



Onderzoek naar verschillen in aantasting door *Chalara fraxinea* ('essentaksterfte') in Nederlandse essenselecties – verslag van de waarnemingen en bevindingen over 2012

Jitze Kopinga & Sven de Vries



CGN Rapport 26

Onderzoek naar verschillen in aantasting door *Chalara fraxinea* ('essentaksterfte') in Nederlandse essenselecties – verslag van de waarnemingen en bevindingen over 2012

Differences in susceptibility to *Chalara fraxinea* (twig dieback of ash) of selections of Common ash (*Fraxinus excelsior*) in The Netherlands – Report of the observations and results of 2012

Jitze Kopinga & Sven de Vries

© 2013 Wageningen, CGN/Stichting DLO

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van CGN/Stichting DLO.

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de (eerste) auteur worden besteld.

Centrum voor Genetische Bronnen Nederland

Adres : Droevendaalsesteeg 1, 6708 PD Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317 48 08 84
Fax : 0317 42 31 10
E-mail : cgn@wur.nl
Internet : www.wageningenUR.nl/cgn

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
Abstract	1
Verantwoording	1
1. Achtergrond en Probleemstelling	3
2. Doelstelling	5
3. Oorspronkelijk plan van aanpak	7
4. Werkwijze	9
5. Beschrijving van de beplantingen Roggebotzand, Reeshof en Vaartbos	11
6. Resultaten algemeen	13
7. Resultaten genenbanken Roggebotzand en Reeshof	15
8. Zaadgaarden Vaartbos 1 en 2	19
9. Invloed van rigoureuze snoei	25
10. Discussie	27
11. Conclusies	29
12. Literatuur	31

Samenvatting

In 2012 zijn opnames uitgevoerd in essenproefvelden van het CGN en zaadgaarden van het Staatsbosbeer naar de mate waarin de daar aanwezige essen inmiddels zijn aangetast door essentaksterfte, veroorzaakt door de schimmel *Chalara fraxinea*. Doel van dit onderzoek was om een indruk te krijgen van genetisch bepaalde verschillen in mogelijke resistentie /tolerantie voor deze ziekte. Het blijkt dat er binnen het bestaande sortiment aan zowel handelsklonen als klonen die niet zijn uitgegeven een zeer brede range van gevoeligheid en/of aantasting aanwezig is die uiteenloopt van nagenoeg 0 tot 100 op een schaal van 0-100. Hierbij treden soms opmerkelijke verschillen naar voren tussen de gevoeligheid voor bladaantasting en twijgsterfte, wat deels zou kunnen worden verklaard vanuit het beschermingsmechanisme ('avoidance') van de boom. Aangezien de ziekte in Nederland pas in 2010 is vastgesteld en zich naar verwachting nog verder zal ontwikkelen kan pas een harde uitspraak worden gedaan over het absolute resistentieniveau na onderzoek d.m.v. kunstmatige inoculaties. Een aantal handelsklonen profileerden zich in 2012 reeds als bovengemiddeld qua resistentie. Geknotte of sterk gesnoeide bomen zijn significant gevoeliger voor bladaantasting en twijgsterfte dan niet gesnoeide bomen.

Abstract

In 2012 investigations have been made in trial fields of the CGN and seed orchards of the State Forest Service into the level of attack of common ash by the fungus *Chalara fraxinea*.

The aim of the study was to obtain insight in possible genetically determined differences of susceptibility for the disease within the populations of ash that naturally occur in The Netherlands.

A broad variation in leaf infection and twig dieback was observed amongst over 200 clonal selections ranging for 0 to 100 on a scale of 0-100. Correlation between the rate of leaf infection and the rate of twig dieback was significant, but not consistent. This could be partly explained by differences in mechanisms of protection ('avoidance') of the trees to the disease.

Since the disease is only just since 2010 present in The Netherlands and a further expansion is to be expected within the coming years, no hard statements can be made yet about the definite level of susceptibility without further tests such as controlled inoculations.

A number of commercial clones already showed an above average level of resistance/tolerance to the disease. Pollarded or heavily pruned trees showed a significant higher level of susceptibility for both leaf infection and twig dieback than non pollarded trees.

Verantwoording

Het hier gerapporteerde onderzoek is mogelijk geworden dankzij een financiële bijdrage van het Productschap Tuinbouw en bijdragen in natura van het Staatsbosbeheer.

1. Achtergrond en Probleemstelling

In 2010 en 2011 is in toenemende mate melding gemaakt van massale aantasting van essenbeplantingen in verschillende delen van het land (o.a. Flevoland, provincie Utrecht). De veroorzaker is de schimmel *Chalara fraxinea* (ongeslachtelijke vorm), ook bekend als *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (geslachtelijke vorm). De ziekte heeft in Scandinavië al eerder op grote schaal essen doen afsterven, en is ook gerapporteerd uit Polen en Duitsland. Recentelijk is bekend dat de ziekte ook in België voorkomt (Chandelier *et al.*, 2011). In West-Europa zijn aantastingen van de schimmel tot dusver met name waargenomen op de gewone es (*Fraxinus excelsior*).

De ziekte trad aanvankelijk vooral op in beplantingen die als hakhout worden onderhouden, maar ook op oudere exemplaren zijn recentelijk de symptomen waargenomen. Ook zijn er in 2011 meldingen binnengekomen dat de ziekte voorkomt op sommige kwekerijen van laanbomen of bos- en haagplantsoen.

Er wordt door beheerders van essenbeplantingen serieus rekening mee gehouden dat deze nieuwe ziekte zich op vergelijkbare wijze als in Polen, Duitsland en Scandinavië en met vergelijkbare schade de komende jaren in Nederland zal uitbreiden (Bosschap, 2011; Vereniging voor Natuurmonumenten, 2011), met rampzalige gevolgen voor het voortbestaan van bossen, cultuurlandschappen en natuurgebieden. Het ligt in de verwachting dat de ziekte ook omvangrijke gevolgen voor de leveranciers van teeltmateriaal zal hebben, zowel direct (aantasting op de kwekerij) als indirect (afzet van plantmateriaal).

2. Doelstelling

Het is voor de leveranciers van zowel laanbomen als bos- en haagplantsoen belangrijk om op korte termijn te weten of het nog zinvol is om door te gaan met het telen van het huidige sortiment of dat er beter zo snel mogelijk kan worden ingezet op de teelt van materiaal dat een hoger natuurlijk resistentieniveau voor de ziekte heeft.

Er zijn inmiddels sterke aanwijzingen dat niet ieder individu of herkomst van de gewone es even zwaar wordt aangetast. Recent onderzoek van o.a. McKinney *et al.* (2011) toonde aan dat er in Denemarken een brede variatie is in de reactie van de diverse aldaar voorkomende essen-genotypes. Ook in Zweden verschilt de vatbaarheid tussen individuele bomen (Bakys *et al.*, 2009). Maar ook in beplantingen in Nederland (o.a. Vaartbos, Genenbank Staatsbosbeheer) kwam uit eigen waarnemingen in 2011 reeds verschil in mate van aantasting op individueel boomniveau naar voren. Voor de selectie van resistent of voldoende tolerant uitgangsmateriaal geeft dit positieve vooruitzichten.

