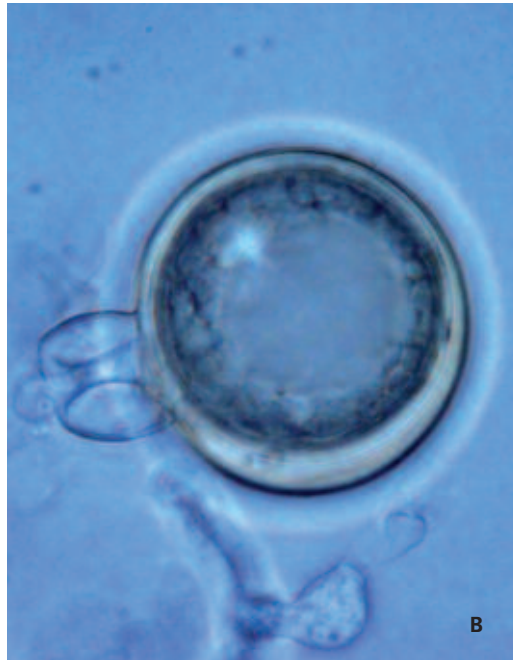
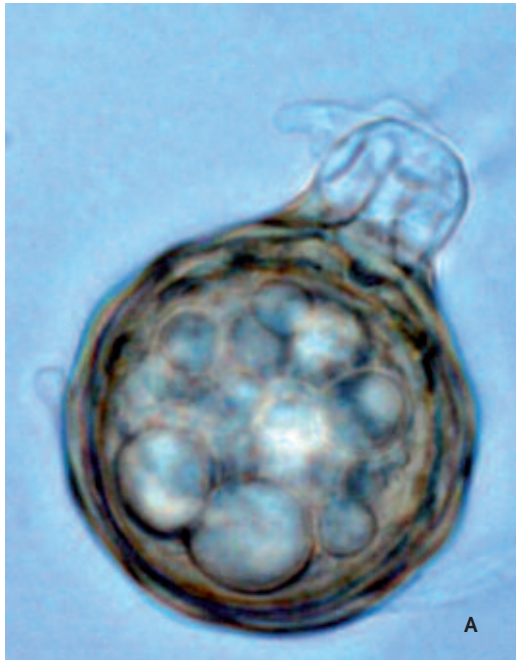




**Willem Man in 't Veld
& Johan Meffert**

Foto 1. Oögonium met
geaborteerde oöspore (A)
en gezonde oöspore (B)
van hybriden tussen
Phytophthora nicotianae
en *Phytophthora cactorum*.
Doorsnede oögonia:
ca 36 micrometer

Exotische en hybride *Phytophthora* soorten als mogelijke bedreiging voor natuurlijke ecosystemen

Invasieve ziekteverwekkers (pathogenen) kunnen een grote invloed hebben op populaties van soorten, en daarmee leiden tot ingrijpende veranderingen in bestaande gewassen en vegetaties. Soorten uit het geslacht *Phytophthora* zijn berucht als veroorzaker van plantenziekten; introductie van deze soorten in nieuwe gebieden heeft al meermalen geleid tot grote schade, zowel in cultuurgewassen als ook in ecosystemen.

De recente vondst van een onbekende *Phytophthora* soort in zeegras werpt de vraag op of dit organisme een rol heeft gespeeld bij de ernstige achteruitgang van de Nederlandse zeegraspopulaties in de vorige eeuw.

In eerste instantie lijkt *Phytophthora* een schimmel, want hij maakt schimmeldraden (mycelium), maar genetische analyse heeft aangetoond dat *Phytophthora* niet verwant is met echte schimmels, maar wel met algen. Daarom wordt *Phytophthora* aangeduid als pseudoschimmel. Het geslacht *Phytophthora* bevat primaire plantpathogenen die in staat zijn volkomen gezonde planten en bomen te infecteren en te gronde te richten.

