

Introduction

Le mildiou, causé par l'oomycète *Phytophthora infestans*, demeure la maladie la plus destructrice pour la culture de la pomme de terre à l'échelle mondiale (Pellé et al., 2005). Il peut entraîner une défoliation rapide des plants, affecter les tiges, compromettre significativement les rendements, et provoquer la pourriture des tubercules, impactant tant la qualité que la quantité de la récolte. Sa gestion repose principalement sur l'application répétée de fongicides, avec en moyenne 12 à 15 traitements par saison dans les climats modérément humides comme ceux du nord-ouest de l'Europe, et jusqu'à 20 applications lors d'années particulièrement pluvieuses (Goffart et al., 2022). Par ailleurs, même l'agriculture biologique repose encore fortement sur l'utilisation de fongicides à base de cuivre (Nechwatal & Zellner, 2015), malgré leurs effets négatifs sur les micro-organismes du sol (Rehman et al., 2019). Or, l'usage du cuivre est appelé à être progressivement réduit, voire interdit à moyen terme, en raison de son impact environnemental et de sa toxicité pour les sols. Cette perspective renforce encore l'importance du développement et de l'évaluation de variétés résistantes au mildiou dites « plus robustes », afin de garantir une protection durable des cultures dans tous les systèmes agricoles.

Dans ce contexte, l'évaluation au champ de variétés de pomme de terre plus robustes s'avère indispensable. Cette évaluation vise à observer le comportement des variétés dans des conditions de pression naturelle de la maladie, afin de mieux orienter les choix variétaux pour des systèmes de culture moins dépendants des intrants chimiques.

Plusieurs protocoles d'évaluation de la résistance variétale au mildiou sont déjà disponibles, notamment ceux développés par le CIP (https://www.researchgate.net/publication/263426295_Field_assessment_of_resistance_in_potato_to_Phytophthora_infestans_International_cooperators_guide#fullTextFileContent) ou par l'INRAE (<https://revue-novae.fr/article/download/9024/43337>) ou encore dans le cadre de l'inscription des variétés de pomme de terre dans le catalogue national belge (https://agriculture.wallonie.be/files/20182/21849/Protocole_Pomme%20de%20terre%20Fr_2022.pdf). Toutefois, une harmonisation plus spécifique à l'échelle transfrontalière était nécessaire pour répondre aux besoins du groupe de travail (réunissant le CRA-W, la FIWAP, Bio Wallonie, Viaverda, Bio Hauts-de-France, la FREDON Hauts-de-France, BioForum, Inagro ainsi que la Chambre d'agriculture du Nord-Pas-de-Calais) sur les variétés robustes mis en place dans le cadre du projet PROROB (Interreg France-Wallonie-Vlaanderen).

Ce protocole s'inscrit donc dans une logique de travail collaboratif et transdisciplinaire, visant à fournir un cadre commun pour la mise en œuvre des essais d'évaluation en plein champ. Il vise à :

- Faciliter l'organisation et le suivi des essais entre les partenaires du micro-projet (CRA-W, Inagro, Chambre d'Agriculture du Nord-Pas-de-Calais), ainsi qu'à l'échelle plus large du groupe de travail des « pommes de terre robustes »
- Assurer une cohérence des notations,
- Améliorer la comparabilité et la valorisation des résultats à l'échelle transfrontalière.

1. *Phytophthora infestans* :

a. Caractéristiques du pathogène et cycle de vie

Phytophthora infestans est un pathogène hémibiotrophe avec un développement en deux phases. Une phase biotrophe, impliquant la colonisation de tissus vivants, et une phase nécrotrophe, caractérisée par des dégradations de tissus colonisés pouvant mener à la destruction complète des plantes en peu de temps.