Uiteraard zou import en aanplant van geselecteerd materiaal uit bijvoorbeeld Scandinavië een mogelijke optie zijn, wanneer dat eenmaal beschikbaar komt. Van dit materiaal is echter onvoldoende bekend over de toepassingsmogelijkheden, gebruikswaarde en 'aangepastheid' aan het Nederlandse klimaat. Dit betekent dat die aspecten na gebleken tolerantie voor de ziekte in Nederland naderhand nog eens moeten worden onderzocht, hetgeen een tijdrovende aangelegenheid is. En voor de teelt van autochtone Nederlandse herkomsten is import uiteraard geen optie.

De insteek van het in dit rapport beschreven onderzoek was dan ook om op korte termijn te inventariseren of er (evenals in het Deense onderzoek) ook in Nederland op het oog consistente verschillen in aantasting zijn tussen de diverse genotypen, waarvan het 'gedrag' t.a.v. alle overige van belang zijnde aspecten reeds voldoende bekend is. Het gaat daarbij om diverse opstanden c.q. proefvelden voor toetsing van Nederlandse essenklonen, -herkomsten en de nakomelingen daarvan die gedurende de tweede helft van de vorige eeuw zijn aangelegd door het toenmalige bosbouwproefstation De Dorschkamp, tegenwoordig het Centrum voor Genetische Bronnen Nederland (CGN Wageningen UR). Het gaat hier om ruim dertig opstanden die verspreid staan over Nederland (zie ook Afbeelding 1 op pag. 10).

Wanneer de verschillen in aantasting tussen dezelfde genotypen op verschillende locaties een vergelijkbaar beeld oplevert is dit een goede basis voor een verdere selectie van geschikt uitgangsmateriaal. Voordelen van deze benadering zijn samengevat:

- De herkomst (herkomstgebied, moederbomen) van het materiaal is bekend en beschreven;
- Over de aangepastheid aan de Nederlandse groeiplaatsomstandigheden is inmiddels al veel bekend. Dit maakt een nadere toetsing van de geschiktheid van materiaal van het eenmaal geselecteerde materiaal minder noodzakelijk of zelfs onnodig. Met name voor een snelle uitgifte van laanbomen heeft deze voorkennis voordelen;
- Het materiaal staat in voldoende herhalingen (statistisch) verspreid over Nederland;
- Het betreft materiaal van verschillende ouderdom (wat ook een indruk kan geven van het gedrag van de schimmel in de verschillende leeftijdscategorieën van hetzelfde genotype);
- Algemeen: een gerichte toetsing van reeds bekend materiaal verdient de voorkeur boven een toetsing van willekeurige bomen die gaandeweg opvallen vanwege een lage aantastingsgraad door de schimmel omdat het laatste impliceert dat er nog nader onderzoek nodig is naar de traditionele gebruikswaardeaspecten.

3. Oorspronkelijk plan van aanpak

Het plan van aanpak kent drie, elkaar min of meer overlappende fasen:

- (1) Vaststellen van verschillen in de mate van aantasting van genetisch verschillende selecties van *Fraxinus excelsior* (2012);
- (2) Het selecteren van resistente en/of voldoende tolerante genotypen van *Fraxinus excelsior* van Nederlandse afkomst (2013-2014);
- (3) Het binnen Nederland beschikbaar stellen van geselecteerde genotypes voor de teelt van gezond uitgangsmateriaal (2014 e.v.).

Fase 1 is uitgevoerd in 2012 en betrof een inventarisatie van het voorkomen van de ziekte in bestaande proefvelden en op basis van zichtbare ziektesymptomen en de onderlinge fenotypische verschillen in aantasting tussen een honderdtal klonaal vermeerderde Nederlandse essen-selecties.

Fase 2 zal worden uitgevoerd wanneer blijkt dat er een voldoende hoge mate van verschillen in aantasting zijn waargenomen. In 2013 zal het verloop van aantasting, c.q. de uitbreiding op boomniveau per genotype, en per populatie (nakomelingschappen en herkomsten) verder worden gevolgd en in kaart gebracht. Ook zal worden begonnen met gecontroleerde toetsingen van de resistentie van veelbelovende klonen door middel van kunstmatige inoculatie. In deze toetsingen zullen ook individuen van een aantal veel toegepaste laanboomcultivars worden meegenomen, zodat aan de hand daarvan reeds globaal kan worden aangegeven wat de verwachtingen t.a.v. eventuele aantasting door de ziekte zijn. Bij voorkeur worden deze toetsingen *in situ* uitgevoerd. In gevallen waarin dat technisch of praktisch moeilijk uitvoerbaar is zullen toetsculturen van op onderstam en via zaad vermeerderde toetsplanten moeten worden opgezet.

Fase 3 is een vervolg op, c.q. herhaling van de eerste reeks toetsingen en veldwaarnemingen. Bij voldoende consistentie in resistentieniveau kunnen geschikte klonen, nakomelingschappen en herkomsten worden aangewezen.

Voorliggend rapport moet in dit geheel worden gezien als eerste deelrapport dat zich beperkt tot fase 1.

4. Werkwijze

In 2011 waren reeds enige veldopnames uitgevoerd in de genenbank Roggebotzand in Dronten en de essenzaadgaarden Vaartbos 1 en 2 te Zeewolde. Van essen uit de genenbank zijn toen takmonsters verzameld van aangetaste twijgen die voor schimmelisolatie en identificatie zijn aangeboden aan de NWWA in Wageningen. Hierbij werd de aanwezigheid van *Chalara fraxinea* vastgesteld.

Op basis hiervan is besloten om de veldopnames in eerste instantie te richten op het voorkomen van voor de ziekte kenmerkende fenotypische kenmerken en isolatie en identificatie van de schimmel te beperken tot steekproeven waarvan de verzamelde monsters tot nader onderzoek werden bewaard bij -20 graden C.

De fenotypische kenmerken waarop met name werd gelet waren de mate van aanwezigheid van recent afgestorven twijgen in combinatie met verdorring van pas uitgelopen blad, e.e.a. naar voorbeeld van Koltay *et al.* (2012). Om te zijner tijd ook optimale aansluiting te krijgen op de overige internationale waarnemingen werden, naast een eigen beoordelingssystematiek gaandeweg ook de scoringsmethoden van McKinney *et al.* (2011) en Kirisits & Freinschlag (2012) ter vergelijking aangehouden. De methoden berusten alle op een klasse-indeling gebaseerd op het geschatte percentage aangetaste of dode twijgen in de boomkroon of bepaalde gedeelten van de boomkroon. Bij de systematiek van de in dit rapport beschreven onderzoek is soms voor een klasse-indeling gekozen, maar meestal voor percentages, al naar gelang twijgsterfte dan wel bladaantasting de boventoon voerde in het schadebeeld en tevens rekening houdend met het ontwikkelingsstadium van de bomen.

In het voorjaar van 2012 is een rondgang uitgevoerd langs de diverse toetsingsproefvelden van het CGN (zie Afbeelding 1) om deze te beoordelen op zowel het voorkomen van het essentaksterfte als de geschiktheid voor nadere c.q. meer gedetailleerde opnames.

