Rol van gewasresten en gewasrestenmanagement bij de overleving van Alternaria en Cercospora in bouwplanverband

Resultaten van projecten LWV19003 en 20167

Jürgen Köhl, Georgina Elena, Bram Hanse[1], Ilse Houwers, Lia Groenenboom-de Haas, Ezra de Lange, Harry Verstegen, Bert Evenhuis

[1]Institute for Sugar Beet Research (IRS), Dinteloord, The Netherlands

Deze studie is uitgevoerd door Wageningen Research Foundation (WR) organisatie eenheden Biointeracties & Plantgezondheid en Open Teelten.

WR is onderdeel van Wageningen University & Research, een samenwerking tussen Wageningen Universiteit en Wageningen Research Foundation.

Wageningen, December 2024

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Jürgen Köhl, Georgina Elena, Bram Hanse, Ilse Houwers, Lia Groenenboom-de Haas, Ezra de Lange, Harry Verstegen, Bert Evenhuis, 2024. *Rol van gewasresten en gewasrestenmanagement bij de overleving van Alternaria en Cercospora in bouwplanverband*
Wageningen Research, Rapport WPR-3740108700 LWV19003 en WPR-3740111100 LWV20167

© 2024 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business Unit Biointeractions and Plant Health, P.O. Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands; T +31 (0)317 486 001; www.wur.eu/plant-research

Kamer van koophandel nr. 09098104 te Arnhem
BTW nr. NL811383696B07

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

Stichting Wageningen Research is niet aansprakelijk voor eventuele nadelige gevolgen die voortvloeien uit het gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Rapport WPR-3740108700 LWV19003 en WPR-3740111100 LWV20167

Inhoud

Inhoud **3**

1 Samenvatting **4**

2 Inleiding **5**

3 Methoden en materialen **6**

3.1 Experimentele opzet gewasrotatie 6
3.2 Monsternames 7
3.3 Behandelingen gewasresten van aardappel 9
3.4 Monsterbehandeling 11
3.4.1 Gewasrotatie experiment 11
3.4.2 Behandelingen experiment 11
3.4.3 DNA extractie 11
3.5 QPCR detectie pathogenen 11
3.6 Statistiek 12

4 Resultaten **13**

4.1 Populatiedynamiek van *Alternaria solani*, *Cercospora beticola*, *Ramularia beticula* en *Stemphylium beticola* in gewasresten in gewasrotatiesystemen 13
4.2 Effect van behandlingen van gewasresten van aardappel op hun afbraak en de dynamiek van *Alternaria solani* in de gewasresten 23

5 Discussie **28**

6 Conclusie **31**

7 Referenties **32**

1 Samenvatting

In jaren tussen twee aardappelteelten moet *Alternaria solani* zien te overleven. Hetzelfde geldt voor *Cercopsora beticola* als het gaat om suikerbieten. Dit onderzoek heeft laten zien dat gewasresten die gekoloniseerd zijn door plantpathogenen belangrijke bronnen voor epidemieën van bladziekten kunnen zijn. Resten van gewassen, onkruiden en strooisel werden systematisch bemonsterd in een complex vruchtwisselingsexperiment PPS Akkerbouw op Zand in Vredepeel in de jaren 2020-2022. Concentraties van DNA van belangrijke ziekteverwekkers van de geteelde gewassen, *Alternaria solani* in aardappel en *Cercospora beticola*, *Ramularia beticola* en *Stemphylium beticola* in suikerbieten, werd met behulp van nieuw ontwikkelde qPCR-testen gemeten. Daarmee hebben we een maat voor de aanwezigheid van de pathogenen in de gewasresten van diverse gewassen in de rotatie, inclusief groenbemesters, onkruiden en in de strooisellaag. Daarnaast gaven herhaalde veldproeven aanvullende inzichten in de dynamiek van Alternaria in aardappelloofresten gedurende 2 jaar.
De resultaten tonen aan dat Alternaria gewasresten van aardappel, en Cercospora gewasresten van suikerbiet aanvankelijk na de oogst in hoge dichtheden koloniseerden, terwijl Ramularia en Stemphylium vrijwel afwezig waren in het veld. Binnen enkele maanden namen de hoeveelheden van de pathogenen in de gewasresten sterk af. Ook de hoeveelheid gewasresten nam in die periode af. Gewasresten van niet-waardgewassen, groenbemesters en onkruiden werden eveneens, maar in beperkte mate, gekoloniseerd door Alternaria en Cercospora. Geconcludeerd kan worden dat resten van niet-waardgewassen potentieel een belangrijke rol kunnen spelen in rotatiesystemen als een brug voor populaties van ziekteverwekkers in de teeltseizoenen zonder waardgewassen. De resultaten dragen bij aan de ontwikkeling van een strategie voor gewasrestenmanagement in vruchtwisselingssystemen dat gericht is op de ziektepreventie door verlaging van de ziektedruk.

2 Inleiding

Bladziekten bij aardappelen veroorzaakt door *Alternaria solani* en bij suikerbieten veroorzaakt door *Cercospora beticola*, *Ramularia beticola* en *Stemphylium beticola* leiden regelmatig tot aanzienlijke opbrengstverliezen. Meerdere fungicidetoepassingen per seizoen zijn gebruikelijk om de ziekten te bestrijden. *Alternaria solani* kan *Solanaceae* infecteren, waaronder veelvoorkomende onkruiden zoals zwarte nachtschade, maar ook soorten uit de composieten en vlinderbloemigen zijn potentiële waardplanten. De pathogenen (ziekteverwekkers) *C. beticola*, *R. beticula* en *S. beticola* infecteren vooral suikerbiet en andere *Chenopodiaceae*, waaronder het veelvoorkomende onkruid melganzenvoet. Gemeenschappelijk voor alle vier pathogenen is hun necrotrofe levensstijl. Dit soort pathogenen overleven op gewasresten in en op de grond tijdens gastheervrije periodes.

Gewasresten van geïnfecteerde gewassen kunnen worden beschouwd als het belangrijkste substraat voor pathogenenpopulaties, waardoor overleving mogelijk is tijdens gastheervrije periodes. Ook andere, niet pathogene micro-organismen kunnen resten van planten koloniseren. Dit soort micro-organismen worden saprofieten genoemd. Saprofieten concurreren met de pathogenen om voedingsstoffen en ruimte in de plantresten, en resten zullen in de loop van de tijd worden afgebroken. Saprofytische kolonisatie van resten van niet-gastheergewassen of onkruiden die anwezg zij in het veld, kan een extra route voor overleving van pathogenen mogelijk maken. Hierdoor blijven pathogenen gedurende rotatie aanwezig in het veld en daarmee blijft de kans op infecties van vatbare gewaassen in de volgende jaren bestaan.

Het doel van deze studie was om bij te dragen aan de ontwikkeling van rationele strategieën voor het beheer van gewasresten gericht op de preventie van plantenziekten in gewasrotatiesystemen. De kolonisatie van resten van gastheergewassen door *A. solani*, *C. beticola*, *R. beticula* en *S. beticola* werd gekwantificeerd met behulp van soortspecifieke qPCR-testen. Resten van niet-waardgewassen en groenbemesters die in rotatie werden geteeld, evenals onkruid en organisch strooisel op het bodemoppervlak werden ook bemonsterd. De mogelijke kolonisatie door de pathogenen werd gemeten om inzicht te krijgen in hun rol in de dynamiek van de pathogeenpopulaties tijdens gastheervrije perioden in akkerbouwsystemen met gewasrotatie. Pathogeenpopulaties werden gemeten in veldpercelen met verschillende gewasrotaties gedurende drie winterseizoenen in de hoofdgewasvrije tijd (behalve wintergerst) met bemonsteringspauzes tijdens de twee overeenkomstige groeiseizoenen. Dit werd uitgevoerd in de rotatieproef van het project 'Integrale aanpak gewasbescherming voor de akkerbouw op zand' (AoZ; LWV19093) met een rotatie van aardappel (1), winter- of zomergerst, suikerbiet (late oogst), wortelen, aardappel (2), maïs, suikerbiet (vroege oogst) en in de lente gezaaide uien. De gewassen werden geteeld in twee verschillende gewasbeheersystemen, waarbij de gangbare praktijk in de zuidelijke delen van Nederland (referentie) werd vergeleken met een Integrated Crop Management (ICM)-strategie gebaseerd op het minimaliseren van chemische gewasbestrijding.

Het onderzoek is uitgevoerd in het kader van de projecten 'Gewasrestenmanagement tegen ziekten' (LWV19003) en 'Rol van gewasresten voor bladpathogenen van suikerbiet in bouwplanverband', gefinancieerd door Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen, Brancheorganisatie Akkerbouw en Cosun Beet Company.

3 Methoden en materialen

3.1 Experimentele opzet gewasrotatie

Het veldexperiment startte in het kader van het project 'Integrale aanpak gewasbescherming voor de akkerbouw op zand' (AoZ; LWV19093) in 2020 op de locatie Vredepeel van Wageningen University & Research op zandgrond met een organische stofgehalte variërend van 4,4 tot 4,8 %. Gewassen werden geteeld volgens twee gewasbeschermingsstrategieën. De referentiestrategie (REF) bestrijdt onkruid, plagen en ziekten volgens de gangbare praktijk in Zuidoost-Nederland. De Integrated Crop Management (ICM)-strategie is gebaseerd op het minimaliseren van chemische gewasbescherming en het afzien van pesticiden die door de Europese Unie op de lijst van kandidaten voor vervanging (CfS) staan. Zo werden aardappelrassen met een hogere resistentie tegen *Phytophthora infestans* geteeld in ICM om de input van pesticiden te minimaliseren en fluopicolide (CfS) te vermijden. Omdat difenoconazol als CfS niet beschikbaar was voor *Alternaria solani*-bestrijding, waren de opties in de eerste jaren beperkt. In 2021 kwam Propulse op de markt, waardoor chemische bestrijding in ICM mogelijk werd. Om Cercospora-bladvlekken te bestrijden waren bij aanvang van de proef geen synthetische fungiciden beschikbaar, omdat deze allemaal een actief bestanddeel bevatten dat vermeld staat als CfS.
De geteelde gewassen waren aardappel, winter- of zomergerst, suikerbiet, wortelen, maïs en in het voorjaar gezaaide ui. De vruchtwisseling was 1 op 8, behalve voor aardappel en suikerbiet, die 1 op 4 was. De rotatievolgorde van de gewassen in beide strategieën was aardappel (1), winter- of zomergerst, suikerbiet (late oogst), wortelen, aardappel (2), maïs, suikerbiet (vroege oogst) en in het voorjaar gezaaide ui. Groenbemesters waren afhankelijk van de hoofdgewassen en de gewasbeschermings-strategie. In totaal bestond het experiment uit vier hoofdblokken (herhalingen), elk verdeeld in twee percelen met de verschillende teeltsystemen, elk perceel met acht plots voor gerandomiseerd verdeelde gewassen (REF1 tot REF8; ICM 1 tot ICM 8). De grootte van de plots was 24 m x 24 m. Ziektebeoordelingen van de aardappelziekte en Cercospora-bladvlekkenziekte in suikerbieten voor aardappel- en suikerbietengewassen die in de verschillende teeltsystemen werden geteeld, worden weergegeven in Tabel 1. Symptomen die typisch zijn voor infecties door *R. beticola* of *S. beticola* werden niet, of alleen incidenteel gevonden in suikerbietenpercelen.
Onkruid werd in de verschillende gewassen bestreden door een combinatie van mechanische bestrijding en het gebruik van herbiciden, afhankelijk van gewas, gewasstadium en bestrijdingsstrategie (REF of ICM). Desalniettemin werd de ontwikkeling van onkruid nooit volledig bestreden, zodat het altijd mogelijk bleef om monsters van afstervend onkruid te nemen.

