Introductie

De aardappelziekte, veroorzaakt door de oömyceet *Phytophthora infestans*, blijft wereldwijd de meest destructieve ziekte in de aardappelteelt (Pellé et al., 2005). De ziekte kan leiden tot een snelle ontbladering van de planten, aantasting van de stengels, een aanzienlijke opbrengstvermindering en rot van de knollen, wat zowel de kwaliteit als de kwantiteit van de oogst beïnvloedt. De bestrijding ervan berust voornamelijk op herhaalde toepassingen van fungiciden, met gemiddeld 12 tot 15 behandelingen per seizoen in gematigd vochtige klimaten zoals die van Noordwest-Europa, en tot wel 20 toepassingen in bijzonder natte jaren (Goffart et al., 2022). Ook de biologische landbouw steunt nog sterk op het gebruik van koperhoudende fungiciden (Nechwatal & Zellner, 2015), ondanks hun negatieve effecten op bodemmicro-organismen (Rehman et al., 2019). Het gebruik van koper zal echter geleidelijk worden verminderd en mogelijk op middellange termijn verboden worden, vanwege de milieubelasting en toxiciteit voor de bodem. Dit perspectief onderstreept het belang van de ontwikkeling en evaluatie van zogenaamde “robuuste” rassen die resistent zijn tegen de aardappelziekte, om een duurzame bescherming van gewassen te waarborgen in alle landbouwsystemen.

In deze context is het essentieel om robuuste aardappelrassen in het veld te evalueren. Deze evaluatie heeft tot doel het gedrag van de rassen te observeren onder natuurlijke ziektedruk, om zo een betere rassenkeuze te kunnen maken voor teeltsystemen die minder chemische middelen gebruiken.

Er bestaan al verschillende protocollen om de resistentie van rassen tegen de aardappelziekte te beoordelen, waaronder die ontwikkeld door het CIP (https://www.researchgate.net/publication/263426295_Field_assessment_of_resistance_in_potato_to_Phytophthora_infestans_International_cooperators_guide#fullTextFileContent) of INRAE (https://revue-novae.fr/article/download/9024/43337) of in het kader van de opname van aardappelrassen in de Belgische nationale rassenlijst (https://agriculture.wallonie.be/files/20182/21849/Protocole_Pomme%20de%20terre%20Fr_2022.pdf).

Toch was een meer specifieke harmonisatie op grensoverschrijdend niveau nodig om tegemoet te komen aan de noden van de werkgroep over robuuste rassen (bestaande uit CRA-W, FIWAP, Bio Wallonie, Viaverda, Inagro, Bio Hauts-de-France, FREDON Hauts-de-France, BioForum en Chambre d’agriculture du Nord-Pas-de-Calais) die werd opgericht in het kader van het PROROB-project (Interreg Frankrijk-Wallonië-Vlaanderen).

Dit protocol kadert in een samenwerkingsgerichte en transdisciplinaire aanpak, met als doel een gemeenschappelijk kader te bieden voor de uitvoering van veldproeven. Het heeft tot doel :

- De organisatie en opvolging van proeven vergemakkelijken tussen de partners van het microproject (CRA-W, Inagro, Chambre d’Agriculture du Nord–Pas-de-Calais), en op grotere schaal binnen de werkgroep “robuuste aardappelen”.
- De consistentie van de beoordelingen te waarborgen.
- De vergelijkbaarheid en valorisatie van de resultaten op grensoverschrijdend niveau te verbeteren.

