Rapportage onderzoek aan bastknobbels en aantasting van bast door korstmossen



April 2008

In opdracht van gemeente Alphen aan den Rijn

Dr. AAM van Lammeren
Met medewerking van Henk Kieft en Jacqueline Donkers
Laboratorium Plantencelbiologie
Wageningen Universiteit en Research Centrum
Arboretumlaan 4, 6703 BD Wageningen

Rapportage onderzoek aan bastknobbels en aantasting van bast door korstmossen

Samenvatting	pag. 2
Inleiding	2
Materiaal en methoden	2
Resultaten en discussie	3
A. Analyse van pokdalig uiterlijk op de stam	3
B. Analyse van aantasting door korstmossen	3
C. Analyse kleine bastknobbels op es	4
D. Knobbelvorming bij ceder	4
Conclusies	4
Beeldverslag	5
A. Analyse van pokdalig uiterlijk op de stam	5
B. Analyse van aantasting door korstmossen	8
C. Analyse kleine bastknobbels op es	12
D. Knobbelvorming bij ceder	16

© 2008 Wageningen, leerstoelgroep Plantencelbiologie, WUR
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaargemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige anderen manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de leerstoelgroep Plantencelbiologie

Plantencelbiologie is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen doe kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Rapportage onderzoek aan bastknobbels en aantasting van bast door korstmossen

Samenvatting

In het hier beschreven onderzoek is nagegaan wat de aard en oorzaak is van het pokdalig uiterlijk van de stam van de es, wat het effect is van korstmosbegroeiing op de essenbast en hoe de reeds eerder beschreven bastknobbels ontstaan. Het is een voortgangsrapportage van een grotere studie naar oorzaak en gevolg van boomaantastingen. Hier worden verschijnselen beschreven maar er is vooralsnog geen uitspraak over hoe de aantastingen zoals bastknobbels zijn veroorzaakt.

- **Het pokdalig uiterlijk van de es wordt veroorzaakt door overvloedige kurkvorming, waarschijnlijk aangezet door een schimmelinfectie aangezien schimmelweefsel (mycelium) in het aangetaste bastweefsel is gevonden. De kurkvorming isoleert het aangetaste gebied en voorkomt zo verdere uitbreiding van infectie.**
- **Korstmos beïnvloedt als epifyt wel degelijk het stamoppervlak aangezien onder het korstmos bastweefsel ten gronde gaat en ook hier extra kurk wordt gevormd. Door de extra kurkvorming gaat buitengesloten bast- en schorsweefsel dood waardoor bij toenemende omtrek van de stam (dilatatie) scheuring en een craquelé-effect op het oppervlak ontstaat.**
- **Als onderdeel van de studie naar bastknobbelontwikkeling is in dit onderzoek aangetoond dat bastknobbels ook om een deel van bastvezels kunnen ontstaan en door ongelijke delingsactiviteit van een vaatweefselvormend cambium van een spoelvormige in een bolvormige structuur kunnen veranderen.**
- **De knobbelvorming op de stam van de ceder, een naaktzadige, blijkt niet van het bastknobbeltype. Het zijn uitgroeiingen van zijtakken. Dit komt overeen met eerdere waarnemingen aan naaktzadigen.**

Inleiding

In het bomenbestand van Alphen aan den Rijn zijn recent verschillende aantastingen waargenomen.
In het hier beschreven onderzoek staan drie vragen centraal:
- Wat veroorzaakt het onregelmatige oppervlak van essenstammen?
- Wat is het effect van korstmossen op de bast van de es?
- Is extra informatie te krijgen van bastknobbels die in een jong ontwikkelingsstadium verkeren?

Materiaal en methode

Plantmateriaal is in februari 2008 verzameld van essen (*Fraxinus excelsior* 'Westhofs Glorie') in Alphen aan den Rijn. Monsters zijn met een holpijp verzameld en gefixeerd in een mengel van 2% formaldehyde en 2% glutaaraldehyde in 0,1 M fosfaatbuffer pH 7 en bewaard bij 4 °C tot het moment van analyse. Coupes zijn gemaakt met een sledemicrotoom en gefotografeerd met een digitale camera (Olympus-C765), met een ProgRes C10 op een Zeiss Discovery prepareermicroscoop of met een Axiocam MRc5 op een Zeiss Axiovert 200 lichtmicroscoop. In de beeldverslaglegging zijn meestal eerst macroscopische opnames getoond en daarna microscopische illustraties met verschillende mate van detail. De nummercodes bij de foto's zijn voor archivering. Maatstreepjes in de figuren geven de vergroting aan.
Gemonsterd zijn:

A. Plekken met pokdalig uiterlijk
B. Plekken met korstmosbegroeiing
C. Kleine bastknobbels
D. Knobbels op ceder

Resultaten en discussie

A. Analyse van pokdalig uiterlijk op de stam.

Het pokdalig uiterlijk van de essenstam is onderzocht in meerdere monsters en getoond in het beeldverslag van dit rapport (Fig. 1, 2, 3). Soms zijn donkere vlekken op de stam te zien, omringd door gelig kurkweefsel (Fig. 1A). In andere gevallen is opwelvend kurkweefsel het symptoom van actieve kurkvorming in dieper gelegen weefsellagen (Fig. 1C). Op doorsnede blijkt de gele kleur veroorzaakt te zijn door sterke kurkvorming (Fig. 1 B, D). Microscopisch blijkt dat onder het oppervlak necrotisch weefsel opgehoopt is (Fig. 1E, *). De necrotische plek zelf is van de stam afgeschermd door een nieuwgevormd periderm (Fig. 1E, pijl). Meerdere keren is vastgesteld dat in de necrotische plek schimmeldraden (hyfen) zijn doorgedrongen. Figuur 2 geeft een voorbeeld van een necrotische plek waarbij hyfen zijn aangetroffen in een sklerencymvezel in het centrum van het necrotisch gebied. Ook hier is de necrotische plek afgeschermd van de stam door de vorming van een nieuw periderm (Fig. 2A, pijl). De extra kurkvorming veroorzaakt enige opbolling aan de buitenzijde van de stam. De Figuren 2B-F tonen de schimmeldraden in overzicht en detail in de vezel die centraal in de necrotische plek ligt.

In enkele preparaten is vastgesteld dat schimmelhyfen een peridermlaag kunnen doordringen. Als gevolg van een dergelijke infectie ontstaat er in de schors en in de bast van de stam een afweerreactie in de vorm van de vorming van een volgende peridermlaag waardoor meer floeem- en schorsweefsel wordt buitengesloten zodat het degenereert. Dat verklaart de vorming van de necrotische plekken van Fig. 1 en 2. Het proces van her-infectie en reactie van de plant met kurkaanleg kan zich meerdere keren herhalen (Fig. 3). Hier zijn meerdere kurklagen na elkaar gevormd en in steeds dieper gelegen weefsellagen. Dat proces kan leiden tot plaatselijk opzwellingen die uitwendig enigszins op bastknobbels lijken (Fig. 3A, B) maar in opbouw geheel ervan verschillen. Ook hier blijkt dat de gelige kleur van de knobbels tot stand komt door de overmatige kurkvorming (Fig. 3B, D pijlen). De donkere velden in Fig. 3B en D bestaan uit necrotisch bastweefsel.