Dans des conditions climatiques favorables — notamment une humidité relative supérieure à 90 % et des températures comprises entre 15 et 22 °C — *Phytophthora infestans* peut réaliser plusieurs cycles de reproduction asexuée (Le Vourch et al., 2025). Il présente un fort potentiel de sporulation, permettant une dissémination rapide via des propagules asexuées appelées sporanges, transportées par le vent (Aylor et al., 2001 ; Fry, 2020). Ces sporanges sont produits dans les tissus infectés en conditions humides, puis libérés dans l'air (Aylor et al., 2001). Ils peuvent parcourir au moins 90 mètres en hauteur et 500 mètres sous le vent, voire jusqu'à 700 kilomètres dans certaines conditions extrêmes (Aylor et al., 2011 ; Severns et al., 2019).

Après avoir atteint les tissus de la plante hôte, les sporanges peuvent libérer des zoospores mobiles ou germer directement après enkystement. Dans les deux cas, un tube germinatif est formé, pénétrant les tissus végétaux et amorçant la croissance du mycélium (Fry, 2008).

Phytophthora infestans est une espèce hétérothallique, nécessitant la présence de deux souches de types sexuels opposés (A1 et A2) pour réaliser la reproduction sexuée. Celle-ci conduit à la formation d'oospores, structures à paroi épaisse capables de survivre dans le sol durant des périodes défavorables telles que le gel ou la sécheresse (Fry, 2020).

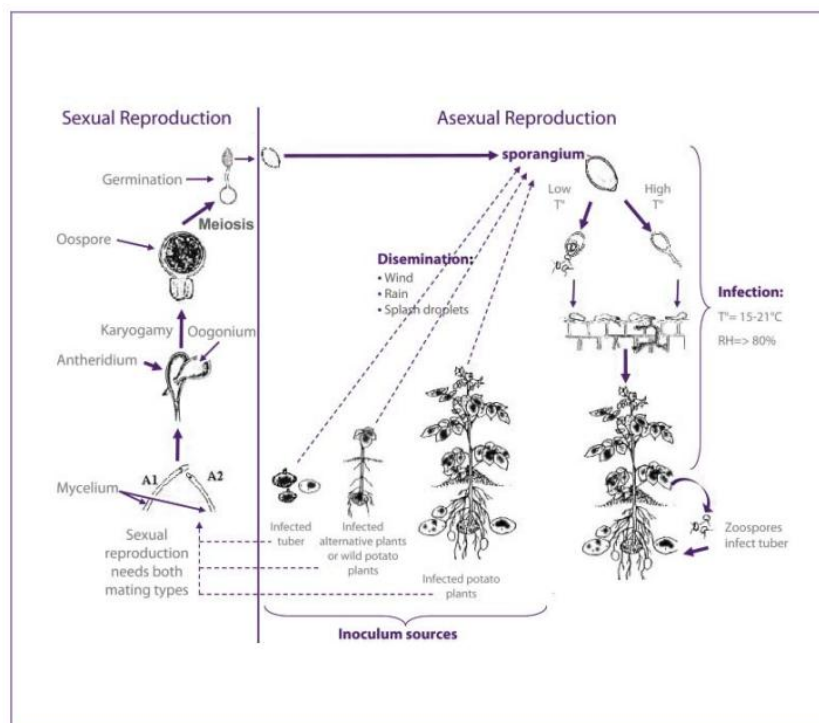


Figure 1: Cycle de vie du *Phytophthora infestans* (Bron: CIP (2010))

b. Symptômes :

Les symptômes varient selon l'âge de la lésion, les conditions environnementales antérieures à l'observation et le type de tissu touché.

- Sur les tubercules

L'infection des tubercules par le mildiou se manifeste par des zones irrégulières, légèrement enfoncées, de taille variable, allant du brun au violacé en surface. Ces symptômes peuvent être moins visibles chez certaines variétés, notamment celles à peau rouge ou rugueuse. Sous la peau, dans les zones décolorées, on observe une pourriture sèche, de couleur brun rougeâtre à brun clair, avec une texture granuleuse, qui s'étend généralement à moins de 1,5 cm en profondeur dans le tubercule (Figure 2) (Forbes et al. 2014).

