

Essenzaadbronnen op de Rassenlijst Bomen hebben een hoge genetische diversiteit. Dat is een belangrijk kwaliteitsaspect van teeltmateriaal en speelt een cruciale rol in het aanpassingsvermogen van soorten aan een veranderend klimaat en nieuwe ziekten en plagen. De huidige generatie essenbossen heeft te kampen met de veelal desastreuze gevolgen van essentaksterfte. Uit onderzoek blijkt dat resistentie tegen deze ziekte genetisch bepaald is, en dat een klein deel van de essen goed bestand is tegen de ziekte. Deze genetische basis biedt hoop om een nieuwe generatie essen te selecteren die bestand is tegen de ziekte, met behoud van de genetische diversiteit.

Genetische diversiteit van de door essentaksterfte geplaagde gewone es



foto's Centrum voor Genetische Bronnen Nederland

— Paul Copini, Jitze Kopinga, Ivo Laros, Jan Bovenschen & Joukje Buiteveld (Centrum voor Genetische Bronnen Nederland, Wageningen University en Research centre)

> De gewone es (*Fraxinus excelsior L.*) is een kenmerkende boom van het rivieren- en bekenlandschap die ook vaak is toegepast in rijbeplantingen langs wegen met cultivars zoals Atlas, Altena en Westhof's Glorie. Vanouds werd de es gebruikt in hakhoutculturen maar ook als hooghout geteeld vanwege zijn taaie en sterke hout dat uitermate geschikt is voor meubels, fineer, gereedschapsstelen en houten sportartikelen. Helaas is tegenwoordig de es meer bekend vanwege de hardnekkige essentaksterfte veroorzaakt door de schimmel *Hymenoscyphus fraxineus* die momenteel tot grootschalige aantastingen van essenbossen in Europa leidt. De genetische diversiteit van de es speelt een belangrijke rol bij de overleving van de soort. Maar hoe staat het eigenlijk met de genetische oorsprong en diversiteit van de essenherkomsten die voor de productie van bosbouwkundig teeltmateriaal in Nederland worden

gebruikt? En hoe staat het met de diversiteit in vatbaarheid voor essentaksterfte van klonen aanwezig in de zaadgaarden en in de essencollectie van de genenbank? Zijn er verschillen in vatbaarheid tussen klonen en hoe heeft de ziekte zich ontwikkeld?

Rassenlijst Bomen en de genenbank

Sinds de es in 2003 onder de EU Richtlijn 1999/105/EG valt, mag van deze soort voor bosbouwkundige doeleinden uitsluitend teeltmateriaal van geregistreerde zaadbronnen worden verhandeld. Deze opstanden zijn te vinden in de Rassenlijst Bomen (www.rassenlijstbomen.nl) die als hulpmiddel dient bij het kiezen van teeltmateriaal voor de aanplant van productiebossen en landschappelijke beplantingen. Momenteel bevat de rassenlijst 25 autochtone herkomsten die te vinden zijn in de categorie 'van bekende origine'

(zie kader). Daarnaast zijn er vier zaadopstanden in de categorie geselecteerd uitgangsmateriaal (S, Selected), waarvan de bomen in de opstand beoordeeld zijn op kwaliteitscriteria zoals groei, vorm, betakking en gezondheidsaspecten. Als laatste zijn er twee zaadgaarden in het Vaartbos waar respectievelijk 74 en 42 klonen zijn aangeplant. Deze klonen zijn ieder afzonderlijk beoordeeld op bovenstaande kenmerken (categorie Q, Qualified). Naast deze zaadbronnen op de Rassenlijst is in de genenbank het Roggebotzand (Flevopolder) een essencollectie aangelegd die 140 essenklonen bevat met onder andere diverse cultivars en andere klonen. De afgelopen jaren is de genetische oorsprong en genetische diversiteit van deze essen onderzocht met behulp van moleculaire markers. Hiervoor is van circa dertig bomen per herkomst bladmateriaal verzameld voor DNA analyses en daarnaast zijn alle klonen van de zaadgaarden en genenbank geanalyseerd.