B. Analyse van aantasting door korstmossen

Bastmonsters zijn genomen op plaatsen met korstmosbegroeiing (Fig. 4A). Onder de laag met korstmos, in dit geval *Parmelia* sp. is dood bastweefsel en een laag extra dik kurk aangetroffen (Fig. 4B, C pijl). Hieruit blijkt dat schimmels niet louter op het stamoppervlak hechten maar een interactie aangaan waardoor plaatselijk schors en bastweefsel wordt aangetast waarop als reactie hernieuwde kurkaanleg in dieper gelegen lagen optreedt. Het buitenwaarts gelegen schors- en floeemweefsel sterft daardoor af (Fig. 4B, C,*). Zodra de stam in dikte toe neemt, kan wel het kurkcambium mee oprekken (dilateren) maar de dode bast buiten de kurklaag kan niet zijdelings meegroeien waardoor scheuren in de korst ontstaan. Het resultaat is een grillig uitwendig oppervlak dat kenmerkend is voor plaatsen op de stam waarom korstmos heeft gezeten. Bastvezels in de dode bast blijken sterk te worden aangetast (Fig. 5). De kristallijnen structuur, kenmerkend voor de cellulose wand van de bastvezels in het levend floeem, is geheel ten gronde gegaan in de delen die door de korstmos zijn aangetast (Fig. 5B). Wellicht door de werking van enzymen zoals cellulasen die door de schimmelhyfen zijn afgegeven.

De afsluiting van de bast door nieuw gevormd periderm is robuust maar niet compleet. Lenticellen komen regelmatig voor (Fig. 5A en 6B). Ze dienen voor de gaswisseling maar kunnen ook een toegangspoort voor schimmelinfectie vormen.

De buitenzijde van de stam is niet alleen met korstmossen bezet maar ook eencellige algen (Fig. 7) zoals mogelijk *Haematococcus* en anderen. Ze vestigen zich alleen oppervlakkig en lijken de dieper gelegen cellagen niet te beïnvloeden. De schimmelpartner van het korstmos *Parmelia* vormt donkergekleurde sporen (Fig. 7B).

C. Analyse kleine bastknobbels op es

Bij herhaling is in het verleden geconstateerd dat bastknobbels in hun centrum een bastvezel of steencel bevatten. Ook nu bleek dat weer het geval te zijn(Fig. 8). In de vezels van bastknobbels zijn geen hyfen aangetroffen. Wel zijn ze vaak verkleurd.

Op een lengte-doorsnede van een bastknobbel is te zien dat de vezel in de knobbel de zelfde oriëntatie heeft als andere vezels in de bast. Het is duidelijk dat de bastknobbel om de vezel is gevormd. Er is een houten kern met daaromheen een vaatweefsel-vormend cambium dat naar buiten toe secundair floeem afzet en naar binnen toe secundair xyleem (Fig. 8B). De houten kern heeft een concentrische opbouw.

Figuur 9 toont een bastknobbel waaruit aan de rechter-onderzijde een bundel bastvezels steekt. Op de overgang van floeem naar xyleem van de knobbel verandert de diameter van de bundel abrupt (Fig. 9, pijlen). Dit kan veroorzaakt zijn door plasticiteit binnen de bundel bastvezels. Sommige bastvezels zijn de door de activiteit van het vaatweefselvormend cambium (gebroken en) naar buiten gedrukt terwijl anderen omgroeid zijn en daardoor op de plaats blijven.

Zoals reeds in voorgaande studies is opgemerkt, kan een bastvezel als initiatiecentrum dienen waaromheen een vaatweefselvormend cambium aangelegd en actief wordt. Uit Fig. 9 wordt duidelijk dat ook een deel van een bastvezel als initiatiecentrum kan dienen. In eerste instantie is de knobbel op lengtedoorsnede spoelvormig met als lengte-as de bastvezel of bastvezelbundel. Dat is goed zichtbaar op de knobbel getoond in Fig. 10. Door sterkere afzetting van cellen langs de vezel verandert de knobbel geleidelijk van spoelvormig naar bolvormig. Dit is alleen op lengtedoorsnede te zien. Ook hier is de vezel in het centrum door necrose bruin gekleurd. Knobbels vormen niet alleen een aanzienlijke hoeveelheid xyleem maar ook veel floeem met steencellen waarbij de gelaagdheid in Fig. 11 karakteristiek is.

D. Knobbelvorming bij ceder

De ceder behoort tot de naaktzadigen. Macroscopisch is vastgesteld dat de knobbels van ceder met een streng xyleem aan de houtcilinder van de stam vastzitten. Op doorsnede blijkt inderdaad dat de knobbel een zijtak is waarvan het eindmeristeem is verdwenen. Er is echter wel diktegroei. Er worden jaarringen xyleem en floeem afgezet op een vergelijkbare wijze als door het reguliere vaatweefselvormende cambium (Fig. 12). In dit knobbeltype ontbreekt ook de schilsgewijze opbouw en de afwezigheid van oriëntatie van het weefsel. Er is hier dan ook geen sprake van bastknobbelvorming.

Conclusies

A. Kurkvorming, waarschijnlijk als gevolg van aantasting door schimmels, is de oorzaak van het pokdalig uiterlijk van de essenstam. Daarbij kunnen vezels toeganspoorten voor schimmelinfectie zijn.
B. Korstmossen blijken niet onschadelijk voor de stam. Zij tasten de bast aan doordat hyfen het eerst gevormde periderm doordringen. Als gevolg daarvan ontstaat weefselnecrose in schors en bast, en hernieuwde kurkvorming in dieper gelegen lagen.
C. Bastknobbels ontstaan rondom bastvezels, mogelijk na afsterven van dergelijke vezels. De knobbelvorming verloopt van spoelvorm naar bolvormig door verschillende groeisnelheden in verschillende richtingen. Tot nu toe zijn in deze bastvezels geen schimmeldraden aangetroffen.
D. Knobbels van de ceder zijn geen bastknobbels maar uitgroeiingen van zijtakjes die geen lengtegroei meer vertonen.

Dr. AAM van Lammeren
Laboratorium Plantencelbiologie
Wageningen Universiteit en Research Centrum
Arboretumlaan 4
6703 BD Wageningen, NL
andre.vanlammeren@wur.nl

