

EEN BLADVLEKKENZIEKTE BIJ LIGUSTER, VEROORZAAKT
DOOR *CERCOSPORA LIGUSTRINA* NOV. SPEC.¹

*With a summary: A leafspot disease of privet, caused by Cercospora
ligustrina nov. spec.*

DOOR

G. H. BOEREMA

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

INLEIDING

Sedert de invoering van de veldkeuring op houtige siergewassen in 1956 is gebleken, dat op diverse kwekerijen in Nederland bij allerlei ligustersoorten een tamelijk ernstige bladvlekkenziekte voorkomt. De aantasting treedt vooral op onder vochtige omstandigheden.

Tot nu toe is deze ziekte waargenomen bij *Ligustrum ovalifolium* Hassk., *Ligustrum vicaryi* (Beckett) R., *Ligustrum obtusifolium* S. & Z. var. *regelianum* (Khne.) R., *Ligustrum vulgare* L. en *Ligustrum vulgare* L. cv. 'Lodense' (Jackson & Perkins).

In deze publikatie zijn de resultaten van het op de Plantenziektenkundige Dienst ingestelde diagnostische onderzoek naar deze ziekte vastgelegd.

HET ZIEKTEBEELD

Bij *Ligustrum ovalifolium* (fig. 1A, B, C) is de ziekte gekenmerkt door ronde vlekjes, 2–7 mm in doorsnede, met een licht grijsbruin gekleurd centrum en één of meer donkere, paarsbruine, concentrische ringen. Deze vlekken zijn aan beide zijden van het blad te zien. Bij jonge aantastingen is het omgevende bladweefsel geel gekleurd, terwijl bij oudere aantastingen de genoemde vlekjes veelal zijn omgeven door een onregelmatige, brede, min of meer door de nerven begrensde zone van donkerbruin verkleurd weefsel, waardoor de diameter van de vlekken 1–1½ cm groot kan worden. Soms vallen de aangetaste blad-delen eruit (hagelschot-symptomen). In het centrum van de vlekjes is bij rijpheid aan de onderzijde grijs schimmelpuis te zien; bij oudere aantastingen ontwikkelt zich soms ook wat onopvallend schimmelweefsel aan de bovenzijde van de vlekjes.

De bladvlekken bij *Ligustrum vicaryi* en *Ligustrum obtusifolium* var. *regelianum* (fig. 1D) vertonen veel overeenkomst met die op *Ligustrum ovalifolium*. De brede zone van bruin verkleurd weefsel komt hier minder vaak voor, waardoor de oude vlekken regelmatig van vorm lijken. Rondom de vlekken is het weefsel bij deze ligustersoorten vaak lichtpaars verkleurd. Ook hier vindt men aanvankelijk alleen schimmelpuis aan de onderzijde van de vlekken, terwijl zich later aan de bovenzijde ook wat onopvallend schimmelpuis kan ontwikkelen.

¹ Aangenomen voor publikatie 7 nov. 1961.

Bij *Ligustrum vulgare* (fig. 1E) zijn de bladvlekken kleiner dan bij bovengenoemde soorten, 1–5 mm in diameter en steeds scherp begrensd door een zeer donkere, paarsbruine rand. De afzonderlijke vlekjes zijn hier zeer regelmatig van vorm; ze kunnen bij een zware aantasting in elkaar overgaan, waardoor grote, onregelmatige vlekken ontstaan. Aanvankelijk ziet men eveneens bij deze liguster alleen aan de onderzijde van de vlekken grijs schimmelpuis; later ontwikkelt zich dit ook aan de bovenzijde.

De bladvlekken bij *Ligustrum vulgare* cv. 'Lodense' (fig. 1F, G) verschillen van die bij *Ligustrum vulgare* doordat ze vaak groter zijn en minder scherp begrensd. Bij deze liguster worden zowel aan de bovenzijde als aan de onderzijde van de vlekken massaal sporendragers met sporen gevormd. Het bladweefsel rondom de vlekken is evenals bij *Ligustrum vulgare* vaak lichtpaars gekleurd. Zowel bij de gewone *Ligustrum vulgare* als bij de cultivar 'Lodense' is het resultaat van een zware aantasting een ernstige bladval.

