



Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2014 – 2015

Analyse van voorspellingsmodellen voor *Alternaria* en hun toepasbaarheid in Vlaanderen

Jolien De Reu

Promotor: Prof. Dr. Willem Waegeman

Co-promotor: Dr. Ir. Sofie Landschoot

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van
Master in de bio-ingenieurswetenschappen: landbouwkunde



Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2014 – 2015

Analyse van voorspellingsmodellen voor *Alternaria* en hun toepasbaarheid in Vlaanderen

Jolien De Reu

Promotor: Prof. Dr. Willem Waegeman

Co-promotor: Dr. Ir. Sofie Landschoot

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van
Master in de bio-ingenieurswetenschappen: landbouwkunde

De auteur en promotoren geven de toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen ervan te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting uitdrukkelijk de bron te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze scriptie.

The author and supervisors give the permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subject to the copyright laws, more specifically the source must be extensively specified when using results from this thesis.

Gent, Juni 2015

De promotoren

De auteur

Prof. Dr. Willem Waegeman

Jolien De Reu

Dr. Ir. Sofie Landschoot

Woord vooraf

Zonder de hulp en inzet van anderen was het realiseren van deze masterproef niet mogelijk geweest. Daarom wil ik even de tijd nemen om enkele personen te bedanken.

Graag wil ik Prof. Dr. Willem Waegeman bedanken om mij toe te laten op dit onderwerp, steeds beschikbaar te zijn voor vragen en het grondig nalezen van deze masterproef. Ik wil ook graag mijn co-promotor Dr. Ir. Sofie Landschoot bedanken. Zij besteedde veel tijd en energie om me goed te begeleiden. Ik kon bij haar steeds terecht voor nuttige tips, informatie en praktische hulp.

Ook de medewerkers van de proefhoeve te Bottelare en de laboranten van Hogeschool Gent wil ik bedanken voor het ter beschikking stellen van de praktische ruimte en het in goede banen leiden van de proeven. Daarnaast wil ik het Interprovinciaal Proefcentrum voor de Aardappelteelt bedanken voor het ter beschikking stellen van hun weerdata en proefresultaten. Ook Inagro leverde proefresultaten aan, waarvoor mijn dank.

Tot slot wil ik mijn familie en vrienden bedanken voor hun allesomvattende steun.

Jolien De Reu
Gent, juni 2015

Samenvatting

Het laatste decennium worden *Alternaria*-aantastingen in Vlaanderen door de aardappelsector als een toenemend probleem ervaren. De ziekte leidt voornamelijk tot vroegtijdig afsterven van het loof met opbrengstverlies tot gevolg. De kennis over het ziekteverloop van *Alternaria* onder gematigde omstandigheden is nog beperkt. Om deze kennis uit te breiden werden in dit eindwerk een potproef, een infectieproef en een fungicidenproef aangelegd. Ook resultaten van fungicidenproeven elders in Vlaanderen werden geanalyseerd. Tevens is er een gebrek aan informatie over de bruikbaarheid van bestaande ziektemodellen voor *Alternaria* onder gematigde omstandigheden. Daarom werden bestaande voorspellingsmodellen grondig onder de loep genomen. De bruikbaarheid onder Vlaamse omstandigheden werd geëvalueerd met behulp van observaties van *Alternaria*-aantastingen op waarnemingsvelden verspreid over heel Vlaanderen en weerdata verzameld door het PCA.

Via de inoculatieproeven, zowel in de serre als in veldomstandigheden, werd wel degelijk infectie veroorzaakt door *Alternaria alternata* vastgesteld. Indien er een significant verschil in aantasting merkbaar was, bleek de aantasting lager bij *A. alternata* dan bij *A. solani*. Uit de fungicidenproef in Bottelare kwamen Terminett (BSC+PCS), Tanos + Shirlan (CYM+FXD+FZN) en Ciaral star + Amistar (DFZ+MDP+AZX) als best werkende fungiciden naar voor. Bij de fungicidenproef in Beitem bleek Tanos + Shirlan (CYM+FXD+FZN) efficiëntst in zijn werking tegen *Alternaria*. De interpretatie van de resultaten uit de veldproeven moet echter met de nodige voorzichtigheid gebeuren aangezien de aantasting van de onbehandelde aardappelen eveneens bijzonder laag was. Uit de resultaten van de fungicidenproeven in Beitem en Kruishoutem kon afgeleid worden dat de aantasting door de natuurlijke *Alternaria*-populatie pas een piek kende in het tweede deel van augustus.

In deze thesis werden bestaande voorspellingsmodellen voor *Alternaria* opgedeeld in vier categorieën: pathogeen-gebaseerde modellen, plant-gebaseerde modellen, mechanistische modellen en data-gedreven modellen. De eerste twee groepen modellen werden in de mate van het mogelijke geïmplementeerd en gebruikt om *Alternaria* te voorspellen op basis van de weersomstandigheden van 2013 tot 2014 voor drie verschillende regio's in Vlaanderen, de Kempen, het oosten van Brussel en het westen van Brussel. De voorspellingen voor de eerste fungicidetoepassing via bestaande voorspellingsmodellen waren overwegend te vroeg. Bij het FAST-model, kon beiden: te vroeg of te laat. Daarnaast dient opgemerkt te worden dat de verschillen van de voorspellingen tussen de drie regio's binnen één groeiseizoen zeer beperkt zijn, terwijl op de waarnemingsvelden regionale verschillen wel duidelijk zijn. Dit wijst erop dat het optimale voorspellingsmodel nog andere parameters vereist. Er werd tevens afgetoetst of een combinatie van een pathogeen- en een plant-gebaseerd model dienst kan doen onder Vlaamse omstandigheden. Er werden empirische regels opgesteld, maar om echt betrouwbare resultaten te bekomen zouden nog meer data van verschillende groeiseizoenen en regio's noodzakelijk zijn. Aangezien de *Alternaria*-aantasting door heel veel verschillende factoren bepaald wordt, zijn data-analyse technieken zeer interessant voor het maken van voorspellingen. Het nadeel aan deze technieken is dat er om betrouwbare voorspellingen te kunnen maken heel wat data nodig zijn. In deze thesis waren te weinig data beschikbaar om zo betrouwbare resultaten te kunnen bekomen.

Inhoudsopgave

1. Inleiding	1
2. <i>Alternaria</i>	3
2.1 Wat is <i>Alternaria</i> ?	3
2.2 Situering van het probleem in de aardappelteelt in België.....	4
2.2.1 Aardappelteelt in België	4
2.2.2 Het probleem van <i>Alternaria</i> -aantastingen.....	4
2.3 Levenscyclus van <i>Alternaria</i> -species.....	5
2.4 <i>Alternaria solani</i> versus <i>Alternaria alternata</i>	7
2.4.1 Belang en voorkomen	7
2.4.2 Morfologie	9
2.4.3 Temperatuurvereisten	9
2.4.4 Pathogeniciteit	10
2.5 Beheersmaatregelen	11
3. Situatie Vlaanderen 2014	15
3.1 Inleiding	15
3.2 Potproef.....	15
3.2.1 Beschrijving van de proef.....	15
3.2.2 Scoren van ziektesymptomen	15
3.2.3 Statistische analyse	16
3.2.4 Resultaten en discussie	17
3.3 Infectieproef.....	18
3.3.1 Beschrijving van de proef.....	18
3.3.2 Scoren van ziektesymptomen en het nemen van bladstalen	18
3.3.3 Statistische analyse	19
3.3.4 Verwerking bladstalen.....	19
3.3.5 Resultaten en discussie	21
3.4 Fungicidenproef.....	25
3.4.1 Beschrijving van de proef.....	25
3.4.2 Scoren van ziektesymptomen en bladstalen.....	25
3.4.3 Statistische analyse	26
3.4.4 Verwerking bladstalen.....	26
3.4.5 Resultaten en discussie	27

4. Bestaande voorspellingsmodellen	33
4.1 Geïntegreerde bestrijding a.d.h.v. voorspellingsmodellen	33
4.2 Pathogeen-gebaseerde modellen.....	34
4.2.1 FAST (Forecast System for <i>Alternaria solani</i> on Tomato).....	34
4.2.2 IWP-model	35
4.3 Plant-gebaseerde modellen.....	36
4.3.1 Dag-graden model	36
4.3.2 P-dagen model.....	37
4.4 Mechanistisch model	39
4.4.1 EPIDEM	39
4.5 Data-gedreven modellen	41
4.5.1 Regressiemodel Holley	41
4.5.2 Neurale netwerken.....	42
4.5.3 ARIMA	45
5. Toepasbaarheid van bestaande voorspellingsmodellen in Vlaanderen.....	47
5.1 Inleiding	47
5.2 Vergelijken weersgegevens en <i>Alternaria</i> -aantasting 2013 en 2014	47
5.3 Implementatie van bestaande voorspellingsmodellen	48
5.3.1 FAST-model.....	48
5.3.2 IWP-model	49
5.3.3 Dag-graden model	51
5.3.4 P-dagen model.....	51
5.3.5 Regressiemodel van Holley	53
5.4 Aanpassen modellen	53
5.4.1 FAST-model.....	53
5.4.2 GDD-model	55
5.4.3 Combinatie van FAST en GDD-model	55
5.4.4 Regressiemethoden	57
6. Besluit.....	61
 Bibliografie.....	 63
 Bijlage: Inhoud van bijgevoegde CD.....	 69

Hoofdstuk 1

Inleiding

Het laatste decennium worden *Alternaria*-aantastingen in Vlaanderen door de aardappelsector als een toenemend probleem ervaren. Twee species *Alternaria solani* en *Alternaria alternata* zijn de boosdoeners. De ziekte leidt voornamelijk tot vroegtijdig afsterven van het loof met opbrengstverlies tot gevolg.

In andere aardappel-producerende regio's over de wereld is *Alternaria* al veel langer een groot probleem. Zo is *Alternaria* een belangrijkere ziekteverwekker dan *Phytophthora infestans* in Zuid-Afrika en de USA (Schepers et al., 2010). Om die reden zijn er dan ook heel wat voorspellingsmodellen voor *Alternaria* terug te vinden in de literatuur. De kans dat deze modellen ook onder Vlaamse omstandigheden toepasbaar zijn, is bijzonder klein omdat *Alternaria* zich anders lijkt te ontwikkelen in gematigde klimaten t.o.v. in continentale klimaten. De kennis over het ziekteverloop in gematigde omstandigheden is echter nog beperkt.

Deze thesis heeft als doel de kennis over het ziekteverloop van *Alternaria* in Vlaanderen uit te breiden. Hiervoor werd een potproef, een infectieproef en een fungicidenproef aangelegd. Bij de eerste twee proeven werden aardappelplanten artificieel geïnfecteerd met *Alternaria solani* of *Alternaria alternata* of een mengsel van beiden. De pathogeniciteit van beide species werd op deze manier achterhaald. Bij de fungicidenproef gebeurde louter natuurlijke infectie. Hier was het doel tweeledig, enerzijds werd de werkzaamheid van verschillende fungiciden tegen *Alternaria* vergeleken. Anderzijds werd er een beeld gevormd van de natuurlijke *Alternaria* populatie in Vlaanderen via qPCR-analyses van aangetaste bladstalen.

Daarnaast heeft dit eindwerk als doel de reeds bestaande voorspellingsmodellen voor *Alternaria* te bestuderen en een evaluatie te maken over hun bruikbaarheid onder Vlaamse omstandigheden. Data verzameld in Vlaanderen gedurende de twee voorgaande aardappelseizoenen, werden hiervoor gebruikt. De data waren afkomstig van commerciële waarnemingsvelden verspreid over heel Vlaanderen. Weersgegevens van deze perioden werden ter beschikking gesteld door het Interprovinciaal Proefcentrum voor de Aardappelteelt (PCA).

Deze masterproef kadert binnen het meerjarig landbouwproject: "Naar een beredeneerde en kennisgestuurde aanpak van *Alternaria* spp. in aardappel". Dit project heeft tot doel om een adequate voorlichting m.b.t. *Alternaria* bij aardappel te realiseren gebaseerd op een wetenschappelijk onderbouwd ziektemodel. Hiervoor dienen de kennishiaten omtrent *Alternaria* in gematigde klimaten opgevuld te worden.

Hoofdstuk 2

Alternaria

2.1 Wat is *Alternaria*?

Alternaria species zijn een diverse groep van schimmels met een zeer breed gastheerspectrum, o.a. granen, heel wat sierplanten, groenten zoals bloemkool, broccoli, aardappel en fruit zoals appel, citrusvruchten en tomaat. Het geslacht bestaat voornamelijk uit saprofieten, maar ook primaire plant-pathogenen en opportunistische pathogenen komen voor. Sommige species zijn gekend als na-oogst pathogenen. *Alternaria* sporen zijn bovendien één van de meest voorkomende allergenen in de lucht (Thomma et al., 2003).

Hieronder wordt de taxonomie van *Alternaria* weergegeven (Höfte, 2013):

Rijk: Fungi

Stam: Ascomycota

Klasse: Dothideomycetes

Subklasse: Dothideomycetidae

Orde: Pleosporales

Familie: Pleosporaceae

Geslacht: *Alternaria*

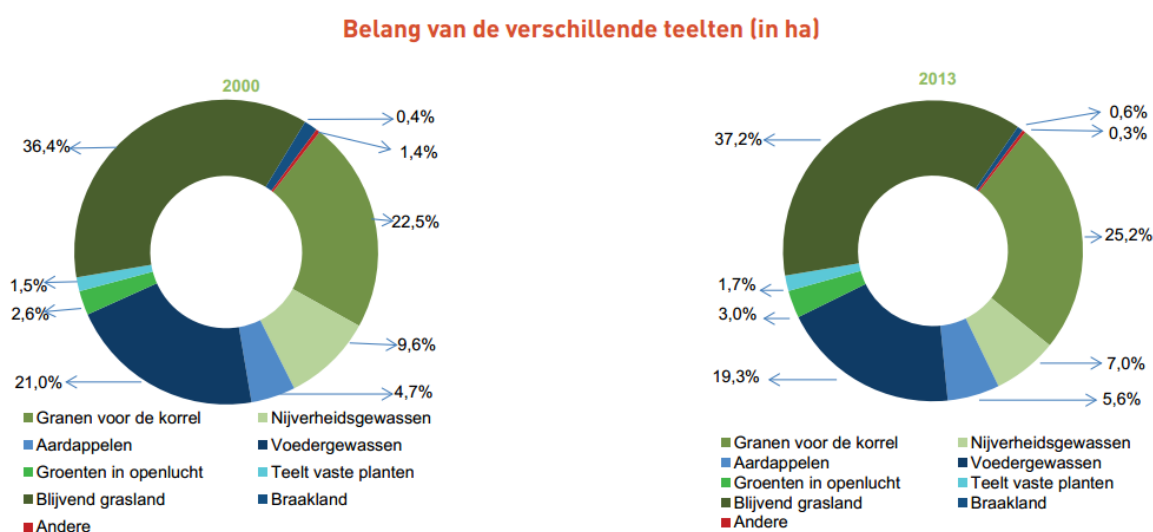
De taxonomische eigenschap bij uitstek voor het geslacht *Alternaria* is de productie van multicellulaire, gemelaniseerde conidia met zowel longitudinale als transversale septa. Melanine speelt een rol bij de ontwikkeling van conidia en bij de bescherming tegen ongunstige omgevingsfactoren (Kawamura et al., 1999). Wereldwijd worden er meer dan 100 species behorend tot het geslacht *Alternaria* beschreven (Simmons, 1992). Rotem et al. (1994) veronderstellen echter dat er fouten in de taxonomische indeling kunnen opgetreden zijn omwille van de grote morfologische variabiliteit van de species. *Alternaria* species hebben geen gekende seksuele vorm. Anastomose of dus vegetatieve fusie van de hyfen, komt wel voor en draagt bij tot morfologische en fysiologische variabiliteit binnen anastomose groepen (Craven et al., 2008). Volgens onderzoek van Weber et al. (2002) zou ook de variabiliteit in virulentie tussen verschillende *Alternaria* isolaten toe te schrijven zijn aan anastomose. *Alternaria* species infecteren gemakkelijk verzwakte weefsels, zoals ouder of gewond plantenweefsel en planten in een stressvolle omgeving. Saprofiete *Alternaria* species kunnen parasitair worden wanneer ze in aanraking komen met verzwakte gastheren (Thomma et al., 2003).

Voor de aardappelteelt zijn *Alternaria solani* en *Alternaria alternata* van groot belang. Zij veroorzaken respectievelijk 'early blight' en 'brown spot' (van der Waals et al., 2013) en komen voor in de meeste aardappelproducerende regio's.

2.2 Situering van het probleem in de aardappelteelt in België

2.2.1 Aardappelteelt in België

De aardappel (*Solanum tuberosum* L.) is zeer belangrijk voor de Belgische landbouw. Volgens de berekeningen van de Federale Overheidsdienst Economie (2014) besloeg de aardappelteelt in 2013 5,6 % van het landbouwareaal. In oppervlak is de aardappelteelt hiermee de vijfde grootste teelt in België, na blijvend grasland, granen, voedergewassen en nijverheidsgewassen. Dit stemt overeen met 73.315 hectare en een opbrengst van 3.427.961 ton (FOD, 2014). Voor 2014 wordt de totale Belgische productie aan consumptieaardappelen geraamd op 4,58 miljoen ton (PCA, 2014).



Figuur 2.1: Verdeling landbouwareaal in België (Algemene Directie Statistiek Federale Overheidsdienst Economie, 2014).

2.2.2 Het probleem van *Alternaria*-aantastingen

De laatste tientallen jaren komt aantasting van aardappelen door *Alternaria* steeds vaker voor. Men vermoedt dat dit enerzijds het gevolg is van een verschuiving bij het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen, namelijk van breed-spectrum middelen naar specifiek werkende middelen voor de bestrijding van de aardappelziekte veroorzaakt door *Phytophthora infestans*. De specifieke middelen blijken veel minder of niet effectief te zijn tegen *Alternaria*. Daarnaast werd ook aangetoond dat een lagere stikstofgift leidt tot een toegenomen gevoeligheid voor aantasting door *Alternaria* (PCA, 2014). Zuinigere stikstofbemesting is het gevolg van strengere wettelijke bemestingsnormen in onze milieubewustere samenleving (Heirman, 2006). Vaak wordt ook naar de klimaatsveranderingen gerefereerd als een mogelijke oorzaak van het toegenomen *Alternaria*-probleem (Spoelder et al., 2013).

Alternaria-ziekten zijn voornamelijk bladziekten. Ze leveren opbrengstverlies door het vroegtijdig afsterven van het loof en dus gereduceerde fotosynthesecapaciteit. Maar ook aardappelknollen kunnen aangetast worden, wat tot een rechtstreeks opbrengstverlies leidt. In verschillende regio's worden verschillende groottes van opbrengstverliezen gerapporteerd, zie Tabel 2.1 (Kapsa et al., 2009). Significante opbrengstverliezen komen voornamelijk voor in regio's met warme, natte condities vroeg in het seizoen (Hausladen & Leiminger, 2007; Kapsa et al., 2007).

Tabel 2.1: Geschatte opbrengstverlies veroorzaakt door *Alternaria* spp. bij aardappel (Kapsa et al., 2009).

Land	Opbrengstverlies	Bron
USA (Colorado)	10-57 %	Harrison et al., 1965
Rusland	25 %, lokaal tot 60 %	Reinoch et al., 1974
USA	20-30 %	Johnson et al., 1986; Fry et al., 1994
Nederland	≤ 50 %	Hadders et al., 2002
Brazilië	≤ 73 %	Brune et al., 1998
Zuid-Afrika	≤ 50 %	Denner & Theron, 1999
Polen	10-32 % 6-45 %	Kuczyńska et al., 1992 Kapsa & Osowski, 2004

Er is tot nu weinig informatie beschikbaar over de opbrengstverliezen door *Alternaria* in België. Uit enquêtes van het Proefcentrum van de Aardappelteelt (PCA) van 2009 tot 2011 blijkt dat 93 % van de ondervraagde aardappeltelers aangeeft zijn middelenkeuze in de gewasbescherming af te stemmen op de beheersing van *Alternaria* en dat 60 tot 75 % (2011) aangeeft bijkomende specifieke bespuitingen uit te voeren. Deze resultaten duiden op het belang van het *Alternaria*-probleem in België.

2.3 Levenscyclus van *Alternaria*-species

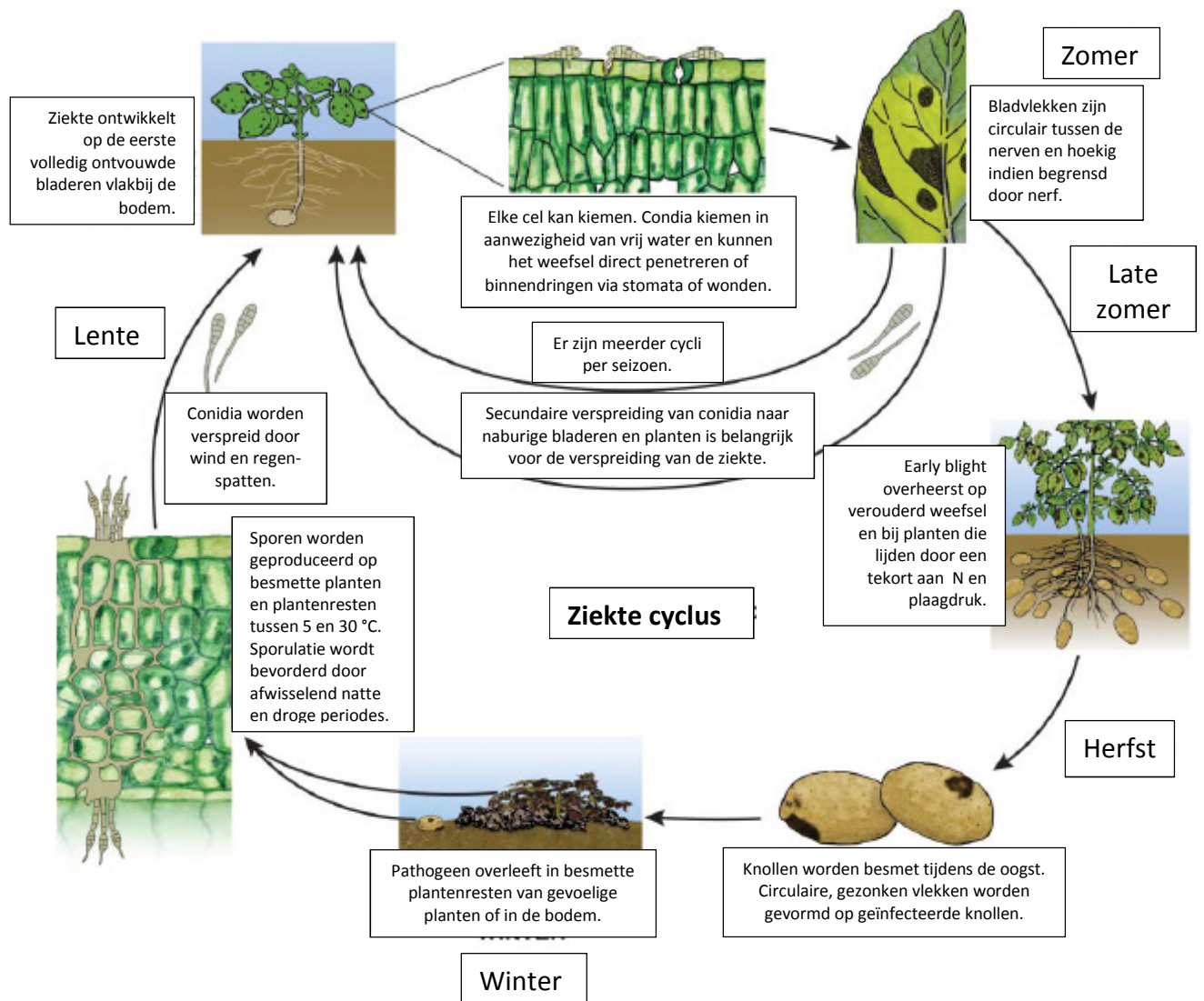
De levenscyclus van *Alternaria solani* wordt weergegeven in Figuur 2.2.

Alternaria spp. overwinteren als myceliumdraden of als sporen in aangetaste plantenresten en bodem, in geïnfecteerde aardappelknollen en in plantenresten van gevoelige onkruiden zoals Kleverige nachtschade (*Solanum sarachoides*) (Thomma et al., 2003; Wharton & Kirk, 2007). *Alternaria* heeft geen gekende seksuele vorm (Rotem et al., 1994). Anastomose of dus vegetatieve fusie van de hyfen, komt wel voor en draagt bij tot morfologische en fysiologische variabiliteit binnen anastomose groepen (Craven et al., 2008). Overwinterende sporen en myceliumdraden van *Alternaria*-species zijn donker gepigmenteerd door melanine en kunnen een breed spectrum van omgevingscondities weerstaan, met name blootstelling aan zonlicht en herhaalde cyclussen van bevriezen, ontdooien en opdrogen (Kawamura et al., 1999; Wharton & Kirk, 2007). In de lente zijn de sporen (conidia), het primair inoculum die zorgen voor het aanvangen van de ziekte. Planten die groeien in velden of aangrenzend aan velden waar het vorige seizoen aardappelen geïnfecteerd werden met *Alternaria*-ziekten zijn het meest vatbaar voor infectie door de aanwezigheid van grote hoeveelheden overwinterd inoculum. Initieel inoculum wordt gemakkelijk verspreid binnen en tussen velden omdat de sporen gemakkelijk meegenomen worden door luchtstromen, verwaaiende bodemdeeltjes, regenspatten en irrigatiewater (Wharton & Kirk, 2007).

Mycelium dat groeit op en in aardappelplanten en plantenresten kan conidioforen vormen. Volgens Waggoner et al. (1969) begunstigt licht de initiatie van dit proces. Sporulatie vindt bij temperaturen boven 15°C enkel plaats in afwezigheid van licht. 50 % van de conidioforen die in een periode van licht geproduceerd werden, zullen sporen vormen gedurende een daaropvolgende periode van tien uren zonder licht. Bij temperaturen onder de 15 °C werd echter wel sporulatie in omstandigheden met licht vastgesteld. Afwisselende natte en droge periodes zijn gunstig voor het sporulatie-proces. De verspreiding van sporen volgt een dagelijks patroon waarbij het aantal sporen in de lucht toeneemt als bladeren die nat waren door dauw of regen opdrogen, relatieve vochtigheid daalt en

windsnelheid toeneemt. Het aantal sporen in de lucht is meestal het hoogst halverwege de ochtend en neemt af in de late avond en 's nachts (Wharton & Kirk, 2007). Conidioforen vormen gemiddeld drie tot vier generaties sporen (Waggoner et al., 1969).

Sporen die landen op bladeren van gevoelige planten vereisen vocht om te kunnen kiemen. De bron voor dit vocht kan zowel vloeibaar water als vochtige lucht zijn. Echter sporen die kiemen in vloeibaar water overleven omstandigheden met droge lucht niet, in tegenstelling tot sporen die kiemen in vochtige lucht, deze sporen overleven omstandigheden met droge lucht (Waggoner et al., 1969). Gekiemde sporen kunnen het weefsel op verschillende wijzen penetreren, met of zonder appressorium, direct door de epidermis, door de stomata of door wonden (Wharton & Kirk, 2007; Dephour et al., 2007). Omdat *Alternaria*-sporen multicellulair zijn, kan één spore tegelijk meerdere kiembuizen vormen. Elke cel van de spore kan immers kiemen (Thomma et al., 2003; Wharton & Kirk, 2007). Vrij vocht en gunstige temperaturen zijn noodzakelijk voor sporenkieming en infectie van plantenweefsel. Twee à drie dagen na de infectie worden bladvlekken gevormd (Wharton & Kirk, 2007). Uit experimenten van Waggoner et al. (1969) bleek dat de hoeveelheid bladnaturen bepaalt hoe snel de bladvlekken vergroten.



Figuur 2.2: Ziektecyclus van *Alternaria solani* (Wharton & Kirk, 2007).

Alternaria is een polycyclische schimmel, in één groeiseizoen komen dus meerdere infectiecycli voor. Secundaire verspreiding van de pathogeen begint wanneer sporen geproduceerd worden op bladvlekken. *Alternaria*-ziekten treffen voornamelijk ouder plantenweefsel en planten in stresssituaties, bijvoorbeeld door een tekort aan essentiële voedingselementen, door wonden van insecten, door infectie door virussen, De eerste bladeren die geïnfecteerd worden zijn steeds volledig ontvouwde bladeren dicht bij de bodem, later wordt ook jonger weefsel aangetast. De snelheid van de ziekteverspreiding neemt toe na de bloei en kan heel snel gaan gedurende de periode van knolgroei en stress (Wharton & Kirk, 2007).

Alternaria spp. kunnen ook de aardappelknol aantasten. In dit geval penetreren kiemende sporen de knolepidermis door lenticellen en wonden. Knollen worden vaak gecontamineerd met *Alternaria*-schimmels gedurende de oogst. Vooral niet goed afgeharde knollen zijn vatbaar omdat de huid gemakkelijker beschadigd wordt (ontveling door schuren tijdens het rooien), wat een gemakkelijke doorgang vormt voor de pathogeen. Andere factoren die de infectie positief beïnvloeden zijn natte condities gedurende de oogst en grove bodemtexturen. Tijdens de opslag zullen de vlekken op aangetaste knollen verder ontwikkelen maar er zal geen secundaire verspreiding meer plaatsvinden. Geïnfecteerde knollen zullen verschrompelen door overmatig waterverlies, afhankelijk van opslagcondities en ernst van de aantasting (Wharton & Kirk, 2007).

2.4 *Alternaria solani* versus *Alternaria alternata*

Zoals hoger reeds vermeld zijn *Alternaria solani* en *Alternaria alternata* van groot belang bij de aardappelteelt. In wat volgt bekijken we gelijkenissen en verschillen van deze pathogenen.