Het bleek dat in veel van de als wegbepanting aangelegde proefvelden de ziekte nog nauwelijks tot ontwikkeling was gekomen en dat kronen van de inmiddels hoge bomen in veel bosbepantingen moeilijk visueel waren te beoordelen volgens de gekozen methodiek (zie hierboven) waardoor een 'snelle' vergelijking op kloonverschillen nog niet goed mogelijk was. Ook bleek dat een paar proefvelden inmiddels niet meer bestond (o.a. Hees-Didam) of dat door onderhoudswerkzaamheden (vellingen) de positie van alle bomen niet meer geheel zeker was en de bomen eerst opnieuw in kaart zouden moeten worden gebracht.

Om onder meer logistieke redenen is besloten om de waarnemingen in 2012 te concentreren op de essen in de genenbank Roggebotzand en een replica daarvan in Tilburg (Reeshof) alsmede de zaadgaarden Vaartbos 1 en 2. Daar waren al in 2011 opmerkelijke verschillen waargenomen. Voor het overige werd de landelijke ontwikkeling in de loop van 2012 incidenteel, d.w.z. bij gelegenheid, gevolgd in de wegbepantingen: Willemsdorp, Heteren-Driel, Kortgene, Schoonrewoerd, Schollevaarweg (Flevoland) en Wageningen.



Afbeelding 1. Ligging van de klonen-, herkomsten- en nakomelingschap-toetsingsproefvelden van Fraxinus excelsior van het CGN in Nederland.

Image 1. Geographic location of trial fields of clonal selections, progenies and provenances of the CGN in the Netherlands.

5. Beschrijving van de beplantingen Roggebotzand, Reeshof en Vaartbos

Roggebotzand en Reeshof zijn opplantingen van moerstoven, afkomstig uit een in begin jaren 90 aangelegde collectie c.q. vermeerderingstuin voor het leveren van klonaal uitgangsmateriaal. Ze zijn opgezet met selecties van de voormalige Dorschkamp en de voormalige Stichting Veredeling Houtproductie. In de oorspronkelijke opstanden stond iedere kloon er in viervoud. Toen het terrein in 2006 een andere bestemming kreeg en de essen verwijderd moesten worden zijn er van iedere van de 142 klonen twee overgebracht naar de genenbank Roggebotzand en twee naar kwekerij Reeshof in Tilburg. Op enkele uitzonderingen na zijn deze weer goed aangeslagen. De bomen zijn verder onderhouden als ca. 1.2 meter hoge moerstoven c.q. knotbomen die, evenals voorheen eens in de twee jaar worden afgezet. Het voordeel van de aanwezigheid van een replica van de genenbank Roggebotzand in Tilburg laat toe om regionale verschillen onderling te vergelijken. Het nadeel is dat er van iedere kloon (hoogstens) twee individuen aanwezig zijn, hetgeen een beperking is voor een statistische onderbouwing van de waarnemingen. Ook kan op basis van de waarnemingen slechts indicatief een uitspraak worden gedaan over de gevoeligheid voor *Chalara* van volwassen, normaal uitgroeiende individuen. In de beplantingen staan enkele veelgebruikte handelsklonen: Eureka, Westhof's Glorie, Altena en Atlas.

Vaartbos 1 (74 selecties) en 2 (38 selecties) zijn beplantingen, die in elkaars nabijheid liggen en waarvan zaad wordt geoogst voor bosbouwkundig teeltmateriaal. De beplanting is aangelegd in 1990/91 met tweejarig plantmateriaal. Van iedere selectie zijn er indertijd zes klonaal vermeerderde individuen aangeplant, van sommige handelsklonen (de nummers 17, 27 en 46) het dubbele aantal. De bomen zijn nagenoeg volwassen en op bepaalde tijden wordt ca. een derde tot de helft van het aantal bomen omwille van de zaadoogst sterk gesnoeid ('gekandelaberd'). De voordelen van deze situatie is ook de invloed van sterke snoei op het aantastingsbeeld nader in kaart kan worden gebracht. Met uitzondering van drie handelsklonen is er tussen Vaartbos 1 en Vaartbos 2 geen overlap c.q. herhaling. Van de in de genenbank voorkomende klonen zijn er een aantal in Vaartbos 1 of 2 aanwezig, waardoor toch enig vergelijk tussen moerstoven en halfvolwassen bomen mogelijk is.

6. Resultaten algemeen

Opmerkelijk was dat in 2012 in zowel de beplantingen Vaartbos, Roggebotzand en Reeshof als de overige regelmatig bezochte objecten (zie onder hoofdstuk 4) niet of nauwelijks sprake was van 'nieuwe', d.w.z. in 2012 ontstane, twijgsterfte, ook niet later in het groeiseizoen. Wél bleken er vanaf juni-juli de voor de ziekte kenmerkende bladinfecties te ontstaan die in sommige gevallen al binnen enkele weken leidden tot bladverdorring en vervroegde bladval, soms gevolgd door de ontwikkeling van nieuw blad.

In de hiervoor genoemde wegbeplantingen bleven de symptomen tot in oktober beperkt tot bladvlekken zonder noemenswaardige bladval (o.a. Schoonrewoerd). In Kortgene bleef de beplanting van volwassen bomen het gehele jaar door 'schoon' alhoewel sommige jonge, pas geplante bomen langs dezelfde weg al in augustus bladverdorring en voortijdige bladval lieten zien. In hoeverre dit kan worden toegeschreven aan *Chalara* of aanslagproblemen moet nog blijken uit nadere analyse van de genomen monsters. De aanwezigheid van de ziekte ligt desalniettemin voor de hand, omdat de aanwezigheid van *Chalara* in deze regio inmiddels ook is vastgesteld door de NVWA (pers. comm. Johan Meffert, NVWA, Wageningen).