Bij alle genoemde ligustersoorten kan de aantasting in alle stadia van ontwikkeling gedurende het gehele groeiseizoen worden waargenomen.

DE ZIEKTEVERWEKKER

Microscopische kenmerken

Het schimmelpuis aan de onderzijde van de bladvlekken (fig. 1c) bestaat bij alle genoemde ligustersoorten uit sporen, die apart of in kettingen zijn gevormd op de top van de onvertakte sporendragers, welke in groepjes of bundels zijn gegroeid uit celvormige myceliumwoekeringen.

Deze myceliumwoekeringen, z.g. stromata, zijn grijsbruin van kleur en hebben zich meestal ontwikkeld in de ademholten onder de huidmondjes, zodat de sporendragers in groepjes uit de huidmondjes te voorschijn komen (fig. 2A). Soms zijn ze echter uitgroeid tot zuilvormige lichaampjes, $25\text{--}100 \times 35\text{--}100 \mu$ (fig. 2B).

De sporendragers (fig. 2c), aanvankelijk hyalien en later grijsbruin van kleur, hebben 1–3 (5) dwarswanden (septen); ze variëren sterk in afmetingen: $3\text{--}6 \times 25\text{--}75 \mu$. Sommige sporendragers, in het bijzonder de grote, vertonen knikken doordat zij, nadat op de top een spore was gevormd, min of meer zijdelings zijn doorgegroeid. De meeste sporendragers zijn echter recht of iets gebogen; het zijdelings doorgroeien is hier achterwege gebleven, zodat op de top van deze dragers zich veelal een hele ketting van sporen bevindt.

De sporen (fig. 2c) zijn hyalien tot olijfkleurig bruin, min of meer cilindrisch van vorm (soms min of meer omgekeerd knotsvormig), recht of gebogen (soms golfvormig), in afmetingen variërend, $3\text{--}6 \times 35\text{--}100 \mu$, met 1–3 (5) septen. De basis van de sporen is afgeplat of afgeknot; de top is bij de sporen die apart zijn gevormd afgerond en bij de in kettingen gevormde sporen afgeplat of afgeknot.

Het schimmelpuis aan de bovenzijde van de bladvlekken (fig. 1G), voor zover aanwezig, geeft hetzelfde beeld als dat aan de onderzijde van het blad. De zuilvormige stromata zijn hier vaak bijzonder groot.

Isolaties en inoculaties

Daar het bovenbeschreven microscopische beeld van de ziekteveroorzaker geldt voor alle genoemde ligustersoorten, was het duidelijk, dat hier zo goed

als zeker slechts één bepaalde schimmel in het spel is. Om dit te verifiëren is van de verschillende ligustersoorten de schimmel voor vergelijking in rein-cultuur gebracht en zijn vervolgens een aantal vergelijkende inoculatieproeven uitgevoerd.

In cultuur op verschillende voedingsbodems (kersagar, havermoutagar en moutagar) toonden alle isolaties, zoals te verwachten was, zich volkomen identiek. Op al deze media worden betrekkelijk langzaam compacte, bolvormige, grijsbruine schimmelkussentjes gevormd, die bestaan uit dichte mycelium-woekeringen met uitstralende hyfen, die als sporendragers gaan fungeren. Deze sporendragers, die in diameter overeenkomen met de sporendragers in vivo, zijn niet goed te onderscheiden van gewone hyfen, zodat de grens tussen hyfe en sporendrager niet goed te bepalen is. De hyfen en de sporendragers hebben op alle voedingsbodems vele min of meer bolvormige cellen, iets wat in vivo niet werd waargenomen. De sporen worden, evenals in vivo, of apart gevormd op de top van de sporendrager, waarna deze laatste min of meer zijdelings doorgroeit, of ze ontstaan in hele kettingen als het zijdelings doorgroeien van de sporendrager achterwege blijft. De sporen zijn in vitro van dezelfde vorm en afmetingen als die op het levende materiaal.