2.4.1 Belang en voorkomen

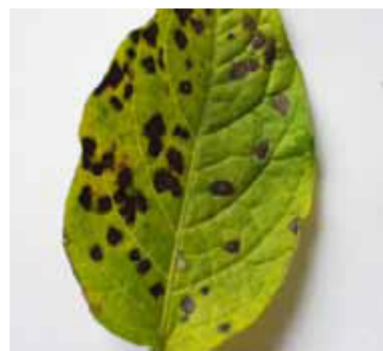
Alternaria alternata veroorzaakt 'brown spot' bij aardappel, *Alternaria solani* 'early blight'. De ziektesymptomen veroorzaakt door de twee pathogenen zijn moeilijk te onderscheiden en worden daarom vaak samen geëvalueerd als 'early blight' (Kapsa et al., 2009). Bij 'early blight' zijn de eerste symptomen kleine circulaire donkere vlekken op lagere, oudere bladeren. Als deze vlekken vergroten worden ze beperkt door bladnerven en nemen ze een onregelmatige vorm aan. In het veld zijn 'early blight' bladvlekken te herkennen als concentrische donkere cirkels afgewisseld met lichtbruin weefsel (zie Figuur 2.3). Een smalle band van chloroseweefsel omringt de meeste vlekken. Laat in het groeiseizoen zijn op de bovenste bladeren vaak veel fijne vlekken aanwezig. Vlekken kunnen dan samensmelten en zo een groot deel van het blad in beslag nemen. Erg aangetaste bladeren zullen verdorren, maar blijven meestal vast aan de plant. Erge bladinfectie zal finaal leiden tot kleinere knollen, opbrengstverlies en een lager droge stof gehalte van de knollen. Knolsymptomen zijn verzonken circulaire of onregelmatige vlekken, vaak omringd door een verhoogde paarse tot donkerbruine boord. Het onderliggend weefsel is leder- of kurkachtig van textuur, droog en normaal donkerbruin (Wharton & Kirk, 2007). Symptomen van 'brown spot' zijn kleine bruine vlekjes, van enkele millimeters groot, die verspreid zijn over het volledige bladoppervlak, zie Figuur 2.4 (Droby et al., 1984).

Het gehalte aan sporen van *A. solani* in de lucht varieert sterk gedurende het seizoen. Pscheidt et al. (1986) bestudeerden de sporenconcentraties van *A. solani* in de lucht gedurende vijf opeenvolgende seizoenen, van 1980 tot 1985. In 1980 en 1981 werd een opmerkelijke toename opgemerkt van vrijwel geen sporen naar respectievelijk 12,2 en 25,7 sporen per kubieke meter lucht in

respectievelijk 48 en 72 uur. In de andere jaren gebeurde de toename aan sporen meer geleidelijk. Bovendien werd besloten dat de concentratie aan *A. solani* sporen gedurende het grootste deel van het groeiseizoen eerder laag was. Hoge concentraties, gemiddeld 84 sporen per kubieke meter lucht, werden pas gedetecteerd op het einde van augustus en in het begin van september. Madden et al. (1978) maten het verloop van de sporenconcentratie gedurende het groeiseizoen van 1976 en bekwamen een maximale sporenconcentratie van 25 sporen per kubieke meter lucht. De eerste sterke stijging ging in de meeste seizoenen gepaard met de oogst van de vroege aardappelen (Pscheidt et al., 1986). *A. alternata* sporen komen doorheen het hele jaar in grotere hoeveelheden voor in de lucht en worden gezien als één van de meest voorkomende allergenen (Spoelder et al., 2013; Thomma et al., 2003). In onderzoek in het kader van allergieën worden steeds alle *Alternaria*-species samen beschouwd. Bij gevoelige personen worden de eerste symptomen van allergie opgemerkt bij *Alternaria*-sporenconcentraties groter dan 50 of 80 sporen per kubieke meter lucht (Astray et al., 2010). Ademhalingsproblemen zoals allergische rhinitis en astma, kunnen volgens het Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, bij gevoelige personen veroorzaakt worden bij het overschrijden van de drempelwaarde van 500 *Alternaria*-sporen per kubieke meter (WIV-ISP, 2014). In Tabel 2.2 worden enkele richtwaarden voor *Alternaria*-sporenconcentraties weergegeven uit de literatuur. Data over schimmelsporenconcentraties in de lucht in België worden verzameld door de dienst Mycologie en Aerobiologie van het Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid. Ongeveer 1,5 % van het totale aantal schimmelsporen dat door hen jaarlijks wordt geïnventariseerd behoort tot het ras *Alternaria*. De maximale dagelijkse concentratie opgemeten gedurende de laatste 25 jaar bedroeg 2600 sporen per kubieke meter en werd opgemeten op 8 augustus 1998. De drempelwaarde van 500 sporen per kubieke meter wordt in België meermaals per seizoen overschreden, het risico is het grootst gedurende juli en augustus bij droog en zonnig weer (WIV-ISP, 2014).



Figuur 2.3: Symptomen 'early blight' (Kapsa et al., 2009).



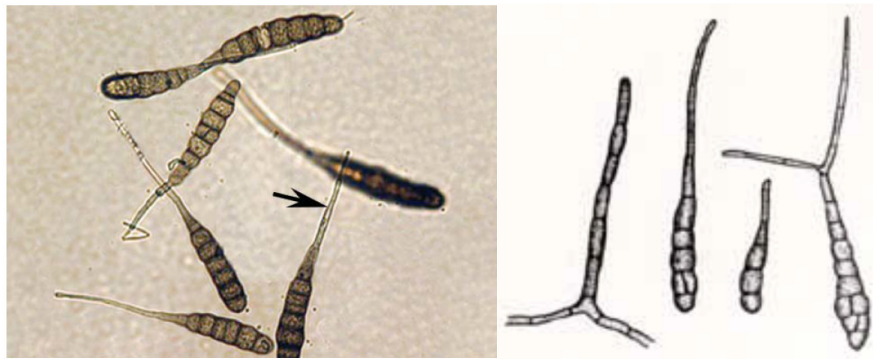
Figuur 2.4: Symptomen 'Brown spot' (Kapsa et al., 2009).

Tabel 2.2: *Alternaria*-sporenconcentraties.

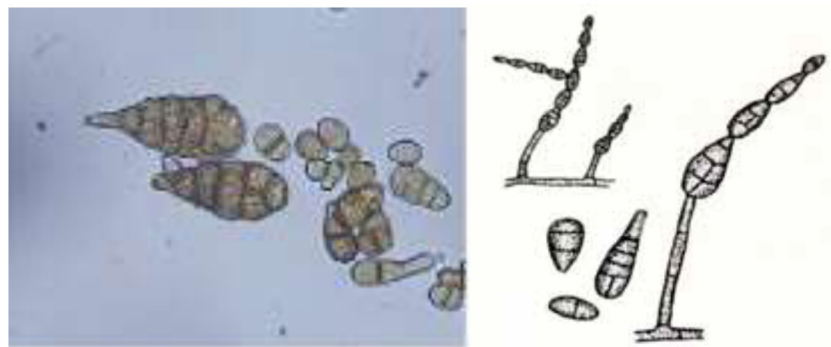
Maximale concentratie	Gemiddelde concentratie	Regio (provincie en land)	Bron
80 sporen/m ³	10 – 30 sporen/m ³	L'Aquila, Italië	Tomassetti et al., 2009
83 – 204 sporen/m ³	52 – 83 sporen/m ³	Ourense, Spanje	Escuredo et al., 2010
106 sporen/m ³	10 sporen/m ³	Pontevedra, Spanje	Astray et al., 2010

2.4.2 Morfologie

A. alternata produceert kleine sporen, volgens onderzoek van Dephour et al. (2007) komen afmetingen tussen 7 en 30 μm voor. *A. solani* produceert grote sporen (Stammiller et al., 2013). De sporen zijn morfologisch gemakkelijk te onderscheiden omdat sporen van *A. solani* een snavelvormig langgerekt uiteinde hebben in tegenstelling tot de sporen van *A. alternata* (Wharton & Kirk, 2007). Sporen van *A. alternata* worden in kettingen gevormd, terwijl sporen van *A. solani* meestal afzonderlijk gedragen worden door de conidiofoor (Kapsa et al., 2008).



Figuur 2.5: Sporen van *A. solani* (Wharton & Kirk, 2007; Hooker, 1990).



Figuur 2.6: Sporen van *A. alternata* (Dephour et al., 2007; Hooker, 1990).

2.4.3 Temperatuurvereisten

De twee *Alternaria*-species hebben volgens verschillende auteurs verschillende temperatuurvereisten. De bevindingen zijn echter niet steeds eenduidig. Dit kan wellicht opnieuw verklaard worden door het voorkomen van grote variabiliteit binnen en tussen *Alternaria*-soorten.

Wharton en Kirk (2007) concludeerden dat sporulatie van *A. solani* mogelijk is bij temperaturen tussen 5 en 30 °C. Waggoner et al. (1969) vonden daarentegen dat sporulatie niet plaatsvindt boven 27 °C. Kapsa et al. (2009) vonden als optimumtemperatuur voor de sporulatie van *A. solani* temperaturen tussen 26 en 28 °C, daarentegen vonden Wharton en Kirk (2007) 20 °C als optimumtemperatuur. Voor *A. alternata* vonden Kapsa et al. (2009) optimale sporulatie bij temperaturen tussen 25 en 26 °C. Optimum temperaturen voor mycelium groei en sporenkieming voor *A. solani* en *A. alternata* zijn respectievelijk tussen 18 en 22 °C en tussen 22 en 26 °C (Kapsa et al., 2009). Volgens van der Waals et al. (2013) is het duidelijk dat groei niet mogelijk is boven 40 °C. Waggoner et al. (1969) concludeerden dat de optimumtemperatuur voor myceliumgroei bij *A. solani* 28 °C bedraagt. De optimumtemperatuur voor het vormen van conidioforen zou echter lager liggen,

rond de 23 °C. Bij temperaturen hoger dan 32 °C blijft mycelium groei mogelijk maar worden er geen conidioforen meer gevormd. Daalt de temperatuur na een warme periode, dan worden er opnieuw conidioforen gevormd. Dephour et al. (2007) stellen dat de optimumtemperatuur voor infectie van mandarijnen door *A. alternata* 27 °C is. Volgens Wharton & Kirk (2007) is de optimumtemperatuur voor kieming en infectie van *A. solani* dan weer tussen 20 en 30 °C. van der Waals et al. (2013) schrijven dat de minimum-, optimum- en maximumtemperaturen voor infectie door *A. solani* respectievelijk 10, 25 en 35 °C bedragen.

Stammler et al. (2013) isoleerden beide *Alternaria* species van ziek aardappel- en tomatenloof. Bij 16 °C isoleerden zij duidelijk meer *A. solani* dan *A. alternata*, namelijk 72 % ten opzichte van 28 %. Bij 22 °C was het tegengestelde waar, namelijk 14 % *A. solani* tegenover 86 % *A. alternata*.

2.4.4 Pathogeniciteit

Over de pathogeniciteit van *A. solani* en *A. alternata* zijn eveneens heel wat tegenstrijdigheden terug te vinden in de literatuur.

Droby et al. (1984) isoleerden *A. alternata* van aardappel en concludeerden met behulp van de postulaten van Koch dat deze schimmel de oorzaak was van de infectie van het loof, 'brown spot'. Er werd in dit onderzoek aangetoond dat *A. alternata* zowel direct door de epidermiscellen als door de stomata in het blad kan binnendringen.

Mirkarimi et al. (2013) stelden eveneens chlorotische en necrotische symptomen vast op aardappelplanten vanaf zes à tien dagen na inoculatie met een sporenoplossing van *A. alternata* (10^5 conidia/ml).

In een onderzoek van Kapsa et al. (2012) werden losse bladeren en knolschijven in het laboratorium geïnoculeerd met sporen van *A. alternata* of *A. solani* (10^5 conidia/ml). Gemiddeld resulteerde inoculatie met *A. alternata* in 12,7 % bladaantasting ten opzichte van 5,3 % aantasting bij inoculatie met *A. solani*. Het tegenovergestelde fenomeen werd waargenomen bij de inoculatie van de knollen. Het infectieniveau veroorzaakt door inoculatie met *A. alternata* bedroeg hier slechts 4,2 % ten opzichte van 32,7 % bij inoculatie met *A. solani*.

Stammler et al. (2013) infecteerden aardappelplanten in serres en in veldomstandigheden met *A. solani* en *A. alternata* isolaten afkomstig vanuit verschillende regio's van de wereld. In alle proeven bleken de *A. solani* isolaten hoog virulent, terwijl *A. alternata* isolaten steeds niet of laag virulent bleken te zijn. Bij infectie met mengsels van *A. solani* en *A. alternata* werd een hogere ziektegraad vastgesteld wanneer *A. solani* een groter deel van het mengsel uitmaakte.

Spoelder et al. (2013) vonden dat *A. alternata* zowel in veldomstandigheden als in een bladproef bij ideale condities niet in staat was bladlaesies te creëren, dit in tegenstelling tot *A. solani*. Uit dit onderzoek werd besloten dat *A. alternata* een saprofiete schimmel is die zeer frequent wordt aangetroffen in bladvlekken door de abundante aanwezigheid in de lucht, maar ze zelf niet veroorzaakt. *A. solani* is daarentegen de echte pathogeen van de familie. Deze onderzoekers waarschuwen voor het in veel gevallen foutief bestempelen van *Alternaria* als oorzaak van bladvlekken. Het voorkomen van een mineralentekort en ozonschade zou tot het ontstaan van *Alternaria*-achtige bladvlekken leiden en zijn erg onderschatte problemen (Spoelder et al. 2013; Turkensteen et al. 2010).

Sommige auteurs beschrijven *A. alternata* dus als een zuiver saprofiete schimmel, terwijl andere auteurs net infectie veroorzaakt door dit species aantonen. Waarschijnlijk is ook hier de grote variabiliteit binnen en tussen de *Alternaria*-species de verklaring voor de tegenstrijdigheden.

2.5 Beheersmaatregelen

Het optreden van *Alternaria*-ziekten bij aardappel wordt duidelijk beïnvloed door heel wat factoren. Hierbij speelt de gevoeligheid van de aardappelplant een rol, dit is cultivarafhankelijk en ook afhankelijk van de maturiteit van de plant (Dita et al., 2007). Daarnaast beïnvloeden abiotische factoren de hoeveelheid sporen in de lucht. Door inzicht te krijgen in de parameters die *Alternaria* beïnvloeden tracht men naar een gerichtere aanpak van deze ziekte te evolueren.

Teelt-technische beheersmaatregelen trachten ofwel de hoeveelheid primair inoculum te beperken, ofwel algemeen de verspreiding van inoculum tegen te gaan. Tot de eerste groep behoren maatregelen als vruchtwisseling, verwijderen of afbranden van geïnfecteerde plantenresten en vernietigen van onkruid dat gevoelig is voor *Alternaria*-aantasting. Het verspreiden van inoculum kan beperkt worden door het vermijden van irrigatie in situaties waarbij het loof lang nat zou blijven zoals bij koel, bewolkt weer en laat in de avond. Om knolinfectie te vermijden is het belangrijk dat de knollen voldoende afgehard zijn voor er geoogst wordt (Franc et al., 1988; Wharton & Kirk, 2007). Adequate (stikstof) bemesting en een goede plaagbestrijding is eveneens belangrijk bij de preventie van *Alternaria*-ziekten. Aardappelplanten in stresssituaties zijn immers gevoeliger (Wharton & Kirk, 2007).

De gevoeligheid voor *Alternaria*-ziekten is ras-afhankelijk. Rassen die volledig resistent zijn, zijn niet commercieel beschikbaar en ook in wilde voorouders werd tot nog toe geen volledige resistentie aangetroffen (Wharton & Kirk, 2007). De keuze voor minder gevoelige rassen kan opbrengstverliezen wel enigszins beperken. De rassen Ramos en Markies wordt als vatbaar beschreven, Bintje, Fontane en Agria als matig vatbaar (Hanse, 2013; Schepers et al., 2010).

De meest toegepaste beheersmaatregel is het gebruik van fungiciden. Kapsa et al. (2009) onderzochten de efficiëntie van verschillende fungiciden tegen *A. alternata* en *A. solani*. Sommige actieve stoffen bleken efficiënter te werken tegen het éne of het andere *Alternaria*-species. De resultaten worden weergegeven in Tabel 2.3.

Tabel 2.3: Efficiëntie van actieve stoffen uit fungiciden tegen de myceliumgroei van *A. alternata* en *A. solani* (Kapsa et al., 2009).

Werkzaamheid (%)	<i>A. alternata</i>	<i>A. solani</i>
75,1 - 100	mancozeb, fluazinam, zoxamide + mancozeb, propineb, fluopicolide + propamocarb-HCl	mancozeb, mandipropamid, mefenoxam + mancozeb, zoxamide + mancozeb, fluazinam, propineb
50,1 - 75,0	mandipropamid	fluopicolide + propamocarb-HCl
< 50,0	mefenoxam + mancozeb, azoxystrobine, cymoxanil + famoxadone	cymoxanil + famoxadone, azoxystrobine

Tabel 2.4 geeft een beeld van de fungiciden toegepast in Vlaanderen tegen *Alternaria*. Om deze tabel op te stellen werd informatie gebruikt over de fungicidetoepassing op 177 commerciële

aardappelvelden in 2013 en 66 aardappelvelden in 2014 (PCA). De laatste kolom geeft een scoring voor de werkzaamheid van de actieve stoffen tegen *Alternaria* volgens de resultaten van een studie in het kader van de veertiende EuroBlight¹ workshop (Bain RA., 2013).

Azoxystrobin (AZX) en een mengsel van boscalid (BSC) en pyraclostrobin (PCS) werden hier naar voor geschoven als de meest effectieve actieve stoffen. Deze behoren allen tot de groep van de Quinone outside Inhibitor (QoI) fungiciden en hebben een identiek werkingsmechanisme: de mitochondriale respiratie wordt geïnhibieerd door interferentie met het bc1 complex, waardoor de elektronenstroom stilvalt en geen energie meer kan geproduceerd worden. Sinds 2000 werden resistenties tegen QoI-fungiciden gerapporteerd (Pasche et al., 2004). Om resistentie te vermijden wordt aangeraden spuitschema's met meerdere fungiciden met verschillende werkingsmechanismen toe te passen (Mueller et al., 2006). Famoxadone (FXD) behoort tevens tot de groep van de QoI-fungiciden. De werkzaamheid van de combinatie van famoxadone (FXD) en cymoxanil (CYM) bleek eerder beperkt (Bain RA., 2013).

De effectiviteit van het mengsel difenoconazool (DFZ) en mandipropamid (MDP) werd als 'goed' ingeschat volgens de studie in het kader van EuroBlight (Bain RA., 2013). Hierbij levert mandipropamid (MDP) de *Phytophthora*-bestrijding, difenoconazool (DFZ) is bijzonder doeltreffend in de strijd tegen *Alternaria* (Syngenta, 2013). De inzet van enkel difenoconazool (DFZ) in de bestrijding van *Alternaria*, zoals bij het handelproduct Narita, werd niet opgenomen in de studie in het kader van EuroBlight (Bain RA., 2013).

Mancozeb (MCZ) is een actieve stof die zeer vaak ingezet wordt tegen *Phytophthora*, maar tevens nevenwerkingen heeft op *Alternaria*. Het nadeel is dat regelmatig een hoge dosis moet toegediend worden, met negatieve effecten voor het grondwater tot gevolg (Bain RA, 2004; Demeyere et al., 2010; CLM milieumeetlad, 2015). Maneb (MB) behoort tot dezelfde functionele groep als mancozeb. Dit fungicide wordt ook voornamelijk toegepast tegen *Phytophthora* maar heeft ook nevenwerkingen op *Alternaria*.

¹ EuroBlight is een internationale werkgroep die oorspronkelijk focuste op de problematiek rond *Phytophthora infestans*. Sinds 2011 komt ook de *Alternaria* problematiek aan bod.

Tabel 2.4: Fungicidetoepassing tegen *Alternaria* in Vlaanderen gedurende groeiseizoenen 2013 en 2014. (Bron: monitoring van commerciële aardappeltelers gedurende beide seizoenen, met name 177 aardappelvelden in 2013 en 66 aardappelvelden in 2014, PCA; dosis en samenstelling: Demeyere et al., 2010) De laatste kolom geeft de resultaten uit een studie in het kader van de veertiende EuroBlight workshop, waarin de werkzaamheid van verschillende actieve stoffen voor de controle van 'early blight' werd onderzocht, waarbij 0 staat voor geen effect; + voor klein effect; ++ voor redelijk effect; +++ voor goed effect en ++++ voor zeer goed effect (Bain RA., 2013). *Deze scoring geldt enkel voor een dosis >1500 g/ha, indien dit niet het geval is verwacht men lagere werkzaamheid tegen *Alternaria*. **Deze actieve stoffen werden niet opgenomen in de studie.

Fungicide	Actieve stof 1	Aandeel AS 1	Actieve stof 2	Aandeel AS 2	Dosis	Max. aantal toep.	Werking tegen	WZH Euro-Blight
Acrobat extra WG	MCZ	66.70 %	DMM	7.50 %	2 kg/ha	8	P + A	++*
Amistar	AZX	22.90 %			0.25 l/ha	2	A	+++(+)
Carial star	DFZ	22 %	MDP	22 %	0.6 l/ha	3	A	+++
Dequiman MZ WG	MCZ	75 %			2.1 kg/ha	12	P + A	++*
Dithane WG	MCZ	75 %			2 kg/ha	12	P + A	++*
Mancomix WG	MCZ	75 %			2.1 kg/ha	12	P + A	++*
Mastana SC	MCZ	455 g/l			3.6 l/ha	12	P + A	++*
Narita	DFZ	250 g/l			0.5 l/ha	4	A	**
Penncozeb	MCZ	75 %			2 kg/ha	12	P + A	++*
Prozeb	MCZ	80 %			2 kg/ha	12	P + A	++*
Signum	BSC	27 %	PCS	7 %	0.2 kg/ha	4	A	+++(+)
Spoutnik	MCZ	80 %			2 kg/ha	12	P + A	++*
Tanos	FXD	25 %	CYM	25 %	0.6 kg/ha	3	P + A	++
Terminett	BSC	27 %	PCS	7 %	0.2 kg/ha	4	A	+++(+)
Trimangol 80	MB	80 %			2 kg/ha (1e toep.) 3 kg/ha (volgende toep.)	12	P + A	**

Hoofdstuk 3

Situatie Vlaanderen 2014

3.1 Inleiding

Zoals reeds vermeld in het vorige hoofdstuk komt de aantasting van aardappelen door *Alternaria* de laatste tientallen jaren steeds vaker voor in Europa. Opvallend is dat er binnen Europa een verschil is in ziekte-incidentie van *Alternaria*. In België en Nederland is de incidentie veel lager dan in het zuiden van Duitsland en Zuid-Scandinavië (Hansen, 2014). In landen met continentale klimaten geeft *Alternaria* vaak aanleiding tot een epidemiologisch ziekteverloop, terwijl het ziekteverloop van *Alternaria* in het gematigd klimaat van Noordwest Europa eerder endemisch is (Haesaert et al., 2011).

Er is tot nu weinig informatie beschikbaar over de grootte van de opbrengstverliezen veroorzaakt door *Alternaria* in België. Uit enquêtes van het Proefcentrum van de Aardappelteelt (PCA) van 2009 tot 2011 blijkt dat 93 % van de ondervraagde aardappeltelers aangeeft zijn middelenkeuze in de gewasbescherming af te stemmen op de beheersing van *Alternaria* en dat 60 tot 75 % (2011) aangeeft bijkomende specifieke bespuitingen uit te voeren. Deze resultaten duiden op het belang van het *Alternaria*-probleem in België.

Over de pathogeniciteit van *Alternaria alternata* is er heel wat discussie in de literatuur. Men vindt zowel negatieve als positieve resultaten bij inoculatiestudies terug (zie Hoofdstuk 2 Sectie 4.4).

Het praktische luik van deze thesis had tot doel data te verzamelen over de situatie van *Alternaria* in Vlaanderen. Er werd een potproef, een infectieproef en een fungicidenproef uitgevoerd. De potproef en de infectieproef hadden tot doel de pathogeniciteit van zowel *A. alternata* als *A. solani* na te gaan. Met de fungicidenproef werd de efficiëntie van verschillende *Alternaria*-fungiciden getest en getracht een beeld te krijgen van de natuurlijke populatiesamenstelling doorheen het seizoen.

3.2 Potproef

3.2.1 Beschrijving van de proef

In een serre van de vakgroep toegepaste biowetenschappen op de campus Schoonmeersen werden aardappelplanten van drie verschillende rassen: Markies, Bintje en Désirée geïnfecteerd met *A. alternata*, *A. solani* of een combinatie van beiden (20 µl, 10^4 sporen/ml). De verschillende behandelingen zijn weergegeven in Tabel 3.1. Deze proef had als doel de pathogeniciteit van *A. alternata* en *A. solani* na te gaan.

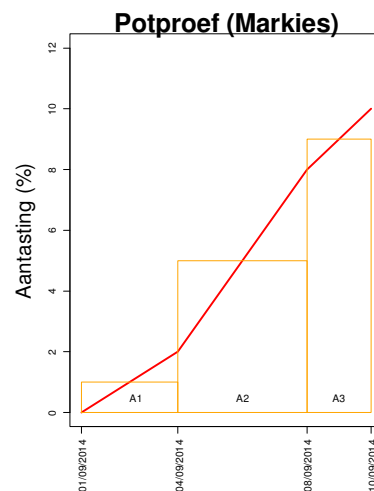
3.2.2 Scoren van ziektesymptomen

Op vier tijdstippen werden de ziektesymptomen op de bladeren gescoord. Dit gebeurde door het inschatten van de grootte van de bladvlekken. Om de ziekte-intensiteit over de tijd te vergelijken werd de oppervlakte onder de curve van het ziekteverloop berekend. Dit wordt visueel weergegeven

in Figuur 3.1, sommatie van oppervlakte A1, A2 en A3 levert de AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve). Analoog kan de AUDPC-waarde berekend worden met formule 3.1. De geaccumuleerde ziekte tot tijdstip $t = t_k$, het tijdstip van de laatste observatie, bedraagt:

$$AUDPC(t_k) = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i) \quad (3.1)$$

met t de tijdstippen waarop de ziektesymptomen worden gescoord, y de aantasting op die tijdstippen en N het aantal observaties (APS, 2015). Deze waarde wordt omgerekend tot de relatieve AUDPC door de AUDPC te delen door de grootst mogelijke AUDPC of dus de waarde die bekomen zou worden wanneer bij elke scoring de aantasting 100 % is. De AUDPC-functie en rAUDPC-functie zijn geïmplementeerd in het package 'Agricolae' in R.



Figuur 3.1: Illustratie berekening AUDPC-waarde, potproef serre campus Schoonmeersen.

Tabel 3.1: Objecten potproef.

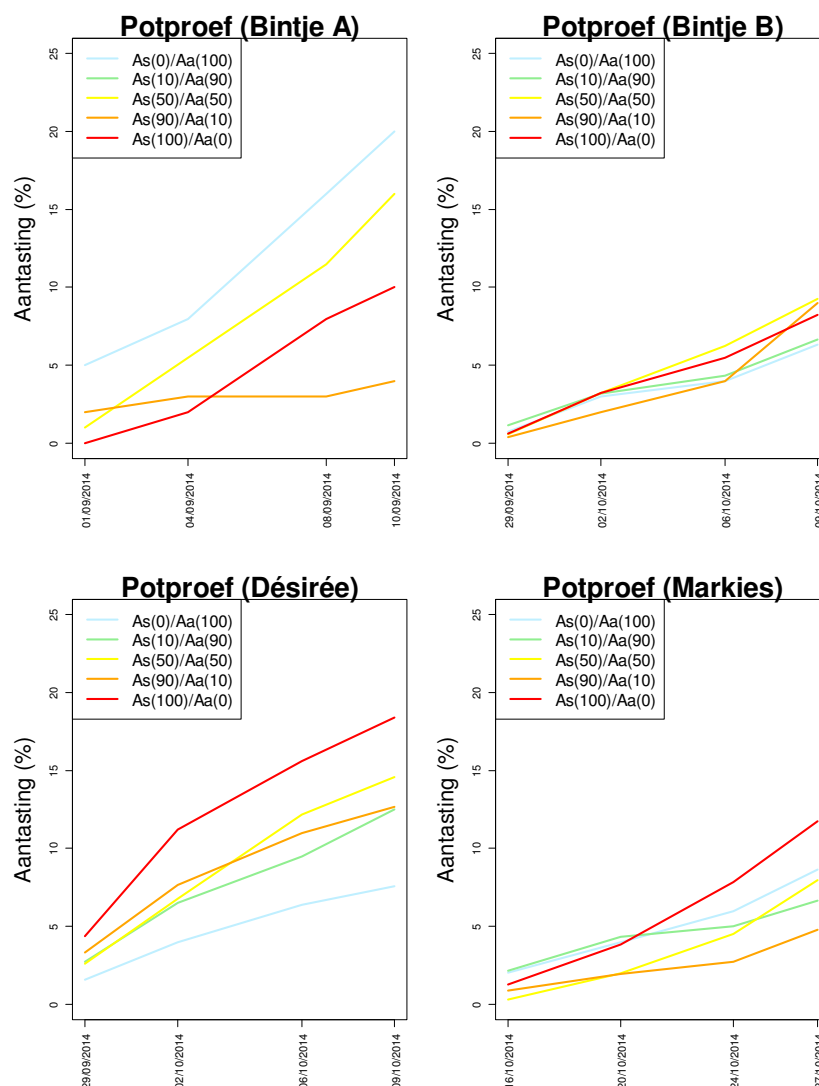
Object nr.	Percentage <i>A. solani</i>	Percentage <i>A. alternata</i>
1	0	100
2	10	90
3	50	50
4	90	10
5	100	0

3.2.3 Statistische analyse

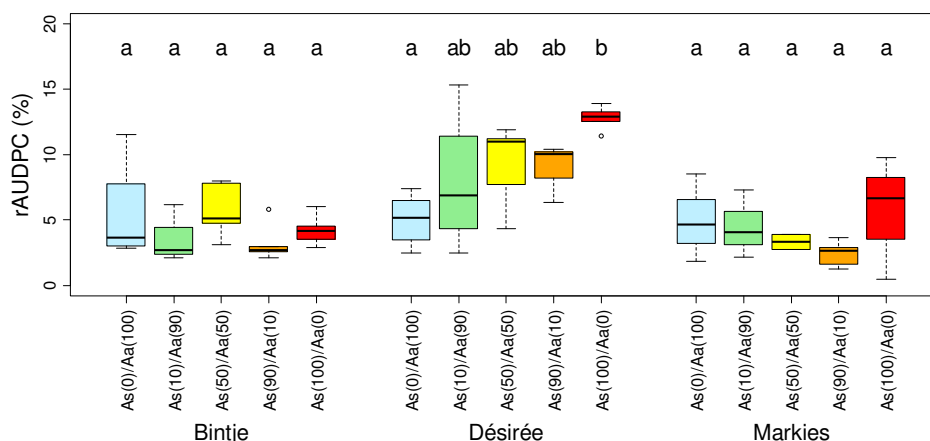
De statistische analyse van de proefresultaten gebeurde met behulp van R (R core Team, 2014). Telkens werd nagegaan of de data normaal verdeeld waren via de Shapiro-Wilk normaliteitstest en of de varianties gelijk waren via de Levene-test. Indien dit het geval was, werd via een variantieanalyse (ANOVA) nagegaan of er significante verschillen waren tussen de verschillende behandelingen. Indien er een significant verschil was, werd via de Tuckey-test nagegaan waar de verschillen precies zaten. Indien er niet aan de voorwaarden voor ANOVA voldaan was, werd via de niet-parametrische methode van Kruskal-Wallis naar significante verschillen tussen de behandelingen gezocht. De bekomen informatie werd gevisualiseerd via grafieken van het verloop van de ziekte en via boxplots.