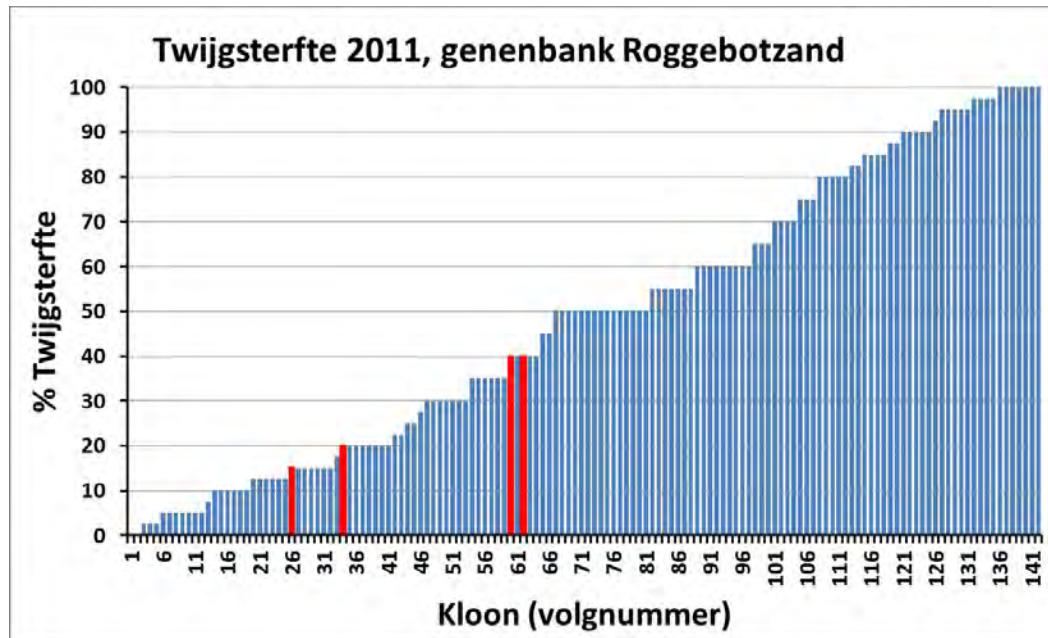


Afbeelding 2. Genenbank Roggebotzand, 1 oktober 2012. De klonen zijn hier steeds twee aan twee op rij geplant.

Image 2. Gene bank Roggebotzand, 1 October 2012. The different clones are planted in duplo on the row.

7. Resultaten genenbanken Roggebotzand en Reeshof

In juni 2012 was er in beide genenbanken nog geen duidelijke bladaantasting waarneembaar, maar kon de mate van in 2011 opgetreden twijgsterfte nog wél worden geïnventariseerd. Figuur 1 geeft de situatie van de klonen in Roggebotzand. Iedere staaf is het gemiddelde van twee bomen per kloon. De positie van vier handelsklonen is aangegeven met een rode staaf.

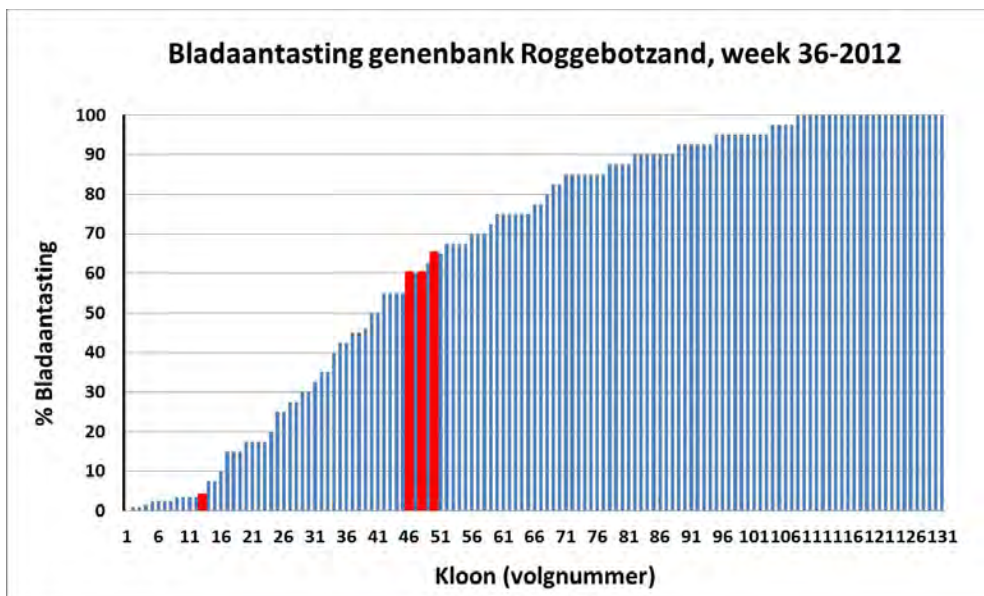


Figuur 1. Staafdiagram van de verdeling van het gemiddeld percentage twijgsterfte per kloon in oplopende volgorde (iedere kloon is weergegeven als aparte staaf) in de genenbank Roggebotzand, opgenomen op 19 juni 2012. De positie van vier bekende handelsklonen is weergegeven als rode staaf.

Figure 1. Bar chart of the average (of two individuals) twig dieback in 2011 of the clones, established on 19th of June 2012 in the gene bank Roggebotzand, arranged by increasing susceptibility. Each bar represents one clone. The position of four commercially traded and widely used clones along the roadside are indicated by a red colour. Horizontal axis: clone number (numbered by increasing susceptibility). Vertical axis: estimated percentage of dead twigs in the tree crown.

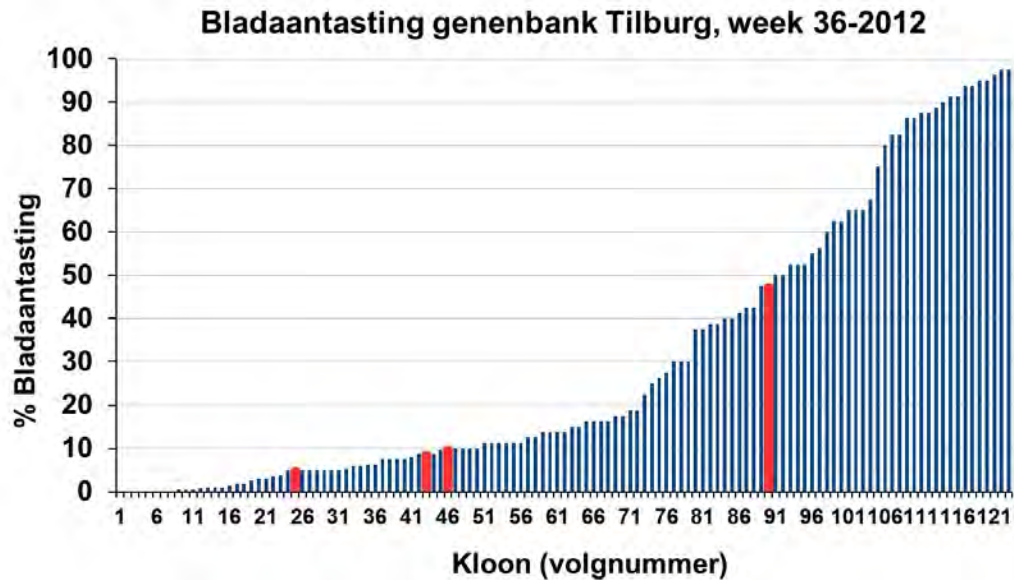
In de genenbank Reeshof is afgezien van een opname van twijgsterfte omdat de beheerder al in de loop van 2011 selectief zwaar aangetaste takken uit de bomen had gesnoeid waardoor er een vertekend beeld zou ontstaan.

Figuur 2 geeft een diagram van de stand van zaken in 2012 van de verschillen in opgetreden bladaantasting (als gemiddelde van twee bomen per kloon) in Roggebotzand en Figuur 3 geeft hetzelfde voor Reeshof, beide opgenomen in het begin van september 2012. Ook hierin zijn de posities van vier handelsklonen aangegeven met een rode staaf. In vergelijking tot Figuur 1 gaat het in Roggebotzand om minder klonen omdat bomen die in 2012 geheel niet meer in blad kwamen verder buiten beschouwing zijn gebleven.