A. Analyse pokdalig uiterlijk essenstam

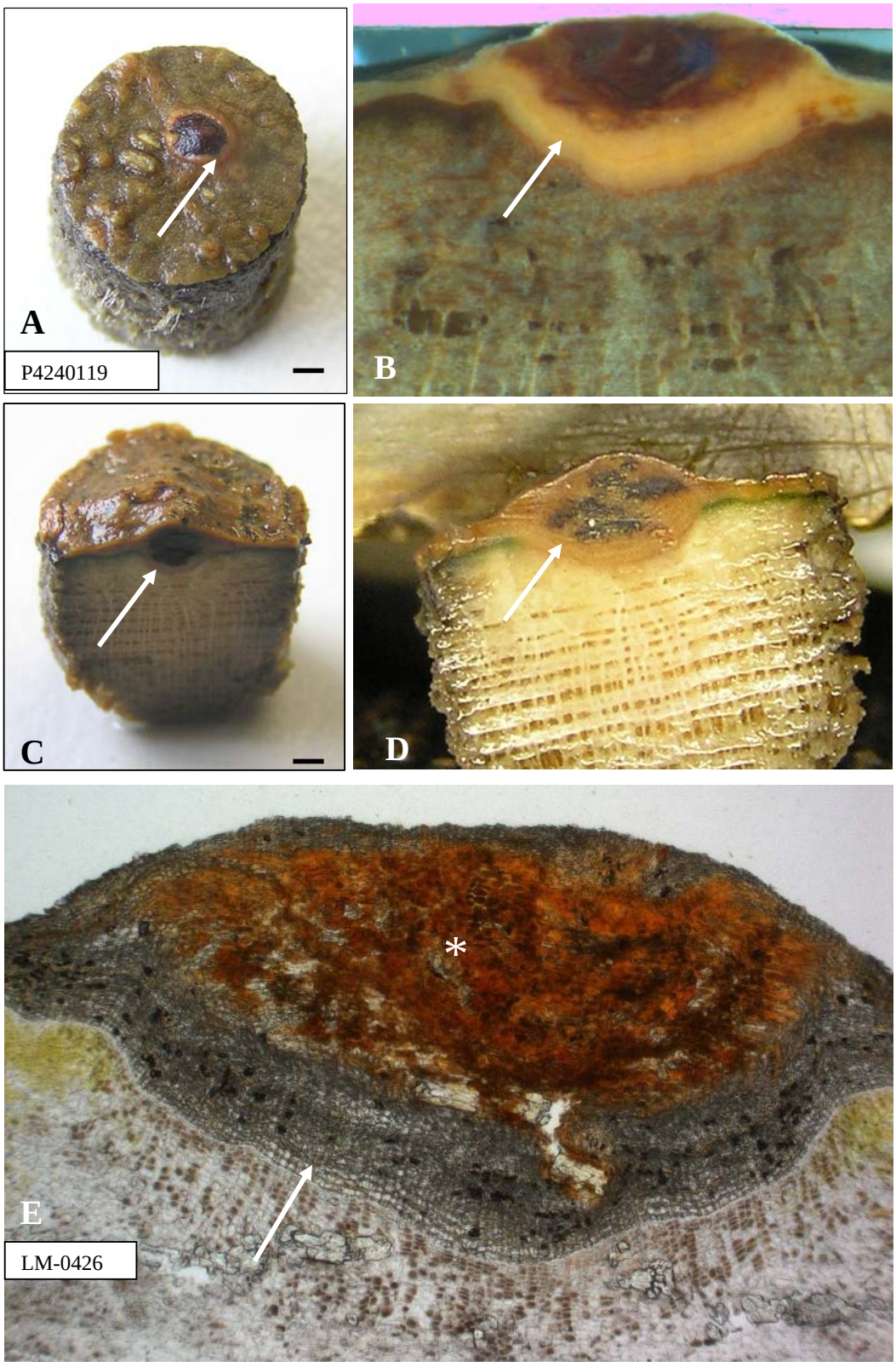


Fig. 1. Aanzicht (A) en macroscopische doorsneden (B, C, D) en een microscopisch beeld (E) van een bastaantasting bij de es. De witte pijlen wijzen in alle gevallen naar een nieuw gevormde kurklaag die donker gekleurd necrotisch weefsel afsluit van de stam. De maatstrepen in de figuren geven 1 mm aan.

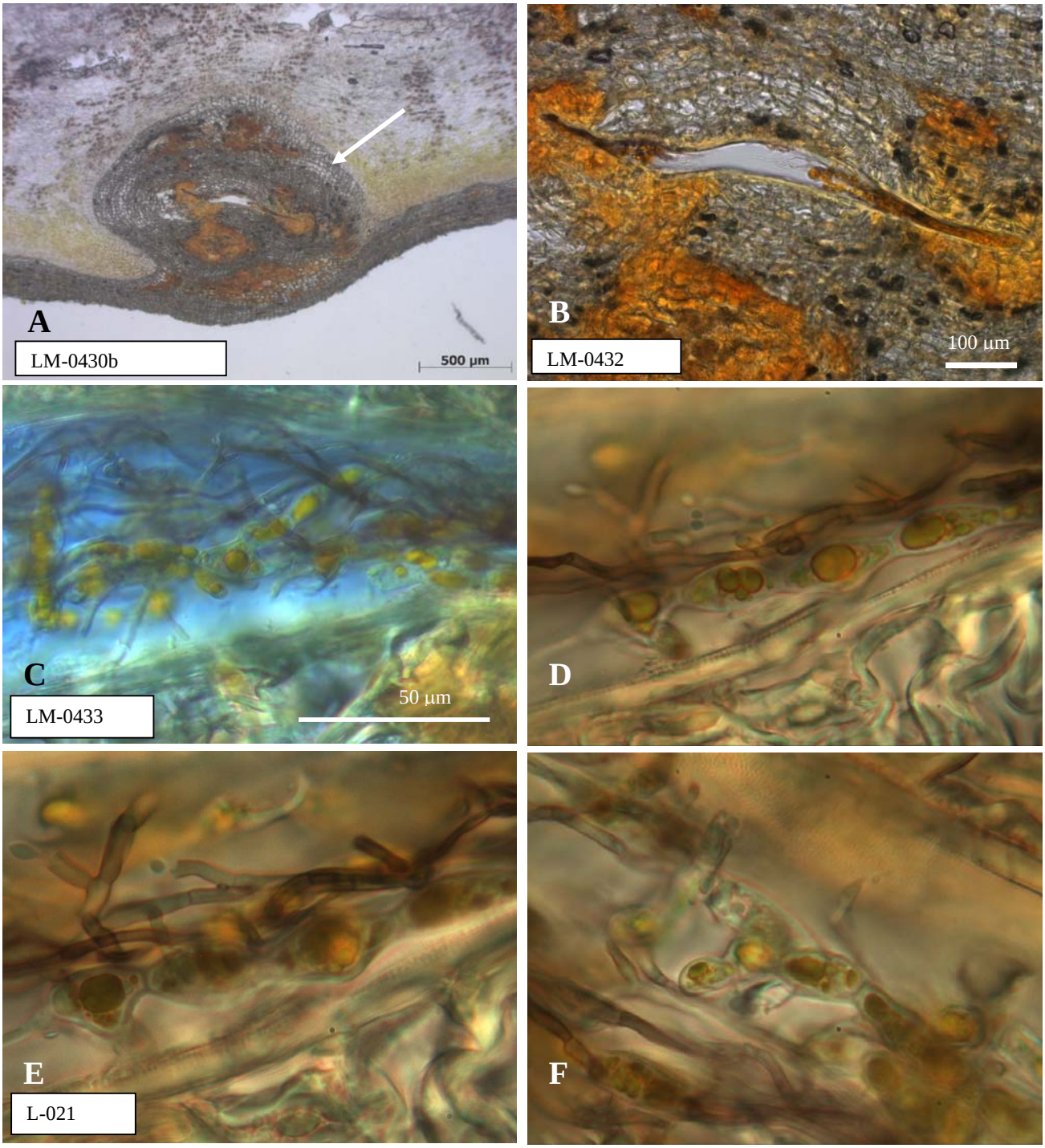


Fig. 2. Overzicht (A) en detailopnames (B-F) van een necrotische plaats met schimmelhyfen in een bastvezel centraal gelegen in de necrotische zone. Let op de afweerreactie in de vorm van peridermvorming om de aangetaste plek in A (witte pijl).

