

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا للعلوم الفلاحية الحراش - الجزائر

Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) El-Harrach-Alger



Thèse de Doctorat

Présenté et soutenu par :

BENINAL Lyes

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Sciences Agronomiques

Département : Botanique et Phytopathologie

Spécialité : Phytopathologie, Biotechnologie appliquée à la protection des végétaux

Thème

Diversité phénotypique et génotypique de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary dans différentes étages bioclimatiques d'Algérie et évaluation de la résistance de quelques variétés de pomme de terre.

Devant le Jury composé de :

M. KHELIFI Lakhdar	Président	Professeur (ENSA) El Harrach (Alger)
M. BOUZNAD Zouaoui	Directeur de thèse	Professeur (ENSA) El Harrach Alger)
Mme. MESSGO-MOUMENE Saida	Examinatrice	Maitre de conférences (USDB) Soumaa (Blida)
M. BENCHABANE Messaoud	Examineur	Professeur (USDB) Soumaa (Blida)
M. SETTI Benali	Examineur	Professeur (UHBC) (Chlef)
Mme. BOUREGHDA Houda	Examineur	Professeur (ENSA) El Harrach (Alger)

Année universitaire : 2022-2023

AVANT PROPOS

Cette thèse rentre dans le cadre de l'obtention du diplôme de Docteur en Sciences Agronomiques, en Phytopathologie et Biotechnologie appliquée à la protection des végétaux. Elle présente les activités de recherche entrepris depuis 2012 sur les populations algériennes de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, agent causal du mildiou de la pomme de terre et de la tomate. Elle est rédigée et déposée à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) d'El Harrach à Alger pour soutenance.

Cette étude se veut être une contribution pour mettre en relief la connaissance des populations de *P. infestans* à travers la biologie de cet agent pathogène, la diversité phénotypique et génotypique, la structuration génétique et la réponse de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard de ce bio-agresseur est essentielle pour élaborer une stratégie de lutte contre le mildiou en Algérie. Elle a été financée par le projet PoH-MED (*PotatoHealth Managed for Efficiency and Durability*) pour la période 2012-2016 dans le cadre du réseau ERA-Net ARIMNet (*Agricultural Research in the Mediterranean Area*) (subvention numéro KBBE 219262).

Je tiens à remercier toutes mes collaborateurs qui ont travaillé avec moi pour la publication de l'article et sans que ce document n'aurait jamais pu voir le jour : Bouznad Z. Andrivon D. Corbière R. Belkhiter S. Runno-Paurson E. Keddad A. Taoutaou A. Mabon R.

Ces travaux de recherche ont été effectués au laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire de l'ENSA et au laboratoire central du Centre National de Contrôle et Certification des Semences et Plants (CNCC) ainsi qu'à l'Institut National de la Recherche Agronomique de Rennes (INRAE) en France. Ces recherches ont données lieu à la rédaction d'un article publié dans la revue *Plant Pathology* et à des communications internationales et nationales.



DEDICACES

Je dédie ce travail à :

- Mes parents qui ont sacrifié leur temps et leur bien être pour que j'arrive là où je suis aujourd'hui.
- Ma très chère épouse que je la remercie pour son assistance, sa patience et son aide permanente : que dieu la préserve
- Mes très chers enfants Asmaa-Romaisa, Slimane, Fifi-Ahlem et Anfel-Meriam

BENINAL Lyes

REMERCIEMENTS

Avant toutes choses, il est opportun de commencer ce document par des remerciements à ceux et celles qui m'ont beaucoup appris lors de mon cursus universitaire à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach (ENSA) et durant mon passage au Département de Botanique et de Phytopathologie de l'ENSA. A ceux également qui ont eu la gentillesse de faire de ces longues années passées au Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire des moments très enrichissants et très profitables où j'ai pu acquérir une expérience professionnelle et une maturité scientifique. Ce travail n'aurait pas pu aboutir sans le soutien scientifique et technique de nos respectueux enseignants. Merci pour les connaissances et les compétences que j'ai pu acquérir à vos côtés.

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'examiner et juger mon travail de thèse :

- M. L. KHELIFI, professeur à l'ENSA d'El Harrach (Alger), qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury ;
- Mmes. S. MESSGO-MOUMENE, maître de conférences à l'USDB de Soumaa (Blida) ;
- Mmes. H. BOUREGHDA, professeur à l'ENSA d'El Harrach (Alger) ;
- M. M. BENCHABANE, professeur à l'USDB de Soumaa (Blida) ;
- M. B. SETTI professeur à l'UHBC (Chlef).

Mon passage au Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire m'a permis de rencontrer M. Z. BOUZNAD, professeur à l'ENSA qui a accepté de collaborer avec moi en me proposant un mémoire sur le *Botrytis* de la fève (*Botrytis fabae* Sardiña), une thèse de Magister et un doctorat portant sur le mildiou de la pomme de terre en Algérie. Je tenais tout d'abord à vous remercier pour la sympathie, la patience dont vous avez fait preuve au cours de notre collaboration et lors de la rédaction de l'article et de cette thèse. Je vous remercie pour m'avoir formé et prodigué les connaissances que j'ai aujourd'hui. Merci aussi pour la grande confiance que vous m'avez accordée tout au long de ces années passées ensemble. C'est grâce à votre soutien, vos critiques, vos commentaires, votre aide que j'ai pu surmonter beaucoup d'obstacles dans la réalisation pra-

tique de mes travaux de recherche. J'ai un énorme respect pour vous pas seulement en tant que professeur mais aussi en tant que personne.

Je dois ce que je suis, au respectable M. A. KEDDAD, je lui exprime mes chaleureux remerciements pour son aide, sa disponibilité toujours renouvelée, pour la très grande rigueur scientifique qu'il inspire, pour sa gentillesse, pour ses précieux conseils et ses orientations qui m'ont été d'un apport considérable pour la réalisation de ce travail. Merci également pour vos corrections lors de la rédaction de l'article et de la thèse. Je lui exprime mes sincères remerciements et mes respectueuses gratitude pour son précieux temps qu'il a fourni pour la lecture et la structuration scientifique de cette thèse. La qualité, le respect et la valeur personnelle qu'il inspire me tente de suivre son exemple au quotidien.

Je ne remercierai jamais assez M. D. ANDRIVON, Directeur de recherche à l'INRAE, centre de Rennes, UMR, IGEPP, Le Rheu, France, pour l'aide que vous m'avez apportée. C'est grâce à vous qu'une longue et fructueuse collaboration entre l'INRAE de France et l'ENSA a vu le jour.

Mes remerciements vont également à Mme. R. CORBIÈRE chercheur à l'INRAE, centre de Rennes, UMR, IGEPP, Le Rheu, France, pour sa contribution et pour l'aide précieuse qu'elle m'a apportée tout au long de ce travail, je lui exprime toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire UMR, IGEPP de l'INRAE, centre de Rennes, France pour leur coopération. Je tiens à remercier plus particulièrement M. R. MABON qui a génotypé avec succès les populations algériennes de *Phytophthora infestans* ainsi que M. M. EL MOKHFI de l'ENSV El Harrach et D. HAREK de l'INRAA pour leur contribution concernant l'analyse génétique des populations de *Phytophthora infestans*.

Tous mes remerciements vont également pour Mme. F. AMIROUCHE, Secrétaire Générale de l'ITCMI et M. M. KHEDDEM, ex Directeur Général du CNCC et à Mme. Z. MELLAH, Directrice Générale du CNCC pour leur collaboration et leur participation quant à la réalisation des essais variétaux au niveau des stations expérimentales de Staoueli et de Bab Ezzouar. Je tiens à remercier M. B. QUERE de la Fédération Française des Producteurs de Pomme de terre (FN3PT) pour nous avoir fourni la plupart des tubercules de semence des différents cultivars et M. R. Pellé et M. J.E. Chauvin de l'INRAE France pour leurs conseils concernant la conception des dispositifs expérimentaux des essais variétaux.

J'exprime mes remerciements aussi à M. H. SCHEPERS et à M. R. WUSTMAN de l'université de Wageningen (Pays Bas), à M. J. ROLOT, à Mme. C. BEDARD du Centre Wallon de Re-

cherche Agronomique (Belgique) et à M. P. MEIRMANS de l'université d'Amsterdam (Pays Bas) pour leurs précieuses aides et leurs généreux conseils.

Mes remerciements s'adressent également M. A. TAOUTAOU, Maître de conférences à l'ENSA d'El Harrach, Mme. S. BELKHITER, enseignante chercheur à l'USDB de Blida et à Mme. E. RUNNO-PAURSON, enseignante chercheur à l'EULS, de l'institut de l'agriculture et de l'environnement, Tartu, Estonie pour leurs contributions dans la structuration de l'article.

Mes remerciements s'adressent à la défunte Mme. LOUANCHI, professeure à l'ENSA d'El Harrach, qui nous a quitté à jamais pour un monde meilleur, que Dieu le tout puissant lui accorde sa sainte miséricorde et l'accueille en son vaste paradis. Je n'oublierai jamais ces cours, ces échanges très agréables avec moi, ces prises de position ainsi que son sourire et sa joie de vivre qui restent pour moi les seuls souvenirs.

PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

I. PUBLICATIONS DANS DES REVUES INTERNATIONALES

1. **BENINAL, L., BOUZNAD, Z., CORBIÈRE, R., BELKHITER, S., MABON, R., TAOUTAOU, A., KEDDAD, A., RUNNO-PAURSON, E. & ANDRIVON D. 2022. Distribution of major clonal lineages EU_13_A2, EU_2_A1, and EU_23_A1 of *Phytophthora infestans* associated with potato late blight across crop seasons and regions in Algeria. *Plant Pathology* **71** (2): 458-469.**
2. **BELKHITER, S., BENINAL, L., KHEDIDJI, H., KRIMI, A. & BOUZNAD, Z. 2019. Aggressiveness and host adaptation of some Algerian *Phytophthora infestans* clonal lineages on potato and tomato. *Pakistan Journal of Phytopathology* **31** (2): 147-154.**
3. **MESSGO-MOUMEN, S., BOUKHALFA, R., BELAIDI, D., BENINAL, L., HADDADJ-HAMDI, S. & BELLATRECHE, M. 2017. *In vitro* antifungal activity of different plant extracts against *Phytophthora infestans* the causal of potato late blight. *Tunisian Journal of Plant Protection* **12** (2): 19-33.**

II. COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

1. **BENINAL, L., CORBIÈRE, R., KEDDAD, A., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2009. Le mildiou de la pomme de terre : présence du type A2 et résistance au métalaxyl et virulence des isolats. 7^{ème} journée scientifique et technique phytosanitaire, le 15-16 Décembre 2008, INPV d'El Harrach, Algérie.**
2. **CORBIÈRE, R., REKAD, F.Z., GLAIS, I., BENINAL, L., KEDDAD, A., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2012. Phenotypic and genetic diversity among *Phytophthora infestans* populations from potato and tomato in Algeria. *Plant Protection for the Quality and Safety of the Mediterranean Diet*. International Mediterranean Phytopathological Union (MPU) Workshop : 24-26 October 2012, Bari, Italy.**
3. **BENINAL, L., CORBIÈRE, R., BELKHITER, S., MABON, R., KEDDAD, A., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2017. Caractérisation phénotypique et génotypique de la population algérienne de *Phytophthora infestans* agent du mildiou de la pomme de**

terre. 1^{ères} Journées Scientifiques de Phytopathologie et Biologie Moléculaire (JPBM), 19 Décembre 2017, ENSA, El Harrach, Algérie.

4. TAOUTAOU, A., CHEMMAM, K., RIDA, S., KHELIFI, L., **BENINAL, L.** & BOUZNAD, Z. 2019. **Effect of gene pyramiding on the response of potato to infection by *Phytophthora infestans* in a compatible interaction.** 18th International Conference Life Sciences for Sustainable Development. September 26-28, 2019, Cluj-Napoca, Romania.
5. **BENINAL, L.,** BOUZNAD, Z., CORBIÈRE, R., BELKHITER, S., MABON, R., TAOUTAOU, M., KEDDAD, A., RUNNO-PAURSON, E. & ANDRIVON, D. 2022. **Distribution des principales lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1, et EU_23_A1 de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary associés au mildiou de la pomme de terre selon les types de cultures et les régions en Algérie.** 2^{èmes} Journées Scientifiques de Phytopathologie et Biologie Moléculaire (JPBM), 26 et 27 juin 2022, ENSA, El Harrach, Algérie.

III. POSTERS

1. **BENINAL, L.,** CORBIÈRE, R., KEDDAD, A., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2009. **A2 mating type, metalaxyl resistance and complex virulence profiles: common features in some *Phytophthora infestans* isolates from Algeria.** Pp. 237-241. *Proceeding of the Eleventh Euroblight Workshop, 28-31 October 2008, Hamar, Norway. PPO Special Report 13.*
2. CORBIÈRE, R., **BENINAL, L.,** BELKHITER, S., MABON, R., MARIETTE, N., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2015. **Does the Algerian *Phytophthora* population show genotypic structuration on potato and tomato?** Pp. 155-168. *Proceeding of the Eleventh Euroblight Workshop, 13-15 May 2015, Brasov, Romania. PPO Special Report 17.*
3. CORBIÈRE, R., BELKHITER, S., **BENINAL, L.,** MABON, R., MARIETTE, N., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2015. **Adaptation à l'hôte chez *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre et de la tomate.** *Journées de Jean Chevaugeron (JJC). Rencontres de Phytopathologie-Mycologie, 25-29 Janvier, 2016, Aussois, France.*
4. **BENINAL, L.,** AMIROUCHE, F., KHEDIDJI, H., KRIMI, A., CORBIÈRE, R., MABON, R., KEDDAD, A., KHEDDAM, M., ANDRIVON, D. & BOUZNAD Z. 2017. **Assessment of potato varieties for foliar late blight resistance in Algerian field trials, in relation to *Phytophthora infestans* genotype.** *Proceeding of the Eleventh Euroblight Workshop, 13-15 May 2017, Aarhus, France.*

5. **BENINAL, L.**, AMIROUCHE, F., KHEDIDJI, H., KRIMI, A., CORBIÈRE, R., MABON, R., KEDDAD, A., KHEDDAM, M., ANDRIVON, D. & BOUZNAD Z. 2017. **Foliar late blight resistance of potato varieties in Algerian field trials, in relation to *Phytophthora infestans* genotypes.** 20th EAPR Triennials Conference July, 9-14, 2017, Paris, France.
6. BELKHITER, S., KHEDIDJI, H., KRIMI, A., **BENINAL, L.** & BOUZNAD, Z. 2021. **Evaluation de l'agressivité et la virulence de quelques génotypes de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary agent du mildiou sur la tomate en conditions *in vitro*.** Séminaire International sur les Sciences Naturelles et de la Vie en ligne (webinaire), organisé par International Journal of Human Settlements le 19 et 20 Février 2021.

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Cycle de développement de la pomme de terre.....	10
Figure 2	Caractéristiques morphologiques et biologiques de l'espèce <i>P. infestans</i>	15
Figure 3	Symptomatologie du mildiou de la pomme de terre en plein champ.....	17
Figure 4	Cycle du mildiou de la pomme de terre et de la tomate causé par <i>P. infestans</i>	17
Figure 5	Carte d'Algérie montrant les différents étages bioclimatiques et les sites d'échantillonnage du mildiou.....	29
Figure 6	Isolement et purification des isolats de <i>P. infestans</i>	31
Figure 7	Prélèvement des échantillons d'ADN de <i>P. infestans</i> à l'aide des cartes FTA.....	32
Figure 8	Agressivité des isolats de <i>P. infestans</i> sur folioles détachées de pomme de terre.....	36
Figure 9	Dispositif aléatoire de Fisher à 3 blocs utilisé dans les deux essais.....	42
Figure 10	Proportions de A1 et de A2 par types de culture.....	47
Figure 11	Fréquences des lignées clonales présentant des phénotypes résistants et sensibles au métalaxyl par wilaya et par année.....	48
Figure 12	Pourcentages moyens d'inhibition de la croissance mycélienne des Lignées clonales sous l'effet des deux doses de métalaxyl 10 et 100 mg/l.....	48
Figure 13	Comportement <i>in vitro</i> de trois isolats 15 P51, 15 P44 et 14 P03 appartenant respectivement aux lignées clonales EU_23_A1, EU_13_A2 et EU_2_A1 à l'égard des deux doses de métalaxyl (10 et 100 mg/l).....	49
Figure 14	Comportement des lignées clonales de <i>P. infestans</i> à différentes températures	50
Figure 15	Comportement <i>in vitro</i> de l'isolat 14 P30 de la lignée EU_13_A2 à l'égard de cinq températures (10°C, 15°C, 20°C, 25°C et 30°C).....	50
Figure 16	Folioles de deux cultivars de pomme de terre Spunta et Désirée présentant des lésions nécrotiques après inoculation artificielle par l'isolat 14 P03 appartenant à la lignée clonale EU_2_A1	51
Figure 17	Taille moyenne des lésions nécrotiques(en mm ²) des trois lignées clonales sur les deux cultivars Spunta et Désirée.....	53

Figure 18	L'intensité de la sporulation (spores/ml) des trois lignées clonales sur les deux cultivars Spunta et Désirée.....	53
Figure 19	Evolution et distribution des lignées clonales de <i>P. infestans</i> par année et par site géographique.....	57
Figure 20	Arbre phylogénique représentant la distance génétique de la population algérienne de <i>P. infestans</i> par région et par MLLs.....	60
Figure 21	Analyse en composantes principales (ACP) pour l'ensemble des isolats (n = 206), regroupés en trois MLLs : EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1.....	61
Figure 22	Diagrammes indiquant la probabilité d'assignation des microsatellites basée sur l'analyse de la structure génétique pour l'ensemble des données regroupées par MLLs selon la valeur de <i>K</i>	62
Figure 23	Evolution des pourcentages moyens d'attaque de chaque cultivar en fonction du temps dans les deux sites d'essai en 2015 et en 2016.....	67
Figure 24	Evolution des valeurs de l'AUDPCr dans les deux sites d'essai en 2015 et en 2016.....	71
Figure 25	Courbes des valeurs ajustées de l'AUDPC par transformation logarithmique des deux sites expérimentaux en 2015 et en 2016.....	71
Figure 26	Matrice de corrélation des valeurs de la DTP des cultivars en fonction des valeurs de l'AUDPCr.....	73

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1	Superficies, productions et rendements des dix premiers pays producteurs de pomme de terre.....	6
TABLEAU 2	Evolution des superficies, de la production et des rendements de pomme de terre en Algérie durant la période comprise entre 2011 et 2020.....	7
TABLEAU 3	Agents causaux des maladies de la pomme de terre.....	12
TABLEAU 4	Etages et sous étages bioclimatiques de quelques wilayas productrices de pomme de terre en Algérie.....	29
TABLEAU 5	Régions, wilayas et nombre d'isolats de <i>P. infestans</i> et de cartes FTA des échantillons collectés entre 2010-2016 et 2015-2016 dans les champs de pomme de terre.....	30
TABLEAU 6	Lignées clonales des isolats de <i>P. infestans</i> utilisés dans les tests <i>in vitro</i> de la résistance au métalaxyl et de la réponse à l'égard d'une gamme de températures.....	34
TABLEAU 7	Lignées clonales des isolats de <i>P. infestans</i> utilisés dans le test d'agressivité sur folioles détachées de pomme de terre.....	36
TABLEAU 8	Séquences nucléotidiques des marqueurs : SSRs et fluorescents.....	38
TABLEAU 9	Origines, obtenteurs et sites d'essai des cultivars de pomme de terre.....	43
TABLEAU 10	Dates de la plantation, de l'apparition des feuilles et des symptômes et de la récolte en 2015 et en 2016.....	43
TABLEAU 11	Echelle descriptive pour l'estimation du mildiou de la pomme de terre.....	44
TABLEAU 12	Types de résistances au mildiou des cultivars testés en fonction de <i>Aa</i> et <i>At</i>	44
TABLEAU 13	Fréquences des types de compatibilité sexuelle A1 et A2 par région et par wilaya.....	46
TABLEAU 14	Test de Chi deux des proportions des types A1 et A2 par région.....	47
TABLEAU 15	Test du Chi deux des proportions de A1 et de A2 par types de culture.....	47
TABLEAU 16	Analyse de la variance de l'effet des deux doses de métalaxyl sur la croissance mycélienne des isolats selon les lignées clonales et les régions.....	49

TABLEAU 17	Classement des moyennes de la croissance mycélienne des trois lignées clonales selon le test de Tukey.....	50
TABLEAU 18	Analyse de la variance de l'effet température sur la croissance mycélienne des lignées clonales de <i>P. infestans</i>	51
TABLEAU 19	Classement des valeurs moyennes des composantes de l'agressivité des trois lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 sur les deux cultivars Spunta et Désirée.....	52
TABLEAU 20	Richesse allélique, fréquence allélique, nombre effectif d'allèles, hétérozygotie moyenne attendue et hétérozygotie totale par locus.....	56
TABLEAU 21	Nombre d'individus, richesse allélique, fréquence allélique, nombre effectif d'allèles, nombre d'allèles privés, hétérozygotie moyenne attendue et hétérozygotie totale par région géographique	56
TABLEAU 22	Indice de différenciation (F_{st}) par région et par lignée clonale.....	58
TABLEAU 23	Analyse de la variance à deux facteurs (<i>Permanova</i>) pour l'ensemble des données ($n = 206$) et pour une paire de variables.....	59
TABLEAU 24	Nombre d'individus, nombre total et effectif des génotypes, diversité génotypique et indice corrigé de Shanon-Weiner par MLLs (EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1) et par région géographique.....	59
TABLEAU 25	Analyse moléculaire de la variance (<i>Amova</i>) pour l'ensemble des isolats ($n = 206$) selon les régions géographiques et les MLLs.....	60
TABLEAU 26	Fréquence d'occurrence des principaux MLGs et nombre des réplicats (supérieur à 10) par wilaya.....	62
TABLEAU 27	Evolution des pourcentages moyens de la sévérité du mildiou observés à différentes dates sur les cultivars testés en 2015 au niveau des deux sites d'essai.....	66
TABLEAU 28	Evolution des pourcentages moyens de la sévérité du mildiou observés à différentes dates sur les cultivars testés en 2016 au niveau des deux sites d'essai.....	67
TABLEAU 29	Analyse de la variance à deux facteurs pour les pourcentages de la surface foliaire attaquée en fonction du site d'essai et de l'année d'expérimentation.....	68
TABLEAU 30	Valeurs de l'AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie), de l'AUDPC relative (AUDPCr) et des paramètres liés aux types de résistance pour les cultivars testés.....	70

TABLEAU 31 Analyse de la variance multivariée des valeurs de l’AUDPCr en fonction du type de résistance du cultivar, du site d’essai et de l’année d’expérimentation.....	72
TABLEAU 32 Rendements moyens (q/ha) et DTP (kg/jour/ha) des cultivars testés obtenus dans les deux sites d’essais et durant les deux années d’expérimentation 2015 et 2016.....	73
TABLEAU 33 Analyse de la variance à un facteur pour les valeurs du DTP obtenues en 2015 et 2016.....	73

LISTE DES ABBREVIATIONS

A1	Type de compatibilité sexuel A1
A2	Type de compatibilité sexuel A2
ACP	Analyse en Composante Principale
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNmt	ADN mitochondriale
ADNr	ADN ribosomique
A_e	Nombre effectif d'allèles
AFLP	Amplified Fragment Length Polyphormism
a_i	Pente
AMOVA	Analyse de la variance moléculaire
ANOVA	Analyse de la variance
a_r	Pente du témoin sensible
A_r	Nombre total d'allèles
ARN	Acide ribonucléique
AUDPC	Area Under the Disease Progress Curve
AUDPCr	Area Under the Disease Progress Curve relative
χ^2	Test de Chi deux
CNCC	Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants
$cox2$	Cyclo-oxygénase 2
DDL	Degré de liberté
Div	Diversité génotypique
DPC	Disease Progress Curve
DTP	Production quotidienne moyenne de tubercules
E	Elite
ENSA	Ecole Nationale Supérieure Agronomique
$F_{crit.}$	F critique
F_{st}	Indice de différenciation génétique
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FTA	Whatman Flinders Technology Associates
H_s	Hétérozygotie calculée

HSD	Test de Tukey
<i>Ht</i>	Hétérozygotie attendue
HZPC	Holland Zapp Potato Chips
INRAA	Institut National de la Recherche Agronomique Algérie
INRAE	Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement
ITCMI	Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles
JO	Journal Officiel
<i>K</i>	Nombre de groupe génétique
lnP(D)	Probabilité postérieure des données
LSA	LSA Seed potatoes
LSU	Large Sub-Unit
MADR	Ministère de l'Agriculture et du développement Rural
MC	Moyenne des carrés
MCMC	Chain de Markov Monte Carlo
MLG	Multilocus Genotype
MLGe	Nombre effectif de génotypes
MLGt	Nombre total de génotypes
MLL	Multilocus lineage
ns	Non significative
<i>P</i>	Probabilité
<i>Pa</i>	Nombre d'allèles privés
Pb	Paire de base
PCR	Polymérase Chain Réaction
PoH MED	Potato Health Managed for Efficiency and Durability
PPA	Petits Pois Agar
QTL	Quantitative Trait Locus
<i>R</i>	Gène de résistance
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
S	Sensible
SAGRODEV	Société Agro Développement spa
SAR	Stramenopile Alveolate Rhizaria
SC	Somme des carrés
SCE	Somme Carré des Ecart
SE	Super Elite

<i>Shc.</i>	Indice corrigé de Shanon-Weiner
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
RNS	Résistance non spécifique
RS	Résistance spécifique
RS+RNS	Résistance Spécifique + Résistance Non Spécifique
SSR	Simple Sequence Repeats
SSU	Small Sub-Unit
SYRPALAC	Système de Régulation des Produits Agricoles de Large Consommation
<i>test-t</i>	Test de corrélation de Pearson
Var	Variable
V8	Milieu de culture V8
UE	Union Européenne
USA	United States of Amérique
US	United States
x	Nombre chromosomique
Δa	La différence entre les pentes du témoin et du cultivar testé
Δt	La différence en termes de jours entre la date de la première infection du cultivar et celle du témoin sensible

LISTE DES UNITES DE MESURE

°C	Degré Celsius
cm	Centimètre
g	Gramme
ha	Hectare
hab.	Habitant
j	Jour
Kg	Kilogramme
l	Litre
Log	Logarithme décimal
μ g	Microgramme
μ l	Microlitre
μ M	Micromole
mg	Milligramme
ml	Millilitre
mm	Millimètre
ng	Nanogramme
q	Quintaux

S O M M A I R E

DEDICACES

AVANT PROPOS

REMERCIEMENTS

PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES UNITES DE MESURE

I. INTRODUCTION GENERALE.....1

II. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....5

II.1. LA POMME DE TERRE, PLANTE HOTE DU *PHYTOPHTHORA INFESTANS*....5

II.1.1. La culture de la pomme de terre dans le monde5

II.1.2. La culture de la pomme de terre en Algérie.....6

II.1.2.1. Production de la pomme de terre.....6

II.1.2.2. Types de culture de la pomme de terre.....7

II.1.2.3. Importation des semences de pomme de terre.....8

II.1.2.4. Cultivars de pomme de terre homologués en Algérie9

II.1.3. Caractéristiques botaniques et agronomiques de la pomme de terre9

II.1.4. Cycle de développement de la pomme de terre.....10

II.1.5. Contraintes abiotiques et biotiques de la culture de la pomme de terre.....11

II.2. L'AGENT CAUSAL DU MILDIOU DE LA POMME

DE TERRE : *P. INFESTANS*.....13

II.2.1. Origine et importance de l'agent causal du mildiou de la pomme de terre13

II.2.2. Nomenclature et position taxonomique de l'espèce *P. infestans*14

II.2.2.1. Nomenclature.....14

II.2.2.2. Position taxonomique.....14

II.2.3. Caractéristiques morphologiques et biologiques de l'espèce *P. infestans*.....14

II.2.4. Symptômes causés par *P. infestans* sur la pomme de terre16

II.2.5. Quelques données biologiques et épidémiologiques de *P. infestans*.....16

II.3. CARACTERISATION DES POPULATIONS DE <i>P. INFESTANS</i>	18
II.3.1. Marqueurs phénotypiques	19
II.3.1.1. Types de compatibilité sexuelle A1 et A2.....	19
II.3.1.2. Résistance des isolats de <i>P. infestans</i> aux phénylamides	19
II.3.1.3. Profil de virulence des isolats de <i>P. infestans</i>	20
II.3.1.4. Agressivité des isolats	20
II.3.1.5. Sensibilité des isolats à l'égard d'une gamme de températures.....	21
II.3.2. Marqueurs moléculaires.....	21
II.4. MIGRATION DES POPULATIONS DE <i>P. INFESTANS</i>	22
II.5. DIVERSITE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS DE <i>P. INFESTANS</i>	23
II.6. STRATEGIES DE LUTTE CONTRE LE MILDIOU	
DE LAPOMME DE TERRE	24
II.6.1. Lutte culturale	24
II.6.2. Lutte génétique	24
II.6.2.1. Résistance spécifique.....	24
II.6.2.2. Résistance non spécifique.....	25
II.6.3. Lutte chimique.....	25
II.6.4. Lutte biologique.....	26
III. MATERIEL ET METHODES	28
PARTIE 1 : Evolution spatiale et temporelle des principales lignées clonales de <i>P. infestans</i> associées à la pomme de terre selon les types de culture et les étages bioclimatiques en Algérie	
III.1. MATERIEL	28
III.1.1. Prospection et récolte des plants de pomme de terre malades avec les symptômes du mildiou	28
III.1.2. Milieux de culture utilisés	29
III.1.3. Cartes FTA pour le prélèvement des échantillons d'ADN	
De <i>P. infestans</i>	30
III.2. METHODES	30
III.2.1. Isolement et purification des isolats de <i>P. infestans</i>	30
III.2.2. Conservation des isolats.....	32
III.2.3. Prélèvements des échantillons d'ADN de <i>P. infestans</i> à l'aide des cartes FTA.....	32
III.2.4. Caractérisation phénotypique des isolats de <i>P. infestans</i>	33

III.2.4.1. Types de compatibilité sexuelle des isolats de <i>P. infestans</i>	33
III.2.4.2. Résistance <i>in vitro</i> des isolats de <i>P. infestans</i> au métalaxyl.....	33
III.2.4.3. Réponse <i>in vitro</i> des isolats de <i>P. infestans</i> à l'égard d'une gamme de températures	35
III.2.4.4. Agressivité des isolats de <i>P. infestans</i> sur folioles détachées	35
III.2.4.5. Analyse statistique	35
III.2.5. Caractérisation génotypique des isolats de <i>P. infestans</i> par les marqueurs SSRs ...	37
III.2.5.1. Marqueurs microsatellites SSRs utilisés	37
III.2.5.2. Purification de l'ADN des cartes FTA.....	37
III.2.5.3. Extraction et quantification de l'ADN des isolats de <i>P. infestans</i>	37
III.2.5.4. Génotypage par les marqueurs SSRs	37
III.2.5.5. Analyse statistique des données SSRs.....	39
PARTIE II : Comportement de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard des lignées clonales de <i>P. infestans</i>.	
III.3. MATERIEL	40
III.3.1. Stations d'étude et cultivars utilisés.....	40
III.4. METHODES	40
III.4.1. Dispositif expérimental et conduite des essais en plein champ.....	40
III.4.2. Estimation de la sévérité de la maladie.....	41
III.4.3. Evaluation de la progression du mildiou.....	41
III.4.4. Détermination du type de résistance des cultivars testés.....	43
III.4.5. Estimation du rendement.....	44
III.4.6. Analyse statistique.....	45
IV. RESULTATS ET DISCUSSION	46
IV.1. DIVERSITE PHENOTYPIQUE DES POPULATIONS DE <i>P. INFESTANS</i>	46
IV.1.1. Compatibilité sexuelle des isolats	46
IV.1.2. Résistance <i>in vitro</i> des isolats de <i>P. infestans</i> au métalaxyl.....	48
IV.1.3. Croissance mycélienne des isolats sous l'effet d'une gamme de températures.....	50
IV.1.4. Agressivité des isolats de <i>P. infestans</i> sur folioles détachées.....	51
IV.1.5. Discussion	53
IV.2. DIVERSITE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS DE <i>P. INFESTANS</i>	55
IV.2.1. Polymorphisme des loci microsatellites	55
IV.2.2. Distribution géographique et temporelle des lignées clonales de <i>P. infestans</i>	55

IV.2.3. Structure génétique et géographique des MLLs et des MLGs (sous population).....	61
IV.2.4. Discussion	62
IV.3. COMPORTEMENT <i>IN SITU</i>DES CULTIVARS DE POMME DE TERRE A	
L'EGARD DU MILDIOU.....	65
IV.3.1. Estimation de la sévérité de la maladie	66
IV.3.2. Evaluation de la progression de la maladie.....	68
IV.3.3. Détermination des types de résistance des cultivars testés	69
IV.3.4. Evaluation du rendement.....	69
IV.3.5. Discussion.....	72
V. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	76
VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	79
ANNEXES	
RESUMES	

I. INTRODUCTION GENERALE

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est considérée au niveau mondial, comme la première culture non céréalière en termes de production après le blé, le riz et le maïs. En effet, sur une superficie de plus 16 millions d'hectares, la production de la pomme de terre est estimée à plus de 359 millions de tonnes au niveau de 150 pays (FAOSTAT, 2020).