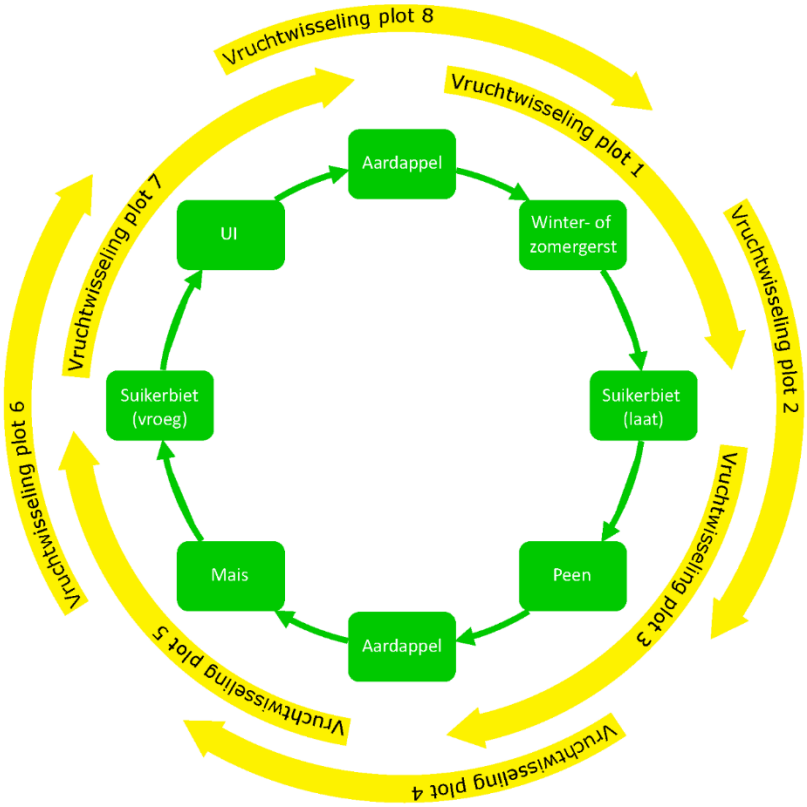
Tabel 1. Ziektebeoordeling (StAUDPC) voor Alternaria aantasting in aardappelgewassen en Cercospora bladziekte (*Cercospora beticola*) in suikerbietgewassen geteeld in de rotatiepercelen in 2020-2023.

Jaar	Teelt- systeem	StAUDPC Alternaria *		StAUDPC Cercospora *	
		Aardappel (1)	Aardappel (2)	Suikerbiet (vroege oogst)	Suikerbiet (late oogst)
2020	REF	0.13±0.07	0.12±0.04	5.20±0.51	9.35±1.16
	ICM	2.23±2.90	11.50±7.74	12.46±1.63	14.88±2.16
2021	REF	1.69±1.15	0.53±0.30	3.83±2.58	7.50±2.52
	ICM	0.85±0.46	1.61±0.96	9.75±2.57	5.17±4.09
2022	REF	0.09±0.06	0.27±0.21	4.57±0.48	17.30±1.15
	ICM	0.46±0.14	0.73±0.19	1.21±0.66	7.91±1.67

* Gemiddelte en standaardafwijking van het gemiddelde van vier herhalingen.

3.2 Monsternames

Gewasresten werden drie tot vier keer per seizoen bemonsterd, afhankelijk van het geteelde gewas. Er werden monsters genomen (1) direct na de oogst, (2) ongeveer drie weken na de oogst, maar vóór de grondbewerking of het zaaien van het daaropvolgende gewas, (3) aan het einde van het jaar, vlak voor het begin van de winter (indien mogelijk) en (4) in het voorjaar vóór de grondbewerking, of het planten of zaaien van de daaropvolgende gewas. In sommige gevallen viel drie weken na de oogst samen met het einde van het jaar. In dat geval werd er op dat moment slechts één monster per perceel genomen. Figuur 1 illustreert de vruchtwisseling en bemonsteringsperioden in de acht verschillende vruchtwisselingspercelen.
Op ieder bemonsteringstijdstip zijn drie verschillende soorten gewasresten van het bodemoppervlak bemonsterd: (1) duidelijk herkenbare resten van het hoofdgewas of de groenbemester, (2) onkruidresten en (3) strooisel (met een klein mesje afgeschraapt strooisel samen met wat bovengrond van het grondoppervlak). Er werd alleen plantmateriaal meegenomen dat al afgestorven was. Plantmateriaal dat nog in leven was, is niet bemonsterd. Afbeeldingen 1 en 2 geven een indruk van het optreden van gewasresten in de rotatie. Van elk plot werden monsters genomen op ongeveer 20 verschillende plekken, willekeurig verdeeld over de plot. Tussen de bemonsteringen van de plots werden de gebruikte scharen, messen en kleine schoppen gereinigd en gedesinfecteerd met 70% alcohol om besmetting van de monsters tussen de plots te voorkomen. De monstergrootte per plot varieerde, maar was over het algemeen ten minste 10 gram versgewicht.



Figuur 1. Diagram van de vruchtwisseling (groen) in de acht vruchtwisselingsplots gedurende de jaren van de monsternames in de vruchtwisselingsplots (gele pijlen).

Afbeelding 1. Gewasresten van ui in bladrammenas.

Afbeelding 2. Maisstoppels met Engels raaigras onderzaai en onkruid.

3.3 Behandelingen gewasresten van aardappel

De maatregelen richten zich op behandeling van gewasresten om afbraak te versnellen. Het experiment werd uitgevoerd op WUR locatie Vredepeel. De afbraaksnelheid van de gewasresten en de overleving van *Alternaria solani* in de tijd werd bepaald. Aangetaste gewasresten van bestaande Alternaria proeven van project 'Integrale aanpak gewasbescherming voor de akkerbouw op zand' (AoZ; LWV19093) werden gebruikt (Afbeelding 3). Materiaal van het aardappelras Fontane werd in het eerste experiment in 2020 gebruikt, bij de herhaling in het volgende jaar werden gewasresten van Cammeo verzameld.

Afbeelding 3. Alternaria aantasting. Het blad is duidelijk zichtbaar aangetast en er zijn enkele vlekjes op de stengel.

De volgende behandelingen zijn volledig gerandomiseerd in vijf herhalingen uitgevoerd:

- Geen behandeling, controle
- Versnipperen fijn, 2 cm
- Hakselen grof, 10 cm
- Loofklappen (Afbeelding 4)

Afbeelding 4. Gewasresten van aardappel net na het loofklappen.

Van de gewasresten werden 250 gram in netzakjes van 25 x 30 cm ingegraven in de grond (10 cm diep) of op de grond gelegd (Afbeelding 5 en 6). Na 6, 12, 18 en 24 maanden werdt de vertering van de gewasresten (drooggewicht gewasresten in de netten) en de kolonisatie door *Alternaria solani* (Taqman) bepaald. DNA monsters werden opgeslagen voor eventueel vervolgonderzoek (gericht op verdere pathogenen, microbioom etc).

Afbeelding 5. Netzakjes in het veld, bovenkant foto zakjes liggen op de grond, omderkant foto de ingegraven zakjes.

Afbeelding 6. Individueel netzakje met aardappelgewasresten.

3.4 Monsterbehandeling

Voor zowel de gewasrotatie als het behandelingen experiment werden de monsters direct na de bemonstering ingevroren bij -20°C.

3.4.1 Gewasrotatie experiment

Bevroren veldmonsters van plantenresten van hoofdgewassen, groenbemesters en onkruidresten werden versnipperd en submonsters van ongeveer 150 ml werden gevriesdroogd. Daarna werd het gedroogde materiaal verpulverd tot 1 mm poeder en opgeslagen bij -20 °C.

De bevroren strooiselmonsters werden overgebracht naar plastic bekers van 1 L en 600 ml kraanwater werd toegevoegd. Na volledige ontdooiing werd het water met het monster krachtig geroerd met een gedesinfecteerde metalen lepel. Het monster werd een uur laten staan om volledig te verzadigen en zand te laten bezinken. Het supernatant, inclusief het grootste deel van het strooisel, werd voorzichtig door een trechter met een monodur-filter (200 µm) gegoten. Het gieten van de supernatant werd gestopt voordat zanddeeltjes eruit konden stromen. Om de opbrengst van strooisel te verhogen, werd dit proces één keer herhaald, dit keer met een bezinkingstijd van 10 seconden. De strooiselresten in het monodurfilter werden zorgvuldig afgespoeld met kraanwater om ervoor te zorgen dat alle kleine deeltjes werden verwijderd. Het resterende strooisel werd verzameld, gevriesdroogd en tot poeder verpulverd en bewaard bij -20°C.

3.4.2 Behandelingen experiment

Bevroren monsters van de aardappelbladerresten verzameld uit de experimenten met behandelingen van gewasresten werden overgebracht naar 1 L plastic bekers en er werd 600 ml kraanwater toegevoegd. Na volledige ontdooiing werd het water met het monster krachtig geroerd met een ontsmette metalen lepel. Het volledige mengsel werd op een metalen zeef (maaswijdte 2,8 mm) gegoten en zorgvuldig afgespoeld met kraanwater om ervoor te zorgen dat alle kleine deeltjes werden verwijderd. Het residu werd gesorteerd en verontreinigingen zoals onkruid, insecten of ander materiaal dan gewasresten van aardappel werden verwijderd. De overgebleven resten werden verzameld, gevriesdroogd en het totale droge gewicht werd genoteerd. Tot slot werden de monsters vermalen tot 1 mm poeder en opgeslagen bij -20 °C

3.4.3 DNA extractie

DNA werd geëxtraheerd uit gevriesdroogde en verpulverde gewasrestenmonsters (ongeveer 50 mg) met behulp van de Sbeadex maxi-plantenkit volgens het protocol van de fabrikant met de volgende aanpassingen; lysis werd uitgevoerd bij 65 °C gedurende 1 uur met 700 µl lysisbuffer en na centrifugatie werd 200 µl van de supernatant gebruikt voor de verdere verwerking. Een pipetteerrobot werd gebruikt om de extractie te automatiseren. DNA-extracten werden bewaard bij -20 °C.