1. Phytophthora infestans :

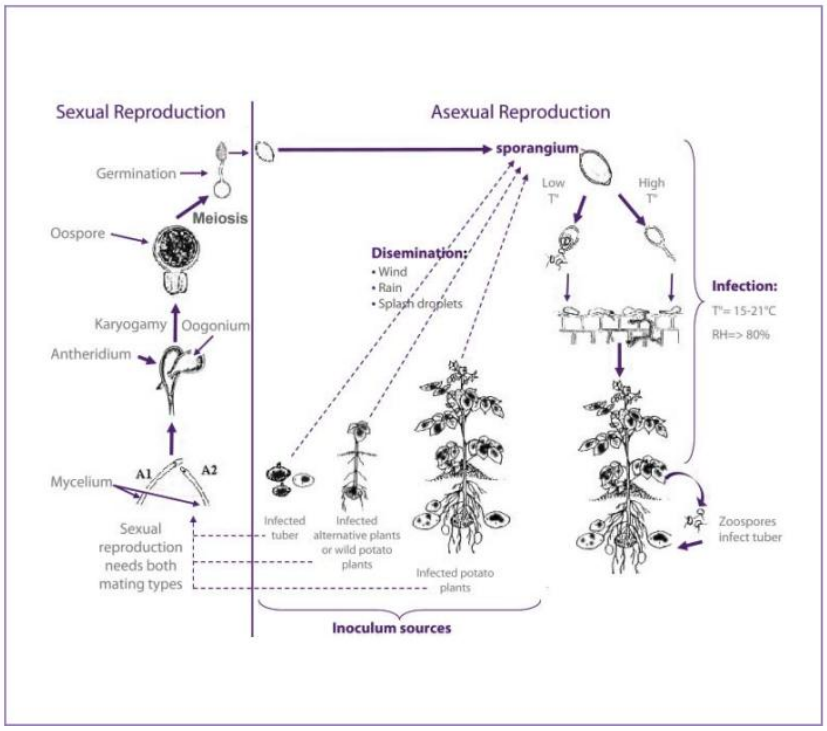
a. Kenmerken van de pathogeen en levenscyclus

Phytophthora infestans is een hemibiotrofe pathogeen met een ontwikkeling in twee fasen. Een biotrofe fase, waarbij levend weefsel wordt gekoloniseerd, en een necrotrofe fase, gekenmerkt door de afbraak van het gekoloniseerde weefsel, wat in korte tijd kan leiden tot de volledige vernietiging van de plant.

Onder gunstige klimatologische omstandigheden — met name een relatieve luchtvochtigheid van meer dan 90% en temperaturen tussen 15 en 22 °C — kan *Phytophthora infestans* meerdere cycli van ongeslachtelijke voortplanting doorlopen (Le Vourch et al., 2025). Het heeft een sterk sporulatiepotentieel, waardoor het zich snel kan verspreiden via sporangia die door de wind worden meegevoerd.(Aylor et al., 2001 ; Fry, 2020). Deze sporangia worden onder vochtige omstandigheden in geïnfecteerd weefsel geproduceerd en vervolgens in de lucht vrijgegeven (Aylor et al., 2001). Ze kunnen minstens 90 meter hoog opstijgen en zich tot 500 meter met de wind mee verplaatsen, en in uitzonderlijke omstandigheden zelfs tot 700 kilometer ver verspreid worden (Aylor et al., 2011 ; Severns et al., 2019).

Nadat ze het weefsel van de waardplant hebben bereikt, kunnen de sporangia mobiele zoösporen vrijgeven of rechtstreeks kiemen na cystevorming. In beide gevallen wordt een kiembuis gevormd die het plantenweefsel binnendringt en de groei van het mycelium op gang brengt (Fry, 2008).

Phytophthora infestans is een heterothallische soort, wat betekent dat voor seksuele voortplanting de aanwezigheid van twee stammen met tegengestelde seksuele types (A1 en A2) vereist is. Dit leidt tot de vorming van oösporen, structuren met een dikke wand die in de bodem kunnen overleven tijdens ongunstige omstandigheden zoals vorst of droogte (Fry, 2020).



Figuur 1: Levenscyclus van Phytophtora infestans (Bron : CIP (2010))

b. Symptomen :

De symptomen variëren naargelang de ouderdom van de laesie, de omgevingsomstandigheden voorafgaand aan de waarneming en het type weefsel dat is aangetast.

- **Op de knollen**

Infectie van de knollen door de aardappelziekte uit zich in onregelmatige, iets ingezonken plekken van verschillende grootte, met een bruine tot paarsachtige kleur aan de oppervlakte. Deze symptomen kunnen bij sommige rassen minder zichtbaar zijn, met name bij rassen met een rode of ruwe schil. Onder de schil, in de verkleurde zones, is droogrot waarneembaar met een roodbruine tot lichtbruine kleur en een korrelige textuur. Deze rot breidt zich doorgaans uit tot minder dan 1,5 cm diep in de knol (Figuur 4) (Forbes et al. 2014).