Figuur 2. Staafdiagram van de verdeling van het gemiddeld percentage bladaantasting per kloon in oplopende volgorde (iedere kloon is weergegeven als aparte staaf) in de genenbank Roggebotzand, opgenomen op 5 september 2012. De positie van vier bekende handelsklonen is weergegeven als rode staaf.

Figure 2. Bar chart of the average (of 2 individuals) percentage of leaf infection of the clones, established on 5 September 2012 in the gene bank Roggebotzand, arranged by increasing susceptibility. Each bar represents one clone. The position of four commercially traded and widely used clones along the roadside are indicated by a red colour. Horizontal axis: clone number (numbered by increasing susceptibility). Vertical axis: estimated percentage of infected leaves in the tree crown.



Figuur 3. Staafdiagram van de verdeling van het gemiddeld percentage bladaantasting per kloon in oplopende volgorde (iedere kloon is weergegeven als aparte staaf) in de genenbank Reeshof, opgenomen op 6 september 2012. De positie van vier bekende handelsklonen is weergegeven als rode staaf.

Figure 3. Bar chart of the average (of 2 individuals) percentage of leaf infection of the clones, established on 6 September 2012 in the gene bank Reeshof-Tilburg, arranged by increasing susceptibility. Each bar represents one clone. The position of four commercially traded and widely used clones along the roadside are indicated by a red colour. Horizontal axis: clone number (numbered by increasing susceptibility). Vertical axis: estimated percentage of infected leaves in the tree crown.

Opvallend verschil tussen beide opnames, die kort na elkaar zijn uitgevoerd (resp. 5 en 6 september), is dat de ontwikkeling van de ziekte in Reeshof kennelijk achterloopt bij die in Roggebotzand of anderszins een andere snelheid van ontwikkeling heeft. Dit komt ook naar voren uit vergelijking met eerdere waarnemingen in het groeiseizoen. In Roggebotzand bedroeg op 14 augustus het gemiddelde percentage bladaantasting van alle bomen 30,5% en op 5 september was dat toegenomen tot 64,6%. In Reeshof was het gemiddelde percentage bladaantasting op 20 augustus 30,6%, maar dit was na drie weken min of meer gelijk gebleven met 29,7%. Ook blijkt in de figuren de positie van de sommige handelsklonen beduidend verschillend te zijn. Alleen die van de kloonnummers 11 en 27 zijn min of meer vergelijkbaar. Mogelijke verklaringen daarvoor worden gegeven in paragraaf 10 van dit rapport.

Overigens gaan die verschillen ook voor meerdere klonen op, hetgeen blijkt uit een vrij matige maar overigens wél significante correlatie tussen de opnames in beide beplantingen in week 36 (Spearman's rho = 0.44 bij p = 0.000).

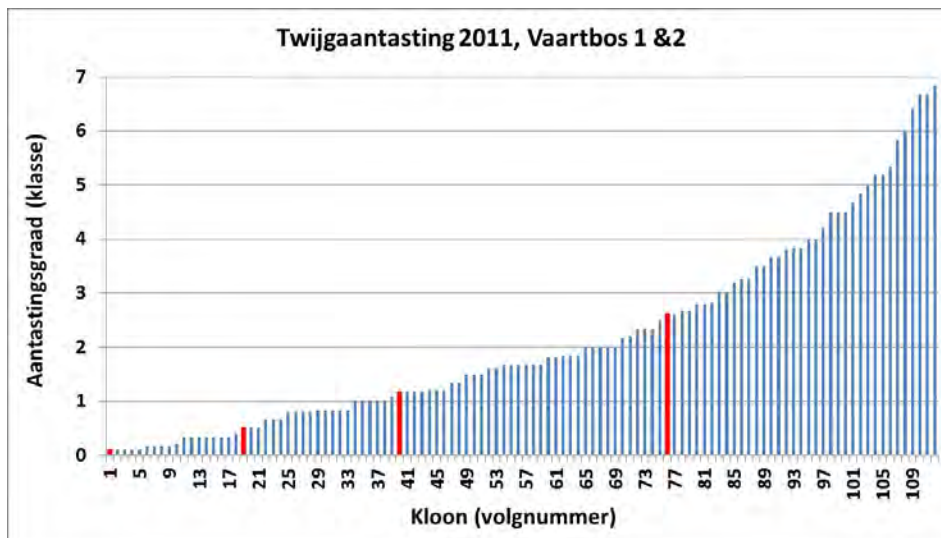
8. Zaadgaarden Vaartbos 1 en 2



Afbeelding 3. Zaadgaard Vaartbos, augustus 2012.

Image 3. Seed orchard Vaartbos, August 2012.

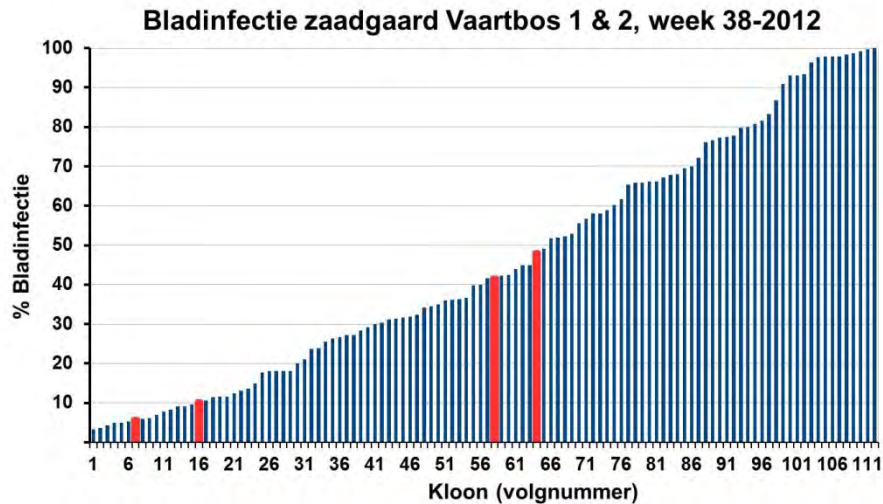
In juni 2012 was er ook in beide zaadgaarden nog geen duidelijke bladaantasting waarneembaar, maar kon de mate van in 2011 opgetreden twijgsterfte nog wél worden geïnventariseerd. Hierbij werd nog een eigen scoringsmethode gebruikt waarbij de bomen zijn ingedeeld in de klassen 0 tot 7, vanaf 'gezond' tot 'zeer zwaar aangetast' Figuur 4 geeft de situatie van de klonen in de gezamenlijke zaadgaarden. Iedere staaf is het gemiddelde van minimaal vier bomen per kloon. De positie die vier handelsklonen hierin innemen is aangegeven met een rode staaf.



Figuur 4. Staafdiagram van de verdeling van het gemiddeld percentage twijgaantasting per kloon in oplopende volgorde (iedere kloon is weergegeven als aparte staaf) in de zaadgaarden Vaartbos 1 & 2, medio augustus 2012. De positie van vier bekende handelsklonen is weergegeven als rode staaf.