Genetische oorsprong van de Nederlandse es

Tijdens de laatste ijstijd, die ongeveer tienduizend jaar geleden eindigde, was het klimaat in Nederland ongeschikt voor boomgroei. De es kwam toen voor in besloten gebieden van Spanje, Italië, Oostelijke Alpen en de Balkan. Aangezien er grote afstanden waren tussen de verschillende populaties konden deze zich genetisch differentiëren. Toen het klimaat warmer werd kon de es zich verder verspreiden over Europa. Obstakels zoals grote bergketens en zeeën zorgden er voor dat tot op de dag van vandaag er genetische verschillen bestaan die gerelateerd zijn aan de migratieroutes na de ijstijd. Op basis van chloroplast DNA is onderzocht wat de genetische oorsprong is van de autochtone essenopstanden die op de Rassenlijst

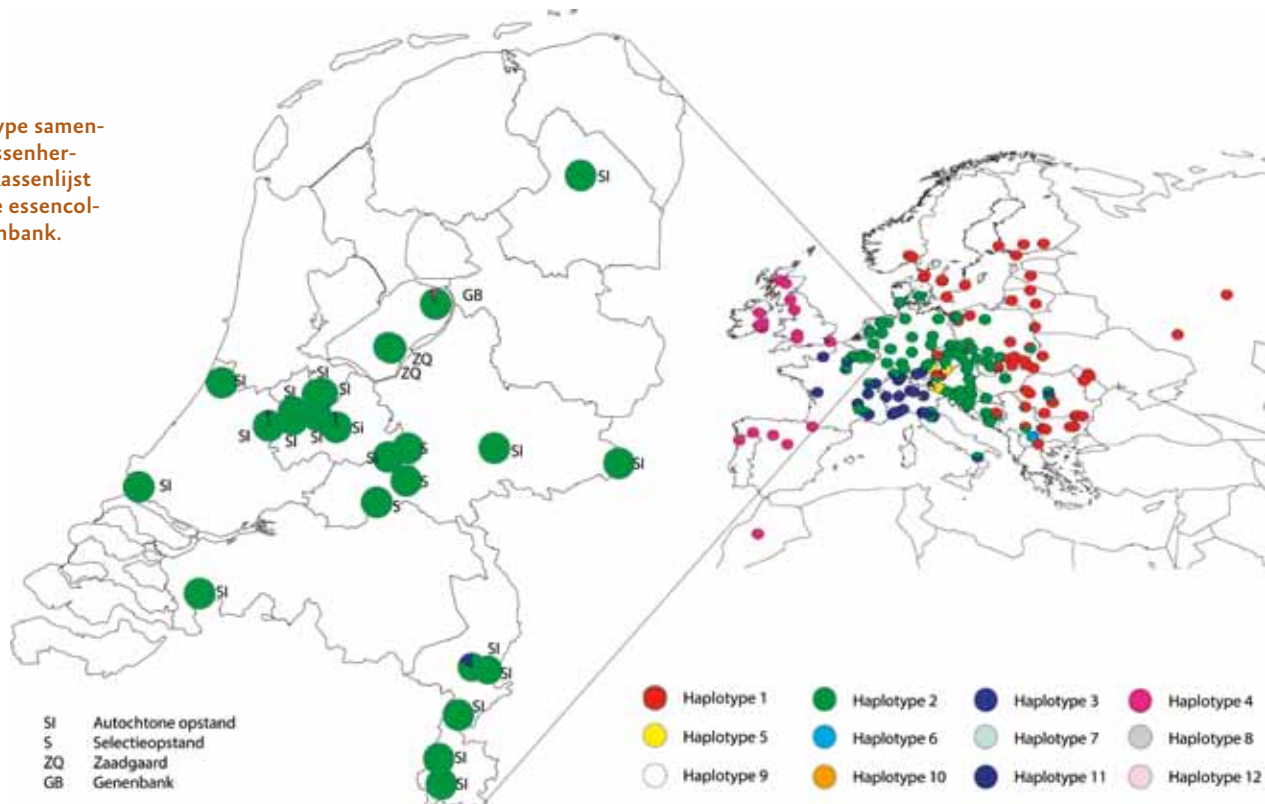
Bomen staan. Hierbij was vooral de vraag van welke refugia de autochtone herkomsten afstammen.