De inoculatieproeven zijn uitgevoerd met sporensuspensies van de verschillende isolaties (dus van 5 verschillende waardplanten afkomstig), waarbij steeds is uitgegaan van goed sporulerende cultures op moutagar. De sporensuspensies werden op het onbeschadigde blad van geheel gezonde planten gebracht met behulp van een fijne verstuiver. Op deze wijze zijn in de kas met elke suspensie inoculaties uitgevoerd op alle in de inleiding genoemde ligustersoorten. Deze inoculatieproeven bevestigden ook geheel dat hier sprake is van één en dezelfde schimmel, daar de verschillende isolaties op alle genoemde ligustersoorten de voor de betreffende plant typische bladvlekken veroorzaakten. De eerste ziektesymptomen, kleine, onopvallende, paarsbruine vlekjes, werden daarbij steeds waargenomen 7 tot 10 dagen na de inoculatie. Tenslotte kan nog worden opgemerkt, dat er bij de verschillende ligustersoorten geen verschil in gevoeligheid tussen oud en jong blad werd geconstateerd.

Identificatie

Uit de beschreven kenmerken kan men afleiden dat hier sprake is van een *Cercospora*-soort. De vorming van sporen in hele kettingen is weliswaar niet typerend voor een *Cercospora*, maar komt toch bij de meeste soorten voor (CHUPP, 1953).

Het voorstel van SOLHEIM (SOLHEIM & STEVENS, 1931) om de *Cercospora*'s die de sporen in kettingen vormen onder te brengen in een apart geslacht *Ragnhildiana*, is, voorzover kon worden nagegaan, door geen enkele onderzoeker gevolgd. Dit is ook begrijpelijk, daar CHUPP (1953) heeft vastgesteld dat de vorming van sporen in kettingen sterk afhankelijk is van vochtigheid en temperatuur. Dit houdt in, dat bij een *Cercospora* de beide typen van sporevormingen, enkelvoudig en in kettingen, naast elkaar kunnen voorkomen, wat dus ook bij de hier betreffende soort het geval is.

Identificatie van de schimmel met één van de beschreven *Cercospora*'s die op *Ligustrum* zijn gevonden, bleek echter niet mogelijk te zijn. In de monografie over het geslacht *Cercospora* van CHUPP (1953) worden drie op liguster parasiterende soorten genoemd. De alleen in de Verenigde Staten van Noord-