En Algérie, la pomme de terre est consommée en frais ou après transformation industrielle (frites surgelés, chips, etc.). Sa valeur énergétique élevée comparée à d'autres aliments, a fait de ce féculent un produit recherché sur le marché. En Algérie, la consommation de la pomme de terre s'élève à 100 kg par habitant et par an (MADR, 2018).

La superficie totale réservée à cette spéculation en Algérie est estimée à 149 465 ha pour les cultures de saison, d'arrière-saison et de primeur alors que la production annuelle s'élève à 4 659 482 tonnes, soit un rendement moyen de 311,74 q/ha (FAOSTAT, 2020). Pour subvenir à une demande sans cesse croissante de ce féculent, les pouvoirs publics ont intensifié des mesures de soutien aux agriculteurs multiplicateurs dans divers domaines. Parmi ces mesures on peut citer : la disponibilité des intrants agricoles, le système de régulation des produits à large consommation (SYRPALAC) qui a donné aux producteurs plus de visibilité sur le marché et qui a permis de préserver leurs revenus.

En Algérie, la pomme de terre semble bien s'adapter aux différents environnements et étages bioclimatiques. Elle est, de ce fait, cultivée dans presque toutes les régions agricoles du pays. Cependant, les zones les plus importantes sont celles où les potentialités en terre et en eau sont disponibles comme, par exemple, les régions situées dans le nord de l'Algérie (Aïn Defla, Bouira, Chlef, Mascara, Mostaganem, Relizane, Guelma et Skikda). La culture de la pomme de terre sous pivot a également pris de l'ampleur dans les régions sahariennes d'El Oued et d'El Meniaa situées respectivement au sud-est et au sud-ouest de l'Algérie.

La pomme de terre est la cible de plusieurs bio-agresseurs tels que les champignons, les virus, les bactéries, les nématodes et les insectes. Le mildiou causé par l'oomycète *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary représente l'une des maladies la plus dévastatrice et constitue une menace majeure pour les cultures de pomme de terre dans le monde. Les baisses de rendements des cultures de pomme de terre causées par cette maladie varient entre 20 et 50% et peuvent aller jusqu'à

la perte totale de la récolte dans le cas d'attaques sévères sur des variétés sensibles (Zwankhuizen, 1998). En Algérie, ces pertes de rendement semblent plus importantes dans les régions du Nord à climat subhumide et semi-aride en raison des conditions favorables au développement du mildiou (Beninal *et al.*, 2009 ; Corbière *et al.*, 2010). Plusieurs facteurs, telles que les conditions environnementales, la diversité génétique de l'agent pathogène, l'utilisation de cultivars de pomme de terre sensibles et l'absence de stratégies adéquates de la gestion de cette maladie, assurent la perpétuation et le développement épidémique du mildiou (Taleb-Hossenkhan et Ibrahim, 2015).

Pendant longtemps, l'espèce *P. infestans* a été considérée comme un "champignon". Les données ultra structurales, biochimiques et moléculaires ont cependant confirmé que les membres du phylum *Oomycota* auquel appartient cette espèce sont beaucoup plus apparentés aux algues photosynthétiques hétérocontées qu'aux vrais champignons, même s'ils partagent avec ces derniers un mode de croissance mycélien (Roetschi, 2001). Depuis, les *Oomycota* sont classés dans le règne *Straminipila* (Dick, 2001) [= *Chromista* (Cavalier-Smith, 1993)] qui fait partie du super-règne SAR (= **S**tramenopile/**A**lveolate/**R**hizaria) (Burkiet *et al.*, 2007; Beakes et Thines, 2016)

P. infestans est un pathogène hétérothallique, avec deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2 qui ont coexisté depuis longtemps au Mexique (Smoot *et al.*, 1958 ; Galindo et Gallegly, 1960 ; Brasier, 1992 ; Fry, 2008). La présence de ces deux types permet à cette espèce de se reproduire sexuellement en générant des oospores (Fry et Goodwin, 1997). Avant 1980, la population dans le reste du monde de l'agent pathogène était asexuée et constituée uniquement par le génotype du type A1. A la fin des années 1980, le type A2 a été introduit en Europe à la suite d'importations de pomme de terre en provenance du Mexique (Fry *et al.*, 1993). En Algérie, le type A2 a été signalé en 2008 sur des isolats présentant un profil de virulence complexe et une résistance au métalaxyl (Beninal *et al.*, 2009).

Actuellement, la reproduction sexuée du *P. infestans* est devenue très fréquente, ce qui entraîne un risque de variation génotypique plus important dans les populations de cette espèce. En effet, la présence des deux types A1 et A2 au même endroit et au même moment permet la reproduction sexuée qui peut générer une plus grande diversité génétique au sein des populations de *P. infestans*. C'est ainsi que ces populations ont récemment subi des changements génétiques rapides dus à des croisements entre génotypes. De par le monde, ces croisements qui ont favorisé l'apparition de nouveaux génotypes dans toutes les zones de culture de la pomme de terre, pourraient rendre la lutte contre le mildiou encore plus difficile (Yuen et Andersson, 2013 ; Dey *et al.*, 2018). La connaissance détaillée de la structure génétique des populations de *P. infestans* est essentielle pour élaborer des stratégies de lutte durables contre cet agent pathogène.

Le génotypage des populations de *P. infestans* a progressé lorsque les marqueurs microsatellites SSR ("Simple Sequence Repeat") ont été développés (Cooke et Lees, 2004 ; Lees et *al.*, 2006). Grâce à ces nouveaux outils, l'étude de la diversité génétique des populations de *P. infestans* est devenue aujourd'hui possible. C'est ainsi qu'en Europe, la lignée clonale EU_13_A2 a été détectée pour la première fois en 2004 (Cooke et *al.*, 2012 ; Chmielarz et *al.*, 2014 ; Mariette et *al.*, 2016). En Asie, cette lignée clonale a également été trouvée sur les cultures de pomme de terre et de tomate où elle cause des pertes importantes en raison de sa pathogénicité et de sa résistance au métalaxyl (Li et *al.*, 2013 ; Chowdappa et *al.*, 2015). En Algérie, la caractérisation génétique reste encore peu documentée malgré la détermination entre 2007 et 2014 des lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 génotypées par des marqueurs SSR (Corbière et *al.*, 2015 ; Rekad et *al.*, 2017). Ces caractérisations restent cependant insuffisantes, car elles ne couvrent pas toutes les zones de production de la pomme de terre en Algérie ainsi que les épidémies les plus récentes du mildiou de la pomme de terre.

Etant donné que la plupart des variétés de pomme de terre sont sensibles au mildiou, certains cultivars de pomme de terre montrent actuellement un niveau élevé de résistance à l'égard du mildiou comme, par exemple, Sarpo Mira, Vilnia, Aista, Kuras, Voyager, Cicéro, Vivaldi, Derby et Toluca (Razukas et *al.*, 2007 ; White et Shaw, 2010 ; Corbière et *al.*, 2010 ; Runno-Paurson et *al.*, 2019). L'application répétée de fongicides a un impact négatif dont notamment la sélection de souches résistantes de *P. infestans* (Gisi et Cohen, 1996 ; Cooke et *al.*, 2011 ; Runno-Paurson et *al.*, 2013). Des stratégies alternatives de lutte contre cette maladie sont cependant efficaces pour réduire à la fois les pertes de rendement et les effets secondaires négatifs des fongicides sur l'environnement et la santé humaine (Flier et *al.*, 2003). En Algérie, la lutte chimique demeure le seul moyen de contrôle utilisé contre le mildiou de la pomme de terre et de la tomate.

La sélection génétique, comme l'utilisation de cultivars de pomme de terre résistants au mildiou, reste un moyen alternatif de contrôle des populations de *P. infestans*. Onze gènes de résistance au mildiou (*R1* à *R11*) ont été identifiés chez une solanacée spontanée, *Solanum demissum* Lindl., originaire du Mexique et apparentée à la pomme de terre. D'autres espèces spontanées comme, par exemple, *S. tuberosum* subsp. *andigena* (Juz. & Buk.) Hawkes, *S. bulbocastanum* Dunal, *S. berthaultii* Hawkes, *S. nigrum* L., *S. microdontum* Bitter, etc. constituent également une source de gènes de résistance dont certains ont été incorporés dans des cultivars de pomme de terre (Nowicki et *al.*, 2012).

OBJECTIFS DE LA THESE

Afin de mieux comprendre le pathosystème pomme de terre/*P. infestans* en Algérie, les travaux

présentés dans cette thèse ont porté sur deux parties :

- **PARTIE I** : Evolution spatiale et temporelle des principales lignées clonales de *P. infestans* associées à la pomme de terre selon les types saisonniers de culture et les étages bioclimatiques en Algérie. Cette partie a porté sur les aspects suivants :
 - Le suivi spatio-temporel des populations de *P. infestans* sur les cultures de saison et d'arrière-saison de la pomme de terre et leur évolution au cours des années dans différentes régions (ouest, est et centre) et étages bioclimatiques de l'Algérie. Pour cela, des prospections ont été réalisées durant la période de 2010-2016 à travers les principales régions productrices de pomme de terre pour constituer une collection de *P. infestans* sous forme d'isolats vivants ou d'ADN sur des cartes FTA.
 - La caractérisation phénotypique des génotypes identifiés de *P. infestans* dans le but de déterminer le type de compatibilité sexuelle, d'étudier *in vitro* leur résistance au métalaxyl et leur croissance mycélienne sous l'effet d'une gamme de température (10°C, 15°C, 20°C, 25°C et 30°C) et d'évaluer les composantes de l'agressivité des génotypes identifiés (périodes de latence et d'incubation, taille des lésions et intensité de la sporulation),
 - La caractérisation génotypique des isolats de *P. infestans* collectés dans les principales zones de production de la pomme de terre avec un ensemble de 17 marqueurs SSRs standardisés en vue d'identifier les génotypes de *P. infestans* existant en Algérie et de connaître le comportement des cultivars de pomme par rapport à ces génotypes.
 - L'étude de la variation du génotype et du phénotype des isolats de *P. infestans* collectés en Algérie durant la période 2010 à 2016 en fonction de la région et des types de cultures.
- **PARTIE II** : Comportement de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard des lignées clonales de *P. infestans*. Cette partie comporte les aspects suivants :
 - L'évaluation du comportement en plein champ de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard du mildiou dans le but de déterminer les types de résistance de ces cultivars par l'estimation de la sévérité et de l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC).
 - La quantification des types de résistance foliaire de treize cultivars de pomme de terre au champ et l'évaluation de leur réponse vis-à-vis des lignées clonales de *P. infestans in situ* par l'établissement de la corrélation entre l'étendue des dégâts occasionnés par la maladie et la production journalière des tubercules de pomme de terre.

II. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est originaire des hauts plateaux andins en Amérique du Sud (Hawkes, 1990). Elle a été cultivée pour la première fois près de la frontière actuelle entre le Pérou et la Bolivie il y a environ 10 000 ans (Stevenson et al., 2001). Le Pérou, la Bolivie, l'Equateur et le Mexique représentent les centres de biodiversité de la pomme de terre (Rousselle et al., 1996). Initialement, l'espèce *S. tuberosum* a été introduite vers les années 1570 en Espagne et dans les îles Britanniques par les conquistadors à leur retour d'Amérique (Brown, 1993). A partir de l'Espagne, elle a gagné timidement l'Italie et les états pontificaux, puis le sud de la France et l'Allemagne. Ce n'est que vers les XVII^{ème} et XVIII^{ème} siècles que sa culture et sa consommation se développèrent malgré les préjugés et les superstitions qui lui étaient attachés. Par la suite, elle est devenue l'une des plantes alimentaires la plus importante dans le monde. A la fin du XX^{ème} siècle, sa culture s'est étendue à presque tous les pays du globe. En Algérie, elle a été probablement introduite, pour la première fois, au XVI^{ème} siècle par les maures andalous, puis elle est tombée dans l'oubli jusqu'à l'arrivée des colons français qui l'ont réintroduite vers 1856 (Méziane, 1991).

II.1. LA POMME DE TERRE, PLANTE HÔTE DU *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

La pomme de terre représente un nutriment très énergétique vu sa richesse en hydrate de carbone (principalement de l'amidon), en vitamines (B1, B3 et B6) et en minéraux (K, P et Mg) (Tollessa, 2018). Elle constitue une source à la fois d'alimentation et de revenus et est capable de modifier considérablement la sécurité alimentaire des pays en raison de sa productivité élevée par unité de surface comparativement aux autres cultures. Elle est communément produite pour son tubercule qui est une tige modifiée souterraine. Au cours de ces trois dernières décennies, la pomme de terre a acquis une place importante dans le modèle de consommation à côté du blé et du lait. En effet, la consommation moyenne de pomme de terre s'élève à 80 kg/hab./an (FAOSTAT, 2020).

II.1.1. La culture de la pomme de terre dans le monde

La pomme de terre occupe le quatrième rang mondial parmi les espèces cultivées après le riz, le blé et le maïs. Elle se classe au premier rang parmi les cultures qui produisent des racines et des tubercules suivie par le manioc, la patate douce et l'igname (FAOSTAT, 2020). La superficie

mondiale annuelle réservée à la pomme de terre est d'environ 16 494 810 ha donnant une production de 359 071 403 tonnes et un rendement moyen de 217,69 q/ha (FAOSTAT, 2020). En Afrique, la production totale de la pomme de terre est d'environ 26 229 159 tonnes sur une superficie de 1 737 174 ha. Dans le monde, la Chine représente le premier pays producteur de pomme de terre avec une production de 78 236 596 tonnes suivie par l'Inde et l'Ukraine qui produisent respectivement 51 300 000 et 20 837 990 tonnes (Tableau 1).

TABLEAU 1. Superficies, productions et rendements des dix premiers pays producteurs de pomme de terre (FAOSTAT, 2020).

PAYS	SUPERFICIES (ha)	PRODUCTIONS (tonnes)	RENDEMENTS (q/ha)
1. Chine	4 218 188	78 236 596	185,47
2. Inde	2 158 000	51 300 000	237,72
3. Ukraine	1 325 200	20 837 990	157,24
4. Fédération de Russie	1 178 098	19 607 361	166,43
5. États Unis d'Amérique	369 930	18 789 970	507,93
6. Allemagne	273 500	11 715 100	428,34
7. Bangladesh	461 351	9 606 000	208,21
8. France	214 500	8 691 900	405,22
9. Pologne	225 740	7 848 600	345,68
10. Pays-Bas	164 500	7 020 060	426,75

II.1.2. La culture de la pomme de terre en Algérie

En Algérie, la pomme de terre affiche des indicateurs très révélateurs comme la consommation par habitant (100 kg/hab./an), les emplois qu'elle procure (plus de 40 000), le volume de production qu'elle génère chaque année et sa valeur marchande qui est estimée à plus de 223 millions de dinars. Ceci place cette spéculation dans une position hautement stratégique pour les pouvoirs publics (MADR, 2018).

II.1.2.1. Production de la pomme de terre

Au cours de la période 2011-2020, les superficies réservées à la culture de la pomme de terre sont passées de 131 903 ha en 2011 à 149 465 ha en 2020 donnant une production respective de 3 862 194 et 4 659 482 tonnes alors que les rendements se sont élevés respectivement à 292,81 et 311,74 q/ha (FAOSTAT, 2020) (Tableau 2). Ce niveau de production de la pomme de terre fait que l'Algérie occupe le deuxième et le dix-huitième rang respectivement au niveau africain et mondial.

TABLEAU 2. Evolution des superficies, de la production et des rendements de pomme de terre en Algérie durant la période comprise entre 2011 et 2020 (FAOSTAT, 2020).

ANNEES	SUPERFICIES (ha)	PRODUCTIONS (Tonnes)	RENDEMENTS (q/ha)
2011	131 903	3 862 194	292,81
2012	138 666	4 219 476	304,29
2013	161 156	4 886 538	303,22
2014	156 176	4 673 516	299,25
2015	153 313	4 539 577	296,10
2016	156 176	4 782 690	306,19
2017	148 822	4 606 402	309,52
2018	149 669	4 653 322	310,92
2018	149 669	4 653 322	310,92
2019	164 864	5 020 249	318,01
2020	149 469	4 659 482	311,74

II.1.2.2. Types de culture de la pomme de terre

Contrairement aux pays septentrionaux où la pomme de terre est cultivée durant une seule saison de culture (s'étendant entre avril et août), en Algérie et dans d'autres pays notamment ceux situés sur la rive sud de la mer Méditerranée, sa culture dure pratiquement toute l'année, à l'exception des mois de mai et juin (Amrar, 2005). Dans ces zones, les périodes de plantation s'étalent durant l'année comme suit :

- de janvier au début d'avril pour la culture de saison,
- de juillet à septembre pour la culture d'arrière-saison,
- d'octobre à décembre pour la culture de primeur.

En Algérie, la pomme de terre est cultivée sur tout le territoire, y compris dans les wilayas du sud (El Oued et El Meniaa) où elle est devenue une spéculation majeure dans ces régions. La courte période de croissance de la pomme de terre et son adaptation à la diversité des agro écosystèmes algériens lui confère la possibilité de trois récoltes par an. En effet, on distingue, en Algérie, trois types de culture de la pomme de terre selon la date de plantation et les zones de culture :

- **La culture de primeur** : Cette culture occupe une place mineure par rapport à l'ensemble de la production avec une superficie de moins de 5 000 hectares. Elle est surtout pratiquée dans les zones littorales qui se caractérisent par des températures douces et par l'absence de gel. Pour ce type de culture, la plantation a lieu en novembre et la récolte en janvier.

- **La culture de saison** : Cette culture occupe la première place tant par les superficies (80 000 ha environ) que par la production (MADR, 2018). Elle est pratiquée dans toutes les wilayas productrices de pomme de terre (El Oued, Mascara, Tlemcen, Tiaret, Mostaganem, Chlef, Aïn Defla, Tipaza, Alger, Boumerdès, Bouira, Tizi Ouzou, Skikda, Guelma, Sétif, Mila et Batna). La mise en place de ce type de culture se réalise en janvier dans les zones du littoral, en février-mars dans les zones de plaines intérieures et uniquement en mars-avril au niveau des hauts plateaux où la récolte se fait en mai-juin.
- **La culture d'arrière-saison** : Cette culture se pratique dans les zones à forte potentialité d'irrigation avec des semences de pomme de terre produites localement. Elle occupe la seconde place après la culture de saison avec une superficie d'environ 64 000 ha. La mise en place de ce type de culture se réalise durant la période du mois de juillet jusqu'au mois de septembre.

II.1.2.3. Importation des semences de pomme de terre

Les importations des semences de pomme de terre touchent essentiellement deux catégories ou classes [super élite (SE) et élite (E)] qui sont orientées exclusivement vers le programme national de multiplication de semences de pomme de terre. Ces importations couvrent, généralement, 30% des besoins en semences des cultures de saison. Pour ce qui est des cultures d'arrière-saison et de primeur, les besoins en semences sont assurés entièrement par la production nationale (Ammar, 2005).

L'Algérie importe chaque année en moyenne 100 000 tonnes de semences de pomme de terre. Cette quantité est livrée par dix-neuf états fournisseurs, parmi lesquels se détachent cinq pays européens : Pays-Bas, France, Danemark, Belgique et Ecosse. Les Pays-Bas constituent le premier fournisseur de semences de pomme de terre pour l'Algérie avec 58% des achats, suivi par la France et le Danemark avec respectivement 16% et 13% des importations.

Les semences importées couvrent, en général 80% des besoins des cultures de saison et les 20% restants sont couvertes par la production nationale. Pour ce qui est des cultures d'arrière-saison, les besoins en semences sont assurés entièrement par la production nationale (MADR, 2018). En ce qui concerne les cultures de primeur, la production est destinée exclusivement à la pomme de terre de consommation.

Pour renforcer la production nationale de semences de pomme de terre, le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR) a mis en place un programme de consolidation

de la pyramide de multiplication de la semence de pomme de terre pour cinq variétés (Spunta, Atlas, Désirée, Kondor et Bartina). Ce programme intègre les structures suivantes :

- Les laboratoires de l’ITCMI, de l’INRAA et de la SAGRODEV pour la production des vitro-plants et des plants de pomme de terre de première génération (G0),
- Les fermes pilotes agréées pour la multiplication des catégories pré-bases (G1 et G2),
- Les établissements producteurs privés agréés pour la multiplication des catégories bases (SE et E) et certifiées (A et B).

II.1.2.4. Cultivars de pomme de terre homologués en Algérie

On dénombre 195 cultivars de pomme de terre homologués en Algérie. Ces cultivars sont répartis en deux groupes : ceux qui sont à peau blanche et ceux qui ont une peau rouge (J.O. n° 59 du 08 octobre 2018). Les cultivars les plus multipliés en Algérie sont :

- Cultivars à peau rouge : Désirée, Kondor, Bartina, Kuroda, Evolution, Rudolph, Rodeo, Amorosa et Sarpo Mira.
- Cultivars à peau blanche : Spunta, Arizona, Atlas, Timate, Fabula, Ultra, Liseta, Florice, Safrane, Evrest, Escort, Alaska, Ditta et Arinda.

II.1.3. Caractéristiques botaniques et agronomiques de la pomme de terre

L’espèce *Solanum tuberosum* L. appartient à l’ordre *Solanales* et à la famille *Solanaceae* qui regroupe 2 500 espèces dont plusieurs sont cultivées comme, par exemple, la pomme de terre, la tomate (*S. lycopersicum* L.), l’aubergine (*S. melongena* L.), le tabac (*Nicotiana tabacum* L.), le piment (*Capsicum annuum* L.) et le pétunia (*Petunia x hybrida* Vilm.) (Soltner, 2005).

Le niveau de ploïdie du genre *Solanum* L. peut aller de la diploïdie à l’hexaploïdie (nombre chromosomique de base $x = 12$). Comme la plupart des espèces tubéreuses cultivées, *S. tuberosum* est tétraploïde ($2n = 4x = 48$). Par contre, les espèces spontanées sont souvent diploïdes ($2n = 2x = 24$) (Swiontek, 2003).

La pomme de terre est cultivée pour ses tubercules qui sont des organes de réserve et de multiplication riches en substances majoritairement glucidiques (principalement de l’amidon). Les tubercules sont, du point de vue anatomique, des tiges modifiées, aux entre-nœuds courts et épaissis et dont les bourgeons vont donner naissance à des germes (Rousselle et *al.*, 1996).

Du point de vue agronomique, la pomme de terre est une culture aussi productive que le maïs ou le blé en matière sèche à l’hectare. Elle représente un rapport calorie/protéine analogue à celui des céréales (Messiaen, 1981). L’optimum thermique de cette espèce est de 25°C (Reckhaus,

1997). Sa culture qui est exigeante en matière de sarclage, nécessite un sol meuble, non creux et sans grosses mottes. Le buttage est nécessaire pour favoriser la formation des racines et des tubercules.

II.1.4. Cycle de développement de la pomme de terre

Le cycle de développement de la pomme de terre dure trois à quatre mois depuis la plantation jusqu'à la sénescence (Deumier et *al.*, 2004). Ce cycle comporte six phases : germination, levée, tubérisation, grossissement des tubercules, arrêt de la croissance et sénescence (Ellissèche, 1996) (Fig.1) :

- **Germination** : Durant cette phase, les germes issus du tubercule-mère s'allongent lentement et se ramifient latéralement traduisant ainsi une perte progressive de la dominance apicale. Au cours de la germination, la plante est dépendante des réserves du tubercule-mère.
- **Levée** : Les germes poursuivent leur croissance en devenant des tiges feuillées, ce qui rend la plante autotrophe. Les bourgeons de ces derniers produisent des rameaux tandis que les bourgeons souterrains donnent naissance à des stolons et à des racines.

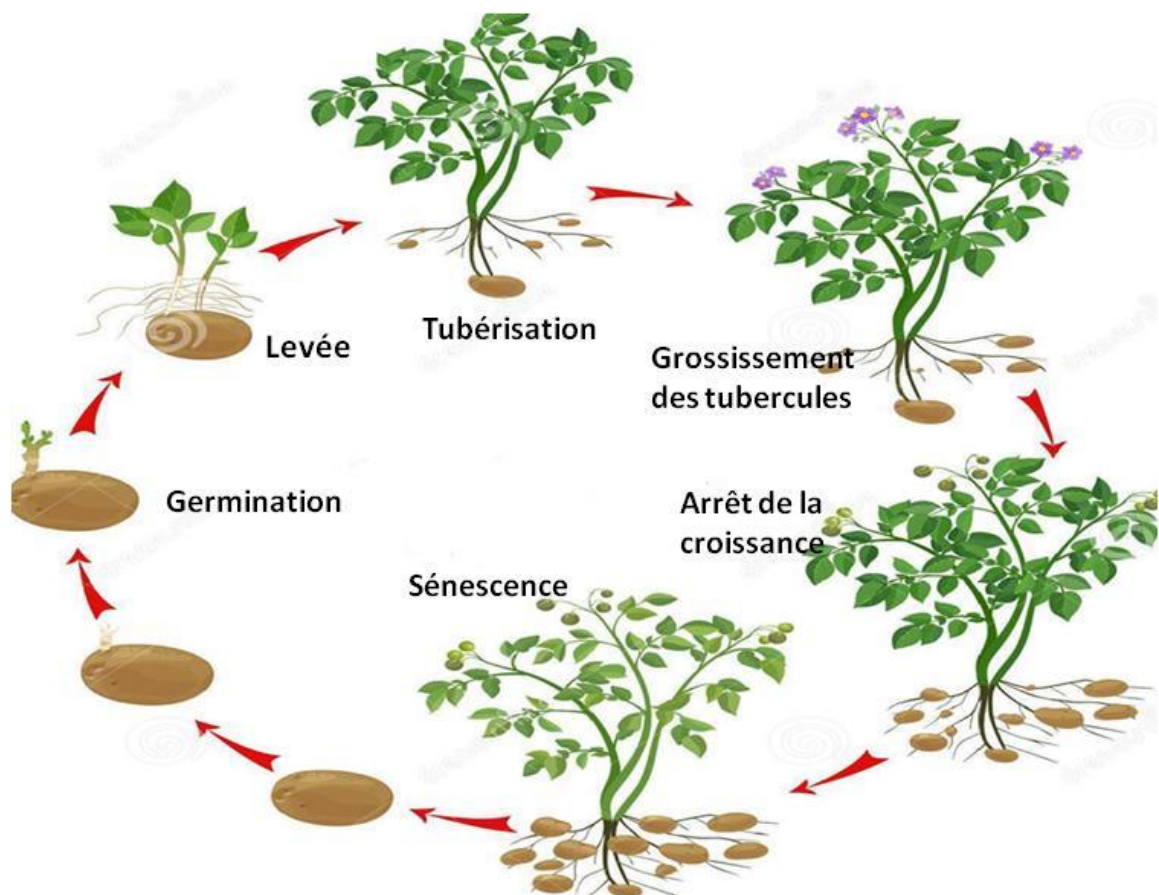


Figure 1. Cycle de développement de la pomme de terre (d'après Ellissèche, 1996).

- **Tubérisation** : La durée de cette phase varie selon la variété utilisée et les conditions environnementales. Durant cette phase, les stolons cessent de s’allonger et forment à leurs extrémités de petits renflements correspondant aux ébauches des tubercules.
- **Grossissement des tubercules** : Durant cette phase les cellules des tubercules augmentent de volume et accumulent dans leur cytoplasme de l’eau et des grains d’amidon. Au cours de cette phase, la croissance aérienne de la plante diminue.
- **Arrêt de la croissance** : Au cours de cette phase, les parties aériennes de la plante cessent de croître alors que le grossissement des tubercules se poursuit.
- **Sénescence (= maturation des tubercules)** : Cette phase se traduit par un jaunissement du feuillage suivi d’un dessèchement total du système aérien et le grossissement total des tubercules.