De meeste autochtone (SI) opstanden bezitten enkel het haplotype 2 (figuur 1). Deze bevindingen komen overeen met eerder Europees onderzoek, waarin vijf Nederlandse essenpopulaties waren meegenomen en waarin ook haplotype 2 werd aangetroffen. Dit haplotype komt veel voor in centraal Europa en heeft zich vermoedelijk, vanuit een refugium in de Oostelijke Alpen of in de Dinarische Alpen, ongeveer 9500 jaar geleden verspreid richting Nederland. In drie autochtone opstanden, namelijk Bodegraven-01, Roggel-01 en Bunnik-01 kwam naast het dominante haplotype 2 ook het haplotype 3 voor in een enkele boom. Haplotype 3 komt vermoedelijk uit een refugium in het noorden van Italië en is van daaruit verspreid richting het huidige Zwitserland en Frankrijk. In het eerder genoemde Europese onderzoek is dit haplotype niet aangetroffen in onze contreien. Dit houdt in dat er vermoedelijk niet-autochtoon materiaal is ingebracht. Naast de autochtone opstanden zijn ook de zaadgaarden, de zaadopstanden in de categorie geselecteerd uitgangsmateriaal en de essencollectie in de genenbank geanalyseerd. Alle bemonsterde bomen van de zaadgaarden behoorden tot haplotype 2. Ook de opstanden met geselecteerd uitgangsmateriaal behoorde tot dit haplotype. De collectie klonen in de genenbank bevat voornamelijk het haplotype 2 (in 123 klonen) en enkel in vier klonen kwam haplotype 3 voor en in één het haplotype 4. Dit laatste haplotype komt voornamelijk voor in Spanje en Groot Brittannië (figuur 1).

Genetische diversiteit is hoog maar weinig verschillen tussen herkomsten

De genetische diversiteit in een soort is van groot belang voor de overleving van populaties op lange termijn zowel in relatie tot klimaatveranderingen als in de opkomst van nieuwe plagen en ziekten. De genetische diversiteit is onder andere afhankelijk van selectie, mutaties, en genenuitwisseling via stuifmeel en zaden. In deze studie zijn neutrale DNA merkers (zes microsattelieten) gebruikt om de genetische diversiteit in essenpopulaties in Nederland te bestuderen en om te kijken of de genetische diversiteit groot genoeg is om als zaadopstand te kunnen fungeren. Twee belangrijke parameters om genetische diversiteit weer te geven zijn allelvariatie en verwachte heterozygositeit. Allelvariatie is het gemiddeld aantal aanwezige allelen of varianten van bepaalde stukjes DNA in een populatie. Verwachte heterozygositeit is het aandeel individuen waarbij de allelen, door de moeder- en vaderboom overgedragen, verschillend zijn in een populatie. De genetische diversiteit van de essen bleek hoog te zijn: de allelvariatie varieerde gemiddeld tussen 9.1 en 12.7 allelen per populatie en de verwachte heterozygositeit varieerde tussen 0.76 en 0.87. Dit komt overeen met essenpopulatie elders in Europa. Naast de genetische diversiteit van herkomsten is ook gekeken of deze genetisch van elkaar verschillend zijn. Hiervoor is gekeken naar de genetische differentiatie (Fst) die de aanwezig genetische variatie binnen een opstand met de variatie in alle opstanden vergelijkt. Deze genetische differentiatie was gemiddeld 0.012 (op een schaal van 0 (= populaties identiek) tot 1 (= maximaal verschillend)) voor alle populaties. Dit betekent dat de verschillen zeer gering zijn. Ten tweede is met behulp van een clusteranalyse onderzocht

Figuur 1 Haplotype samenstelling van de essenherkomsten op de Rassenlijst Bomen en van de essencollectie in de genenbank.



Gebaseerd op: Heurtz et al., 2004 Chloroplast DNA variation and postglacial recolonization of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) in Europe, *Molecular Ecology* 13, 3437-3452

uit hoeveel genetische clusters de essen bestaan en hoe deze verdeeld zijn over de opstanden. Deze analyse liet zien dat de Nederlandse essen herkomsten waarschijnlijk uit twee genetische clusters bestaat met weinig genetische structuur aangezien beide in min of meer dezelfde mate voorkomen in alle herkomsten (figuur 2). Met andere woorden de essenopstanden in Nederland kunnen gezien worden als een homogene populatie waartussen genenuitwisseling optreedt. Weinig differentiatie tussen de herkomsten is onder meer gerelateerd aan de verspreiding van de es. De es is een windbestuiver die soms eenhuizig is maar vaak enkel mannelijke of vrouwelijke bloemen (tweehuizig) vormt en voornamelijk kruisbestuivend is, ook wanneer de boom eenhuizig is. Dit draagt bij aan een goede genetische uitwisseling tussen populaties. Vergelijkbare resultaten zijn gevonden in onder andere Engeland, Frankrijk en Bulgarije. Maar op Europese schaal laten essenpopulaties wel duidelijke verschillen zien, vooral tussen populaties in het zuidoosten, westen en noorden van Europa.