Figure 4. Bar chart of the average (of generally 6 individuals) twig dieback in 2011 of the clones, established in June 2012 in the seed orchard Vaartbos, arranged by increasing susceptibility. Each bar represents one clone. The position of four commercially traded and widely used clones along the roadside are indicated by a red colour. Horizontal axis: clone number (numbered by increasing susceptibility). Vertical axis: class of twig dieback in the tree crown ranging from 0 = healthy (0% dieback) to 7 = very severely affected (95-100 % dieback).

Figuur 5 geeft een diagram van de stand van zaken van de verschillen in 2012 opgetreden bladaantasting per medio september 2012. De posities die vier handelsklonen hierin innemen zijn aangegeven met een rode staaf.



Figuur 5. Staafdiagram van de verdeling van het gemiddeld percentage bladaantasting per kloon in oplopende volgorde (iedere kloon is weergegeven als aparte staaf) in de zaadgaarden Vaartbos 1 & 2, op 19 september 2012. De positie van vier bekende handelsklonen is weergegeven als rode staaf.

Figure 5. Bar chart of the average (of generally 6 individuals) leaf infection in 2012 of the clones, established on 19th of September 2012 in the seed orchard Vaartbos, arranged by increasing susceptibility. Each bar represents one clone. The position of four commercially traded and widely used clones along the roadside are indicated by a red colour. Horizontal axis: clone number (numbered by increasing susceptibility). Vertical axis: percentage of infected leaves in the tree crown.

Tabel 1 geeft de nummers van de klonen aan die behoren tot de volgnummers 1 t/m 50 van de oplopende mate van twijgsterfte. De kolom 'bladaantasting' geeft van dezelfde klonen het % van bladaantasting. De positie van 4 handelsklonen is hier in de twee kolommen vetgedrukt en onderstreept aangegeven. De tabel is illustrerend voor de bevindingen dat de mate van twijgsterfte niet geheel "in pas" loopt met de mate van bladaantasting.

Tabel 1. De gemiddelde twijgsterfte en bladaantasting van de 50 minst aangetaste klonen in de zaadgaard Vaartbos 1 & 2. Waarden met daarachter dezelfde letter zijn onderling niet significant verschillend.

Table 1. Average (of generally 6 individuals, see column 2 and 6) twig dieback (column 3, presented as an average on a scale of 0 to 7) and leaf infection (column 7, presented as average percentage of infected leaves per tree crown) of 50 clones that showed the least susceptibility. The numbers (column 1 and 5) are those of the original clonal selections of the CGN. Values in column 3 and 7 with the same letter in respectively column 4 and 8 are not significantly different at $p = 0.05$. Commercially traded and widely used clones along the roadside are underlined.

Kloon(nummer)	N	Twijgsterfte	Sig. 0.05	Kloon(nummer)	N	Bladaantasting	Sig. 0.05
11	5	0.00	a	161	6	3.3	a
109	4	0.00	a	227	6	3.6	a
219	6	0.00	a	170	5	4.3	a
223	6	0.00	a	49	4	5.0	ab
259	6	0.00	a	109	4	5.0	ab
52	6	0.17	a	11	5	5.3	ab
132	6	0.17	a	259	6	5.8	ab
177	6	0.17	a	181	5	6.0	ab
228	6	0.17	a	228	6	6.1	ab
225	5	0.20	a	104	6	6.9	ab
104	6	0.33	a	172	6	7.8	ab
117	6	0.33	a	222	6	8.3	abc
173	6	0.33	a	100	6	9.2	abc
176	6	0.33	a	144	6	9.2	abc
227	6	0.33	a	17	12	9.6	abc
240	6	0.33	a	174	6	10.3	abcd
278	6	0.33	a	164	5	10.7	abcd
181	5	0.40	a	219	6	11.4	abcde
27	12	0.50	a	215	6	11.7	abcde
49	4	0.50	a	223	6	11.7	abcde
154	6	0.50	a	224	4	12.5	abcde
153	6	0.67	a	177	6	13.1	abcde
161	6	0.67	a	159	6	13.6	abcde
222	6	0.67	a	176	6	17.8	abcde
164	5	0.80	a	225	5	18.0	abcde
199	5	0.80	a	221	5	18.0	abcde
221	5	0.80	a	272	5	18.0	abcde
243	5	0.80	a	220	6	18.1	abcde
144	6	0.83	a	240	6	20.0	abcdef
215	6	0.83	a	132	6	21.1	abcdef
230	6	0.83	a	199	5	23.7	abcdefg
239	6	0.83	a	154	6	23.9	abcdefg
250	6	0.83	a	52	6	25.6	abcdefg
100	6	1.00	a	153	6	26.4	abcdefg
172	6	1.00	a	278	6	27.2	abcdefg
211	5	1.00	a	117	6	29.2	abcdefg
224	4	1.00	a	251	5	30.0	abcdefg
229	6	1.00	a	243	5	31.7	abcdefg
210	12	1.08	a	210	12	31.8	abcdefg
17	12	1.17	a	211	5	32.3	abcdefg
106	6	1.17	a	230	6	36.4	bcdefg
157	6	1.17	a	229	6	36.7	bcdefg
220	6	1.17	a	74	6	39.7	cdefgh
170	5	1.20	a	27	12	41.7	defghi
251	5	1.20	a	250	6	42.5	efghi
272	5	1.20	a	157	6	49.2	fghi
159	6	1.33	a	239	6	51.9	ghij
174	6	1.33	a	173	6	65.8	hij
74	6	1.50	a	193	6	69.4	ij
193	6	1.50	a	106	6	77.2	j

Vergelijkbare tabellen kunnen ook worden opgesteld op basis van de gegevens uit Roggebotzand en Reeshof, maar die zijn verder niet in dit rapport opgenomen, omdat de klonen in die beplantingen slechts in tweevoud voorkomen waardoor de mogelijkheden voor een statistisch bewerkings beperkt zijn.. Ook ontbreken van Reeshof de gegevens over de mate van twijgsterfte. Daardoor zijn de uitkomsten niet meer dan indicatief, maar ze zullen uiteraard wél worden meegenomen bij de selectie van de klonen die t.z.t. in aanmerking komen voor deelname in verder onderzoek d.m.v. inoculatieproeven.