II.1.5. Contraintes abiotiques et biotiques de la culture de la pomme de terre

Les cultures de pomme de terre sont confrontées à plusieurs contraintes abiotiques et/ou biotiques. Les contraintes abiotiques sont principalement causées par les accidents climatiques (grêle, froid, chaleur, etc.) et certains troubles physiologiques comme le manque d’oxygène entraînant le cœur noir des tubercules, l’enroulement physiologique des feuilles et les déficiences minérales (magnésium, potassium, bore, etc.) (Kaur et Mukerji, 2004). Les contraintes biotiques sont principalement dues aux agents phytopathogènes (Tableau 3) et aux ravageurs. Plusieurs agents phytopathogènes (champignons, oomycètes, bactéries, virus, viroïdes, phytoplasmes et nématodes) sont fréquents sur la pomme de terre.

Plusieurs agents fongiques responsables de diverses maladies comme, par exemple, l’alternariose, le rhizoctone brun, les fusarioses, la gale argentée, etc. entraînent, le plus souvent, des pertes non négligeables sur les cultures de la pomme de terre.

L’oomycète *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, agent causal du mildiou est considéré comme une menace majeure pour la pomme de terre durant toute la durée de la plantation et de la conservation des tubercules. L’espèce *P. infestans* est également inféodée à la tomate (*S. lycopersicum* L.).

Les bactéries provoquent des maladies importantes comme le flétrissement bactérien [*Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi et al. 1996], la pourriture racinaire [*Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Spieckermann et Kotthoff 1914) Davis et al. 1984] et la jambe noire [*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (van Hall 1902) Hauben et al. 1999 et *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones 1901) Hauben et al. 1999].

TABLEAU 3. Agents causaux des maladies de la pomme de terre (d'après: Sasser et Carter, 1985; Radtke et Rieckmann, 1991; Reckhaus, 1997; Struik et Wiersema, 1999; Stevenson et al., 2001; Mulder et Turkensteen, 2005; Ait ouada et al., 2008; Ayad et al., 2019; Allala-Messaoudi et al., 2019 ; Azil et al., 2021).

AGENTS CAUSAUX	MALADIES	ORGANES AFFECTES
CHAMPIGNONS		
<i>Alternaria solani</i> Sorauer	Alternariose ("Earlyblight")	Feuillage, tubercule
<i>Boeremia foveata</i> (Foister) Aveskamp, Gruyter & Verkley	Gangrène ("Potatogangrene")	Tubercule
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	Pourriture grise ("Gray mold")	Feuillage, tubercule
<i>Colletotrichum coccodes</i> (Wallr.) S. Hughes	Dartrose ("Black dot")	Feuillage, tubercule
<i>Golovinomyces cichoracearum</i> (DC.) V.P. Heluta	Oïdium ("Powdery mildew")	Feuillage, tige
<i>F. culmorum</i> (W. G. Smith) Sacc. et <i>Neocosmospora solani</i> (Mart.)	Pourriture sèche ("Dry rot")	Tubercule
<i>Helminthosporium solani</i> Durieu & Mont.	Tâche argentée ("Silverscurf")	Tubercule
<i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn	Rhizoctone brun ("Black scurf")	Tige, stolon, tubercule
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	Sclérotiniose ("White mold")	Tige
<i>Synchytrium endobioticum</i> (Schilb.) Percival	Galle verruqueuse ("Wart disease of potato")	Feuillage, tige, tubercule
<i>Verticillium dahlia</i> Kleb.	Verticilliose (Early dying)	Feuillage, tubercule
OOMYCETES		
<i>Phytophthora erythroseptica</i> Pethybr.	Pourriture rose ("Pink rose")	Tubercule, feuillage
<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary	Mildiou ("Late blight")	Feuillage, tubercule, tige
PROTISTES		
<i>Spongospora subterranea</i> (Wallr.) Lagerh.	Galle poudreuse ("Powdery scab")	Racine, stolon, tubercule
BACTERIES		
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>atrosepticum</i> (van Hall 1902) Hauben et al., 1999	Jambe noire ("Potato blackleg disease")	Tige, tubercule
<i>Ralstonia solanacearum</i> (Smith 1896) Yabuuchi et al., 1996	Flétrissement bactérien ("Ring rot")	Feuillage, tubercule
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i> (Spieckermann & Kotthoff, 1914) Davis et al., 1984	Pourriture annulaire ("Potato ring rot")	Feuillage, tubercule
<i>Streptomyces scabiei</i> Lambert & Loria, 1989	Galle commune ("Common scab")	Tubercule
VIRUS		
PLRV	Potato leafroll virus	Feuillage
PVA	Potato virus A	Feuillage
PVM	Potato virus M	Feuillage
PVS	Potato virus S	Feuillage
PVX	Potato virus X	Feuillage
PVY	Potato virus Y	Feuillage
NEMATODES		
<i>Globodera rostochiensis</i> (Wollenweber, 1923) Mulvey & Stone, 1976	Nématode à kyste ("Yellow potato cyst nematode")	Feuillage, racine, tubercule
<i>Globodera pallida</i> (Stone, 1973) Mulvey & Stone, 1976	Nématode à kyste ("White potato cyst nematode")	Feuillage, racine, tubercule
<i>Meloidogyne chitwoodi</i> Golden et al., 1980	Nématode à galle ("Columbia root-knot nematode")	Racine, tubercule
<i>M. incognita</i> (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949	Nématode à galle ("Root-knot nematode")	Racine, tubercule
<i>M. javanica</i> (Treub, 1885) Chitwood, 1949	Nématode à galle ("Sugarcane eelworm")	Racine, tubercule
<i>Nacobbus aberrans</i> (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944	Faux nématode à galle ("False root-knot nematode")	Racine, tubercule
<i>Pratylenchus penetrans</i> (Cobb, 1917)	Nématodes des racines ("Northern root lesion")	Racine, tubercule

Les virus et les viroïdes causent des pertes économiquement importantes sur les cultures de pomme de terre. Parmi les virus les plus communs on peut citer le PVY (virus Y), le PVX (virus X) et le PLRV (virus de l'enroulement).

Les nématodes comme *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Filipjev & Schuurmans-Stekhoven, *Globodera* spp. et *Meloidogyne* spp. causent des perturbations au niveau des plants de pomme de terre comme le ralentissement de la croissance, la réduction de la taille des tubercules et la formation de galles racinaires (Strange, 2003 ; Vreugdenuil et al., 2007 ; Birch et al., 2012 ; Fiers et al., 2012).

Parmi les principaux ravageurs de la pomme de terre on peut citer : le doryphore [*Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824)], la teigne [*Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873)], les acariens comme, par exemple, *Tetranychus urticae* Koch, 1836.

II.2. L'AGENT CAUSAL DU MILDIOU DE LA POMME DE TERRE : *P. INFESTANS*

L'un des agents phytopathogènes le plus dévastateur des cultures de pomme de terre est l'oomyète *P. infestans*, agent causal du mildiou de la pomme de terre et de la tomate. Cet agent phytopathogène a été la principale cause de la famine irlandaise durant la période 1845-1846. Cette famine a entraîné un grand nombre de décès et une émigration massive des irlandais survivants vers l'Amérique du nord (Etats-Unis et Canada). La souche de *P. infestans* qui a détruit la récolte européenne de pomme de terre à la fin des années 1840 et qui s'est propagée en Irlande, était originaire du Mexique (Goodwin et al., 1994).

II.2.1. Origine et importance de l'agent causal du mildiou de la pomme de terre

De nombreux auteurs pensent que le centre d'origine de l'agent causal du mildiou de la pomme de terre serait la vallée de Toluca au Mexique où la diversité des populations de *P. infestans* est maximale (Niederhauser, 1991 ; Grünwald et al., 2001 ; Grünwald et Flier, 2005).

Historiquement, la première épidémie du mildiou de la pomme de terre démarra en Belgique, puis se propagea vers la Suisse, le nord de la France, le sud de l'Angleterre et l'Irlande où elle a causé en 1845-1846 la grande famine irlandaise. Celle-ci a entraîné la mort de plus d'un million d'irlandais et la migration d'un autre million principalement vers les Etats-Unis et le Canada (Large, 1940 ; Woodham-Smith, 1962 ; Hampton, 1992 ; Fry et Goodwin, 1997 ; Lebreton et al., 1998 ; Zadoks, 2008). En Afrique, la maladie a été détectée au Maroc pour la première fois en 1941 (Sedgui et al., 2000). Les pertes de rendement engendrées par cette maladie peuvent atteindre 100% ; en moins de trois semaines une culture de pomme de terre peut être complètement détruite (Gaucher et al., 1998).

II.2.2. Nomenclature et position taxonomique de l'espèce *P. infestans*

L'espèce *P. infestans* est considérée comme le spécimen type du genre *Phytophthora* de Bary (Gr. *phyto* = plante + *phthora* = destructeur). Depuis les études d'Heinrich Anton de Bary en 1876 et la monographie de référence "*Phytophthora diseases worldwide*" d'Erwin et Ribeiro (1996), 180 espèces ont été décrites dans le genre *Phytophthora*. Cependant, selon des estimations récentes, le nombre réel d'espèces de ce genre est au moins le double, voire le triple (Scott et al., 2019 ; Jung et al., 2020).

II.2.2.1. Nomenclature

L'historique de la nomenclature de l'espèce *P. infestans* a débuté avec l'épidémie du mildiou de la pomme de terre en Europe occidentale dans les années 1840 qui a conduit à la célèbre famine irlandaise (Large, 1940 ; Bourke, 1991). L'espèce *P. infestans* a été initialement nommée *Botrytis infestans* Mont. par le mycologue français Jean Francis Camille Montagne en 1845. Elle a ensuite été redésignée *Peronospora infestans* (Mont.) Casp. par Robert Caspary en 1854 (publié dans *Klotzschii Herbariumvivum Mycologicum exsiccati* no. 1879 de Rabenhorst). Ce n'est que vers 1876 qu'Heinrich Anton de Bary a déterminé, de manière concluante, que cet organisme qu'il a renommé *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, était l'agent causal du mildiou de la pomme de terre.

II.2.2.2. Position taxonomique

Dans les classifications récentes, le genre *Phytophthora* est assigné au phylum *Oomycota*, qui, à son tour, est largement accepté comme dérivant des algues hétérocontées appartenant au règne *Chromista* appelé encore *Straminipila* (Dick 2001 ; Beakes et al., 2012). Historiquement, le genre *Phytophthora* a été placé dans la classe *Oomycetes*, l'ordre *Pythiales* et la famille *Pythiaceae* avec *Pythium* et les genres apparentés. Cependant, une analyse phylogénétique avec les séquences des régions LSU et SSU de l'ADN ribosomal (ADNr) et du gène *cox2* a indiqué une affiliation plus proche avec les mildious (*Bremia* spp., *Peronospora* spp., *Plasmopara* spp. et *Pseudoperonospora* spp.) et les rouilles blanches (*Albugo* spp.) d'où sa position taxonomique actuelle dans l'ordre *Peronosporales* et la famille *Peronosporaceae* (Beakes et Sekimoto, 2009 ; Thines et al., 2009).

II.2.3. Caractéristiques morphologiques et biologiques de l'espèce *P. infestans*

L'espèce *P. infestans* possède un mycélium coenocytique, hyalin qui se différencie pour donner des sporanges (= sporocystes) ovoïdes, ellipsoïdes à limoniformes, caduques, semi-papillés dont la largeur et la longueur varient respectivement de 19 à 29 μm (Waterhouse, 1963) à 22 à 36 μm (Tucker, 1931) (Fig. 2A). Chaque sporange contient 7 à 12 zoospores. Les sporangiophores mon-

trent des ramifications sympodiales et des renflements en fuseau (“swelling”) juste sous le point de formation des sporanges (Figs. 2B, C) (Thurston et Schultz, 1981 ; Erwin et Ribeiro, 1996) ; Gallegly et Hong, 2008).

La germination des sporanges se réalise soit directement par émission d’un ou plusieurs tubes germinatifs, soit indirectement par production de zoospores biflagellées qui assurent la reproduction asexuée. Le type de germination par tube germinatif ou par zoospores dépend de la température. Si celle-ci est basse (optimum 12°C), elle se réalise par zoospores biflagellées, si par contre elle est haute (optimum 24°C) elle s’effectue par tube germinatif. Les zoospores propulsées par leurs deux flagelles inégaux, nécessitent un environnement humide pour pouvoir se déplacer et réaliser les infections (Bouwmeester et *al.*, 2009).

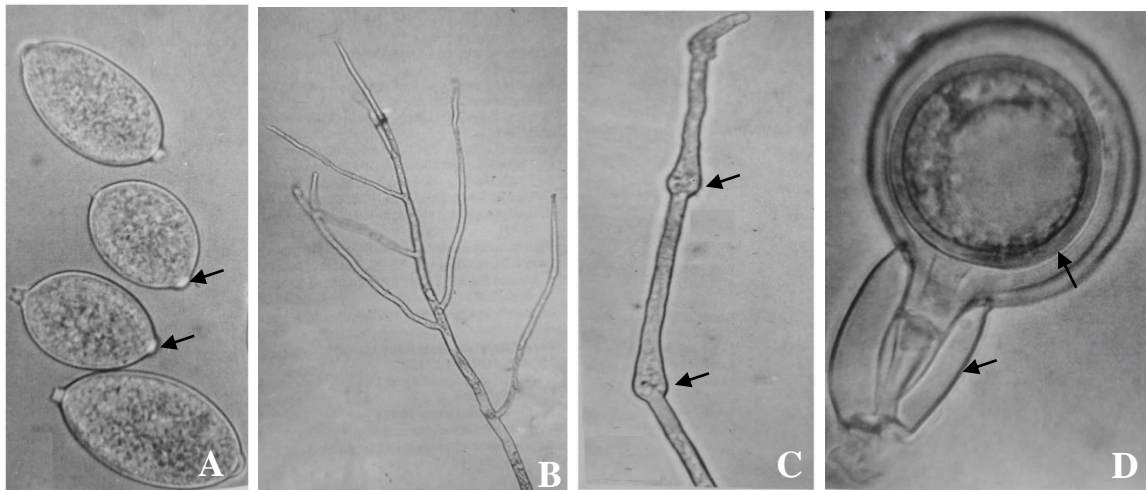


Figure 2. Caractéristiques morphologiques et biologiques de l’espèce *P. infestans*. **A.** Sporangies ovoïdes, ellipsoïdes à limoniformes, pourvus d’une papille apicale (flèches). **B.** Sporangiohores montrant des ramifications sympodiales. **C.** Sporangiohores montrant des renflements successifs au niveau des sites de formation des sporanges (flèches). **D.** Oospore aplerotique et à paroi épaisse (flèche) montrant à sa base l’anthéridie amphigyne (flèche) (d’après Erwin et Ribeiro, 1996).

P. infestans est un organisme hétérothallique qui présente deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2. La reproduction sexuée est initiée par la libération d’hormones qui déclenchent la formation des gamétanges (=gamétocystes) à l’intérieur desquels s’effectue la méiose (Bouwmeester et *al.*, 2009). Durant la fécondation, l’hyphe du gamétange femelle (= oogone) pénètre l’apex de l’hyphe du gamétange male (= anthéridie), le traverse et émerge pour former l’oogone. L’anthéridie qui occupe ainsi une position amphigyne par rapport à l’oogone, mesure environ 23 x 18 μm (Gallegly et Hong, 2008). Les oogones mures ont un diamètre variant de 31 à 50 μm (moyenne 38 μm) (Erwin et Ribeiro, 1996).

Après la fécondation, il se développe à l'intérieur de l'oogone une oospore à paroi épaisse qui constitue la forme de conservation la plus importante du *P. infestans* (Drenth et al., 1993 ; Fry et al., 2001) (Fig. 2D). Les oospores sont aplerotiques. Elles ont un diamètre variant de 24 à 35 μm (moyenne 30 μm) lorsqu'elles se forment dans les tissus foliaires et de 24 à 56 μm lorsqu'elles se différencient sur un milieu de culture artificiel (Erwin et Ribeiro, 1996). Leur germination se réalise par l'émission d'un tube germinatif à l'extrémité duquel se différencie un sporange.

II.2.4. Symptômes causés par *P. infestans* sur la pomme de terre

Les symptômes causés par *P. infestans* peuvent être observés sur l'ensemble des organes de la plante (jeunes pousses, feuilles, pétioles, bouquets terminaux, tiges et tubercules). Les attaques précoces induisent une diminution de l'activité photosynthétique, alors que les attaques tardives conduisent à une baisse de la qualité des tubercules (Duvauchelle et Andrivon, 1996).

Sur les feuilles, on observe d'abord l'apparition de petites taches décolorées, d'aspect huileux qui brunissent et qui sont entourées d'un halo jaunâtre à la face supérieure des limbes (Fig. 3A). Ces taches s'agrandissent rapidement et deviennent nécrotiques (Radtke et Rieckmann, 1991). A la face inférieure des limbes, on observe un feutrage blanc caractéristique constitué par les fructifications asexuées de *P. infestans* (sporanges et sporangiophores) qui apparaissent sur le pourtour des nécroses en conditions humides (Agrios, 2005) (Fig. 3B).

Sur les tiges, le symptôme typique se présente sous la forme d'une nécrose brune violacée s'étendant sur 2 à 10 cm à partir d'un nœud. Par temps humide, cette nécrose se couvre d'une poudre blanchâtre ou grisâtre constituée par les fructifications asexuées du pathogène (Rousselle et al., 1996) (Fig. 3C). Les attaques sur les bouquets terminaux se manifestent par des nécroses généralisées et un léger recroquevillement des feuilles apicales (Fig. 3D).

Sur les tubercules, les symptômes se manifestent à leur surface par des lésions au contour mal défini, de couleur grisâtre et irrégulière et par des tâches brunâtres. En coupe transversale, les tubercules montrent des tâches de couleur rouille (Fig. 3E). Sous des conditions de stockage défavorable, les tubercules pourrissent et libèrent une odeur caractéristique. Durant le stockage, les tubercules infectés peuvent contaminer ceux qui sont sains.

II.2.5. Quelques données biologiques et épidémiologiques de *P. infestans*

P. infestans est un pathogène hémibiotrophe, sans capacité de survie saprophytique (Andrivon, 1995 ; Fry, 2008). Cependant, cette espèce peut être isolée et cultivée sur différents substrats naturels ou synthétiques (Ribeiro, 1983 ; Shaw, 1991). Le cycle biologique de *P. infestans* comporte deux phases, l'une sexuée et l'autre asexuée (Fig. 4).

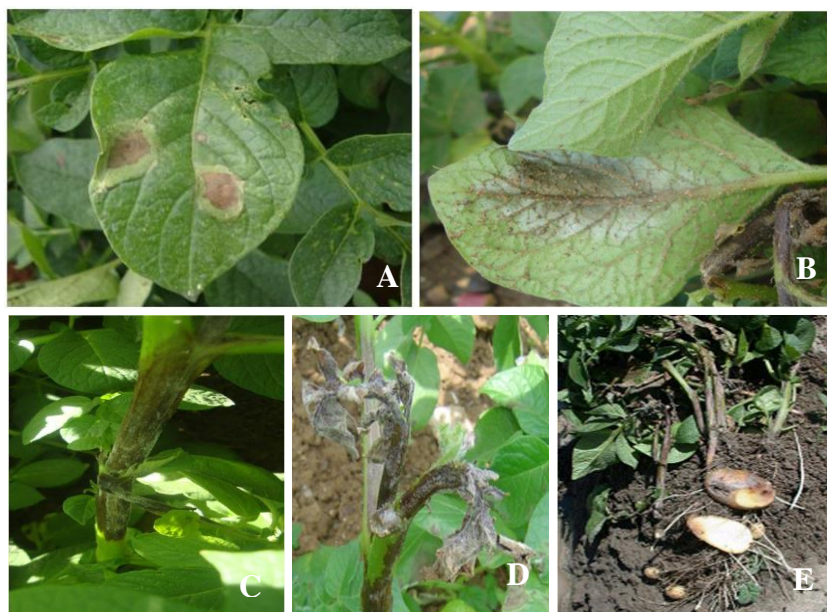


Figure 3. Symptomatologie du mildiou de la pomme de terre en plein champ. **A.** Limbe foliaire montrant à sa face supérieure deux nécroses entourées d'un halo jaunâtre. **B.** Limbe montrant à sa face inférieure une zone infectée entourée d'un liseré blanchâtre constitué par les fructifications asexuées de *P. infestans* (sporangiophores et sporanges). **C.** Tiges de *S. tuberosum* montrant une nécrose brun-violacé couverte d'une poudre blanchâtre constituée par les fructifications asexuées de *P. infestans*. **D.** Nécroses généralisées au niveau des bouquets foliaires terminaux. **E.** Tâches de couleur rouille à l'intérieur des tubercules (d'après Schepers, 2007).

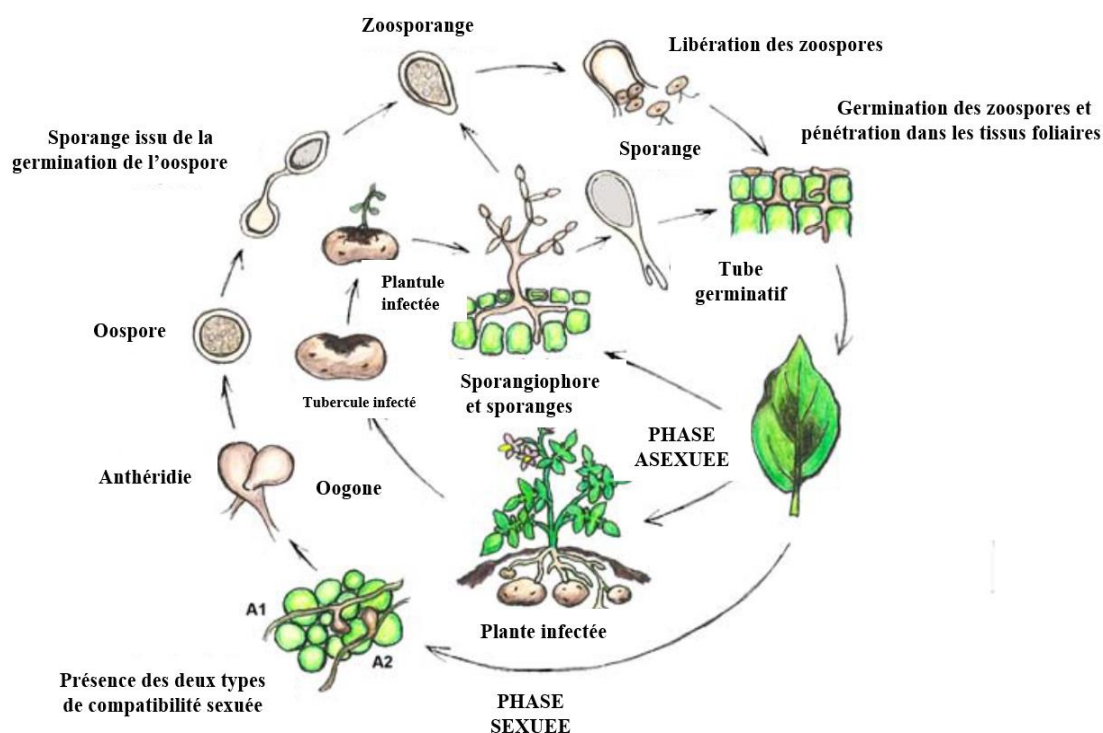


Figure 4. Cycle du mildiou de la pomme de terre et de la tomate causé par *P. infestans* (d'après Bengtsson, 2013).

La phase asexuée qui aboutit à la formation des zoosporanges, provoque le plus souvent les épidémies polycycliques qui peuvent être observées durant toute la période de culture de la pomme de terre (Kessel et Förch, 2006). Cette phase favorise le développement des lignées clonales avec une variation génétique mineure due à la mutation et à la recombinaison mitotique (Legard et al., 1995 ; Fry et al., 2015). Ces lignées clonales ont été à l'origine des épidémies du mildiou aux États-Unis (Fry et al., 2013), en Inde (Chowdappa et al., 2015), en Europe (Cook et al., 2012) et en Afrique (Sedegui et al., 2000 ; Beninal et al., 2009 ; Harbaoui et al., 2014 ; Corbière et al., 2015 ; Rekad et al., 2017 ; Njoroge et al., 2019).

Au contact d'un hôte, les sporanges germent soit directement par l'émission d'un tube germinatif qui pénètre l'hôte (température comprise entre 18 et 24°C), soit indirectement à travers la production de zoospores (température comprise entre 8 et 18°C) (Erwin et Ribeiro, 1996 ; Fry et al., 2001 ; Platt, 2008). Après leur libération du zoosporange, les zoospores s'enkystent en perdant leurs flagelles et forment un tube germinatif qui pénètre l'épiderme (Judelson et Blanco, 2005). Sous une température comprise entre 18 et 22°C et sous une humidité relative de 90 à 100%, les premières lésions nécrotiques apparaissent sur les folioles au bout de 2 à 3 jours après l'infection (Fry, 2008). Cette phase asexuée qui peut se répéter plusieurs fois sous des conditions environnementales favorables, est prédominante durant toute la période de croissance des plants de pomme de terre (Drenth et al., 1993 ; Nowicki et al., 2012).

L'infection des tubercules est également initiée par les sporanges et les zoospores qui se différencient sur les lésions formées sur les folioles ou les tiges et qui sont entraînées par les précipitations ou les eaux d'irrigation vers les stolons et les tubercules en formation. La pénétration des tubercules par le pathogène se réalise au niveau des lenticelles, des yeux, des stolons ou des blessures (Walmsley-Woodward et Lewis, 1977 ; Pathak et Clarke, 1987). Les tubercules infectés sont souvent transportés sur de longues distances et, de ce fait, ils jouent un rôle important dans l'épidémiologie du *P. infestans* (Fry et al., 2001).

La phase sexuée exige la présence des deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2 qui, lorsqu'ils coexistent dans le même foyer épidémique, aboutissent à la formation des oospores. Celles-ci assurent la conservation et constituent une source d'inoculum et de variabilité génétique de l'espèce *P. infestans* (Andrivon, 1995 ; Gavino et al., 2000).

II.3. CARACTERISATION DES POPULATIONS DE *P. INFESTANS*

La caractérisation des populations de *P. infestans* s'appuie sur des marqueurs phénotypiques et moléculaires dont l'utilisation a grandement contribué à la compréhension de ces populations.

II.3.1. Marqueurs phénotypiques

La caractérisation phénotypique des isolats de *P. infestans* utilise habituellement les marqueurs suivants : type de compatibilité sexuelle A1 et A2, résistance des isolats aux phénylamides, profil de virulence, agressivité et sensibilité des isolats à l'égard d'une gamme de température.

II.3.1.1. Types de compatibilité sexuelle A1 et A2

Les types de compatibilité sexuelle ("mating types") A1 et A2 constituent un trait important pour la caractérisation des populations de *P. infestans*. Ces types ont été caractérisés pour la première fois au Mexique par Gallegly et Galindo (1958) et par Smoot et *al.* (1958). La production d'oospores intervient uniquement lorsque des isolats appartenant à des types sexuels génétiquement différents A1 et A2 sont confrontés (Gallegly et Hong, 2008). La détermination du type de compatibilité sexuelle d'un isolat inconnu de *P. infestans* se réalise, au laboratoire, par sa confrontation dans un milieu de culture artificiel avec des isolats connus appartenant à l'un des types sexuels A1 ou A2.

II.3.1.2. Résistance des isolats de *P. infestans* aux phénylamides

Depuis leur découverte en 1977, les fongicides systémiques appartenant à la famille chimique des phénylamides ont grandement contribué au contrôle des *Peronosporales* en général et du *P. infestans* en particulier. Toutefois, l'utilisation massive et répétée de ces fongicides systémiques entraîne la sélection de génotypes résistants aux matières actives des phénylamides comme, par exemple, le métalaxyl et ses énantiomères méfénoxam, métalaxyl, oxydixyl (Gisi et Cohen, 1996). Le métalaxyl qui a une action préventive et curative contre le *P. infestans*, est un inhibiteur spécifique des ARN polymérase entraînant ainsi l'arrêt de la croissance mycélienne, de la formation des appressoria et de la sporulation (Mazáková et *al.*, 2006).

La première apparition de génotypes de *P. infestans* résistants au métalaxyl a été signalée en 1980 en Irlande et aux Pays-Bas (Davidse et *al.*, 1981 ; Dowley et O'Sullivan, 1981). La résistance au métalaxyl des populations de *P. infestans* constitue une caractéristique importante qui peut être utilisée pour classer les isolats (Fry et *al.*, 1993). La méthode la plus utilisée pour déterminer la sensibilité des isolats de *P. infestans* aux phénylamides est basée sur l'intensité de la sporulation du pathogène sur des disques foliaires qui ont été prétraités par l'oxadixyl ou qui flottent sur une suspension de métalaxyl. Cette dernière méthode est adaptée aux tests de grande envergure sur des suspensions de sporanges sans qu'il y est recours au transfert et à la purification de l'isolat avant le test (Sozzi et *al.*, 1992). La méthode du disque de tubercule est recommandée lorsqu'on recherche une détermination plus précise de la sensibilité des isolats (Cohen et Kadish, 1992). La mesure de la

croissance mycélienne linéaire sur un milieu de culture incorporée par un phénylamide a été également utilisée pour déterminer la sensibilité des isolats (Deahl et al., 1995).

II.3.1.3. Profil de virulence des isolats de *P. infestans*

Le profil de virulence représente l'éventail des gènes d'avirulence exprimés par un isolat lorsqu'il est inoculé à une gamme différentielle de génotypes possédant des gènes de résistance *R*. Le test de virulence consiste à inoculer des isolats de *P. infestans* sur une gamme d'hôtes différentielle ; les résultats consistent à voir s'il y a contournement de la résistance par les facteurs de virulence du pathogène (Cooke et Lees, 2004). Les isolats présentant le même profil sont appelés races physiologiques ou pathotypes. Ces derniers sont déterminés selon le modèle de complémentarité du gène pour gène c'est-à-dire que pour chaque gène qui détermine la résistance de l'hôte, il existe un gène spécifique qui détermine la pathogénicité ou la virulence de l'isolat (Flor 1971).