3.2.4 Resultaten en discussie

In Figuur 3.2 wordt het ziekteverloop voor de verschillende rassen en behandelingen van de potproef weergegeven. Voor het ras Bintje werden twee figuren toegevoegd, de reden hiervoor is dat de proef voor Bintje twee maal werd uitgevoerd. De eerste maal waren er immers heel wat infecties niet gelukt. In de verdere berekeningen worden de data uit beide proeven voor het ras Bintje meegenomen. Dit is mogelijk aangezien er gewerkt wordt met de rAUDPC-waarden die niet tijdsafhankelijk zijn. Figuur 3.3 toont een boxplot voor de rAUDPC-waarden van de potproef. Hieruit blijkt dat er voor de rassen Bintje en Markies geen significante verschillen zijn tussen de behandelingen op het 5 % significantieniveau (p-waarden 0.13 en 0.46, Kruskal-Wallis). Voor het ras Désirée is er daarentegen wel een significant verschil (p-waarde 0.025, Kruskal-Wallis), de behandeling met 100 % *A. solani* levert een significant grotere *Alternaria*-aantasting dan de behandeling met 100 % *A. alternata*.



Figuur 3.2: Verloop van de *Alternaria*-aantasting, potproef serre campus Schoonmeersen. (As en Aa staan respectievelijk voor *A. solani* en *A. alternata*, de getallen tussen haakjes geven het aandeel van het *Alternaria*-species in het inoculatiemengsel bij de verschillende behandelingen. Bijvoorbeeld: As(0)/Aa(100) staat voor de inoculatie met zuiver *A. alternata*. As(10)/Aa(90) staat voor de inoculatie met een mengsel van 10 % *A. solani* en 90 % *A. alternata*. De drie volgende behandelingen zijn analoog.)



Figuur 3.3: Boxplot van de rAUDPC, potproef serre campus Schoonmeersen.

3.3 Infectieproef

3.3.1 Beschrijving van de proef

Op een aardappelveld van de proefhoeve in Bottelare werden drie verschillende aardappelrassen: Agria (matig gevoelig), Bintje (gevoelig) en Santé (matig resistent), geïnfecteerd met *A. alternata*, *A. solani* of een combinatie van beiden. De verschillende behandelingen zijn weergegeven in Tabel 3.2. Het proefveld werd ingedeeld volgens een split-plot design. Voor de infectie werden sporensuspensies van 10^4 sporen per milliliter gebruikt, afkomstig van verzamelde isolaten uit Vlaanderen. De inoculatie gebeurde op 27 juni 2014. De aardappelen werden respectievelijk geplant en geoogst op 25 mei 2014 en 11 september 2014. De voorvrucht was maïs. Deze proef had als doel de pathogeniciteit van *A. alternata* en *A. solani* onder veldomstandigheden na te gaan.

Tabel 3.2: Objecten van de infectieproef.

Object nr.	Percentage <i>A. solani</i>	Percentage <i>A. alternata</i>
1	0	100
2	10	90
3	50	50
4	100	0
5 (controle)	0	0

3.3.2 Scoren van ziektesymptomen en het nemen van bladstalen

De *Alternaria*-aantasting werd op zeven tijdstippen gescand. Hiervoor werd op het veld per behandeling en per herhaling rond de experimentele eenheid gestapt. Van de middelste rijen werd geteld hoeveel planten er ziektesymptomen vertoonden. De aantastingsgraad van elke experimentele eenheid werd bepaald volgens de aangepaste schaal van Cox & Large, zie Tabel 3.3. Ook tussenliggende percentages, die niet expliciet in de tabel zijn weergegeven kunnen gehanteerd worden. Daarnaast werd op ieder scoringstijdstip van elke experimentele eenheid 20 gram aangetast bladmateriaal verzameld en koel bewaard om er later in het labo qPCR-analyses op uit te voeren. Na de oogst werd de totale opbrengst, de opbrengst per grootteklasse (klasse 1: 0-35 mm, klasse 2: 36-

50 mm en klasse 3: groter dan 50 mm), het onderwatergewicht en het droge stof gehalte bepaald. Daarnaast werd de aantasting van de aardappelschil door *Rhizoctonia* en *Sclerotini* gekwantificeerd. Ook de aantasting van de aardappelknol door *Phytophthora infestans* of andere oorzaken werd vast gesteld.

Tabel 3.3: Sleutel van Cox & Large (1960), aangepast op de EuroBlight Workshop in Estland (2005) voor bepaling van de aantastingsgraad van het gewas.

Aantasting (%)	Beschrijving	Aantasting (%)	Beschrijving
0.0	Geen aantasting	0.9	8 leasies per plant
0.1	Meer dan 1 leasie per 100 planten	1.0	10 leasies per plant
0.2	Tot 25 leasies per 100 planten	5.0	50 leasies per plant of 1 per samengesteld blad
0.3	Tot 50 leasies per 100 planten	10.0	100 leasies per plant of 2 per samengesteld blad
0.4	Tot 75 leasies per 100 planten	25.0	Alle planten aangetast, 75 % van blad oppervlak is groen
0.5	1 leasie per plant	50.0	Alle planten aangetast, 50 % van blad oppervlak is groen
0.6	2 leasies per plant	75.0	Alle planten aangetast, 25 % van blad oppervlak is groen
0.7	4 leasies per plant	95.0	Alle planten aangetast, slechts 5 % bladeren zijn nog groen
0.8	6 leasies per plant	100.0	Alle bladeren en stengels zijn afgestorven

3.3.3 Statistische analyse

De statistische analyse gebeurde analoog als bij de potproef.

3.3.4 Verwerking bladstalen

DNA-extractie

De verzamelde bladstalen werden bewaard in een diepvriezer bij -20 °C. Vervolgens werd het DNA geïsoleerd en opgezuiverd volgens het protocol van de Invisorb® Spin Plant Mini Kit. In de eerste stap werd ongeveer 60 mg van het bladmateriaal gehomogeniseerd met behulp van een mortier en een stamper terwijl het overgoten werd met vloeibare stikstof. Vervolgens werd het bekomen plantpoeder in een epje gebracht, waaraan 600 µl Lysis Buffer P en 20 µl Proteinase K (bewaard bij -20 °C) werd toegevoegd. Vervolgens werd het geheel gevortext. Nadien volgde een incubatieperiode van 30 min. bij 65 °C in een thermomixer. De voorgaande stap zorgde voor het afbreken van het startmateriaal. Vervolgens werd de oplossing gefiltreerd door deze over een prefilter te gieten. Het geheel werd één minuut gecentrifugeerd aan een toerental van 11.000 rpm en de prefilter werd verwijderd. Om RNA in het staal te verwijderen werd 20 µl RNase A toegevoegd aan het filtraat. Nadat het mengsel kort gevortext werd, liet men het vijf minuten incuberen bij kamertemperatuur. Om optimale bindingscondities te kunnen realiseren werd 200 µl Binding Buffer A toegevoegd en grondig gevortext. Vervolgens werd de suspensie overgebracht op een Spin filter en liet men dit één minuut incuberen. Vervolgens centrifugeerde men twee minuten aan een toerental van 11.000 rpm.

Het filtraat werd dan verwijderd en de Spin filter werd in een nieuw epje geplaatst. Dankzij deze stap werd het DNA gebonden aan de Spin filter. Vervolgens werden twee was-fases uitgevoerd. In de eerste fase werd 550 µl was-buffer één toegevoegd, waarna het mengsel één minuut gecentrifugeerd werd aan een toerental van 11.000 rpm. Het filtraat werd verwijderd. Was-fase twee is identiek aan het voorgaande, behalve dat nu was-buffer twee gebruikt werd en de stap twee maal werd uitgevoerd. Tot slot werd er nog vier minuten gecentrifugeerd aan een toerental van 11.000 rpm om het residuele ethanol te verwijderen. Voor de laatste stap werd de Spin filter in een nieuw epje geplaatst en werd er 50 µl voorverwarmde elutie-buffer toegevoegd. Na drie minuten incubatie, vormde een centrifugatie van één minuut aan een toerental van 11.000 rpm de finale stap van de DNA-extractie. Het DNA werd in de epjes bewaard in de diepvriezer.

qPCR-analyse

De qPCR-analyse werd uitgevoerd op het DNA afkomstig van aangetaste bladstalen. Het doel was na te gaan of de bladvlekken effectief afkomstig waren van *Alternaria*. Tevens kon via de qPCR-analyse per staal de relatieve hoeveelheid aan *A. alternata* en *A. solani* bepaald worden. De verwachtingen voor de infectieproef zijn een combinatie van het artificieel aangebracht inoculum en het natuurlijke aanwezig inoculum.

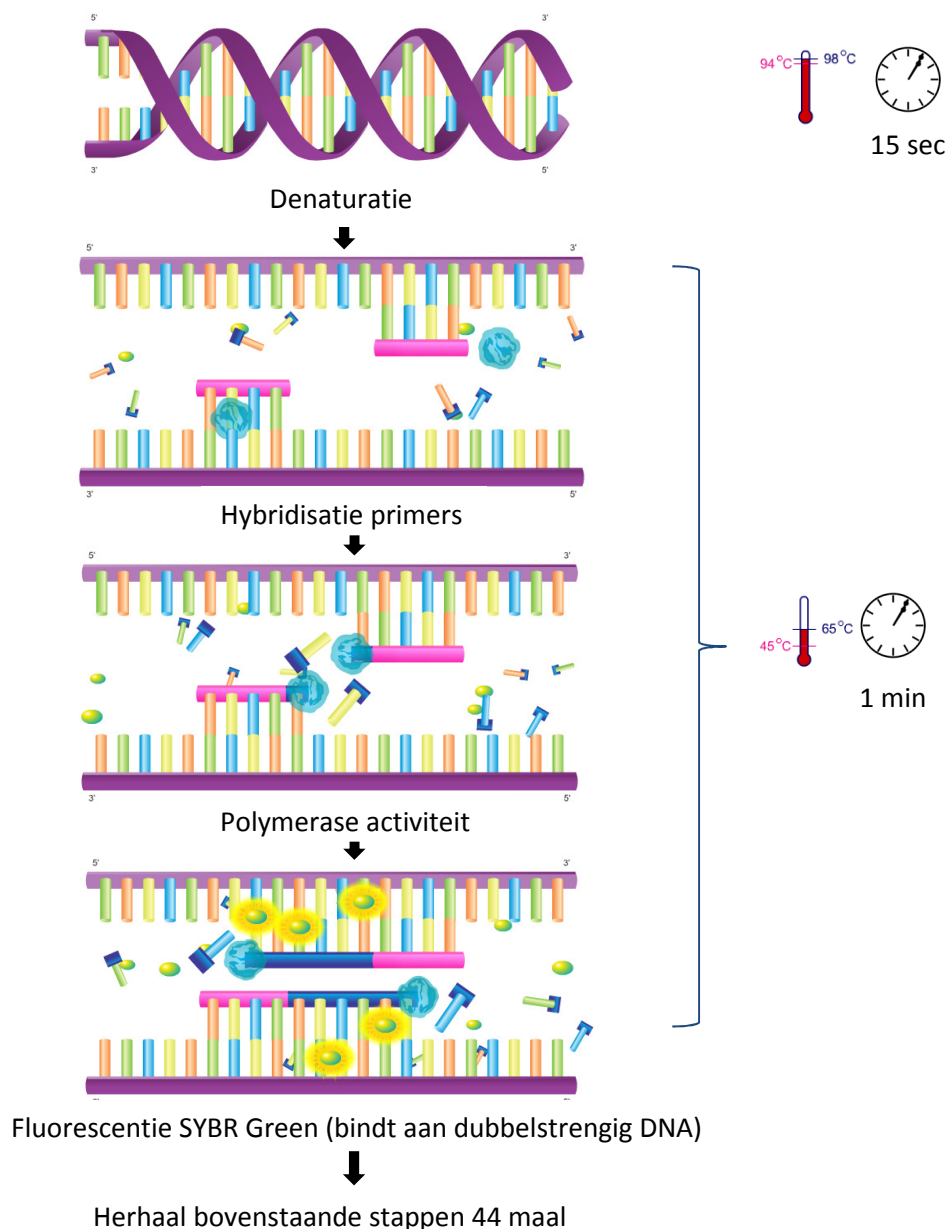
Voor de qPCR-analyse werd het DNA (8 µl) over gepipetteerd in een MicroAmp Optical 96 Well reactieplaat. Er werd een standaardreeks aangemaakt van *A. alternata*. Op elke plaat werd deze standaardreeks drie maal herhaald. Verder werd er ook een negatieve controle voorzien, hiervoor werd acht µl water gebruikt. Vervolgens werd 12 µl *A. alternata* reactiemix of *A. solani* reactiemix toegevoegd. De *A. alternata* reactiemix bestond uit 6,25 µl SYBR, 0,75 µl Forward Primer, 0,125 µl Reverse Primer, 4,167 µl nuclease vrij water en 0,208 µl dye. De *A. solani* reactiemix bestond uit 6,25 µl SYBR, 2,25 µl Forward Primer, 0,125 µl Reverse Primer, 2,66 µl nuclease vrij water en 0,208 µl dye. De onderstaande vier PCR primersets werden gebruikt (Latorse et al., 2010):

A. solani: - Forward Primer (5 µM) SP-sol-1658F (5' –GTAGAGTATGTTGAATACTCTAACCAGACAA)
- Reverse Primer (5 µM) SP-sol-1759R (5' –ATGTTAAGAATTTGTCCTGAACAGTTT)

A. alternata: - Forward Primer (5 µM) SP-alt-153F (5' –CTTATGAGTGCTATACCTTGAGTAGGTCA)
- Reverse Primer (5 µM) SP-alt-376R (5' –TCTCCGTCTATCAATCCTGCTAAA)

De qPCR-analyse gebeurde met een ABI Prism7900HT-toestel. Het qPCR-reactiemengsel onderging volgende cyclus: 2 minuten bij 50 °C, 10 minuten bij 95 °C gevolgd door 45 cyclussen van 15 seconden bij 95 °C en 1 minuut bij 60 °C, de analyse eindigde met 15 seconden bij 95 °C, 20 seconden bij 60 °C en 15 seconden bij 95 °C. Een schematische weergave van de 45 maal te herhalen cyclus is weergegeven in Figuur 3.4.

Met de 7000 System SDS Software werden de resultaten geanalyseerd. Eerst werd telkens gekeken of de standaardreeks gelukt was, hiervoor verwachtten we een standaardcurve met een hoge R²-waarde (> 0,90) en een klokvormige dissociatiecurve waarbij de laagste concentraties de laagste piek hebben. Via de C_T waarde (threshold cyclus) uit de amplificatiecurve en de richtingscoëfficiënt en het intercept van de standaardcurve werd dan bepaald hoeveel DNA van *A. alternata* en *A. solani* er aanwezig was.

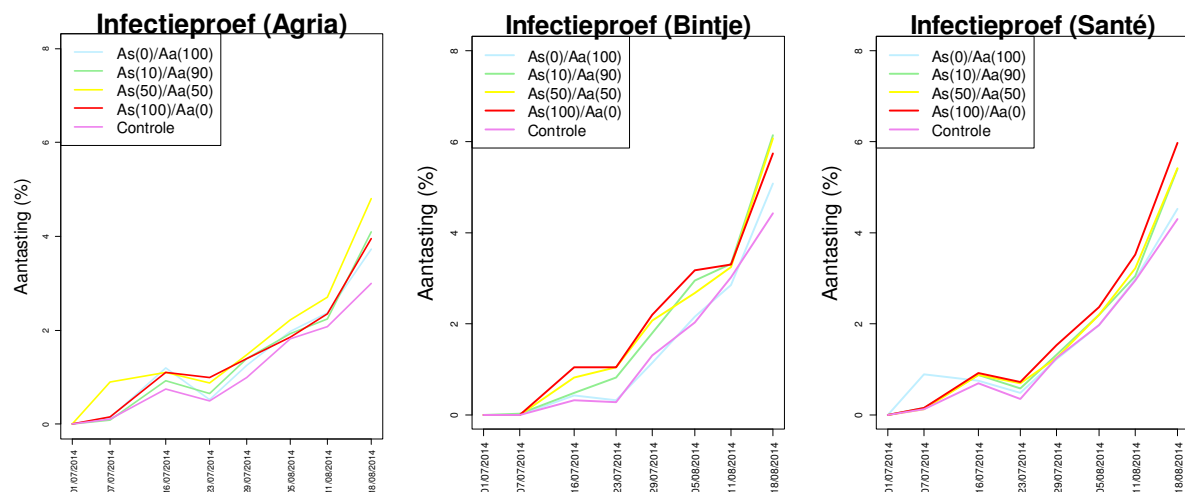


Figuur 3.4: Schematische voorstelling van een qPCR-reactie (bron figuren: website Sigma-Aldrich).

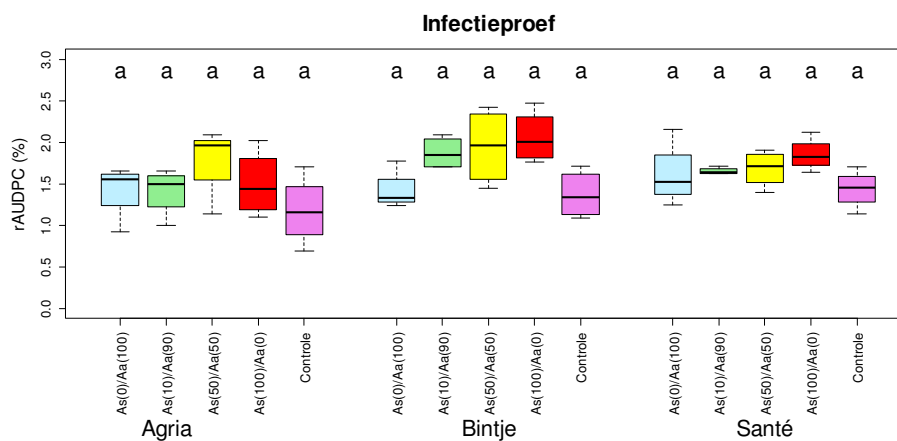
3.3.5 Resultaten en discussie

In Figuur 3.5 wordt het verloop van de *Alternaria*-aantasting voor de drie verschillende rassen weergegeven. Uit de literatuur weten we dat de gevoeligheid voor *Alternaria* ras-afhankelijk is. Bintje wordt beschreven als een gevoelig ras, Agria als een matig gevoelig ras en Santé als een matig resistent ras. Bij deze proef werden echter geen grote verschillen in aantasting tussen de verschillende rassen opgemerkt. Voor de drie rassen was de controle steeds minst aangetast. Bij het ras Agria was de aantasting het grootst bij inoculatie met een mengsel van 50 % *A. alternata* en 50 % *A. solani*. Bij Bintje en Santé was de aantasting het grootst bij inoculatie met *A. solani*. Er was echter voor geen enkel ras een significant verschil merkbaar tussen de rAUDPC-waarden van de verschillende behandelingen (ANOVA), zie Figuur 3.6. Er moet opgemerkt worden dat de aantasting bij alle behandelingen relatief laag was en dat er slechts weinig verschil was tussen de aantastingen

bij de controle, wat enkel door natuurlijk inoculum besmet werd. De artificiële inoculatie gebeurde op 27 juni 2014 en de laatste scoring van de *Alternaria*-aantasting gebeurde op 18 augustus 2014. Uit de resultaten van de fungicidenproef (Sectie 3.4.5) werd afgeleid dat de aantasting door de natuurlijke *Alternaria*-populatie pas een piek kende in het tweede deel van augustus. Misschien was deze piek bij de infectieproef ook merkbaar geweest indien we langer hadden kunnen scoren. En waren de omstandigheden binnen het geobserveerde tijdsvenster nog niet optimaal voor de polycyclische ontwikkeling en infectie van en door *Alternaria*. En/of waren de aardappelplanten nog niet voldoende gevoelig gedurende het geobserveerde tijdsvenster. Uit de literatuur weten we immers dat de gevoeligheid van de aardappelplant toeneemt met de ouderdom van de plant.

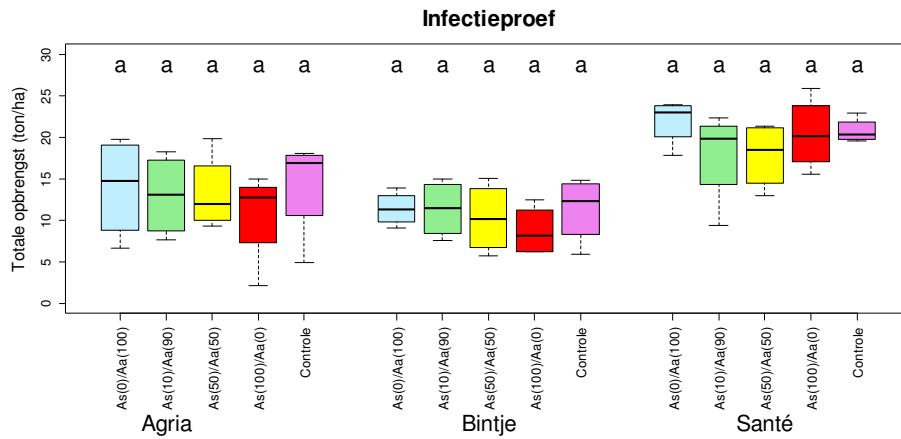


Figuur 3.5: Verloop van de *Alternaria*-aantasting, infectieproef Bottelare.

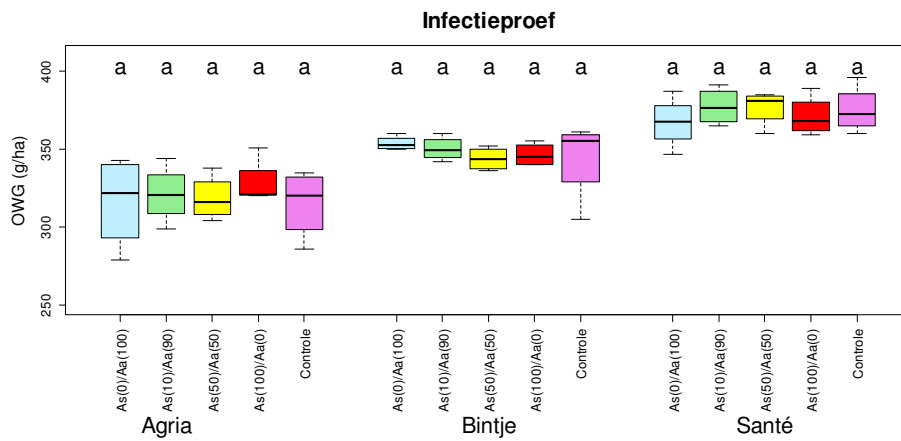


Figuur 3.6: Boxplot van de rAUDPC, infectieproef Bottelare.

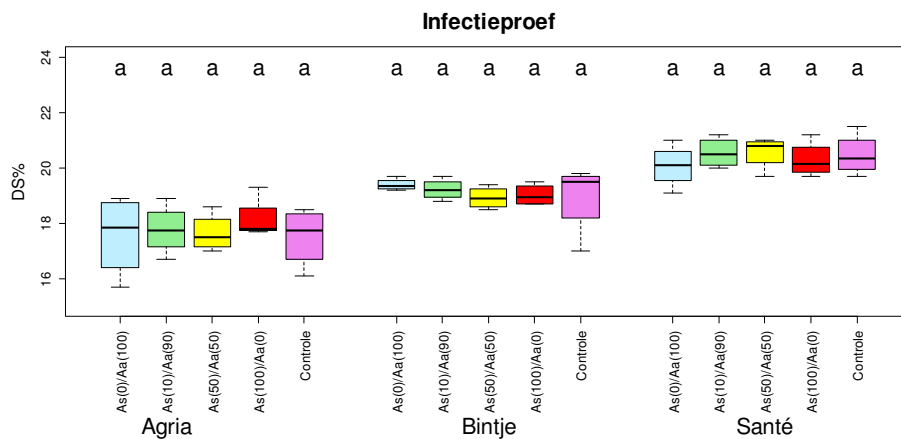
Verder werd de totale opbrengst, het droge stof gehalte en het onderwatergewicht vergeleken voor de verschillende objecten, zie figuren 3.7, 3.8 en 3.9. Voor geen enkel ras was er een significant verschil merkbaar tussen de verschillende behandelingen (ANOVA). De ziekte-index van schil en knol werden bepaald. Ook hiervoor waren er geen significante verschillen tussen de behandelingen merkbaar (ANOVA).



Figuur 3.7: Boxplot van de totale opbrengst (ton / ha), infectieproef Bottelare.



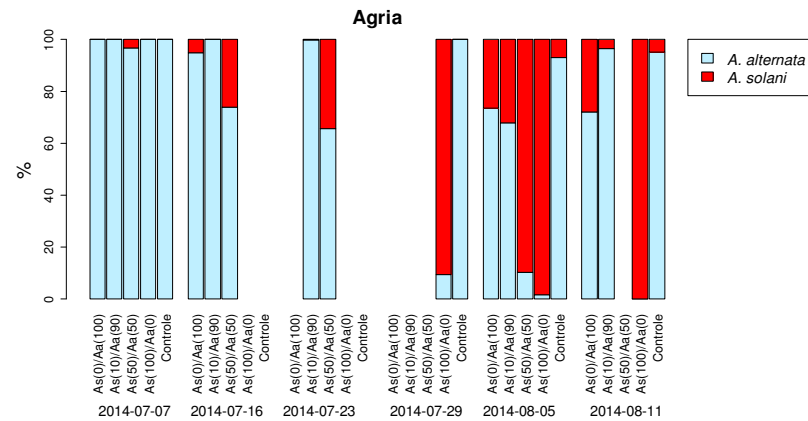
Figuur 3.8: Boxplot onderwatergewicht (g), infectieproef Bottelare.



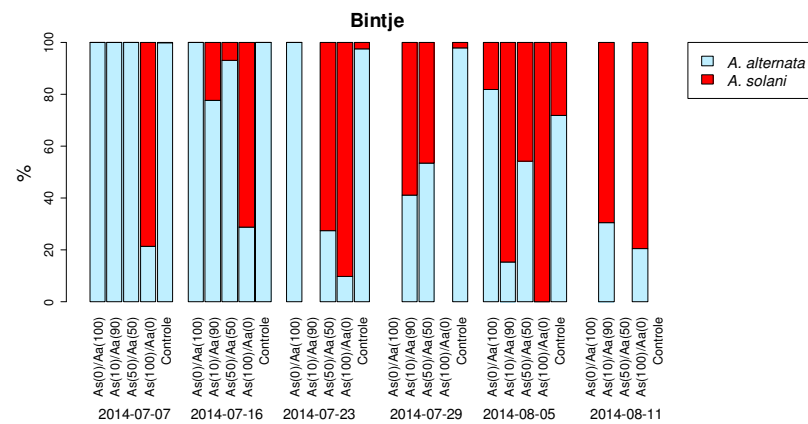
Figuur 3.9: Boxplot van het percentage droge stof, infectieproef Bottelare.

Op de verschillende tijdstippen waarop de *Alternaria*-aantasting op het veld werd gescoord, werd van elk object een staal aangetast bladmateriaal meegenomen. Zo kon in het labo, via qPCR-analyse, achterhaald worden of er *Alternaria* aanwezig was in de geobserveerde bladvlekken. In Figuur 3.10, 3.11 en 3.12 werden de resultaten van de qPCR-analyse visueel weergegeven. Bij ontbrekende

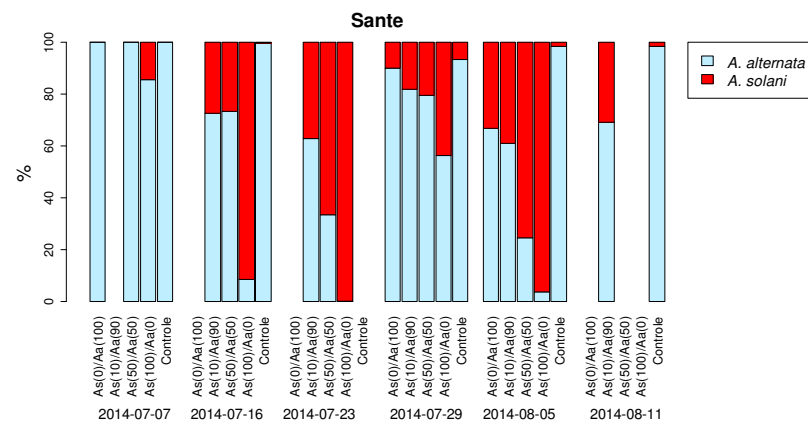
balkjes werd er geen *Alternaria* in het staal gedetecteerd. Er is een duidelijk verband tussen de aanwezige populatie en het inoculum waarmee geïnfecteerd werd. Daarnaast valt het ook op dat er naar het einde van het groeiseizoen meer *A. solani* werd aangetroffen.