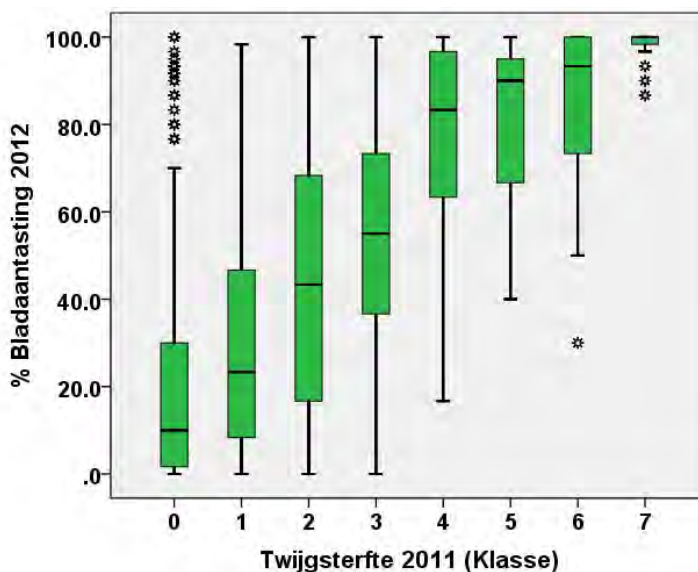
Ondanks dat bij de klonen het aantastingsniveau m.b.t. twijgsterfte en bladaantasting onderling sterk kan afwijken is er een significante overall correlatie tussen twijgsterfte en bladaantasting (Spearman's rho = 0,68 bij p = 0.000). De weliswaar significante, maar enigszins lage correlatiewaarde suggereert een aanmerkelijke variatie. Om dat nader te bekijken is per twijgsterfteklasse de mate van bladaantasting uitgezet. Dit gaf het volgende beeld (zie Tabel 2).

Tabel 2. Gemiddeld percentage bladaantasting van de bomen per twijgsterfteklasse. Waarden voor het bladaantastingspercentage met daarachter dezelfde letter zijn onderling niet significant verschillend.

Table 2. Average percentage leaf infection (column 3) per class of twig dieback (column 1). Values with the same letter in column 4 are not significantly different at p = 0.05. Column 2 presents the number of individual trees per class of twig dieback.

Twijgsterfteklasse	Aantal bomen	% bladaantasting	Sig. 0.05
0	230	20.9	a
1	60	32.3	b
2	158	45.5	c
3	59	55.8	c
4	49	76.4	d
5	16	80.5	d
6	63	86.0	d
7	26	98.4	e

Opvallend is het nogal hoge bladaantastingspercentage in de groep met twijgaantastingsklasse 0. Dit blijkt te kunnen worden verklaard door een beperkt aantal forse uitbijters naar hogere niveaus die sterk verhogend werken op het gemiddelde. Dit is aangegeven in de boxplot van Figuur 5 waaruit tevens ook de nogal grote spreiding in met name het middenklassegebied naar voren komt. Dit beeld komt overeen met de bevindingen van o.a. Kirisits & Freinschlag (2012).



Figuur 6. Boxplot van de in Tabel 2 aangegeven gemiddelde percentages bladaantasting per twijgsterfteklasse.

Figure 6. Box plot of the in figures presented in table 2 of the average percentage leaf infection and twig dieback. Horizontal axis: Class of twig dieback (0 = healthy; 7 = very severely affected). Vertical axis: percentage of infected leaves in the tree crown.

Een dergelijke afwijking kan niet worden verklaard door de 'manier van kijken'. Weliswaar is zowel de inschatting van bladaantasting (en ontbladering) en twijgsterfte zelden nul, omdat ook geheel gezonde bomen soms wat dode twijgen hebben. Maar negen klonen met een bladaantasting van 80-100% bij bomen zonder twijgsterfte wijst op andere oorzaken en verbanden zoals verschil in resistentiemechanismen of zelfs de invloed van andere aantastingen maar daaraan is tijdens de opnames niet in het bijzonder naar gezocht.

9. Invloed van rigoureuze snoei

Van de 661 nog aanwezig bomen in Vaartbos waren er enige jaren terug 296 fors teruggesnoeid. De gemiddelde twijgsterfte-score voor de groep geknotte bomen was 2,47 bij een gemiddelde bladaantastingspercentage 58,3 en die van de niet geknotte bomen 1,81 bij een gemiddeld bladaantastingspercentage van 35,6. Voor beide parameters een significant verschil bij $p=0.000$ (Mann-Whitney). Dit wijst erop dat het nogal uitmaakt of bomen wel of niet zijn gesnoeid. Zo valt uit tabel 3 op te maken dat het v.w.b. de bladaantasting veel uitmaakt of de bomen zwaar zijn gesnoeid of niet. Voor bijvoorbeeld kloonnummer 27 schijnt dat substantieel invloed te hebben en wat twijgsterfte betreft ook voor de kloonnummer 17 (zie tabel 4). Dit betekent dat wanneer in de berekeningen geen onderscheid wordt gemaakt tussen deze twee categorieën de standaardafwijking van de gemiddelden per definitie groter zal zijn. Maar omdat een opsplitsing tot lagere aantallen ook de mogelijkheid tot harde uitspraken over de statistische betrouwbaarheid van verschillen tussen de klonen vermindert is er in de berekeningen voor gekozen om geen onderscheid te maken tussen gesnoeide en niet gesnoeide bomen.

Tabel 3. Verschil in gemiddeld percentage bladaantasting tussen sterk gesnoeide en niet gesnoeide bomen.

Table 3. Average percentage of infected leaves of heavily pruned and non pruned trees of four commercial clones.

Kloon	Gesnoeid		Niet gesnoeid	
	N	% Bladaantasting	N	% Bladaantasting
11	2	11.7	3	1.1
17	5	12.3	7	7.6
27	5	73.7	7	18.8
46	4	46.3	11	44.5

Tabel 4. Verschil in gemiddeld percentage twijgsterfte tussen sterk gesnoeide en niet gesnoeide bomen.

Table 4. Average rate of twig dieback (on a scale of 0 to 7) of heavily pruned and non pruned trees of four commercial clones.

Kloon	Gesnoeid		Niet gesnoeid	
	N	Twijgsterfte (klasse)	N	Twijgsterfte (klasse)
11	2	0.0	3	0.0
17	5	2.2	7	0.4
27	5	1.0	7	0.1
46	4	2.0	11	2.8

10. Discussie

Het blijkt dat zowel ten aanzien van bladaantasting en twijgsterfte er alleen al in de zaadgaarden Vaartbos 1 en 2 een fors aantal klonen (repsectievelijk 50 en 40) zijn met een laag gevoeligheidsniveau die daarin statistisch niet van elkaar verschillen. Daaronder vallen ook de handelsklonen 11, 17, 27, 46, en 117. 46 is in beide gevallen te beschouwen als ‘middenmoter’ en valt buiten deze ‘top-50’.

Wanneer de wens bestaat om het bestaande laanboomsortiment van gemiddeld redelijk tolerante klonen uit te breiden met bekende klonen die tot dusver nog niet zijn uitgegeven dan zijn de mogelijkheden daartoe in ieder geval ruimschoots aanwezig.

Er zijn echter nogal wat aanwijzingen dat de ziekte zich in Nederland nog niet volop heeft gevestigd en wellicht nog in intensiteit zal toenemen. Dit betekent dat de ontwikkeling van de ziekte nog enige tijd moet worden gevolgd en dat daarnaast materiaal van t.a.v. resistentie veelbelovende klonen wordt getest onder meer geconditioneerde omstandigheden zoals inoculatieproeven alvorens deze klonen met goed vertrouwen kunnen worden vrijgegeven.