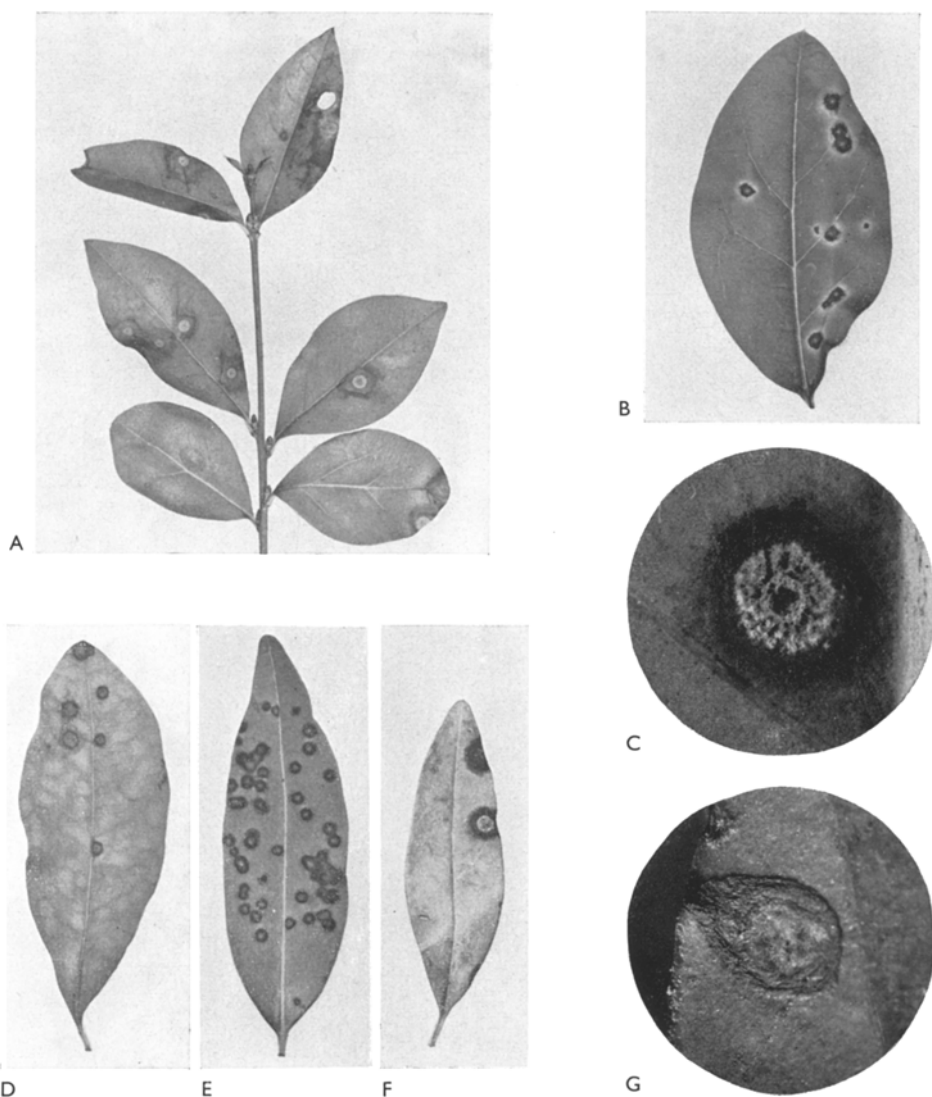


FIG. 1. Het door *Cercospora ligustrina* veroorzaakte ziektebeeld.

- A, B, C. *Ligustrum ovalifolium*. Resp. oude aantasting ($2/3 \times$), jonge aantasting en microfoto van schimmelpuis aan onderzijde van bladvlak bij jonge aantasting ($15 \times$).
 D. *Ligustrum obtusifolium* var. *regelianum*. Jonge aantasting.
 E. *Ligustrum vulgare*. Jonge aantasting.
 F, G. *Ligustrum vulgare* cv. 'Lodense'. Resp. jonge aantasting en microfoto van schimmelpuis aan bovenzijde van oude bladvlak ($15 \times$).

The symptoms caused by Cercospora ligustrina.

- A, B, C. *Ligustrum ovalifolium*. A. Old attack, spots greyish-brown with one or more purple-brown rings, surrounded by vein-limited wide zone of brown discoloured leaf tissue ($\times 2/3$). B. Recent attack, spots with more or less purple border and greyish-brown centre; surrounding leaf tissue yellow. C. Recent attack, fructifications on lower surface of leafspot ($\times 15$).
 D. *Ligustrum obtusifolium* var. *regelianum*. Recent attack, greyish-brown spots with one or more purple-brown concentric rings, surrounding leaf tissue discoloured slightly purple.
 E. *Ligustrum vulgare*. Recent attack, many small spots with dark purple border and grey centre; surrounding leaf tissue often discoloured light purple.
 F, G. *Ligustrum vulgare* cv. 'Lodense'. Old attack. F. Spots bordered by relatively broad purple ring. G. Fructifications on upper surface of spot ($\times 15$).