Figuur 3.10: Samenstelling van de *Alternaria*-populatie bij de infectieproef te Bottelare voor het ras Agria.



Figuur 3.11: Samenstelling van de *Alternaria*-populatie bij de infectieproef te Bottelare voor het ras Bintje.



Figuur 3.12: Samenstelling van de *Alternaria*-populatie bij de infectieproef te Bottelare voor het ras Santé.

3.4 Fungicidenproef

3.4.1 Beschrijving van de proef

Op een proefveld op de proefhoeve in Bottelare werden aardappelplanten van twee verschillende rassen, Bintje en Markies, behandeld met zeven verschillende fungiciden, zie Tabel 3.4. Per ras en per behandeling werden vier herhalingen voorzien. De aardappelen werden respectievelijk geplant en geoogst op 25 mei 2014 en 11 september 2014. De voorvrucht was maïs. Om de aardappelen tegen *Phytophthora infestans* te beschermen werden doorheen het seizoen verschillende fungiciden toegepast als vollevelds-behandelingen. Proxanil of Curzate M werden toegepast tot het sluiten van de rij, gedurende de fase van snelle groei werd Revus of Ranman Top toegepast. Vanaf de bloei, tijdens de fase van stabiele groei en gedurende de afrijping werd Ranman Top toegepast.

In Kruishoutem en Beitem werden analoge fungicideproeven aangelegd respectievelijk onder leiding van het PCA en Inagro. De behandelingen worden weergegeven in Tabel 3.5 en 3.6. Het doel van deze proeven is de efficiëntie van verschillende *Alternaria*-fungiciden nagaan.

Tabel 3.4: Behandelingen fungicidenproef Bottelare. * Agriphar 002 en Agriphar 003 waren twee proefmiddelen waarvan geen gegevens over de actieve stoffen beschikbaar waren.

Behandeling	Actieve stof	Dosis	Aantal toepassingen	Tijdstippen toepassingen
Controle	/	/	/	/
Agriphar 002	*	1.25 l/ha	8	17/6, 23/6, 3/7, 15/7, 24/7, 30/7, 7/8, 15/8
Agriphar 003	*	2 l/ha	8	17/6, 23/6, 3/7, 15/7, 24/7, 30/7, 7/8, 15/8
Terminett	Boscalid + Pyraclostrobine	0.2 kg/ha	2	24/7, 7/8
Shirlan + Tanos	Cymoxanil + Famoxadone + Fluazinam	0.4 l/ha 0.6 kg/ha	8	17/6, 23/6, 3/7, 15/7, 24/7, 30/7, 7/8, 15/8
BCP difenoconazool	Difenoconazool	0.5 l/ha	1	7/8
Carial Star + Amistar	Difenoconazool + Mandipropamid + Azoxystrobine	0.6 l/ha 0.25 l/ha	2 (per product)	24/7, 7/8
Thiram	Thiram	2.5 kg/ha	8	17/6, 23/6, 3/7, 15/7, 24/7, 30/7, 7/8, 15/8

3.4.2 Scoren van ziektesymptomen en bladstalen

In Bottelare werden de *Alternaria*-symptomen op zeven verschillende tijdstippen gescoord. In Kruishoutem en in Beitem gebeurde dit op negen verschillende tijdstippen. De scoringsprocedure is op de drie locaties identiek zoals beschreven voor de infectieproef (Sectie 3.3.2). In Bottelare en Beitem werd op ieder scoringstijdstip van elke experimentele eenheid 20 gram aangetast bladmateriaal verzameld en koel bewaard om later in het labo qPCR-analyses op uit te voeren. Voor alle proefvelden werden na-oogstgegevens verzameld. Voor Bottelare was dit de totale opbrengst, de opbrengst per grootteklasse (klasse 1: 0-35 mm, klasse 2: 36-50 mm en klasse 3: groter dan 50

mm), het onderwatergewicht en het droge stof gehalte. Daarnaast werd de aantasting van de aardappelschil door *Rhizoctonia* en *Sclerotini* bepaald. Ook de aantasting van de aardappelknol door *Phytophthora infestans* of andere oorzaken werd gekwantificeerd. Voor de proef in Kruishoutem werd de totale opbrengst, het onderwatergewicht en het droge stof gehalte bepaald. Voor de proef in Beitem werd enkel de totale opbrengst bepaald.

Tabel 3.5: Behandelingen fungicidenproef Kruishoutem.

Behandeling	Dosis	Actieve stof	Aantal toepassingen	Tijdstippen toepassingen
Controle	/	/	/	/
Terminett	0.2 kg/ha	Boscalid + Pyraclostrobine	4	16/7, 30/7, 13/8, 27/8
Tanos + Shirlan	0.6 kg/ha 0.4 l/ha	Cymoxanil + Famoxadone + Fluazinam	8	16/7, 23/7, 30/7, 5/8, 13/8, 20/8, 24/8, 2/9
Narita	0.5 l/ha	Difenoconazool	4	16/7, 30/7, 13/8, 27/8
Carial Star + Amistar	0.6 l/ha 0.25 l/ha	Difenoconazool + Mandipropamid + Azoxystrobine	4	16/7, 30/7, 13/8 (CS) 27/8 (Am)

Tabel 3.6: Behandelingen fungicidenproef Beitem.

Behandeling	Dosis	Actieve stof	Aantal toepassingen	Tijdstippen toepassingen
Controle	/	/	/	/
Amistar	0.25 l/ha	Azoxystrobine	4	16/7, 30/7, 13/8, 27/8
Terminett	0.2 kg/ha	Boscalid + Pyraclostrobine	4	16/7, 30/7, 13/8, 27/8
Tanos + Shirlan	0.6 kg/ha 0.4 l/ha	Cymoxanil + Famoxadone + Fluazinam	12	13/6, 18/6, 23/6, 4/7, 10/7, 16/7, 24/7, 30/7, 6/8, 13/8, 21/8, 27/8
Narita	0.5 l/ha	Difenoconazool	4	16/7, 30/7, 13/8, 27/8
Carial Star + Amistar	0.6 l/ha 0.25 l/ha	Difenoconazool + Mandipropamid + Azoxystrobine	4	16/7, 30/7, 13/8(CS), 27/8 (Am)
Cabrio Duo	1.5 l/ha	Pyraclostrobine + Dimethomorf	3	16/7, 30/7, 13/8

3.4.3 Statistische analyse

De statistische analyse gebeurde analoog zoals bij de vorige proeven.

3.4.4 Verwerking bladstalen

DNA-extractie

Voor de DNA-extractie werd dezelfde werkwijze gevolgd zoals beschreven in Sectie 3.3.4.

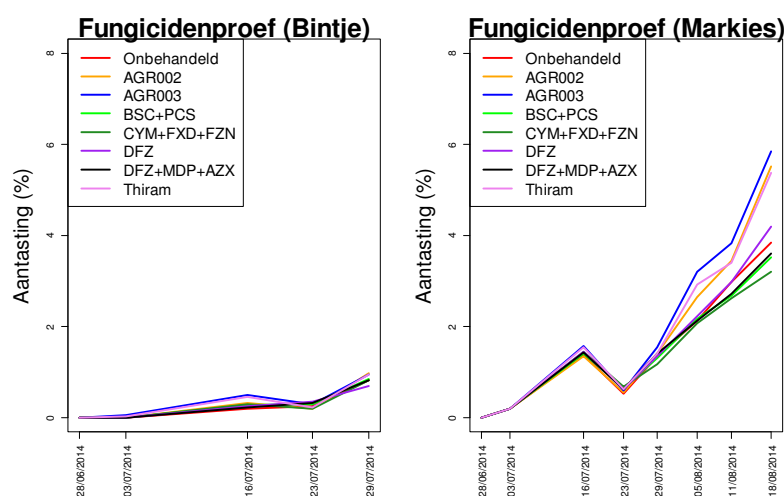
qPCR-analyse

Voor de qPCR-analyse werd dezelfde werkwijze gevolgd zoals beschreven in Sectie 3.3.4. Het doel was opnieuw na te gaan of de aanwezige bladplekken effectief afkomstig waren van *Alternaria* en de relatieve hoeveelheid aan *A. alternata* en *A. solani* aanwezig per staal via de qPCR-analyse te bepalen. Dit resultaat levert een beeld van de natuurlijke samenstelling van de *Alternaria* populatie die voorkomt in Vlaanderen.

3.4.5 Resultaten en discussie

Fungicidenproef Bottelare

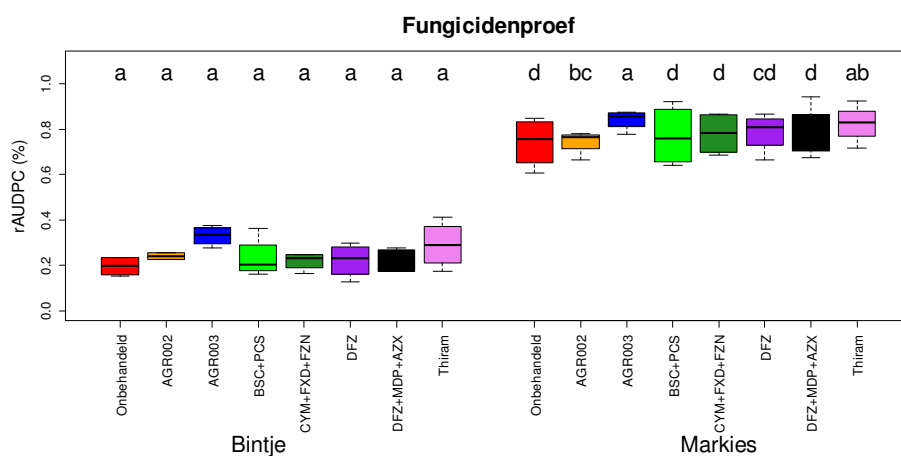
In Figuur 3.13 wordt het verloop van de *Alternaria*-aantasting voor beide rassen weergegeven. Er moet opgemerkt worden dat de aantasting bij het ras Bintje slechts tot 29/07 gescoord werd omdat deze aardappelen vroegtijdig afstierven. Bij Markies werd er gescoord tot 18/08. De aantasting is duidelijk groter voor Markies dan voor Bintje. Bij Markies was er een significant verschil in aantasting op het 5 % significantieniveau (p -waarde 3.7×10^{-9} , ANOVA) tussen de verschillende fungicidenbehandelingen (Figuur 3.14). De fungiciden Agriphar003 en Thiram bleken het minst efficiënt in hun werking tegen *Alternaria*. Aardappelen behandeld met Terminett (BSC+PCS), Tanos + Shirlan (CYM+FXD+FZN) en Carial star + Amistar (DFZ+MDP+AZX) werden minst aangetast door *Alternaria*. De interpretatie van deze resultaten moet echter met de nodige voorzichtigheid gebeuren, aangezien de aantasting van de onbehandelde aardappelen eveneens bijzonder laag was.



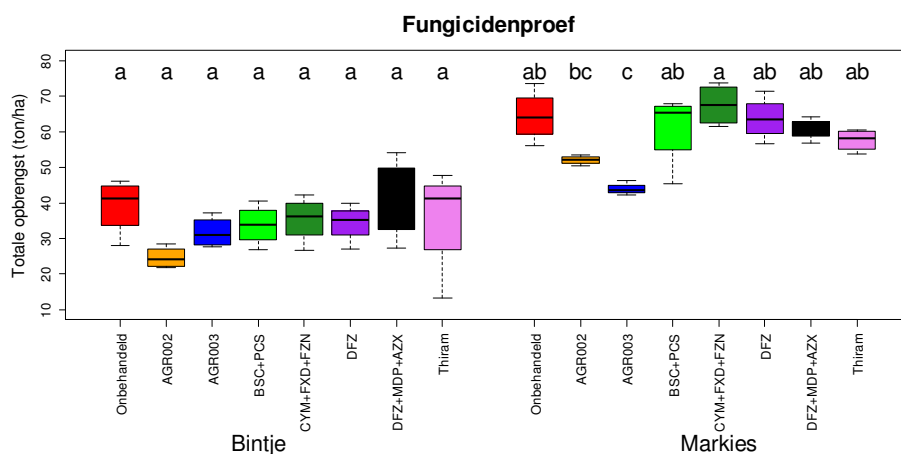
Figuur 3.13: Verloop van de *Alternaria*-aantasting, fungicidenproef Bottelare.

In Figuur 3.15 wordt de totale opbrengst vergeleken tussen de verschillende behandelingen. Opnieuw bleek er enkel een significant verschil op het 5 % significantieniveau (p -waarde 1.0×10^{-4} ANOVA) bij aardappelen van het ras Markies. Zoals verwacht leverde een hogere rAUDPC-waarde een lagere totale opbrengst. De totale opbrengst werd ook opgedeeld in opbrengst per grootteklasse. Er werden drie klassen onderscheiden namelijk de klasse tussen 0 en 35 mm, van 35 tot 50 mm en groter dan 50 mm. Enkel bij de grootste klasse was het significante verschil in opbrengst tussen de fungicidenbehandelingen aanwezig. Dit kan verklaard worden doordat *Alternaria* pas laat in het seizoen belangrijke aantasting veroorzaakt.

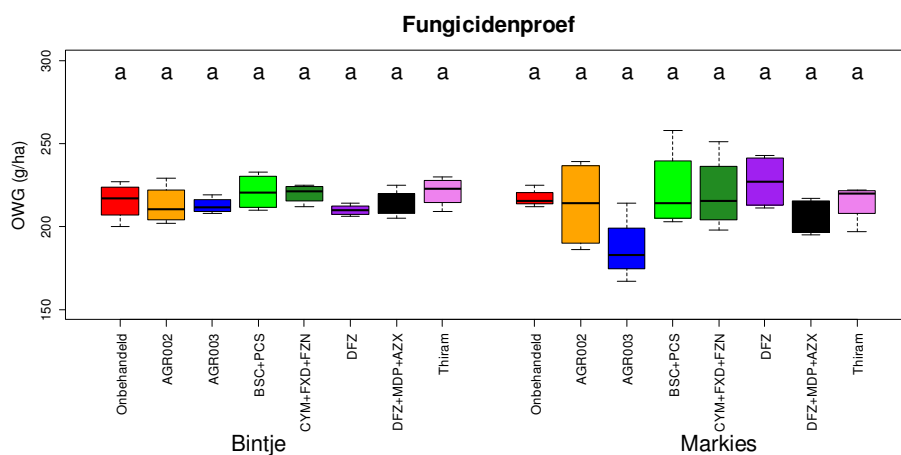
Voor beide rassen werd het onderwatergewicht en het droge stof gehalte bepaald. Voor deze parameters was er geen significant verschil merkbaar tussen de uitgevoerde fungicidebehandelingen (Figuur 3.16 en 3.17).



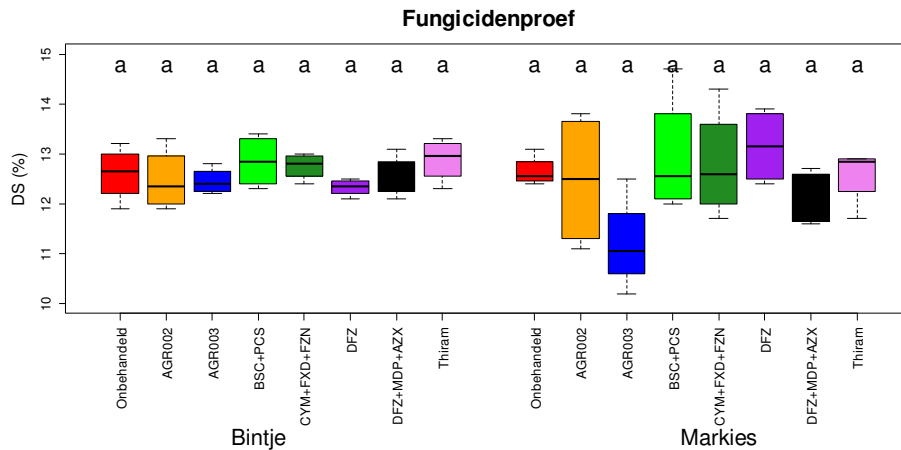
Figuur 3.14: Boxplot van de rAUDPC, fungicidenproef Bottelare.



Figuur 3.15: Boxplot van de totale opbrengst, fungicidenproef Bottelare.

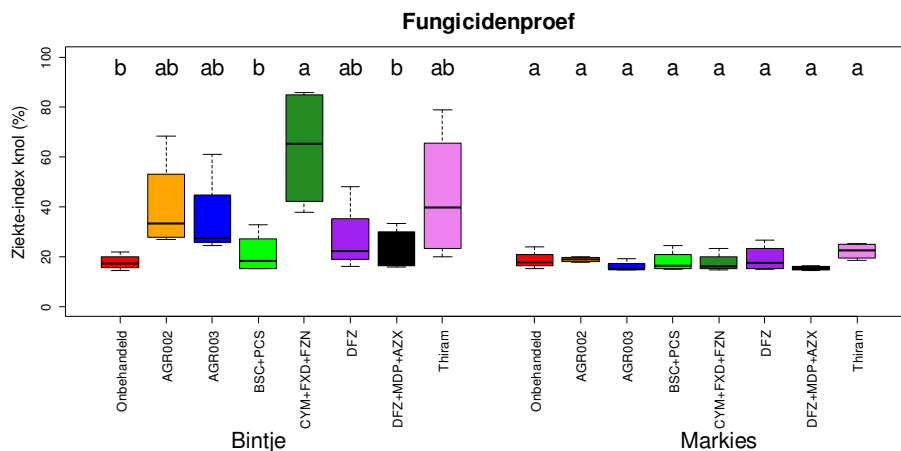


Figuur 3.16: Boxplot van het onderwatergewicht, fungicidenproef Bottelare.



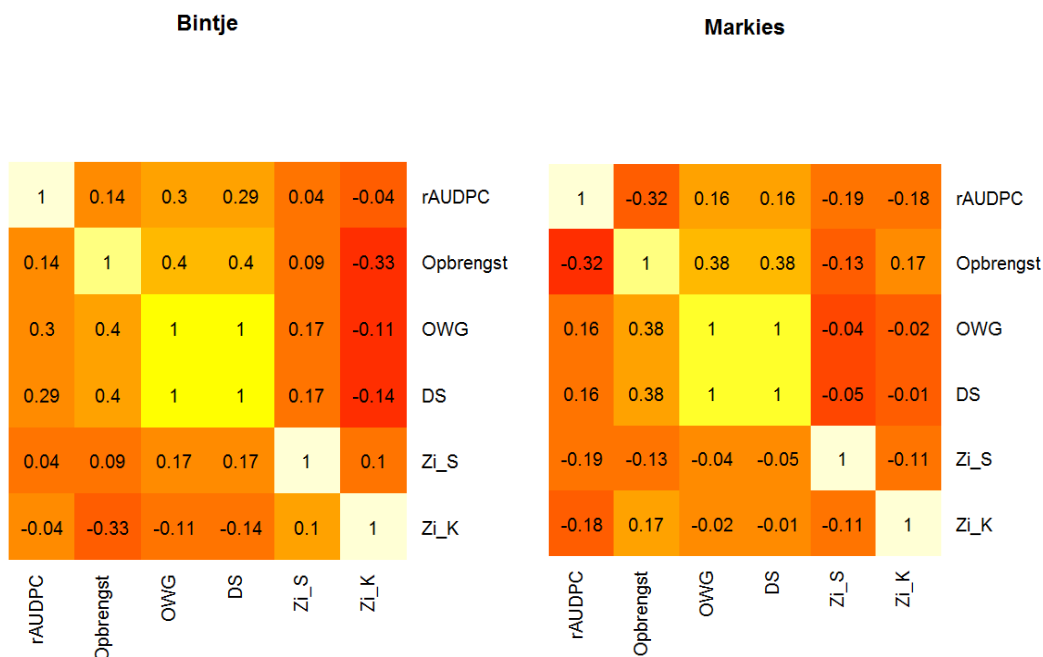
Figuur 3.17: Boxplot van het droge stof gehalte, fungicidenproef Bottelare.

Na de oogst werd de schil van de aardappelen beoordeeld op aantasting door *Rhizoctonia* en *Sclerotinia*. Er werd zowel voor Bintje als voor Markies geen significant verschil gevonden in aantasting tussen de verschillende behandelingen (p-waardes 0.442 en 0.149, ANOVA). Op analoge wijze werd de aantasting van de knol door *Phytophthora infestans* of andere oorzaken geëvalueerd. Bij aardappelen van het ras Markies was hiervoor geen significant verschil merkbaar tussen de fungicidebehandelingen. Bij Bintje was wel een verschil merkbaar, zie Figuur 3.18. De aantasting van de knol was bij aardappelen van het ras Bintje duidelijk gemiddeld hoger dan bij Markies.



Figuur 3.18: Boxplot van de ziekte-index knol, fungicidenproef Bottelare.

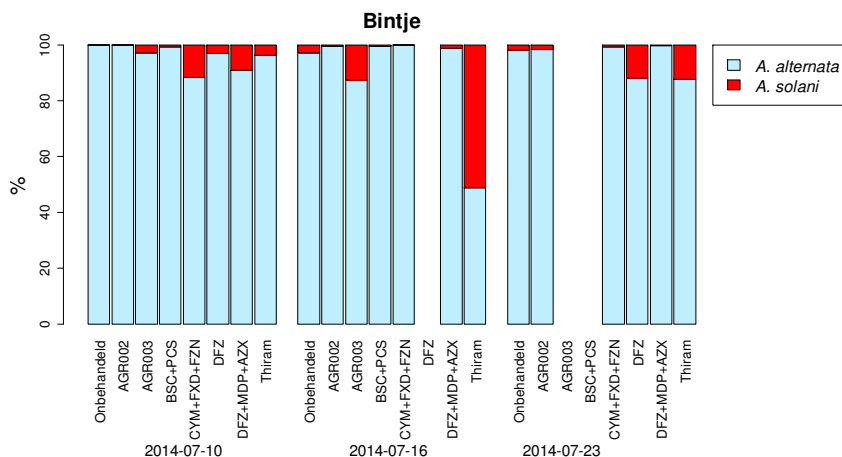
In Figuur 3.19 worden de correlaties tussen de *Alternaria*-aantasting, de opbrengstparameters, de schil- en de knolaantasting weergegeven. Voor het ras Bintje zijn de correlaties tussen de opbrengstparameters en de ziekte-index van de knol donkerst rood. Deze correlaties zijn negatief, een lagere opbrengst bij Bintje was dus voornamelijk te wijten aan een grotere ziekte-index van de knol. Voor het ras Markies is de correlatie tussen de rAUDPC-waarde of dus de *Alternaria*-aantasting en de opbrengst de donkerste correlatie. De correlatie is negatief, een hogere rAUDPC-waarde levert dus een lagere opbrengst. Dit besloten we eveneens uit figuren 3.14 en 3.15.



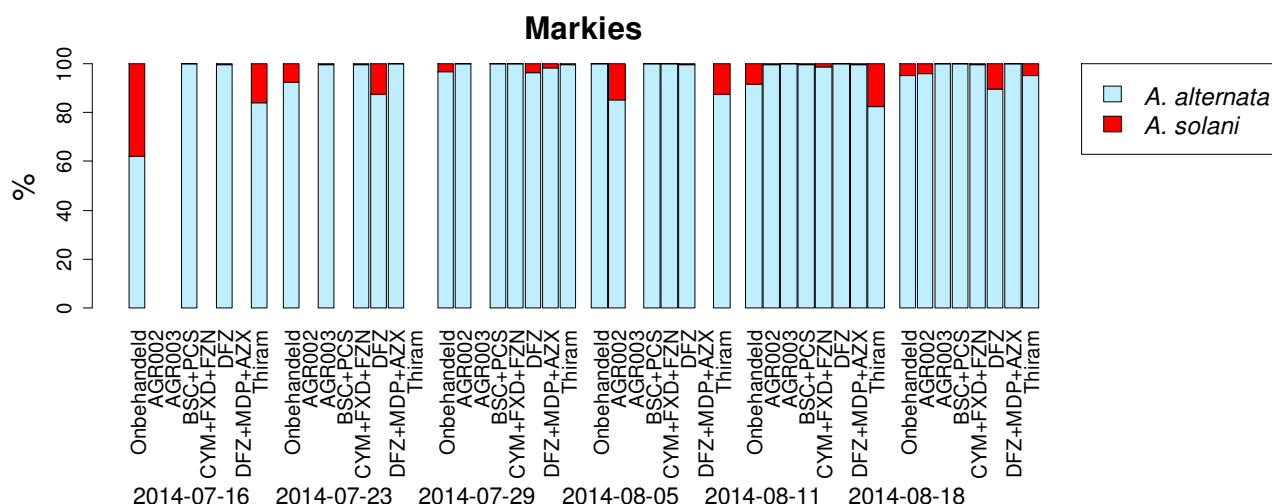
Figuur 3.19: Correlaties tussen de *Alternaria*-aantasting (rAUDPC), opbrengstparameters, schil- (Zi_S) en knolaantasting (Zi_K), fungicidenproef Bottelare.

Op alle tijdstippen waarop de *Alternaria*-aantasting op het veld werd gescoord, werd van elk object een staal aangetast bladmateriaal meegenomen. Zo kon in het labo, via qPCR-analyse, achterhaald worden of er *Alternaria* aanwezig was in de geobserveerde bladvlekken. In Figuur 3.20 en 3.21 werden de resultaten van de qPCR-analyse visueel weergegeven. Bij ontbrekende balkjes werd er geen *Alternaria* in het staal gedetecteerd. Aangezien bij de fungicidenproef geen artificieel inoculum werd toegevoegd, geven deze resultaten een beeld van de samenstelling van de natuurlijke *Alternaria* populatie in Bottelare gedurende het seizoen van 2014.

Ten opzichte van de resultaten van de qPCR-analyse bij de infectieproef (Sectie 3.3.5) valt het op dat er bij de fungicidenproef veel minder *A. solani* teruggevonden wordt. Hieruit kan besloten worden dat er in de natuurlijke populatie in Vlaanderen meer *A. alternata* voorkomt dan *A. solani*. Bovendien was de ziekte-intensiteit voor Bintje duidelijk groter bij de infectieproef dan bij de fungicidenproef, wat bevestigt dat *A. solani* een grotere pathogeniciteit veroorzaakt dan *A. alternata*.



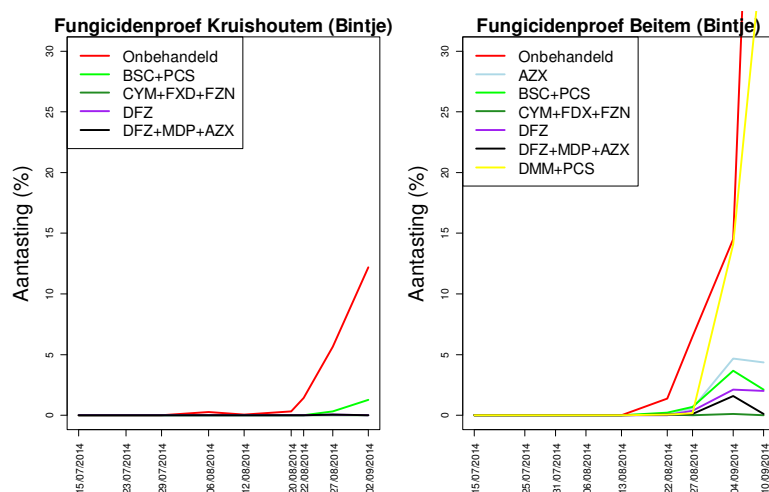
Figuur 3.20: Samenstelling van de *Alternaria*-populatie bij de fungicidenproef te Bottelare voor het ras Bintje.



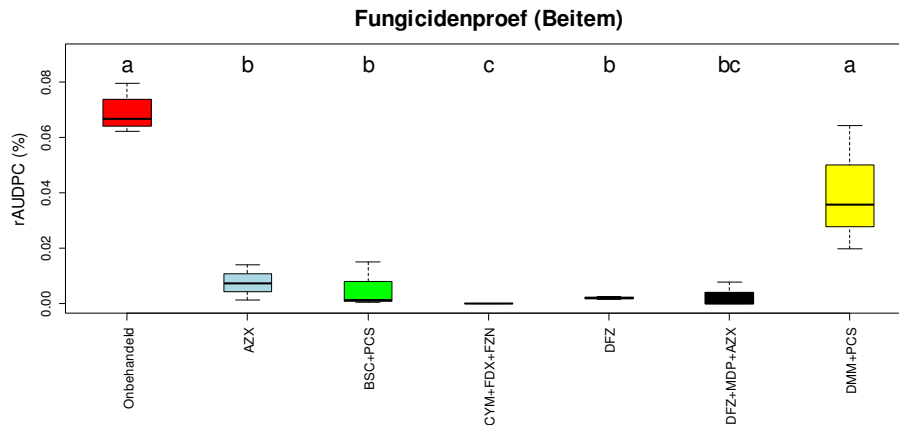
Figuur 3.21: Samenstelling van de *Alternaria*-populatie bij fungicidenproef te Bottelare voor het ras Markies.

Fungicidenproef Kruishoutem en Beitem

In Kruishoutem en Beitem werden analoge fungicidenproeven aangelegd. De proefvelden werden er gescoord door respectievelijk het PCA en Inagro. De scoringsresultaten werden aan ons bezorgd. Figuur 3.22 toont het verloop van de *Alternaria*-aantasting voor beide locaties. In Kruishoutem was er een fikse toename van de aantasting merkbaar bij de onbehandelde aardappelen vanaf 20/08. Bij de fungicidenproef in Bottelare zagen we geen soortgelijk fenomeen, maar in Bottelare werd er dan ook slechts gescoord tot 29/07 (voor Bintje) en tot 18/08 (voor Markies). In Beitem waren voor onbehandelde aardappelen en aardappelen behandeld met Cabrio duo + Dash (Dimethomorf + pyraclostrobine) tevens sterke toenames merkbaar na 27/08. De hoge aantasting bij de behandeling met Cabrio duo + Dash is te wijten aan het feit dat de laatste behandeling met dit fungicide uitgevoerd werd op 13/08 ten opzichte van 27/08 voor de andere fungiciden (zie Tabel 3.6). Uit deze waarnemingen kan afgeleid worden dat de *Alternaria*-piek in Vlaanderen in 2014 pas in de tweede helft van augustus voorkwam. Enkel voor de proef in Beitem was er een significant verschil op het 5 % significantieniveau tussen de rAUDPC-waarden bij de verschillende behandelingen (Kruskal-Wallis) (Figuur 3.23). Shirlan + Tanos kwam uit deze proef naar voor als best werkend fungicide.