La caractérisation du profil de virulence des isolats de *P. infestans* en pathotype est effectuée sur la base de la virulence d'un isolat à l'égard de onze gènes de résistance *R* (*R1*, *R2*, *R3*, *R4*, *R5*, *R6*, *R7*, *R8*, *R9*, *R10* et *R11*). Ces derniers appartiennent à une gamme différentielle de génotypes identifiés à partir de certaines espèces spontanées appartenant au genre *Solanum* comme *S. demissum* Lindl., *S. bulbocastanum* Dunal, *S. berthaultii* Hawkes, (Black et al., 1953 ; Malcosom et Black, 1966 ; Ewing et al. 2000 ; van der Vossen et al. 2005). D'autres gènes de résistance ont été identifiés chez d'autres espèces spontanées comme *S. mochiquense* Ochoa, *S. phureja* Juz. & Bukasov, *S. pinnatisectum* Dunal, etc. (Nowicki et al., 2012). Il est à remarquer que ces gènes de résistance spécifique à une race donnée peuvent être contournés par l'apparition de nouvelles populations de *P. infestans* plus agressives (Wastie, 1991 ; McDonald et Linde, 2002 ; Fry, 2008).

II.3.1.4. Agressivité des isolats

La capacité d'un agent pathogène à infecter un hôte et à causer une maladie est appelée virulence qui est une composante qualitative du pouvoir pathogène et qui repose sur l'interaction du gène pour gène (Flor 1971). Par contre, le degré de dommages causé par un pathogène sur un hôte est nommé agressivité qui représente une composante quantitative du pouvoir pathogène (Van der Plank 1968). Le degré d'agressivité d'un isolat de *P. infestans* peut être évalué sur un cultivar de pomme de terre par plusieurs caractéristiques mesurables comme, par exemple, la taille des nécroses, le taux de sporulation, la durée des périodes de latence et d'incubation, etc. Afin de caractériser un isolat, le test d'agressivité peut être réalisé soit en laboratoire sur feuilles détachées, soit en serre (Legard et al., 1995; Goth et Keane, 1997; Foolad et al., 2008).

II.3.1.5. Sensibilité des isolats à l'égard d'une gamme de température

Depuis la migration du type d'accouplement sexuel A2, au début des années 1980, la diversité génétique au sein des populations de *P. infestans* a considérablement augmenté plus particulièrement en ce qui concerne la sensibilité aux fongicides et les préférences environnementales (Fry et Goodwin 1997 ; Kato, *et al.*, 1997). Cette diversité génétique au sein des populations de *P. infestans* a conduit à une adaptation accrue du *P. infestans* à des plages d'humidité et de température plus larges (Sjöholm *et al.*, 2013 ; Mariette *et al.*, 2016 ; Runno-Paurson *et al.*, 2016 ; 2019). L'évaluation de la réponse des isolats à l'égard d'une gamme de températures peut se réaliser par la méthode de la feuille détachée qui permet d'estimer certaines caractéristiques qui sont affectés par la température comme la sporulation (Sato, 1994), le taux d'expansion des lésions (Hartill *et al.*, 1990), la survie de l'inoculum (Minogue et Fry, 1981), la germination des sporanges ainsi que la durée des périodes de latence et d'incubation (Maziero *et al.*, 2009).

II.3.2. Marqueurs moléculaires

Plusieurs marqueurs moléculaires sont actuellement utilisés pour la caractérisation des populations de *P. infestans*. Parmi ces marqueurs on peut citer : les isozymes (Tooley *et al.*, 1985), la sonde RG57 basée sur la technique RFLP (Carter *et al.*, 1990 ; Goodwin *et al.*, 1992 ; Forbes *et al.*, 1997), l'ADN mitochondriale (ADNmt) pour la détermination de l'haplotype (Griffith et Shaw 1998 ; Gavino et Fry, 2002 ; Avila-Adame *et al.*, 2006), les SNPs (Abbott *et al.*, 2010) et les microsatellites (SSRs) (Cook et Lees, 2004 ; Lees *et al.*, 2006 ; Vargas *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2013 ; Danies *et al.*, 2013). Ces derniers sont hautement polymorphes, reproductibles, co-dominants et relativement faciles à interpréter par des logiciels (Li *et al.*, 2013).

Les microsatellites SSR ("Simple Sequence Repeat") représentent actuellement une norme mondiale pour le génotypage et la classification des lignées clonales des populations de *P. infestans* (Goodwin, 1997 ; Lebreton *et al.*, 1998 ; Kirk et Freeland, 2011 ; Li *et al.*, 2012 ; Corbière *et al.*, 2016). Ce sont de courtes séquences d'ADN, d'un à six nucléotides, répétées de nombreuses fois à un endroit du génome. Le nombre de répétitions de chaque séquence peut varier entre deux individus et cette variation de taille nous renseigne sur le polymorphisme de chaque microsatellite étudié (Mariette *et al.*, 2014).

L'utilisation de plusieurs microsatellites permet d'établir le profil génétique de chaque individu appelé "Multilocus Genotype ou MLG" (Mariette *et al.*, 2014). Les données sur les fréquences des allèles des SSRs et la distribution des génotypes dans les populations permettent de connaître la

diversité génétique, la divergence, le flux de gènes, la mutation et la sélection naturelle dans la structure de la population de *P. infestans* (Grünwald et al., 2017).

Pour étudier les populations de *P. infestans* en Suisse et en France trois marqueurs SSRs (PiG11, Pi4B, Pi4G) ont été initialement testés (Knapova et Gisi, 2002). Par la suite, 12 marqueurs (Pi02, Pi04, Pi16, Pi33, Pi56, Pi63, Pi66, Pi70, Pi89, Pi4B, PiG11, D13) ont été utilisés en Angleterre pour caractériser les populations de *P. infestans* qui ont montré une grande diversité génétique. En effet, sur 90 isolats de *P. infestans*, 68 génotypes ont été identifiés avec 2 à 9 allèles par locus (Lees et al., 2006). Pour mieux détecter le polymorphisme au sein des sous populations de *P. infestans*, d'autres marqueurs ont été utilisés comme PinfSSR2, PinfSSR3, PinfSSR4, PinfSSR6a, PinfSSR7, PinfSSR8 et PinfSSR11 (Li et al., 2010).

II.4. MIGRATION DES POPULATIONS DE *P. INFESTANS*

Le commerce international des tubercules de pomme de terre infectés représente le moyen le plus adéquat pour la migration des populations de l'espèce *P. infestans* (Fry, 2015). Le changement dans les populations de *P. infestans* à l'échelle du globe résulte certainement d'une migration d'isolats des types de compatibilité sexuelle A1 et A2 à partir du Mexique (Fry et al., 1992 ; Govers et al., 1997).

La distribution mondiale des populations de *P. infestans* à partir de leur centre d'origine (hauts plateaux mexicains et plus particulièrement la vallée de Toluca) a subi deux migrations. La première migration constituée par lignée clonale US_1 du type de compatibilité sexuelle A1 a eu lieu au milieu du 19^{ème} siècle sur la côte nord-est des Etats-Unis (Peterson et al., 1992). Cette lignée a été caractérisée aux Etats Unis par les marqueurs suivants : type de compatibilité sexuelle, analyse de l'ADN mitochondrial, RFLP et allozymes (Goodwin et al., 1994a et b). La lignée US_1 s'est ensuite propagée vers l'Europe où elle a provoqué en 1845 la célèbre épidémie irlandaise (Akino et al., 2014).

La deuxième migration a eu lieu à la fin du 20^{ème} siècle lorsque le type de compatibilité sexuelle A2 a été introduit en Europe via des tubercules infectés. A cette époque, les populations de *P. infestans* étaient supposées comme constituée de la seule lignée clonale US_1, alors que celles du Mexique présentait une grande diversité génotypique à cause de la présence des deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2 (Grünwald et Flier, 2005 ; Cook et al., 2011). Suite à son introduction en Europe, le type de compatibilité sexuelle A2 est devenu de plus en plus fréquent à travers le monde. C'est ainsi qu'il a été signalé en Europe centrale (Flier et al., 2007; Li et al., 2012 ; Mariette et al., 2016), en Asie (Zhu et al., 2015 ; Chowdappa et al., 2015), en Amérique du

Sud (Forbes et *al.*, 1997 ; Deahl et *al.*, 2003; Casa-Coila et *al.*, 2017), en Amérique du Nord (Daniei et *al.*, 2014 ; Rojas et Kirk, 2016) et en Afrique du Nord (Sedegui et *al.*, 2000 ; Jmour et Hamada, 2006 ; Beninal et *al.*, 2009 ; Harbaoui et *al.*, 2014 ; Rekad et *al.* 2017).

II.5. DIVERSITE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS DE *P. INFESTANS*

La deuxième migration de *P. infestans* a engendré une grande diversité génotypique en raison de la présence des deux types de compatibilité sexuelles A1 et A2. Ceci a provoqué le remplacement progressif durant ces 40 dernières années des anciens génotypes par de nouvelles lignées clonales qui se sont propagées très rapidement (Cooke et *al.*, 2012).

En Europe, la lignée EU_13_A2 ou « Blue 13 » a été détectée pour la première fois au Pays-Bas en 2004 et en Grande Bretagne en 2005 (Cooke et *al.*, 2012 ; Chmielarz et *al.*, 2014 ; Mariette et *al.*, 2016). Cette lignée montre une agressivité et une virulence élevées à l'égard de certains cultivars de pomme de terre qui étaient considérés auparavant comme résistants (Cooke et *al.*, 2011). D'autres lignées clonales EU_37_A2 et EU_36_A2 ont été signalées, pour la première fois, en 2013 aux Pays-Bas et en 2014 en Allemagne. Ces deux lignées ont été également détectées en 2015 en Belgique, puis elles se sont propagées à d'autres pays européens (Euroblight, 2020). La lignée EU_41_A2 qui a été détectée, pour la première fois, au Danemark en 2013 où elle s'est établie avec succès, s'est étendue dans les populations de *P. infestans* du nord de l'Europe (Norvège, Suède et Pologne) (Puidet et *al.*, 2022). En France, les populations de *P. infestans* sont constituées par les lignées clonales ayant des types de compatibilité sexuelle différents : EU_6_A1, EU_1_A1, EU_2_A1 et EU_13_A2 (Corbière et *al.*, 2016 ; Mariette et *al.*, 2016). Depuis le milieu des années 2010, les lignées clonales de *P. infestans* comme, EU_13_A2, EU_6_A1 et EU_1_A1 qui étaient dominants en Europe occidentale (France, Angleterre) sont remplacées dès le début du 21^{ème} siècle par plusieurs autres clones émergents dont le EU_37_A2 (Puidet et *al.*, 2023).

En Asie, la lignée clonale EU_13_A2 a été également trouvée en Inde et en Chine où elle cause des dommages importants sur les cultures de pommes de terre en raison de son agressivité élevée (Chowdappa et *al.*, 2015 ; Li et *al.*, 2013).

En Amérique du nord, des épidémies récurrentes du mildiou de la pomme de terre ont eu lieu aux Etats-Unis à partir de 2009 suite à l'émergence des lignées clonales suivantes : US_8, US_22, US_23 et US_24 (Fry et Goodwin, 1997 ; Hu et *al.*, 2012; Danies et *al.*, 2013 ; Fry et *al.*, 2013, 2015).

En Afrique, les populations de *P. infestans* étaient dominées par le génotypes US_1 (Pule et *al.*, 2013). Les populations nord africaines de *P. infestans* sont constituées par un mélange d'isolats

appartenant à des lignées clonales différentes comme, par exemple, EU_23_A1 et EU_13_A2 en Egypte (El Ganainy et *al.*, 2013), EU_13_A2, EU_2_A1, EU_23_A1 et EU_36_A2 en Algérie (Corbière et *al.*, 2015 ; Rekad et *al.*, 2017 ; Saville et *al.*, 2021) et la lignée NA-01 en Tunisie (Harbaoui et *al.*, 2014). En Afrique de l'est, la lignée clonale EU_2_A1a a été récemment détectée en Ethiopie où elle a provoqué de graves épidémies (Njoroge et *al.*, 2019).

II.6. STRATEGIES DE LUTTE CONTRE LE MILDIOU DE LA POMME DE TERRE

Les stratégies de lutte contre le mildiou de la pomme de terre ont considérablement changé à la suite de l'apparition d'isolats résistants au métalaxyl (Fry et Goodwin, 1997). Actuellement, la gestion de cette maladie consiste en une approche intégrée basée sur les luttes : culturale, génétique et chimique (Duvauchelle et Andrivon, 1996 ; Namada et *al.*, 2004).

II.6.1. Lutte culturale

La lutte culturale vise principalement la réduction des populations du *P. infestans* par la limitation de sa survie, de sa dissémination et de sa reproduction (Garrett et Dendy, 2001). L'utilisation de semences de pomme de terre saines, l'assainissement des champs par l'élimination des fanes, des déchets de triage et des repousses de pomme de terre de la culture précédente, limitent, dans une certaine mesure, la survie, la dissémination et la reproduction des populations de *P. infestans* (Henfling, 1987; Laing, 1998; Garrett et Dendy, 2001). D'autres pratiques culturales minimisent l'installation du mildiou comme : les rotations, les labours de post récolte, le buttage, la fertilisation, le choix des parcelles et le défanage des plants plusieurs jours avant la récolte afin d'éviter l'infection des tubercules (Duvauchelle et Andrivon., 1996).

II.6.2. Lutte génétique

La lutte génétique est basée essentiellement sur l'introduction de gènes de résistance au niveau des cultivars de pomme de terre. On reconnaît plusieurs types de résistance dont les deux principaux sont la résistance spécifique et la résistance non spécifique.

II.6.2.1. Résistance spécifique

La résistance spécifique appelée également résistance verticale par Van der Plank (1968) est caractérisée par une interaction différentielle entre les génotypes de l'hôte et de l'agent pathogène. Ce type de résistance est habituellement contrôlée par un ou quelques gènes d'où les noms de résistance monogénique et oligogénique qu'on lui attribue souvent. Ce ou ces quelques gènes de résistance contrôlent une étape majeure de l'interaction hôte-pathogène et jouent, de ce fait, un rôle important dans l'expression de la résistance verticale d'où encore le nom de résistance gène

majeur ou gènes *R*. La résistance verticale a un succès limité dans le temps étant donné que de nouvelles races pathologiques du *P. infestans* sont capables de la contourner (Erwin et Ribeiro, 1996 ; Pilet et al., 2005).

Les gènes de résistance *R* (*R1*, *R2*, *R3*, *R4*, *R5*, *R6*, *R7*, *R8*, *R9*, *R10* et *R11*) identifiés chez l'espèce spontanée *Solanum demissum* ont été découverts au XX^{ème} siècle et ont été utilisés dans des programmes de sélection des variétés de pommes de terre. Étant donné que la résistance induite par ces gènes *R*, ne semble pas durable, d'autres gènes de résistance ont été recherchés chez d'autres espèces spontanées appartenant au genre *Solanum*. Actuellement, les programmes de sélection des variétés résistantes au mildiou de la pomme de terre utilisent d'autres gènes de résistance comme les gènes *Rpi* (Résistance à *P. infestans*) identifiés chez d'autres espèces spontanées appartenant au genre *Solanum* comme *Rpi-blb1*, *Rpi-blb2* et *Rpi-blb3* chez *S. bulbocastanum* (Naess et al., 2000 ; Van der Vossen et al., 2003, 2005), *Rpiber1* chez *S. berthaultii* (Ewing et al., 2000), *Rpi-pnt1* chez *S. pinnatisectum* (Kuhl et al., 2001).

II.6.2.2. Résistance non spécifique

La résistance non spécifique couramment dénommée résistance horizontale ou résistance polygénique se réfère à une résistance générale qui est contrôlée par plusieurs gènes appelés gènes mineurs de résistance ou QTL ("Quantitative Trait Loci"). Elle est effective contre la plupart des races du pathogène, et de ce fait, elle est plus stable et plus durable (Turkensteen, 1993 ; Inglis et al., 1996 ; Haynes et al., 1998 ; Landeo et al., 2000). Elle se traduit par une réponse quantitative correspondant à un ralentissement du développement de l'épidémie dans la culture (Van der Plank, 1968).

Les sélectionneurs s'orientent actuellement vers la recherche de variétés de pomme de terre ayant un bon niveau de résistance horizontale à l'égard des races du pathogène afin de ralentir la vitesse de progression de l'épidémie en plein champ (Duvauchelle et Andrivon, 1996). Cependant, la plupart des cultivars de pomme de terre qui ont une importance commerciale n'ont pas un niveau élevé de la résistance horizontale. De ce fait, l'emploi de cultivars possédant un niveau de résistance horizontale acceptable combinée avec une réduction de l'utilisation des fongicides constituent la meilleure stratégie de lutte à l'égard du mildiou de la pomme de terre (Fry, 1975, 1977 ; Clayton et Shattock, 1995 ; Lambert et Currier, 1997 ; Secor et Gudmestad, 1999 ; Kirk et al., 2001).

II.6.3. Lutte chimique

Malgré l'amélioration des pratiques culturales et l'utilisation si possible de cultivars résistants de

la pomme de terre, les applications de fongicides jouent toujours un rôle essentiel dans la lutte contre le mildiou (Erwin et Ribeiro, 1996). La lutte chimique contre cette maladie est basée essentiellement sur des traitements préventifs, avec l'utilisation en alternance de fongicides systémiques et de contact (Gaucher et *al.*, 1998). Ces traitements sont réalisés au minimum onze fois durant toute la période du cycle végétatif de la pomme de terre. En Algérie, la fréquence habituelle des applications de fongicides est une fois tous les dix jours. Cette fréquence des traitements peut être réduite en cas de risque d'infection précoce sous des conditions favorables au développement de la maladie.

Le repérage des foyers du mildiou de la pomme de terre dans les parcelles permet d'orienter judicieusement les dates des premières interventions et le choix des fongicides utilisés. Une fois que le mildiou apparaît, il faut raccourcir les intervalles d'applications des traitements fongicides en tenant compte de la rémanence de chaque produit utilisé. En culture, l'application des fongicides de contact (traitement de couverture) se fait lorsque les plants ont une hauteur de 10 à 15 cm. Ces applications doivent être répétées régulièrement en cas de formation de nouvelles feuilles. Les applications de fongicides translaminaires et systémiques sont assurées en période de forte croissance de la plante jusqu'au défanage afin d'éviter les risques de formation des spores qui peuvent être entraînées par les eaux pluviales vers les tubercules. Les fongicides systémiques sont généralement utilisés en association avec des fongicides de contact pour éviter le développement de la résistance de l'agent pathogène (Davidse et *al.*, 1989).

II.6.4. Lutte biologique

Afin de réduire l'utilisation des fongicides chimiques de synthèse qui ont un impact négatif sur l'environnement et qui peuvent induire l'émergence de nouvelles souches résistantes, la lutte biologique est devenue, au cours de ces 20 dernières années, de plus en plus importante dans la gestion du mildiou de la pomme de terre (Mizubuti et *al.*, 2007). Plusieurs microorganismes antagonistes ainsi que certains extraits végétaux ont été testés pour leur capacité à inhiber le développement de l'agent causal du mildiou de la pomme de terre.

Parmi les microorganismes qui ont été testés avec succès pour leur capacité à inhiber le développement de *P. infestans*, on peut citer : *Chaetomium globosum* (Shanthiyaa et *al.*, 2013), *Trichoderma* spp. (Yao et *al.*, 2016 ; Gupta, 2016), *Penicillium viridicatum* (Gupta, 2016) et les bactéries appartenant principalement aux genres *Serratia*, *Rahnella*, *Streptomyces*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Daayf et *al.*, 2003 ; Klopper et *al.*, 2004 ; Caulier et *al.*, 2018).

Les espèces fongiques appartenant aux genres *Trichoderma* et *Penicillium* qui ont été les plus rapportés comme agents de biocontrôle contre *P. infestans* utilisent différents modes d'antagonisme direct comme le parasitisme, l'antibiose et la compétition ou exerce leur activité d'une manière indirecte par l'induction dans les plants de pomme de terre d'une résistance systémique. Par contre, les espèces bactériennes appartenant principalement aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas* semblent montrer une forte activité antagoniste à l'égard de *P. infestans* par la production d'une large gamme d'antibiotiques et de biosurfactants (Banat et al., 2000).

L'utilisation des extraits végétaux et des huiles essentielles comme biopesticides font actuellement l'objet d'une attention croissante car ils sont généralement biodégradables et ont une très faible toxicité pour l'homme (Bajpai et al., 2011 ; Clerck et al., 2020). A titre d'exemple, les extraits aqueux issus de l'écorce de *Punica granatum* L. ainsi que ceux des feuilles et des baies de *Pistacia lentiscus* L. ont exercé *in vitro* une bonne inhibition sur le développement des isolats de *P. infestans* appartenant aux types sexuels A1 et A2 (Messgo-Moumene et al., 2017).

III. MATERIEL ET METHODES

L'étude de la caractérisation phénotypique et génotypique des isolats de *P. infestans* collectés dans les principales zones de production de pomme de terre en Algérie et l'évaluation du comportement en plein champ de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard du mildiou comporte deux parties :

1. Evolution spatiale et temporelle des principales lignées clonales de *P. infestans* associées à la pomme de terre selon les types de culture et les étages bioclimatiques en Algérie.
2. Comportement de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard des lignées clonales de *P. infestans*.

PARTIE I

EVOLUTION SPATIALE ET TEMPORELLE DES PRINCIPALES LIGNEES CLONALES DE *P. INFESTANS* ASSOCIEES A LA POMME DE TERRE SELON LES TYPES DE CULTURE ET LES ETAGES BIOCLIMATIQUES EN ALGERIE.

III.1. MATERIEL

III.1.1. Prospection et récolte des plants de pomme de terre malades avec les symptômes du mildiou

Des prospections ont été effectuées dans les régions de l'ouest, du centre et de l'est durant les cultures de saison et d'arrière-saison. Quatre à cinq parcelles ont été échantillonnées dans chaque zone de culture de la pomme de terre durant six campagnes agricoles consécutives de 2010 à 2016. Les zones prospectées ont été sélectionnées au niveau des principales régions de production de la pomme de terre de consommation et/ou de semences et ont été choisies dans les différents étages bioclimatiques de l'Algérie : Mostaganem et Mascara au nord-ouest, Aïn Defla, Alger, Tipaza, Médéa, Tizi Ouzou, Boumerdes et Bouira au centre et Guelma et Skikda au nord-est (Fig. 5, Tableau 4). Ces régions se situent dans le nord de l'Algérie dont le climat est du type méditerranéen se caractérisant par un été chaud et sec et un hiver frais et humide. Les zones de production de la pomme de terre de la wilaya d'El Oued (Sahara oriental) ont été également prospectées, mais en raison des conditions climatiques défavorables au développement du mildiou, cette maladie n'a pas été détectée dans cette région.

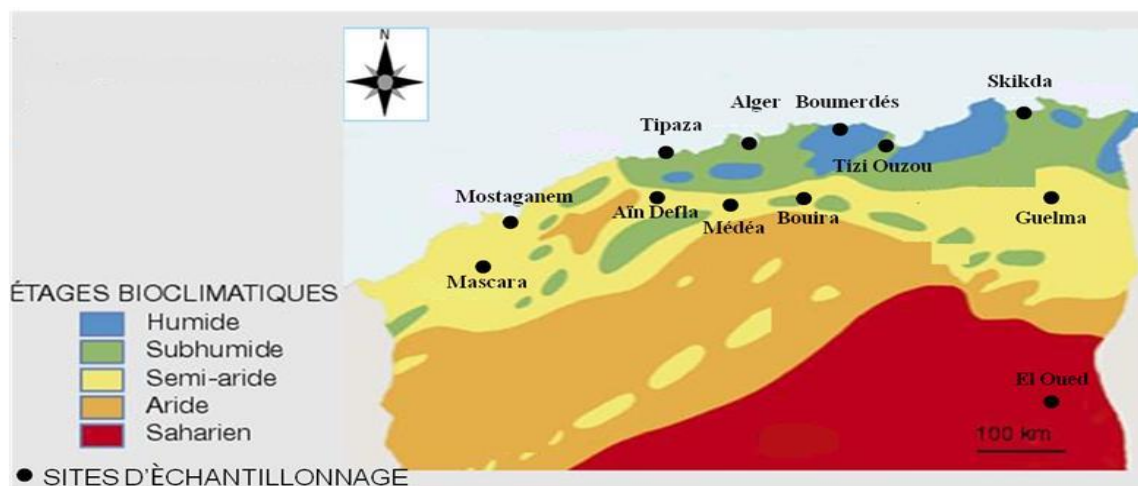


Figure 5. Carte d'Algérie montrant les différents étages bioclimatiques (D'après Meddour et *al.*, 2019) et les sites d'échantillonnage du mildiou.

TABLEAU 4. Etages et sous étages bioclimatiques de quelques wilayas productrices de pomme de terre en Algérie.

ÉTAGES BIOCLIMATIQUES	SOUS ÉTAGES BIOCLIMATIQUES	WILAYAS
Subhumide	Hiver tempéré	Alger, Tizi Ouzou
Subhumide	Hiver frais	Boumerdès
	Hiver chaud	Skikda
Semi-aride	Hiver Frais	Aïn Defla, Médéa
	Hiver tempéré	Guelma, Bouira, Mostaganem
Aride	Hiver tempéré	Mascara
Saharien		El Oued

Le nombre d'échantillons collectés s'élève à 202 pour la région centre, 10 pour celle de l'est et 11 pour celle de l'ouest soit un total de 223 échantillons (Tableau 5). La wilaya, la date de prélèvement des échantillons du mildiou, l'étage bioclimatique, le type de culture et la variété sont indiqués dans l'annexe II. Le prélèvement de ces échantillons a été réalisé à partir des feuilles et des tiges de pomme de terre qui présentent les symptômes typiques du mildiou de plusieurs variétés notamment la variété Spunta. Ces échantillons ont été utilisés soit pour l'obtention d'isolats cultivés sur milieu artificiel, soit pour la réalisation d'empreintes d'ADN sur des cartes FTA (*Whatman Flinders Technology Associates*) (Tableau5).

III.1.2. Milieux de culture utilisés

L'isolement et la purification des isolats de *P. infestans* ont été réalisés sur deux milieux de culture: PPA (Petits Pois Agar) et V8 dont les compositions sont indiquées dans l'annexe I (Glais et Corbière, 2005 ; Mazáková et *al.*, 2006). Le milieu PPA à base de petits pois gélosé est utilisé

pour la présence d'un facteur stéroïde qui stimule la croissance végétative et la production des sporanges.

TABLEAU 5. Régions, wilayas et nombre d'isolats de *P. infestans* et de cartes FTA des échantillons collectés entre 2010-2016 et 2015-2016 dans les champs de pomme de terre.

REGIONS	WILAYAS	NOMBRE D'ISOLATS	NOMBRE DE CARTES FTA	TOTAUX
CENTRE				
	Alger	68	52	120
	Ain Defla	9	3	12
	Bouira	11	4	15
	Boumerdès	5	7	12
	Médea	10	3	13
	Tipaza	4	8	12
	Tizi Ouzou	11	7	18
	TOTAL	118	84	202
EST				
	Guelma	4	2	6
	Skikda	3	1	4
	TOTAL	7	3	10
OUEST				
	Mascara	5	5	10
	Mostaganem	1	-	1
	TOTAL	6	5	11

III.1.3. Cartes FTA pour le prélèvement des échantillons d'ADN de *P. infestans*

Les cartes FTA permettent la capture immédiate de l'ADN en vue de l'amplification directe par les SSRs au laboratoire. Le prélèvement des échantillons du mildiou sous forme d'ADN mixte de pomme de terre et de *P. infestans* a été réalisé à l'aide de ces cartes FTA. Sur les 223 échantillons collectés, 92 ont été obtenus par des empreintes sous forme d'ADN sur ces cartes.

III.2. METHODES

III.2.1. Isolement et purification des isolats de *P. infestans*

Les isollements de *P. infestans* ont été effectués selon la méthode proposée par Corbière et Andrivon (2003) (<http://www.eucablight.org/EucaBlight.asp>). Ces isollements ont été réalisés à partir de tiges et des fragments de limbes foliaires fraîchement collectés et présentant les fructifications asexuées vivantes de *P. infestans*.

Des tranches de 5 mm d'épaisseur prélevées sur des tubercules sains de pomme de terres ont été préalablement désinfectées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 1%, séchées à l'aide d'un papier filtre stérile, puis placées dans des boîtes de congélation contenant un papier filtre humidifié. Sur chaque tranche de pomme de terre, deux fragments de feuilles ou de tiges sont déposés à ces extrémités (Fig. 6A). Lors du dépôt, la face sporulante de la nécrose doit-être en contact avec les tranches de pomme de terre.

Les boîtes de Petri contenant les tranches de pomme de terre sur lesquelles ont été déposés les fragments de feuilles ou de tiges malades, sont fermées hermétiquement puis placées à l'obscurité dans une étuve réglée à une température de 18°C jusqu'à l'apparition d'amas mycéliens. A partir de ces derniers, des fragments mycéliens sont prélevés stérilement à l'aide d'une pipette Pasteur puis déposés dans des boîtes de Petri contenant un milieu de culture PPA (Fig. 6B). Les boîtes de Petri sont ensuite placées à l'obscurité dans un incubateur réglé à une température de 20°C jusqu'à l'apparition des colonies de *P. infestans*. Lorsque les colonies sont bien développées, elles sont repiquées à nouveau sur le même milieu de culture.

La purification des isolats de *P. infestans* s'effectue lorsque les colonies sont bien visibles sur le milieu de culture. Des explants de 7 mm de diamètre sont prélevés, sous des conditions stériles, à la périphérie de ces colonies puis repiqués sur les milieux PPA ou V8 qui contiennent les deux antibiotiques : ampicilline et rifamycine. La purification des isolats se fait ensuite par des repiquages successifs afin d'éliminer les contaminants bactériens et fongiques (Fig. 6C).