De reputatie van *Phytophthora* als plantpathogeen werd gevestigd door de ontdekking van *Phytophthora infestans*, die rond 1860 berucht werd als veroorzaker van de aardappelziekte. Als gevolg van deze ziekte was er een grote hongersnood in Ierland. Dit was in heel Europa de aanleiding voor de oprichting van nationale plantenziektekundige diensten. Het is nu

bekend dat *Phytophthora infestans* in Europa terechtgekomen is met een scheepslading aardappelen uit Mexico. Een introductie, aan het eind van de vorige eeuw, van een andere *Phytophthora* soort (*P. ramorum*) in Californië heeft geleid tot massale afsterving van diverse boomsoorten in dat gebied.

Het succes van beide *Phytophthora* soorten hangt ten nauwste samen met de verspreiding van sporangia (blaasjes die sporen bevatten; foto 2) door de lucht. Als sporangia op een waardplant terecht komen, wordt deze geïnfecteerd. Zo kunnen waardplanten tot ca 20 km verwijderd van de bron ziek worden.

Sommige soorten hebben een brede waardplantenreeks bijv. *Phytophthora ramorum* meer dan 100, terwijl anderen maar één waardplant kennen bijv. *Phytoph-*

thorae fragariae, die alleen maar aardbei aantast.

Het aantal beschreven *Phytophthora* soorten was ca 60 in 1996, maar is daarna in korte tijd explosief toegenomen tot ca 100 in 2010 (Ersek & Ribeiro, 2010) en sindsdien werden alweer nieuwe soorten gevonden en beschreven. De ontdekking van nieuwe soorten is voor een deel te verklaren door intensiever verspreidingsonderzoek. Ook het toenemend gebruik van moleculaire technieken om soorten van elkaar te onderscheiden draagt bij aan de vondst van meer *Phytophthora* soorten.

Verspreiding en invloed op gewassen

Via de internationale handel in planten worden behalve deze planten, ook hun ziekteverwekkers over de wereld verspreid. In eerste instantie worden daarom vooral cultuurgewassen aangetast. Van daaruit kunnen sommige van deze ziekteverwekkers zich ook vestigen in ecosystemen, en daar ook inheemse soorten aantasten. Een voorbeeld hiervan is de hiervoor genoemde *Phytophthora ramorum*. Dit invasieve organisme werd voor het eerst ontdekt in Nederland en Duitsland in 1993 op *Rhododendron* en *Viburnum*, maar wordt nu in heel Europa aangetroffen (Werres et al., 2001). De schade in ecosystemen is in

Europa tot nu toe beperkt; de grootste aangerichte schade is vastgesteld in Groot-Britannië waar veel Rhododendrons zijn aangetast en Japanse lariksen (*Larix kaempferi*) in groten getale afsterven (Brasier & Webber, 2010). Zowel Rhododendrons als Japanse lariksen komen weliswaar veel voor in het landschap in Groot-Britannië, maar ze zijn van oorsprong exoten en ze hebben geen ecologische betekenis, d.w.z. ze maken geen deel uit van ecologische ketens. In Noord-Amerika daarentegen tast *Phytophthora ramorum* wel inheemse soorten aan. Met name in Californië waar volwassen eiken massaal te gronde gaan. Vandaar de naam 'Sudden Oak Death' (Rizzo et al., 2002). Waar *Phytophthora ramorum* oorspronkelijk vandaan komt, is nog steeds niet opgehelderd. Een ander voorbeeld is *Phytophthora cinnamomi* die met name in Australië een bedreiging is voor lokale ecosystemen (Cahill et al., 2008). Deze soort is aanwezig in Noord-Europa, maar heeft daar tot nu toe niet voor grote problemen in natuurlijke ecosystemen gezorgd. In het mediterrane gebied echter is *Phytophthora cinnamomi* verantwoordelijk voor de afsterving van eiken (Brasier, 1996). Het is niet zeldzaam dat *Phytophthora* aanwezig is in de grond, terwijl volwassen bomen in de buurt geen ziekteverschijnselen vertonen. Dit is bijvoorbeeld het geval bij *Phytophthora multivora* in Europa en *Phytophthora pini* in Amerika, in alle gevallen rondom volwassen eikenbomen (Balci & Halmschlager, 2003; Balci et al., 2007). Pathogeniteitsproeven met deze isolaten toonden aan dat één jaar oude kiemplanten van eiken wel ziektesymptomen ontwikkelden en afstierven (Balci et al., 2008). Deze selectieve pathogeniteit heeft niet alleen negatieve effecten. Door het doden van ontkiemende eikels in de onmiddellijke omgeving van volwassen bomen blijven meer voedingsstoffen beschikbaar voor de volwassen bomen. Bovendien wordt op deze manier het ontstaan van monocultures gebroken en wordt de diversiteit bevorderd.