In het begin blijven de geïnfecteerde knollen stevig, droog en zien ze er gezond uit, maar ze worden vaak gekoloniseerd door andere ziekteverwekkers, voornamelijk bacteriën, wat leidt tot andere vormen van rot. De ernst van deze aantasting varieert naargelang de gevoeligheid van het ras, de temperatuur en de tijd die sinds de infectie is verstreken. In zwaar aangetaste percelen is vaak een sterke, onaangename geur waarneembaar, die vooral te wijten is aan de afbraak van dood weefsel door secundaire micro-organismen, en niet rechtstreeks aan de aardappelziekte zelf (Forbes et al. 2014).



Figuur 2: Symptomen van de aardappelziekte op aardappelstengels

c. Resistentie tegen de aardappelziekte

Bij aardappel zijn twee types resistentie tegen de aardappelziekte beschreven: kwalitatieve resistentie en kwantitatieve resistentie (Rauscher et al., 2010). Kwalitatieve of verticale resistentie berust op resistentiegenen (R-genen) en gaat gepaard met een hypersensitieve reactie die leidt tot celdood, waardoor verdere kolonisatie van het plantenweefsel wordt verhinderd. Kwantitatieve resistentie, ook bekend als horizontale resistentie of veldresistentie, is gebaseerd op meerdere genen die elk een relatief klein effect hebben, maar toch effectief zijn tegen een breed spectrum van *P. infestans*-stammen en stabiel zijn (Brown et Caligari, 2008 ; Sliwka et Zimnoch-Guzowska, 2013).

2. Uitvoering van de proeven ter evaluatie van de resistentie

- Geteste rassen : Alle rassen die opgenomen zijn in de robuuste rassenlijst van het lopende jaar worden getest. De lijst met robuuste rassen is te vinden op de website van elke partner die deel uitmaakt van de werkgroep robuuste aardappelen.

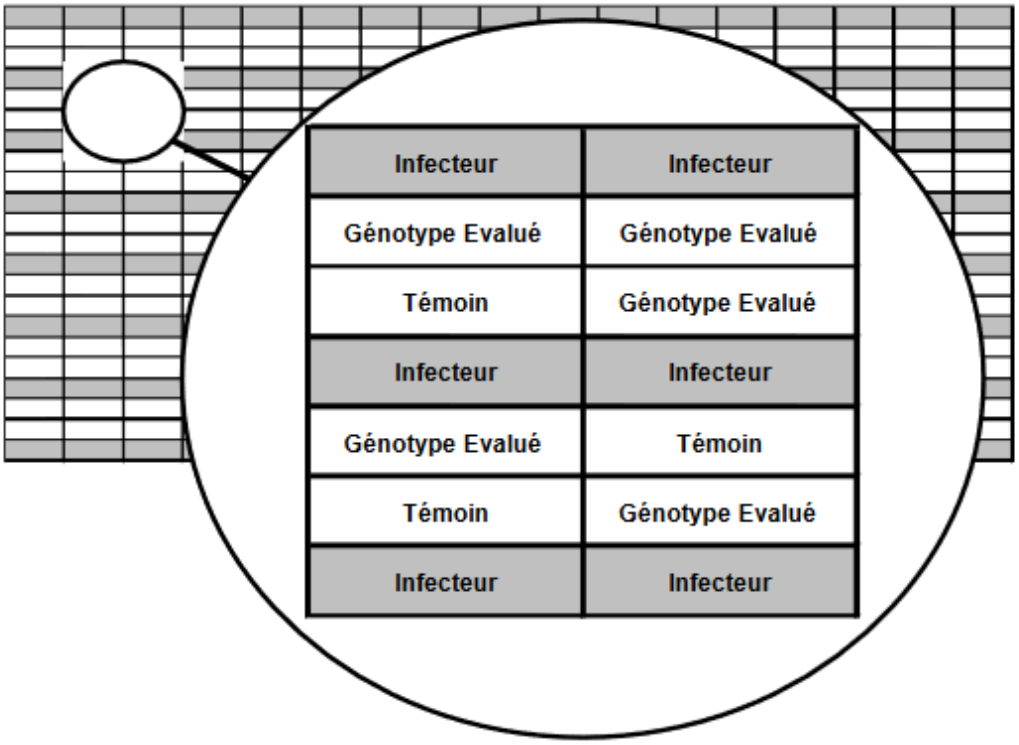
- Referentierassen: Er worden vier referentierassen geselecteerd op basis van hun gevoeligheidsscore voor de aardappelziekte en deze moeten worden opgenomen in de proef,

zeker wanneer de proef op verschillende locaties of tijdstippen wordt uitgevoerd (Forbes et al. 2014). De gevoeligheidsscores van de referentierassen worden in oplopende volgorde gekozen; de rassen hebben bij benadering scores van 2, 5, 7 en 9 (van zeer gevoelig tot resistent). De resistentiescores worden hieronder beschreven (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Bij voorkeur, worden op alle proeflocaties rassen met dezelfde resistentiescores gebruikt. Deze rassen moeten een zekere stabiliteit vertonen in hun reactie op de aardappelziekte en moeten daarom jaarlijks opnieuw worden geëvalueerd om de meest relevante referenties te selecteren.