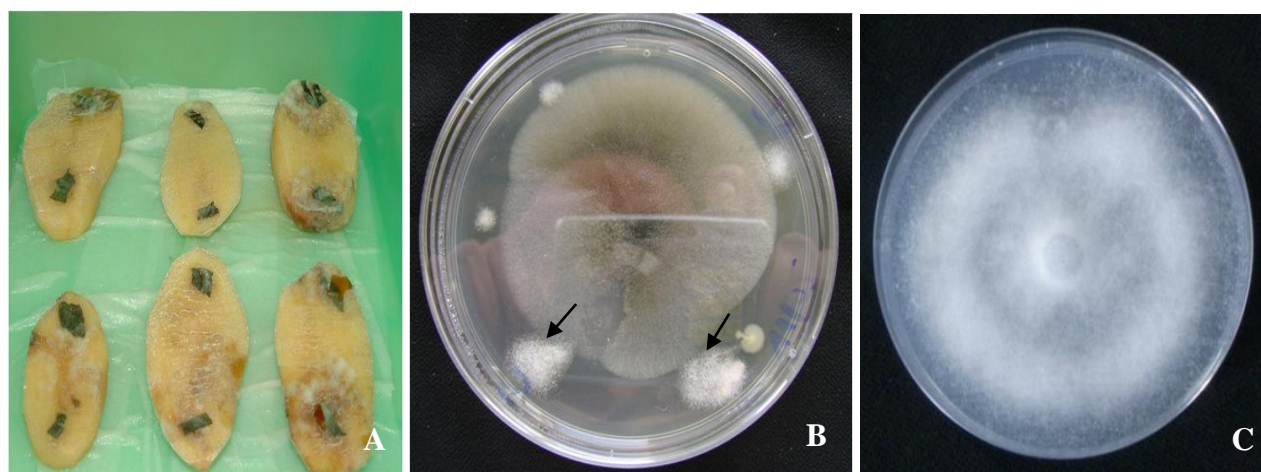


Figure 6. Isolement et purification des isolats de *P. infestans*. **A.** Rondelles de tubercule montrant le développement de mycélium de *P. infestans* à partir de fragment de tiges et de feuilles de pomme de terre. **B.** Boîte de Petri contenant un milieu de culture PPA montrant des colonies de *P. infestans* (flèches). **C.** Colonie purifiée de *P. infestans* sur un milieu de culture PPA.

III.2.2. Conservation des isolats

Afin d'éviter les contaminations fongiques et bactériennes et maintenir leur viabilité, les isolats purifiés de *P. infestans* sont repiqués tous les 6 à 7 semaines et incubés à l'obscurité et à une température comprise entre 15 et 20°C. La conservation des cultures pures obtenues a été réalisée selon leur utilisation future. Pour une utilisation à court terme, les cultures âgées de 15 jours ont été conservées à une température de 4°C soit dans des boîtes de Petri, soit dans des tubes à essai contenant une solution aqueuse de glycérol à 70%. Pour une utilisation à moyen terme, des explants mycéliens sont prélevés à partir de culture pure de *P. infestans*. Afin d'avoir un développement mycélien tout autour des explants, ces derniers sont ensuite placés dans des flacons contenant un milieu liquide PPA (Annexe I). Le mycélium est ensuite récupéré, placé dans des tubes Eppendorf stériles de 1,5 ml puis conservés dans un congélateur à une température de -20°C. Une étiquette mentionnant le code de l'isolat et la date d'isolement est collée sur chaque tube Eppendorf.

III.2.3. Prélèvements des échantillons d'ADN de *P. infestans* à l'aide des cartes FTA

L'échantillonnage à l'aide des cartes FTA a été réalisé à partir de différents foyers du mildiou dans des parcelles ayant une grande superficie et éloignées les unes des autres. Le prélèvement des échantillons est réalisé de manière aléatoire à des endroits différents à l'intérieur de ces parcelles et à partir de lésions foliaires proches si possible du sol. Ces prélèvements ont été réalisés selon le protocole suivant (<http://www.euroblight.net/>) :

- Dépôts des fragments foliaires présentant les fructifications asexuées à leur face inférieure dans le cercle d'échantillonnage de la carte FTA (Fig. 7A),



Figure 7. Prélèvement des échantillons d'ADN de *P. infestans* à l'aide des cartes FTA. **A.** Fragments foliaires présentant les fructifications asexuées à leur face inférieure dans le cercle d'échantillonnage de la carte FTA. **B.** Carte FTA montrant le numéro de l'échantillon, l'année de l'échantillonnage, la première lettre de la variété plantée, la date de prélèvement de l'échantillon et le code de la wilaya. **C.** Conservation des cartes FTA dans des sacs zips.

- Pression à l'aide d'un pilon sur la carte FTA pliée pour fixer l'ADN mixte du fragment foliaire et du *P. infestans* dans le cercle d'échantillonnage de cette carte,
- Vérification de la visibilité de l'extrait du jus à la face dorsale de la carte FTA,
- Étiquetage de la carte FTA par un numéro comportant la date du prélèvement de l'échantillon, la date de l'échantillonnage, la première lettre de la variété plantée et le code de la wilaya (Fig. 7B),
- Conservation à 4°C des cartes FTA dans des sacs zip (Fig. 7C).

III.2.4. Caractérisation phénotypique des isolats de *P. infestans*

Les isolats de *P. infestans* ont été caractérisés par les marqueurs phénotypiques suivants : type de compatibilité sexuelle A1 ou A2, résistance des isolats de *P. infestans* au métalaxyl, évaluation de l'agressivité des isolats et réponse à l'égard d'une gamme de températures.

III.2.4.1. Type de compatibilité sexuelle des isolats de *P. infestans*

Le type de compatibilité sexuel de chaque isolat a été déterminé sur un milieu de culture PPA par confrontation avec des isolats de référence connus A1 ou A2 de provenance du laboratoire de l'INRAE, Le Rheu, Rennes (France). Après 10-14 jours d'incubation à l'obscurité et à une température de 15°C, les cultures sont vérifiées sous une loupe binoculaire pour la présence ou l'absence d'oospores dans la zone de confrontation entre les isolats appariés. Les isolats formant des oospores sur des boîtes de Pétri avec le type de compatibilité sexuel A1 ont été classés comme A2, les isolats qui ont formé des oospores avec le type de compatibilité sexuel A2 ont été enregistrés comme A1.

III.2.4.2. Résistance *in vitro* des isolats de *P. infestans* au métalaxyl

La résistance *in vitro* des isolats de *P. infestans* a été testée par incorporation du métalaxyl (Ridomil Gold® 480 fourni par la société Syngenta) dans le milieu de culture PPA (Hammi, 2003 ; Jmour et Hamada, 2006) (Annexe III). Trente-sept isolats de *P. infestans* appartenant aux trois lignées clonales [EU_13_A2 (23 isolats), EU_23_A1 (9 isolats) et EU_2_A1 (5 isolats)] ont été testés pour leur résistance au métalaxyl aux concentrations 10 et 100 mg/l (Tableau 6). Les isolats dont la croissance mycélienne n'est pas inhibée sur le milieu de culture contenant 100 mg/l de métalaxyl sont classés comme résistants, ceux sur 10 mg/l comme intermédiaires. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne est déterminé selon l'équation suivante :

$$PI (\%) = \frac{T - Dc}{T} \times 100$$

où : *PI* = Pourcentage d'inhibition, *T* = Diamètre du témoin, *Dc* = Diamètre de l'isolat testé à une dose déterminée.

TABLEAU 6. Lignées clonales des isolats de *P. infestans* utilisés dans les tests *in vitro* de la résistance au métalaxyl et de la réponse à l'égard d'une gamme de températures.

LIGNEES CLONALES	CODES DE L'ISOLAT	TYPES DE CULTURE	WILAYAS
EU_13_A2	13 P18	Arrière-saison	Guelma
	15 P29	Saison	Alger
	15 P30	Saison	Alger
	11 P12	Saison	Alger
	11 P04	Arrière-saison	Alger
	11 P10	Saison	Alger
	11 P11	Saison	Alger
	11 P06	Arrière-saison	Alger
	14 P20	Saison	Tizi Ouzou
	15 P33	Arrière-saison	Bouira
	15 P16	Saison	Tizi Ouzou
	15 P44	Arrière-saison	Bouira
	15 P18	Saison	Mascara
	15 P22	Saison	Médéa
	14 P30	Saison	Aïn Defla
	15 P13	Saison	Tizi Ouzou
	15 P31	Saison	Médéa
	15 P41	Arrière-saison	Bouira
	15 P17	Arrière-saison	Tizi Ouzou
	15 P14	Saison	Tipaza
	14 P28	Saison	Alger
15 P30	Saison	Alger	
15 P37	Arrière-saison	Mascara	
EU_2_A1	11 P08	Saison	Aïn Defla
	11 P09	Saison	Alger
	11 P02	Arrière-saison	Alger
	13 P01	Saison	Alger
	14 P03	Arrière-saison	Alger
EU_23_A1	15 P51	Arrière-saison	Boumerdès
	15 P55	Arrière-saison	Boumerdès
	15 P59	Saison	Tipaza
	15 P32	Arrière-saison	Bouira
	15 P50	Arrière-saison	Boumerdès
	16 P01	Saison	Alger
	15 P29	Saison	Aïn Defla
	15 P39	Arrière-saison	Alger
	15 P35	Arrière-saison	Mascara

III.2.4.3. Réponse *in vitro* des isolats de *P. infestans* à l'égard d'une gamme de températures

La croissance mycélienne sur milieu PPA a été utilisée pour évaluer le comportement des isolats de *P. infestans* sous les cinq températures suivantes : 10°C, 15°C, 20°C, 25°C et 30° C. Au total trente-sept isolats de *P. infestans* appartenant aux trois lignées clonales [EU_13_A2 (23 isolats), EU_23_A1 (9 isolats) et EU_2_A1 (5 isolats)] ont été testés pour leur réponse à l'égard de ces températures (Tableau 6). A l'aide d'un emporte-pièce stérile, des explants de 14 mm de diamètre sont prélevés à partir de colonies mycéliennes âgées de 2 semaines. Les explants sont ensuite placés dans des boîtes de Petri de 90 mm de diamètre contenant un milieu PPA. Ces dernières sont incubées aux cinq températures citées ci-dessus. Trois répétitions sont effectuées pour chaque isolat et chaque température. Le diamètre des colonies mycéliennes est mesuré tous les trois jours à partir du troisième jour d'incubation jusqu'au dixième jour.

III.2.4.4. Agressivité des isolats de *P. infestans* sur folioles détachées

L'agressivité de quelques isolats de *P. infestans* a été testée sur deux cultivars de pomme de terre Spunta et Désirée. A cet effet, des folioles détachées de ces deux variétés ont été inoculées par treize isolats de *P. infestans* appartenant aux trois lignées clonales ont été testés pour leur agressivité [EU_13_A2 (7 isolats), EU_23_A1 (3 isolats) et EU_2_A (3 isolats)] (Tableau 7). Pour cela, une suspension sporangiale de 5.10^4 sporanges/ml est récupérée dans des tubes qui sont ensuite placés dans un réfrigérateur réglé à une température de 4°C pendant une durée de 3 à 4 heures afin de libérer les zoospores (Fig. 8A). Les folioles sont ensuite inoculées sur leur face inférieure par le dépôt d'une goutte de 20 μ l de la suspension de zoospores (5.10^4 sporanges/ml) (Fig. 8B). Les notations sont effectuées dès l'apparition des symptômes du mildiou (Fig. 8C). Le comportement *in vitro* des lignées clonales testées a été estimé par les composantes de l'agressivité (périodes d'incubation et de latence, taille des lésions et intensité de la sporulation) (Colon et al., 2004)(<http://www.eucablight.org/EucaBlight.asp>).

III.2.4.5. Analyse statistique

La validité des éventuelles variations des paramètres étudiés est réalisée par une analyse de la variance à un seul facteur (*Anova*) en utilisant les logiciels suivants :

- *Excel Stat* ($P < 0,0001$) pour réaliser les analyses des résultats du comportement *in vitro* des lignées clonales de *P. infestans* testés vis-à-vis du métalaxyl et d'une gamme différente de température ;
- R v.3.3.2. pour effectuer les analyses des composantes de l'agressivité (périodes d'incubation et de latence, taille des lésions et intensité de la sporulation).

- STATISTICA v.8.0. pour classer les variables selon le test de Tukey HSD à $\alpha = 0.05$
- JASP v.0.8.5.1. pour tester la dépendance de la distribution géographique des types sexuels.

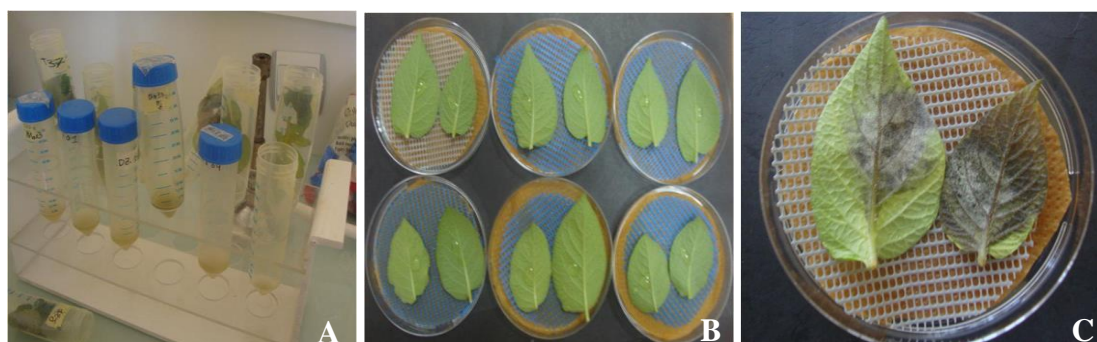


Figure 8. Aggressivité des isolats de *P. infestans* sur folioles détachées de pomme de terre. **A.** Suspension sporangiale récupérée dans des tubes à essai. **B.** Folioles inoculées sur leur face inférieure par le dépôt d'une goutte de la suspension de zoospores. **C.** Apparition des symptômes du mildiou sur les folioles détachées après inoculation.

TABLEAU 7. Lignées clonales des isolats de *P. infestans* utilisés dans le test d'agressivité sur folioles détachées de pomme de terre.

Lignées clonales	Codes des isolats	Saisons de culture	Wilayas
EU_13_A2	13 P18	Arrière-saison	Guelma
	15 P29	Saison	Alger
	15 P30	Saison	Alger
	15 P36	Saison	Médéa
	15 P59	Saison	Tipaza
	15 P34	Arrière-saison	Bouira
	15 P26	Saison	Tizi Ouzou
EU_2_A1	15 P26	Arrière-saison	Alger
	15 P35	Arrière-saison	Mascara
	14 P20	Saison	Tipaza
EU_23_A1	16 P01	Arrière-saison	Alger
	15 P32	Arrière-saison	Bouira
	16 P02	Arrière-saison	Boumerdès

Les fréquences des types de compatibilité sexuel A1 et A2 pour les trois régions d'étude (centre, est et Ouest) ainsi que leurs proportions en fonction de chaque type de culture (saison et arrière-saison) ont été calculées et comparées à l'aide de test du chi-deux (χ^2).

III.2.5. Caractérisation génotypique des isolats de *P. infestans* par les marqueurs SSRs

L'utilisation des marqueurs SSRs a permis une meilleure distinction des génotypes de *P. infestans* et une vision beaucoup plus claire concernant les populations de ce pathogène. La caractérisation génotypique des isolats algériens de *P. infestans* a été réalisée par un ensemble de 17 marqueurs SSRs. Le génotypage des échantillons de *P. infestans* a été effectué au niveau de l'unité de recherche de l'INRAE, Le Rheu, Rennes (France).

III.2.5.1. Marqueurs microsatellites SSRs utilisés

Les régions polymorphiques des loci et la structure génétique des populations de *P. infestans* ont été réalisées par les marqueurs SSRs suivants : PiG11, Pi4B, Pi4G (Knapova et Gisi, 2002), D13, Pi04, Pi33, Pi16, Pi56, Pi63, Pi70 (Lees et *al.*, 2006), PinfSSR2, PinfSSR3, PinfSSR4, PinfSSR6a, PinfSSR7, PinfSSR8, PinfSSR11 (Li et *al.*, 2010). L'un des quatre marqueurs fluorescents suivants : 6FAM, NED, VIC et PET a été attribué à chaque locus. Les séquences nucléotidiques des marqueurs sont indiquées dans le tableau 8.

III.2.5.2. Purification de l'ADN des cartes FTA

Des petits disques de 2 mm de la carte FTA ont été perforés à l'aide d'un Harris Micro Punch et traités par le réactif de purification FTA (Whatman, Inc., USA) avant d'être placés directement dans le mélange PCR pour une analyse multiplex SSR (Li et *al.*, 2013). Ces disques ont été lavés deux fois avec 400 μ l de réactif de purification FTA suivi de deux rinçages avec 400 μ l de tampon Tris-EDTA (Tris 10 mM et EDTA 0,1 mM).

III.2.5.3. Extraction et quantification de l'ADN des isolats de *P. infestans*

L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée sur les isolats de *P. infestans* cultivés dans un milieu liquide PPA. Le mycélium de ces isolats a été collecté par filtration, puis congelé, lyophilisé et broyé en poudre fine. L'ADN a été extrait à l'aide du kit NucleoSpin Tissue conformément aux recommandations du fabricant. L'estimation de la quantité d'ADN extraite et la vérification de sa pureté ont été réalisés par spectrophotométrie à l'aide d'un NanoDrop Thermoscientific 2000C.

III.2.5.4. Génotypage par les marqueurs SSRs

Les 131 échantillons d'ADN et les 92 disques FTA purs de *P. infestans* ont été amplifiés à l'aide du kit Type-it Microsatellite PCR de QIAGEN (Li et *al.*, 2013). Le volume réactionnel de 5 μ l était composé de 2 μ l d'ADN (5 ng/ μ l), 2,5 μ l de Master mix PCR (Qiagen), 0,5 μ l d'amorces et 3 μ M de MgCl₂.

TABLEAU 8. Séquences nucléotidiques des marqueurs : SSRs et fluorescents.

MARQUEURS	SEQUENCES DES MARQUEURS MICROSATELLITES		M. F*
	FORWARD 5'(SENS)	REVERSE 3'(ANTI-SENS)	
D13	TGCCCCCTGCTCACTC	GCTCGAATTCATTTTACAGACTTG	6FAM
Pi04	AGCGGCTTACCGATGG	CAGCGGCTGTTTCGAC	VIC
Pi33	TGCCGACGACAAGGAA	CGGTCTGCTGCTGCTC	PET
Pi16	CACAGCACGCGGAATC	ACGCCGAGTGTCTGA	VIC
Pi56	AACTATCTATTCGGCGTGCAT	CAGGCCGCAATTGTAAGA	PET
Pi63	ATGACGAAGATGAAAGTGAGG	CGTATTTTCTGTTTATCTAACACC	6FAM
Pi70	ATGAAAATACGTCAATGCTCG	CGTTGGATATTTCTATTTCTTCG	VIC
G11	TGCTATTTATCAAGCGTGGG	TACAATCTGCAGCCGTAAGA	NED
Pi4B	AAAATAAAGCCTTTGGTTCA	GCAAGCGAGGTTTGTAGATT	PET
PinfSSR1	CACGACGTTGTA AAAACGACGGCGCCCTACCCACCGTC	GTTTGC GCCTCTTCGCGGACGC	NED
PinfSSR2	CACGACGTTGTA AAAACGACCGACTTCTACATCAACCGGC	GTTTGCCTGGACTGCGTCTTTAGC	PET
PinfSSR3	CACGACGTTGTA AAAACGACACTTGCAGAACTACCGCCC	GTTTGACCACTTTCCTCGGTTT	NED
PinfSSR4	CACGACGTTGTA AAAACGACTCTTGTTCGAGTATGCGACG	GTTTCACTTCGGGAGAAAGGCTTC	NED
PinfSSR6	CACGACGTTGTA AAAACGACTCGCCACAAGATTATTCCG	(a)GTTTTGGTGGGGCTGAAGTTTT (b)GTTTCATCATGGAGCGTAGGATGG	VIC VIC
PinfSSR7	CACGACGTTGTA AAAACGACGTCCTCGGCGTTCTATGAC	GTTTCCGAGTACCGAATGAGGC	6FAM
PinfSSR8	CACGACGTTGTA AAAACGACAATCTGATCGCAACTGAGGG	GTTTACAAGATACACACGTCGCTCC	6FAM
PinfSSR11	CACGACGTTGTA AAAACGACTTAAGCCACGACATGAGCTG	GTTTAGACAATGTTTTGTGGTCCG	NED

*= Marqueurs fluorescents

L'amplification a été réalisée dans un thermocycleur C1000 (Bio-Rad) selon le programme suivant : une dénaturation initiale à 94°C pendant 5 minutes suivie de 30 cycles. Chaque cycle est constitué d'une phase de dénaturation de 20 secondes à 94°C, d'une hybridation de 25 secondes à 58°C, d'une extension de 30 secondes à 72°C et une étape finale d'élongation pendant 5 minutes à 72°C.

Les produits d'amplification ont été divisés en deux lots multiplex en fonction de la taille des allèles attendus: 6FAM (D13, PinfSSR8), VIC (Pi04, Pi70), NED (G11, PinfSSR3 et PinfSSR11), PET (PinfSSR2, Pi4B) dans le premier lot et 6FAM (Pi63), VIC (Pi16, PinfSSR6), NED (Pi4G, PinfSSR4), PET (Pi33, Pi56) dans le deuxième lot. Un volume de 8 µl de chaque échantillon amplifié comprenant un tampon de charge contenant un mélange de 5 µl de formamide déionisé Hi-Di, 0,5 µl d'un marqueur de taille étalon 500 LIZ et 2,5 µl de dilution 150 fois des produits PCR multiplexés. Ce mélange a été séquençé dans un séquenceur d'ADN ABI Prism 3130xl, selon les instructions du fabricant (Applied Biosystems). La taille et l'attribution des allèles ont été lues à l'aide du logiciel GeneMapper v. 3.5 (Applied Biosystems). Ce dernier permet de déterminer la taille des allèles de chaque échantillon de *P. infestans* pour chacun des 17 microsatellites étudiés.

Les échantillons d'ADN pour lesquels le signal est absent sont considérés comme manquants (allèle absent).

III.2.5.5. Analyse statistique des données SSRs

Les échantillons de *P. infestans* génotypés ont été regroupés en fonction de leur localisation géographique. Les paramètres étudiés sont : le nombre total d'allèles (A_r), le nombre effectif d'allèles (A_e) à chaque locus et dans chaque population et le nombre d'allèles privés (Pa). La diversité génétique, telle que l'hétérozygotie attendue dans l'ensemble des données (H_t) et celle calculée à partir de l'hétérozygotie attendue (H_s) à chaque locus et dans chaque population, a été estimée à l'aide du logiciel Genodive v. 2.0 (Meirmans et Van Tienderen, 2004).

Le MLL ("Multilocus Lignage") de chaque isolat et les MLG ("Multilocus Genotype") ont été déterminés à l'aide du logiciel GenAlEx v. 6.5.0.3 (Peakall et Smouse, 2012). Une matrice de covariance de parenté construite dans Genodive v. 2.0 a été chargée dans Primer 7 (<http://www.Primer7.ut.ee>). Une analyse de la variance à deux voies (*Permanova*) (facteur 1 = régions ; facteur 2 = MLL), a été réalisée avec 10 000 permutations non restreintes des données brutes et des sommes de carrés de type III. La signification est basée sur la valeur pseudo- F (Clarke et Warwick, 2001).

Le logiciel Genotype v. 1.2 a été utilisé pour calculer la matrice de distance à l'aide du modèle d'allèle infini avec un seuil fixé à 0. Deux niveaux d'analyse ont été considérés : (a) les individus ont été regroupés selon leur localisation géographique et (b) un MLL a été attribué à chaque individu et donc le nombre total de génotypes (MLG_t), le nombre effectif de génotypes (MLG_e), la diversité génotypique ($Div.$) et l'indice corrigé de Shannon-Weiner ($Shc.$) ont été calculés avec le logiciel Genodive v. 2.0. La matrice génétique basée sur l'algorithme de regroupement par voisinage utilisant 1000 bootstraps a été utilisée pour construire un arbre phylogénétique circulaire avec le logiciel FigTree v. 1.4.2.

La structure génétique des populations de *P. infestans* a été analysée à l'aide du logiciel STRUCTURE v. 2.3.4, avec un nombre optimal des groupes (K) déterminé par la méthode ΔK (Evanno et al., 2005) du logiciel STRUCTURE HARVESTER (Earl et VonHoldt, 2012). Le nombre K (= nombre de groupes génétiques au sein de la population) a été testé de 1 à 10, avec 20 répétitions pour chaque K pour vérifier la convergence de la chaîne de Markov Monte Carlo (MCMC). Pour chaque exécution, 20 000 étapes d'allumage ("burn-in period") suivies de 100 000 itérations ont été effectuées. La probabilité postérieure des données [$\ln P(D)$] pour chaque valeur de K a été vérifiée pour confirmer le nombre optimal des groupes (K) choisi. Une analyse en composantes prin-

cipales (ACP) complémentaire a été réalisée à l'aide du logiciel Genodive v. 2.0 afin de valider la structure génétique. L'indice de différenciation des populations de *P. infestans* par paire (F _statistique) ainsi que le niveau de signification ont été calculés avec le logiciel Genodive v.2.0.

L'analyse de la variance moléculaire (*amova*) a été réalisée à deux reprises (Excoffier et *al.*, 1992). Les individus ont été classés d'abord selon leur localisation géographique (ouest, centre et est), ensuite ils ont été regroupés en tenant compte de leurs MLLs (EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1). Ces analyses ont permis de déterminer la répartition de la diversité génétique au sein et entre les populations. L'*amova* a été réalisée à l'aide du logiciel Genodive v. 2.0. L'algorithme Rho-st (Ronfort et *al.*, 1998) a été sélectionné car il s'agit de la seule mesure de différenciation des populations qui est indépendante du niveau de ploïdie et qui ne semble pas biaisée par le type d'héritage (Meirmans & Van Tienderen, 2013).

PARTIE II

COMPORTEMENT DE QUELQUES CULTIVARS DE POMME DE TERRE

A L'EGARD DES LIGNEES CLONALES DE *P. INFESTANS*.

III.3. MATERIEL

III.3.1. Stations d'étude et cultivars utilisés

Afin d'évaluer la résistance de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard du mildiou, deux essais en plein champ ont été réalisés en 2015 et en 2016 dans les parcelles des deux instituts ITCMI et CNCC respectivement localisés à Staouéli et Bab-Ezzouar (wilaya d'Alger).

En 2015, huit cultivars de pomme de terre : Désirée, Florice, Spunta, Passion, Eden, Coquine, Frivol et Cephora ont été testés pour leur résistance dans les deux essais (Fig. 9). En 2016 ces mêmes variétés ont été évaluées à Staouéli., par contre, à Bab Ezzouar, il a été testé les cultivars suivants : Fabula, Désirée, Sarpo Mira, Spunta, Passion, Ferrari, Eldorado et Big Rosa (Fig. 9). Ces cultivars nous ont été fournis par la fédération française de pomme de terre (FN3PT) dans le cadre du projet ARIMNET/PoH-MED. Le nom du cultivar, l'origine, l'obteneur et le site d'essai sont indiqués dans le tableau 9.

III.4. METHODES

III.4.1. Dispositif expérimental et conduite des essais en plein champ

Les essais ont été réalisés sur des parcelles de 714 m² selon un dispositif aléatoire de Fisher à 3 blocs (Fig. 9). Chaque bloc comporte 8 parcelles élémentaires, 2 travées et quatre cultivars par travée ; soit 8 cultivars par bloc. Chaque parcelle élémentaire comporte 3 rangs de 15 tubercules

du cultivar à tester flanqué des deux côtés par un rang infecteur de la variété Spunta. Les tubercules sont plantés à une profondeur de 5 cm selon un écartement de 0,32 m sur les rangs et 0,70 m entre les rangs soit un total de 45 tubercules par parcelle élémentaire. Plusieurs opérations culturales ont été réalisées au niveau des deux sites d'essai : deux apports d'engrais [NPK (15/15/15)] l'un au début de la plantation, l'autre au stade grossissement des tubercules ; deux irrigations par aspersion chaque semaine et un buttage pour éliminer les mauvaises herbes et protéger les tubercules de la lumière. Les dates de plantation et de récolte, d'apparition des feuilles et des symptômes sont indiquées dans le tableau 10.

III.4.2. Estimation de la sévérité de la maladie

La sévérité de la maladie a été évaluée sous les conditions naturelles de l'infection par des notations hebdomadaires durant un mois et demi. Ces notations ont porté sur la surface foliaire nécrosée exprimée en pourcentage (James, 1971) (Tableau 11).

III.4.3. Evaluation de la progression du mildiou

La progression du mildiou en fonction du temps pour chaque cultivar a été évaluée par l'aire sous la courbe de progression de la maladie ("Area Under the Disease Curve" ou AUDPC) estimée selon l'équation de Shaner et Finney (1977) :

$$\text{AUDPC} = \sum_i^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+n}}{2} \right) (t_i - t_n)$$

où

- n = nombre d'évaluation de la maladie durant le temps,
- y_i = pourcentage d'attaque estimée à l'observation i ,
- y_{i+n} = pourcentage d'attaque estimé à l'observation $i+n$,
- t_i = date de l'observation i exprimée en jour après plantation,
- t_n = date de l'observation $i+n$ exprimée en jour.

La comparaison des valeurs de l'AUDPC obtenues pour les différentes variétés testées a été réalisée par l'AUDPC relative (AUDPCr) qui indique le niveau de sensibilité des variétés. L'AUDPC relative est obtenue par le rapport des valeurs de l'AUDPC divisées par l'intervalle de temps compris entre les dates de plantation et de récolte (t_{dv}) multipliée par 100 selon l'équation de Fry (1978) :

$$\text{AUDPCr} = \frac{\text{AUDPC}}{t_{dv} \times 100}$$

où

– t_{dv} = temps compris entre les dates de plantation et de récolte (= durée du cycle végétatif).

BLOC 1		BLOC 2		BLOC 3	
Travée 1	Travée 2	Travée 3	Travée 4	Travée 5	Travée 6
Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur
V1	V5	V7	V3	V8	V4
V1	V5	V7	V3	V8	V4
V1	V5	V7	V3	V8	V4
Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur
V2	V6	V2	V1	V7	V3
V2	V6	V2	V1	V7	V3
V2	V6	V2	V1	V7	V3
Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur
V3	V7	V4	V8	V4	V6
V3	V7	V4	V8	V4	V6
V3	V7	V4	V8	V4	V6
Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur
V4	V8	V6	V5	V2	V1
V4	V8	V6	V5	V2	V1
V4	V8	V6	V5	V2	V1
Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur	Infecteur

Largeur de l'essai = 17,5 m

Longueur de l'essai = 40,8 m

Figure 9. Dispositif aléatoire de Fisher à 3 blocs utilisé dans les deux essais. Essais Bab Ezzouar (2015) et Staouéli (2015 et 2016) : V1 = Florice, V2 = Cocquine, V3 = Cephora, V4 = Eden, V5 = Passion, V6 = Frivol, V7 = Spunta, V8 = Désirée. Essai Bab ezzouar (2016) : V1 = Fabula, V2 = Sarpo Mira, V3 = Ferrari, V4 = Big Rosa, V5 = Passion, V6 = Eldorado , V7 = Spunta, V8 = Désirée. Infecteur = Spunta.