3.5 QPCR detectie pathogenen

QPCR Taqman assays werden ontwikkeld waarmee de ziekteverwekkers *A. solani, C. beticola, R. beticola en S. beticola* dmv hun DNA soort-specifiek kunnen worden gekwantificeerd in gewasresten. Naast de ziekteverwekkers zijn er ook talloze saprofytische schimmels die potentieel kunnen voorkomen op gewasresten van aardappel, suikerbiet en andere gewassen als ook op groenbemesters en resten van onkruiden. Hiermee is bij de ontwikkeling van de Taqman rekening gehouden.

3.6 Statistiek

De behandelingen experimenten werden uitgevoerd met vijf herhalingen in een volledig gerandomiseerd blok design. Statistische analyse werd uitgevoerd met het R software packet 4.0.3. Voor de analyse werden linear mixed models gebruikt (*lmer Test*). Indien nodig werd de transformatie van data uitgevoerd.

4 Resultaten

4.1 Populatiedynamiek van *Alternaria solani*, *Cercospora beticola*, *Ramularia beticula* en *Stemphylium beticola* in gewasresten in gewasrotatiesystemen

Alternaria solani (A.s) werd consistent aangetroffen in 80 tot 100% van de beoordeelde monsters van gewasresten van de twee aardappelgewassen in hoge concentraties boven 10.000 fg A.s. DNA mg^{-1} (Tabel 2 en 3). De ziekteverwekker werd ook consequent aangetroffen in het strooisel op het bodemoppervlak na de aardappelteelt. Monsters van onkruidresten verzameld na de aardappeloogst bevatten voor 50-80% *A. solani*, maar de kolonisatie was minder in vergelijking met de concentraties van pathogenen in gewasresten van aardappel. De incidentie van *A. solani*, gedefinieerd als het percentage monsters met positieve detectie van de beoogde ziekteverwekker, in gewasrestmonsters van gerst-, suikerbiet-, wortel-, maïs- of uienpercelen varieerde van 10 tot 60% en de gemiddelde concentraties van de ziekteverwekker waren 3-4 ordes van grootte lager vergeleken met de concentratie in gewasresten van aardappel verzameld tijdens de eerste maanden na de aardappeloogst. Een soortgelijk patroon werd waargenomen bij onkruidresten en bij strooiselmonsters afkomstig van dezelfde percelen. Maximale concentraties geven aan dat in uitzonderlijke gevallen gewasresten, onkruidresten of strooisel van percelen waar geen aardappel maar andere gewassen werden geteeld *A. solani* in hoge concentraties van 1.000 tot 100.000 fg A.s. DNA mg^{-1} bevatten. In monsters van gewasresten van de als groenbemesters geteelde bladrammanas, wintergerst en Engels raaigras (*Lollium perenne*) was de incidentie van *A. solani* 25% of lager, met slechts enkele gevallen van concentraties boven 100 fg A.s. DNA mg^{-1}. Een duidelijke uitzondering werd gevonden voor *Tagetes patula*, die geteeld werd als groenbemester na de winter- of als zomergerst in het ICM-teeltsysteem. *A. solani* werd gedetecteerd in alle monsters van gewasresten van *T. patula* bij een hoge gemiddelde concentratie van 13.000 fg A.s. DNA mg^{-1}, vergelijkbaar met concentraties gemeten in aardappelresten.

Een soortgelijk patroon als gevonden voor *A. solani* in aardappel werd gevonden voor *C. beticola* in vroeg of laat geoogste suikerbietengewassen (Tabel 2 en 3). De incidentie van *C. beticola* was >90% in suikerbietenresten, onkruidresten en strooisel verzameld op percelen na de oogst van suikerbieten. De concentraties van pathogeen-DNA waren over het algemeen twee keer hoger op percelen waar suikerbieten laat waren geoogst in vergelijking met vroeg geoogste suikerbieten. De concentraties in het strooisel bereikten niveaus die vergelijkbaar zijn met bovenstaande niveaus in gewasresten van suikerbieten. In monsters verkregen uit percelen geteeld met gerst, wortel, aardappel, maïs of ui, varieerde de incidentie van *C. beticola* tussen 4 en 56% en waren de concentraties 3-4 ordes lager vergeleken met de concentraties gemeten in gewasresten van suikerbietenpercelen. Uitzonderlijk hoge concentraties *C. beticola*-DNA werden aangetroffen in individuele monsters van onkruid verzameld in gewassen die in rotatie met suikerbieten werden geteeld. Concentraties boven 10.000 fg DNA van *C. beticola* mg^{-1} drooggewicht werden ook aangetroffen in individuele gewasrestmonsters verzameld op percelen geteeld met de groenbemester bladrammanas.

Ramularia beticola (R.b.) werd gedetecteerd in 64 van de 168 monsters van gewasresten van suikerbiet bij gemiddelde concentraties van 94 fg R.b. DNA mg^{-1} en in 60 van 577 monsters van andere gewasresten bij gemiddeld 1 fg R.b. DNA mg^{-1}. *Stemphylium beticola* (S.b.) werd gedetecteerd in 39 van de 168 monsters van gewasresten van suikerbiet bij een gemiddelde concentratie van 14 fg S.b. DNA mg^{-1} en in 25 van 612 monsters van andere gewasresten bij een gemiddelde concentratie van 3 fg S.b. DNA mg^{-1}. In het strooisel werd *R. beticola* gedetecteerd in 65 van de 659 monsters (gemiddelde concentratie 28 fg R.b. DNA mg^{-1}) en *S. beticola* werd gedetecteerd in 64 van de 659 monsters (gemiddelde concentratie 35 fg S.b. DNA mg^{-1}). In onkruidresten werd *R. beticola* gedetecteerd in 66 van de 701 monsters (gemiddelde concentratie 13 fg R.b. DNA mg^{-1}) en *S. beticola* werd gedetecteerd in 39 van de 701 monsters (gemiddelde concentratie 2 fg S.b. DNA mg^{-1}).

Tabel 2. Kolonisatie van verschillende soorten gewasresten (gewasresten, strooisel, onkruid en groenbemester) door *Alternaria solani* en *Cercospora beticola* van acht verschillende hoofdgewassen en vier groenbemesters op percelen die werden geteeld volgens de referentiestrategie (REF). Schimmelkolonisatie wordt uitgedrukt als de teruggetransformatie van het gemiddelde van $\log_{10}$ (fg DNA van *A. solani* of *C. beticola* mg^{-1} droog materiaal +1), maximale waarde van fg DNA van *A. solani* of *C. beticola* mg^{-1} droog materiaal en incidentie (%) van *A. solani* of *C. beticola*.

		Alternaria solani				*Cercospora beticola*			
Gewas	Soort gewasrest	Aantal monsters	Gemiddelde	Maximum	Incidentie	Aantal monsters	Gemiddelde	Maximum	Incidentie
Aardappel (1)	Gewasresten	36	12634	438211	100	36	16488	2057300	33
	Strooisel	36	50184	4294366	100	36	246050	2333333	50
	Onkruid	36	5554	266404	94	36	14322	523762	61
Winter/Zomer gerst	Gewasresten	44	2	1507	18	44	10	6481	33
	Strooisel	35	142	9589	35	36	124	413446	31
	Onkruid	43	19	33539	43	43	86	9420	55
Sukerbiet (laat)	Gewasresten	36	1	1750	11	36	58374	1088012	73
	Strooisel	35	15	4072	25	35	102055	1132840	77
	Onkruid	36	1	1783	11	36	9717	171818	79
Peen	Gewasresten	28	11	8659	18	28	7	1512	31
	Strooisel	28	5	5539	22	28	3	4034	17
	Onkruid	28	15	563	22	28	24	1369	35
Aardappel (2)	Gewasresten	48	22217	582105	100	48	10237	1499416	40
	Strooisel	48	23563	1667726	88	48	167844	1766342	38
	Onkruid	47	750	368731	79	47	3906	628225	55
Maïs	Gewasresten	48	152	26211	65	48	7	1365	28
	Strooisel	41	41	192500	39	48	27	3470	25
	Onkruid	44	39	163122	29	44	13	20116	44

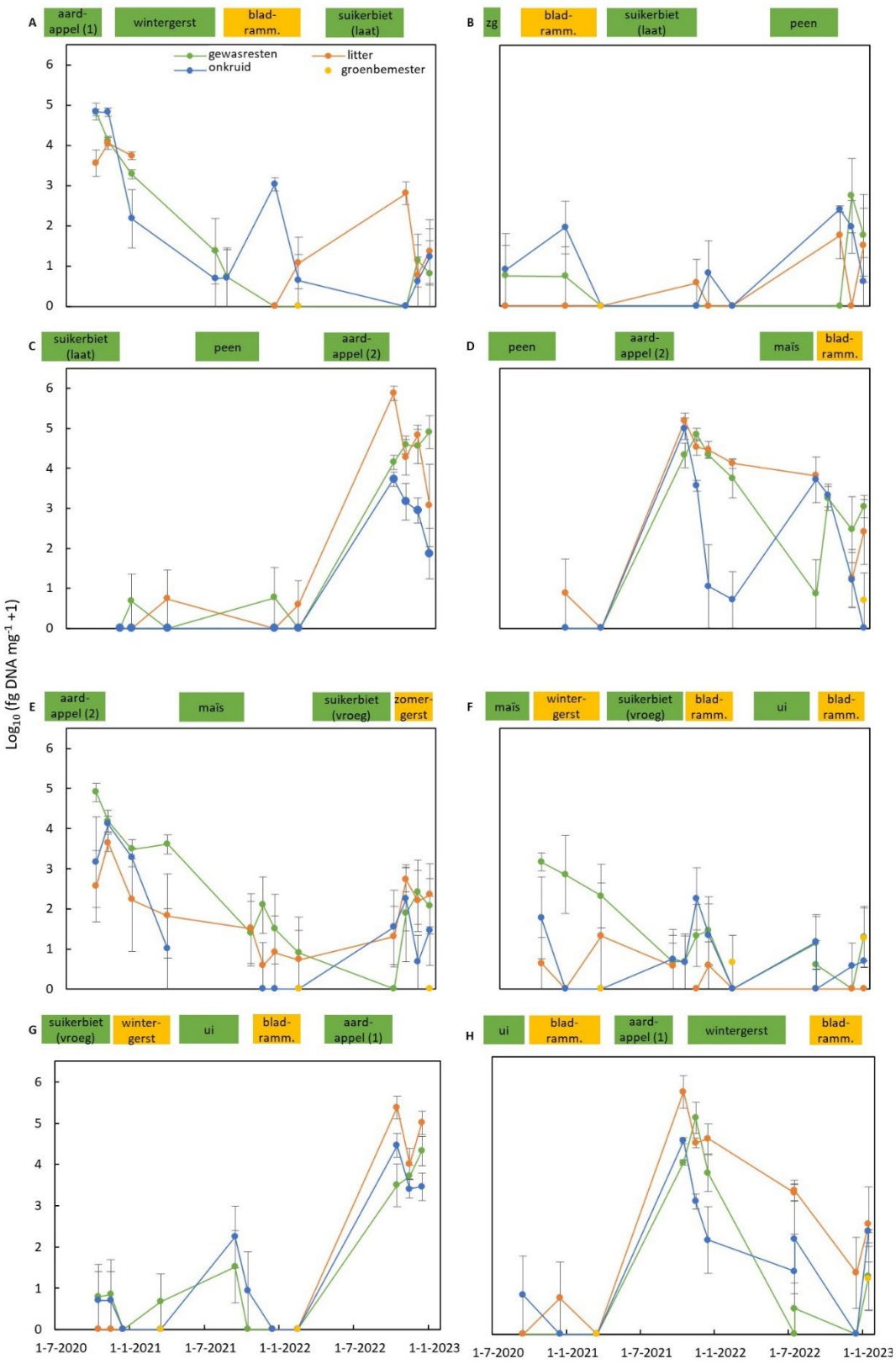
Gewas	Soort gewasrest	*Alternaria solani* Aantal monsters	Gemiddelde	Maximum	Incidentie	*Cercospora beticola* Aantal monsters	Gemiddelde	Maximum	Incidentie
Suikerbiet (vroeg)	Gewasresten	48	16	111694	33	48	19903	306854	69
	Strooisel	44	46	3589	28	44	19860	180810	73
	Onkruid	47	14	5739	34	47	2488	219597	80
Ui	Gewasresten	43	2	1090	15	43	5	2129	23
	Onkruid	36	0	2460	3	36	5	6644	25
	Onkruid	43	3	5768	20	43	9	3691	35
Bladrammanas	Groenbemester	28	4	605	14	28	154	12292	52
Wintergerst	Groenbemester	20	0	466	4	20	13	4415	29