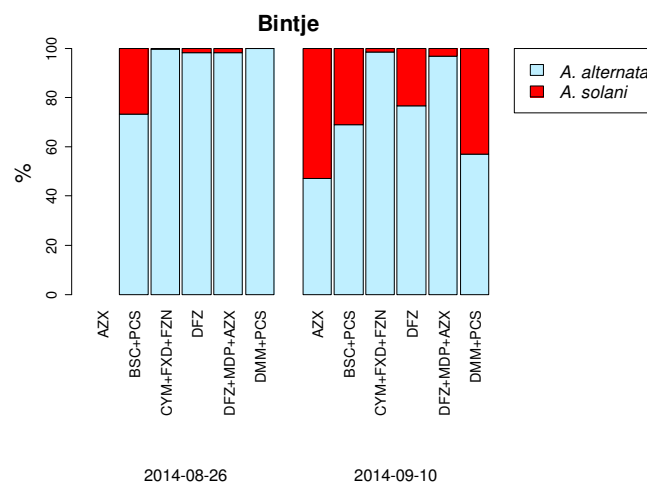
Figuur 3.22: Verloop van de *Alternaria*-aantasting, fungicidenproef Kruishoutem (links), Beitem (rechts).



Figuur 3.23: Boxplot van de rAUDPC-waarde, fungicidenproef Beitem.

Voor de proef in Kruishoutem werd na de oogst de opbrengst, het onderwatergewicht en het droge stof gehalte bepaald. Er was geen significant verschil op het 5 % significantieniveau merkbaar bij deze oogstkenmerken voor de verschillende behandelingen (ANOVA). Voor de proef in Beitem werd enkel de opbrengst bepaald. Ook hier waren er geen significante verschillen merkbaar op het 5 % significantieniveau (Kruskal-Wallis).

In Beitem werden er bladstalen verzameld op 26/08/2014 en op 10/09/2014. Deze werden aan ons bezorgd om een qPCR-analyse op uit te voeren. In Figuur 3.23 wordt het resultaat van de analyse weergegeven. Op het tweede tijdstip was duidelijk meer *A. solani* aanwezig dan op het eerste tijdstip.



Figuur 3.24: Samenstelling van de *Alternaria*-populatie bij fungicidenproef te Beitem voor het ras Bintje.

Hoofdstuk 4

Bestaande voorspellingsmodellen

4.1 Geïntegreerde bestrijding a.d.h.v. voorspellingsmodellen

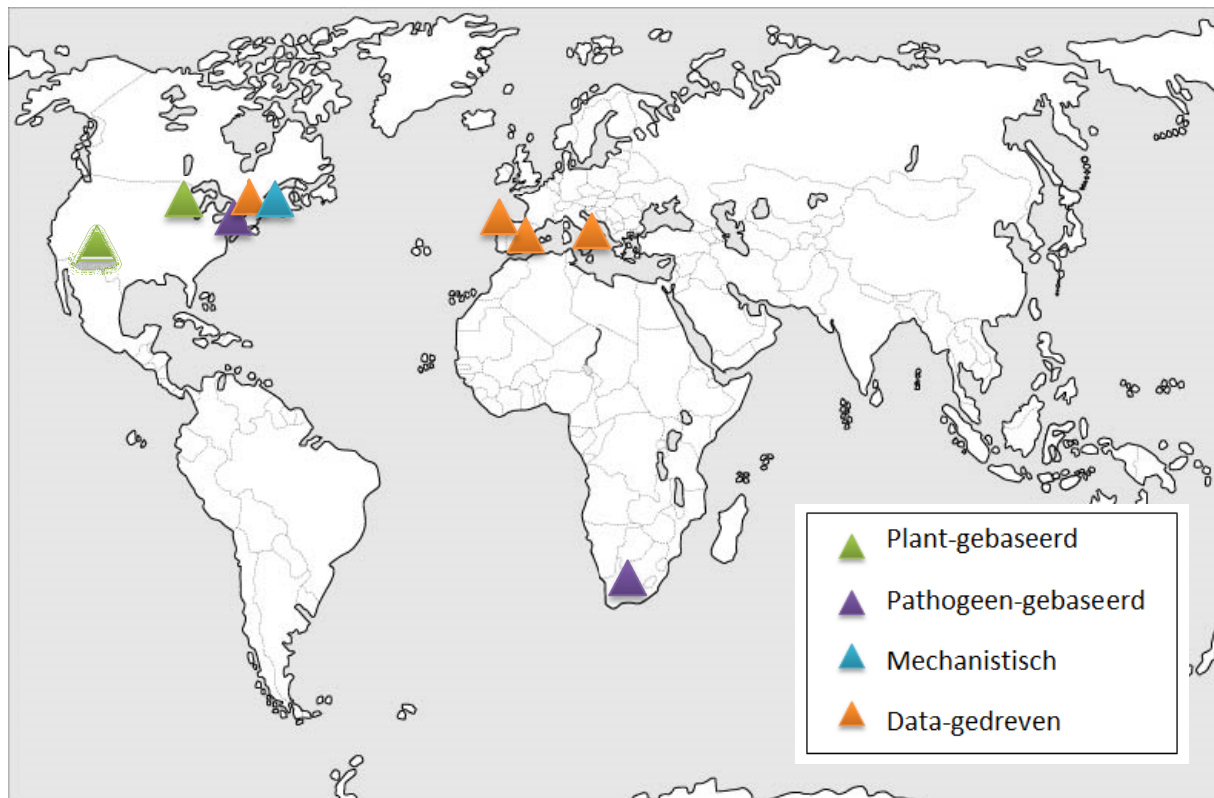
Een goede kennis van de factoren die het optreden van *Alternaria* bepalen biedt de mogelijkheid om een voorspellingsmodel voor de ziekte te bouwen. Dit model kan dan de basis vormen van een beslissingsondersteunend model voor fungicidentoepassingen. Zo kan de aardappelteler zijn fungicidentoepassingen beperken tot die momenten waarop ze het meest effectief zijn, dit in tegenstelling tot de huidige adviezen voor stelselmatige bespuiting tegen *Alternaria*. Een kennis-gebaseerde aanpak is tevens in lijn met de Europese richtlijn 2009/128 EU die een IPM (Integrated Pest Management) benadering oplegt voor de beheersing van ziekten en plagen.

Vandaag heeft het Interprovinciaal Proefcentrum voor de Aardappelteelt een waarschuwingdienst voor de bestrijding van *Phytophthora infestans* op de markt. De basis voor de waarschuwingsberichten is enerzijds een theoretisch model dat aan de hand van gedetailleerde weersgegevens de ontwikkeling van de aardappelziekte berekent. Daarnaast wordt ook informatie over besmettingsbronnen geïntegreerd. Zo wordt ingeschat hoeveel sporen voorhanden zijn en bij gunstige omstandigheden tot infectie kunnen leiden. Gedurende het aardappelseizoen worden regelmatig adviezen gestuurd naar ongeveer 1000 leden van het PCA. De adviezen bevatten informatie over het optimale spuittijdstip en fungicide (Vanhaverbeke P., 2013).

De ziektedriehoek is het basisconcept binnen de plantpathologie: ziekte is pas mogelijk wanneer een virulente pathogeen onder gunstige omstandigheden in contact komt met een gevoelige plant (Francl et al., 2001). Aan de ontwikkeling van een schimmelziekte gaat heel wat vooraf. Langs de zijde van de pathogeen moeten eerst conidioforen kunnen ontwikkelen, vervolgens de sporen. Daarna moeten de sporen verspreid worden, waarna ze op een gevoelige plant moeten terechtkomen. Hierna moet kieming plaatsvinden. Tot slot kan dan infectie optreden. Al deze stappen worden beïnvloed door omgevingsfactoren zoals temperatuur, bladnaturen, windsnelheid,... Ook de plant is niet steeds gevoelig voor infectie. Bij aardappelen is de gevoeligheid voor *Alternaria* ras-afhankelijk en bepaald door de maturiteit van de plant. Opnieuw spelen omgevingsfactoren hierin een grote rol.

Voor het opstellen van ziektevoorspellingsmodellen lijken de drie factoren: plant, pathogeen en omgeving, dus essentieel. Modellen uit de literatuur kunnen echter opgedeeld worden in vier groepen: pathogeen-gebaseerde modellen, plant-gebaseerde modellen, mechanistische modellen en data-gedreven modellen. In Figuur 4.1 wordt visueel weergegeven waar de modellen die besproken zullen worden ontwikkeld werden. Bij modellen van het eerste type: pathogeen-gebaseerd, blijken de omstandigheden in de regio waar het model ontwikkeld werd vaak zodanig dat de plant steeds gevoelig is. Het omgekeerde geldt voor modellen van het tweede type, de omstandigheden voor de ontwikkeling van de pathogeen zijn er steeds vervuld. Mechanistische modellen zijn een expliciete weergave van de kennis van de biologische processen die een rol spelen bij de ontwikkeling van

‘early blight’. Modellen van het vierde type zijn opgebouwd met behulp van wiskundige data-analyse technieken. In wat volgt wordt dieper ingegaan op enkele modellen uit de literatuur.



Figuur 4.1: Indeling bestaande voorspellingsmodellen voor *Alternaria* volgens ‘type’.

4.2 Pathogeen-gebaseerde modellen

4.2.1 FAST (Forecast System for *Alternaria solani* on Tomato)

FAST staat voor Forecast System for *Alternaria solani* on Tomato. Het is een voorspellingsmodel dat ontwikkeld werd in Pennsylvania door Madden et al. in 1978. Met dit model tracht men periodes wanneer de omgevingscondities geschikt zijn voor de ontwikkeling van ‘early blight’ te identificeren en efficiënte fungicidentoepassingschema’s op te stellen.

De basis van het voorspellingsmodel zijn twee empirische modellen, die aan de hand van arbitrair gekozen combinaties van omgevingsparameters de geobserveerde relaties tussen *Alternaria solani* en zijn micro-omgeving weergeven. De parameters die van belang zijn in het eerste model zijn weergegeven in Tabel 4.1. Concreet wordt de ‘ernst’ van de aantasting (S) voorspeld op basis van het aantal uren dat de bladeren nat zijn en de gemiddelde luchttemperatuur gedurende de natte periode. De temperatuursintervallen corresponderen met deze gerapporteerd door Waggoner & Horsfall (1969) voor conidiofor- en sporenvorming door *Alternaria solani*.

Door middel van een tweede model wordt een dagelijkse ziekte ‘ernst’ waarderingswaarde (R) bepaald. De R-waarden worden bepaald door de gemiddelde luchttemperatuur en het aantal uren met een relatieve vochtigheid groter dan 90 % gedurende de laatste vijf dagen en de totale neerslag gedurende de laatste zeven dagen. De respectievelijke grenswaarden zijn weergegeven in Tabel 4.2.

Niet enkel de S- en R-waarden zijn van belang bij het opstellen van een efficiënt fungicidentoepassingsschema, maar ook afgeleiden van deze waarden. Twee waarden zijn afgeleid van S: nl. de totale cumulatieve 'ernst' waarde, dit is de som van alle S-waarden sinds het begin van het groeiseizoen en de cumulatieve 'ernst' waarde gedurende de laatste zeven dagen. Ook van R wordt er een cumulatieve waarde berekend, telkens voor vijf dagen.

Tabel 4.1: De ziekte 'ernst' waardes (S) als functie van bladnat periodes en de gemiddelde lucht temperatuur gedurende de natte periode. S-waarden liggen tussen 0 (ongunstige condities voor het vormen van sporen) en 4 (gunstige condities).

Bladnat uren (u) vereist om dagelijkse 'ernst' waardes te produceren (S):					
Gemiddelde temp (°C)	0	1	2	3	4
13-17	0-6	7-15	16-20	21+	
18-20	0-3	4-8	9-15	16-22	23+
21-25	0-2	3-5	6-12	13-20	21+
26-29	0-3	4-8	9-15	16-22	23+

Tabel 4.2: De R-waarden als functie van de gemiddelde luchttemperatuur gedurende de laatste 5 dagen, uren van relatieve vochtigheid groter dan 90 % gedurende de laatste vijf dagen en totale hoeveelheid neerslag gedurende de laatste zeven dagen (cm). R-waarden liggen tussen 0 (ongunstige condities voor het vormen van sporen) en 3 (gunstige condities).

Gemiddelde temp (°C)	Uren (h) met RV>90 %	Totale neerslag (cm)	R
<22	<60	<2.5	0
>22	<60	<2.5	0
<22	>60	<2.5	1
<22	<60	>2.5	1
<22	>60	>2.5	1
>22	>60	<2.5	2
>22	<60	>2.5	2
>22	>60	>2.5	3

De eerste fungicidentoepassing tegen 'early blight' wordt aanbevolen wanneer de som van alle S-waarden sinds het begin van het groeiseizoen de drempelwaarde 35 overschrijdt en de planten al minstens vijf weken in het veld zijn. Daarop volgende fungicidentoepassingen zijn vereist wanneer de cumulatieve S- en R-waarden (CS en CR), een kritische waarde bereiken of overschrijden. Madden et al. (1978) bekwamen voor behandelingen gebaseerd op kritische waarden voor CS 11 en CR 9 of CS 14 en CR 8, even goede resultaten als de commerciële toepassing. De keuze voor deze kritische waarden resulteerde uit de vergelijking van CS en CR waarden berekend met weerdata van vorige jaren en het corresponderende ziekteverloop. Er werden hierbij respectievelijk tien en zes fungicidentoepassingen minder uitgevoerd dan bij het commerciële schema.

4.2.2 IWP-model

van der Waals et al. (2003) bestudeerden de relatie tussen omgevingsfactoren, productie en verspreiding van sporen van *Alternaria solani* in aardappelvelden in Zuid-Afrika. De bekomen resultaten kunnen interessant zijn bij het opstellen van fungicidentoepassingsschema's aangezien er geen rassen op de markt zijn die volledig resistent zijn tegen 'early blight'. In andere studies werden er reeds correlaties aangetoond tussen sporulatie en weerscondities, waarbij de aard van de weerscondities steeds afhankelijk waren van de specifieke regio (Rotem et al., 1994).

De studie werd uitgevoerd gedurende drie groeiseizoenen: maart – mei 2000, november 2001 – januari 2002 en februari – juni 2002. De aardappelplanten werden natuurlijk geïnfecteerd. Volgende weerparameters werden gemonitord: temperatuur, relatieve vochtigheid, bladnaturen, neerslag, windsnelheid en zonnestraling. Daarnaast werd de concentratie aan sporen van *A. solani* in de lucht gemeten. Gedurende het grootste deel van de studie werden windsnelheden hoger dan twee à drie meter per seconde waargenomen. Er werd aangetoond dat dit de minimale snelheid is nodig om grote hoeveelheden sporen van *Alternaria*-species vrij te stellen (Standberg et al., 1977).

In alle seizoenen werden gelijkaardige trends in sporenconcentraties geobserveerd in relatie tot temperatuur, onderbroken natte periodes (IWP) en oogst. van der Waals et al. (2003) zagen dat de sporenconcentratie in de lucht daalde wanneer de nachttemperatuur beneden acht graden viel. Deze temperatuur is de minimale temperatuur waarbij *A. solani* sporen kan vormen (Harrison et al. 1965). Op dagen wanneer er geoogst werd of wanneer er allerhande grondbewerkingen uitgevoerd werden, werd een opmerkelijke stijging in sporenconcentratie waargenomen (van der Waals et al. 2003). *Alternaria solani* en verschillende andere *Alternaria*-species kunnen sporuleren ondanks een gebrek aan langdurige luchtvochtigheid, door gebruik te maken van verschillende korte natte periodes, vaak gedurende de nacht, onderbroken door droge periodes gedurende de dag. Er werd bovendien aangetoond dat *A. solani* in staat is tot zeven maal meer conidia te produceren in situaties met onderbroken natte periodes dan in situaties met continue natte periodes van dezelfde duur en duisternis (Bashi & Rotem, 1975). Dit is mogelijk omdat conidioforen die tijdens de nacht gevormd worden, bestand zijn tegen ongunstige droge periodes gedurende de daaropvolgende dag. van der Waals et al. (2003) bevestigden de stelling van Rotem et al. (1994) dat sporulatie in veldcondities minimaal twee dagen met IWP-condities vereist. Een IWP-dag wordt gedefinieerd als een dag waarop de relatieve vochtigheid hoger is dan 95 % gedurende zes uren in de nacht. En de relatieve vochtigheid gedurende de dag minimaal zes uren lager is dan 80 %.

van der Waals et al. (2003) besluiten dat het mogelijk is ziektemanagementbeslissingen te maken gebaseerd op de voorspelde of actueel gedetecteerde hoeveelheid inoculum. In de aardappelteeltregio's in Zuid-Afrika leveren voorspellingen gebaseerd op IWP-condities adequate resultaten.

4.3 Plant-gebaseerde modellen

4.3.1 Dag-graden model

Franc et al. (1988) ontwikkelden in Colorado een eenvoudig 'dag-graden' model om het optimale tijdstip van de eerste fungicidentoepassing tegen *Alternaria solani* te voorspellen en zo de kosten en de milieu-impact van de bestrijding te minimaliseren.

Franc et al. (1988) suggereren dat het aanvangen van een fungicidentoepassing moet samenvallen met de eerste verschijning van de sporen van *A. solani* in de lucht. Dit is het tijdstip van secundaire sporulatie. Uit onderzoek blijkt dat sporen van *A. solani* gemiddeld vijf tot tien dagen na het verschijnen van de eerste bladvlekken in sporenvallen aangetroffen worden.

Er bestaan verschillende methodes om het tijdstip voor de eerste fungicidentoepassing te bepalen, met name het gebruik van sporenvallen of het observeren van de bladeren op het verschijnen van de eerste vlekken. Deze twee methodes hebben als nadeel dat ze veel tijd vragen. Een bijkomende

moeilijkheid bij de sporenvallen is het onderscheiden van sporen van andere pathogenen die zeer gelijkend zijn aan de sporen van *A. solani*. Verder worden afhankelijk van de efficiëntie van de sporenval de sporen maar opgemerkt vijf tot tien dagen na het verschijnen van de eerste bladvlekken. Bij omgevingscondities die ideaal zijn voor snelle ziekteontwikkeling heeft de landbouwer in dit geval weinig tijd om de fungicidetoepassing voor te bereiden.

Het 'groeï dag-graden'-model tracht een efficiënte methode te zijn om het verschijnen van de eerste bladvlekken te voorspellen zodat de landbouwer nog voldoende tijd heeft om zich voor te bereiden voor de eerste fungicidetoepassing. Het model is gebaseerd op de 'Growing Day-Degree' of 'groeï dag-graden' dit is de som van de gemiddelde dagtemperatuur boven 7,2 °C vanaf de plantdatum. De grenswaarde van 7,2 °C wordt gehanteerd omdat wortels en stengels van aardappelplanten bijna niet groeien onder deze temperatuur. 'Groeï dag-graden' worden bepaald met behulp van onderstaande formule (4.1):

$$GDD = \left[\frac{T_{max} + T_{min}}{2} \right] - 7.2 \quad (4.1)$$

Negatieve GDD's worden niet meegenomen bij het berekenen van de som.

Het 'groeï dag-graden' model heeft niet de intentie om de fysiologie van de pathogeen te beschouwen, het is daarentegen de fysiologie van de plant die centraal staat. Sporulatie van *A. solani* vindt voornamelijk plaats op oudere bladeren. De graad van veroudering wordt gerelateerd aan plantgroei en maturiteit waarvoor o.a. temperatuur een belangrijke factor is. De relatief stabiele omgevingscondities van Colorado dragen bij aan de eenvoudigheid van het model. Aardappelroof in Colorado wordt typisch blootgesteld aan afwisselende natte en droge periodes vanwege dauw gevolgd door een droge dag of vanwege sproei-irrigatie. Daarom zijn de omgevingscondities noodzakelijk voor de sporulatie en secundaire verspreiding van de pathogeen normaal aanwezig vanaf de datum waarop de temperatuur-threshold bereikt wordt. Wanneer modellen ontwikkeld worden voor regio's waar de condities niet continu gunstig zijn voor infectie en secundaire verspreiding, zal niet enkel de GDD-waarde berekend moeten worden, maar zal ook nagegaan moeten worden of de condities gunstig zijn voor secundaire verspreiding (sporulatie en infectie).

Uit onderzoek blijkt dat de GDD-threshold in de noordoostelijke vlaktes in Colorado 625 is, wat veel hoger is dan de threshold in de San Luis Valley, waar die 361 bedraagt. Franc et al. (1988) schrijven dit verschil toe aan het feit dat het model niet gebaseerd is op de fysiologie van de pathogeen. In de noordoostelijke vlaktes treft men typisch warmere temperaturen aan. In het 'groeï dag-graden' model is er geen maximumtemperatuur grenswaarde waarboven *A. solani* niet langer zal sporuleren, hoewel dit in werkelijkheid hier wel een invloed zal hebben. Verder is de GDD-waarde ook een indirecte maat voor andere ongedefinieerde parameters bv. zonnestraling. Verschillen van deze parameters op verschillende locaties dragen ook bij tot verschillen tussen de grenswaardes (Franc et al., 1988).

4.3.2 P-dagen model

Het 'P-dagen' model heeft veel gelijkenissen met het 'Dag-graden' model. Beide modellen trachten het tijdstip van de eerste fungicidetoepassing, nodig om 'early blight' te onderdrukken, te voorspellen. Vanaf dan wordt de fungicidenbehandeling wekelijks toegepast, behalve in heel regenachtige omstandigheden, dan wordt het interval tussen de toepassingen verkort. Net als bij het

‘Dag-graden’ model zijn de dagelijkse minimum- en maximumtemperatuur de parameters van het ‘P-dagen’ model. Een ‘P-dag’ wordt bepaald met formule (4.2):

$$P - dag = \left(\frac{1}{24}\right) * \left[5 P(T_{min}) + 8 P\left(\frac{2T_{min}}{3} + \frac{T_{max}}{3}\right) + 8 P\left(\frac{2T_{max}}{3} + \frac{T_{min}}{3}\right) + 3 P(T_{max}) \right] \quad (4.2)$$

$$P(T) = \begin{cases} 0 & \text{als } T < 7^{\circ}C \\ 10 \left[1 - \frac{(T - 21^{\circ}C)^2}{(21 - 7)^2} \right] & \text{als } 7 \leq T < 21^{\circ}C \\ 10 \left[1 - \frac{(T - 21^{\circ}C)^2}{(30 - 21)^2} \right] & \text{als } 21 \leq T < 30^{\circ}C \\ 0 & \text{als } T \geq 30^{\circ}C \end{cases}$$

Zoals bij het ‘Dag-graden’ model wordt de accumulatie van ‘P-dagen’ over het groeiseizoen berekend. Bij het ‘P-dagen’ model wordt de som bepaald vanaf het opkomen van de aardappelplant, bij het ‘Dag-graden’ model vanaf de plantdatum. De eerste fungicidentoepassing wordt aanbevolen wanneer 300 P-dagen bereikt worden (Pscheidt & Stevenson, 1986).

Het ‘P-dagen’ model werd oorspronkelijk ontwikkeld om de aardappelopbrengst te voorspellen (Sands et al., 1979). Met de benaming ‘P-dag’ wordt fysiologische dag bedoeld. De minimale, optimale en maximale temperatuur waarbij een aardappelplant groeit zijn respectievelijk 7, 21 en 30 °C. Deze getallen zijn dan ook verwerkt in de formule voor het berekenen van de ‘P-dagen’ (4.2). Daarnaast is ook de dagelijkse fluctuatie van de luchttemperatuur een belangrijke parameter in de formule (4.2). Sands et al. (1979) vonden dat voor elk specifiek aardappelras, de maximale aanwas snelheid en het ophouden van de aanwas plaatsvond op dezelfde ‘P-dag’-waarde over verschillende jaren. Net als bij het ‘Dag-graden’ model wordt de fysiologie van de pathogeen niet opgenomen in het ‘P-dagen’ model. Sporulatie van *A. solani* vindt voornamelijk plaats op oudere bladeren. De graad van veroudering wordt gerelateerd aan plantgroei, of ook knolgroei, en maturiteit waarvoor zoals blijkt uit de bevindingen van Sands et al. (1979) het ‘Dag-graden’ model een goede maat is.

Pscheidt en Stevenson (1986) onderzochten verschillende voorspellingsmodellen voor het controleren van ‘early blight’ in Wisconsin. Zij suggereerden dat het ‘P-dagen’ model van Sands et al. (1979), naast opbrengstvoorspelling, ook zijn nut kan bewijzen als voorspellingsmodel voor de eerste fungicidentoepassing. Uit hun onderzoek bleek dat het gebruik van sporenvallen (Harrison et al., 1965) en het ‘Dag-graden’ model (Franc et al., 1988), zoals in Colorado, geen betrouwbare voorspelling oplevert in Wisconsin. Het ‘P-dagen’ model en FAST (Madden et al., 1978) slaagden hier wel in. Bij het ‘P-dagen’ model werden twee tot drie spuittoepassingen minder toegepast ten opzichte van het conventionele systeem.

Pscheidt en Stevenson (1986) evalueerden ook de toepassing van het ‘P-dagen’ voorspellingsmodel over drie verschillende rassen ten opzichte van het conventionele systeem. De drie rassen waren Russet Burbank, Superior en Norgold Russet. Toepassing van het ‘P-dagen’ voorspellingsmodel resulteerde bij alle rassen in twee spuittoepassingen minder dan bij het conventionele systeem. De AUDPC-waarde en de opbrengst van een plot waarbij de aanvang van de fungicidentoepassing voorspeld werd door het ‘P-dagen’ model waren voor de rassen Russet Burbank en Superior niet significant verschillend van een plot behandeld volgens de conventionele methode. Bij de conventionele methode, in Wisconsin, wordt de fungicidentoepassing gestart wanneer de planten 20 tot 25 cm groot zijn en volgt vanaf dan tot het einde van het groeiseizoen een wekelijkse toepassing.

Voor het ras Norgold Russet werd wel een significant verschil opgemerkt voor de AUDPC-waarde tussen de conventionele fungicidetoepassing en de methode gebaseerd op het 'P-dagen' model. Pscheidt en Stevenson (1986) schrijven dit toe aan verschillende factoren. Enerzijds is Norgold Russet een gevoeliger ras dan Russet Burbank en Superior. Daarnaast bemerkten zij dat op het proefveld met Norgold Russet ook het jaar voordien aardappelen werden geplant, waardoor mogelijks meer primair inoculum aanwezig was.

4.4 Mechanistisch model

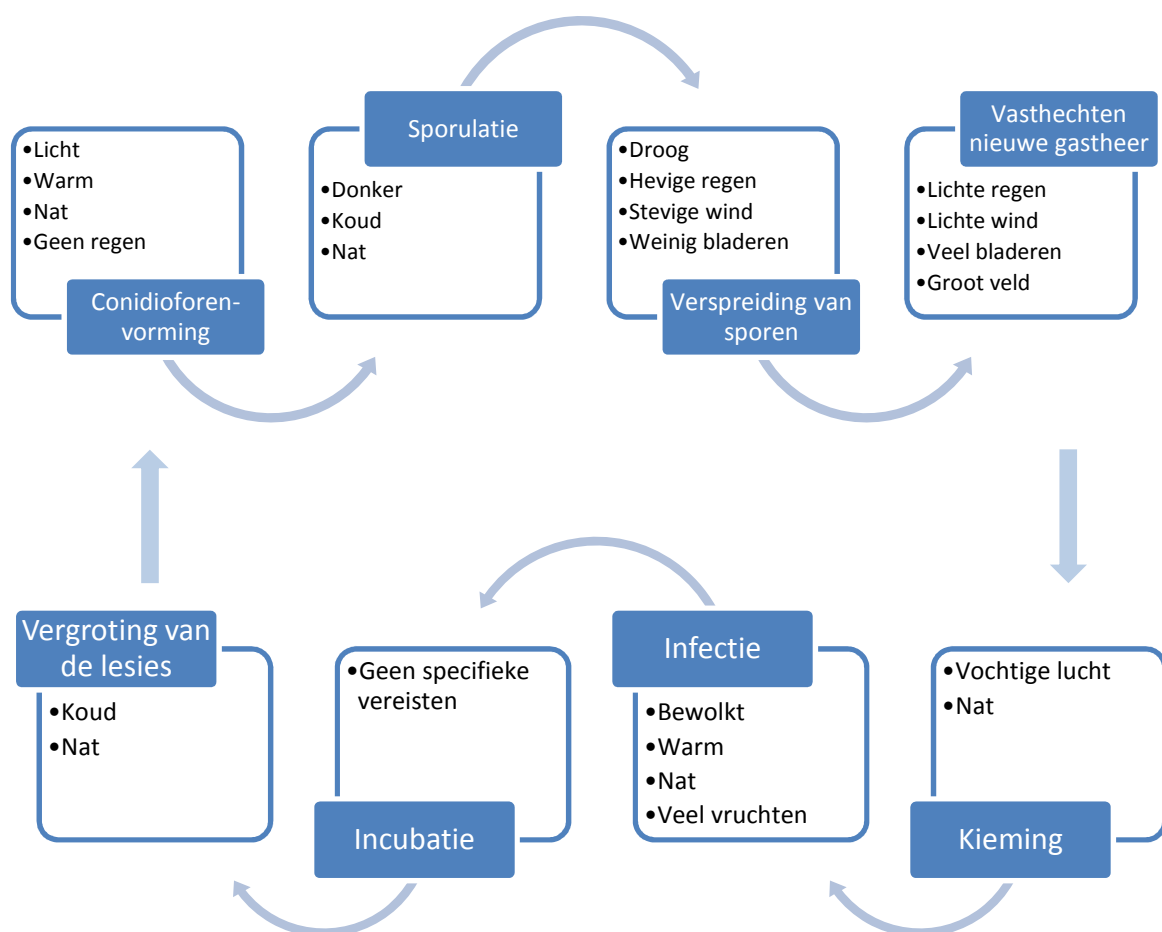
4.4.1 EPIDEM

In 1969 ontwikkelden Waggoner en Horsfall een simulator voor de ontwikkeling van de plantenziekte 'early blight' veroorzaakt door *Alternaria*. Fortran IV werd gebruikt als programmeertaal. Het model werd opgesteld in New Haven en was bedoeld voor het beschrijven, analyseren en voorspellen van de ontwikkeling van 'early blight' bij tomaten onder verschillende weerscondities. De wetenschappers vertrokken van het feit dat de ontwikkeling van een epidemie in planten en bij uitbreiding in alle andere levende wezens, de integratie van een groot aantal omgevingsfactoren vereist in combinatie met specifieke eigenschappen van plant en pathogeen. Waggoner en Horsfall kozen ervoor de epidemie op te splitsen in verschillende stappen volgens de fases in het leven van de schimmel. Vervolgens werd voor elke stap bekeken welke weerscondities en eigenschappen van de plant bepalend zijn. Deze gegevens werden bekomen via experimenten in het laboratorium en via gegevens uit de literatuur.