- Grootte van de percelen: De resistentie tegen de aardappelziekte kan beoordeeld worden in kleine percelen met 25 tot 30 planten.

- Agronomisch beheer: Bemesting, onkruidbestrijding, plaagbeheersing en alle andere landbouwactiviteiten moeten uniform worden uitgevoerd voor alle percelen binnen de proef en in overeenstemming zijn met de lokale praktijken in de biologische landbouw. Om de ontwikkeling van de aardappelziekte te bevorderen, wordt de proef uitgevoerd zonder toepassing van fungiciden, ook niet die op basis van koper.

- Experimentele opzet: De rassen moeten worden geëvalueerd in een proef met herhalingen, waarbij 3 tot 4 herhalingen worden gebruikt. De resistentie tegen de aardappelziekte kan worden beoordeeld met behulp van alle klassieke proefopzetten, zoals een volledig gerandomiseerd ontwerp of een gerandomiseerd blokkenplan (Forbes et al. 2014). De proefplot worden aan beide zijden begrensd door rijen met een gevoelig ras, zoals Bintje, Vitelotte, Agria, enz. (Figuur 4 en 5). Elke herhaling kan bestaan uit 2, 3 of 4 rijen, afhankelijk van de beschikbare oppervlakte.



Figuur 3: Voorbeeld van een experimentele opstelling (Pellé et al., 2005)



Figuur 4 : Rijen van het gevoelige ras Vitelotte aan de rand van de proef en tussen elk proefplot (Proefperceel van Gembloux, 21/07/2021).

De rijen van het gevoelige ras kunnen bepaalde experimentele vertekeningen veroorzaken. Bijvoorbeeld als het ras dat wordt gebruikt zeer gevoelig is voor aardappelziekte, dan kan er een grote hoeveelheid sporangia worden geproduceerd. Daardoor wordt de infectiedruk kunstmatig verhoogd op de aangrenzende percelen. Dit kan de indruk wekken dat de aangrenzende rassen gevoeliger zijn dan ze in werkelijkheid zijn.

Om deze vertekening te beperken, kan men tussen elke testrij planten met een infectie plaatsen. Zo worden alle rassen op een uniforme manier blootgesteld aan het inoculum. Deze methode verdubbelt echter de omvang van de proefopstelling, wat logistieke beperkingen met zich mee kan brengen. Een meer gebalanceerde aanpak bestaat erin ervoor te zorgen dat elke variëteit in de nabijheid van minstens één rij van een gevoelig ras geplaatst wordt. Zo wordt een vergelijkbare blootstelling gegarandeerd, terwijl de omvang van de proef beheersbaar blijft.

3. Karakterisering van de lokale klimaatomstandigheden

De lokale klimaatomstandigheden worden gekarakteriseerd op basis van gegevens die verzameld zijn door een weerstation dat rechtstreeks op het proefveld is geïnstalleerd, of bij gebrek daaraan, op basis van informatie van het dichtstbijzijnde referentiestation. Gegevens over temperatuur, relatieve luchtvochtigheid en neerslag zijn essentieel om de resultaten met betrekking tot de ontwikkeling van aardappelziekte te interpreteren.

4. Karakterisering van de aanwezige stammen van *Phytophthora infestans*

Het is ook interessant om de aanwezige stammen van *Phytophthora infestans* (verwekker van aardappelziekte) op het perceel te karakteriseren. Deze karakterisering kan gebeuren met behulp van de tools en middelen die beschikbaar zijn via het EuroBlight-netwerk, om de genetische diversiteit en virulentie van de aanwezige stammen te identificeren.