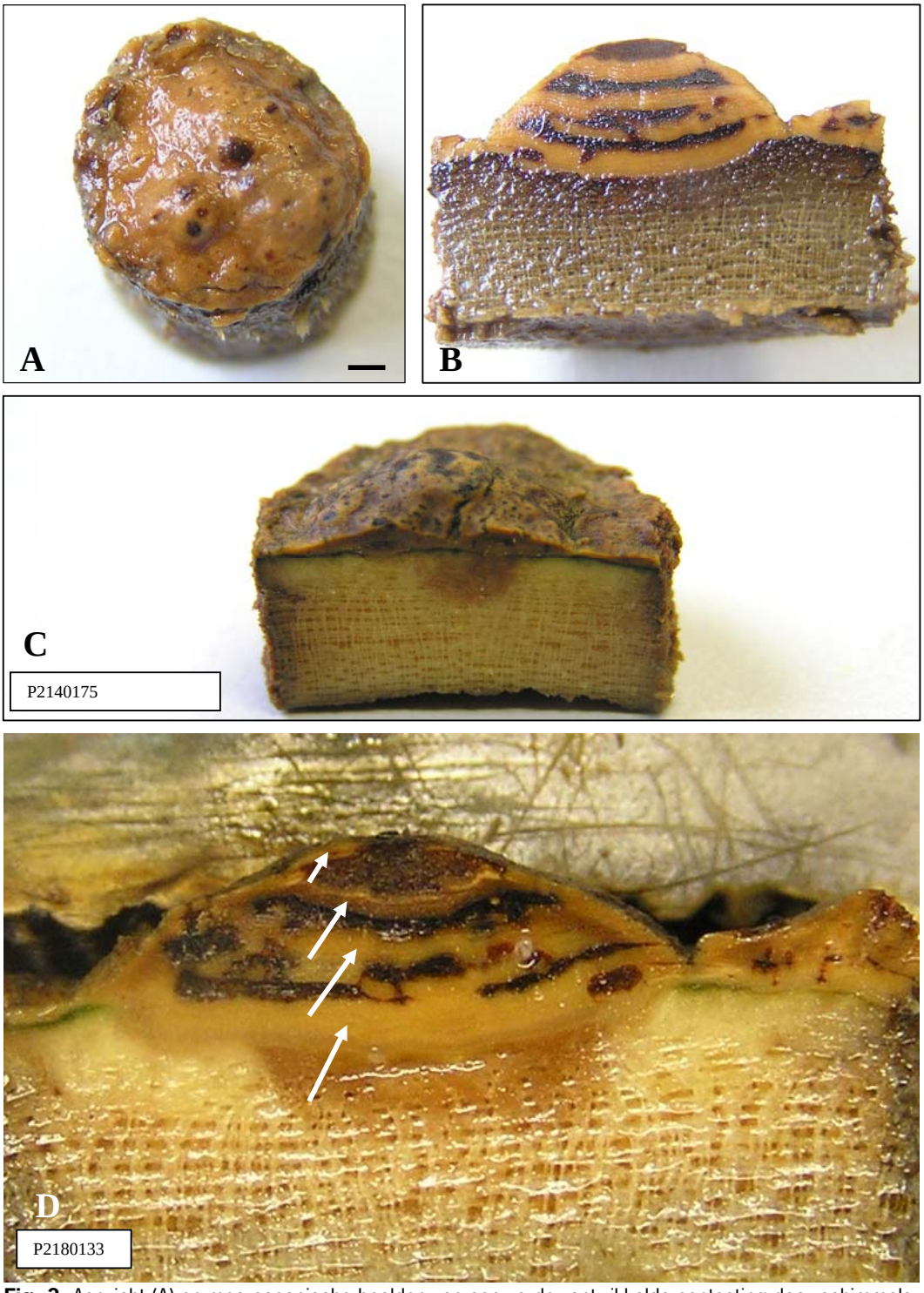


Fig. 3. Aanzicht (A) en macroscopische beelden van een verder ontwikkelde aantasting door schimmels met als reactie knobbelvormige 'kurkwoekering' door intensieve activiteit van elkaar opvolgende kurkcambia resulterend in kurklagen (witte pijlen in D). De maatstreep geeft 1 mm aan.

B. Essenbast met korstmos (*Parmelia* sp.) - begroeiing

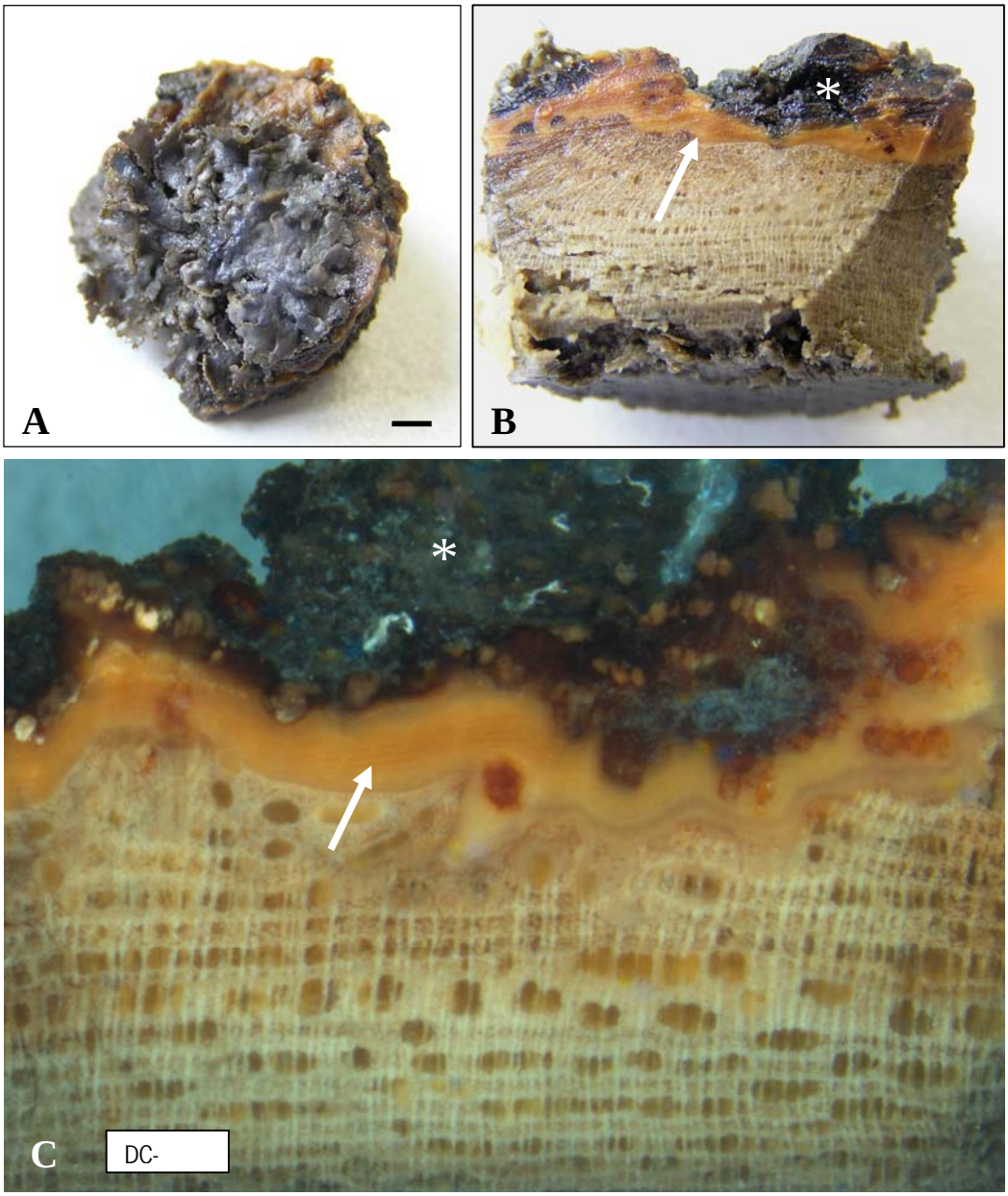


Fig. 4. Overzicht (A) en doorsnede (B, C) van een essenbast, begroeid met het korstmos *Parmelia* sp. Let op de overdadige kurkaanleg (witte pijlen in B en C) en het afgestorven bastweefsel (*) als gevolg van de begroeiing met korstmos. De maatstreep geeft 1 mm aan.