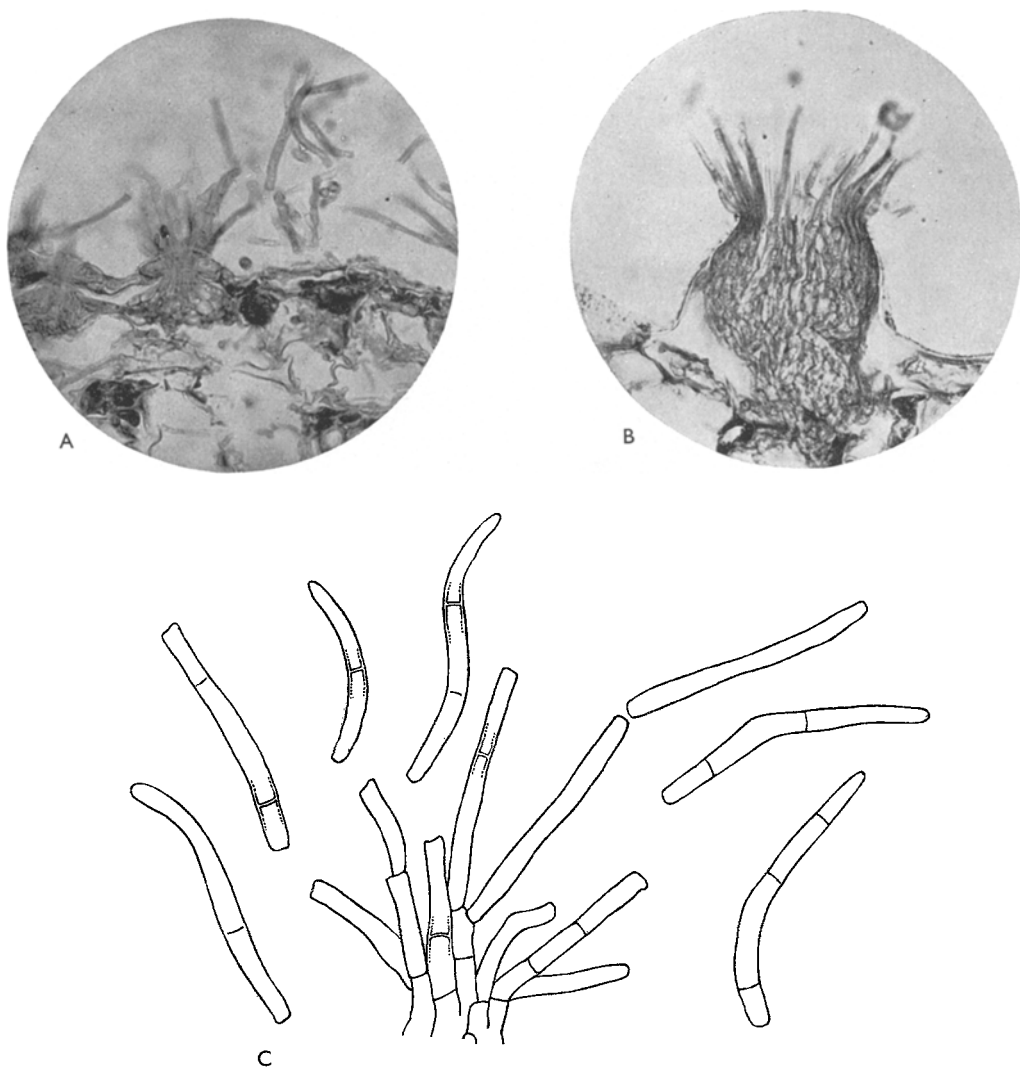


FIG. 2. De fructificaties van *Cercospora ligustrina*.

- A, B. Microtoomcoupes, welke een duidelijk beeld geven van de stromata en de daaruit groeiende sporendragers.
 Gekleurd met Heidenhahn's haematoxiline (ca. 325 $\times$).
 C. Tekening van een groepje sporendragers en verschillende typen sporen (ca. 800 $\times$).

The fructifications of Cercospora ligustrina.

- A, B. *Microtome sections, giving a clear picture of the stromata and the conidiophores, arising from them.*
Stained with Heidenhahn's haematoxinil ($\times$ ca. 325).
 C. *Drawing of a group of conidiophores and some types of spores ($\times$ ca. 800).*

Amerika waargenomen *Cercospora adusta* Heald & Wolf veroorzaakt op *Ligustrum ovalifolium* precies dezelfde bladplekken als hier in Nederland op deze plant werd waargenomen. *Cercospora adusta*, die niet van andere ligustersoorten bekend is, heeft echter veel grotere, naaldvormige sporen met vele septen en is derhalve beslist niet identiek met de hier optredende *Cercospora*. Dit laatste geldt ook voor de als *Cercospora ligustricola* Tai beschreven schimmel, in China gevonden op bladeren van *Ligustrum lucidum* Ait. Deze schimmel heeft namelijk veel bredere sporen en sporendragers en is zelfs waarschijnlijk helemaal geen *Cercospora*.