Au début, les tubercules infectés restent fermes, secs et d'apparence saine, mais ils sont souvent colonisés par d'autres agents pathogènes, principalement des bactéries, entraînant une pourriture molle. L'intensité de cette dégradation varie selon la sensibilité de la variété, la température et le délai écoulé depuis l'infection. Dans les champs fortement touchés, une odeur forte et désagréable peut être perçue, principalement due à la décomposition des tissus morts par des micro-organismes secondaires, et non directement au mildiou lui-même (Forbes et al. 2014).



Figure 2: Symptômes du mildiou sur tubercule de pomme de terre

c. Résistance au mildiou

Deux types de résistance au mildiou ont été décrits chez la pomme de terre : la résistance qualitative et la résistance quantitative (Rauscher et al., 2010). La résistance qualitative ou verticale repose sur des gènes majeurs (gènes R) et est associée à une réponse hypersensible entraînant la mort cellulaire et empêchant ainsi la colonisation ultérieure du tissu de l'hôte. La résistance quantitative, également connue sous le nom de résistance horizontale ou résistance au champ, repose sur plusieurs gènes, chacun ayant un effet relativement faible, mais étant tout de même efficace contre un large spectre de souches de *P. infestans* et stable (Brown et Caligari, 2008 ; Sliwka et Zimnoch-Guzowska, 2013).

2. Conduite des essais d'évaluation de la résistance

- **Variétés testées :** L'ensemble des variétés de la liste robustes de l'année en cours sera testé. La liste des variétés robustes se trouve sur le site internet de chaque partenaire membre du groupe de travail robustes.

-Variétés de références : 4 variétés de références sont sélectionnées sur base de leur note de sensibilité au mildiou et doivent être incluses dans l'essai d'évaluation, en particulier si l'évaluation est réalisée sur différents lieux ou à différents moments (Forbes et al. 2014). Les notes de sensibilité des variétés de référence sont choisies de manière croissante ; les variétés présentent des notes approximatives à 2, 5, 7 et 9 (allant de sensible à très résistant). Les notes de résistance sont décrites ci-dessous (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). De préférence, des variétés ayant les mêmes notes de résistance devraient être utilisées sur tous les sites d'évaluation. Ces variétés doivent présenter une certaine stabilité de réponse au mildiou et doivent donc être réévaluées chaque année afin de sélectionner les références les plus pertinentes.

-Taille des parcelles : La résistance au mildiou peut être évaluée dans de petites parcelles composés entre 25 à 30 plants.

-Gestion agronomique : La fertilisation, le contrôle des mauvaises herbes et des ravageurs, ainsi que toutes les autres activités agricoles doivent être uniformes pour toutes les parcelles de l'essai et conformes aux pratiques agricoles locales en AB. Afin de favoriser le développement du mildiou, l'essai sera réalisé sans application de traitements fongiques, y compris ceux à base de cuivre.

-Conception expérimentale : L'évaluation des variétés doit être réalisée dans un essai avec répétitions, utilisant 3 à 4 répétitions. La résistance au mildiou peut être évaluée à l'aide de tous les designs expérimentaux classiques, tels qu'un design totalement randomisé ou un plan en blocs randomisés (Forbes et al. 2014). Les parcelles expérimentales sont bordées de chaque côté par des lignes constituées d'une variété sensible, telle que Bintje, Vitelotte, Agria, etc (Figure 3Figure 4). Chaque répétition peut être répartie sur 2, 3 ou 4 lignes, en fonction de la superficie disponible.