TABLEAU 9. Origines, obtenteurs et sites d'essai des cultivars de pomme de terre.

CULTIVARS	ORIGINES	OBTENTEURS	SITES D'EXPERIMENTATION
Big Rosa	France	Maison Débarge Plants	Bab Ezzouar
Cephora	France	Sementis	Staouéli et Bab Ezzouar
Coquine	France	Sementis	Staouéli et Bab Ezzouar
Désirée	Pays-Bas	HZPC	Staouéli et Bab Ezzouar
Eden	France	LSA	Staouéli et Bab Ezzouar
Eldorado	France	Van Rijn France	Bab Ezzouar
Fabula	Pays-Bas	Joh. Biemond	Bab Ezzouar
Ferrari	France	Van Rijn France	Bab Ezzouar
Florice	France	Maritime Plants	Staouéli et Bab Ezzouar
Frivol	France	Triskalia	Staouéli et Bab Ezzouar
Passion	France	Douar Den/ Van Rijn France	Staouéli et Bab Ezzouar
Sarpo Mira	Hongrie	Sarpo KFT	Bab Ezzouar
Spunta	Pays-Bas	J. Oldenburer	Staouéli et Bab Ezzouar

TABLEAU 10. Dates de la plantation, de l'apparition des feuilles et des symptômes et de la récolte en 2015 et en 2016.

	ESSAI DE BAB EZZOUAR	ESSAI DE STAOUÉLI
Coordonnée Géographique	36°43'15.42"N, 03°09'15.31"E	36°45'36.6"N, 25°30'36"E
Années	2015 et 2016	2015 et 2016
Nombre des cultivars testés	8	8
Dates de la plantation	15/02/2015 et 09/02/2016	16/02/2015 et 21/02/2016
Date de l'apparition des feuilles	12/03/2015 et 05/03/2016	13/03/2015 et 17/03/2016
Date de l'apparition des symptômes	02/04/2015 et 27/03/2016	11/04/2015 et 14/04/2016
Date de la récolte	10/06/2015 et 25/05/2016	07/06/2015 et 25/05/2016

III.4.4. Détermination du type de résistance des cultivars testés

Afin de visualiser le type de résistance des cultivars testés, les valeurs de l'AUDPC obtenues ont été utilisées pour tracer les courbes de progression de la maladie [*Disease Progress Curve* (= DPC)] dans chaque site d'essai. Ces courbes ont été linéarisées en transformant les pourcentages d'attaque y_i par l'équation $Y_i = \log_{10} (y_i/1 - y_i)$ (Andrivon et al., 2006). A partir de cette équation, il a été dérivé deux paramètres qui permettent de déterminer les types de résistance des cultivars testés (Tableau 12) :

- $\Delta a = a_i - a_r$ où a_i correspond à la pente de chaque droite du cultivar testé et a_r représente la pente du témoin sensible (Spunta),

– $\Delta t = t_i - t_r$ où t_i correspond à la date de la première infection du cultivar testée et t_r représente la date de la première infection du témoin sensible (Spunta).

TABLEAU 11. Echelle descriptive pour l'estimation du mildiou de la pomme de terre (James, 1971).

SURFACE FOLIAIRE NECROSEE (%)	DESCRIPTION DE LA SEVERITE
0,1	05 à 10 folioles infectées par plant ou 02 feuilles infectées par plant,
1	20 lésions par plant ou 10 feuilles infectées par plant,
5	100 lésions par plant ; 1 à 10 folioles infectées (jusqu'à 50 feuilles infectées),
25	Presque toutes les folioles sont infectées, mais le plant retient sa forme normale,
50	Chaque plant est infecté et 50% environ de la surface foliaire est détruite,
75	Environ 75% de la surface foliaire est détruite au niveau de chaque plant,
95	Quelques feuilles seulement par plant mais les tiges demeurant vertes,
100	Toutes les feuilles et les tiges sont mortes ou périssant.

TABLEAU 12. Types de résistances au mildiou des cultivars testés en fonction de Δa et Δt (Andrivot et al., 2006).

Δa	Δt	TYPES DE RESISTANCES
≥ 0	≤ 0	Sensible (S)
≥ 0	> 0	Résistance spécifique (RS)
< 0	≤ 0	Résistance non spécifique (RNS)
< 0	> 0	Résistance spécifique + Résistance non spécifique (RS+ RNS)

III.4.5. Estimation du rendement

Afin d'évaluer l'impact de la maladie sur la production, le rendement moyen Y_c exprimé par q/ha a été calculé pour chaque cultivar. Le rendement moyen a été utilisé pour estimer la production journalière moyenne des tubercules de pomme de terre DTP (en kg/jour) calculée selon l'équation suivante :

$$\mathbf{DTP} = \frac{Y_c}{t_{dv}}$$

où

– Y_c = rendement moyen pour chaque cultivar,

– t_{dv} = temps compris entre les dates de plantation et de récolte (= durée du cycle végétatif).

Cette approche permet d'éliminer les différences qui pourraient exister entre les durées du cycle végétatif des différents cultivars testés puisque la récolte a été réalisée dans la même journée.

III.4.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des données des essais variétaux dans les deux sites d'essai a été réalisée à l'aide du logiciel JASP v.0.8.5.1 afin d'effectuer :

- Une analyse de la variance (*Anova*) à deux facteurs en vue de tester les différences entre les observations des deux années 2015 et 2016 dans les deux sites et entre les rendements obtenus.
- Une analyse de la variance multivariée est réalisée pour tester la variance de l'AUDPCr par type de résistance de chaque cultivar. Un test de corrélation de Pearson a été effectué entre les valeurs de l'AUDPCr et les valeurs de la production journalière moyenne des tubercules DTP. Un *test-t* a été appliqué au coefficient de corrélation pour évaluer le niveau de signification.

IV. RESULTATS ET DISCUSSION

La connaissance des populations de *P. infestans* à travers la diversité phénotypique et génotypique et la réponse de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard du mildiou est essentielle pour élaborer une stratégie de lutte contre cette maladie en Algérie.

IV.1. DIVERSITE PHENOTYPIQUE DES POPULATIONS DE *P. INFESTANS*

IV.1.1. Compatibilité sexuelle des isolats

La fréquence des deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2 est respectivement de 40 % et 60 % pour les 131 isolats caractérisés en Algérie (Tableau 13). Le type de compatibilité sexuelle A2 a prévalu durant la période comprise entre les années 2010 et 2016 dans toutes les wilayas sauf à Boumerdès où le type A1 s'est montré plus important et à Mostaganem où un seul isolat du type A1 a été caractérisé.

TABLEAU 13. Fréquences des types de compatibilité sexuelle A1 et A2 par région et par wilaya.

REGIONS	WILAYAS	NOMBRE D'ISOLATS	FREQUENCES (%)	
			A1	A2
CENTRE				
	Alger	68	41,53	58,46
	Aïn Defla	09	10,00	90,00
	Bouira	11	16,66	83,33
	Boumerdès	05	88,88	11,11
	Médea	10	–	100,00
	Tipaza	04	20,00	80,00
	Tizi Ouzou	11	07,69	92,11
EST				
	Guelma	04	25,00	75,00
	Skikda	03	–	100,00
OUEST				
	Mascara	05	25,00	75,00
	Mostaganem	01	100,00	–
	Total	131		
	Fréquences nationales		40,00	60,00

Les deux types A1 et A2 coexistent, le plus souvent, dans le même foyer et plus particulièrement dans les régions du centre et de l'ouest. Le test du chi deux (χ^2) montre qu'il existe des différences significatives entre les proportions des deux types A1 et A2 dans les régions centre, est et ouest ($\chi^2= 6,224$; DDL=2 ; $P=0,045$) (Tableau 14). Il existe également des différences entre les proportions de A1 et de A2 et les types de culture de la pomme de terre ($\chi^2=24,15$; DDL=1 ; $P < 0,001$). Les types A1 et A2 se sont montrés prévalent respectivement sur les cultures d'arrière-saison et de saison (Tableau 15, Fig. 10).

TABLEAU 14. Test de Chi deux des proportions des types A1 et A2 par région.

TYPES SEXUELS	REGIONS			χ^2	DDL ¹	P ²
	CENTRE	OUEST	EST			
A1	50	3	0			
A2	60	8	7			
				6,224	2	0,045

¹ = Degré de liberté, ² = Probabilité.

TABLEAU 15. Test du Chi deux des proportions de A1 et de A2 par types de culture.

TYPES SEXUELS	TYPES DE CULTURE		χ^2	DDL ¹	P ²
	ARRIERE-SAISON	SAISON			
A1	44	9			
A2	31	47			
			24,15	1	< 0,001

¹ = Degré de liberté, ² = Probabilité.

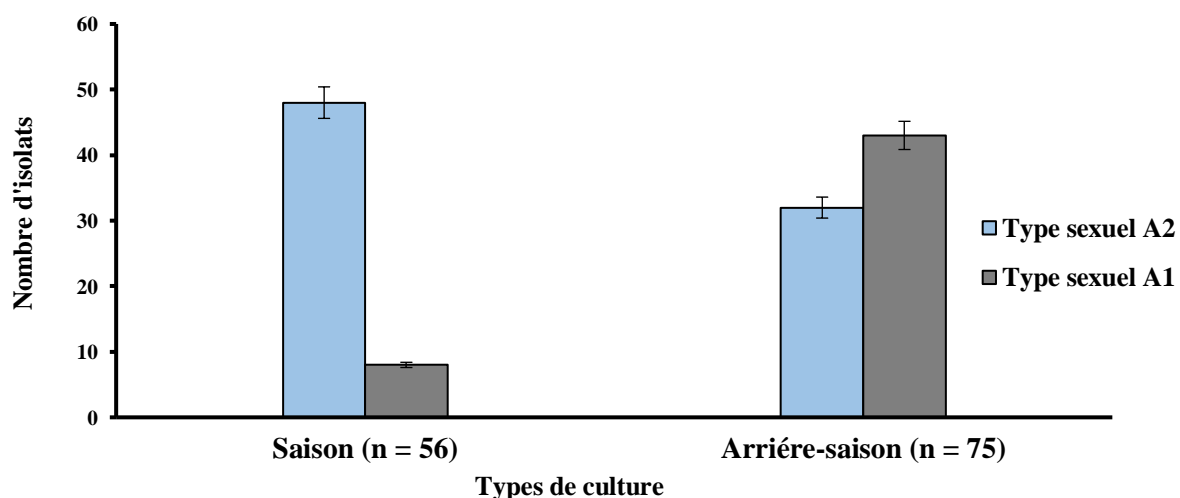


Figure 10. Proportions de A1 et de A2 par types de culture (n = nombre d'isolats).

IV.1.2. Résistance *in vitro* des isolats de *P. infestans* au métalaxyl

Sur les 37 isolats de *P. infestans* testés, 23 appartenant à la lignée clonale EU_13_A2 et 5 à la lignée EU_2_A1 se sont montrés résistants au métalaxyl, soit une fréquence de 75%. Neuf isolats appartenant à la lignée clonale EU_23_A1 se sont avérés sensibles, soit une fréquence de 25%. Le phénotype résistant au métalaxyl a prévalu dans pratiquement toutes les wilayas durant la période comprise entre les années 2011 et 2016 (Figs. 11A, B).

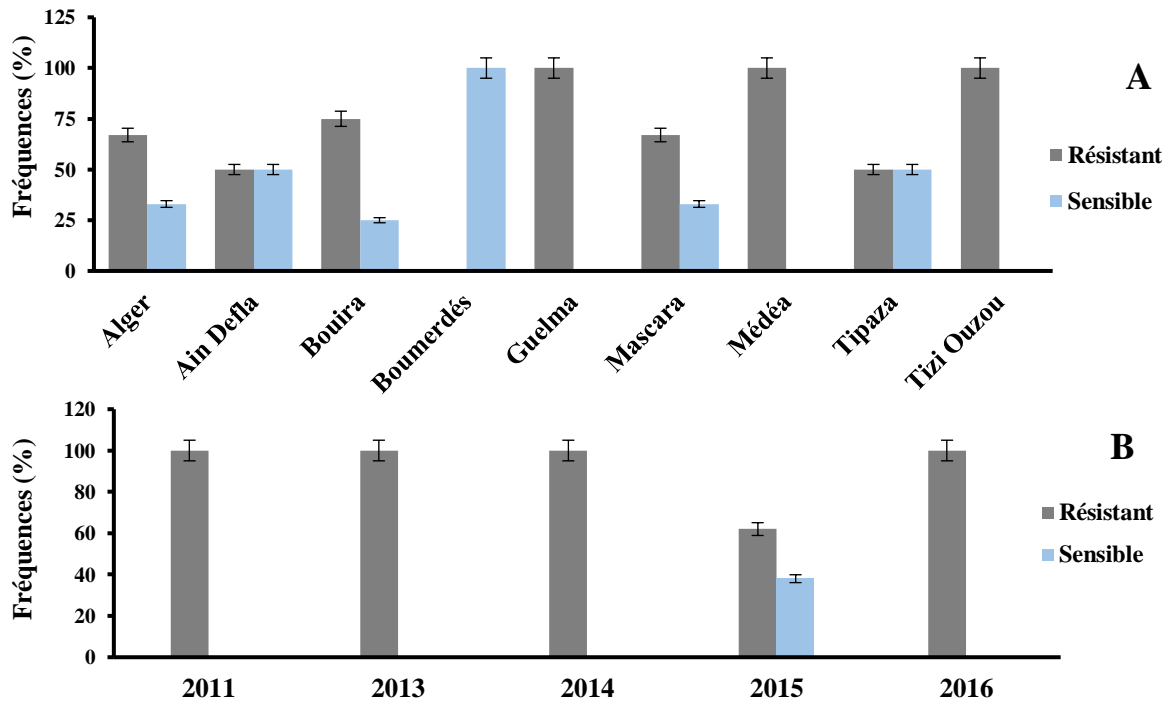


Figure 11. Fréquences des lignées clonales présentant des phénotypes résistants et sensibles au métalaxyl par wilaya (A) et par année (B).

Les pourcentages moyens d'inhibition les plus faibles ont été observés chez les isolats des lignées clonales EU_13_A2 et EU_2_A1 à la dose 100 mg/l (Fig. 12). Par contre, les isolats de la lignée EU_23_A1 ont été totalement inhibés à la dose 10 mg/l (Fig. 12). Les phénotypes résistants et sensibles de 3 isolats appartenant à ces 3 lignées clonales sont illustrés par la figure 13.

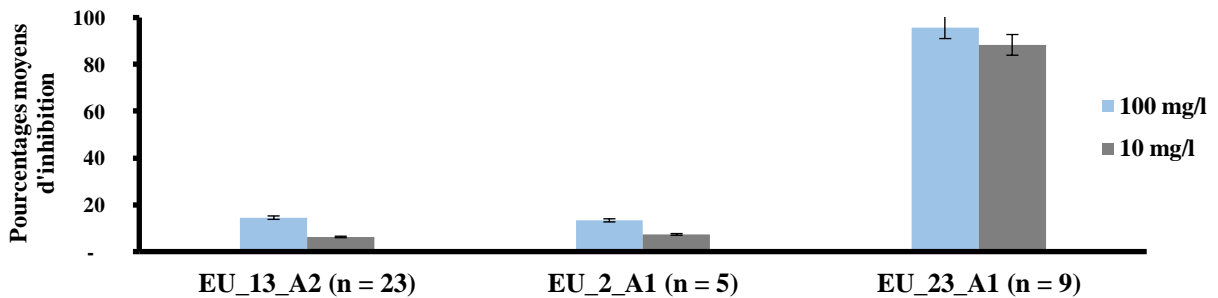


Figure 12. Pourcentages moyens d'inhibition de la croissance mycélienne des lignées clonales sous l'effet des deux doses de métalaxyl 10 et 100 mg/l (n = nombre d'isolats).

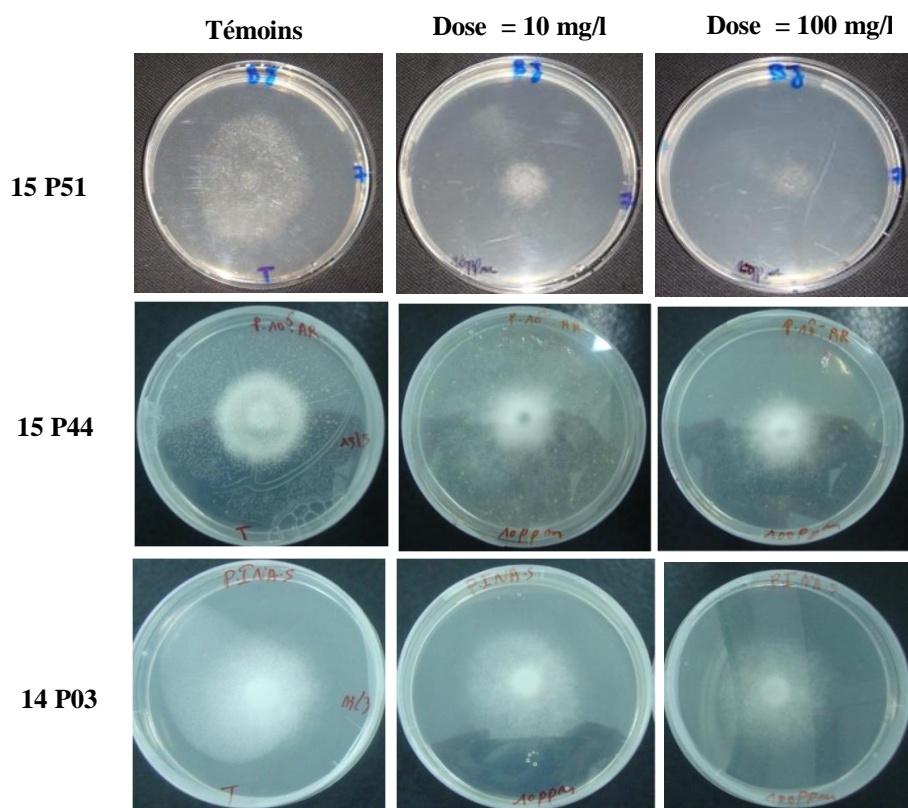


Figure 13. Comportement *in vitro* de trois isolats 15 P51, 15 P44 et 14 P03 appartenant respectivement aux lignées clonales EU_23_A1, EU_13_A2 et EU_2_A1 à l'égard des deux doses de métalaxyl (10 et 100 mg/l).

L'analyse de la variance de l'effet dose du métalaxyl sur la croissance mycélienne moyenne des lignées clonales a montré une différence hautement significative ($P < 0,0001$) pour le facteur dose et le facteur lignée clonale. Cependant, l'interaction lignées clonales/régions a révélé une différence non significative ce qui indique que l'origine géographique des isolats n'a aucun effet sur le phénotype des lignées (résistant ou sensible)(Tableau 16).

TABLEAU 16. Analyse de la variance de l'effet des deux doses de métalaxyl sur la croissance mycélienne des isolats selon les lignées clonales et les régions.

SOURCES	DLL ¹	SC ²	MC ³	F _{crit.} ⁴	P > F _{crit.}
DOSES	2	12 510,743	6255,371	14,732	<0,0001***
REGIONS	2	652,168	326,084	1,185	0,310
LIGNEES	2	28 377,485	14 188,743	51,566	<0,0001***
INTERACTION REGIONS/LIGNEES	1	0,684	0,684	0,002	0,960

¹ = Degré de liberté, ² = Somme des carrés, ³ = Moyenne des carrés, ⁴ = F critique, *** = Différence hautement significative.

IV.1.3. Croissance mycélienne des isolats sous l'effet d'une gamme de températures

La croissance mycélienne moyenne des trois lignées EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 s'est montrée optimale à la température de 20°C (Tableau 17). Cette croissance mycélienne diminue à 25°C et est complètement inhibée à 30°C (Tableau 17, Fig. 14). La figure 15 illustre le comportement *in vitro* d'un isolat 14_P30 appartenant à la lignée clonale EU_13_A2 vis-à-vis d'une gamme de températures (10, 15, 20, 25 et 30°C).

TABLEAU 17. Classement des moyennes de la croissance mycélienne des trois lignées clones selon le test de Tukey.

LIGNÉES CLONALES	CROISSANCE MYCELIENNE MOYENNE (mm)				GROUPES
	10°C	15°C	20°C	25°C	
EU_13_A2	30,48	63,24	70,37	18,25	a
EU_2_A1	30,13	68,53	71,87	12,20	a
EU_23_A1	33,38	64,13	71,38	13,08	a
$P(>F_{crit.})$	0,19	0,20	0,36	0,08	

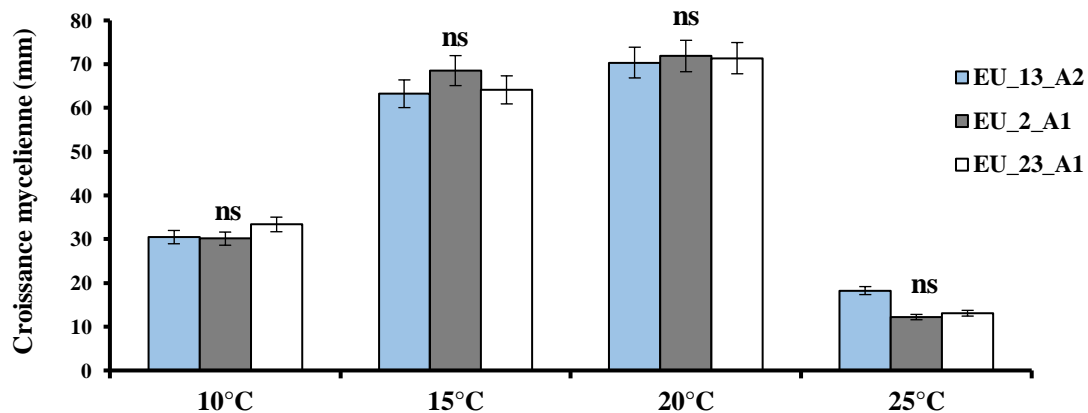


Figure 14. Comportement des lignées clones de *P. infestans* à différentes températures. Les moyennes sont classées selon le test de Tukey HSD avec $\alpha = 0,05$, (ns= non significatif).

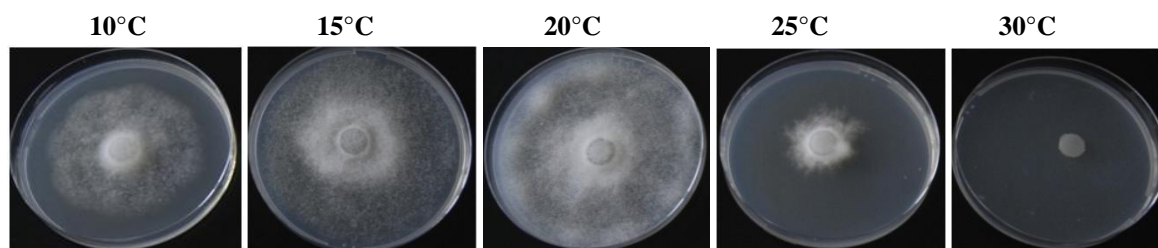


Figure 15. Comportement *in vitro* de l'isolat 14_P30 de la lignée EU_13_A2 à l'égard de cinq températures (10°C, 15°C, 20°C, 25°C et 30°C).

Le test de Tukey à 5 % sur la base des moyennes de la croissance mycélienne des trois lignées clonales fait apparaître un seul groupe homogène a (Tableau 17). Ceci indique que ces trois lignées clonales ont les mêmes exigences thermiques (Annexe IV). L'analyse de la variance de l'effet des différentes températures testées sur la croissance mycélienne a montré des différences significatives entre elles ($F_{crit.} = 996,052$; $P < 0,0001$). Cependant, l'interaction lignées clonales/régions a révélé une différence non significative, ce qui indique que la croissance mycélienne des lignées clonales est indépendante de leur origine géographique ($F_{crit.} = 0,021$, $P < 0,885$) (Tableau 18).

TABLEAU 18. Analyse de la variance de l'effet température sur la croissance mycélienne des lignées clonales de *P. infestans*.

SOURCE	DLL ¹	SC ²	MC ³	F _{crit.} ⁴	P >F _{crit.}
TEMPERATURES	4	134 896,930	33 724,232	996,052	<0,0001***
REGIONS	2	70,389	35,194	0,042	0,959
LIGNEES	2	36,840	18,420	0,022	0,978
INTERACTION REGIONS/LIGNEES	1	17,303	17,303	0,021	0,885

¹= Degré de liberté,² = Somme des carrés,³ = Moyenne des carrés,⁴ = F critique, *** = Différence hautement significative.

IV.1.4. Agressivité des isolats de *P. infestans* sur folioles détachées

Le pouvoir pathogène des trois lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 a été testé sur deux cultivars de pomme de terre : Spunta et Désirée. Les isolats de *P. infestans* testés (cf. Tableau 7) ont induit des lésions sur ces deux cultivars (Fig. 16).

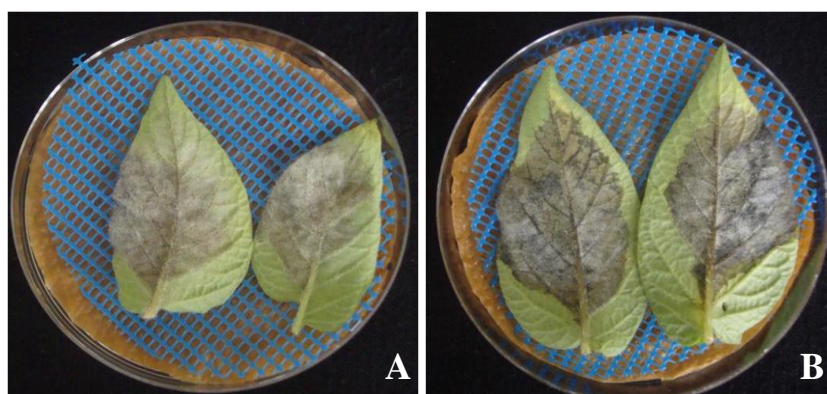


Figure 16. Folioles de deux cultivars de pomme de terre Spunta (A) et Désirée (B) présentant des lésions nécrotiques après inoculation artificielle par l'isolat 14 P03 appartenant à la lignée clonale EU_2_A1.

Le test de Tukey à 5 % sur la base des trois composantes de l'agressivité (périodes d'incubation et de latence, taille des lésions et intensité de la sporulation) a montré des différences hautement

significatives pour la lignée clonale EU_2_A1 ($P < 0,001$) et non significatives pour les lignées EU_13_A2 et EU_23_A1 (Tableau 19).

TABLEAU 19. Classement des valeurs moyennes des composantes de l'agressivité des trois lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 sur les deux cultivars Spunta et Désirée.

COMPOSANTES DE L'AGRESSIVITE	CULTIVARS	LIGNEES CLONALES		
		EU_13_A2 (n=6)	EU_2_A1(n=2)	EU_23_A1(n=5)
Période d'incubation (jours)				
	Désirée	3,47 a	2,92 a	3,50 a
	Spunta	3,12 a	4,50 b	3,82 a
	<i>P</i> (> $F_{crit.}$)	0,0649	0,00068 ***	0,095
Période de latence (jours)				
	Désirée	4,47 a	4,00 a	4,21 a
	Spunta	4,30 a	5,25 b	4,62 a
	<i>P</i> (> $F_{crit.}$)	0,151	0,000102 ***	0,139
Tailles des lésions (mm²)				
	Désirée	531,42 a	1234,73 b	711,12 a
	Spunta	517,10 a	227,84 a	584,52 a
	<i>P</i> (> $F_{crit.}$)	0,845	1,34e-06 ***	0,215
Intensité de la sporulation (spores/ml)				
	Désirée	108,91 x10 ⁴ a	246,9 x10 ⁴ b	142,22x10 ⁴ a
	Spunta	103,42 x10 ⁴ a	45,56 x10 ⁴ a	116,90x10 ⁴ a
	<i>P</i> (> $F_{crit.}$)	0,845	1,34e-06 ***	0,215

***= Différence hautement significative. Les valeurs moyennes sont classées selon le test de Tukey HSD avec $\alpha = 0,05$, n = nombre d'isolats.

Les valeurs moyennes de la durée de la période d'incubation pour les trois lignées clonales EU_13_A1, EU_2_A1 et EU_23_A1 s'élève respectivement à 3,47, 2,92 et 3,50 jours pour le cultivar Désirée et 3,12, 4,50 et 3,82 jours pour le cultivar Spunta (Tableau 19). Les valeurs moyennes de la durée de la période de latence des trois lignées sont respectivement de 4,47, 4,00 et 4,21 jours pour Désirée et de 4,30, 5,25 et 4,62 jours pour Spunta (Tableau 19).

La taille moyenne des lésions nécrotiques pour les trois lignées clonales EU_13_A1, EU_2_A1 et EU_23_A1 s'élève respectivement à 531,42, 1234,73 et 711,12 mm² pour le cultivar Désirée et 517,10, 227,84 et 584,52 mm² pour le cultivar Spunta (Tableau 19). La taille de ces lésions s'avère plus importante sur les folioles du cultivar Désirée par rapport à celle observée sur la Spunta (Fig. 17).

L'intensité de la sporulation pour les trois lignées clonales EU_13_A1, EU_2_A1 et EU_23_A1 s'élève respectivement à $108,91 \times 10^4$, $246,9 \times 10^4$ et $142,22 \times 10^4$ spores/ml pour la Désirée et $103,42 \times 10^4$, $45,56 \times 10^4$ et $116,90 \times 10^4$ spores/ml pour la Spunta (Tableau 19). La sporulation est plus importante sur le cultivar Désirée que sur Spunta et elle varie d'une lignée clonale à l'autre (Fig. 18).