De simulator leest eerst het weer in en moduleert dan de ontwikkeling van *Alternaria* in overeenstemming met deze gegevens. De weersgegevens die in rekening worden gebracht zijn temperatuur, relatieve vochtigheid, windsnelheid, zonnestraling, dauw en regen gedurende intervallen van telkens drie uur. Elke dag worden dus acht intervallen van weerdata ingelezen. Op de eerste dag van de simulatie wordt er uitgegaan van één initiële bladvlek en verder afwezigheid van sporen of infecties die nog geen bladvlek vormden. Per dag wordt de toename aan ziekte berekend, hiervoor wordt per periode afgetoetst of de weerdata en de eigenschappen van de plant gunstig zijn voor één van de acht fases in de ziektecyclus van *Alternaria*. De fases en de vereiste omgevingscondities zijn weergegeven in Figuur 4.2. Voor het verspreiden van de sporen en vervolgens terechtkomen op een nieuwe gastheer speelt het aantal bladeren een rol. Voor de infectie-fase wordt aangenomen dat het aantal infecties toeneemt met het aantal tomaten die de plant draagt. Ter illustratie wordt in de volgende paragraaf beschreven hoe de belangrijke meteorologische parameters in EPIDEM geïmplementeerd werden voor de eerste fase, de vorming van de conidioforen. Voor de andere fases werd dezelfde werkmethode gehanteerd.

Voor de eerste fase, de vorming van conidioforen, zijn vijf verschillende zaken van belang. Bij temperaturen hoger dan 32 °C worden geen nieuwe conidioforen gevormd. Reeds aanwezige conidioforen worden niet vernietigd noch gesteriliseerd. Vervolgens wordt een opsplitsing gemaakt tussen droge en natte delen van bladvlekken. Op droge delen worden veel minder conidioforen gevormd dan op natte delen, maar de vorming is in beide situaties mogelijk. GSTK en DSTK zijn twee 'tellers' die het aantal gevormde conidioforen bijhouden. GSTK geeft het aantal conidioforen dat gevormd wordt onafhankelijk van het feit of het blad nat of droog is. DSTK daarentegen neemt enkel toe bij natte bladvlekken. In deze fase wordt ook rekening gehouden met mogelijkheden tot

conidioforenvorming op basis van weerdata uit het verleden. Stap voor stap wordt één dag in het verleden teruggekeerd en telkens nagegaan of er mogelijkheden waren tot conidioforenvorming. Indien dit het geval was wordt er nagegaan welk deel van die mogelijkheden vervuld werden. Zowel voor GSTK als DSTK is het de ouderdom van het mycelium dat bepaalt of de mogelijkheden tot conidiofoor vorming vervuld werden. Naast de ouderdom is ook de temperatuur van belang, tussen 19 en 23 °C worden conidioforen snelst gevormd. In het donker worden slechts een kwart van de conidioforen gevormd t.o.v. de situatie in het licht, ook dit wordt in rekening gebracht. Om tot de toename van het aantal conidioforen te komen in de droge situatie wordt het bekomen aantal nog eens vermenigvuldigd met $\frac{1}{4}$. Een laatste factor die van belang is bij conidioforenvorming is regen. Conidioforen die gevormd werden kunnen droge periodes overleven en later sporuleren. Hevige regen kan echter conidioforen vernietigen. 1,778 cm regen zal de sporulatie-capaciteit van conidioforen met een factor $\frac{1}{3}$ verminderen.



Figuur 4.2: Epidemiologisch ziektemodel als basis van EPIDEM.

4.5 Data-gedreven modellen

4.5.1 Regressiemodel Holley

Holley et al. ontwikkelden in 1985 regressiemodellen die de infectiedruk van 'early blight', veroorzaakt door *Alternaria solani*, relateren aan de omgevingsparameters bladnaturen en gemiddelde luchttemperatuur. De modellen waren gebaseerd op veldobservaties bij drie verschillende aardappellrassen (Kennebec, Chieftain en Norchip) gedurende drie seizoenen in Ontario. In deze regio werd typisch een regelmatig fungicidentoepassingsschema gehanteerd met spuitintervallen van zeven tot tien dagen. Men vermoedde echter dat in bepaalde situaties een beperktere toepassing van fungiciden volstaat om *Alternaria solani* onder controle te houden. De kennis van de relatie tussen de ontwikkeling van 'early blight' en micro-omgevingsfactoren is hiervoor essentieel.

In voorgaande studies werd reeds aangetoond dat 'early blight' zich aan een verschillende snelheid ontwikkelt afhankelijk van locatie en jaar. Deze wisselende ziektedruk werd toegewezen aan verschillen in het micro-klimaat. Daarnaast werd aangetoond dat ook tussen verschillende aardappellrassen 'early blight' zich aan een verschillende snelheid ontwikkelt (Holley et al., 1983). Om de regressiemodellen op te stellen werden observaties gedaan op planten in commerciële velden die niet behandeld werden tegen *Alternaria solani*. Verder werd het aantal bladnaturen en de luchttemperatuur gemeten, dit gedurende de periode van één juli tot de datum waarop de *Alternaria*-bladvlekken 50 % van het bladoppervlak innamen (Holley et al., 1985).

Het verloop van de ziekte werd geobserveerd in termen van gemiddelde ziekteproportie (x) volgens de Horsfall-Barratt schaal. Deze waarden werden getransformeerd (logistische transformatie) met behulp van volgende vergelijking:

$$D = \ln\left(\frac{x}{1-x}\right) \quad (4.3)$$

(Zadoks & Schein, 1979). Deze transformatie wordt vaak toegepast bij polycyclische epidemieën. Men veronderstelt dan dat de ziekte zich volgens de logistische functie zal ontwikkelen. In het begin is de infectiesnelheid laag omdat de populatieomvang nog laag is, maar deze neemt toe bij grotere ziekteproportie. De infectiesnelheid neemt aanvankelijk evenredig toe met de ziekteproportie op ieder tijdstip, maar wordt later begrensd door een boven limiet aangezien de ziekteproportie nooit groter dan één kan zijn. Als het overgebleven gezond weefsel afneemt, verkleint de kans op nieuwe infecties en neemt de infectiesnelheid af. Dankzij de transformatie kunnen lineaire modellen gebruikt worden voor de verdere analyses (APS, 2015).

Vervolgens relateert men D met de tijd (t) met behulp van deze regressie vergelijking:

$$D = k + Yt. \quad (4.4)$$

Met als intercept (k) -10,2; men neemt aan dat de ziekteproportie op tijdstip nul gelijk is aan 0.0027 %. De richtingscoëfficiënt (Y) geeft een schatting voor de geobserveerde infectiesnelheid weer. Vervolgens werden meervoudige regressie vergelijkingen van de vorm:

$$Y = a + bW + cT + dWT \quad (4.5)$$

opgesteld, die de geschatte infectiesnelheid relateren aan de gemeten omgevingsparameters, namelijk bladnaturen (W), luchttemperatuur (T) en het product van beide (WT). Deze vergelijkingen werden zowel per aardappelras opgesteld als voor de drie rassen samen. In Tabel 4.3 worden de bekomen coëfficiënten weergegeven (Holley et al., 1985).

Er werden hogere determinatiecoëfficiënten (R^2) waargenomen bij de vergelijkingen specifiek voor één bepaald ras dan bij de algemene vergelijking. Hieruit volgt dat met behulp van een ras-specifieke vergelijking meer van de variabiliteit van Y verklaard kan worden aan de hand van de omgevingsparameters. Uit de partiële R^2 waarden (zie Tabel 4.3) concludeerden Holley et al. (1985) dat het aantal bladnaturen de meest belangrijke factor is voor de predictie van de infectiesnelheid.

Tabel 4.3: Lineaire regressie vergelijkingen die de geobserveerde infectiesnelheid relateren aan de omgevingsparameters: gemiddelde dagelijkse bladnat-periode (W), gemiddelde dagelijkse luchttemperatuur (T) en het product van beide (WT).

Ras	Intercept	Regressie coëfficiënt	Omgevings-parameters	R^2	Partiële R^2
Alle rassen	13.4	-0.885	W	0.74	0.69
		-0.729	T		0.01
		-0.049	WT		0.04
Kennebec	-21.5	1.481	W	0.98	0.59
		1.159	T		0.09
		-0.079	WT		0.00
Chieftain	50.4	-3.425	W	0.97	0.85
		-2.730	T		0.02
		0.186	WT		0.10
Norchip	-63.1	4.215	W	0.93	0.87
		3.402	T		0.03
		-0.226	WT		0.30

4.5.2 Neurale netwerken

Zowel in Spanje als in Italië werden artificiële neurale netwerken toegepast om een voorspellingsmodel voor *Alternaria* te ontwikkelen (Astray et al., 2010; Angelosante et al., 2007; Tomassetti et al., 2009). Het basisidee bij de ontwikkeling van deze techniek was de werking van het menselijke brein ‘nabootsen’. Het uiteindelijke resultaat is een wiskundige analysetechniek die een vage abstracte simulatie is van het brein met neuronen en connecties tussen neuronen. De neurale netwerk-techniek is hier interessant aangezien het voorkomen van kritische correlaties tussen sporenconcentraties en meteorologische condities door meerdere auteurs werd aangetoond. Neurale netwerken zijn data-gedreven technieken, die aan de hand van input variabelen en daarbij horende output variabelen relaties ‘opstellen’ die dan bij nieuwe inputdata de output voorspelt.

Neurale netwerken zijn niet-lineaire statistische modellen, zowel regressie- als classificatiemodellen bestaan. In Figuur 4.3 wordt de opbouw van een neurale netwerk schematisch weergegeven.

De neuronen uit de eerste laag zijn de inputvariabelen:

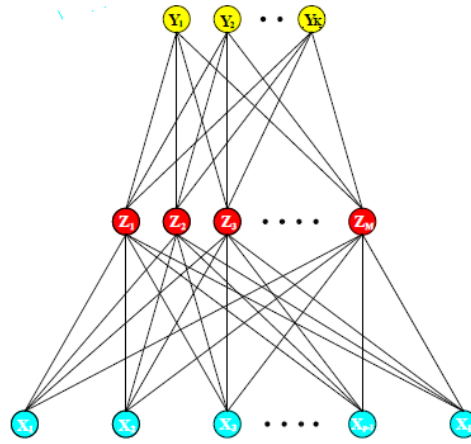
$$X = (X_1, X_2, \dots, X_p), \quad (4.6)$$

met p het aantal inputvariabelen. Voorbeelden van inputvariabelen voor de voorspelling van *Alternaria*-sporenconcentraties zijn de temperatuur, de sporenconcentratie van de dag voordien etc.

De middelste laag neuronen wordt de verborgen laag genoemd en bestaat uit M neuronen. In deze neuronen worden de inputvariabelen gecombineerd tot lineaire combinaties. Een neuron Z_i is niet even gevoelig voor alle inputvariabelen, daarom worden wegingsfactoren α_m gebruikt. De constante waarden α_{0m} zijn de zogenaamde bias, de intercepten van het model. Tot slot wordt het resultaat van de lineaire combinatie getransformeerd met een niet-lineaire activatiecurve, vaak de sigmoïdale functie σ :

$$Z_m = \sigma(\alpha_{0m} + \alpha_m^T X), \quad (4.7)$$

met $m = 1, \dots, M$ en $\sigma(v) = \frac{1}{1+e^{-v}}$.



Figuur 4.3: schematische weergave neuraal netwerk (Hastie et al., 2008).

De derde laag geeft de outputvariabelen Y . Bij regressiemodellen, zoals het voorspellingsmodel voor het voorkomen van *Alternaria*, is er meestal maar één outputvector. Hier een vector met de voorspelde sporenconcentraties. Y_k is een lineaire combinatie van de verborgen neuronen voor regressie getransformeerd door g_k de identieke functie:

$$Y_k = g_k(\beta_{0k} + \beta_k^T Z), \quad (4.8)$$

met $k = 1, \dots, K$. De constante waarden β_{0k} zijn opnieuw de bias, de intercepten van het model. Alle wegingsfactoren α en β zijn de ongekende parameters van het model. Gedurende de training van het neuraal netwerk worden die parameterwaardes gezocht die het model zo goed mogelijk aan de training-data doet fitten. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van de sum-of-squared errors-functie:

$$R(\theta) = \sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^N (y_{ik} - f_k(x_i))^2. \quad (4.9)$$

Dankzij de structuur van het model kunnen partiële afgeleiden gemakkelijk berekend worden. Bijgevolg kunnen de optimale α 's en β 's gevonden worden op iteratieve wijze via de dalende gradiënt methode. De geschatte gewichten worden bij elke iteratie aangepast op basis van de gewichten van de vorige stap. Het globale minimum van de functie $R(\theta)$ resulteert vaak in overfitting. Twee strategieën om overfitting te vermijden zijn enerzijds de iteratie stoppen voor het globaal minimum bereikt wordt en anderzijds kan men een regularisatieterm aan de foutenfunctie toevoegen (Hastie et al., 2008):

$$R(\theta) + \lambda J(\theta). \quad (4.10)$$

Astray et al. (2010) maakten gebruik van de techniek van de neurale netwerken om *Alternaria*-sporenconcentraties te voorspellen in Vigo, in het noordwesten van Spanje. Om het model te trainen werden weergegevens geregistreerd en sporenconcentraties verzameld van 1997 tot 2007. De acht inputvariabelen waren het dag-nummer geteld vanaf één januari, de maximale temperatuur, de maximale temperatuur van de vorige dag, de *Alternaria*-sporenconcentratie van de vorige dag en de windrichting (noordoosten, zuidoosten, zuidwesten of noordwesten). De windrichting werd meegenomen als inputparameter omdat de wind uit het zuidwesten of noordwesten zeer lage sporenconcentraties bevat aangezien deze afkomstig is van over zee. Het noordoosten en zuidoosten is dan weer landinwaarts en bevat hogere sporenconcentraties. Het model had één outputneuron, de *Alternaria*-sporenconcentratie. Als validatie-data werden inputvariabelen en sporenconcentraties van in 2008 gebruikt. Het model had drie intermediaire of verborgen neuronen. Het model bleek zeer goed in staat om *Alternaria*-sporenconcentraties te voorspellen, een t-test toonde geen significant verschil op het 5 % significantie niveau tussen de voorspelde en geobserveerde sporenconcentraties in 2008 (p-waarde 0.106).

Ook Angelosante et al. (2007) onderzochten de mogelijkheid om met behulp van de neurale netwerk-techniek de complexe relaties tussen meteorologische factoren en de sporenconcentraties in de lucht te benaderen en finaal de concentraties te voorspellen. Deze studie vond plaats in centraal Italië. De inputvariabelen waren genormaliseerde waarden van de dagelijkse minimum, maximum en gemiddelde temperatuur, de totale neerslag, het dagelijkse gemiddelde van de relatieve vochtigheid en windsnelheid. De laatste input-variabele was de sinusoidale functie van de Juliaanse dag, waarbij de extreme waarden werden aangenomen gedurende de zonnepunt. Namelijk de waarde één op de langste dag van het jaar en nul op de kortste dag van het jaar. Deze inputvariabele tracht andere heterogene seizoenale factoren die de sporenconcentratie van *Alternaria* beïnvloeden, weer te geven. Er werd gekozen voor een meer complexe opbouw van het neurale netwerk dan het traditionele 'feed forward' neurale netwerk. Bij het traditionele neurale netwerk zijn de neuronen geordend in verschillende lagen. De neuronen in een specifieke laag ontvangen enkel input van de neuronen uit de vorige laag en geven enkel output door aan de neuronen in de volgende laag. Bij het Elman neurale netwerk wordt er een soort van dynamisch geheugen geïmplementeerd dat het mogelijk maakt om output van de verborgen neuronen op te slaan en mee te nemen als input in de volgende berekeningen. Het is duidelijk dat voor het voorspellen van sporenconcentraties niet enkel de meteorologische factoren van die ene dag bepalend zijn, daarentegen spelen de weercondities van verschillende voorgaande dagen hierin een rol. Door het hanteren van het Elman neurale netwerk kunnen gegevens van meerdere dagen meegenomen worden. Het model heeft vier intermediaire neuronen. Voor het trainen van het model werden weerdata en data van een volumetrische sporenval gebruikt van januari tot oktober 2004. Ondanks de zeer kleine dataset die gebruikt werd voor de training van het model, werden vrij goede resultaten bekomen: een gemiddelde kwadratische fout van 4.1 sporen/m³ en de correlatie tussen de geobserveerde en voorspelde sporenconcentratietijdserie bedroeg 92 %.

Tomassetti et al. (2009) werkten verder met de resultaten bekomen door Angelosante et al. (2007). Het doel van hun onderzoek was achterhalen of *Alternaria*-sporenconcentraties in de lucht voorspeld konden worden met behulp van een artificieel neurale netwerk waarbij de inputgegevens afkomstig zijn van het meteorologisch voorspellingsmodel MM5 in plaats van geobserveerde data. MM5 wordt gebruikt in centraal Italië sinds 1998 en geeft betrouwbare weersvoorspellingen. Tomassetti et al. (2009) gebruikten het model gekalibreerd door Angelosante et al. (2007). Door gebruik te maken van

voorspelde inputvariabelen werden voorspelde concentraties bekomen die meer afweken van de geobserveerde concentraties. De gemiddelde kwadratische fout bedroeg nu 10.1 sporen/m³ en de correlatie tussen de voorspelde en geobserveerde tijdreeks bedroeg slechts 52.3 %. Uit de resultaten bleek dat het tijdstip van de belangrijkste pieken en de grootte van die pieken, voornamelijk gedurende de zomer, vrij goed voorspeld werd. Gedurende de lente was er meer variabiliteit in sporenconcentratie en was de voorspelling vaak een onderschatting van wat geobserveerd werd. De zwakkere prestatie is volgens Tomassetti et al. (2009) voornamelijk toe te schrijven aan de lokale meteorologische variabiliteit die niet door het meteorologisch model wordt weergegeven. De horizontale resolutie van het MM5-model is drie kilometer. Met hetzelfde model werd tevens een voorspelling gemaakt voor de gemiddelde sporenconcentratie gedurende vijf opeenvolgende dagen. Hiervoor werd een gemiddelde kwadratische fout bekomen van 3.6 en bedroeg de correlatie tussen de voorspelde en geobserveerde tijdreeks 81.3 %.

4.5.3 ARIMA

In een aerobiologische² studie onderzochten Escuredo et al. (2010) de relatie tussen de *Alternaria*-sporenconcentraties en meteorologische factoren. De studie werd uitgevoerd in Galicia in het noordwesten van Spanje gedurende drie opeenvolgende jaren: 2007, 2008 en 2009. De dagelijkse sporenconcentraties boven de aardappelvelden werden bepaald aan de hand van metingen met een volumetrische sporenval. De temperatuur en de relatieve vochtigheid werd op uur basis geregistreerd via een data logger opgesteld in het veld. Gegevens over de neerslag werden verkregen via een weerstation uit de omgeving. Aangezien de data niet normaal verdeeld was, werden niet-parametrische statistische analyses uitgevoerd. Voor de verschillende jaren werden correlatiecoëfficiënten bepaald tussen de weerparameters en de sporenconcentraties. Voor 2007 en 2009 was de correlatie het hoogst voor de gemiddelde en de maximale temperaturen, voor 2008 daarentegen had de gemiddelde relatieve vochtigheid de hoogste correlatie.

Daarnaast trachtten Escuredo et al. (2010) ook de sporenconcentraties te voorspellen op basis van weergegevens en aantallen sporen gedurende de voorgaande dagen. Hiervoor pasten ze de techniek toe van het ARIMA-model. ARIMA is de afkorting voor Auto-Regressive Integrated Moving Average. ARIMA-modellen werden specifiek ontwikkeld voor het voorspellen van toekomstige variabelen bij tijdreeksen. Hiervoor werkt een ARIMA-model als een filter die eerst het signaal van de ruis probeert te scheiden bij de input-tijdserie, vervolgens wordt er op basis van het signaal een voorspelling gemaakt voor de toekomst. De eerste stap bij het opstellen van een ARIMA-model is, indien nodig, de tijdreeks 'stationair' maken. M.a.w. alle statistische eigenschappen (zoals gemiddelde, variantie, autocorrelatie³,...) moeten constant zijn in de tijd. Indien dit niet het geval is, wordt de tijdreeks gedifferentieerd en soms ook niet-lineair getransformeerd tot dit wel het geval is. Vervolgens kan met AR's en MA's het model worden opgesteld. AR's of autoregressieve termen zijn 'vertragingen' van de stationaire reeks, in het voorspellingsmodel voor sporenconcentraties kan dit bijvoorbeeld de sporenconcentraties van twee dagen voordien zijn. MA's zijn tijdreeksen van de fouten die bij voorgaande voorspellingen werden gemaakt, bijvoorbeeld het verschil tussen de voorspelling en de gemeten sporenconcentratie van twee dagen voordien. Deze term wordt bewegend gemiddelde

² De aerobiologie bestudeert het passieve transport van zich in de lucht bevindende micro-organismen en deeltjes afkomstig van organismen, zoals plant en dier.

³ Autocorrelatie is de correlatie van een variabele doorheen de tijd met zijn eigen voorgaande afwijkingen ten opzichte van het gemiddelde (Nau R., 2015).

genoemd. Een ARIMA-model wordt gekenmerkt door drie getallen (p, d, q), namelijk het aantal autoregressieve termen (p), het aantal nodige differentiaties om de tijdserie stationair te maken (d) en het aantal bewegende gemiddeldes (q). Het model dat door Escuredo et al. (2010) opgesteld werd was een ARIMA (2,0,2). De twee autoregressieve termen waren de sporenconcentraties van één dag voordien en van twee dagen voordien. De twee bewegende gemiddeldes waren de fouten bij de voorspellingen van één en twee dagen voordien. Daarnaast werd ook de gemiddelde minimum temperatuur van de voorgaande drie dagen toegevoegd. Er werden voorspellingen bekomen met een R^2 van 0.849.

Hoofdstuk 5

Toepasbaarheid van bestaande voorspellingsmodellen in Vlaanderen

5.1 Inleiding

De voorspellingsmodellen beschreven in Hoofdstuk 4 werden opgesteld en gevalideerd in teeltgebieden met een droger en warmer klimaat dan in Noordwest Europa. De kans dat deze modellen ook onder Vlaamse omstandigheden toepasbaar zijn, is bijzonder klein aangezien klimatologische factoren erg bepalend zijn voor het ziekteverloop. In landen als Zuid-Afrika en de USA is *Alternaria* een belangrijker ziekteverwekker dan *Phytophthora* (Schepers et al., 2010). In landen met continentale klimaten zoals Duitsland en Polen, geeft *Alternaria* vaak aanleiding tot een epidemiologisch ziekteverloop, terwijl het ziekteverloop van *Alternaria* in het gematigd klimaat van Noordwest Europa eerder endemisch is (Haesaert et al., 2011).

In dit hoofdstuk gaan we aan de slag met bestaande *Alternaria*-modellen en data verzameld in Vlaanderen gedurende de twee voorgaande aardappelseizoenen, namelijk 2013 en 2014. In 2013 werden 177 commerciële aardappelvelden opgevolgd, in 2014 waren dat er 66. De waarnemingsvelden lagen verspreid over heel Vlaanderen. We delen ze op in drie regio's: de Kempen, het westen van Brussel en het oosten van Brussel. De weerdata werden ter beschikking gesteld door het Interprovinciaal Proefcentrum voor de Aardappelteelt (PCA). Zij beschikken over een netwerk van 45 automatische weerpalen verspreid over Vlaanderen, Henegouwen en Luik.

In Sectie 5.2 wordt een algemene vergelijking gemaakt tussen de weersgegevens en de *Alternaria*-aantasting in beide seizoenen. Vervolgens wordt er nagegaan of twee pathogeen-gebaseerde modellen en twee plant-gebaseerde modellen goede voorspellingen kunnen leveren met Vlaamse weerdata. Vervolgens wordt de bruikbaarheid van het model van Holley et al. (1985) afgetoetst. Tot slot wordt nagegaan of het kader van het FAST-model, het Dag-graden model en het regressiemodel van Holley mits andere invulling tot goede resultaten kunnen leiden onder Vlaamse omstandigheden.

5.2 Vergelijken weersgegevens en *Alternaria*-aantasting 2013 en 2014

De *Alternaria*-aantasting in 2013 was duidelijk lager dan in 2014. Voor de gemiddelde aantasting van de gangbare percelen in 2013 werd een rAUDPC-waarde van 0.0054 gevonden, terwijl deze waarde voor 2014 1.29 bedroeg. Binnen eenzelfde jaar was het verschil in aantasting tussen de regio's veel kleiner, maar toch duidelijk merkbaar. De aantasting was voor beide seizoenen het grootst in de Kempen en het laagst ten Westen van Brussel (Tabel 5.1). De datum waarop de eerste *Alternaria*-symptomen geobserveerd werden in de verschillende regio's in beide groeiseizoenen is tevens verschillend. In 2013 werden de *Alternaria*-symptomen eerst opgemerkt in de Kempen en dit rond 19 juli. Tien dagen later werden ook symptomen aangetroffen ten westen van Brussel en nog vijftien dagen later gebeurde dit ook ten oosten van Brussel. In 2014 werden de *Alternaria*-symptomen eerst

opgemerkt ten oosten van Brussel en dit iets vroeger, rond 12 juli. Eén week later werden ook symptomen opgemerkt in de Kempen. 4 augustus werden de eerste symptomen geobserveerd ten westen van Brussel (Tabel 5.1).

Tabel 5.1: *Alternaria*-aantasting in 2013 en 2014 in de verschillende regio's.

	Westen 2013	Oosten 2013	Kempen 2013	Westen 2014	Oosten 2014	Kempen 2014
rAUDPC-waarde	0.00488	0.00552	0.0116	0.199	2.87	4.14
Datum 1^e symptomen	29/7	12/8	19/7	4/8	12/7	19/7

De totale neerslag, de gemiddelde relatieve vochtigheid en het aantal bladnaturen waren duidelijk hoger in juli en augustus 2014 dan gedurende dezelfde periode in 2013. Daarentegen was de temperatuur in 2014 lager dan in 2013 (Tabel 5.2).

Uit de literatuur blijkt duidelijk dat vocht (regen, relatieve vochtigheid en bladnaturen) *Alternaria* positief beïnvloedt (Escuredo et al., 2010; Holley et al., 1985). Dit volgt ook uit Tabel 5.1 en 5.2: 2014 was natter dan 2013 en in 2014 was er meer *Alternaria*-aantasting. In de literatuur wordt tevens beschreven dat hogere temperaturen *Alternaria* positief beïnvloeden. Dit blijkt niet uit Tabel 5.1 en 5.2: in 2014 was het kouder dan in 2013 en was er toch meer *Alternaria*-aantasting. Er kan uit deze informatie geconcludeerd worden dat temperatuur in Vlaanderen niet limiterend is. De lagere temperatuur in 2014 was nog steeds hoog genoeg voor de ontwikkeling van *Alternaria*. De hoeveelheid vocht lijkt een belangrijkere parameter.

Tabel 5.2: Samenvatting van de weersgegevens van 1 juli tot 31 augustus in 2013 en 2014.

	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
	1-15 juli	1-15 juli	16-31 juli	16-31 juli	1-16 aug	1-16 aug	16-31 aug	16-31 aug
Neerslag (mm)	1.26	5	3.75	1.94	0.52	3.57	0.95	4.19
R.V. (%)	77.08	83.13	75.96	77.07	77.54	81.78	78.71	85.80
Bladnaturen (h)	7.15	12.55	8.59	7.95	9.54	10.93	10.24	12.44
Gem. temp. (°C)	18.03	17.13	21.38	21.23	18.50	17.58	17.60	14.10
Max. temp. (°C)	24.45	22.23	28.68	27.71	25.06	23.26	24.72	18.86
Min. temp. (°C)	11.72	12.15	14.73	15.44	12.16	12.72	11.39	9.77

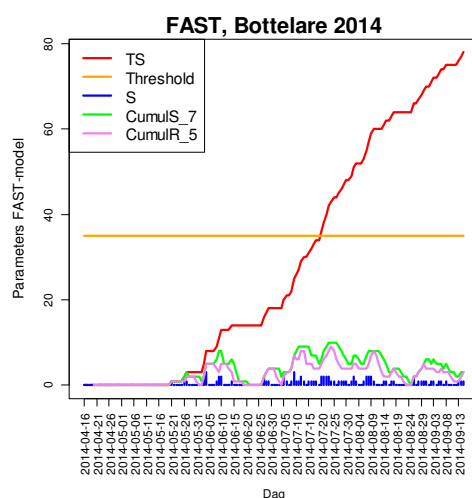
5.3 Implementatie van bestaande voorspellingsmodellen

5.3.1 FAST-model

Het FAST model werd geïmplementeerd in R zoals beschreven in Sectie 4.2.1 Voor de praktische implementatie was één aanpassing van het model noodzakelijk, namelijk het toevoegen van een criterium voor temperaturen onder de 13 °C. De S-waarde voor een dag met temperatuur onder 13 °C werd gelijk aan nul gesteld. De gemiddelde plantdatum van de aardappelen over de twee seizoenen was 16 april en werd gebruikt voor de implementatie. In de weersgegevens van het PCA werd voor elk uur weergegeven welk aandeel van het blad (in percentage) nat was. Als dit aandeel

groter was dan 30 %, werd dit uur als een bladnatuur beschouwd. Ter illustratie werd een visuele voorstelling van de parameters in het FAST-model weergegeven in Figuur 5.1, hiervoor werden weerdata van Bottelare in 2014 gebruikt.