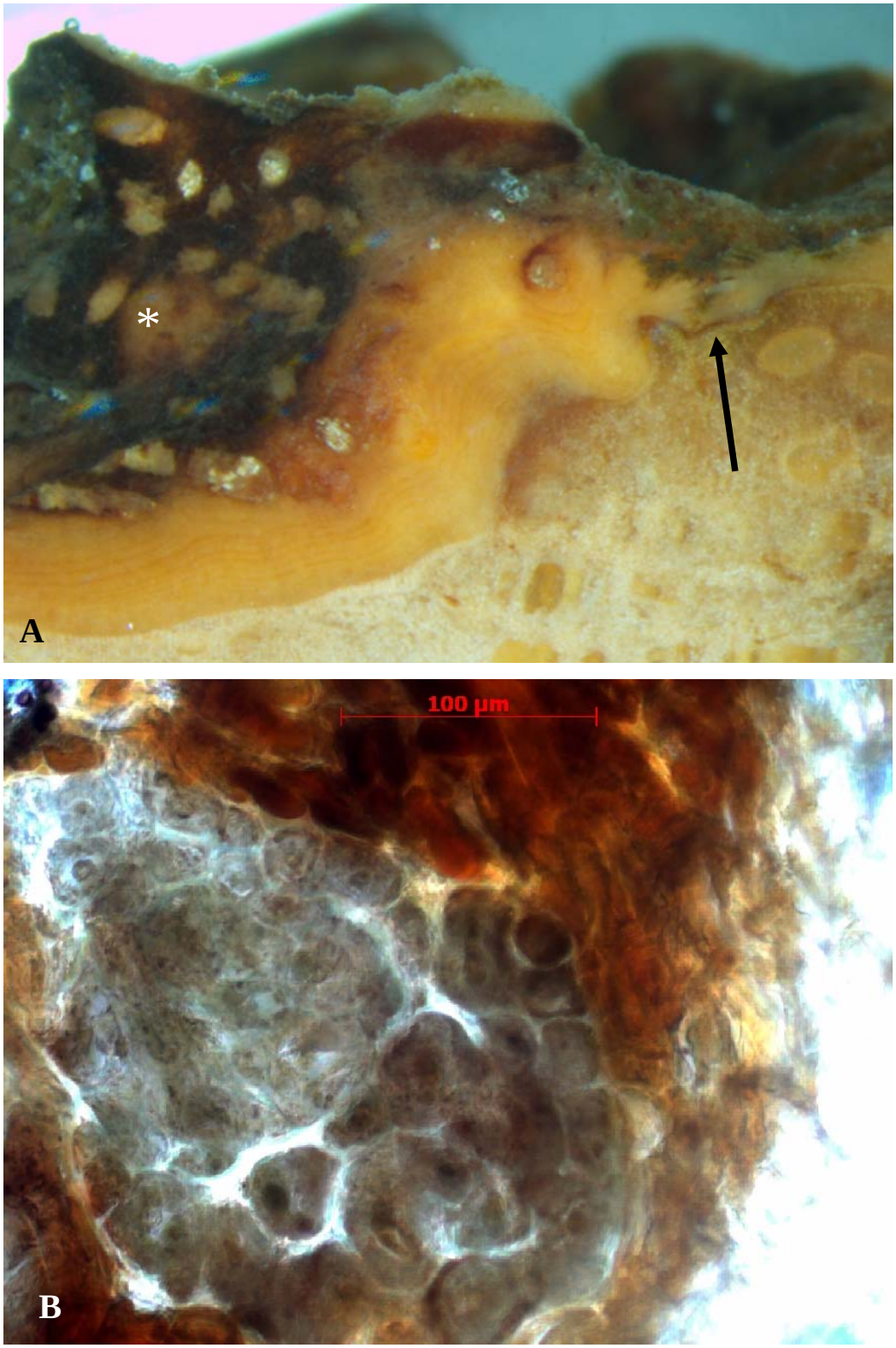


Fig. 5. A. Detail van stamoppervlak ter plaatse van korstmosbegroeiing met sterke kurkvorming en buitenwaarts afgestorven bastweefsel met deels oplichtende bastvezelgroepen en deels gedegenereerde baatvezels (*). De pijl in A wijst naar een lenticel. B. Detail bastvezelgroep in dode bast waarbij de kristallijnen structuur is verdwenen. (LM-0474)

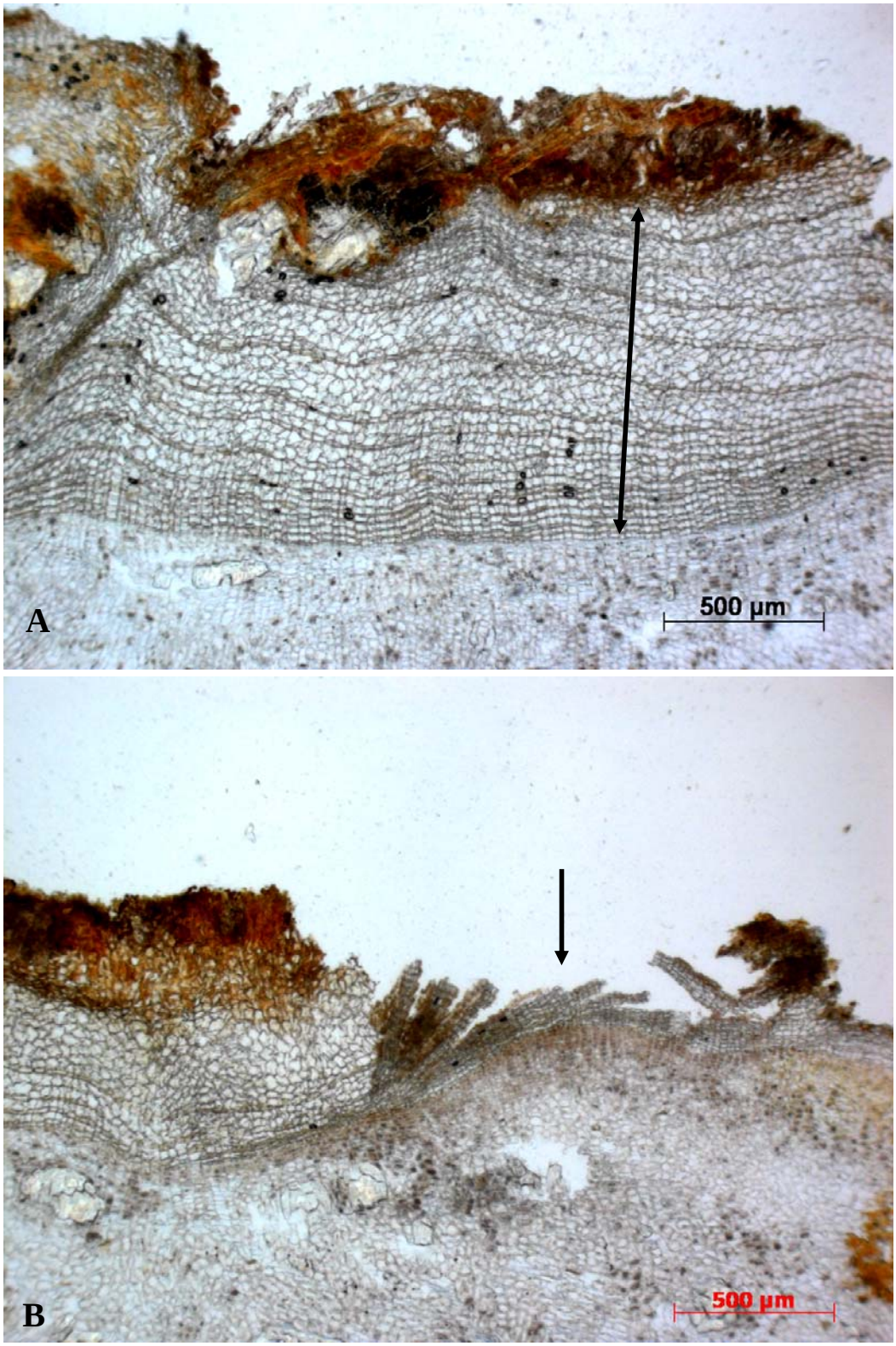


Fig. 6. A. Overzicht van uitbundige kurkvorming (↔) ter plaatse van korstmosbegroeiing.
B. Detail van een lenticel (pijl) voor de gaswisseling in periderm ter plaatse van korstmosbegroeiing.