De beschrijving die CHUPP (1953) geeft van *Cercospora ligustri* Roum., welke schimmel zowel in Europa (Frankrijk) als in Noord-Amerika (Mississippi en Texas) en Azië (Japan) zou voorkomen op *Ligustrum vulgare* en *Ligustrum vulgare* cv. 'Lodense', komt wel enigszins overeen met de bovengegeven beschrijving van de in Nederland gevonden *Cercospora*. De sporen en sporendragers van *Cercospora ligustri* zijn echter kleiner, volgens de originele beschrijving van ROUMEGUÈRE (1883): $3-3,2 \times 35-40 \mu$, volgens CHUPP (1953): $3-6 \times 20-65 \mu$ (bij de in Nederland gevonden *Cercospora* $3-6 \times 35-100 \mu$; zie onder het ziektebeeld). Bovendien zou *Cercospora ligustri* voornamelijk aan de bovenzijde van de bladeren sporuleren (CHUPP, 1953), terwijl ROUMEGUÈRE (1883) zelfs alleen spreekt over vlekken aan de bovenzijde van de bladeren. Dat dit laatste inderdaad geldt voor *Cercospora ligustri*, bleek bij onderzoek van een syntype van deze schimmel (ROUMEGUÈRE's Fungi Gallici exsiccati no. 2521), aanwezig in het Rijksherbarium te Leiden. Het ene ligusterblad, waaruit dit exsiccaat bestaat, vertoonde nl. aan de bovenzijde vele kleine, ronde of ovale vlekjes, 1-3 mm in diameter, die aan de onderzijde zo goed als niet te herkennen waren. Fructificaties van de schimmel waren op dit exsiccaat helaas niet aanwezig, wat aansluit bij de waarnemingen van CHUPP (1953), die uit diverse andere herbaria dit syntype onderzocht en ook nergens fructificaties vond.

Hoewel uit het bovenstaande reeds min of meer zeker kan worden geconcludeerd, dat de Nederlandse *Cercospora* niet identiek is met *Cercospora ligustri*, werd nog de medewerking van Prof. CHUPP ingeroepen voor vergelijking van de schimmel met de in Amerika voorkomende *Cercospora ligustri*.

Bij het begin van het onderzoek over deze ziekte in 1959 had Mevr. Dr. M. B. SCHOL-SCHWARZ van het door ons geraadpleegde Centraalbureau voor Schimmelcultures te Baarn reeds een cultuur van de schimmel naar Prof. CHUPP gezonden. Deze laatste had toen geconcludeerd dat de schimmel in cultuur, ondanks de feitelijk te grote sporen, identiek was met *Cercospora ligustri*. Na toezending van aangetast bladmateriaal herriep Prof. CHUPP evenwel deze determinatie en stelde hij in overeenstemming met onze conclusie vast, dat het hier een nog niet beschreven soort betreft. Derhalve wordt de in Nederland op diverse ligustersoorten gevonden *Cercospora* hier beschreven als een nieuwe soort:

Cercospora ligustrina Boerema spec. nov.

Maculae, orbiculares vel irregulares, 1-7 mm diam., brunneae, purpureo-marginatae, zonula lata purpurea vel flavida cinctae, caespituli potissime hypophylli; stromata fusca, minuta, in cavitate stomatis, vel magna, columnaria $25-100 \times 35-100 \mu$; conidiophora orientia e stromatis, laxae vel densiuscule fasciculatae, simplicia, griseo fusca, 1-3 septata,

3–6 × 25–75 μ ; conidia primo hyalina, deinde griseo-fusca, cylindrica vel obclavato-cylindrica, recta, curvata vel undulata, 3–6 × 35–110 μ , 1–3 (5) septata, ad basim subtruncata, ad apicem obtusa vel subtruncata. Hab. in foliis vivis Ligustri diversarum specierum in Neerlandiis.

Holotype: Op *Ligustrum ovalifolium* Hassk., verzameld in Eefde, zomer 1959.

Paratype: Op *Ligustrum obtusifolium* S. & Z. var. *regelianum* (Khne.) R., *Ligustrum vulgare* L., *Ligustrum vulgare* L. cv. 'Lodense' (Jackson & Perkins), infectieproef Wageningen, zomer 1961.

Het type-materiaal is gedeponeerd in het Rijksherbarium te Leiden. Een cultuur van de schimmel, geïsoleerd van de onder holotype genoemde *Ligustrum ovalifolium*, is aanwezig op het Centraalbureau voor Schimmelcultures te Baarn (typecultuur).