Ontstaan van nieuwe ziektes door hybridisatie

Een relatief nieuw beschreven fenomeen in *Phytophthora* is hybridisatie, kruising tussen verschillende *Phytophthora* soorten. Hybriden kunnen alleen worden aangetoond met moleculaire methoden, bijv. enzym analyse en gensequentie analyse. Bij enzym analyse produceren de hybriden

enzymatronen die een combinatie zijn van de patronen van beide ouders. Bij sequentie analyse vertonen de hybriden dubbele basen op die posities waar de ouders een verschillende sequentie hebben (fig. 1A, B). Een morfologische indicatie voor hybridisatie is de aanwezigheid van grote aantallen geaborteerde oösporen (structuren die het resultaat zijn van seksuele bevruchting) (foto 1A). Dit wijst erop dat het seksuele systeem waarschijnlijk niet functioneel is. Ook enkele ogenschijnlijk gezonde oöspore is soms aanwezig (foto 1B). Bij de hybride *Phytophthora alni* bleken ogenschijnlijk gezonde oösporen niet kiemkrachtig te zijn. Hybride *Phytophthora*'s kunnen zich klonaal verspreiden via sporangia die genetisch identiek zijn aan de hybriden zelf. Dit in tegenstelling tot bijv. muilezels (een hybride tussen een paard en een ezel), die zich niet kunnen voortplanten en zich niet klonaal kunnen verspreiden. Bovendien zijn ze polyploid, zodat mutaties gebufferd zijn door meerdere goede genen, resulterend in een hoge 'hybrid fitness'. Kortom, ze zijn zeer vitaal en sterven niet uit. De eerste natuurlijke hybride werd ontdekt

in 1998. Het betrof een hybride tussen *Phytophthora nicotianae*, een van oorsprong tropische soort die in Nederland uitsluitend in kassen voorkomt, en *Phytophthora cactorum*, die van nature in Europa voorkomt (Man in 't Veld et al., 1998). In Europa is deze hybride geïsoleerd van diverse waardplanten met basis- en wortelrot. In Peru en Taiwan is deze hybride verantwoordelijk voor massale sterfte van Loquat bomen (*Eriobotrya japonica*) (Hurtado-Gonzales et al., 2009). De meest 'succesvolle' hybride in Europese ecosystemen is *Phytophthora alni* (Brasier et al., 2004). Sinds de negentiger jaren van de vorige eeuw zijn tienduizenden elzen (*Alnus glutinosa*) in heel Europa afgestorven door *Phytophthora alni*, vooral langs rivieroeveren en in deltagebieden van grote rivieren. *Phytophthora alni* is een agressieve hybride, terwijl beide ouders op zichzelf zwakke pathogenen zijn en soms worden aangetroffen in de grond zonder aanwijsbare schade voor volwassen elzen. Zowel de ouders als de hybride *Phytophthora alni* hebben uitsluitend elzen als waardplant. In dit geval heeft hybridisatie niet tot uitbreiding van de waardplantreks

Fig. 1A. Enzymatronen van hybriden: enzymen zijn eiwitten die je kunt scheiden met gel-electrophorese en eiwitten worden gecodeerd door genen. Verschillende *Phytophthora* soorten bezitten verschillende genen; hybriden bevatten genen en dus enzymen van beide ouders (2). De middelste band is het resultaat van interactie tussen de twee ouderlijke enzymen (1 en 3).