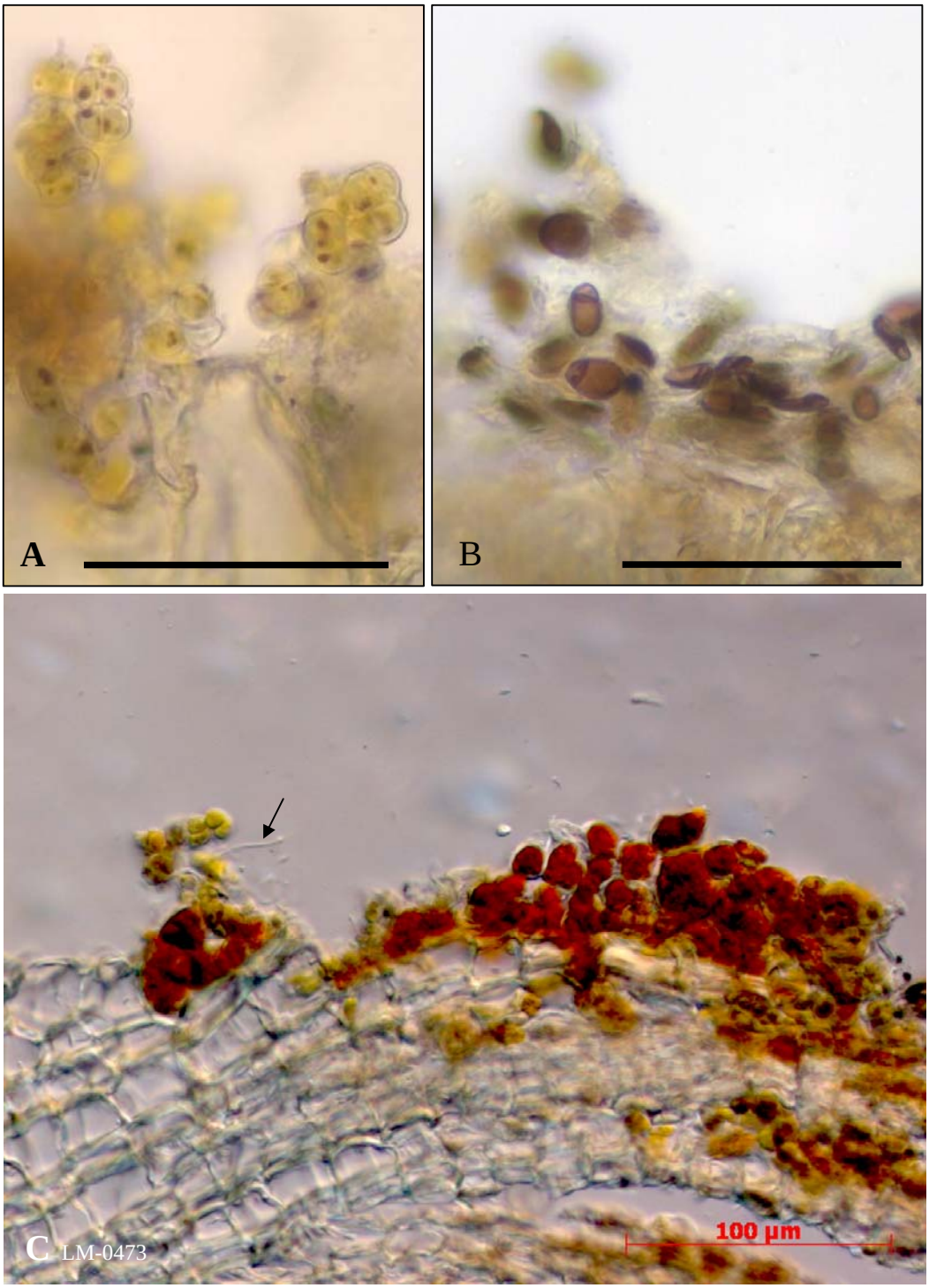
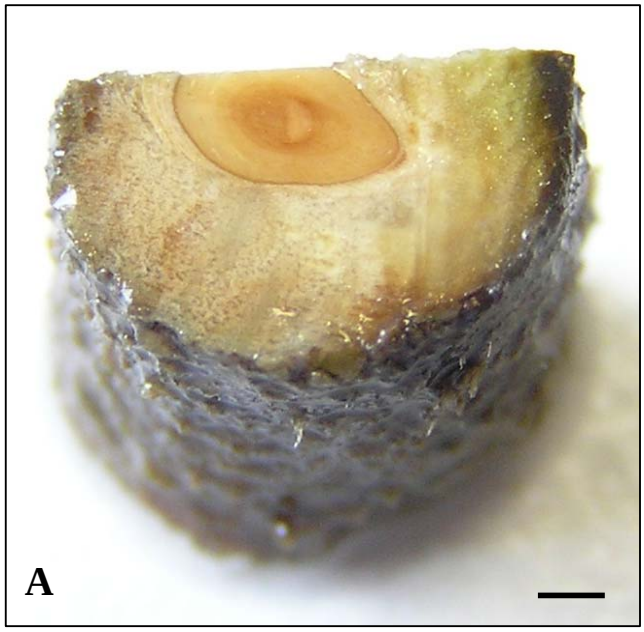


Fig. 7. A. Detail groene algen aan stamoppervlak. B. Detail schimmelsporen met melanine in de wand (donkere kleur) ter plaatse van korstmos. (Frax 007, Frax008)
C. Detail van rode alg-sporen (*Haematococcus*?) op de stam. Let ook op groene algen en hyfen (pijl links) als teken van lichenen-aanwezigheid aan het oppervlak. Maatstreep is in A en B is 50 µm.

C. Bastknobbelontwikkeling op es



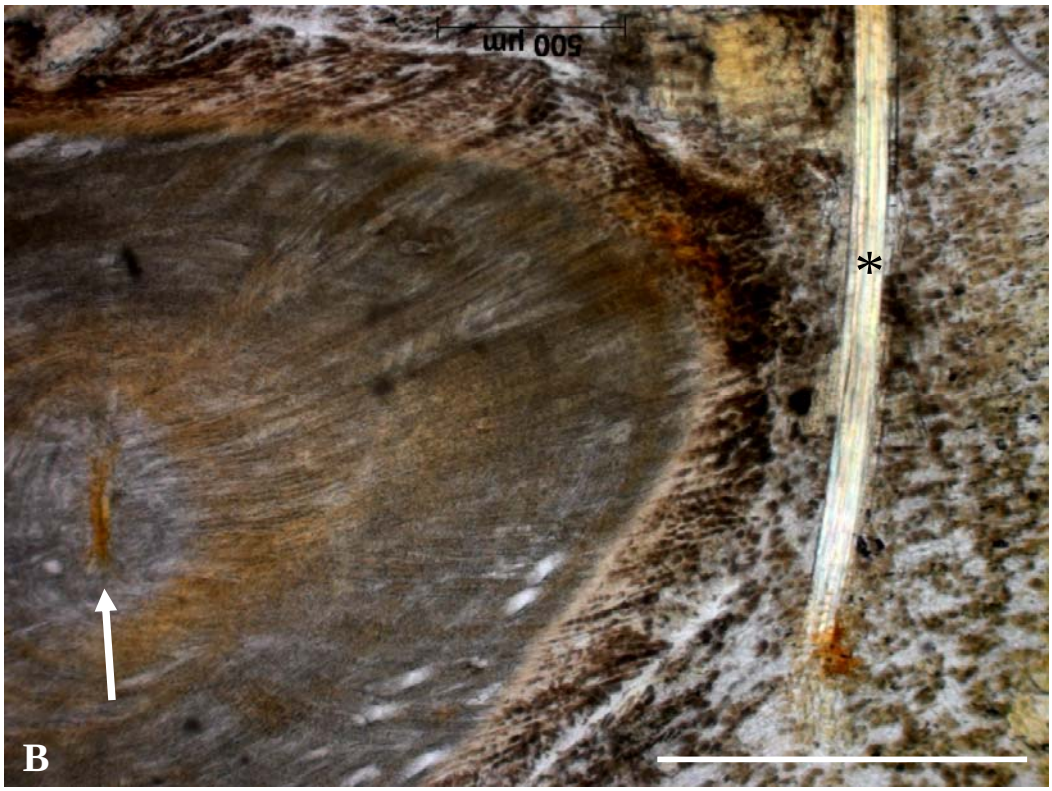


Fig. 8. Tangentiale doorsnede van bastknobbel op de essenstam met in B detailopname van zelfde gebied. Merk op dat de vezelrest in de knobbel (pijl in B) dezelfde oriëntatie heeft als de vezel rechts van de knobbel. De maatstrepen geven 1 mm aan.