SAMENVATTING

Een op verscheidene kwekerijen in Nederland bij diverse ligustersoorten optredende bladvlekkenziekte, waarvan de symptomen uitvoerig zijn besproken, bleek te worden veroorzaakt door een onbekende *Cercospora*-soort. Deze schimmel wordt in deze publikatie beschreven als *Cercospora ligustrina*.

SUMMARY

In recent years a serious leafspot disease of various *Ligustrum* species has been observed in several nurseries in The Netherlands. By isolations and inoculations it has been proved that this disease is caused by a *Cercospora* species of the type with mostly catenulate conidia.¹

The leafspots vary in form and size on the different privets (fig. 1), but are in general circular to irregular, 1–7 mm in diam., greyish brown with a purple border and surrounded by purplish or yellow-brown discoloured leaf tissue. Sometimes the attacked tissue dries and in shrinking tears away from the living leaf tissue, leaving a shothole effect. A serious attack is usually followed by leaf drop.

Fruiting is chiefly hypophyllous. On some privet species on old spots fruiting can also be found on the upperside of the leaf. The fruiting organs of the *Cercospora* (fig. 2) consist of pale brown stromata and hyaline to greyish brown conidiophores and conidia. The stromata may be small, filling the stomatal openings, or large and columnar, 25–100 × 35–100 μ . The conidiophores arise from the stromata, growing singly or in dense fascicles. They are unbranched, 1–3 septate, 3–6 × 25–75 μ , and not or abruptly geniculate. The conidia are cylindrical to obclavate-cylindrical, straight or curved to undulated, 3–6 × 35–110 μ , 1–3 (5) septate; the basal end is subtruncate, the tip is obtuse or in case of catenulation subtruncate.

In CHUPP's *Cercospora* monograph (1953), three *Cercospora* species are mentioned as occurring on privet. Of these only *C. ligustri* Roumeguère (1883), as interpreted by CHUPP, resembles the *Cercospora* described above. *C. ligustri*,

¹ The *Cercosporas* with catenulate conidia were placed by SOLHEIM (SOLHEIM & STEVENS, 1931) in a separate genus, *Ragnhildiana*. This, however, has never been followed by any other author (see also CHUPP, 1953).

however, has smaller conidia and conidiophores; columnar stromata are absent and fruiting occurs chiefly on the upperside of the leafspots. Moreover the syntype of *C. ligustri* that is present in the "Rijksherbarium" at Leyden, shows symptoms quite different from those observed in The Netherlands.

Prof. CHUPP, after examining a culture of the fungus, was initially of the opinion that it belonged to *C. ligustri*, but after examining attacked leaf material, he agreed with our conclusion, that it represented an undescribed species. Accordingly it is here described as *Cercospora ligustrina* Boerema nov. spec.

The types (holotype and paratype) have been deposited in the "Rijksherbarium" at Leyden, The Netherlands. A culture of *C. ligustrina*, isolated from the holotype, is at the "Centraalbureau voor Schimmelcultures" at Baarn, The Netherlands (type culture).

We have appreciated very much Prof. CHUPP's kindness in giving his opinion on the identity of the *Cercospora*.

De schrijver is allen die hebben medegewerkt aan de afronding van dit diagnostisch onderzoek zeer erkentelijk, in het bijzonder mejuffrouw C. J. POSTHUMUS, die met veel zorg de sporenmetingen, isolaties en inoculaties heeft verricht.

De prettige medewerking die de schrijver steeds ondervindt van de systematici op het Rijksherbarium te Leiden, het Centraalbureau voor Schimmelcultures en het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten" te Baarn, wil hij, ook in verband met dit onderzoek, gaarne vermelden.

LITERATUUR

- CHUPP, C., - 1953. A monograph of the fungus genus *Cercospora*. Ithaca, New York.
ROUMEGUÈRE, C., - 1883. Fungi Gallici exsiccati no. 2521. Rev. Myc. 4: 177.
SOLHEIM, W. G. & F. L. STEVENS, - 1931. *Cercospora* studies II. Some tropical *Cercosporae*. Mycologia 23: 365, 402.