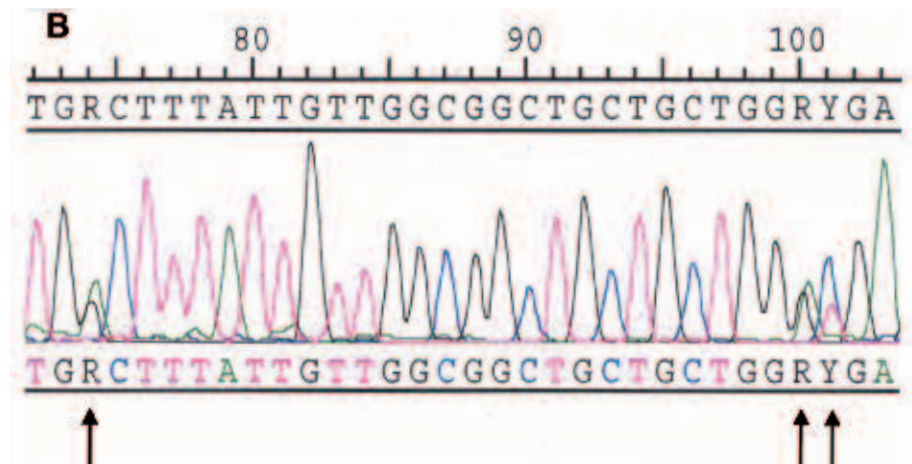
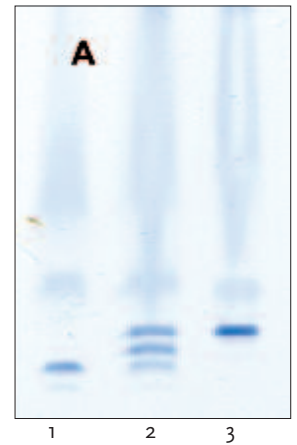


Fig. 1B. Sequentie van een gen dat codeert voor ribosomen (celorganellen die een belangrijke rol spelen bij de eiwitbiosynthese), met dubbele basen op die posities (zie pijlen) waar beide ouders verschillen in sequentie. De cijfers geven de positie op het gen weer. De basen Adenine (A), Thymin (T), Guanine (G) en Cytosine (C) zijn de bouwstenen van DNA. Dubbele basen: R = A+G; Y=C+T.