Herkomsttoetsen

Naast deze genetische diversiteit-studies zijn veldproeven van groot belang om herkomsten op kenmerken te beoordelen zoals groei, vorm, betakking, bladuitloop en gezondheidsaspecten. Dit om uiteindelijk de beste zaadopstanden te

kunnen aanbevelen aan de beheerder. Het CGN heeft verschillende toetsproeven uitgezet om essen op deze aspecten te beoordelen. In een herkomstenproef, aangelegd in 2008 in het Horsterwold zijn nakomelingen van de zaadgaarden, de drie S-opstanden en van vijftien autochtone (SI) opstanden geplant die ook op genetische diversiteit zijn geanalyseerd. Voorlopige resultaten van deze proef laten zien dat er kleine verschillen zijn in tijdstip van bladuitloop tussen de herkomsten. Zo blijken de nakomelingen van de zaadgaard iets later uit te lopen dan de andere herkomsten wat een adaptief voordeel heeft. Herkomsten die vroeg uitlopen blijken namelijk meer last te hebben van late voorjaarsvorstschade. Door opwarming van het klimaat wordt verwacht dat schade door late voorjaarsvorst vaker voorkomt. Qua gezondheidsaspecten ligt de focus nu vooral op de desastreuze gevolgen van essentaksterfte.

Genetische verschillen in de gevoeligheid voor essentaksterfte

Essentaksterfte wordt veroorzaakt door de schimmel *Hymenoscyphus fraxineus* ook wel bekend onder de oude naam *H. pseudoalbidus* (vals essen-vlieskelkje) of de naam van de ongeslachtelijke vorm: *Chalara fraxinea*. Deze schimmel verspreidt zich met sporen die door de wind worden overgebracht en gezonde bladeren aantasten. Nadat de bladeren vallen in de herfst blijft de schimmel

in de centrale bladsteel aanwezig en produceert het volgende jaar weer nieuwe sporen en ontstaat een nieuwe infectiecyclus. Echter voordat het blad valt, kan de schimmel al zijn doorgegroeid in de twijgen en van daaruit verder groeien naar de dikkere takken. Bij gevoelige essen kan dit leiden tot de dood van aangetaste bomen. De essentaksterfte die Nederland in 2010 bereikte, verspreidde zich nog steeds in rap tempo over het gehele verspreidingsgebied en over alle zaadopstanden. In de strijd tegen deze desastreuze ziekte moet gezocht worden naar resistente individuen. De essencollectie van de genenbank en de zaadgaarden zijn hier zeer geschikt voor want hier zijn meerdere individuen per kloon uitgeplant. In 2011 werd de essentaksterfte hier voor het eerst gemonitord en onlangs in 2015 is dit herhaald. Een drastische toename in twijgsterfte werd waargenomen van gemiddeld 38 procent in 2011 naar 62 procent van het totale kroonvolume in 2015 in de essencollectie van de genenbank. Toch is bij zes van de 119 onderzochte klonen nauwelijks sprake ($\leq 10\%$) van twijgsterfte en in totaal bij 17 klonen is minder dan 20 procent van de kroon aangetast (figuur 3). Ook in de zaadgaarden was er een vergelijkbare situatie met ook daar een klein percentage klonen die nauwelijks aangetast was door de ziekte. Ook is het lage aantastingsniveau in 2015 ten opzichte van 2012 vrijwel hetzelfde gebleven voor de meeste van deze weinig aangetaste klonen.

Categorieën bosbouwkundig teeltmateriaal

Categorieën bosbouwkundig teeltmateriaal volgens de EU-richtlijn 1999/105/EG. In de richtlijn staat uitgangsmateriaal bedoeld voor de productie van teeltmateriaal (zaad, plantsoen, stekken) voor bosbouwkundige doeleinden. Er zijn vier categorieën teeltmateriaal:

Van bekende origine (SI: Source identified)

Teeltmateriaal dat is afgeleid van uitgangsmateriaal bestaande uit een binnen één herkomstgebied gelegen autochtone zaadbron of autochtone opstand.

Geselecteerd (S: selected)

Teeltmateriaal afkomstig van herkomsten die volgens de EU-normen op populatieniveau op uiterlijk (fenotype) geselecteerd zijn op kwaliteitscriteria zoals groei, vorm, betakking en gezondheidsaspecten.