In Tabel 5.3 wordt het tijdstip waarop de eerste symptomen geobserveerd werden op de commerciële aardappelvelden vergeleken met de voorspelling voor de eerste toepassing door het FAST-model. Voorspellingen van ongeveer zeven dagen voor het tijdstip waarop de eerste symptomen geobserveerd worden, worden als optimaal beschouwd. *Alternaria*-fungiciden hebben immers een preventieve werking (Schepers et al., 2010). Het valt op dat de voorspellingen voor 2013 eerder te laat zijn, met uitzondering van de data voor het oosten van Brussel: daar was de voorspelling door het FAST-model te vroeg. In 2014 waren de meeste voorspellingen te vroeg, met het oosten van Brussel opnieuw als uitzondering: daar was de voorspelling vrij goed.



Figuur 5.1: Cumulatieve 'ernst' waarde (TS), drempelwaarde voor TS (Threshold, 35), dagelijkse 'ernst' waarde (S), cumulatieve 'ernst' waarde gedurende laatste 7 dagen (CumulS_7) en cumulatieve 'ernst' waarderingswaarde gedurende de laatste 5 dagen (CumulR_5) voor weersgegevens vanuit Bottelare in 2014.

Tabel 5.3: Voorspellingen FAST-model.

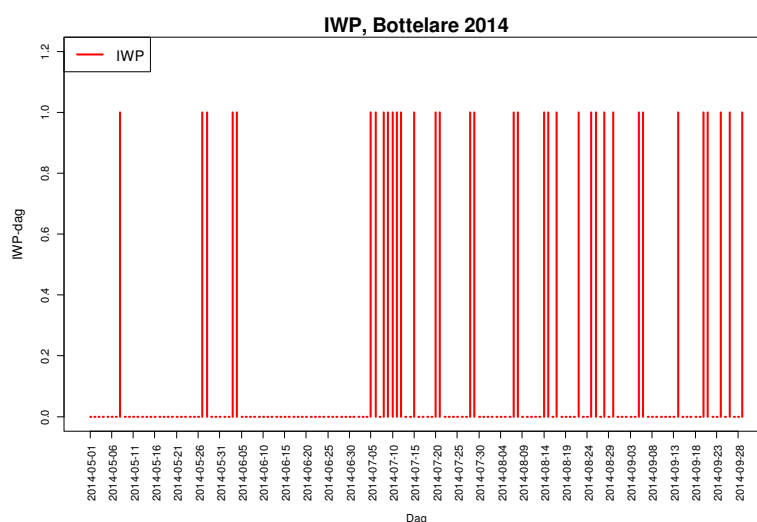
Regio	Jaar	Gemiddelde datum eerste symptomen geobserveerd	Aanbevolen eerste toepassing	FAST voorspelling	Beoordeling
Kemp	2013	19/7	12/7	5/8	Te laat
West	2013	29/7	22/7	3/8	Te laat
Oost	2013	12/8	5/8	29/7	Te vroeg
Kemp	2014	19/7	12/7	20/6	Te vroeg
West	2014	4/8	28/7	16/7	Te vroeg
Oost	2014	12/7	5/7	8/7	Vrij goed

5.3.2 IWP-model

Het IWP-model werd geïmplementeerd in R zoals beschreven in Sectie 4.2.2 Een dag wordt als een IWP-dag beschouwd wanneer de relatieve vochtigheid gedurende acht uren nacht, minimaal zes uren hoger is dan 95 %. En de relatieve vochtigheid gedurende de dag minimaal zes uren lager is dan 80 %. Indien twee IWP-dagen elkaar opvolgen dan is sporulatie mogelijk (van de Waals et al., 2003). Voor de implementatie werd aangenomen dat de nacht acht uur duurt, van 22u00 tot 05u59 en de dag zestien uur, van 06u00 tot 21u59.

In Figuur 5.2 worden, ter illustratie, de IWP-dagen gedurende het aardappelseizoen in Bottelare in 2014 weergegeven. Een verticale lijn in Figuur 5.2, met lengte één geeft aan dat de dag een IWP-dag is. Bij niet IWP-dagen is de waarde nul, dit wordt aangeduid met een rood punt op de x-as. Er werd gekozen om de IWP-dagen vanaf begin mei tot eind september weer te geven. De gemiddelde opkomst-datum voor de geobserveerde aardappelen over beide seizoenen was 12 mei. Indien net voor deze datum sporulatie mogelijk is, kunnen deze sporen ‘theoretisch’ gezien bladvlekken veroorzaken op de net ontplooiende bladeren op 12 mei. Er moet hier echter opgemerkt worden dat hier geen rekening gehouden wordt met alle stappen tussen sporulatie en infectie. De sporen moeten zich kunnen verspreiden en op een gevoelige aardappelplant terechtkomen bij condities gunstig voor infectie, voor de infectie effectief zal plaatsvinden. Aangezien van der Waals et al. (2003) concludeerden dat voorspellingen voor fungicidentoepassingen gebaseerd op IWP-condities adequate resultaten leveren in de aardappelteeltregio’s in Zuid-Afrika, verifieerden we dit m.b.v. de beschikbare Vlaamse data. Als er wordt aangenomen dat bij elke twee opeenvolgende IWP-dagen een fungicidenbehandeling vereist is, dat zouden er in 2014 elf behandelingen moeten toegepast worden.

In Tabel 5.4 wordt opnieuw de vergelijking gemaakt tussen de datum waarop de eerste symptomen werden geobserveerd en de aanbevolen eerste fungicidentoepassing volgens het IWP-model. De voorspellingen zijn voor 2013 steeds te vroeg. Voor 2014 zijn de voorspellingen voor de Kempen en het Westen te vroeg. Voor het Oosten is de IWP-voorspelling dan weer te laat.



Figuur 5.2: Grafische voorstelling van IWP-dagen met weerdata uit Bottelare in 2014. Een waarde één is een IWP-dag, een waarde nul is geen IWP-dag. (Aanname: nacht van 22u00 tot 05u59, dag van 6u tot 21u59).

Tabel 5.4: Voorspellingen IWP-model.

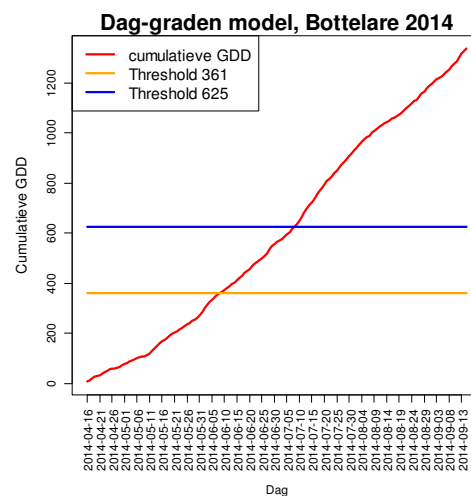
Regio	Jaar	Gemiddelde datum eerste symptomen geobserveerd	Aanbevolen eerste toepassing	IWP voorspelling	Beoordeling
Kemp	2013	19/7	12/7	17/5	Te vroeg
West	2013	29/7	22/7	31/5	Te vroeg
Oost	2013	12/8	5/8	17/5	Te vroeg
Kemp	2014	19/7	12/7	13/5	Te vroeg
West	2014	4/8	28/7	12/7	Te vroeg
Oost	2014	12/7	5/7	13/7	Te laat

5.3.3 Dag-graden model

Ook het Dag-graden model werd in R geïmplementeerd. Zoals beschreven in Sectie 4.3.1 houdt dit model enkel rekening met de fysiologie van de plant. Franc et al. (1988) stelden hun GDD-model op voor twee verschillende regio's in Colorado, namelijk de noordoostelijke vlaktes en de San Luis Valley. Voor deze twee regio's waren andere thresholds vereist, namelijk 625 voor de warmere noordoostelijke vlaktes en 361 in de San Luis Valley. Voor de implementatie werd 16 april als plantdatum aangenomen. Met behulp van Formule 4.1 werden de GDD-waardes voor het volledige seizoen berekend. Figuur 5.3 geeft de cumulatieve som van deze GDD-waardes weer voor weerdata uit Bottelare in 2014.

In Tabel 5.5 is de vergelijking tussen de eerste geobserveerde symptomen op de commerciële aardappelvelden en de GDD-voorspelling volgens het 'groei dag-graden' model weergegeven. Beide thresholds resulteren voor bijna alle regio's en tijdstippen in te vroege voorspellingen.

Franc et al. (1988) schrijven dat de eerste fungicidentoepassing moet samenvallen met de verschijning van de eerste lesies. Schepers et al. (2010) vermelden echter dat *Alternaria*-fungiciden alleen een preventieve werking hebben. Vandaar dat in deze thesis als optimaal tijdstip voor de eerste fungicidentoepassing ongeveer zeven dagen voor het optreden van de eerste symptomen wordt aangenomen. Geen van beide thresholds levert eenduidig goede resultaten voor het voorspellen van dit tijdstip.



Figuur 5.3: Grafische voorstelling van dag-graden model met weerdata uit Bottelare in 2014. (Berekening GDD zie Formule 4.1 Sectie 4.3.1).

5.3.4 P-dagen model

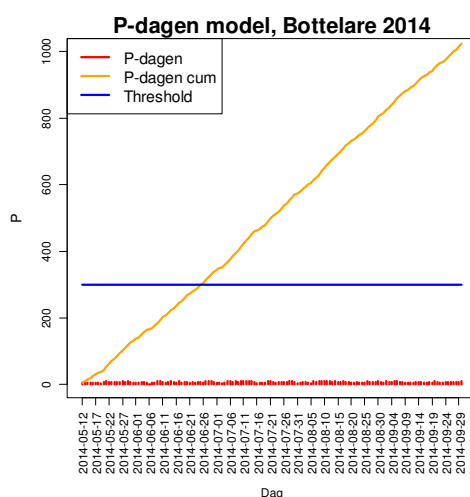
Vervolgens werd het P-dagen model geïmplementeerd in R zoals beschreven in Sectie 4.3.2. De gemiddelde opkomst-dag over de seizoenen en regio's was 12 mei en werd gebruikt voor de implementatie. Naar het onderzoek van Pscheidt et al. (1986) werd 300 P-dagen als threshold-waarde aangenomen. De P-waardes werden berekend volgens Formule 4.2 (Sectie 4.3.2). Een grafische illustratie voor weerdata uit Bottelare in 2014 is weergegeven in Figuur 5.4. Uit de vergelijkingen in Tabel 5.6 blijkt dat de eerste fungicidentoepassing steeds te vroeg werd aanbevolen. Bij aanname van een hogere threshold-waarde worden echter geen betere resultaten

verwacht aangezien de vroegste P-dag voorspellingen niet overeenkomen met de vroegste eerste aanbevolen toepassingen volgens de geobserveerde symptomen.

Tabel 5.5: Voorspellingen GDD-model.

Regio	Jaar	Gemiddelde datum eerste symptomen geobserveerd	GDD threshold	GDD voorspelling	Beoordeling	Aanbevolen eerste toepassing
Kemp	2013	19/7	361	24/6	Te vroeg	12/7
		19/7	625	21/7	Goed	12/7
West	2013	29/7	361	24/6	Te vroeg	22/7
		29/7	625	20/7	Te vroeg	22/7
Oost	2013	12/8	361	17/6	Te vroeg	5/8
		12/8	625	11/7	Te vroeg	5/8
Kemp	2014	19/7	361	12/6	Te vroeg	12/7
		19/7	625	14/7	Te vroeg	12/7
West	2014	4/8	361	10/6	Te vroeg	28/7
		4/8	625	9/7	Te vroeg	28/7
Oost	2014	12/7	361	7/6	Te vroeg	5/7
		12/7	625	3/7	Te vroeg	5/7

Ook hier moet opgemerkt worden dat Pscheidt et al. (1986) geen volledig preventieve aanpak bij de fungicidenbehandeling van *Alternaria* beogen. Pscheidt et al. (1986) veronderstellen dat de eerste fungicidenbehandeling moet samenvallen met de initiële toename aan sporen in de lucht. De eerste symptomen werden gemiddeld 13 dagen voor de initiële toename aan *Alternaria*-sporen in de lucht, vastgesteld. Uit Tabel 5.6 blijkt echter dat voor de Vlaamse weersgegevens de voorspelde tijdstippen steeds voor het voorkomen van de eerste symptomen liggen.



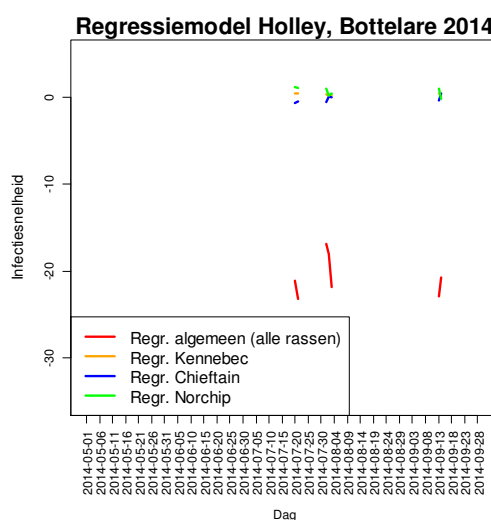
Figuur 5.4: Grafische voorstelling van het P-dagen model met weerdata uit Bottelare in 2014. (Berekening P zie Formule 4.2 Sectie 4.3.2)

Tabel 5.6: Voorspellingen P-dagen model.

Regio	Jaar	Gemiddelde datum eerste symptomen geobserveerd	Aanbevolen eerste toepassing	P-dag voorspelling	Beoordeling
Kemp	2013	19/7	12/7	7/7	Te vroeg
West	2013	29/7	22/7	2/7	Te vroeg
Oost	2013	12/8	5/8	3/7	Te vroeg
Kemp	2014	19/7	12/7	2/7	Te vroeg
West	2014	4/8	28/7	25/6	Te vroeg
Oost	2014	12/7	5/7	28/6	Te vroeg

5.3.5 Regressiemodel van Holley

Tot slot werden de vier regressiemodellen van Holley geïmplementeerd in R (zie Sectie 4.5.1). Holley et al. (1985) schrijven dat hun regressiemodellen enkel toepasbaar zijn binnen het temperatuurinterval van 17,5 tot 20,3 °C. Daarnaast moet het aantal bladnaturen in het interval van 9 tot 15,7 uur liggen. De output voor weerdata uit Bottelare in 2014 is weergegeven in Figuur 5.5. Slechts gedurende 16 dagen was er in Bottelare in 2014 aan de strenge randvoorwaarden van de modellen voldaan. Deze modellen zijn dus allesbehalve bruikbaar onder Vlaamse omstandigheden.



Figuur 5.5: Output regressiemodel van Holley met weerdata uit Bottelare in 2014.

5.4 Aanpassen modellen

5.4.1 FAST-model

Vooreerst werd geprobeerd om de temperatuurgrenzen voor het FAST-model te fine-tunen, het model werd immers ontwikkeld voor een warmer klimaat. Om het model met Vlaamse weergegevens te laten werken was het noodzakelijk een extra regel toe te voegen, namelijk temperaturen lager dan 13 °C. Bij deze temperaturen werden telkens S-waarden van nul toegekend. Vervolgens werden de temperatuursintervallen aangepast, namelijk: <13 °C, 13 °C -20 °C, 20 °C -26 °C, 26 °C -29 °C. Het grootste deel van het aardappelseizoen zal de temperatuur tijdens de natte periode in het interval 13 °C -20 °C liggen. Het model werd in R gelopen met twee verschillende aanpassingen, zie Tabel 5.8 en 5.9.

De resultaten worden weergegeven in Tabel 5.10, geen van beide aanpassingen levert betere resultaten dan het onaangepast FAST-model voor de voorspelling voor de eerste vereiste fungicidetoepassing onder Vlaamse omstandigheden gedurende de groeiseizoenen van 2013 en 2014.

Het oorspronkelijke model beveelt de eerste fungicidetoepassing aan wanneer de som van de S-waarden vanaf het begin van het seizoen 35 bedraagt. Er werd nagegaan of het aanpassen van deze threshold tot betere voorspellingen onder Vlaamse omstandigheden kan leiden. De laatste kolom van Tabel 5.10 bevat de optimale TS-waardes voor de verschillende jaren en regio's. Deze waarde is duidelijk heel erg afhankelijk van het jaar en kan dus geen oplossing bieden.

Tabel 5.7: De S-waarden als functie van bladnat periodes en de gemiddelde lucht temperatuur gedurende de natte periode. 1^e empirisch model, FAST.

Bladnat uren (u) vereist om dagelijkse 'ernst' waardes te produceren (S):					
Gemiddelde temp (°C)	0	1	2	3	4
<13	x				
13-17	0-6	7-15	16-20	21+	
17-20	0-3	4-8	9-15	16-22	23+
20-26	0-2	3-5	6-12	13-20	21+
26-29	0-3	4-8	9-15	16-22	23+

Tabel 5.8: De S-waarden bij aanpassing 1, FAST.

Bladnat uren (u) vereist om dagelijkse 'ernst' waardes te produceren (S):					
Gemiddelde temp (°C)	0	1	2	3	4
<13	x				
13-17	0-6	7-15	16-20	21+	
13-20	0-3	4-8	9-15	16-22	23+
20-26	0-2	3-5	6-12	13-20	21+
26-29	0-3	4-8	9-15	16-22	23+

Tabel 5.9: De S-waarden bij aanpassing 2, FAST.

Bladnat uren (u) vereist om dagelijkse 'ernst' waardes te produceren (S):					
Gemiddelde temp (°C)	0	1	2	3	4
<13	x				
13-20	0-6	7-15	16-20	21+	
20-26	0-3	4-8	9-15	16-22	23+
26-29	0-2	3-5	6-12	13-20	21+
26-29	0-3	4-8	9-15	16-22	23+

Tabel 5.10: Voorspellingen na aanpassing temperatuurgrenzen (goede voorspellingen werden in groen aangeduid) en optimale TS-thresholds.

Regio	Jaar	Aanbevolen eerste toepassing	FAST voorspelling	FAST voorspelling 1 ^e aanpassing	FAST voorspelling 2 ^e aanpassing	Optimale TS-waarde
Kemp	2013	12/7	5/8	28/7	17/8	12
West	2013	22/7	3/8	22/7	10/8	21
Oost	2013	5/8	29/7	21/7	7/8	44
Kemp	2014	12/7	20/6	6/6	27/6	66
West	2014	28/7	16/7	8/7	20/7	47
Oost	2014	5/7	8/7	28/6	9/7	31

5.4.2 GDD-model

Franc et al. (1988) gaven aan dat hun model mits aanpassing van de threshold ook bruikbaar zou kunnen zijn in andere regio's. In Tabel 5.11 worden optimale thresholds weergegeven voor de verschillende regio's in Vlaanderen. De voorspelling voor de eerste fungicidentoepassing door het GDD-model werd hier als optimaal beschouwd wanneer die ongeveer zeven dagen voor de datum van de eerste geobserveerde symptomen ligt. Ook deze thresholds blijken erg afhankelijk van jaar en groeiseizoen. Een model dat enkel de maturiteit van de plant in rekening brengt, lijkt geen oplossing te bieden onder Vlaamse omstandigheden.

Tabel 5.11: Optimale GDD-thresholds.

Regio	Jaar	Gemiddelde datum eerste symptomen geobserveerd	Aanbevolen eerste toepassing	Optimale GDD threshold
Kemp	2013	19/7	12/7	520
West	2013	29/7	22/7	663
Oost	2013	12/8	5/8	999
Kemp	2014	19/7	12/7	611
West	2014	4/8	28/7	876
Oost	2014	12/7	5/7	655

5.4.3 Combinatie van FAST en GDD-model

Uit Sectie 5.3.2 en 5.3.3 blijkt dat ook mits aanpassingen noch het FAST-model, noch het GDD-model voldoet onder Vlaamse omstandigheden. In wat volgt toetsen we af of een combinatie van beiden soelaas biedt.

In het GDD-model staat de fysiologie van de plant centraal. Sporulatie van *Alternaria* vindt voornamelijk plaats op oudere bladeren. De graad van veroudering wordt gerelateerd aan plantgroei en maturiteit waarvoor o.a. temperatuur een belangrijke factor is. Franc et al. (1988) geven aan dat de relatief stabiele omgevingscondities van Colorado bijdragen aan de eenvoudigheid van het model. Aardappelloof in Colorado wordt typisch blootgesteld aan afwisselende natte en droge periodes

vanwege dauw gevolgd door een droge dag of vanwege sproei-irrigatie. Daarom zijn de omgevingscondities noodzakelijk voor de sporulatie en secundaire verspreiding van de pathogeen normaal aanwezig vanaf de temperatuur-threshold bereikt wordt. Aangezien geen algemene threshold kon gevonden worden onder Vlaamse omstandigheden, veronderstellen we dat er in Vlaamse omstandigheden nood is aan een model dat zowel plant- als pathogeen-gebaseerd is.

De eerste stap in het voorgestelde combinatiemodel is nagaan vanaf wanneer een plant gevoelig is. Uit de data verzameld in 2013 en 2014 blijkt dat de laagste threshold voor de optimale eerste fungicidentoepassing 520 'groei dag-graden' bedraagt (Tabel 5.11). Deze laagste threshold werd in de Kempen bereikt op 12/7/2013, zeven dagen later werden daar de eerste symptomen opgemerkt. Hierdoor veronderstellen we dat infectie mogelijk was bij 520 'groei-dag graden'. In Tabel 5.12 wordt de voorspelling bij GDD-520 voor alle regio's en jaren weergegeven. De derde kolom van Tabel 5.12 geeft aan hoeveel dagen de GDD-voorspelling nog afwijkt van de optimale eerste fungicidentoepassing voor de specifieke regio. Vervolgens moet het 'pathogeen' deel van het model een rol spelen. Hiervoor worden de S- en R-waarden uit het FAST model berekend. De som van de S- en R-waarden voor GDD-520 en de som van de S- en R-waarden over het interval GDD-520 tot de optimale eerste fungicidentoepassing worden weergegeven in de vier laatste kolommen van tabel 5.12.

Tabel 5.12: Berekende S- en R-waarden FAST model na 520 'groei dag-graden'.

Regio en jaar	GDD voorspelling bij threshold 520	Verskil met aanbevolen eerste toepassing (# dagen)	Som S-waarden voor datum GDD-520	Som R-waarden voor datum GDD-520	Som S-waarden tussen datum GDD-520 en optimale eerste fungicidentoepassing	Som R-waarden tussen datum GDD-520 en optimale eerste fungicidentoepassing
Kemp 2013	12/7	0	12	34	0	0
West 2013	11/7	11	10	24	6	0
Oost 2013	3/7	33	11	26	26	13
Kemp 2014	3/7	9	42	26	16	7
West 2014	28/6	30	16	10	27	10
Oost 2014	22/6	13	16	4	11	3

Op basis van deze waarden worden nu 'regels' opgesteld waaraan voldaan moet zijn voor de eerste fungicidentoepassing mag plaatsvinden.

- Als de som S-waarden voor GDD-520 groter is dan 10 en de som van de R-waarden voor GDD-520 groter is dan of gelijk aan 30, dan moet er op dat tijdstip behandeld worden. Het idee is hier dat de pathogeen al volledig ontwikkeld is onder deze condities en dus onmiddellijk wanneer de plant gevoelig wordt, infectie kan veroorzaken.
- Als de som van de S-waarden voor GDD-520 groter is dan 10 en de som van de R-waarden voor GDD-520 in het interval [10,30[ligt, dan moet er verder gekeken worden naar de som

van de R-waarden na GDD-520. De eerste behandeling moet toegepast worden wanneer deze som groter is dan of gelijk aan 8.

- Als de som van de S-waarden voor GDD-520 groter is dan 10 en de som van de R-waarden voor GDD-520 lager is dan 10, dan moet er verder gekeken worden naar de som van de R-waarden na GDD-520. De eerste behandeling moet toegepast worden wanneer deze som groter is dan of gelijk aan 3.
- Als de som van de S-waarden voor GDD-520 kleiner is dan of gelijk aan 10 en de som van de R-waarden voor GDD-520 hoger is dan 10, dan moet er verder gekeken worden naar de som van de S-waarden na GDD-520. De eerste behandeling moet toegepast worden wanneer deze som groter is dan of gelijk aan 6.

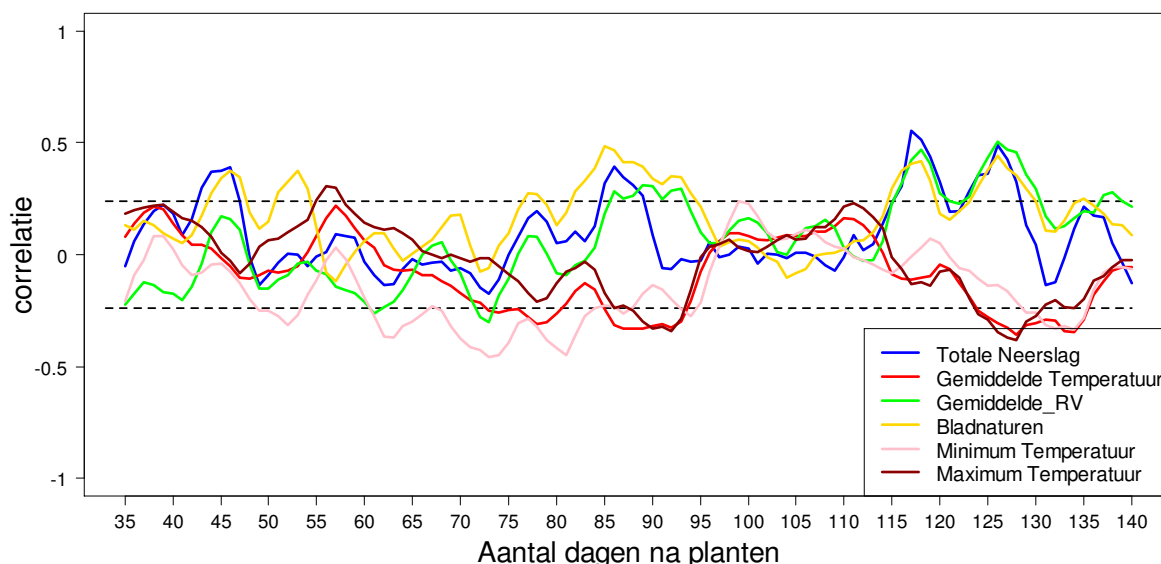
Bij de derde regel kan de bedenking gemaakt worden dat het niet logisch is dat wanneer voor GDD-520 slechts een lagere R-waarde werd bekomen dan bij regel twee, de vereiste som van de R-waarden in de daarop volgende periode lager is dan deze nodig in regel twee. De eerste regel zou dan toegepast kunnen worden voor Kempen 2013 en levert daar een optimale voorspelling. Als de tweede regel wordt toegepast voor West 2014, Kempen 2014 en Oost 2014 dan is de voorspelling voor West 2014 twee dagen te vroeg. De voorspelling voor Kempen 2014 één dag te laat. En de voorspelling voor Oost 2013, vijf dagen te vroeg. Wat allemaal acceptabel is. De derde regel zorgt voor een goede voorspelling voor Oost 2014. Tot slot is de vierde regel er voor West 2013. Maar om echt betrouwbare resultaten te bekomen zouden nog meer data van verschillende groeiseizoenen en regio's noodzakelijk zijn.

5.4.4 Regressiemethoden

Regressiemethoden hebben tot doel aan de hand van zo weinig mogelijk predictoren de responsvariabelen zo goed mogelijk te voorspellen. Geen wonder dat deze methoden frequent gebruikt worden in de literatuur over voorspellingsmodellen. De weerdata uit 2013 en 2014 leveren heel wat mogelijke predictoren, de responsvariabelen zijn de rAUDPC-waarden geobserveerd op de commerciële aardappelvelden. In wat volgt worden lineaire regressiemodellen, een ridge-regressiemodel en een lasso-regressiemodel opgesteld.

De beschikbare weerdata bestonden uit de totale neerslag, de gemiddelde temperatuur, de gemiddelde relatieve vochtigheid, het aantal bladnaturen, de minimale temperatuur en de maximale temperatuur. Om te achterhalen welke weersvariabelen goede predictoren zouden kunnen zijn voor de rAUDPC-waarden werd een correlatie-analyse uitgevoerd. In Figuur 5.6 worden de correlaties tussen de vijfdaagse weersomstandigheden en de rAUDPC-waarden t.o.v. de plantdatum grafisch weergegeven. Daar waar de correlaties het grootst zijn, namelijk in het interval tussen 80 en 95 dagen na planten en in het interval tussen 115 en 130 dagen na planten, valt het op dat het aantal bladnaturen en de relatieve vochtigheid steeds positief gecorreleerd zijn met de rAUDPC-waarde. Terwijl in deze periodes de correlatie met de temperatuurvariabelen steeds negatief is. Uit de literatuur is echter geweten dat *Alternaria* meer voorkomt bij hogere temperaturen waardoor er eerder een positieve correlatie met temperatuur verwacht werd (Escuredo et al., 2010; Recio et al., 2012). De negatieve correlaties tussen *Alternaria* en de rAUDPC lijken dus in strijd met eerder

onderzoek. Echter uit de weerdata bleek dat relatieve vochtigheid en bladnat negatief gecorreleerd waren met temperatuur, de positieve correlatie tussen de rAUDPC en relatieve vochtigheid/bladnat resulteert dus ten gevolge van de onderlinge correlaties tussen de weersgegevens in een negatieve correlatie tussen rAUDPC en temperatuur. De correlaties moeten dus met enige omzichtigheid geïnterpreteerd worden. De geobserveerde negatieve correlatie uit Figuur 5.6 wijst er op dat temperatuur in Vlaanderen geen limiterende factor is. Want al is de temperatuur in beide intervallen iets lager, komt *Alternaria* meer voor dankzij de hogere relatieve vochtigheid, neerslag en bladnaturen. De lagere temperaturen die met vochtige periodes gepaard gaan in beide intervallen vormen voor *Alternaria* geen probleem. Een soortgelijke conclusie volgde uit de vergelijking tussen het voorkomen van *Alternaria* in 2013 en 2014 (zie Sectie 5.2). Aangezien de aardappelen die opgevolgd werden geplant werden tussen half en eind april, geeft het eerste interval midden tot eind juli aan en het tweede interval midden augustus. Het eerste interval lijkt dus samen te vallen met de eerste *Alternaria*-infecties (zie Tabel 5.1 Sectie 5.2). Het tweede speelt misschien een rol bij de exponentiële ontwikkeling van *Alternaria* laat in het groeiseizoen.