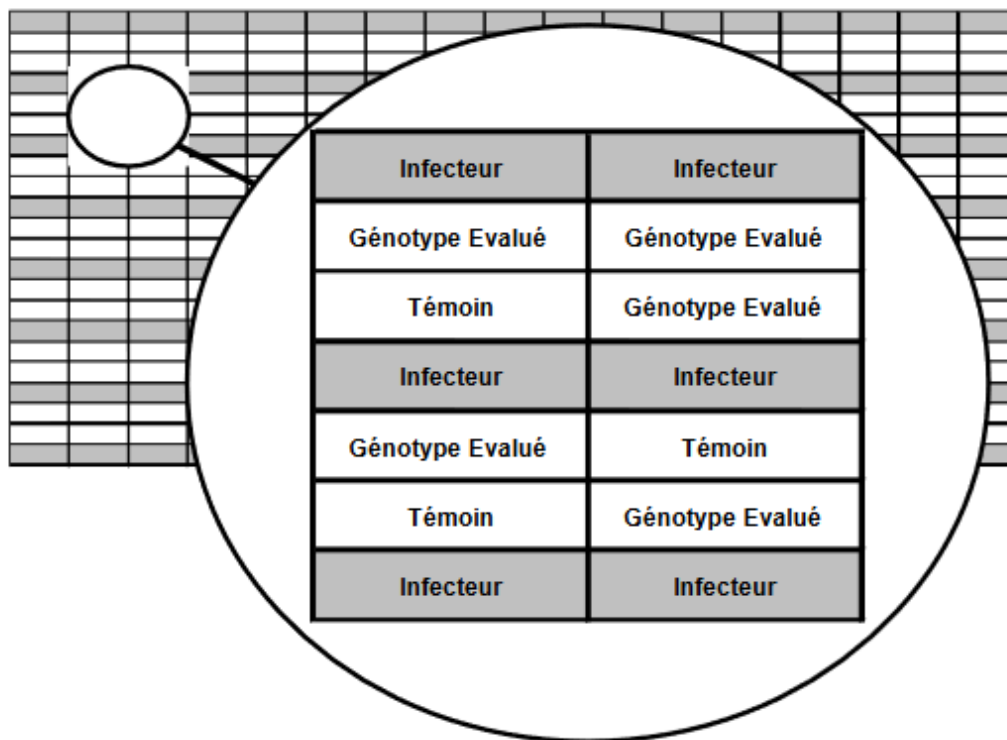


Figure 3: Exemple de dispositif expérimental (Pellé et al., 2005)



Figure 4: Lignes infectrices variété Vitelotte en bordure de l'essai et entre chaque parcelle (Parcelle expérimentale de Gembloux, 21/07/2021).

Les lignes infectrices peuvent introduire certains biais expérimentaux. Par exemple, si la variété utilisée comme ligne infectrice est très sensible au mildiou, elle peut produire une quantité importante de sporanges, augmentant ainsi artificiellement la pression d'infection sur les parcelles voisines. Cela peut donner l'impression que les variétés adjacentes sont plus sensibles qu'elles ne le sont réellement.

Pour limiter ce biais, une solution consiste à placer des plantes inoculatrices entre chaque rangée de test, assurant ainsi une exposition uniforme à l'inoculum pour toutes les variétés. Cependant, cette méthode implique un doublement de la taille de l'expérimentation, ce qui peut poser des contraintes logistiques. Une approche plus équilibrée consiste à veiller à ce que chaque variété soit positionnée à proximité d'au moins une ligne infectrice, afin de garantir une exposition comparable tout en maîtrisant la taille du dispositif expérimental.

3. Caractérisation des conditions climatiques locales

Les conditions climatiques locales sont caractérisées à partir des données recueillies par une station météo installée directement dans le champ d'essai ou, à défaut, à partir des informations fournies par la station de référence la plus proche. Les données relatives à la température, à l'humidité relative et aux précipitations sont essentielles pour interpréter les résultats liés au développement du mildiou.

4. Caractérisation des souches de *Phytophthora infestans* présentes

Il est également intéressant de caractériser les souches de *Phytophthora infestans* (agent du mildiou) présentes dans la parcelle. Cette caractérisation peut être réalisée en s'appuyant sur les outils et ressources proposés par le réseau **EuroBlight**, afin d'identifier la diversité génétique et la virulence des souches en présence.