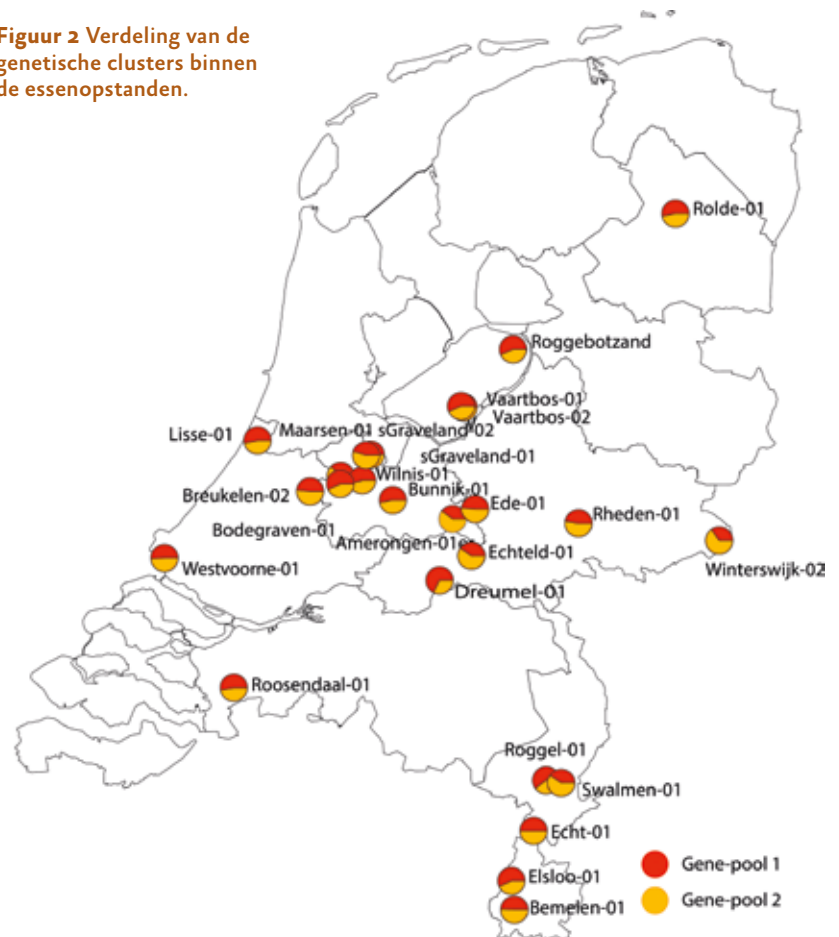
Gekeurd (Q: Qualified)

Teeltmateriaal dat is afgeleid van uitgangsmateriaal (zaadgaarden, ouderplanten van families, klonen of mengsels van klonen), waarvan de componenten zoals klonen, individueel op uiterlijk (fenotype) zijn geselecteerd op kwaliteitscriteria zoals groei, vorm, betakking en gezondheidsaspecten.

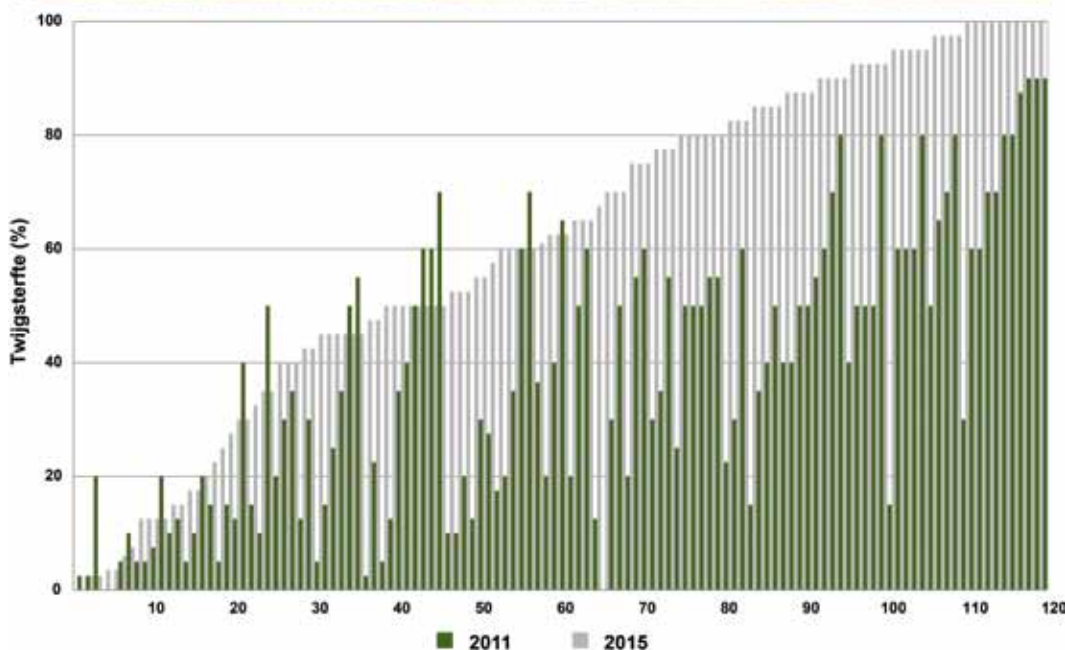
Getest (T: tested)

