Nederland voorkwam voordat van enig probleem sprake was. Er is echter niet meer vast te stellen of de schimmel algemeen voorkwam of niet. Het feit dat hij niet in herbaria is gedeponeerd zegt niet veel over het voorkomen ervan in het veld. Berichten uit de praktijk, dat de symptomen al veel langer bekend zouden zijn in Nederland, zijn, ook al zouden ze correct zijn, niet meer te verifiëren. Wel staat vast, dat de schimmel, zelfs indien hij vrij algemeen was, geen schade van betekenis veroorzaakte. Zou dus deze epidemie het gevolg zijn van een introductie, dan gaat het om de introductie van een bepaalde stam van de schimmel en niet om de introductie van de soort. Het ontstaan van een nieuwe stam ter plaatse (bij voorbeeld ten gevolge van mutatie) zou eveneens een epidemie in theorie kunnen verklaren.

In beide gevallen is te verwachten, dat er in Nederland minstens twee *Sphaeropsis* populaties voorkomen, die wellicht op een of andere manier van elkaar kunnen worden onderscheiden. Omdat *Sphaeropsis* gewoonlijk meer schade veroorzaakt in warmere streken (Nederland ligt aan de noordzijde van het verspreidingsgebied), lag het voor de hand na te gaan, of er in Nederland wellicht een stam voorkomt die is aangepast aan lagere temperaturen. Om dit te onderzoeken werd de groei-snelheid bij verschillende temperaturen in reïncultuur bepaald bij 13 Nederlandse isolaten en werden deze vergeleken met 6 isolaten uit de USA, 3 uit Nieuw-Zeeland, 2 uit Engeland, 1 uit Spanje, 1 uit België en 1 uit Luxemburg. De optimum temperatuur voor groei van het mycelium in reïncultuur bleek bij de 27 isolaten te variëren van 26,5 tot 31,7 °C. Er bleek geen verband te zijn tussen de geografische herkomst van de onderzochte isolaten en hun groeisnelheid bij verschillende temperaturen. Met andere woorden, uit dit onderzoek bleek niet, dat *Sphaeropsis*-stammen uit warmere streken zijn aangepast aan hogere temperaturen. Evenmin kon bij de 13 isolaten, die waren verzameld op verschillende plaatsen in Nederland, het bestaan van afzonderlijke populaties worden aangetoond (Smits, 1986).

Weliswaar is het onderzoek van temperatuurrelaties een methode die haar waarde heeft bewezen bij het

onderscheiden van schimmelpopulaties (de Noord-amerikaanse agressieve en de Europese semi-agressieve stam van de iepenziekte kunnen op deze wijze goed worden onderscheiden (Brazier, 1981), maar het is geenszins de enige methode. Bovendien was het onderzoek beperkt van opzet. We kunnen dan ook uitsluitend op basis van dit onderzoek niet concluderen, dat er geen nieuwe, agressieve stam in het spel is. Het onderzoek in deze richting wordt daarom in 1987 voortgezet door middel van morfologisch onderzoek en met behulp van infectieproeven.

4.2 *Het effect van de conditie van de waardplant*

Volgens gegevens van het Staatsbosbeheer (Vitaliteit, 1984) doet *Sphaeropsis* de meeste schade in gebieden waar de conditie van de den het slechtst is. Op grond van de argumenten in paragraaf 3 ligt zo'n verband voor de hand: we mogen immers veronderstellen, dat *Sphaeropsis* een voorkeur heeft voor verzwakte bomen, ook al zijn we nog niet in staat de term "verzwakt" goed te definiëren. Dat *Sphaeropsis* zelf ook het nodige bijdraagt aan een verdere verzwakking, is vanzelfsprekend. Een duidelijk onderscheid moet weer gemaakt worden tussen het symptoom "scheutsterfte" (niet duidelijk afhankelijk van de conditie van de plant) en necrose van de bast bij oudere takken (afhankelijk van de conditie van de waardplant).

4.2.1 *Stikstofovermaat als mogelijke verklaring*

Stikstof is een onmisbaar element voor elk levend organisme. Zonder stikstof is leven ondenkbaar en te weinig N heeft dan ook directe negatieve invloed op de groei van de plant. Binnen bepaalde grenzen heeft een bemesting met N een positief effect op de groei, maar voor een goede groei en een goede gezondheidstoestand van een plant is uiteraard meer nodig dan stikstof alleen. Onderzoek in de laatste jaren heeft aangetoond, dat in sommige bosgebieden in Nederland sprake is van een te hoge N-concentratie in de naalden van de den en van ongunstige verhoudingen van elementen (P, K, Mg) ten opzichte van N. Dat is met name het geval in gebieden met veel veehouderijbedrijven. De stikstof afkomstig uit de mest van deze bedrijven komt langs verschillende wegen in de plant terecht. Volgens Roelofs et al. (1985) kan een overmaat aan stikstof leiden tot een reeks van processen die de groei van de den nadelig beïnvloeden, onder andere door het voortijdig afvallen van naalden. Bovendien zijn in de landbouw-, tuinbouw- en bosbouwkundige literatuur vele voorbeelden bekend van effecten, in positieve of negatieve zin, van de minerale voeding op de afweermechanismen van de plant tegen ziekten (Huber, 1980). Het leek ons daarom zinvol, om de vooronderstelling, dat de *Sphaeropsis*-epidemie een