5. Gestion des conditions climatiques pour favoriser l'infection au mildiou dans le cadre de l'essai

En cas de climat défavorable au mildiou, plusieurs mesures doivent être mises en place pour favoriser la présence de l'infection et maintenir un niveau d'infection adéquat au sein de la parcelle expérimentale. Ces actions visent à recréer des conditions propices au développement de la maladie, afin d'assurer la validité des résultats de l'essai.

a. Apports hydriques

Afin de créer un environnement favorable au développement du mildiou, il est essentiel de maintenir une humidité constante au sein de la parcelle expérimentale. En fonction des moyens disponibles, cela peut être réalisé par brumisation (création d'un brouillard d'eau par brumisateurs) ou par irrigation, à condition que celle-ci soit bien maîtrisée pour éviter les excès d'eau localisés.

La brumisation est particulièrement efficace pour maintenir une humidité élevée à la surface des plantes, sans saturer le sol, et se distingue donc nettement de l'irrigation classique, qui consiste à apporter un volume important d'eau en un court laps de temps. En cas de températures élevées, il est recommandé de privilégier des irrigations tardives (en fin de journée ou en soirée), afin de limiter l'évaporation et de favoriser la persistance de l'humidité pendant la nuit, période propice à l'infection par le mildiou.

b. Inoculation

L'inoculation consiste à introduire volontairement des souches de mildiou sur la parcelle pour favoriser les infections dans les parcelles testées. Plusieurs méthodes d'inoculation peuvent être utilisées :

- **Pulvérisation de souches** : Cette méthode consiste à pulvériser des souches de mildiou directement sur les plantes.
- **Apport de feuilles contaminées** : Des feuilles de pommes de terre sont inoculées en laboratoire et introduites dans les parcelles lorsque ces feuilles sont en phase de sporulation. Elles sont placées sur les lignes infectrices des parcelles expérimentales pour favoriser la propagation de l'infection (Figure 5).



Figure 5: Inoculation au champ à partir de folioles présentant des sporulations, puis placée dans un sac plastique afin de favoriser une forte humidité.

Il est essentiel de veiller à ce que l'inoculation n'introduise pas de biais dans l'essai. Les souches doivent être appliquées de manière homogène afin de ne pas favoriser certaines variétés au détriment d'autres. De plus, il convient de prêter une attention particulière aux souches utilisées pour l'inoculation, en s'assurant qu'elles correspondent aux dernières souches présentes en Europe.

6. Observation du mildiou du tubercule

Pour observer les symptômes du mildiou du tubercule, différentes méthodes peuvent être appliquées ; soit une méthode en laboratoire, soit une méthode en salle de lavage

- Méthode en laboratoire
- Méthode en salle de lavage

Une centaine de tubercules représentatifs de ma micro-parcelle expérimentale sont prélevés par variété. Ils sont lavés puis stockés pendant trois semaines à température ambiante dans une pièce humide (p.ex. salle de lavage des pommes de terre).

Un sous-échantillon de 50 tubercules sont attentivement observés. Chaque tubercule suspect est coupé en deux de manière à couper transversalement la zone pressentie comme douteuse. Si le tubercule présente une infection de *Phytophthora infestans*, les symptômes apparaissent

Protocole n°2_Protocole d'évaluation de la résistance variétale de pomme de terre au mildiou du tubercule

comme un anneau de rouille. S'il s'agit d'une fausse suspicion (bactérie, coups, blessure,...), le tubercule coupé est remplacé par un nouveau tubercule de la réserve.

Les observations s'effectuent pendant deux semaines, à quelques jours d'intervalle. Au bout de deux semaines, tous les tubercules réellement infectés sont comptabilisés.

La sensibilité des tubercules à *Phytophthora infestans* (ST) est calculée sur base de la proportion de tubercules infectés.

$$ST = \frac{\text{Nombre de tubercules infectés par } P. \text{ infestans}}{50 \text{ tubercules observés}}$$