Tabel 3. Kolonisatie van verschillende soorten gewasresten (gewasresten, strooisel, onkruid en groenbemester) door *Alternaria solani* en *Cercospora beticola* van acht verschillende hoofdgewassen en vier groenbemesters op percelen die werden geteeld volgens de geïntegreerde teeltstrategie (ICM). Schimmelkolonisatie wordt uitgedrukt als de teruggetransformatie van het gemiddelde van $\log_{10}$ (fg DNA van *A. solani* of *C. beticola* mg^{-1} droog materiaal +1), maximale waarde van fg DNA van *A. solani* of *C. beticola* mg^{-1} droog materiaal en incidentie (%) van *A. solani* of *C. beticola*.

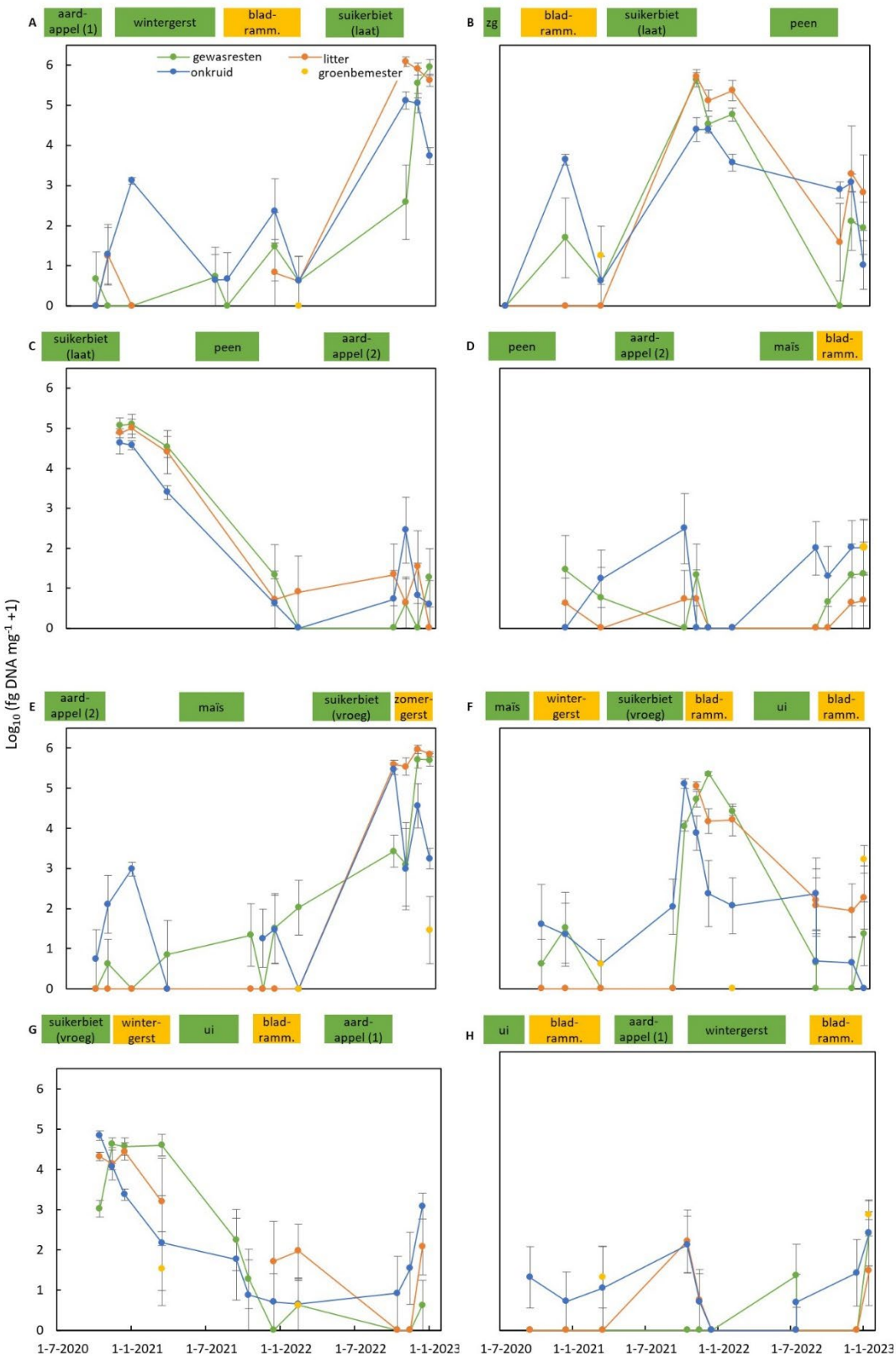
		Alternaria solani				*Cercospora beticola*			
Gewas	Soort gewasrest	Aantal. monsters	. Gemiddelde	Maximum	Incidentie	Aantal. monsters	. Gemiddelde	Maximum	Incidentie
Aardappel (1)	Gewasresten	36	25902	402990	89	36	3	1062	8
	Strooisel	36	22423	305455	92	28	1	580	17
	Onkruid	36	4017	76510	69	36	10	1478	33
Winter/Zomer gerst	Gewasresten	40	29	109214	45	40	26	5772	26
	Strooisel	36	51	34544	38	36	3	6677	38
	Onkruid	40	27	28686	42	40	60	23047	53
Suikerbiet (laat)	Gewasresten	36	1	468	11	36	54513	729878	100
	Strooisel	36	31	2537	33	36	83353	980287	97
	Onkruid	36	0	564	6	36	12663	548380	97
Peen	Gewasresten	28	4	27224	21	28	6	2785	51
	Strooisel	28	7	2814	31	28	58	3810	26
	Onkruid	28	3	3223	15	28	64	10129	47
Aardappel (2)	Gewasresten	44	13250	12706061	89	44	10	41049	9
	Strooisel	36	8848	329595	91	44	1	614	29
	Onkruid	43	204	41772	54	43	17	2560	41
Maïs	Gewasresten	48	53	7866	46	48	4	1861	6
	Strooisel	36	23	2500	41	44	1	300	23
	Onkruid	47	188	414212	45	47	45	9637	45
Suikerbiet (vroeg)	Gewasresten	43	13	8190	33	48	20437	307376	100
	Strooisel	48	6	3995	20	43	46710	424383	98
	Onkruid	48	5	16926	21	48	3286	405736	92
Ui	Gewasresten	43	5	1200	22	42	11	3458	56

Gewas	Soort gewasrest	*Alternaria solani* Aantal. monsters	. Gemiddelde	Maximum	Incidentie	*Cercospora beticola* Aantal. monsters	. Gemiddelde	Maximum	Incidentie
Ui	Gewasresten	43	5	1200	22	42	11	3458	56
	Strooisel	35	2	5462	16	35	72	6805	32
	Onkruid	44	11	7776	34	44	6	2556	27
Bladrammanas	Groenbemester	32	3	1193	13	32	68	679144	35
Tagetes patula	Groenbemester	12	13026	263439	100	12	286	3232	67
Wintergerst	Groenbemester	12	1	12374	6	12	2	300	6
Engels raaigras	Groenbemester	4	23	884	25	4	19	550	25