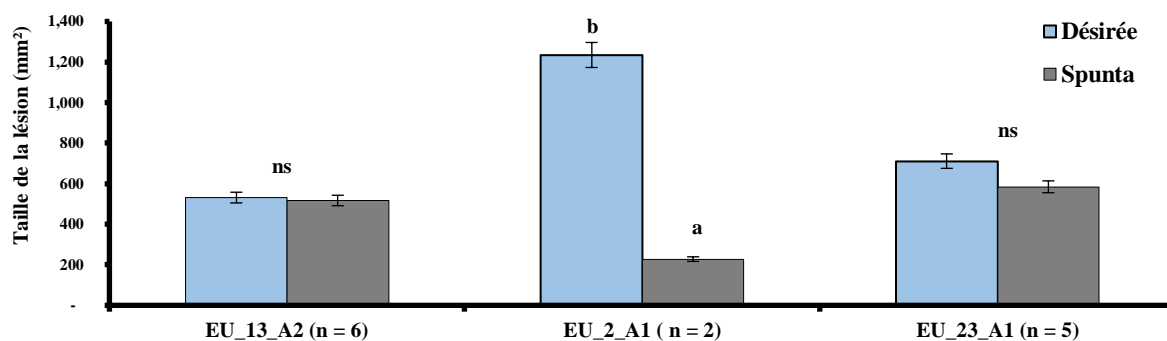


Figure 17. Taille moyenne des lésions nécrotiques(en mm²) des trois lignées clonales sur les deux cultivars Spunta et Désirée (n = nombre d'isolats, ns = non significatif, a et b = groupes homogènes).

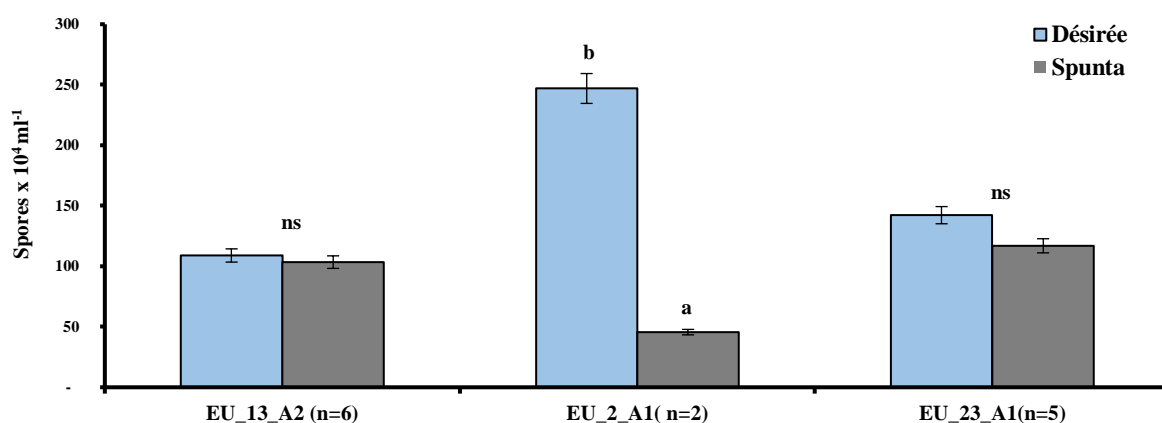


Figure 18. L'intensité de la sporulation (spores/ml)des trois lignées clonales sur les deux cultivars Spunta et Désirée (n = nombre d'isolats, ns = non significatif, a et b = groupes homogènes).

IV.1.5. Discussion

Le test de confrontation des types de compatibilité sexuelle confirme la présence en Algérie des deux types A1 et A2. Ces deux derniers coexistent souvent dans les mêmes parcelles. En outre, le type A1 est moins fréquent dans les cultures de pommes de terre par rapport au type A2. Ce dernier type s'est montré présent dans toutes les wilayas prospectées. La présence conjointe des deux types A1 et A2, même à des proportions faibles, peut avoir des effets sur l'évolution future des populations de *P. infestans*.

La proximité des deux cultures de pomme de terre et de tomate favorise probablement la présence des deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2 dans la même parcelle. La coexistence de

ces deux types augmente la probabilité d'une reproduction sexuée de *P. infestans* dans les champs de pomme de terre en Algérie. En effet, les zoospores issues de la germination des oospores peuvent provoquer des épidémies précoces (Brylinska et al., 2016). La reproduction sexuée génère habituellement une plus grande diversité génétique qui se traduit par des génotypes plus agressifs et difficiles à contrôler. Cette reproduction sexuée engendre également une augmentation des risques d'attaque du mildiou très tôt dans la saison comme cela a été signalé dans les pays du nord de l'Europe (Kiiker et al., 2019).

L'évaluation *in vitro* du comportement des isolats à l'égard du métalaxyl a montré la présence de deux phénotypes : résistants et sensible. Tous les isolats des deux lignées clonales EU_13_A2 et EU_2_A1 se sont montrés résistants au métalaxyl, ce qui indique la présence en Algérie de souches de *P. infestans* résistantes à ce fongicide (Beninal et al., 2009 ; Corbière et al., 2010 ; 2015 ; Rekad et al., 2017). Par contre, tous les isolats de la lignée EU_23_A1, se sont révélés sensibles à l'égard du métalaxyl. La sensibilité au métalaxyl de cette lignée a été également rapportée en Egypte par El-Ganainy et al. (2023) sur la pomme de terre, au Brésil et en Algérie respectivement par de Miranda et al. (2010) et par Belkhiter (2022) sur les cultures de tomate. L'utilisation intensive et unique du métalaxyl, entraîne à la longue l'apparition de souches résistantes dans les populations de *P. infestans* (Davidse et al., 1981).

La température constitue un facteur limitant pour la croissance mycélienne des populations de *P. infestans* (Corbière et al., 2010, 2015). Les isolats que nous avons testés ont montré une croissance mycélienne optimale à une température de 20°C et faible ou nulle à des températures respectives de 25 et 30°C (Annexe IV). Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par Galfout et al. (2010) et par Corbière et al. (2010), qui ont rapporté que la croissance mycélienne des isolats de *P. infestans* est optimale à 19°C et qu'elle est inhibée à 27°C.

L'évaluation des composantes de l'agressivité (périodes d'incubation et de latence, taille des lésions et intensité de la sporulation) des isolats de *P. infestans* sur folioles détachées a révélé une variabilité entre les trois lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 sur les deux cultivars de pomme de terre Spunta et Désirée. Les valeurs moyennes de la durée des périodes d'incubation et de latence ainsi que celles des diamètres des lésions et de l'intensité de la sporulation ont révélé que les isolats de la lignée EU_2_A1 sont plus agressifs par rapport à ceux des lignées EU_13_A2 et EU_23_A1 (cf. Tableau 19). Certains travaux ont cependant montré que les isolats de *P. infestans* appartenant aux lignées clonales du type A2 sont plus agressifs que celles du type A1 (Corbière et al., 2010, 2015). Cependant, nos résultats indiquent que certains isolats appartenant à la lignée clonale du type A1 sont cependant plus agressifs que celle du type A2.

L'agressivité des isolats de *P. infestans* semble donc indépendante des types de compatibilité sexuelle A1 et A2. De même, nous avons constaté qu'il existe une variabilité de l'agressivité des isolats sur les deux cultivars Désirée et Spunta. Ce résultat concorde avec ceux obtenus par Hammi (2003), Galfout et al. (2010) et Corbière et al. (2010) qui ont rapporté une variabilité dans le comportement des isolats de *P. infestans* à l'égard de ces deux cultivars.

IV.2. DIVERSITE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS DE *P. INFESTANS*

IV.2.1. Polymorphisme des loci microsatellites

Le nombre total d'allèles par locus a varié de 2 à 20 selon les populations (Tableau 20). Lorsque ces populations sont regroupées selon les trois régions est, ouest et centre ; ce nombre s'élève respectivement à 45, 47 et 78 (Tableau 21). Les loci D13, G11 et Pinf SSR4 se sont montrés les plus polymorphes, avec respectivement un grand nombre d'allèles (A_r) ($n = 20$, $n = 10$ et $n = 8$) et une fréquence allélique (A_f) élevée (0,253, 0,127 et 0,101) (Tableau 20). En revanche, les loci Pi16, Pi33, Pi56, Pi70, Pinf SSR2 et Pinf SSR7 ont présenté un petit nombre d'allèles ($n = 2$) et une fréquence allélique plus faible de 0,025 (Tableau 20).

Le nombre moyen d'allèles effectifs (A_e) par locus est de 2,083 et varie de 1,046 à 3,785 selon les populations (Tableau 20). Les niveaux d'hétérozygotie étaient significativement différents pour l'hétérozygotie totale (H_t) (0,046-0,754) et l'hétérozygotie moyenne attendue (H_s) (0,047-0,758) avec une moyenne de H_t de 0,464 et de H_s de 0,462 (Tableau 20).

Le nombre moyen d'allèles effectifs est similaire dans toutes les régions et se situe respectivement à 2,011, 2,061 et 2,205 pour les régions est, ouest et centre (Tableau 21). La population de *P. infestans* de la région centre présentait un nombre élevé d'allèles privés ($P_a = 27$), tandis qu'un seul allèle privé (P_a) a été trouvé dans la population de la région est et aucun n'a été révélé dans la région ouest (Tableau 21). Les valeurs des hétérozygoties totale (H_t) et moyenne attendue (H_s) étaient similaires pour chaque groupe régional, avec une moyenne de 0,464 et une légère variation entre les régions : est (0,456), ouest (0,467) et centre (0,469) (Tableau 21).

IV.2.2. Distribution géographique et temporelle des lignées clonales de *P. infestans*

Sur 223 individus de *P. infestans*, 213 ont été génotypés avec succès dont 192 pour la région centre, 10 pour celle de l'est et 11 pour celle de ouest. Selon la nomenclature européenne, ces individus ont été regroupés en trois lignées clonales principales appelées également lignées multilocus ["Multilocus lineages" (MLLs)] : EU_13_A2 ($n = 152$), EU_2_A1 ($n = 36$) et EU_23_A1 ($n = 18$). Sept individus qui ont présenté des MLLs inconnus ont été exclus des analyses ultérieures.

Les résultats des deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2 confirment les génotypes attribués (Annexe V).

TABLEAU 20. Richesse allélique, fréquence allélique, nombre effectif d'allèles, hétérozygotie moyenne attendue et hétérozygotie totale par locus.

LOCI	TAILLE DES LOCI (pb ¹)	$Ar^2 (Af)^3$	Ae^4	Hs^5	Ht^6
D13	132-222	20 (0.253)	3,447	0,746	0,730
G11	140-208	10 (0.127)	3,182	0,700	0,707
Pi04	166-170	3(0.038)	1,876	0,478	0,484
Pi16	176-178	2(0.025)	1,818	0,462	0,466
Pi33	203-206	2 (0.025)	1,145	0,130	0,131
Pi4B	205-217	3(0.038)	2,440	0,606	0,610
Pi4G	157-161	3(0.038)	1,897	0,500	0,490
Pi56	174-176	2 (0.025)	2,000	0,506	0,517
Pi63	148-157	3 (0.038)	2,347	0,591	0,593
Pi70	192-195	2 (0.025)	1,046	0,047	0,046
Pinf SSR11	329-356	4 (0.051)	1,276	0,224	0,224
Pinf SSR2	173-175	2 (0.025)	1,088	0,085	0,084
Pinf SSR3	258-272	5 (0.063)	2,308	0,577	0,584
Pinf SSR4	284-300	8 (0.101)	3,785	0,758	0,754
Pinf SSR6a	240-246	4 (0.051)	1,811	0,464	0,464
Pinf SSR7	196-198	2 (0.025)	1,786	0,447	0,456
Pinf SSR8	260-268	4 (0.051)	2,153	0,543	0,554
Total		79 (4,647)			
Moyennes			2,083	0,462	0,464

¹ = Paires de base, ² = Nombre total des allèles, ³ = Fréquences alléliques, ⁴ = Nombre effectif d'allèles, ⁵ = Hétérozygotie moyenne attendue, ⁶ = Hétérozygotie totale.

TABLEAU 21. Nombre d'individus, richesse allélique, fréquence allélique, nombre effectif d'allèles, nombre d'allèles privés, hétérozygotie moyenne attendue et hétérozygotie totale par région géographique.

Populations	N ¹	$Ar^2(Af)^3$	Ae^4	Pa^5	Hs^6	Ht^7
Ouest	11	47 (0,595)	2,061	0	0,467	0,467
Centre	192	78 (0,987)	2,205	27	0,469	0,469
Est	10	45 (0,57)	2,011	1	0,456	0,456
Moyennes		56.67	2,092		0,464	0,464

¹ = Nombre des individus par région, ² = richesse allélique, ³ = fréquences alléliques, ⁴ = nombre effectif d'allèles, ⁵ = nombre d'allèles privés, ⁶ = Hétérozygotie moyenne attendue, ⁷ = hétérozygotie globale.

La lignée clonale EU_13_A2 est la plus répandue, elle représente 70% de l'ensemble des isolats de *P. infestans* collectés. Cette lignée est signalée au niveau de toutes les années d'échantillonnage de 2010 à 2016 et dans toutes les régions algériennes de culture de la pomme de terre (Figs. 19A, B). La lignée EU_2_A1 qui représente 16% de la population, a été principalement trouvée dans la région centre (Alger, Aïn Defla et Tizi Ouzou) durant la période 2010-2014. A partir de 2015, cette lignée clonale a été remplacée par la EU_23_A1. Cette dernière qui représente 10% de la population, a été détectée dans les régions centre (Alger, Boumerdès, Bouira, Tipaza et Tizi Ouzou), ouest (Mascara et Mostaganem) et est (Guelma) (Figs. 19A, B). Les isolats qui ont présenté des MLLs inconnus ont été détectés entre 2011 et 2016 en faible nombre dans la région centre où ils ne représentent que 4% de la population de *P. infestans*. Ces MLLs inconnus sont des isolats uniques qu'on ne peut pas assigner à une lignée connue et qui résultent probablement d'une reproduction sexuée (Figs. 19 A, B).

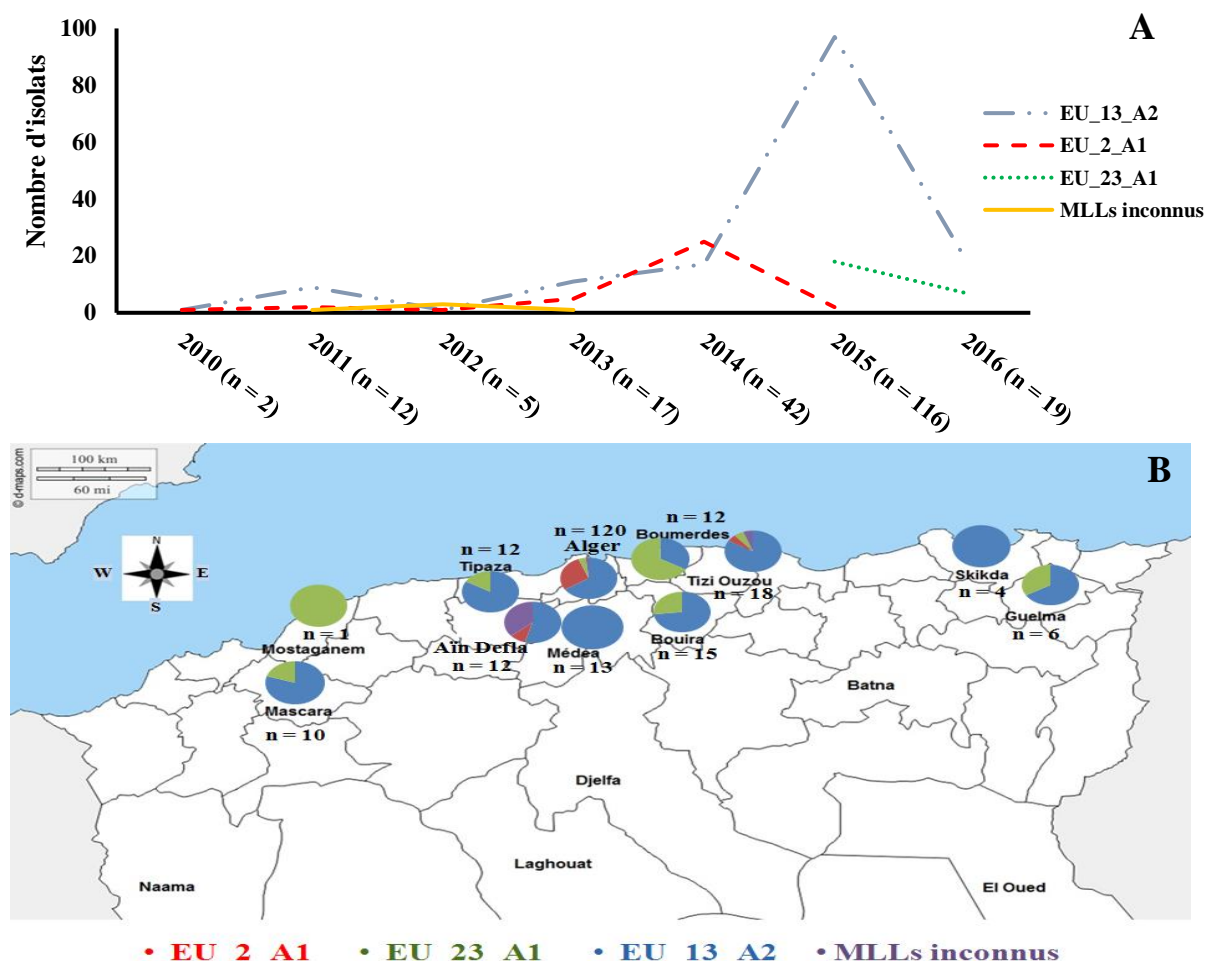


Figure 19. Evolution et distribution des lignées clonales de *P. infestans* par année et par site géographique. **A.** Ligne pointillée bleue : EU_13_A2 (n=152), ligne pointillée verte : EU_23_A1 (n=18), ligne pointillée rouge : EU_2_A1 (n=36), ligne jaune : MLLs inconnus (n=7). **B.** Carte du nord de l'Algérie montrant les sites, le nombre d'isolats (n) collectés et la fréquence des lignées clonales par site.

Les valeurs de l'indice de différenciation (F_{st}) entre les paires de populations par région et par MLL sont représentées dans le tableau 22. L'indice de différenciation (F_{st}) n'a révélé aucune différence significative dans les niveaux de différenciation entre les paires de populations de *P. infestans* par région, avec des valeurs de F_{st} de 0,002 (centre-est ; $P = 0,235$), de 0,003 (centre-ouest ; $P = 0,086$) et de 0,004 (ouest-est ; $P = 0,179$) (Tableau 22). Les valeurs de F_{st} obtenues sont faibles pour les paires de populations de *P. infestans* par région, indiquant une faible différenciation génétique. Un schéma différent a été observé pour le même paramètre F_{st} entre les paires de MLLs ; les différences sont faibles mais statistiquement significatives entre les combinaisons suivantes : EU_13_A2 et EU_23_A1 (0,068 ; $P < 0,001$), EU_13_A2 et EU_2_A1 (0,076 ; $P < 0,001$) et entre EU_23_A1 et EU_2_A1 (0,089 ; $P < 0,001$) (Tableau 22).

TABLEAU 22. Indice de différenciation (F_{st}) par région et par lignée clonale.

REGIONS	OUEST	CENTRE	EST
OUEST	–	0,086	0,179
CENTRE	0,003	–	0,235
EST	0,004	0,002	–
MLLs	EU_13_A2	EU_2_A1	EU_23_A1
EU_13_A2	–	0,001	0,001
EU_2_A1	0,076	–	0,001
EU_23_A1	0,068	0,089	–

L'analyse de la variance à deux voies (*Permanova*) a montré que l'effet des MLLs est très fortement significatif sur le coefficient de parenté, et suffit à expliquer la majeure partie de la variance ($Pseudo-F_{3,197} = 13,95$; $P < 0,001$). Par contre, la variable région explique une petite partie de la variance totale, sans signification statistique ($Pseudo-F_{2,197} = 1,07$; $P = 0,286$) (Tableau 23).

Le nombre total de génotypes ($MLGt$) et celui effectif de génotypes ($MLGe$) trouvés par région varient de 5 à 4,17 à l'ouest, de 6 à 3,33 à l'est et de 32 à 2,6 au centre (Tableau 24). La valeur de la diversité génotypique ($Div.$) dans la population de la région ouest est la plus élevée (0,836), suivie par celle de l'est (0,778) et du centre (0,618) (Tableau 24). Les valeurs de l'indice corrigé de Shanon-Weiner ($Shc.$) sont élevées allant de 0,756 pour la région ouest, 0,89 pour celle du centre et 0,97 pour celle de l'est. Lorsque les individus sont regroupés selon leurs MLLs, les résultats pour $MLGt$ varient de 6 (EU_2_A1), 12 (EU_23_A1) et 18 (EU_13_A2) (Tableau 24). Les valeurs de $MLGe$ varient entre 1,342 (EU_2_A1), 1,618 (EU_23_A1) et 9,529 (EU_13_A2). Les valeurs de la diversité génotypique ($Div.$) sont significativement différentes entre EU_2_A1

(0,262), EU_13_A2 (0,384) et EU_23_A1 (0,948). De même, les valeurs de *Shc.* varient entre EU_2_A1 (0,430), EU_13_A2 (0,574) et EU_23_A1 (1,315) (Tableau 24).

TABLEAU 23. Analyse de la variance à deux voies (*Permanova*) pour l'ensemble des données ($n=206$) et pour une paire de variables : Var1 = MLLs, Var2=Régions.

Sources de variation	DLL ¹	SC ²	MC ³	Pseudo-F ⁴	P ⁵
MLLs	3	15,173	5,058	13,950	<0,001***
Régions	2	0,775	0,387	1,069	0,286
Interaction					
Régions/MLLs	3	1,074	0,358	0,988	0,462
Résiduel	204	73,96	0,362		
Total	212	90,98			

¹ = Degré de liberté, ² = Somme des carrés, ³ = Moyenne des carrés, ⁴ = valeur par permutation de Pseudo-F à partir de 10 000 permutations non restreintes des données brutes et des sommes de carrés de type III, ⁵ = Probabilité, *** = Différence très hautement significative.

TABLEAU 24. Nombre d'individus, nombre total et effectif des génotypes, diversité génotypique et indice corrigé de Shanon-Weiner par MLLs (EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1) et par région géographique.

	N ¹	MLGt ²	MLGe ³	Div. ⁴	Shc. ⁵
MLLs					
EU_13_A2	152	18	1,6182	0,3845	0,5744
EU_2_A1	36	6	1,3416	0,2619	0,4296
EU_23_A1	18	12	9,5294	0,9477	1,3154
REGIONS					
OUEST	11	5	4,1724	0,8364	0,7561
CENTRE	192	32	2,5968	0,6181	0,8903
EST	10	6	3,3333	0,7778	0,9701

¹ = Nombre d'individus, ² = Nombre total de génotypes, ³ = Nombre effectif de génotypes, ⁴ = Diversité génotypique, ⁵ = Indice corrigé de Shanon-Weiner.

L'analyse moléculaire de la variance (*amova*) a révélé un pourcentage faible et non significative de la variance (1,8% ; $P = 0,06$) qui est expliqué par les régions et qui a augmenté de manière significative pour le regroupement basé sur les MLLs (59,1% ; $P = 0,02$) (Tableau 25). En effet, l'arbre phylogénétique montre un regroupement des individus de *P. infestans* de différentes régions (Fig. 20).

TABLEAU 25. Analyse moléculaire de la variance (*Amova*) pour l'ensemble des isolats ($n = 206$) selon les régions géographiques et les MLLs.

SOURCES DE VARIATION	SCE ¹	DLL ²	MC ³	POURCENTAGES DE VARIATION
REGIONS				
Niché à l'intérieur des populations	1 662,39	210	7,916	98,2
Niché entre les populations	21,39	2	10,700	1,8
MLLs				
Niché à l'intérieur des populations	953,50	203	4,697	40,9
Niché entre les populations	593,60	2	296,800	59,1*

¹ = Somme des carrés des écarts, ² = Degré de liberté, ³ = Moyenne des carrés, * = Signification statistique avec $P < 0,05$.

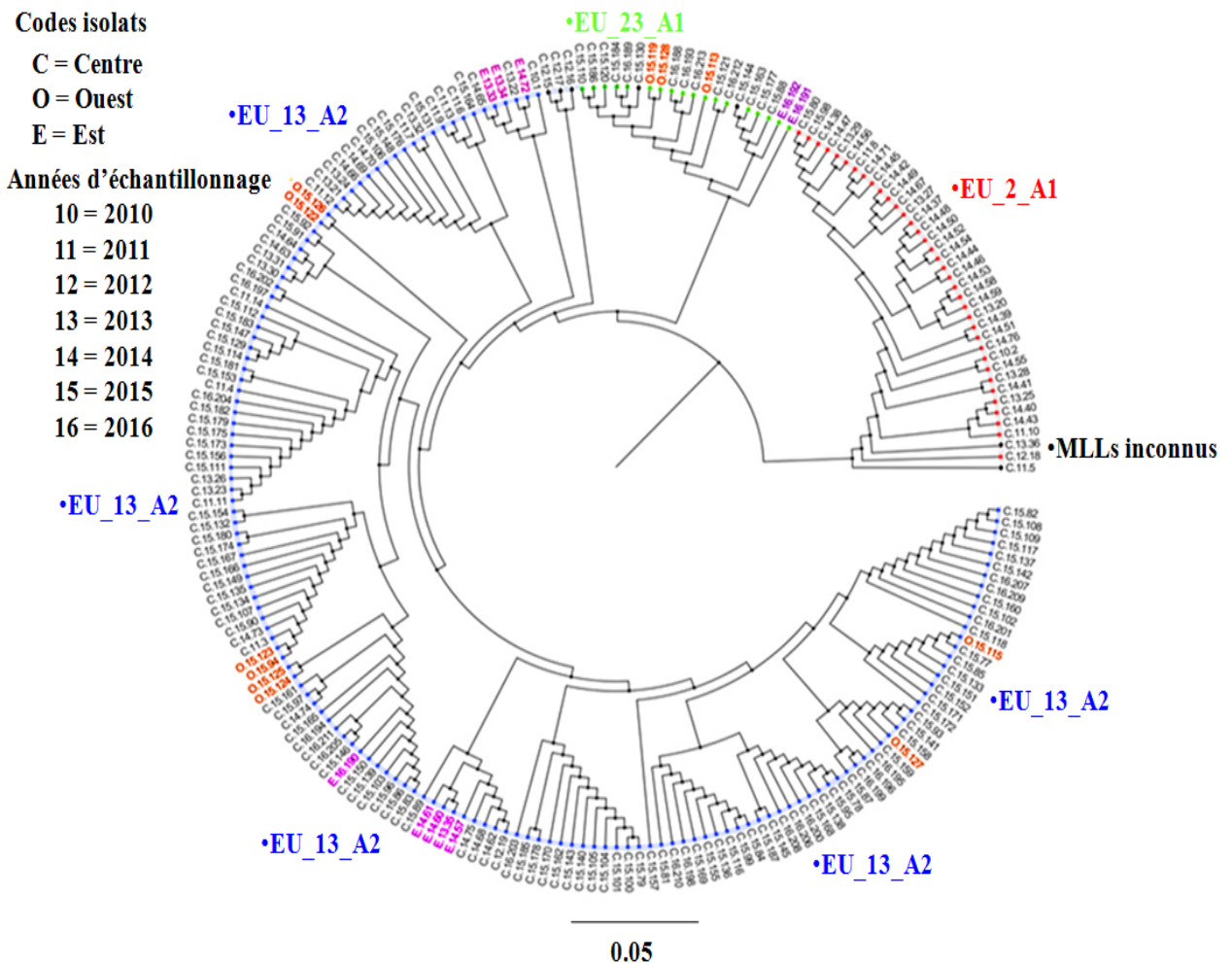


Figure 20. Arbre phylogénique représentant les distances génétiques des populations algériennes de *P. infestans* par région et par MLLs. Les individus de la région centre sont indiqués en noir, ceux de la région ouest en violet et ceux de la région est en marron. Les MLLs sont représentés par des points bleus pour EU_13_A2, rouges pour EU_2_A1, verts pour EU_23_A1 et noirs pour les MLLs inconnus.

IV.2.3. Structure génétique et géographique des MLLs et des MLGs (sous population)

La structure génétique de l'ensemble des données a révélé que les isolats de *P. infestans* se répartissent en trois groupes principaux (= “clusters”) correspondant aux trois lignées : EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 (Fig. 21).

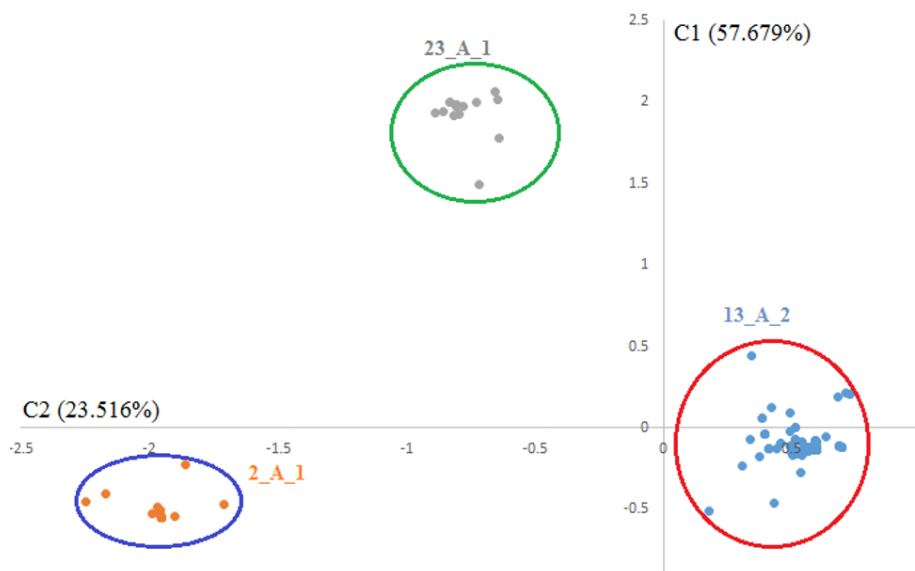


Figure 21. Analyse en composantes principales (ACP) pour l'ensemble des isolats ($n = 206$), regroupés en trois MLLs : EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1.