Références bibliographiques

- Aylor, D. E., Fry, W. E., Mayton, H., & Andrade-Piedra, J. L. (2001). Quantifying the aerial dissemination of *Phytophthora infestans* sporangia from potato plants. *Phytopathology*, 91(12), 1211–1218. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2001.91.12.1211>
- Aylor, D. E., Taylor, G. S., & Boehm, M. J. (2011). An aerobiological framework for assessing the risk of pathogen movement through the air. *Phytopathology*, 101(6), 614–622. <https://doi.org/10.1094/PHTO-09-10-0252>
- Campbell, C. L., & Madden, L. V. (1990). *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons.
- Drenth, A., Turkensteen, L. J., & Govers, F. (1995). The occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* in the Netherlands; significance and consequences. *European Journal of Plant Pathology*, 101(6), 659–669. <https://doi.org/10.1007/BF01874864>
- Fernández-Pavía, S. P., Grünwald, N. J., Diaz-Valasis, M., Cadena-Hinojosa, M. A., & Fry, W. E. (2004). Genetic structure of *Phytophthora infestans* populations in Mexico. *Phytopathology*, 94(4), 376–382. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2004.94.4.376>
- Forbes, G., Pérez, W., & Andrade Piedra, J. L. (2014). *Field assessment of resistance in potato to Phytophthora infestans: International cooperators guide*. Lima, Pérou : International Potato Center (CIP). ISBN 978-92-9060-440-2.
- Fry, W. E. (1978). Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. *Phytopathology*, 68, 1650–1655.
- Fry, W. E. (2008). *Phytophthora infestans*: The plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 9(3), 385–402. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x>
- Fry, W. E. (2020). *Phytophthora infestans*: New tools (and old ones) lead to new understanding and precision management. *Annual Review of Phytopathology*, 58, 529–556. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-010820-012703>
- Gevens, A. J., & Seidl, A. C. (2013). First report of late blight caused by *Phytophthora infestans* clonal lineage US-23 on tomato and potato in Wisconsin, United States. *Plant Disease*, 97(6), 839.
- Goffart, J.-P., Haverkort, A., Storey, M., Haase, N., Martin, M., Lebrun, P., et al. (2022). Potato Production in Northwestern Europe (Germany, France, the Netherlands, United Kingdom, Belgium): Characteristics, Issues. Challenges and Opportunities. *Potato Research*, 65(3), 503–547. <https://doi.org/10.1007/s11540-021-09535-8>
- Horsfall, J. G., & Barratt, R. W. (1945). An improved grading system for measuring plant disease. *Phytopathology*, 35, 655.

Protocole n°2_Protocole d'évaluation de la résistance variétale de pomme de terre au mildiou du tubercule

Jeger, M. J., & Viljanen-Rollinson, S. L. H. (2001). The use of the area under the disease progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 32–36.

Le Vourch, V., Decroës, A., Thonon, S., Lienard, C., Van Steenberghe, C., Rosillon, D., ... & Legrève, A. (2025). Spatiotemporal dynamics of *Phytophthora infestans* airborne inoculum in Belgium. *European Journal of Plant Pathology*, 171(2), 323–340.

Nechwatal, J., & Zellner, M. (2015). Potential suitability of various leaf treatment products as copper substitutes for the control of late blight (*Phytophthora infestans*) in organic potato farming. *Potato Research*, 58(3), 261–276. <https://doi.org/10.1007/s11540-015-9302-8>

Pellé, R., Bozec, M., Andrivon, D., Soyer, J., & Ellissèche, D. (2005). Méthode d'appréciation du comportement variétal vis-à-vis des bioagresseurs. *Cahier des techniques*, numéro spécial, 73.

Plich, J., & Tatarowska, B. (2017). Field evaluation of potato resistance against *Phytophthora infestans* under natural infection pressure. *Plant Breeding and Seed Science*, 76, 25–28.

Rehman, M., Liu, L., Wang, Q., Saleem, M. H., Bashir, S., Ullah, S., & Peng, D. (2019). Copper environmental toxicology, recent advances, and future outlook: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 18003–18016. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05073-6>

Severns, P. M., Sackett, K. E., Farber, D. H., & Mundt, C. C. (2019). Consequences of long-distance dispersal for epidemic spread: patterns, scaling, and mitigation. *Plant Disease*, 103(2), 177–191. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0505-FE>

Yuen, J. (2021). Pathogens which threaten food security: *Phytophthora infestans*, the potato late blight pathogen. *Food Security*, 13(2), 247–253.