gevolg is van een overmaat aan stikstof, of een daarmee samenhangende ongunstige elementenverhouding, te toetsen. In een eerste benadering werd in 41 grovedennelopstanden in de leeftijd van 4 tot 14 jaar in 12 bosgebieden in Brabant met verschillend veronderstelde ammoniakemissie (op basis van het voorkomen van biobedrijven) het percentage door *Sphaeropsis* gedode scheuten vastgesteld (Smits, 1986). Er werd geen significant verschil in aantasting gevonden. Op grond van de waarnemingen kan echter niet worden geconcludeerd dat zo'n verschil afwezig is, omdat er behalve NH_3 nog talrijke andere factoren zijn die het optreden van scheutsterfte beïnvloeden, waardoor een eventueel effect van NH_3 kan worden vlesluiserd. Bovendien werd alleen het aantal dode scheutjes vastgesteld en we weten intussen, dat scheutsterfte waarschijnlijk niet de beste parameter is voor het aantonen van zo'n verschil (zie paragraaf 2). Hoe zinvol en noodzakelijk een dergelijk veldonderzoek ook is, het belang om daarnaast onderzoek te verrichten onder gecontroleerde omstandigheden, wordt met bovenstaande voorbeelden duidelijk geïllustreerd. Het effect van een overbemesting met stikstof en de relatie tussen de naaldsamenstelling en de aantastingsgraad door *Sphaeropsis* wordt momenteel onder kasomstandigheden op De Dorschkamp onderzocht.

5 Conclusies

Uit de waarnemingen tot nu toe blijkt, dat het van belang is, onderscheid te maken tussen twee verschillende ziektesymptomen die door *Sphaeropsis* worden veroorzaakt. Ten eerste veroorzaakt *Sphaeropsis* het afsterven van scheuten van het lopende jaar. De schimmel gedraagt zich daarbij als een primair pathogeen organisme: het onderzoek heeft tot nu toe geen aanwijzingen opgeleverd die het tegendeel doen vermoeden. Wanneer de aantasting tot deze vorm beperkt blijft, leidt dit niet tot ernstige schade aan bosopstanden van *Pinus*. De schimmel is echter ook in staat bastnecrosen op oudere takken en op de stam te veroorzaken. Deze aantasting kan leiden tot een ernstige vorm van taksterfte en tot de dood van de boom. Deze laatste vorm van aantasting treedt op wanneer de boom in een slechte conditie verkeert. Anders gezegd: de bast aan stam en takken van verzwakte dennen is gevoeliger voor *Sphaeropsis* dan die van gezonde dennen. Ver-

wonding bleek noodzakelijk te zijn om een aantasting van de bast bij takken, ouder dan 1 jaar, te verkrijgen. Of de epidemie in Nederland mogelijk het gevolg is van het optreden van een meer virulente stam van de schimmel, die al dan niet van elders is geïntroduceerd, is tot nu toe niet aangetoond.

Literatuur

- Brazier, C. M., J. Lea & M. K. Rawlings. 1981. The aggressive and non-aggressive strains of *Ceratocystis ulmi* have different temperature optima for growth. *Transact. Brit. Myc. Soc.* 76: 213-218.
- Chou, C. K. S. 1978. Penetration of young stems of *Pinus radiata* by *Diplodia pinea*. *Physiol. Pl. Pathol.* 13: 189-192.
- Chou, C. K. S. 1987. Crown wilt of *Pinus radiata* associated with *Diplodia pinea* infection of woody stems. *Eur. J. Path.* (in pres).
- Dam, B. C. van. 1986. *Sphaeropsis sapinea* in handelskwekerijen. *Plantenbeurs* 98 (31): 7.
- Dam, B. C. van & M. de Kam. 1984. *Sphaeropsis sapinea* (= *Diplodia pinea*), oorzaak van het afsterven van eindscheuten bij *Pinus* in Nederland. *Ned. Bosb. Tijdschr.* 56: 173-177; Mededeling Rijksinstituut voor onderzoek in de bos- en landschapsbouw "De Dorschkamp", Wageningen, nr. 212.
- Huber, D. M. 1980. The role of mineral nutrition in Defence. *Plant Disease*, 5 (21): 381-406.
- Johnson, D. W. 1985. *Diplodia* tip blight of *Ponderosa* pine in the Black Hills of South Dakota. *Plant Disease* 69: 136-137.
- Kam, M. de. 1985a. *Sphaeropsis* (= *Diplodia*) scheutsterfte: een incident of een permanent probleem? *Ned. Bosb. Tijdschr.* 57: 118-122.
- Kam, M. de. 1985b. *Sphaeropsis sapinea* in Nieuw Zeeland. Rapport Rijksinstituut voor onderzoek in de bos- en landschapsbouw "De Dorschkamp", Wageningen, nr. 410.
- Roelofs, J. G. M. et al. 1985. The effect of air-borne ammonium sulphate on *Pinus nigra* var. *maritima* in the Netherlands. *Plant and Soil* 84: 45-56.
- Smits, T. F. C. 1986. *Sphaeropsis sapinea*; literatuurstudie, verband met ammoniakemissie en verband met temperatuur. Doctoraalscriptie 86-08, LU Wageningen, vakgroepen Bosteelt en Phytopathologie. 99 p.
- Vitaliteit (de) van het Nederlandse bos in 1984. Rapport Staatsbosbeheer, Utrecht, 1984-26.
- Waterman, A. M. 1943. *Diplodia pinea* and *Sphaeropsis marlorum* on soft pines. *Phytopathology* 33: 828-831.
- Winter, M. E. de. 1986. Aantasting van meerjarige bast aan takken van *Pinus* spp. door *Sphaeropsis sapinea*. Doctoraalscriptie LU Wageningen. Vakgroepen Bosteelt en Phytopathologie. 41 p.