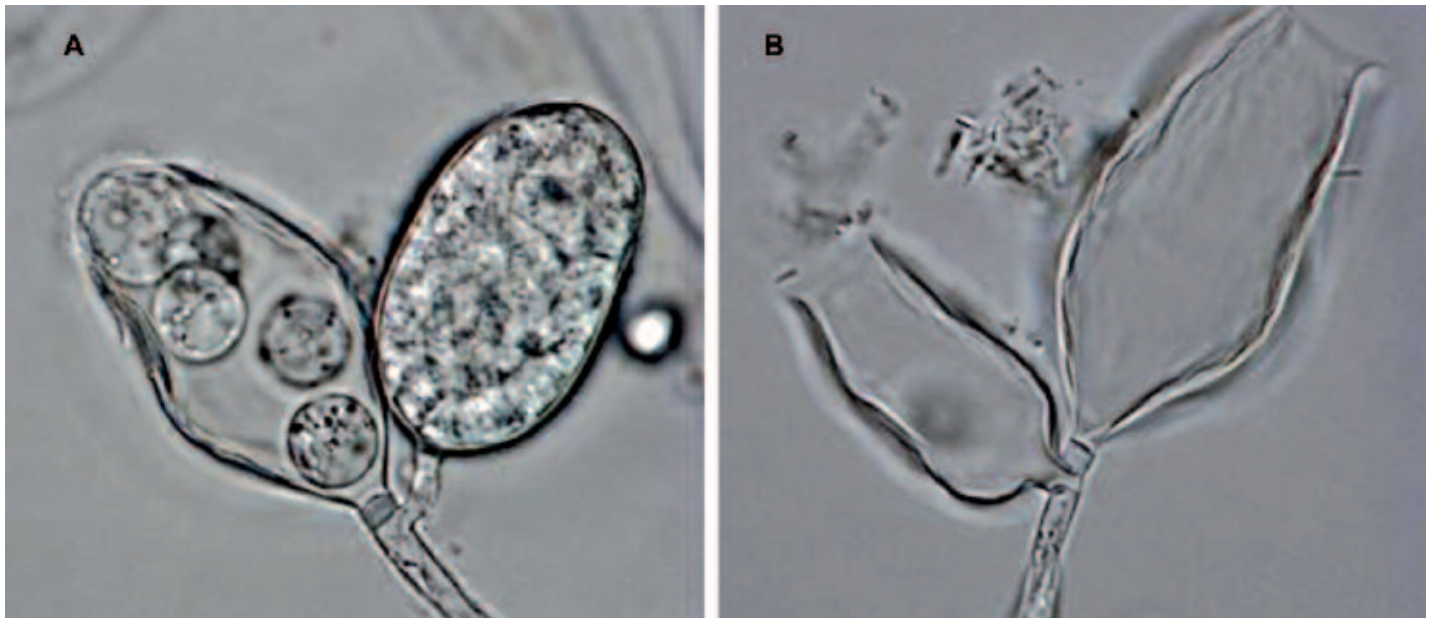


Foto 2. Tweeling sporangia van *Phytophthora gemini* met zwemsporen (A) en na afgifte zwemsporen aan de omgeving (B). Dimensies sporangia: ca 77 x 46 micrometer.

geleid, maar uitsluitend tot een veel agressievere soort, waarschijnlijk door een nieuwe combinatie van de ouderlijke virulentiegenen.

Onlangs is aangetoond dat ook *Phytophthora andina*, in Colombia, Peru en Ecuador geïsoleerd uit vruchtdragende en wilde *Solanaceae*, een hybride is van *Phytophthora infestans* met een nog onbekende andere ouder (Goss et al., 2011).

Soms is een invasieve soort helemaal niet succesvol en slaagt deze er niet in zich te vestigen, maar is hybridisatie met een lokale soort wel succesvol. *Phytophthora hedraiaandra* is maar een enkele maal aangetroffen in Nederland, maar hybriden tussen deze soort en de lokale soort *Phytophthora cactorum* zijn in Nederland en België veelvuldig op met name zieke Rhododendron planten gevonden (Man in 't Veld et al., 2007). Deze hybride bleek bovendien in staat waardplanten te infecteren die niet als waardplanten van elk van beide ouders bekend zijn.

De mogelijke rol van *Phytophthora* in de achteruitgang van zeegraspopulaties

Sinds de jaren dertig van de vorige eeuw zijn zeegrasvelden in de delta en in het waddengebied in aantal en areaal hard achteruitgegaan. Een eeuw geleden was er nog ongeveer 15000 hectare in het Nederlandse deel van de Waddenzee; daar is nu nog maar 10 hectare van over. Er is heel wat gespeculeerd over de oorzaken van deze achteruitgang: het aanleggen van dammen zou zeestromingen nadelig hebben gewijzigd, de toename van de verontreiniging van het rivierwater door toxische chemicaliën van de industrie en het uitspoelen van meststoffen in de rivieren, zouden allemaal een rol gespeeld kunnen hebben. Ook van de slijmschimmel *Labyrinthula* wordt verondersteld dat deze één

van de oorzaken zou kunnen zijn geweest. Pathogeniteitsproeven met reïncultures van *Labyrinthula* op zeegras zijn in Nederland echter nooit uitgevoerd.

Recente vondsten van *Phytophthora* soorten op Groot zeegras (*Zostera marina*; kader 1) in de Zeeuwse delta werpen de vraag op, of deze organismen een rol hebben gespeeld in de sterke achteruitgang van zeegraspopulaties in de delta en het waddengebied.

In 1985 en 1999 werd *Phytophthora* geïsoleerd uit zieke plantendelen en rottende zaden van *Zostera marina*, afkomstig van twee verschillende locaties in de Grevelingen op ongeveer 25 kilometer van elkaar. Over het voorkomen van deze soorten in de Waddenzee is niets bekend. Maar gezien de noordelijke stroming langs de Noordzeekust is hun aanwezigheid daar wel te verwachten. Ook de populatie van Klein zeegras (*Zostera noltii*) is sterk achteruitgegaan; mogelijk hebben de gevonden *Phytophthora* soorten ook daarbij een rol gespeeld.