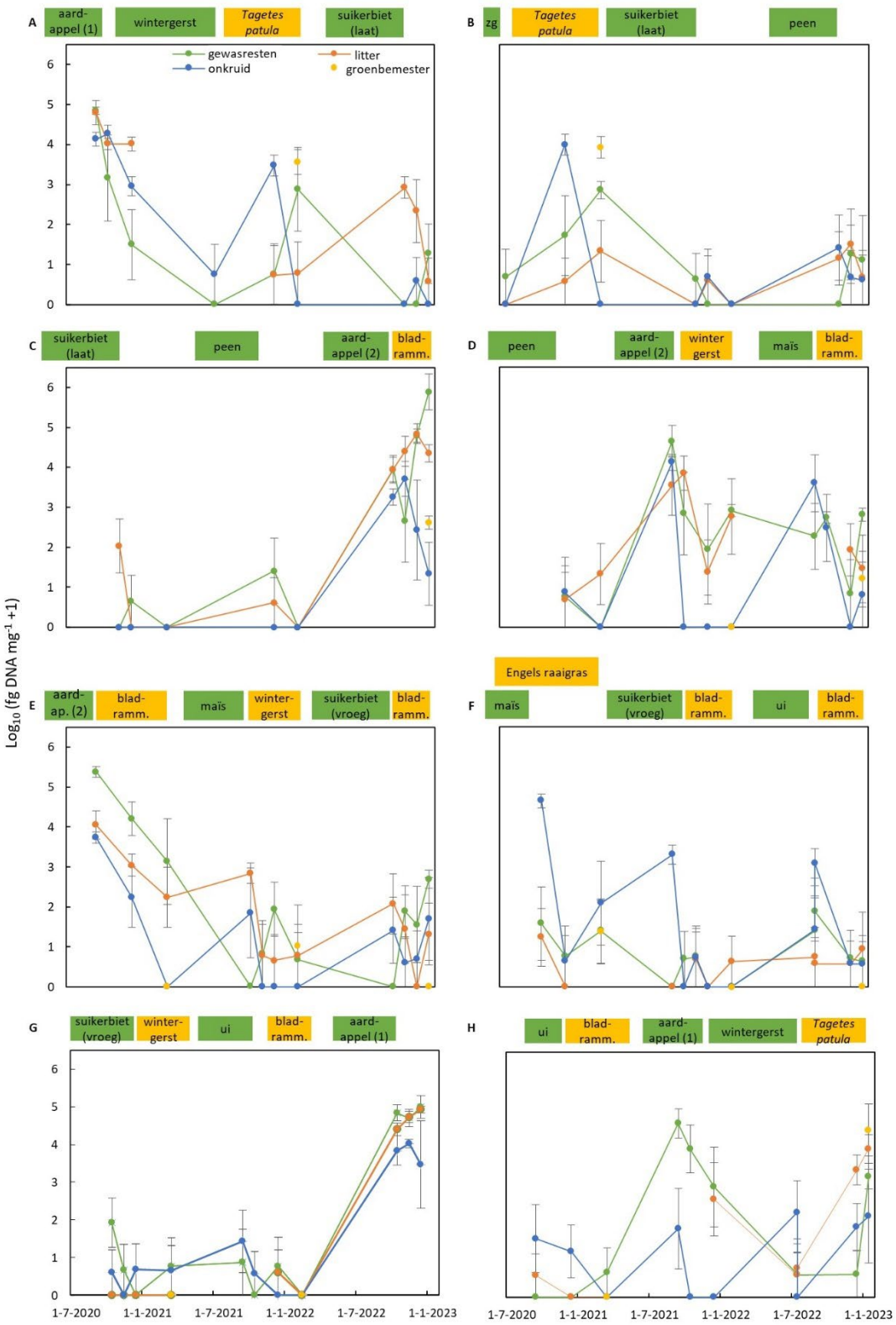
De dynamiek van de kolonisatie van pathogenen gedurende 2,5 jaar in gewasresten van hoofdgewassen, groenbemesters, onkruidresten en in strooisel aanwezig in de vier herhalingen in plots wordt getoond voor alle rotatieplots van beide teeltsystemen voor *A. solani* (Figuur 2 en 4) en *C. beticola* (Figuur 3 en 5). De cijfers bevatten ook informatie over de teeltperioden van hoofdgewassen en groenbemesters vóór en tijdens de bemonsteringsperiode van 2,5 jaar en tijdstippen van de bemonsteringen van de gewasresten (voor details zie supplementaire tabel 1 in Köhl et al., 2024).
De belangrijkste trends, samengevat in Tabel 2 en 3, worden in de figuren 2 t/m 5 in detail weergegeven, zoals hoge concentraties van de ziekteverwekkers in gewasresten van hun waardgewassen, in onkruidresten en in strooisel dat op percelen wordt verzameld gedurende de maanden na de oogst van het waardgewas. In de meeste gevallen werd een afname van de *A. solani*-concentratie van maximaal 2 ordes gedurende enkele maanden na de aardappeloogst waargenomen, terwijl in twee gevallen geen afname of zelfs een toename van de kolonisatie met één tot twee ordes gedurende de maanden na de oogst werd waargenomen (Figure 3 (C), (G)). Dit patroon op percelen na de aardappelteelt was vergelijkbaar voor aardappelresten, maar ook voor onkruidresten en strooisel. Een vergelijkbare snelle afname werd ook voor *C. beticola* gevonden in gewasresten van suikerbieten, onkruid en strooisel verzameld op percelen gedurende de maanden na de oogst van het waardgewas.
Tijdens bemonsteringsperioden na niet-waardgewassen waren de concentraties van *A. solani* ordes lager dan gevonden in monsters verzameld na de aardappelteelt, en het waargenomen patroon was inconsistent. Waarden fluctueerden tussen bemonsteringsdata, tussen herhaalde plots (resulterend in een grotere standaardfout van de gemiddelden) en tussen substraattypen. Ondanks de inconsistente resultaten van de verschillende individuele beoordelingen, deed zich voor alle bemonsteringsperioden na teeltperioden van niet-waardgewassen een gemeenschappelijk patroon voor: *A. solani* was op alle percelen (op lage niveaus) aanwezig tijdens perioden zonder waardgewassen. De grootste variatie, waaronder soms hogere waarden van *A. solani*-concentraties, werd gevonden voor resten van onkruid, wat erop wijst dat sommige onkruiden die aanwezig zijn in percelen met niet-waardgewassen mogelijk gastheer voor *A. solani* kunnen zijn. Een soortgelijk patroon werd gevonden voor *C. beticola*-concentraties in niet-waardplots met fluctuerende waarden tussen bemonsteringsdata, herhalingen en substraattypen, met de hoogste variatie en hoogste waarden in onkruidmonsters.
Ziekteverwekkers vertoonden in beide teeltsystemen hetzelfde gedrag (Figuren 2 – 5). Vergelijkbare niveaus van de kolonisatie door de pathoegnen en vergelijkbare patronen in de populatiedynamiek werden waargenomen, behalve in de perioden met groei van *Tagetes patula* in het ICM-systeem. *A. solani* bereikte hoge concentraties in de gewasresten van de groenbemester, maar ook in gewasresten van het voorgaande hoofdgewas, onkruidresten en in strooisel aanwezig op percelen met *Tagetes patula* groenbemester.



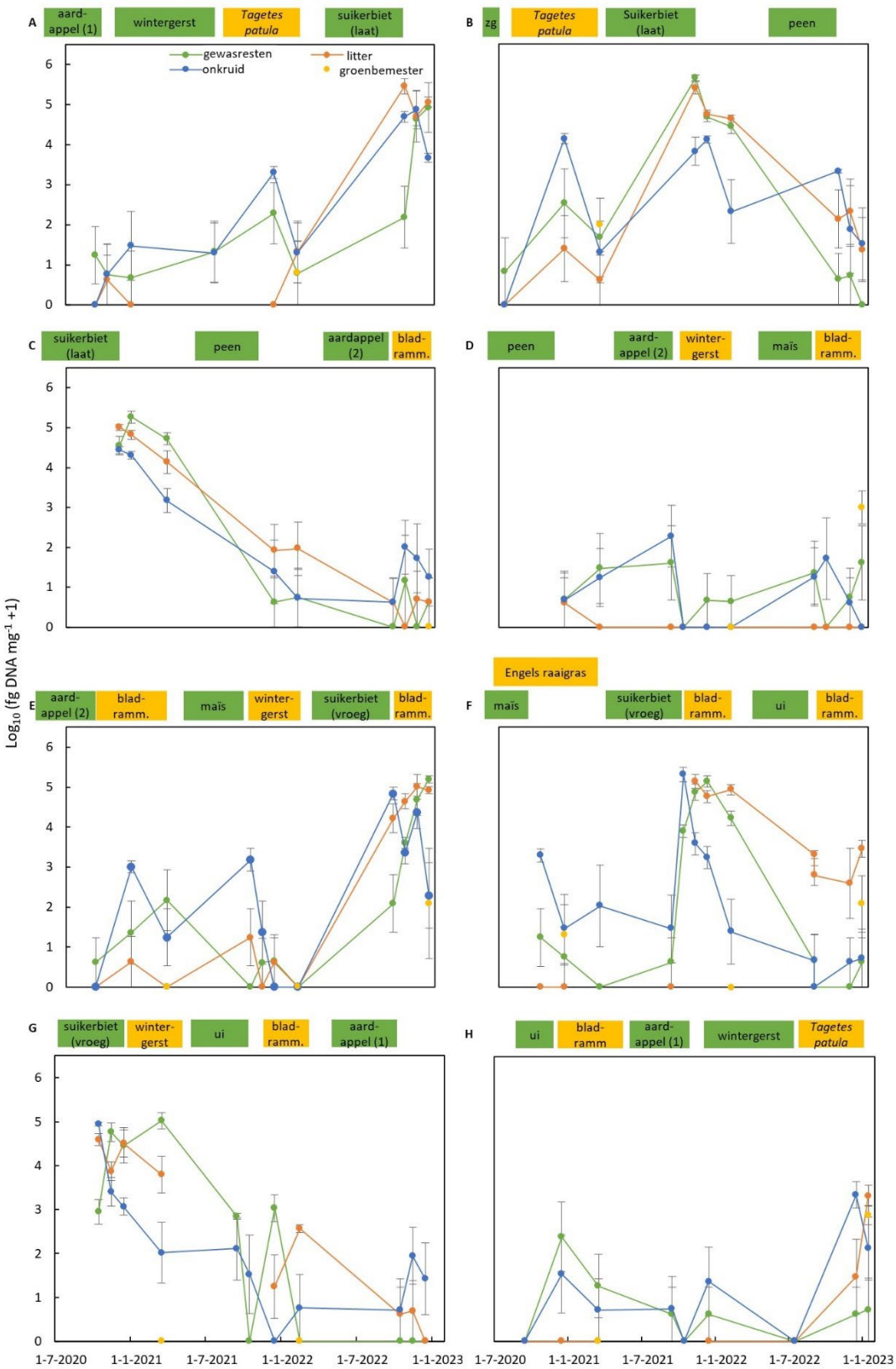
Figuur 2. Kolonisatie van gewasresten van hoofdgewassen, groenbemesters en onkruid en van strooisel door *Alternaria solani* in de acht vruchtwisselingspercelen (A – H) van het referentieteeltsysteem (REF). De kolonisatie van *Alternaria solani* wordt weergegeven als het gemiddelde van de $\log_{10}$-getransformeerde gegevens van vier herhaalde plots (fg DNA van *A. solani* mg^{-1} droog materiaal – 1). Staven komen overeen met de standaardfout van de gemiddelen. De teeltperioden van de hoofdgewassen (groen) en groenbemesters (geel) worden bovenaan elke grafiek weergegeven. 'zg' in figuur B betekent zomergerst. Van: Köhl et al. (2024).



Figuur 3. Kolonisatie van gewasresten van hoofdgewassen, groenbemesters en onkruid en van strooisel door *Cercospora beticola* in de acht vruchtwisselingspercelen (A – H) van het referentieteeltsysteem (REF). De kolonisatie van *Cercospora beticola* wordt weergegeven als het gemiddelde van de $\log_{10}$-getransformeerde gegevens van vier herhaalde plots (fg DNA van *C. beticola* mg^{-1} droog materiaal – 1). Staven komen overeen met de standaardfout van de gemiddelen. De teeltperioden van de hoofdgewassen (groen) en groenbemesters (geel) worden bovenaan elke grafiek weergegeven. 'zg' in figuur B betekent zomergerst. Van: Köhl et al. (2024).



Figuur 4. Kolonisatie van gewasresten van hoofdgewassen, groenbemesters en onkruid en van strooisel door *Alternaria solani* in de acht vruchtwisselingspercelen (A – H) van de geïntegreerde gewasbeheerstrategie (ICM). De kolonisatie van *Alternaria solani* wordt weergegeven als het gemiddelde van de $\log_{10}$-getransformeerde gegevens van vier herhaalde plots (fg DNA van *A. solani* mg^{-1} droog materiaal – 1). Staven komen overeen met de standaardfout van de gemiddelden. De teeltperioden van de hoofdgewassen (groen) en groenbemesters (geel) worden bovenaan elke grafiek weergegeven. 'zg' in figuur B betekent zomergerst. Van: Köhl et al. (2024).