Teeltmateriaal afkomstig van uitgangsmateriaal (opstanden, zaadgaarden, ouderplanten van families, klonen of mengsels van klonen), dat in goed aangelegde proeven haar meerwaarde bewezen heeft boven geaccepteerde standaards. Op dit moment zijn er geen essen binnen deze categorie.

Figuur 2 Verdeling van de genetische clusters binnen de essenopstanden.



Figuur 3 Essentaksterfte in de genenbank Roggebotzand. Boven: De klonen zijn twee aan twee in rij geplant. Duidelijke verschillen in aantasting zijn zichtbaar tussen klonen. Onder: staafdiagram van de verdeling van het gemiddeld percentage twijgsterfte per kloon van het totale kroonvolume in 2011 (groen) en 2015 (grijs).



De bomen met weinig aantasting worden momenteel vermeerderd en opgekweekt en zullen in de komende jaren kunstmatig geïnoculeerd worden met de schimmel om de vatbaarheid voor de ziekte te toetsen. Voor de toekomst van de es is het van belang om een grote 'pool' van weinig vatbare bomen te selecteren zodat een hoge genetische diversiteit wordt gewaarborgd. Een brede genetische basis is essentieel voor essen om bestand te blijven tegen toekomstige ziekten en klimaatsveranderingen. Wij raden beheerders dan ook aan om gezond ogende bomen in het veld te laten staan. Deze bomen kunnen in de toekomst worden gebruikt voor resistentieveredeling. Ook kunnen de zaailingen van deze meest resistente bomen door natuurlijke selectie mogelijk een nieuwe generatie essen opleveren die minder vatbaar is voor de ziekte.

Gevolgen voor beheer

Door gebruik te maken van teeltmateriaal van de Rassenlijst Bomen is een voldoende hoge genetische diversiteit gewaarborgd. De autochtone essenpopulaties binnen de categorie "van bekende origine" (SI) zijn onderzocht op hun genetische oorsprong en de meeste behoren tot een DNA haplotype dat van nature in Nederland aanwezig is. De Europese richtlijn voor handel in bosbouwkundig teeltmateriaal schrijft voor dat teeltmateriaal in de categorieën "van bekende origine" (SI) en geselecteerd (S) uitsluitend wordt aangeplant of gebruikt binnen één en hetzelfde herkomstgebied. Gebruik van materiaal uit een ander herkomstgebied moet vermeden worden omdat dit materiaal mogelijk minder goed is aangepast. Omdat er geen duidelijke genetische structuur is in de essenopstanden, is het voor de beheerder niet strikt noodzakelijk om uit oogpunt van genetische differentiatie teeltmateriaal uit dezelfde streek te oogsten. Wel zijn er duidelijke verschillen tussen de herkomsten in onder andere bladuitloop, groei en stamvorm. Dit wordt de komende tijd verder onderzocht in herkomstenproeven. Vatbaarheid voor essentaksterfte komt in alle herkomsten voor en de selectie richt zich dan ook op individuen die in het veld geen of weinig symptomen van de ziekte vertonen. Gezien de vatbaarheid voor essentaksterfte grotendeels genetisch bepaald is, wordt aangeraden om bomen en zaailingen met geen tot weinig aantasting te laten staan. Hopelijk dragen deze bomen bij aan een nieuwe generatie essen die beter bestand is tegen de ziekte.<

Paul.copini@wur.nl

Voor nader advies over essentaksterfte, zie het nieuwe praktijkadvies essentaksterfte van de VBNE.