Genetische analyse leert dat de in de Grevelingen gevonden *Phytophthora*'s behoren tot twee verschillende soorten. De ene soort is geïdentificeerd als *Phytophthora inundata*, een soort die bekend is van zoet-

watergebieden in heel Europa, maar nooit eerder was aangetroffen in zoutwaterplanten. De tweede soort is nieuw voor de wetenschap en is onlangs wetenschappelijk beschreven onder de naam *Phytophthora gemini* (Man in 't Veld et al., 2011). Moleculaire analyse van deze soort heeft aangetoond dat het hier geen kruising (hybride) betreft.

Deze soort is waarschijnlijk seksueel steriel en heeft als opvallend morfologisch kenmerk twee sporangia op één schimmeldraad (foto 2A, B), waar de soort naar genoemd is (geminus = tweeling). Deze sporangia bevatten asexueel gevormde zwemsporen die, na afgifte aan de omgeving (foto 2B), kiemen en elk op zich een nieuwe infectie kunnen veroorzaken. Het is mogelijk dat deze soort tot nu toe aan de aandacht is ontsnapt, omdat het mariene milieu in Nederland in dit opzicht niet diepgaand onderzocht is. Wel is bekend van het deltagebied dat *Phytophthora gemini* in ieder geval continu aanwezig is geweest gedurende minstens veertien jaar en *Phytophthora inundata* gedurende ten minste twintig jaar (Man in 't Veld et al., 2011).

Een andere mogelijkheid is dat het een invasieve soort betreft.

Kader 1. Groot zeegras

Zostera marina is een zogenaamde 'key ecological species' in het deltagebied en in de Waddenzee. Het vormt dichte zeegrasmaten en vertegenwoordigt een ecologisch systeem op zichzelf. Zeegrasvelden bieden vissen, zoals de Zeestekelbaars (*Spinachia spinachia*), Haring (*Clupea harengus*) en Geep (*Belone belone*), de gelegenheid hun eieren af te zetten. Verder biedt zeegras beschutting aan jonge visjes en fungeert het als voedselbron voor zwanen, ganzen en eenden. Zeegrassen dragen bovendien bij aan de stabiliteit van de bodem, doordat ze sediment vasthouden en de golfslag dempen (foto 3).

Volgens Mayr (1942) kunnen twee soorten niet divergeren in dezelfde niche in dezelfde geografische regio op dezelfde waardplant. Dat zou in dit geval betekenen dat ofwel *Phytophthora gemini* ofwel *Phytophthora inundata* geïntroduceerd moet zijn. *Phytophthora inundata* is in verschillende Europese landen aangetroffen; dus is *Phytophthora gemini* waarschijnlijk een geïntroduceerde soort. Het kan zijn dat een nieuw geïntroduceerde soort is meegebracht door bijvoorbeeld ballastwater in schepen.



Foto 3. Zeegrasveld in St. Malo (foto: Marieke van Katwijk).

Slotwoord

Hoewel *Phytophthora* vooral bekend is als verwekker van plantenziekten in landbouwgewassen, kunnen soorten uit dit geslacht ook grote invloed hebben op natuurlijke ecosystemen. Gezien de reputatie van *Phytophthora* soorten als primaire plantenziekteverwekkers, zouden deze organismen een rol gespeeld kunnen hebben in de achteruitgang van de zeegraspopulaties in de vorige eeuw.

Een micro-organisme is echter pas bewezen ziekteverwekkend als de desbetreffende plant ook inderdaad na toediening van het micro-organisme de ziekte ontwikkelt (postulaten van Koch). Dergelijk onderzoek is aan deze nieuwe *Phytophthora*'s nog niet uitgevoerd. Deze pathogeniteits-

proeven zouden op korte termijn uitgevoerd moeten worden. Mocht blijken dat één of beide *Phytophthora* soorten van invloed zijn op de vitaliteit van zeegraspopulaties dan is dat een factor waarmee rekening moet worden gehouden bij de herintroductie van zeegras in zowel de Waddenzee als het deltagebied.

Literatuur

Balci, Y. & E. Halmschlager, 2003. Incidence of *Phytophthora* species in oak forests in Austria and their possible involvement in oak decline.

Forest Pathology 33: 157-174.

Balci, Y., S. Balci, J. Eggers, W.L. Macdonald, J. Juzwik, R.P. Long & K.W. Gottschalk, 2007. *Phytophthora* spp. associated with forest soils in Eastern and North-central U.S. oak ecosystems. Plant Disease 91: 705-710.