Figuur 5. Kolonisatie van gewasresten van hoofdgewassen, groenbemesters en onkruid en van strooisel door *Cercospora beticola* in de acht vruchtwisselingspercelen (A – H) van de geïntegreerde gewasbeheerstrategie (ICM). De kolonisatie van *Cercospora beticola* wordt weergegeven als het gemiddelde van de $\log_{10}$-getransformeerde gegevens van vier herhaalde plots (fg DNA van *C. beticola* mg^{-1} droog materiaal – 1). Staven komen overeen met de standaardfout van de gemiddelden. De teeltperioden van de hoofdgewassen (groen) en groenbemesters (geel) worden bovenaan elke grafiek weergegeven. 'zg' in figuur B betekent zomergerst. Van: Köhl et al. (2024).

4.2 Effect van behandlingen van gewasresten van aardappel op hun afbraak en de dynamiek van *Alternaria solani* in de gewasresten

Na klappen van het aardappelgewas waren in de grond begraven gewasresten van aardappelbladeren en stengels gedurende zes maanden voor 95% afgebroken in het eerste experiment dat na de aardappeloogst in 2020 begon (Fig. 6A). Blad- en stengelresten die onbehandeld bleven of in stukken van 10 cm of 2 cm werden gesneden, werden voor 92-93% afgebroken. Na de snelle afbraak gedurende de eerste zes maanden van het experiment verliep de verdere vertering langzamer. Na 24 maanden waren 1-2% van de oorspronkelijke gewasresten nog in het veld aanwezig. In 75% van de begraven zakken (die alle vier behandelingen vertegenwoordigen) werden resten aangetroffen, in de overige 25% van de zakken konden geen resten worden teruggevonden. Gewasresten die in het veld op het bodemoppervlak warengelegd, werden langzamer afgebroken (Fig. 6C) dan in de grond. Gedurende zes maanden werden 93% van de geklapte gewasresten afgebroken, terwijl onbehandelde gewasresten of gewasresten die in stukken van 10 cm of 2 cm waren gesneden, minder werden afgebroken met 84-87%. Na 24 maanden was nog steeds 3% van de geklapte gewasresten en 7-9% van de in stukken van 10 cm of 2 cm gesneden gewasresten aanwezig. In het tweede experiment, gestart na de oogst in 2021, verliep de afbraak van gewasresten van de aardappelbladeren en -stengels in de bodem aanvankelijk langzamer (Fig. 6B) dan in het eerste experiment. Na zes maanden waren 80% van de onbehandelde gewasresten afgebroken. Bij de andere drie behandelingen werd een hogere afbraak gevonden met 85-88%. De verdere afbraak verliep langzamer zonder significante verschillen tussen de behandelingen en na 24 maanden was nog slechts 1-4% van de residuen aanwezig in de begraven zakken. Ook was de afbraak van gewasresten die op het bodemoppervlak werden geplaatst langzamer vergeleken met het eerste experiment (Fig. 6D). Na 6 maanden was 80% van de gewasresten afgebroken zonder verschillen tussen de behandelingen. De verdere afbraak verliep langzaam, maar geklapte gewasresten waren iets sneller afgebroken dan onbehandelde of gesneden gewasresten. Na 24 maanden was nog 4% van de geklapte gewasresten aanwezig, terwijl nog steeds een groter aandeel van 10% van de in stukken van 2 cm gesneden gewasresten werd aangetroffen. Voor de twee experimenten werden slechts in enkele gevallen statistisch significante behandelingseffecten gevonden. Geklapte gewasresten werden aanzienlijk sneller afgebroken vergeleken met de onbehandelde gewasresten ($p=0,0045$) en de gewasresten die in stukken van 2 cm werden gesneden ($p=0,0090$). Er was echter een significant verschil tussen zakken die in de grond waren begraven versus zakken die op het grondoppervlak waren geplaatst ($p< 2,2e-16$). De afbraak was significant hoger tijdens de eerste twee bemonsteringsdata ($p<0,0001$), vergeleken met de afbraaksnelheid na het eerste jaar. Samenvattend liet de afbraak van gewasresten van aardappelbladeren en -stengels een vergelijkbaar patroon zien in beide experimenten voor alle 'snij'-behandelingen.

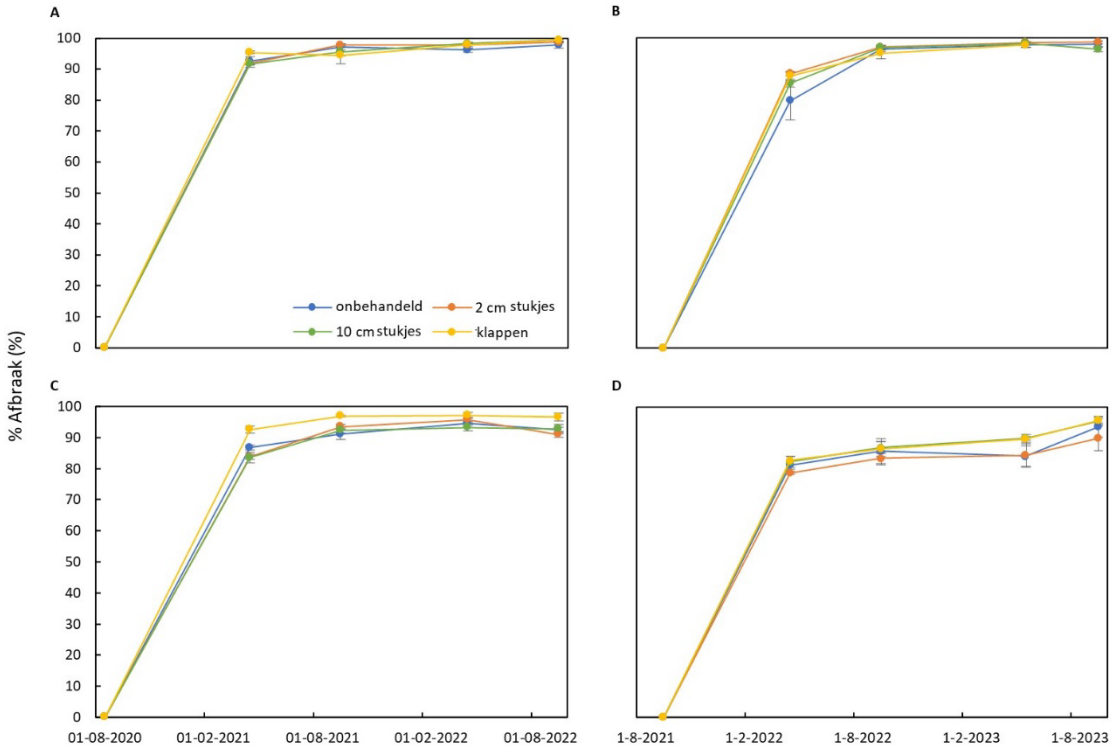
De concentratie van *A*. *solani*-DNA nam tijdens de eerste zes maanden sterk, met drie tot vier ordes, af in gewasresten van bladeren en stengels die in de grond waren begraven. Er waren geen verschillen tussen de behandelingen in het eerste experiment (Fig. 7A). De DNA-concentratie van *A*. *solani* daalde verder in de daaropvolgende maanden en na 24 maanden kon er geen *A*. *solani* meer worden gedetecteerd op de resterende gewasresten. Soortgelijke patronen werden gevonden in het tweede experiment (Fig. 7B). Er werden echter hogere concentraties *A*. *solani*-DNA gevonden in gewasresten die in stukjes van 2 cm waren gesneden na 12 maanden blootstelling in het veld met 3568 fg A.s. DNA mg^{-1} (dw) (teruggetransformeerde waarden) vergeleken met <50 fg A.s. DNA mg^{-1} (dw) bij de andere behandelingen. Aan het einde van het experiment, na 24 maanden, werden in enkele monsters van gewasresten nog lage hoevelheden van *A*. *solani*-DNA gevonden.

Voor gewasresten op het veldoppervlak werden verschillende patronen waargenomen, vergeleken met residuen begraven in de grond en tussen de twee experimenten (Fig. 7). In het eerste experiment daalde de DNA-concentratie van *A. solani* met twee ordes in geklapte gewasresten en en in stukken van 2 cm gesneden gewasresten, terwijl bij de andere behandelingen een dergelijke afname in concentratie niet werd gevonden gedurende de eerste zes maanden. De DNA-concentratie nam in de daaropvolgende maanden af in de geklapte gewasresten en na 24 maanden kon *A. solani* in dergelijke gewasresten niet meer worden gedetecteerd. In onbehandelde gewasresten en in stukken van 10 cm gesneden gewasresten werden hogere concentraties aangetroffen op de daaropvolgende

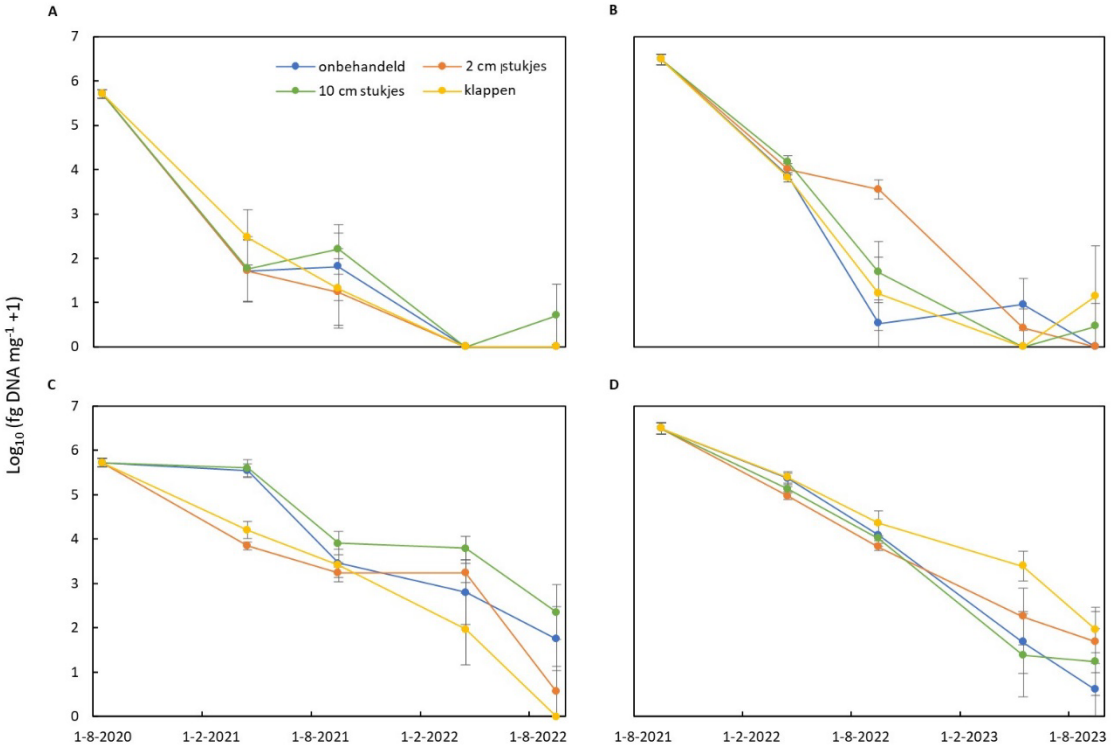
bemonsteringsdata. Na 24 maanden werden lage concentraties van 55-225 fg A.s. DNA mg^{-1} (dw) gedetecteerd. In het tweede experiment werd gedurende het eerste jaar geen behandelingseffect waargenomen (Fig. 7D).