Wat maakt dat een kloon significant meer bladaantasting (gevolgd door een snelle ontbladering) laat zien dan twijgsterfte, of andersom, is nog niet geheel duidelijk. Het zou kunnen worden toegeschreven aan het resistentiemechanisme dat bekend staat als ‘avoidance’ en waarmee een boom door het blad voortijdig af te werpen tracht te voorkomen dat de schimmel vanuit het aangetaste blad de twijg binnen groeit. Dit maakt het interessant om bij de selectie van klonen door inoculatieproeven zowel de bladsteel als het bastweefsel van de twijg te inoculeren, of wellicht bladbespuiting met een sporensuspensie, wat meer overeenkomt met de natuurlijke omstandigheden. Maar twijginoculatie lijkt voornamelijk de meest ‘harde’ en onderscheidende methode.

Ook voor de verschillen in bladaantasting tussen de genenbanken Roggebotzand en Reeshof is nog geen sluitende verklaring. De onderbegroeiing in Reeshof bestaat uit gras dat kort en relatief ‘schoon’ wordt gehouden. Die van Roggebotzand bestaat uit een aanmerkelijk hogere en ruigere vegetatie van grassen en kruiden met minimaal onderhoud. Het zou kunnen dat alleen al daardoor de infectiedruk vanuit de directe omgeving in de vorm van vruchtlichamen op afgevallen blad dat onder de bomen blijft liggen in Reeshof minder is dan in Roggebotzand. Maar gezien de nogal grote regionale verschillen waarin de ziekte zich tot dusver heeft gemanifesteerd zouden ook andere, lokaal gebonden ecologische factoren (weersomstandigheden) van invloed kunnen zijn geweest.

Ook is er nog geen afdoende verklaring voor de gemiddeld hogere niveaus van aantasting van sterk gesnoeide bomen met relatief veel jong hout ten opzichte van niet gesnoeide bomen. Mogelijk speelt hier dat sterk gesnoeide bomen na de ingreep nog enige tijd gestrest zijn en daardoor gevoeliger voor secundaire aantastingen of weersinvloeden (o.a. vorst) in het algemeen. Maar ook kan meespelen dat de schimmel makkelijker doorgroeit in het bastweefsel van jong hout dan in ouder bastweefsel. Dit is voor zover bekend nog niet onderzocht.

De bevindingen sluiten in ieder geval aan bij de adviezen die tot dusver zijn uitgegeven door o.a. het Bosschap en Natuurmonumenten om bomen niet sterk te snoeien als daar geen noodzaak toe is. Desalniettemin geven de verschillen tussen Roggebotzand en Vaartbos (zie de positie van de handelsklonen in de figuren 1 en 2) aan dat het wellicht uitmaakt of het gaat om relatief jonge knobomen of gekandelaberde oudere bomen. Maar vanwege het geringe aantal herhalingen van de aanwezige klonen in Roggebotzand kan op basis van deze vergelijkingen geen uitspraak worden gedaan.

Nu is aangetoond dat er grote in mate van aantasting bestaan tussen klonaal vermeerderde Nederlandse selecties is het interessant geworden om te onderzoeken in hoeverre dit inderdaad consistente verschillen in resistentie betreft. Daarbij is tevens interessant om te kijken naar hoe het resistentieniveau wordt overgedragen op nakomelingen van open bestoven moederbomen. Ook is het interessant om tevens te kijken naar gemiddelde resistentieniveaus van herkomsten die vandaag aan de dag zoal in de bosbouw worden gebruikt. Een eveneens interessante vraag is in hoeverre door gecontroleerde bestuivingen materiaal kan worden verkregen dat een nog hoger niveau van resistentie heeft. Dit laatste kan van belang worden wanneer blijkt dat zelfs door een gerichte keuze van uitgangsmateriaal de schade a.g.v. aantasting niet tot een aanvaardbaar niveau kan worden teruggebracht.

11. Conclusies

- Er bestaat een grote variatie in mate van aantasting tussen de in Nederland aanwezig klonaal vermeerderde essencelecties, uiteenlopend van 0 tot 100 op een schaal van 0 tot 100.
- Dit vormt op zich al een rechtvaardiging om door selectie te komen tot een grotere 'pool' van geschikt uitgangsmateriaal, wanneer het gaat om laanbomen
- In de bosbouw, waar als regel uit zaailingen gekweekt teeltmateriaal wordt gebruikt is daarnaast behoefte aan meer inzicht in de tolerantieniveaus van nakomelingschappen en bepaalde herkomsten waarvan sommige nu al worden toegepast. Dit zal nader moeten worden onderzocht.
- De gevonden resultaten zijn vooralsnog prematuur. D.w.z. het is nog niet bekend in hoeverre de ziekte nog in intensiteit en omvang zal toenemen. Dit maakt dat enige terughoudend moet worden betracht met uitspraken over de resistentie over enkel de veldwaarnemingen van 2012. Het verdient aanbeveling om de ontwikkeling én de mate van aantasting ook de komende jaren te blijven volgen en daarnaast een indruk te krijgen van de mate van resistentie aan de hand van toetsingsproeven onder meer gecontroleerde omstandigheden.

12. Literatuur

- Bakys, R. Vasaitis, P. Barklund, K. Ihrmark & J. Stenlid, 2009.
Investigations concerning the role of *Chalara fraxinea* in declining *Fraxinus excelsior*. Plant Pathology 58, 284-292.
- Bosch, 2011.
www.bosch.nl/cms/.../8.../Praktijkadvies%20essentaksterfte.pdf.
- Chandelier, A., N. Delhaye & M. Nelson, 2011.
First Report of the Ash Dieback Pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (Anamorph *Chalara fraxinea*) on *Fraxinus excelsior* in Belgium. The American Phytopathological Society, APSnet Vol 95, nr 2, 220.1.
- Hietala, A.M. & H. Solheim, 2011.
Hymenoscyphus species associated with European ash. QEPP/EPPO Bulletin 41, 3-6. EPPO Archives. 2010. Workshop on *Chalara fraxinea*, Oslo, Norway 2010-06-30/07-02.
- Kirisits, T. & C. Freinschlag, 2012.
Ash dieback caused by *Hymenoscyphus pseudoalbidus* in a seed plantation of *Fraxinus excelsior* in Austria. Journal of Agricultural Extension and Rural Development Vol. 4(9), pp. 184-191.
- Koltay, A., I. Szabo & G. Janik, 2012.
Chalara fraxinea incidence in Hungarian ash (*Fraxinus excelsior*) forests. Journal of Agricultural Extension and Rural Development Vol. 4(9), pp. 236-238.
- Kowalski, T., 2006.
Chalara fraxinea sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. Forest Pathology 36, 264-270.
- Mc Kinney, L.V., L.R. Nielsen, J.K. Hansen & E.D. Kjaer, 2011.
Presence of natural genetic resistance in *Fraxinus excelsior* (Oleaceae) to *Chalara fraxinea* (Ascomycota): an emerging infectious disease. Heredity 106, 788-797.
- Queloz, V., C.R. Grünig, R. Berndt, T. Kowalski, T.N. Sieber & O. Holenrieder, 2011.
Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. Forest Pathology 41, 133-142.
- Vereniging voor Natuurmonumenten, 2011.
www.natuurmonumenten.nl/.../schimmel-tast-essen-in-kardinge-aan.