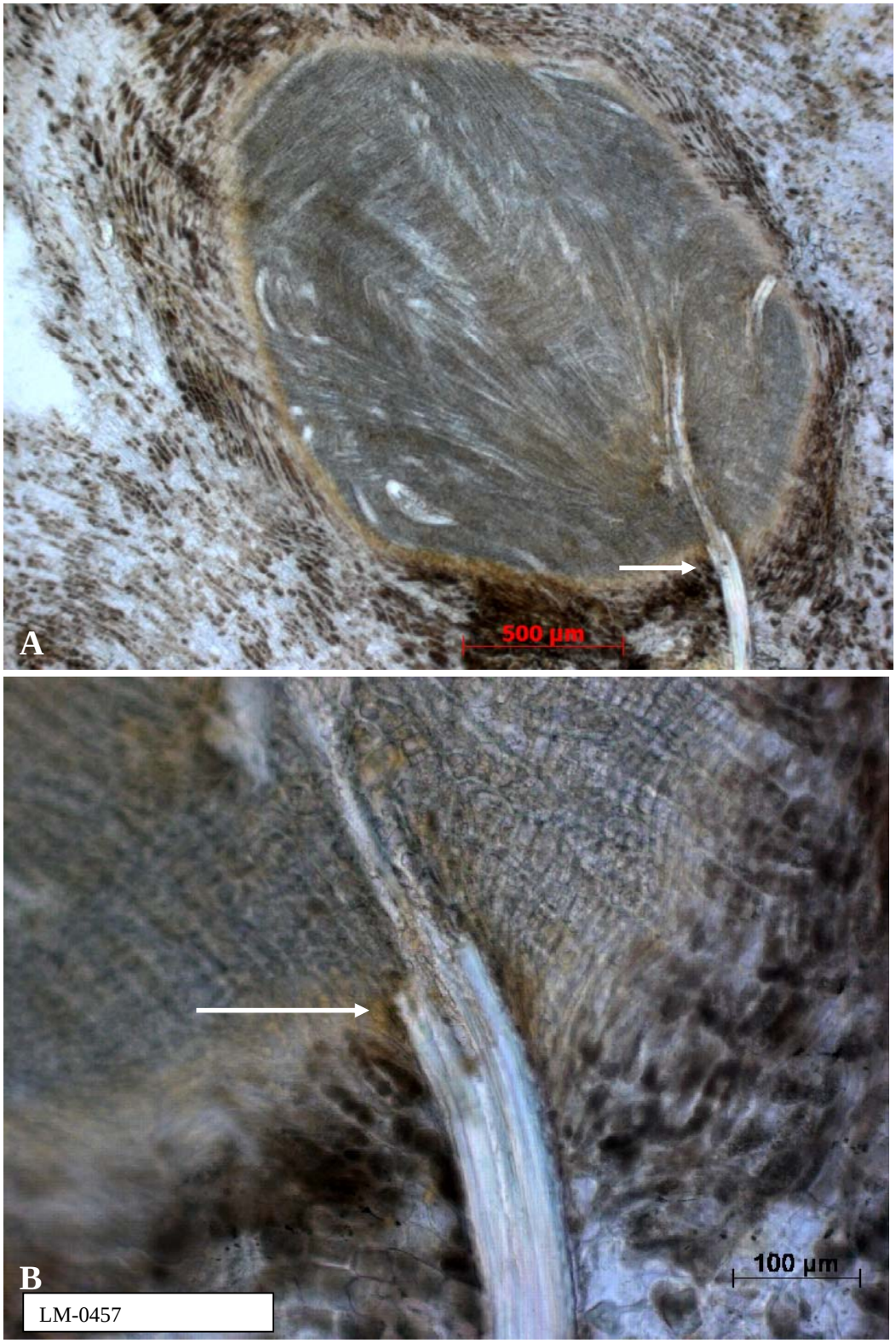


Fig. 9. Overzicht (A) en detail (B) van een bastknobbel in tangentiaal aanzicht met vezel die gedeeltelijk in, en gedeeltelijk buiten de knobbel ligt. Het 'midden' van deze knobbel ligt excentrisch maar gerangschikt rondom de vezel. De pijlen markeren de plaats waar de bundel bastvezels van abrupt van diameter verandert.



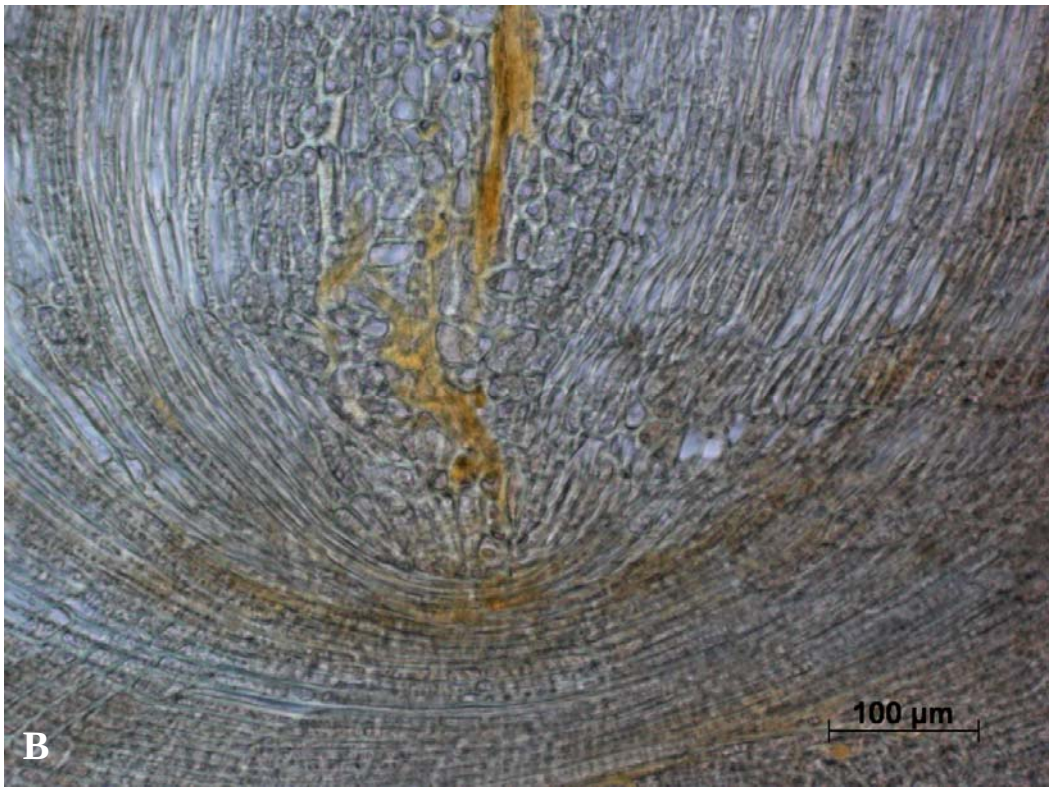


Fig. 10. Overzicht (A) en detail (B) van bastknobbel in tangentiaal aanzicht met in het centrum een vezel waaromheen de knobbel tot ontwikkeling is gekomen. De verbruining duidt op necrose van ingesloten cellen. Merk op dat het xyleemafzettingen om de vezel in A van spoelvormig naar bolvormig vervormen.