In geklapte gewasresten waren er nog steeds 3568 fg A.s. DNA mg^{-1} (dw) na 18 maanden veldblootstelling op het bodemoppervlak en 87 fg A.s. DNA mg^{-1} (dw) na 24 maanden. Ook in resten van de overige behandelingen werden aan het einde van het experiment nog sporen van *A. solani* aangetroffen. Statistische analyse van beide experimenten liet bij geen van de behandelingen significante verschillen zien. De afbraak van de monsters van bladeren en stengels die op het bodemoppervlak achterbleven was aanzienlijk langzamer in alle bemonsteringsperioden, vergeleken met de monsters die in de bodem waren begraven. Samenvattend daalden de DNA-concentraties van *A. solani* bij alle behandelingen met twee tot vier ordes gedurende de eerste zes maanden en tot minieme of niet-detecteerbare concentraties na 24 maanden in de resterende gewasresten. De afname van de concentraties van gewasresten op bodemoppervlakken verliep over het algemeen langzamer, maar bereikte na 24 maanden een vergelijkbaar laag niveau als gevonden in begraven gewasresten.

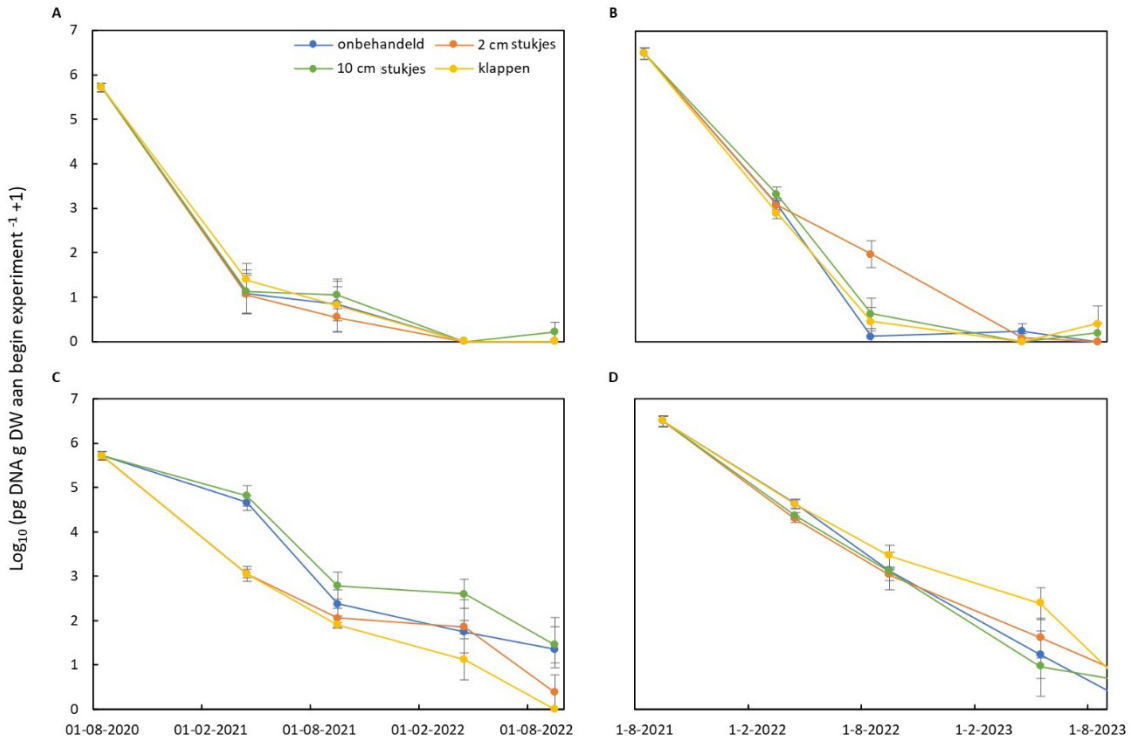
Het combineren van de gegevens over de afbraak van gewasresten en de DNA-concentratie van *A. solani* in de resterende gewasresten resulteerde in de hoeveelheden *A*. *solani*-DNA die aanwezig waren in de overblijfselen van de originele monsters die in de zakken waren geplaatst (uitgedrukt als pg-DNA van *A*. *solani* in overblijfselen van 1 g droog materiaal aan het begin van het experiment -1) (Fig. 8). De hoeveelheden *A*. *solani*-DNA aanwezig in overblijfselen van de gewasresten van bladeren en stengels namen gedurende de eerste zes maanden af met vijf ordes in gewasresten begraven in de grond in het eerste experiment en met twee ordes in het tweede experiment (Fig. 8 A, B) zonder consistente behandelingseffecten. In gewasresten neergelegd werden op het veldoppervlak werd in het eerste experiment een behandelingseffect gevonden dat voornamelijk werd veroorzaakt door de behandelingseffecten op de DNA-concentratie van *A*. *solani* in plaats van de behandelingseffecten op de vertering (Fig. 8C). In het tweede experiment volgde de afname van de DNA-hoeveelheden van *A*. *solani* hetzelfde patroon (Fig. 8D). Statistische analyse liet geen significante verschillen zien tussen de behandelingen. Er werden significante verschillen gevonden tussen plaatsing op bodemoppervlakte versus begraven en tussen bemonsteringsperioden.



Figuur 6. Afbraak (%) van gewasresten van aardappelbladeren en stengels behandeld door klappen of knippen in stukjes van 2 cm of 10 cm in vergelijking met onbehandelde gewasresten. Gewasresten werden begraven in de grond (A, B) of neergelegd op het bodemoppervlak (C, D). Er zijn twee experimenten gestart na de aardappeloogst in 2020 (A, C) en in 2021 (B, D). De afbraak is weergevegen als het percentage drooggewicht (% DW) dat op elke bemonsteringsdatum werd gemeten, vergeleken met het drooggewicht begin van de experimenten. Van: Köhl et al. (2024).



Figuur 7. Concentratie van *Alternaria solani* (log_{10} fg DNA van *A. solani* mg^{-1} droog materiaal + 1) in gewasresten van aardappelbladeren en stengels behandeld door klappen of knippen in stukjes van 2 cm of 10 cm in vergelijking met onbehandelde gewasresten. Gewasresten werden begraven in de grond (A, B) of neergelegd op het bodemoppervlak (C, D). Er zijn twee experimenten gestart na de aardappeloogst in 2020 (A, C) en in 2021 (B, D). De DNA-concentratie van *Alternaria solani* wordt uitgedrukt als het gemiddelde van log_{10}-getransformeerde gegevens van 10 herhalingen aan het begin van de experimenten en vijf herhalingen voor elke bemonsteringsdatum. Staven komen overeen met de standaardfout van de gemiddelen. Van: Köhl et al. (2024).



Figuur 8. Hoeveelheid *Alternaria solani* (log_{10} pg DNA van *A. solani*) in gewasresten van 1 g droog materiaal aan het begin van het experiment in gewasresten van aardappelbladeren en stengels behandeld door aardappelloof te klappen of te snijden in stukken van 2 cm of 10 cm in vergelijking met onbehandelde resten. Gewasresten werden begraven in de bodem (A, B) of blootgesteld aan het bodemoppervlak (C, D). Er zijn twee experimenten gestart na de aardappeloogst in 2020 (A, C) en in 2021 (B, D). Waarden werden berekend door rekening te houden met de afbraak van de gewasresten (Figuur 6) en de DNA concentratie van *A. solani* in de gewasresten (Figuur 7). Van: Köhl et al. (2024)

5 Discussie

Gewasresten, resten van onkruid en strooisel werden systematisch bemonsterd in een complex gewasrotatie-experiment. Concentraties van DNA van belangrijke pathogenen van de geteelde gewassen, *Alternaria solani* en *Cercospora beticola*, *Ramularia beticola* en *Stemphylium beticola*, werden gekwantificeerd in de gewasresten met behulp van nieuw ontwikkelde qPCR-tests. *Alternaria solan*i en *C. beticola* werden consistent gedetecteerd, terwijl *R. beticola* en *S. beticola* slechts in een paar monsters in lage concentraties werden aangetroffen. Dit komt overeen met het feit dat symptomen van ramularia en stemphyllium ook nauwelijks waargenomen werden in het veld, waar cercospora in alle jaren in grote mate voorkwam op suikerbieten.

De algehele resultaten toonden aan dat de twee pathogenen *A. solani* en *C. beticola* aanvankelijk na de oogst gewasresiduen van hun aardappel, respectievelijk suikerbieten koloniseerden in hoge dichtheden. Binnen enkele maanden namen de hoeveelheden beschikbare gastheerresiduen aanzienlijk af (zoals werd vastgesteld voor aardappelloofresiduen) en namen de concentraties pathogenen in de resterende gastheerresiduen eveneens sterk af. Alternatieve substraten, resten van niet-gastheergewassen (zoals bijvoorbeeld, wortel, mais, gerst en ui), waaronder groenbemesters en onkruiden, werden saprofytisch gekoloniseerd door de necrotrofe pathogenen. Dergelijke resten kunnen mogelijk dienen als brug voor pathogenenpopulaties tijdens gastheervrije teeltseizoenen (tussen twee aardappel- of bietenteelten) in gewasrotatiesystemen.

Kwantitatieve Taqman PCR-tests zijn krachtige hulpmiddelen voor de kwantitatieve bepaling van pathogeen populaties, omdat ze de concentratie van het beoogde DNA in milieumonsters betrouwbaar kunnen kwantificeren binnen een groot dynamisch bereik. Bovendien maakt opslag van DNA-monsters toekomstige metingen van aanvullende belangrijke pathogenen mogelijk, bijvoorbeeld van toxigene *Fusarium* spp. als pathogenen van maïs en gerst, *Alternaria dauci* en *A. radicina* als pathogenen van wortelen, *Botrytis squamosa* en *B. aclada*/*allii* als pathogenen van uien, en *Cercospora apii* als pathogeen van suikerbiet. Hierdoor kan kennis van de rol van gewasresten in de dynamiek van pathogenenpopulaties nog verder worden ontwikkeld.