5. Beheer van klimaatomstandigheden om infectie met aardappelziekte te bevorderen binnen het kader van de proef

Bij een klimaat dat ongunstig is voor de ontwikkeling van aardappelziekte, moeten verschillende maatregelen worden genomen om de aanwezigheid van infectie te bevorderen en een adequaat infectieniveau in het proefperceel te behouden. Deze acties zijn erop gericht om omstandigheden te creëren die gunstig zijn voor de ontwikkeling van de ziekte, zodat de resultaten van de proef betrouwbaar geïnterpreteerd kunnen worden.

a. Vochtigheid

Om een omgeving te creëren die gunstig is voor de ontwikkeling van de aardappelziekte, is het essentieel om een constante vochtigheid in het proefperceel te behouden. Afhankelijk van de beschikbare middelen kan dit gerealiseerd worden via verneveling (het creëren van een waternevel met vernevelaars) of via irrigatie, op voorwaarde dat deze goed gecontroleerd wordt om plaatselijke wateroverlast te vermijden.

Verneveling is bijzonder effectief om een hoge vochtigheid aan het oppervlak van de planten te behouden, zonder de bodem te verzadigen, en onderscheidt zich dus duidelijk van klassieke irrigatie, waarbij in korte tijd een grote hoeveelheid water wordt toegediend. Bij hoge temperaturen wordt aanbevolen om laat te irrigeren (aan het einde van de dag of 's avonds), om verdamping te beperken en de vochtigheid 's nachts te behouden, een periode die gunstig is voor infectie met aardappelziekte.

b. Inoculatie

Inoculatie bestaat uit het opzettelijk introduceren van stammen van de aardappelziekte om infecties in de proefpercelen te bevorderen.

Er kunnen verschillende inoculatiemethoden worden gebruikt:

- **Verneveling van stammen**: deze methode bestaat uit het rechtstreeks vernevelen van aardappelziekte-stammen op de planten.
- **Toevoeging van besmette bladeren**: Aardappelbladeren worden in het laboratorium geïnfecteerd en in het proefperceel ingebracht zodra ze zich in de sporulatiefase bevinden. Ze worden geplaatst op de infectielijnen van de proefpercelen om de verspreiding van de infectie te bevorderen. (*Figure 5*)



Figuur 5: Inoculatie in het veld met bladeren die sporulatie vertonen, vervolgens in een plastic zak geplaatst om een hoge luchtvochtigheid te bevorderen.

Het is van essentieel belang ervoor te zorgen dat de inoculatie geen vertekening in de proef veroorzaakt. De stammen moeten op homogene wijze worden toegepast, zodat bepaalde rassen niet ten koste van andere worden bevoordeeld. Bovendien moet bijzondere aandacht worden besteed aan de voor de inoculatie gebruikte stammen, waarbij ervoor moet worden gezorgd dat deze overeenkomen met de meest recente stammen die in Europa voorkomen.

6. Observatie van aardappelziekte op knollen

Om de symptomen van aardappelziekte op knollen waar te nemen, kunnen verschillende methoden worden toegepast; een methode in het laboratorium, een methode in de wasruimte.

- Methode in het laboratorium
- Methode in de wasruimte

Per ras worden ongeveer honderd knollen genomen die representatief zijn voor het experimentele microperceel. Ze worden gewassen en vervolgens gedurende drie weken bij kamertemperatuur opgeslagen in een vochtige ruimte (bijvoorbeeld de wasruimte voor aardappelen).

Een substeekproef van 50 knollen wordt zorgvuldig geobserveerd. Elke verdachte knol wordt in tweeën gesneden, zodat het vermoedelijk aangetaste gebied dwars wordt doorgesneden. Als de knol een infectie met *Phytophthora infestans* vertoont, verschijnen de symptomen als een roestkleurige ring. Indien het om een valse verdenking gaat (bacterie, stootplekken, verwonding, ...), wordt de doorgesneden knol vervangen door een nieuwe knol uit de reserve.

De observaties worden gedurende twee weken uitgevoerd, met enkele dagen tussen de waarnemingen. Na twee weken worden alle knollen die daadwerkelijk geïnfecteerd zijn geteld.

De gevoeligheid van de knollen voor *Phytophthora infestans* (GK) wordt berekend op basis van het aandeel geïnfecteerde knollen.

$$GK = \frac{\text{aantal knollen geïnfecteerd door } P.infestans}{50 \text{ geobserveerde knollen}}$$

Bibliografie

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/PHYTO.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/PHYTO-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/PHYTO.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 Northwest-ern 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.

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 Steenberge, 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.