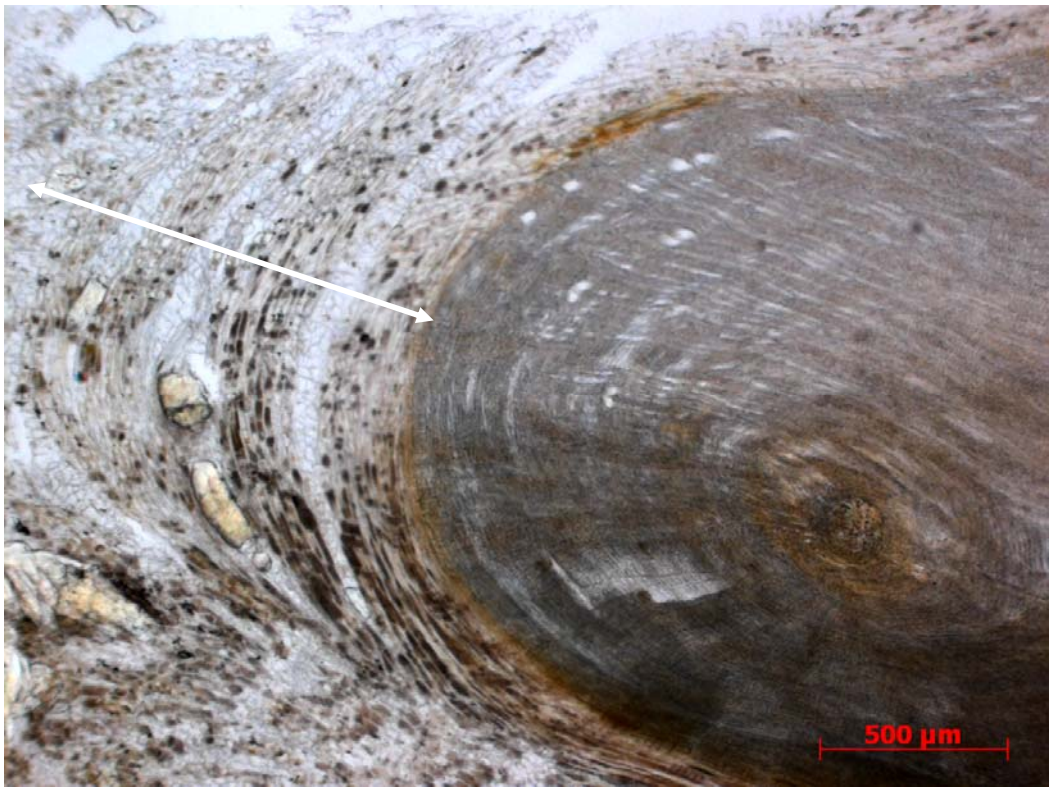


Fig. 11. Overzicht van knobbel met links van het xyleem veel nieuwgevormd floeem (gebied betreken door witte pijl) waarin op enkele plaatsen grote steencellen (sklereïden) zijn gevormd.

D. Ontwikkeling van knobbels bij de Ceder

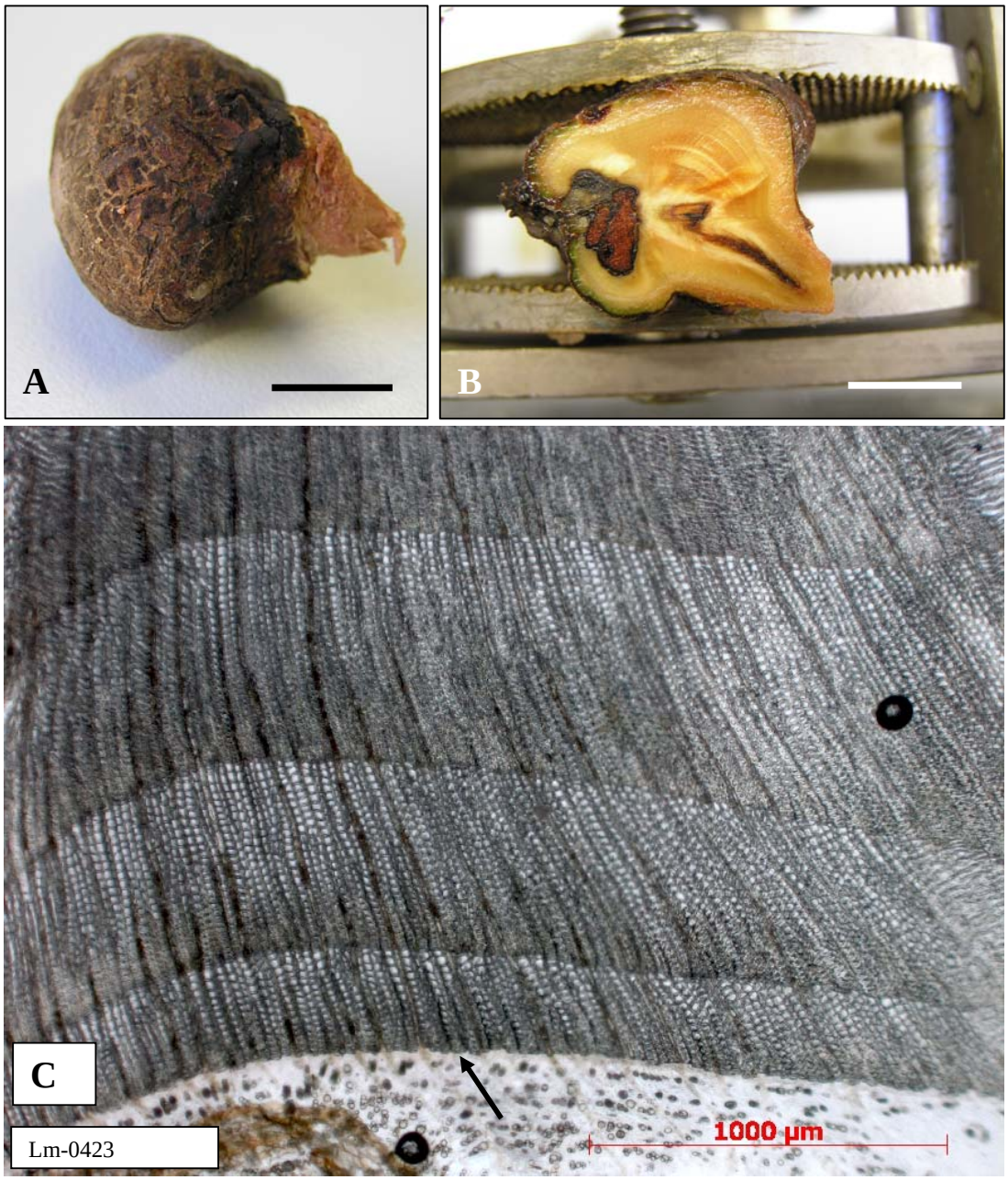


Fig. 12. Overzicht van knobbel van de Ceder nadat hij van de stam is afgenomen (A, P2120138), en na het maken van een doorsnede (B, P2120148, in zelfde oriëntatie als A). Uit de opbouw blijkt dat het hier een zijtak betreft die weliswaar geen eindmeristeem meer heeft en daardoor niet langer wordt, maar wel een vaatweefselvormend cambium in de centrale cilinder van de tak heeft gevormd zodat regelmatige jaarringen xyleem (C) en floeem worden afgezet. Merk op dat de tracheïden in het xyleem in C heel geordend gerangschikt zijn, i.t.t. de organisatie in het xyleem van bastknobbels. Het vaatveefselvormend cambium is in C met een pijl aangegeven. De maatstreep in A en B is 1 cm.