De Taqman-PCR-test die is ontwikkeld voor de kwantificering van *A. solani* detecteert echter ook de nauw verwante Alternaria-soorten *A. linicola*, *A. catananches* sp. nov., *A. cichorii*, *A. conidiophora*, *A. dichondrae*, *A. grandis*, *A. alternariacida* sp. nov en *A. protenta*. De laatste drie soorten zijn ook beschreven als veroorzakers van aardappelbladvlekkenziekte. De andere *Alternaria*-soorten hebben verschillende gastheerbereiken en zijn niet in verband gebracht met aardappelen of andere gewassen die in het rotatie-experiment zijn geteeld. Het is dus niet waarschijnlijk dat DNA van *A. catananches*, *A. conidiophore*, *A. cichorii*, *A. dichondrae* of *A. linicola* in de onderzochte residumonsters aanwezig was in hoeveelheden die de hoeveelheden van *A. solani* ook maar benadereden. Voor *A. grandis*, *A. protenta* en mogelijk *A. alternariacida* wordt verwacht dat ze in Nederland aanwezig zijn, maar dit is nog niet bevestigd.

Onverwacht hoge concentraties DNA van *A. solani* werden gedetecteerd in residuen van Tagetes geteeld als groenbemester. Tagetes is geen bekende gastheer van *A. solani*. *A. tagetica* is echter beschreven als pathogeen van *Tagetes patula* die bladnecrose veroorzaakt. Sequentie-informatie over *A. tagetica* onthulde dat deze ziekteverwekker niet werd gedetecteerd door de toegepaste Taqman-PCR. Residuen van Tagetes kunnen een bijzonder geschikt substraat zijn voor *A. solani* of een van de nauw verwandte *Alternaria* soorten. Mogelijk valt de veroudering van Tagetes-gewassen in bepaalde periodes samen met hoge *A. solani*-dichtheden op andere residuen, wat leidt tot een snelle en intense kolonisatie van Tagetes-residuen. Omdat groenbemesters enorme hoeveelheden residuen produceren, moet hun specifieke rol in de dynamiek van pathogenenpopulaties in verdere studies worden onderzocht.

De Taqman-PCR-test die is ontwikkeld voor de kwantificering van *Cercospora beticola* detecteert ook *C. plantaginis*. *C. plantaginis* is geassocieerd met weegbree, een alomtegenwoordige soort in Nederland die doorgaans niet groeit op akkers. Er zijn geen meldingen van *C. plantaginis* op suikerbieten of andere gewassen die zijn geteeld in het rotatie-experiment of andere plantengeslachten. Het is dus niet erg waarschijnlijk dat DNA van *C. plantaginis* aanwezig was in de onderzochte residumonsters in hoeveelheden die interfereren met de verkregen resultaten voor *C. beticola*.

De beoordelingen van pathogeen-DNA in plantenresten, waaronder strooisel, aanwezig in de bovenste bodemlaag in het rotatie-experiment onthulden een gemeenschappelijk patroon voor zowel *A. solani* als *C. beticola*. Pathogeen-DNA-concentraties waren hoog in gewasresten, onkruidresten en resten in strooisel na de oogst van aardappel, respectivelijk suikerbieten.. De concentraties namen aanzienlijk af in de daaropvolgende maanden. Pathogeen-DNA werd in lage concentraties aangetroffen in plantenresten van percelen met een niet-gastgewas, zoals wortel, gerst, mais en uien. Dergelijke resultaten varieerden echter in de tijd en tussen herhalingen. Specifieke variatie en af en toe hoge concentraties werden gemeten in residuen van onkruid, hoogstwaarschijnlijk omdat bepaalde onkruiden die in de rotatiepercelen voorkwamen, als gastheren fungeerden, bijvoorbeeld melganzenvoet voor *C. beticola* of zwarte nachtschade voor *A. solani*. Het risico dat residuen van onkruid die als gastheren van de bestudeerde pathogenen fungeren, bijdragen aan de overleving van pathogenen in een rotatiesysteem, kan toenemen in toekomstige teeltsystemen met verminderde input van herbiciden. Hoewel dit nog niet is waargenomen in de vergelijking tussen het referentieteeltsysteem en het ICM-teeltsysteem gedurende de eerste jaren van het experiment, wordt verwacht dat het voorkomen van bepaalde onkruiden zal toenemen na enkele jaren van implementatie van ICM-systemen met verminderd herbicidengebruik.

De resultaten geven aan dat residuen van niet-gastgewassen een belangrijke rol kunnen spelen, waardoor pathogenen perioden in het veld zonder gastgewassen kunnen overbruggen. Residuen zullen bij de oogst van een gewas in grote hoeveelheden aanwezig zijn en in de daaropvolgende maanden afnemen, zoals is aangetoond voor residuen van het aardappelblad in de aanvullende experimenten met residubehandelingen. Groenbemesters die zijn opgenomen in gewasrotatieschema's kunnen een specifieke rol spelen, omdat ze biomassa produceren die volledig op het veld blijft en wordt omgezet in plantenresten. Deze plantenresten worden vervolgens mogelijk gekoloniseerd door pathogenen en kunnen dien als brug tussen twee aardappel- of suikerbietenteelten.

De hypothese voor de veldproef met behandelingen van aardappelbladerresiduen was dat *A. solani*-concentraties sneller afnemen in kleinere stukjes residu materiaal, omdat kleinere stukken sneller kunnen worden gekoloniseerd door saprofyten die de pathogenen verdringen en sneller kunnen worden afgebroeken. Echter, effecten van behandelingen van de gewasresiduen op *A. solani* konden niet worden gevonden. In de experimenten werd een duidelijk hoofdeffect aangetoond. Gewasresiduen begraven in de grond vergingen aanzienlijk sneller en de concentratie van *A. solani* nam ook sneller af in vergelijking met residuen op het bodemoppervlak. Dit kan te wijten zijn aan verschillende omgevingsomstandigheden met een hogere en constantere beschikbaarheid van vocht in begraven substraten in combinatie met een verschillende samenstelling van het binnendringende micro-organismen die zich ontwikkelt in de residuen. Het begraven van gewasresten, bijvoorbeeld door ploegen, kan niet alleen de afbraak bevorderen en de kolonisatie van pathogenen verminderen, maar zal ook de overdracht van pathogenen van gastheerresten naar residuen die aanwezig zijn na de oogst van het daaropvolgende niet-gastgewas blokkeren. Dit mogelijke voordeel van kerende grondbewerking bij het beheer van pathogenen vereist verdere aandacht in toekomstige studies naar grondbewerkingssystemen

Pathogeenpopulaties kunnen afgestorvene plantenweefsels saprofytisch koloniseren, zoals gemeten in deze studie. De verschillende inoculumbronnen kunnen potentieel nieuwe epidemieën initiëren in vatbare gewassen. Nog niet vastgesteld is welke niveaus van het pathogeen nodig zijn om vanuit gewasresten een epidemie te initieren. Toekomstige teeltsystemen met verminderde grondbewerking en niet-kerende grondbewerking die gericht zijn op verminderde CO_2-uitstoot, toename van organische stof in de bodem en verbeterde bodemstructuur, zullen resulteren in toenemende hoeveelheden gewasresten. Gewasresten op het veld kunnen echter een belangrijke bron zijn van

pathogeen-inoculum zoals ook door de resultaten van deze studie is aangetoond. Ze zouden er ook aan kunnen bij dragen dat er een voor pathogenen antagonistische populatie wordt opgebouwd. Beheer van gewasresten - zonder in te grijpen in de algemene doelen van het verhogen van organische stof in akkerbouwsystemen - is dus een toekomstige uitdaging om het inoculumpotentieel te verlagen en vervolgens ziekte-uitbraken te vertragen of zelfs te voorkomen. Gewasresten van in rotatie geteelde niet-gastheergewassen als alternatieve routes voor pathogenen, maken de levenscycli van pathogenen complexer en overwegingen van sanitaire maatregelingen moeilijker. Aan de andere kant zullen sanitaire maatregelen die gericht zijn op gewasresten kort na de oogst niet alleen de ontwikkeling van populaties van pathogenen van dit specifieke gewas blokkeren, maar ook pathogenen van andere gewassen die in de rotatie worden geteeld. Dit verhoogt de waarde van gericht gewasrestenbeheer en kan een integrale sanering van het gewasrotatiesysteem mogelijk maken in plaats van sanering gericht op één enkele pathogeen.

6 Conclusie

Gewasresten die saprofytisch gekoloniseerd zijn door necrotrofe plantpathogenen zijn een belangrijke primaire inoculumbron voor epidemieën van bladziekten, zoals bijvoorbeeld voor alternaria en cercopsora. Resten van gewassen, onkruiden en strooisel werden systematisch bemonsterd in een complex gewasrotatie-experiment (Akkerbouw op zand). Concentraties van DNA van belangrijke pathogenen van de geteelde gewassen, *Alternaria solani* in aardappel en *Cercospora beticola*, *Ramularia beticola* en *Stemphylium beticola* in suikerbiet, werden gekwantificeerd in de plantenresten met behulp van nieuw ontwikkelde qPCR-tests. De algehele resultaten tonen aan dat *A. solani* en *C. beticola* gewasresten van hun gastgewassen in eerste instantie in hoge dichtheden koloniseerden na de oogst, terwijl *R. beticola* en *S. beticola* vrijwel afwezig waren in het veld, zowel op de waardplant en bijgevolg ook op de gewasresten. Binnen enkele maanden namen de hoeveelheden beschikbare gewasresten aanzienlijk af, zoals waargenomen in een aanvullen aardappel experiment en daalden de concentraties pathogenen in de resterende gewasresten sterk. Alternatieve substraten, residuen van niet-gastheergewassen, waaronder groenbemesters en onkruiden, werden saprofytisch gekoloniseerd door de necrotrofe pathogenen *A. solani* en *C. beticola*. Er kan worden geconcludeerd dat gewasresten van niet-gastheren mogelijk kunnen dienen als een belangrijke brug voor pathogenenpopulaties tijdens gastheervrije teeltseizoenen in gewasrotatiesystemen. Deze bevindingen dragen bij aan de ontwikkeling van rationele strategieën voor gewasrestbeheer die gericht zijn op ziektepreventie door het inoculumpotentieel in gewasrotatiesystemen te verlagen.

7 Referenties

Köhl, J., Elena, G., Hanse, B., Houwers, I., Groenenboom-de Haas, L., de Lange, E., Verstegen, H., Evenhuis, A. (2024). Population dynamics of *Alternaria solani*, *Cercospora beticola*, *Ramularia beticola* and *Stemphylium beticola* in residues of host crops, non-host crops and weeds in Dutch rotation systems. Frontiers in Agronomy 6:1470598. https://doi.org/10.3389/fagro.2024.1470598

Corresponding address for this report:

P.O. 16

6700 AA Wageningen

Nederland

T +31 (0)317 486001

www.wur.eu/plant-research

The mission of Wageningen University and Research is "To explore the potential of nature to improve the quality of life". Under the banner Wageningen University & Research, Wageningen University and the specialised research institutes of the Wageningen Research Foundation have joined forces in contributing to finding solutions to important questions in the domain of healthy food and living environment. With its roughly 30 branches, 5,000 employees and 10,000 students, Wageningen University & Research is one of the leading organisations in its domain. The unique Wageningen approach lies in its integrated approach to issues and the collaboration between different disciplines.