Balci, Y., S. Balci, W.L. Macdonald & K.W. Gottschalk, 2008. Relative susceptibility of oaks to seven species of *Phytophthora* isolated from oak forest soils. Forest Pathology 38(6): 394-409.

Brasier, C.M., 1996. *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. Annals of Forest Science 53: 347-358.

Brasier, C.M., S. Kirk, J. Delcan, D.E.L. Cooke, T. Jung & W.A. Man in 't Veld, 2004.

Phytophthora alni sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on Alnus trees. Mycological Research 108: 1172-1184.

Brasier C.M. & J. Webber, 2010. Sudden larch death. Nature 466: 824-825.

Cahill, D.M., J.E. Rookes, B.A. Wilson, L. Gibson & K.L. McDougall, 2008. *Phytophthora cinnamomi* and Australia's biodiversity: impacts, predictions and progress towards control. Australian Journal of Botany 56: 279-310.

Ersek, T. & O.K. Ribeiro, 2010. Mini review article: An annotated list of new *Phytophthora* species described post 1996. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 45: 251-266.

Goss, E.M., M.E. Cardenas, K. Myers, G.A. Forbes, W.E. Fry, S. Restrepo & N.J. Grunwald, 2011. The plant pathogen *Phytophthora andina* emerged via hybridization of an unknown *Phytophthora* species and the Irish potato famine pathogen, *P. infestans*. PLoS ONE 6(9): e24543. doi:10.1371.

Hurtado-Gonzales, O.P., L.M. Aragon-Caballero, J.G. Flores-Torres, W.A. Man in 't Veld & K.H. Lamour, 2009. Molecular comparison of natural hybrids of *Phytophthora nicotianae* and *P. cactorum* infecting loquat trees in Peru and Taiwan. Mycologia 101(4): 496-502.

Man in 't Veld, W.A., W.J. Veenbaas-Rijks, E. Ilieva, A.W.A.M. de Cock, P.J.M. Bonants & R. Pieters, 1998. Natural hybrids of *Phytophthora nicotianae* and *Phytophthora cactorum* demonstrated by isozyme analysis and random amplified polymorphic DNA. Phytopathology 88: 922-929.

Man in 't Veld, W.A., A.W.A.M. de Cock & R.C. Summerbell, 2007. Natural hybrids of resident and introduced *Phytophthora* species proliferating on new hosts. European Journal of Plant Pathology 117: 25-33.

Man in 't Veld, W.A., K.C.H.M. Rosendahl, H. Brouwer, & A.W.A.M. de Cock, 2011. *Phytophthora gemini* sp. nov., a new species isolated from the halophilic plant *Zostera marina* in the Netherlands. Fungal Biology 115(8): 724-32.

Mayr, E., 1942. Systematics and the origin of species. Colombia University Press, New York.

Rizzo, D.M., M. Garbelotto, J.M. Davidson, G.W. Slaughter & S.T. Koike, 2002. *Phytophthora ramorum* as the cause of extensive mortality of *Quercus* spp. and *Lithocarpus densiflorus* in California. Plant Disease 86: 205-214.

Werres, S., R. Marwitz, W.A. Man in 't Veld, A.W.A.M de Cock, P.J.M. Bonants, M. de Weerd, K. Themann & E. Ilieva, 2001. *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*. Mycological Research 105: 1155-1165.

Summary

Exotic and hybrid *Phytophthora* species, possible threats for natural ecosystems

Invasive pathogens can have a massive impact on populations of species. They can lead to big changes in crops and vegetations.

Phytophthora species are notorious plant pathogens. Past introductions of species from this genus into new areas have lead to extensive damage in crops and vegetations. Recently, an unknown *Phytophthora* species was discovered in seagrass. The possible role of this *Phytophthora* species in the decline of *Zostera marina* and *Z. noltii* (seagrass) in The Netherlands is discussed.

Drs. W.A. Man in 't Veld & ing. J.P. Meffert
Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit,
Divisie Plant
Geertjesweg 15
6700 HC Wageningen

e-mail: w.a.man.in.t.veld@minlnv.nl