Figuur 5.6: Correlaties tussen rAUDPC-waarde en weerdata.

Voor het opstellen van een meervoudig lineair regressiemodel voor de voorspelling van rAUDPC-waarden werden de variabelen met een correlatie groter dan 0.4 geselecteerd en in het regressiemodel opgenomen. De factor regio werd tevens aan het model toegevoegd. Een voorbeeld van een predictor is Neerslag 118, hiermee wordt het gemiddelde van de neerslag op dag 118, 119, 120, 121 en 122 bedoeld. Aangezien ook Neerslag 119 en Neerslag 120 een correlatie groter dan 0.4 hebben is het risico op multicollineariteit reëel. Daarom werden de correlaties tussen de onafhankelijke variabelen berekend. Wanneer die groter was dan 0.833 werd één van beide termen niet opgenomen in het model. Zo werd de keuze voor op te nemen variabelen beperkt tot: regio, Neer118, Neer120, Neer127, Neer128, RV118, RV120, RV126, RV128, Bl118 en Bl127.

Vervolgens gebeurde de model selectie via de stapsgewijze achterwaartse eliminatie. Er werd uitgegaan van een model met de gekozen variabelen en alle 2^e orde interacties. Vervolgens werd voor iedere aanwezige predictor getoetst met behulp van de F-toets of het verlies aan marginale verklaarde variabiliteit, gegeven de overige predictoren in het model, voldoende klein is om de

overeenkomstige predictor te verwijderen. De coëfficiënt met de t-waarde dichtst bij nul werd uit het model verwijderd en vervolgens werden de coëfficiënten opnieuw geschat. Dit proces werd herhaald tot het model enkel coëfficiënten bevat die significant zijn op het 10 % significantieniveau. Voor een model met de gekozen variabelen en alle 2^e orde interacties was het niet mogelijk om alle coëfficiënten te schatten omwille van de kleine hoeveelheid beschikbare data (72 observaties). Voor het opstellen van een eerste model werden daarom alle 2e orde interactie-effecten met de factor regio buiten beschouwing gelaten. Bovendien werd eerst de significantie van de interacties nagegaan voor naar de hoofdeffecten werd gekeken. Voor een tweede model werden opnieuw alle 2^e orde regio-interactietermen buiten beschouwing gelaten. Hier werd steeds de coëfficiënt met t-waarde dichtst bij nul verwijderd, hoofdeffect of interactie-term. De twee bekomen modellen bestonden uit de predictoren die weergegeven worden in Tabel 5.13.

Tabel 5.13: Lineaire regressiemodellen.

Model 1	p-waardes	Model 2	p-waardes
Intercept	1.5×10^{-5}	Intercept	0.041
Neer120	0.029	Neer127	0.0020
RV126	2.4×10^{-5}	Bl118	0.061
Bl118	1.8×10^{-5}	Neer118:Neer120	0.0015
Neer118:RV118	0.019	Neer118:Neer128	7.0×10^{-10}
Neer118:RV126	0.020	Bl118:Neer120	7.3×10^{-5}
Neer120:Neer128	1.1×10^{-7}	Neer120:Bl127	1.5×10^{-4}
Neer120:RV118	0.090	Neer127:RV118	0.032
Neer120:Bl118	0.0063	Neer127:RV120	0.0048
Neer120:Bl127	0.015	Neer127:RV126	0.021
RV126:Bl118	2.5×10^{-5}	Neer127:Bl127	0.034

Om de voorspellingsfout te achterhalen werd K-voudige kruisvalidatie uitgevoerd. De data werden opgesplitst in acht even grote delen. Voor elk van de acht delen werden dan de overige zeven delen gebruikt als training-set voor het fitten van een model en werd het niet meegenomen deel gebruikt als validatie-set. De bekomen voorspellingen worden dan vergeleken met de bijhorende gemeten rAUDPC-waarden. Voor de twee modellen werd het gemiddelde van de gekwadraterde fouten (MSE), het gemiddelde van de absolute fouten (MAE) en de determinatiecoëfficiënt bepaald (Tabel 5.14). Voor elk model werd via de Shapiro-Wilk test de normaliteit van de residuen getest, de bekomen p-waarden zijn respectievelijk 6.7×10^{-10} en 8.0×10^{-10} . De normaliteitsvoorwaarde is bij geen van de modellen voldaan. Helaas is met deze kleine dataset wellicht geen beter resultaat mogelijk.

Tabel 5.14: Modelkwaliteit lineaire regressiemodellen.

	MSE	MAE	R ²
Lineair regressiemodel 1	2.5	0.79	0.43
Lineair regressiemodel 2	2.7	0.85	0.42

Bij meervoudige lineaire regressie gebeurt de schatting van de regressiecoëfficiënten via de 'ordinary least squares' methode. In formulevorm kan dit als volgt genoteerd worden:

$$\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T y. \quad (5.1)$$

Vaak worden te veel parameters opgenomen in het model en wordt het risico op overfitting reëel. Want complexere modellen zullen de structuur van de trainingsdata nauwer volgen dan minder complexe modellen. Hierdoor zal de bias verlagen maar neemt de variantie van het model toe. Om het probleem van overfitting te vermijden moet de complexiteit van het model beheerst worden. Hiervoor kan aan de foutenfunctie waarmee de parameters geschat worden een fout in functie van de parameters toegevoegd worden die bestraft voor de complexiteit van het model. Bij ridge regressie is dit de som van de gekwadrateerde parameters:

$$\beta^{\text{ridge}} = \operatorname{argmin}_{\beta} \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \beta_0 - \sum_{j=1}^P x_{ij} \beta_j)^2 + \lambda \sum_{j=1}^P \beta_j^2 \right\}. \quad (5.2)$$

Het matrix inversie probleem voor het schatten van de regressiecoëfficiënten wijzigt slechts beperkt, enkel een regularisatieterm (λ) wordt aan de formule toegevoegd:

$$\hat{\beta} = (X^T X + \lambda I)^{-1} X^T y. \quad (5.3)$$

De regularisatieterm moet zo gekozen worden zodat de testfout geminimaliseerd wordt (Hastie et al., 2008; Waegeman, 2014).

Voor het opstellen van een ridge-regressiemodel werden opnieuw de weervariabelen met een correlatie hoger dan 0.4 meegegeven aan het model. Daarnaast werd ook de factor regio meegegeven. De MSE, MAE en R^2 waarde zijn gegeven in Tabel 5.15. Zoals uit Tabel 5.14 en 5.15 kan afgeleid worden is de prestatie van het ridge-model niet duidelijk beter dan die van de lineaire regressiemodellen. Misschien is de reden hiervoor dat er geen interactietermen in het ridge-regressiemodel werden opgenomen.

Tot slot werd ook een lasso-model gefit aan de data. Bij lasso-modellen wordt de complexiteit van het model eveneens beheerst door het toevoegen van een foutterm in functie van de parameters aan de foutenfunctie voor het schatten van de parameters. Deze foutterm is de som van de absolute waarde van de parameters:

$$\beta^{\text{lasso}} = \operatorname{argmin}_{\beta} \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \beta_0 - \sum_{j=1}^P x_{ij} \beta_j)^2 + \lambda \sum_{j=1}^P |\beta_j| \right\} \quad (5.4)$$

(Hastie et al., 2008; Waegeman, 2014). Aangezien bij lasso regressie het model zelf de selectie van de parameters doet, werden alle weersvariabelen met een correlatie hoger dan 0.3 meegegeven aan het model, dit waren 54 weervariabelen en de factor regio. De functie lars() van de gelijknamige R-package werd gebruikt voor het opstellen van het model. De R^2 , MSE en MAE waarde worden weergegeven in Tabel 5.16. Gemiddeld werden 19 predictoren effectief gebruikt voor het verkregen model.

Tabel 5.15: Modelkwaliteit ridge-regressiemodel.

	MSE	MAE	R^2
Ridge-model	2.2	0.94	0.46

Tabel 5.16: Modelkwaliteit lasso-regressiemodel.

	MSE	MAE	R^2	Aantal predictoren
Lasso-model	1.08	0.71	0.27	19,3

Hoofdstuk 6

Besluit

In deze thesis werd getracht de kennis over het ziekteverloop van *Alternaria* in Vlaanderen uit te breiden. Via de inoculatieproeven, zowel in de serre als in veldomstandigheden, werd wel degelijk infectie veroorzaakt door *Alternaria alternata* vastgesteld. Bij de potproef was er voor het ras Markies een significant verschil in aantasting merkbaar tussen de inoculatie met zuiver *Alternaria solani* en die met zuiver *Alternaria alternata*. Hier was de pathogeniciteit door *Alternaria solani* het grootst. Bij de infectieproef in veldomstandigheden waren geen significante verschillen merkbaar tussen de verschillende behandelingen. Er moet opgemerkt worden dat de aantasting bij alle behandelingen relatief laag was en dat er slechts weinig verschil was tussen de aantastingen bij de controle, wat enkel door natuurlijk inoculum besmet werd. Uit de qPCR-analyse bleek dat er naar het einde van het groeiseizoen meer *A. solani* werd aangetroffen.

De fungiciden Agriphar003 en Thiram bleken het minst efficiënt in hun werking tegen *Alternaria* volgens de fungicidenproef in Bottelare, Terminett (BSC+PCS), Tanos + Shirlan (CYM+FXD+FZN) en Cerial star + Amistar (DFZ+MDP+AZX) hadden de beste werking. Uit de fungicidenproef in Beitem kwam eveneens Tanos + Shirlan (CYM+FXD+FZN) als best werkende fungicide naar voor. De resultaten zijn analoog als beschreven in het rapport van EuroBlight (Bain R.A., 2013). Voor de fungicidenproef uitgevoerd in Kruishoutem waren er geen significante verschillen merkbaar tussen de werking van de verschillende fungiciden. De interpretatie van de resultaten uit de fungicidenproeven moet echter met de nodige voorzichtigheid gebeuren aangezien de aantasting van de onbehandelde aardappelen eveneens bijzonder laag was.

Uit de resultaten van de fungicidenproeven in Beitem en Kruishoutem werd afgeleid dat de aantasting door de natuurlijke *Alternaria*-populatie pas een piek kende in het tweede deel van augustus. Een analoge piek werd niet opgemerkt bij de proeven in Bottelare, daar werd echter maar gescoord tot de eerste helft van augustus.

Uit de observatie van de *Alternaria*-aantasting op de waarnemingsvelden verspreid over heel Vlaanderen bleek dat de *Alternaria*-aantasting in 2013 duidelijk lager was dan in 2014. De totale neerslag, de gemiddelde relatieve vochtigheid en het aantal bladnaturen was duidelijk hoger in juli en augustus 2014 dan gedurende dezelfde periode in 2013. Daarentegen was de temperatuur in 2014 lager dan in 2013. Hieruit werd geconcludeerd dat temperatuur in Vlaanderen niet limiterend is voor *Alternaria*. De lagere temperatuur in 2014 was nog steeds hoog genoeg voor de ontwikkeling van *Alternaria*. De hoeveelheid vocht lijkt een belangrijkere parameter.

In deze thesis werden bestaande voorspellingsmodellen voor *Alternaria* opgedeeld in vier categorieën: pathogeen-gebaseerde modellen, plant-gebaseerde modellen, mechanistische modellen en data-gedreven modellen. De eerste twee groepen modellen werden in de mate van het mogelijke geïmplementeerd en gebruikt om *Alternaria* te voorspellen op basis van de

weersomstandigheden van 2013 tot 2014 voor drie verschillende regio's in Vlaanderen, de Kempen, het oosten van Brussel en het westen van Brussel. Zoals enigszins verwacht leverde de implementatie van bestaande voorspellingsmodellen geen goede resultaten onder Vlaamse omstandigheden op. De voorspellingen voor de eerste fungicidetoepassing volgens het IWP-model, het 'dag-graden' model en het 'P-dagen' model waren voor de drie regio's en de twee seizoenen overwegend te vroeg. Bij het FAST-model, kon beiden: te vroeg of te laat. Enkel de voorspelling voor het Oosten van Brussel in 2014 was vrij goed. Daarnaast dient opgemerkt te worden dat de verschillen van de voorspellingen tussen de drie regio's binnen één groeiseizoen zeer beperkt zijn, terwijl op de waarnemingsvelden regionale verschillen wel duidelijk zijn. Dit wijst erop dat het optimale voorspellingsmodel nog andere parameters vereist. Mogelijkheden zijn ras-afhankelijkheid, aanwezigheid van primair inoculum etc.

Het ideale model zou de verschillende delen van de ziekte-driehoek moeten bevatten. Namelijk de omgevingsfactoren zoals weer en teeltrotatie etc. maar ook de groei van de aardappelplant en alles van de ziektecyclus: het proces van sporulatie tot infectie.

Er werd tevens afgetoetst of een combinatie van een pathogeen- en een plant-gebaseerd model dienst kan doen onder Vlaamse omstandigheden. Er werden empirische regels opgesteld, maar om echt betrouwbare resultaten te bekomen zouden nog meer data van verschillende groeiseizoenen en regio's noodzakelijk zijn.

Aangezien de *Alternaria*-aantasting door heel veel verschillende factoren bepaald wordt, zijn data-analyse technieken zeer interessant voor het maken van voorspellingen. Het nadeel aan deze technieken is dat er om betrouwbare voorspellingen te kunnen maken heel wat data nodig zijn. In deze thesis waren te weinig data beschikbaar om zo betrouwbare resultaten te kunnen bekomen.

Verder moet opgemerkt worden dat voorspellingsmodellen gebaseerd op neurale netwerken en ARIMA, zoals ontwikkeld door Astray et al. (2010), Angelosante et al. (2007), Tomassetti et al. (2009) en Escuredo et al. (2010) enkel de *Alternaria*-sporenconcentraties in de lucht voorspellen. Deze modellen zijn zeer bruikbaar voor astmapatiënten of mensen die lijden aan allergieën omdat voor hen de sporenconcentraties reeksreeks van belang zijn. De aantasting van aardappelen door *Alternaria* wordt, zoals eerder aangehaald, niet enkel bepaald door de aanwezigheid van sporen, ook de plant moet gevoelig zijn en de condities nodig voor infectie moeten vervuld zijn. De hiervoor vermelde modellen zijn dus slechts een onderdeel van het ideale voorspellingsmodel voor toepassingen in de landbouw. Bovendien maken sommige modellen gebruik van gemeten sporenconcentraties van enkele dagen voordien, wat impliceert dat de landbouwer data zou moeten verzamelen om het model te kunnen gebruiken. Hier moet de praktische haalbaarheid in vraag gesteld worden. Een model met "eenvoudige" inputfactoren dat algemeen gebruikt kan worden verdient de voorkeur.

Bibliografie

- APS, the American Phytopathological Society (2015). Calculating the area under the disease progress curve to quantify disease progress. URL: <http://www.apsnet.org/EDCENTER/ADVANCED/TOPICS/ECOLOGYANDEPIDEMIOLOGYINR/DISEASEPROGRESS/Pages/AUDPC.aspx> (gelezen op 6 april 2015).
- APS, the American Phytopathological Society (2015). Plant Disease Epidemiology: Temporal Aspects Modelling Disease Progress. URL: <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/EpidemiologyTemporal/Pages/ModellingProgress.aspx> (gelezen op 1 juni 2015).
- Astray, G., Rodriguez-Rajo, F. J., Ferreira-Lage, J. A., Fernandez-Gonzalez, M., Jato, V., & Mejuto, J. C. (2010). The use of artificial neural networks to forecast biological atmospheric allergens or pathogens only as *Alternaria* spores. *Journal of Environmental Monitoring*, 12(11), 2145-2152.
- Bain, RA., (2013). Report of the control strategies subgroup meeting on 15 may 2013: Discussion and agreements reached. *Proceedings of the Fourteenth EuroBlight workshop Limassol – Cyprus, PPO-Special Report* (16), 105-112.
- Bashi, E., & Rotem, J. (1975). Sporulation of *Stemphylium-botryosum* f.sp. *lycopersici* in tomatoes and of *Alternaria-porri* f.sp. *solani* in potatoes under alternating wet-dry regimes. *Phytopathology*, 65(5), 532-535.
- Bruno, A. A., Pace, L., Tomassetti, B., Coppola, E., Verdecchia, M., & Pacioni, G. (2007). Estimation of fungal spore concentrations associated to meteorological variables. *Aerobiologia*, 23(3), 221-228.
- CLM Milieumeetlad (2015). Milieubelastingskaart aardappel schimmelbestrijding. URL: <http://www.schoon-water.nl/wp-content/uploads/2015/02/MBPKaartAardappelSchimmel2015.pdf> (gelezen op 5 mei 2015).
- Craven, K. D., Velez, H., Cho, Y., Lawrence, C. B., & Mitchell, T. K. (2008). Anastomosis is required for virulence of the fungal necrotroph *Alternaria brassicicola*. *Eukaryotic Cell*, 7(4), 675-683.
- Dephour, A. A., Alavi, S. V., & Majd, A. (2007). Light and scanning electron microscopy studies on the penetration and infection processes of *Alternaria alternata*, causing Brown Spot on Minneola Tangelo in the West Mazandaran – Iran. *World Applied Sciences Journal*, 2(1), 68-72.
- Demeyere, A., Hofmans, E., Meurrens, F., & Christiaens, L. (2010). Gewasbescherming aardappelen. *ILVO, afdeling duurzame landbouwontwikkeling*. URL: http://www2.vlaanderen.be/landbouw/downloads/plant/gewasbescherming_aardappelen.pdf (gelezen op 5 mei 2015).

- Dita, M. A., Brommonschenkel, S. H., Matsuoka, K., & Mizubuti, E. S. G. (2007). Histopathological study of the *Alternaria solani* infection process in potato cultivars with different levels of early blight resistance. *Journal of Phytopathology*, 155(7-8), 462-469.
- Droby, S., Dinoor, A., Prusky, D., & Barkai-Golan, R. (1984). Pathogenicity of *Alternaria alternata* on potato in Israel. *The American Phytopathological Society*, 74(5), 537-542.
- Escuredo, O., Seijo, M. C., Fernandez-Gonzalez, M., & Iglesias, I. (2011). Effects of meteorological factors on the levels of *Alternaria* spores on a potato crop. *International Journal of Biometeorology*, 55(2), 243-252.
- Franc, G. D., Harrison, M. D., & Bahman, L. K. (1988). A Simple Dag-Degree Model for Initiating Chemical Control of Potato Early Blight in Colorado. *Plant Disease*, 72(10), 851-854.
- Franc, L. J. (2001). The disease triangle: a plant pathological paradigm revisited. *The Plant Health Instructor*. URL: <http://www.apsnet.org/edcenter/instcomm/TeachingArticles/Pages/DiseaseTriangle.aspx> (gelezen op 6 april 2015).
- Haesaert, G., De Lange, L., & Heremans, B. (2011). *Alternaria* in de aardappelteelt: een nieuw probleem? URL: http://www.agripress.be/STUDIOEMMA_UPLOADS/downloads/brochure.pdf (gelezen op 7 mei 2015).
- Hanse, L. (2013). Leafspot zet *Alternaria* in de spotlights. *Aardappelwereld magazine*, 6, 33-37. URL: http://www.czav.nl/dynamisch/bibliotheek/1010_0_NL_Leafspot_Aardappelwereld_Magazine.pdf (gelezen 30 mei 2015).
- Hansen, J. G. (2015). EuroBlight, *Alternaria*, What are the problems? URL: <http://euroblight.net/alternaria/what-are-the-problems/> (gelezen op 9 februari 2015).
- Harrison, M. D., Livingston, C. H., & Oshima, N. (1965). Control of potato early blight in Colorado. I. Fungicidal spray schedules in relation to the epidemiology of the disease. *American Potato Journal*, 42(11), 319-327.
- Hastie, T., Tibshirani, R., & Friedman, J. (2008). The elements of statistical learning, *Springer*, 464p.
- Hausladen, H., & Leiminger, J. (2007). Potato early blight in Germany (*Alternaria solani*, *Alternaria alternata*). *Proceedings of the tenth Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Italy, Bologna, 2-5 May.2007. Special Report no.12. Ed. Schepers H.T.A.M. Applied Plant Research Wageningen UR, PPO (370)*, 189-194.
- Heirman, J. (2006). Natuur, milieu & landbouw, wijzer bij het milieubeleidsplan. URL: <http://www.lne.be/doelgroepen/landbouw/documenten-en-fotos/mbp-landbouwbrochure.pdf> (gelezen op 3 december 2014).

Hofte, M. (2013). *Gewasbeschadigers plantenziekten*.

Holley, J. D., Hall, R., & Hofstra, G. (1985). Effects of cultivar resistance, leaf wetness duration and temperature on rate of development of potato early blight. *Canadian Journal of Plant Science*, 65(1), 179-184.

Interprovinciaal Proefcentrum voor de aardappelteelt. (2012). *Alternaria* algemene beschrijving. URL: <http://www.pcainfo.be/Kenniscentrum/Ziekten/alternaria-1277> (gelezen op 3 december 2014).

Kapsa, J., & Osowski, J., (2007). Evaluation of performance of Burkard trap in identification of *Alternaria* species infecting potato crops. *Proceedings of the Thenth Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Italy, Bologna, 2-5 May.2007. Special Report no.12. Ed. Schepers H.T.A.M. Applied Plant Research Wageningen UR, PPO (370), 368pp.*

Kapsa, J. (2009). Effectiveness of some fungicides in control of *Alternaria alternata* and *Alternaria solani*. *Proceedings of the Eleventh EuroBlight workshop Hamar – Norway, PPO-Special Report (13), 127-134.*

Kapsa, J., & Osowski, J., (2012). Host-pathogen interaction between *Alternaria* species and *S. tuberosum* under different conditions. *Proceedings of the Thirteenth EuroBlight workshop St. Petersburg – Russia, PPO-Special Report (15), 107-112.*

Latorse, M., Schmitt, F., Peyrard, S., Veloso, S., & Beffa, R., (2010). Molecular Analysis of *Alternaria* Populations Early Blight Causal Agents in Potato Plants. *Proceedings of the Twelfth Euroblight workshop Arras – France, PPO-Special Report (14), 179 – 186.*

Madden, L., Pennypacker, S. P., & Macnab, A. A. (1978). FAST, a Forecast System for *Alternaria solani* on Tomato. *Phytopathology*, 68(9), 1354-1358.

Mirkarimi, H. R., Abasi-Moghadam, A., & Mozafari, J. (2013). In vitro and greenhouse evaluation for resistance to early blight of potato isolated from *Alternaria alternata*. *Agricultural Sciences*, 4(9), 473-476.

Mueller, D. (2006). Fungicides: Q_oI fungicides. *Department of Plant Pathology*. URL: <http://www.ipm.iastate.edu/ipm/icm/2006/5-22/fungicides.html> (gelezen op 7 mei 2015).

Nau, R. (2015). Statistical forecasting: notes on regression and time series analysis. *Fuqua School of Business Duke University*. URL: <http://people.duke.edu/~rnau/411home.htm> (gelezen op 27 maart 2014).

Pasche, J. S., Wharam, C. M., & Gudmestad, N. C. (2004). Shift in sensitivity of *Alternaria solani* in response to Q_oI fungiciden. *Plant Disease*, 88(2), 181-187.

- Pscheidt, J. W., & Stevenson, W. R. (1986). Comparison of forecasting methods for control of potato early blight in Wisconsin. *Plant Disease*, 70(10), 915-920.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*. URL : <http://www.R-project.org/> (gelezen op 9 februari 2015).
- Recio, M., Trigo, M. D., Docampo, S., Melgar, M., Gracia-Sánchez, J., Bootello, L., & Cabezudo, B. (2012). Analysis of the predicting variables for daily and weekly fluctuations of two airborne fungal spores: *Alternaria* and *Cladosporium*. *International Journal of Biometeorology*, 56(6), 983-991.
- Rotem, J. (1994). The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. *APS Press*, 326p.
- Sands, P. J., Hackett, C., & Nix, H. A. (1979). A model of the development and bulking of potatoes (*Solanum tuberosum* L.). I. Derivation from well-managed field crops. *Field crops Research*, 2, 309-331.
- Schepers, H., & Evenhuis, B. (2010). *Alternaria* in aardappel: een Europees perspectief. *PPO-agv* URL: <http://www.kennisakker.nl/kenniscentrum/document/alternaria-aardappel-een-europees-perspectief> (gelezen op 7 mei 2015).
- Sigma-Aldrich. SYBR Green I-Based qPCR technical animation. URL: <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/molecular-biology/pcr/quantitative-pcr/sybr-green-based-qpcr/syber.green.animation.html> (gelezen op 17 februari 2015).
- Spoelder, J., Ellens, R., & Turkensteen, L. (2013). Comparing pathogenicity of *Alternaria solani* and *Alternaria alternata* in potato. *Fourteenth EuroBlight workshop Limassol – Cyprus, PPO Special Report*, (16), 97-102.
- Stammler, G., Bohme, F., Philippi, J., Meissner, S., & Tegge, V. (2014). Pathogenicity of *Alternaria*-species on potatoes and tomatoes. *Fourteenth EuroBlight workshop Limassol – Cyprus, PPO Special Report*, (16), 85-96.
- Strandberg, J. O. (1977). Spore production and dispersal of *Alternaria dauci*. *Phytopathology*, 67(10), 1262-1266.
- Syngenta. (2013). Cerial Star. URL: <http://www3.syngenta.com/country/be/nl/Product/gewasbescherming/Fungiciden/Pages/CerialStar.aspx> (gelezen op 28 mei 2015).
- Thomma, B. (2003). Pathogen profile *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular plant pathology*, 4(4), 225-236.
- Tomassetti, B., Bruno, A. A., Pace, L., Verdecchia, M. & Visconti, G. (2009) Prediction of *Alternaria* and *Pleospora* concentrations from the meteorological forecast and artificial neural network in L'Aquila, Abruzzo (Central Italy). *Aerobiologia*, 25, 127-136.

- Turkensteen, L. J., Spoelder, J., & Mulder, A. (2010). Will the real *Alternaria* stand up please – Experiences with *Alternaria*-like diseases on potatoes during the 2009 growing season in The Netherlands. *Twelfth EuroBlight workshop Arras – France, PPO Special Report*, (14), 165-170.
- van der Waals, J. E., Korsten, L., Aveling, T. A. S., & Denner, F. D. N. (2003). Influence of environmental factors on field concentrations of *Alternaria solani* conidia above a South African potato crop. *Phytoparasitica*, 31(4), 353-364.
- van der Waals, J. E., Krueger, K., Franke, A. C., Haverkort, A. J., & Steyn, J. M. (2013). Climate Change and Potato Production in Contrasting South African Agro-Ecosystems 3. Effects on Relative Development Rates of Selected Pathogens and Pests. *Potato Research*, 56(1), 67-84.
- Vanhaverbeke, P. (2013). Waarschuwingsdienst aardappelziekte PCA. PCA. URL: <http://www.pcainfo.be/DesktopModules/EasyDNNNews/DocumentDownload.ashx?portalid=0&moduleid=655&articleid=131&documentid=46> (gelezen op 9 mei 2015).
- Waegeman, W. (2014) *Predictieve modellen*.
- Waeyaert, N. (2014). Kerncijfers landbouw de landbouw in België in cijfers. *De Algemene Directie Statistiek van de Federale Overheidsdienst Economie*. URL: http://statbel.fgov.be/nl/binaries/WEB_NL_Kerncijfers%20Landbouw_2014_tcm325-252903.pdf (gelezen op 3 december 2014).
- Waggoner, P. E., & Horsfall, J. G. (1969). EPIDEM: A simulator of plant disease written for a computer. *Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin*, 698, 80p.
- Weber, B., & Halterman, D. A. (2012). Analysis of genetic and pathogenic variation of *Alternaria solani* from a potato production region. *European Journal of Plant Pathology*, 134(4), 847-858.
- Wharton, P., & Kirk, W. (2007) Early blight. Department of plant, soil and microbial science, Michigan State University. *Extension bulletin E2991*.
- WIV-ISP (2014), Surveillancenet van het stuifmeel en de schimmelsporen van de lucht. WIV-ISP, dienst Mycologie-Aerobiologie. URL: <https://airallergy.wiv-isp.be/sites/airallergy/PDF/newsnl2014.pdf> (gelezen op 20 april 2014).
- Zadoks, J. C., & Schein, R. D. (1979). Epidemiology and plant disease management. *Oxford University Press*, 427p.

Bijlage A

Inhoud van bijgevoegde CD

Op de bijgevoegde CD zijn de R-files terug te vinden met de geïmplementeerde voorspellingsmodellen uit de literatuur. Deze bestanden horen bij Sectie 5.3 van Hoofdstuk 5.

- FAST_Bottelare2014.R
- FAST_KempOostWest2013.R
- FAST_KempOostWest2014.R
- IWP_Bottelare2014.R
- IWP_KempOostWest2014_2013.R
- GDD_Bottelare2014.R
- GDD_KempOostWest2014_2013.R
- P-dagen_Bottelare2014.R
- P-dagen_KempOostWest2014_2013.R
- RegressieHolley_Bottelare2014.R

Daarnaast bevat de CD de R-files horende bij Sectie 5.4 van Hoofdstuk 5.

- AanpassenFAST_2013.R
- AanpassenFAST_2014.R
- AanpassenGDD_2014_2013.R
- CombinatieFAST&GDD_2013.R
- CombinatieFAST&GDD_2014.R
- Regressiemethoden.R

Tot slot werden er drie excel-bestanden toegevoegd met gegevens die noodzakelijk zijn voor bovenstaande R-files namelijk de gebruikte weerdata en de scoringsresultaten in beide seizoenen.

- Weer2012_2014.xlsx
- ScoringenVlaanderen2013.xlsx
- ScoringenVlaanderen2014.xlsx