Les valeurs propres de l'ACP montrent que les axes C1 et C2 représentent une bonne dispersion des variables puisqu'ils expliquent 81,20% de la variance totale. Les lignées clonales EU_23_A1 et EU_2_A1 sont négativement corrélées à l'axe C2 tandis que la lignée EU_13_A2 est positivement corrélée à l'axe C1.

Le nombre de groupe génétique (K) déterminé par la méthode Delta K (ΔK) indique que la population de *P. infestans* est divisée en deux groupes génétiques (Fig. 22). Un groupe englobe tous les isolats appartenant au type de compatibilité sexuelle A1. La lignée clonale EU_13_A2 s'est divisée en deux sous-groupes. Aucune introgression n'a été trouvée à l'exception d'un seul isolat appartenant à la lignée clonale EU_23_A1 qui a montré une affectation mixte au groupe 3. Cet isolat pourrait être un recombinant (Fig. 22).

Dans l'ensemble, la distribution des MLGs (sous population) a montré des occurrences multiples des mêmes génotypes dans chaque région. Au total, 98 MLGs ont été trouvés pendant toute la période d'échantillonnage (de 2010 à 2016) avec 218 répliquats (Annexe V). La fréquence d'occurrence la plus élevée (0,179) a été notée pour le MLG 17, avec 40 répliquats trouvés dans quatre wilayas. Les principaux MLGs ayant un nombre de répliquats supérieur à 10, sont principalement

distribués à Alger (MLG_17, MLG_22, MLG_11 et MLG_23), Tipaza (MLG_17 et MLG_11), Tizi Ouzou (MLG_17 et MLG_22) et Aïn Defla (MLG_11 et MLG_23) (Tableau 26).

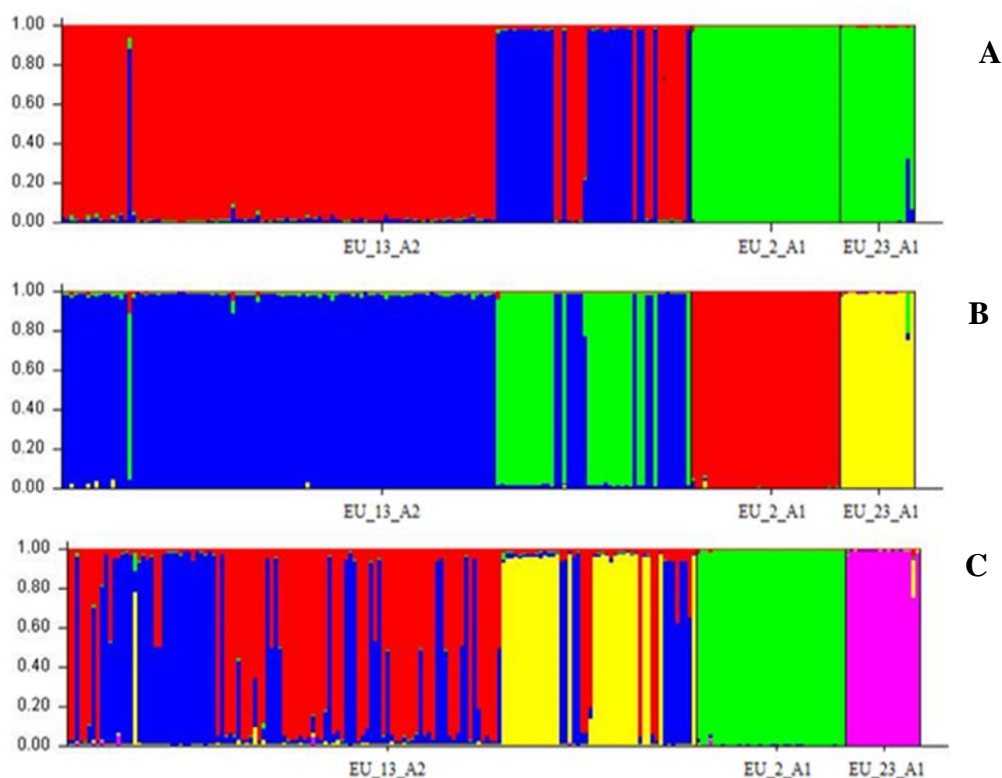


Figure 22. Diagrammes indiquant la probabilité d'assignation des microsatellites basée sur l'analyse de la structure génétique pour l'ensemble des données regroupées par MLLs selon la valeur de K . **A.** $K=3$. **B.** $K=4$. **C.** $K=5$.

TABLEAU 26. Fréquence d'occurrence des principaux MLGs et nombre des répliqués (supérieur à 10) par wilaya.

Wilayas	MLLs	MLGs	Nbrde répliqués par MLG	Fréquence d'occurrence
Alger, Mascara, Tizi Ouzou, Tipaza	EU_13_A2	MLG_17	40	0,179
Alger, Tizi Ouzou	EU_2_A1	MLG_22	22	0,062
Aïn Defla, Alger, Médéa, Tipaza	EU_13_A2	MLG_11	12	0,053
Aïn Defla	EU_2_A1	MLG_23	11	0,049

IV.2.4. Discussion

Plusieurs travaux sur les populations de *P. infestans* en Algérie ont été menés au cours de cette dernière décennie dans la région ouest au cours de la période 2008-2014 (Rekad et al., 2017) et dans la région centre sur l'adaptation de l'hôte par rapport aux populations de *P. infestans* (Belkhit et al., 2019). Notre étude complète ces travaux antérieurs par des données portant sur la struc-

ture des populations de *P. infestans* et leur évolution sur une période de sept ans dans différentes régions et étages bioclimatiques d'Algérie.

Nos données confirment la présence en Algérie de trois lignées clonales majeures de *P. infestans* (EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1) et quelques lignées mineures qui sont peut-être des recombinants résultant d'une reproduction sexuée. Elles mettent également en évidence la prévalence de la lignée clonale EU_13_A2 de *P. infestans* dans les cultures de pommes de terre algériennes ainsi que la distribution régionale des lignées EU_2_A1 et d'EU_23_A1.

La prévalence de la lignée EU_13_A2 explique la récente augmentation de la fréquence du type de compatibilité sexuelle A2 en Algérie (Rekad et al., 2017) et reflète les résultats obtenus dans les pays voisins du Maghreb : Maroc (Sedegui et al., 2000) et Tunisie (Jmour et Hamada, 2006; Harbaoui et al., 2013). La période d'étude (2010 à 2016) a été caractérisée par une augmentation importante de la gravité du mildiou à l'échelle nationale, et suit de près la première détection des génotypes A2 dans le pays en 2007 (Beninal et al., 2009 ; Rekad et al., 2017). De nombreux rapports mentionnent la domination actuelle de la lignée EU_13_A2 sur la pomme de terre depuis 2004-2006 en Europe (Cooke et al., 2012 ; Mariette et al., 2016) et plus récemment en dehors de l'Europe (Dey et al., 2018). Cette dominance a souvent été attribuée à une virulence et une agressivité accrues (Chmielarz et al., 2014 ; Cooke et al., 2012), bien que des travaux récents aient montré que d'autres facteurs sont probablement impliqués (Mariette et al., 2016).

La lignée clonale EU_2_A1 a été précédemment signalée sur les cultures de pomme de terre et de tomate en Algérie (Rekad et al., 2017). Cependant, cette lignée a été trouvée avec de faibles fréquences ces dernières années par rapport à la lignée clonale EU_13_A2. Elle a été identifiée uniquement sur la pomme de terre avec une fréquence élevée, ce qui suggère fortement sa spécialisation parasitaire sur les cultures de la pomme de terre. En France, la lignée EU_2_A1 était dominante sur pomme de terre avant 2006 (Mariette et al., 2016), mais elle est désormais peu fréquente. La faible fréquence des isolats EU_2_A1 dans les populations algériennes pourrait s'expliquer par une meilleure aptitude inclusive ou des capacités adaptatives particulières de EU_13_A2 par rapport à EU_2_A1 (Corbière et al., 2015). Cependant, la lignée EU_2_A1 est récemment apparue comme un clone invasif en Afrique de l'Est où il a provoqué de graves épidémies (Njoroge et al., 2019). Il existe des preuves que EU_2_A1 a été introduit en Afrique de l'Est par le biais d'importations de semences en provenance d'Europe, une situation qui a pu également se produire en Algérie où les importations annuelles moyennes de tubercules de semence sont importantes (100 000 tonnes) et proviennent principalement des Pays-Bas (58 %), de la France (16 %) et du Danemark (13 %). La lignée EU_2_A1 a probablement été introduite il y a plusieurs années et

s'est ensuite établi en Algérie. Il est à noter que certains clones prévalant en Europe occidentale en même temps que la lignée clonale EU_2_A1, tels que EU_6_A1 ou EU_8_A1 n'ont pas été trouvés au sein des populations algériennes étudiées. En Europe, ces clones sont principalement limités aux climats océaniques prévalant dans le nord-ouest de l'Europe et pourraient ne pas être capables de se développer dans les conditions méditerranéennes.

Par contraste, la lignée clonale EU_23_A1 a été détectée sur un seul échantillon prélevé sur des cultures de pomme de terre à Mostaganem en 2013 et sur cinq autres l'année suivante dans la même région (Rekad *et al.*, 2017). Nous avons retrouvé cette lignée en 2015 et 2016 dans les régions du centre et de l'est de l'Algérie. Cette lignée qui est principalement adaptée à la tomate en Europe (Mariette *et al.*, 2016), est présente avec une fréquence élevée sur la pomme de terre en Égypte (El-Ganainy *et al.*, 2013). La lignée EU_23_A1 est génétiquement identique au génotype US_23 qui a provoqué, ces dernières années, de graves épidémies sur la pomme de terre et la tomate aux États-Unis (Danies *et al.*, 2013). Il est donc tout à fait possible que cette lignée soit d'origine locale et persiste grâce à sa capacité de s'attaquer à des hôtes cultivés toute l'année dans la zone méditerranéenne. Cette hypothèse est renforcée par le fait que le type de compatibilité sexuelle A2 est rare dans les échantillons de pomme de terre d'arrière-saison, contrairement au type A1. Il est donc probable que l'inoculum infectant les cultures de pomme de terre d'arrière-saison se forme principalement sur la tomate où la lignée EU_23_A1 est la mieux adaptée. Ce transfert d'inoculum entre les cultures est rendu plus facile dans certaines régions où les cultures de pomme de terre et de tomate sont pratiquées toute l'année en Algérie, souvent à proximité les unes des autres et dans les mêmes conditions environnementales (Belkhiter *et al.*, 2019).

Alors que les génotypes A1 (EU_2_A1 et EU_23_A1) étaient génétiquement bien structurés, avec peu de variants MLL, la lignée EU_13_A2 semble subir une différenciation génétique. L'arbre phylogénétique montre un regroupement des individus en fonction des sites géographiques, indiquant l'émergence de variants locaux de cette lignée. Cela confirme les résultats obtenus par *l'Amova* et reflète le rapport de variation subclonale remarqué par Rekad *et al.* (2017). Il est intéressant de noter que quatre MLGs manquaient dans la région centrale qui a été la plus intensément échantillonnée. Cela pourrait être dû à des conditions restrictives pour leur développement dans cette zone, en réponse à une variation climatique continue. Cependant, cette variation subclonale et la distribution régionale de certains des génotypes mineurs n'étaient pas suffisantes pour générer une forte différenciation géographique au sein des structures génétiques des populations. En effet, et contrairement à la situation rapportée dans certains pays du Maghreb comme le Maroc (Hafidi *et al.*, 2002), aucune structure régionale claire n'a émergé de nos enquêtes. La

faible part de variance expliquée par la variable "Région" pour le coefficient de parenté indique que les individus sont différents non pas parce qu'ils appartiennent à des régions géographiques différentes, mais plutôt parce qu'ils ne constituent pas un modèle clair de distribution des MLGs.

L'absence de différenciation régionale peut être due à la stratégie nationale de production de semences selon laquelle celles-ci sont produites dans des zones définies et vendues dans tout le pays, favorisant la dispersion des mêmes géotypes en Algérie. Cela pourrait également refléter le fait que les hôtes eux-mêmes ne sont pas géographiquement structurés : Spunta est le cultivar le plus dominant dans toutes les régions échantillonnées où on cultive à la fois la pomme de terre et la tomate. Les valeurs relativement faibles de MLGe indiquent que l'agent pathogène est bien adapté dans sa zone d'expansion. Souvent, les populations de *P. infestans* ont la capacité de s'adapter localement et de laisser émerger des variants locaux (Mariette et al., 2016), mais cette adaptation est annulée lorsque les populations sont fortement soumises à des pressions de sélection largement uniformes par un seul hôte (Montarry et al., 2008).

La co-occurrence des deux cultures (pomme de terre et tomate) favorise la présence des deux types d'accouplement sexuel A1 et A2 et augmente la probabilité d'une reproduction sexuée de *P. infestans* dans les champs de pommes de terre algériens. Bien que nous n'ayons pas de preuve directe de la recombinaison entre les géotypes, on suppose que la reproduction sexuée génère une plus grande diversité génétique qui se traduit par des géotypes plus agressifs et difficiles à contrôler. Cette population sexuée signifie également un risque accru d'attaques de mildiou dérivées d'oospores très tôt dans la saison, comme cela a été rapporté dans les populations nordiques (Kii-ker et al., 2019). Cependant, la diversité génétique révélée dans notre étude était assez faible au sein des sites avec peu d'hétérozygotie, ce qui est cohérent avec une structure clonale des populations locales. Ce résultat ne correspond pas aux observations de Rekad et al. (2017) pour la région ouest. Cette divergence pourrait s'expliquer par le nombre relativement faible de marqueurs SSR utilisés dans leur étude. Il est donc important de continuer à suivre à la fois les recombinants et la formation d'oospores lors des futures enquêtes.

IV.3. COMPORTEMENT *IN SITU*DES CULTIVARS DE POMME DE TERRE A L'EGARD DU MILDIOU

La résistance *in situ* de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard du mildiou a été évaluée par les paramètres suivants : sévérité et progression de la maladie, types de résistance et rendement des cultivars testés.

IV.3.1. Estimation de la sévérité de la maladie

Des notations exprimées en pourcentages moyens de la sévérité de la maladie ont été réalisées durant deux années 2015 et 2016 respectivement au cours des périodes comprises entre 03/04 et 01/06 et entre 28/03 au 15/05 pour les deux sites d'essais : Staouéli (ITCMI) et Bab Ezzouar (CNCC) (Tableaux 27, 28).

TABLEAU 27. Evolution des pourcentages moyens de la sévérité du mildiou observés à différentes dates sur les cultivars testés en 2015 au niveau des deux sites d'essai.

Sites	Dates	POURCENTAGES MOYENS DE LA SEVERITE DE LA MALADIE (%)							
		Cephora	Coquine	Désirée	Eden	Florice	Friool	Passion	Spunta
BAB EZZOUAR									
	03/04/2015	0,00	0,00	0,56	1,06	0,98	0,06	0,00	3,68
	06/04/2015	0,00	0,00	0,83	1,87	2,57	0,11	0,00	5,03
	12/04/2015	0,00	0,00	1,13	2,69	3,01	0,34	0,00	5,88
	20/04/2015	0,22	0,01	2,53	4,51	5,52	0,54	0,00	9,05
	27/04/2015	0,99	0,08	4,81	14,87	13,70	1,80	0,07	16,74
	04/05/2015	2,19	0,47	11,43	27,55	25,24	4,26	0,07	31,71
	11/05/2015	2,19	0,47	11,43	27,55	25,24	4,26	0,07	31,71
	18/05/2015	2,19	0,47	11,43	27,55	25,24	4,26	0,07	31,71
	26/05/2014	2,19	0,47	11,43	27,55	25,24	4,26	0,07	31,71
STAOUELI									
	12/04/2015	0,00	0,00	1,99	0,49	0,00	0,00	0,00	4,26
	19/04/2015	0,13	0,11	5,83	2,76	1,34	0,70	0,20	6,40
	26/04/2015	0,54	0,28	45,89	16,17	12,67	2,97	0,20	30,23
	02/05/2015	3,00	0,32	55,49	27,97	18,36	6,94	0,20	55,74
	06/05/2015	4,33	0,32	64,07	31,27	22,33	11,00	0,20	61,67
	10/05/2015	5,07	0,34	68,10	39,05	29,72	12,40	0,20	74,17
	17/05/2015	8,21	0,31	70,39	40,90	37,33	15,87	0,20	75,04
	01/06/2015	48,48	0,59	88,33	81,00	89,99	76,90	0,28	93,88

Les premières taches du mildiou ont été notées dès la fin du mois de Mars et au début du mois d'Avril sur les cultivars Spunta, Désirée, Florice, Eden, Friool, Eldorado et Cephora. A partir de la fin du mois d'Avril, la pression du mildiou a fortement augmenté sur certains cultivars (Spunta, Désirée, Ferrari et Eldorado). La figure 23 illustre les courbes de progression du mildiou sur les cultivars testés en fonction du temps.

Les cultivars Spunta et Désirée ont montré une progression constante de la maladie sur les deux sites d'essai durant l'année 2015. Le pourcentage de la surface foliaire nécrosée pour ces deux variétés a varié entre 1,99 à 93,88% (Tableau 27). Le feuillage de ces deux variétés a été totalement détruit à la mi-mai. Pour les variétés Eden, Florice et Friool, la progression de la maladie a

TABLEAU 28. Evolution des pourcentages moyens de la sévérité du mildiou observés à différentes dates sur les cultivars testés en 2016 au niveau des deux sites d'essai.

POURCENTAGES MOYENS DE LA SEVERITE DE LA MALADIE (%)									
Sites	Dates	Ferrari	Sarpo Mira	Désirée	Big Rosa	Fabula	Eldorado	Passion	Spunta
BAB EZZOUAR									
	03/04/2016	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,02
	10/04/2016	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	4,30	0,00	0,02
	17/04/2016	16,11	0,00	1,90	0,36	0,80	8,50	0,00	4,81
	24/04/2016	76,66	0,00	10,85	3,14	2,36	16,99	0,04	23,57
	02/05/2016	99,99	0,00	62,63	19,41	6,41	72,14	0,04	73,33
	09/05/2016	99,99	0,00	99,99	50,44	25,00	99,99	0,04	99,99
STAOUELI									
	15/04/2016	0,06	0,03	1,95	1,62	0,46	0,35	0,01	3,05
	21/04/2016	0,28	0,04	3,11	1,93	0,83	1,10	0,04	5,05
	28/04/2016	0,84	1,25	4,37	3,17	1,42	1,88	0,92	9,39
	05/05/2016	2,79	1,39	14,64	5,51	2,87	5,53	1,05	18,70
	12/05/2016	5,19	1,38	26,99	10,76	4,22	10,66	1,04	35,71
	17/05/2016	5,19	1,38	26,99	10,76	4,22	10,66	1,04	35,71
	24/05/2016	5,19	1,38	26,99	10,76	4,22	10,66	1,04	35,71

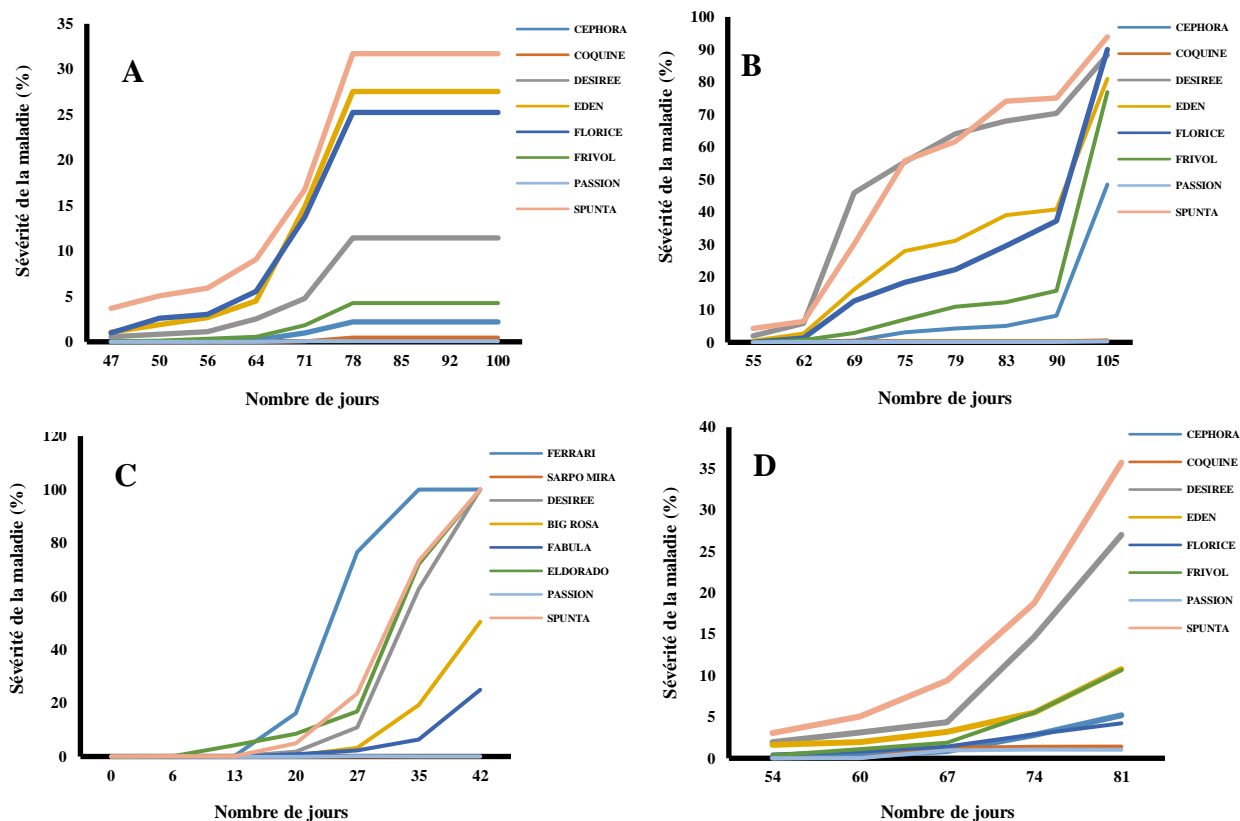


Figure 23. Evolution des pourcentages moyens d'attaque de chaque cultivar en fonction du temps dans les deux sites d'essai en 2015 (A. Bab Ezzouar, B. Staouéli) et en 2016 (C. Bab Ezzouar, D. Staouéli).

été plus lente par rapport à la Spunta (Figs. 23A, B). Chez la variété Cephora, 50% de la surface foliaire a été détruite deux à trois semaines plus tard par rapport à la Spunta. Les variétés Passion et Coquine ont montré un niveau élevé de résistance au mildiou avec seulement 0,1 à 5% de feuillage attaqué (Figs. 23A, B).

En 2016, la progression de la maladie a été plus rapide au niveau des variétés Spunta, Ferrari, Désirée et Eldorado plus particulièrement sur le site d'essai de Bab Ezzouar où les pourcentages de la surface foliaire endommagée ont varié de 0,02 à 99,99 (Tableau 28, Fig. 23C). Sur ce même site d'essai, les attaques du mildiou sur les cultivars Fabula et Big Rosa ont été retardées de 21 jours par rapport à Spunta. Fabula et Big Rosa ont respectivement exhibé 25% et 50,44% de la surface foliaire attaquée (Tableau 28, Fig. 23C). Les cultivars Frivol, Eden et Florice ont montré des pourcentages moyens de la sévérité variant entre 4,22 à 10,76 au niveau du site d'essai de Staouéli (Tableau 28, Fig. 23D). Les cultivars Passion, Coquine et Sarpo Mira ont montré un niveau de résistance élevé. Les pourcentages moyens de la sévérité sur les cultivars Passion et Coquine se sont élevés respectivement à 1,04 et 1,38 (Tableau 28, Fig. 23D). Les plants du cultivar Sarpo Mira n'ont montré aucune lésion du mildiou à la fin de l'essai (Tableau 28, Fig. 23C).

L'analyse de la variance à deux facteurs des pourcentages moyens de la sévérité a montré une différence non significative pour les deux années 2015 et 2016 ($F_{crit.} = 0,0009$; $P = 0,975$) et dans les deux sites d'essai ($F_{crit.} = 0,003$; $P = 0,954$). Cependant, l'interaction année/site d'essai a révélé une différence significative pour les pourcentages de la surface foliaire attaquée par le mildiou ($F_{crit.} = 18,28$; $P < 0,001$) (Tableau 29).

TABLEAU 29. Analyse de la variance à deux facteurs pour les pourcentages de la surface foliaire attaquée en fonction du site d'essai et de l'année d'expérimentation.

SOURCES	SC ¹	DLL ²	MC ³	F _{crit.} ⁴	P
SITES	2.845	1	2,84	0,003	0,954
ANNEES	0.844	1	0,84	0,0009	0,975
INTERACTION					
SITES/ANNEES	15 692.190	1	15 692,19	18,28	<0,001***
RESIDUEL	24036.324	1	858,44		

¹ = Somme des carrés, ² = Degré de liberté, ³ = Moyenne des carrés, ⁴ = F critique, *** = Différence hautement significative.

IV.3.2. Evaluation de la progression de la maladie

L'évaluation de la progression de la maladie a été estimée par l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC). L'AUDPC relative (AUDPCr) a été calculée à partir des valeurs de

l'AUDPC obtenues pour chaque cultivar, pour chaque site d'essai et pour les deux années d'expérimentation (Tableau 30, Fig. 24).

La plus grande aire sous la courbe de progression de la maladie soit 2719 a été enregistrée chez la variété Spunta en 2015 sur le site d'essai de Staouéli (Tableau 30, Fig. 24A). La plus faible aire (0,0) a été observée chez la variété Sarpo Mira au niveau du site d'essai de Bab Ezzouar en 2016 (Tableau 30, Fig. 24C). Les valeurs de l'AUDPCr varient de 0 chez les variétés Coquine, Passion et Sarpo Mira à 0,41 pour la variété Spunta (Tableau 30, Figs. 24B, D).

IV.3.3. Détermination des types de résistance des cultivars testés

Les courbes de progression de la maladie ont été linéarisées en transformant les pourcentages d'attaque y_i par l'équation $Y_i = \log_{10} (y_i/1 - y_i)$ (Fig. 25). Pour chaque droite obtenue, la pente (a_i) et celle du témoin sensible (a_r), ainsi que le Δa ($a_i - a_r$) ont été calculés pour chaque cultivar (Tableau 30). La différence, en termes de jours (Δt), entre la date de la première infection du cultivar et celle du témoin sensible a été calculée pour chaque cultivar (Tableau 30). Les paramètres Δa et Δt permettent de déterminer les types de résistance des cultivars testés dans chaque site d'essai durant les deux années d'expérimentation.

Le tableau 30 fait ressortir au niveau des deux sites d'essai durant les années 2015 et 2016 les types de résistance suivants : sensible (S) (16 cas), résistance spécifique (RS) (7 cas), résistance spécifique + résistance non spécifique (RS + RNS) (7 cas) et résistance non spécifique (RNS) (2 cas). Les cultivars Spunta et Désirée se sont montrés sensibles dans les deux sites durant les deux années d'expérimentation.

L'analyse multivariée des valeurs de l'AUDPCr en fonction du type de résistance, du site d'essai et de l'année d'expérimentation a montré que ces valeurs de l'AUDPCr sont significativement influencées par le type de résistance ainsi que par l'interaction site/année d'expérimentation. Par contre, les différences des valeurs de l'AUDPCr ne sont pas significatives entre les deux sites d'essais, les deux années d'expérimentation et l'interaction type de résistance/site d'essai/année d'expérimentation. La moyenne globale de l'AUDPCr pour les types de résistance constatée à la station d'essai de Bab Ezzouar en 2015 est inférieure à celle observée en 2016. L'inverse a été observé au niveau du site d'essai de Staouéli en 2015 (Tableau 31).

IV.3.4. Evaluation du rendement

Les estimations des rendements moyens ainsi que la production journalière des tubercules DTP (Day Tubercule Production) de pomme de terre ont montré des différences entre les rendements obtenus par cultivar en 2015 et 2016 (Tableau 32).

TABLEAU 30. Valeurs de l'AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie), de l'AUDPC relative (AUDPCr) et des paramètres liés aux types de résistance pour les cultivars testés.

CULTIVARS	AUDPC	AUDPCr	Δt^1	Δa^2	TYPES DE RESISTANCE
BAB EZZOUAR (2015)					
Spunta	1063,00	0,13	0	0,00	S ³
Eden	869,20	0,11	0	0,01	S
Florice	818,14	0,11	0	0,01	S
Désirée	356,64	0,04	0	0,01	S
Frivot	128,20	0,02	0	0,02	S
Cephora	64,45	0,09	17	0,04	RS ⁴
Coquine	12,60	0,00	17	0,10	RS
Passion	2,41	0,00	24	0,52	RS
BAB EZZOUAR (2016)					
Ferrari	1 788,00	0,54	13	0,07	S
Spunta	1 110,63	0,41	0	0,00	S
Eldorado	1 109,00	0,37	6	0,04	S
Désirée	914,40	0,39	20	0,03	S
Big Rosa	348,20	0,16	20	0,12	RS+RNS ⁵
Fabula	158,9 0	0,09	20	0,16	RS+RNS
Passion	0,77	0,00	13	0,01	RS
Sarpo Mira	0,00	0,00	42	0,23	RS+RNS
STAOUELI (2015)					
Spunta	2 719,00	0,36	0	0,00	S
Désirée	2 691,13	0,34	0	0,00	S
Eden	1 663,20	0,23	0	0,00	S
Florice	1 521,20	0,22	7	0,00	RS
Frivot	922,24	0,13	7	0,00	RS
Cephora	518,52	0,08	7	0,02	RS
Coquine	15,11	0,00	7	-0,03	RS+RNS
Passion	9,85	0,00	7	-0,03	RS+RNS
STAOUELI (2016)					
Spunta	363,61	0,16	0	0,00	S
Désirée	253,70	0,11	0	0,00	S
Eden	115,80	0,05	0	-0,01	RNS
Frivot	97,35	0,04	0	0,01	S
Florice	51,60	0,02	0	-0,01	RNS
Cephora	45,61	0,02	0	0,03	S
Passion	17,63	0,01	0	0,04	RS+RNS
Coquine	23,63	0,00	0	0,02	RS+RNS

¹ = Différence en jours entre la date de la première infection du cultivar et celle du témoin sensible, ² = Différence entre les pentes du témoin et du cultivar testé, ³ = Sensible, ⁴ = Résistance spécifique, ⁵ = Résistance spécifique + Résistance non spécifique.

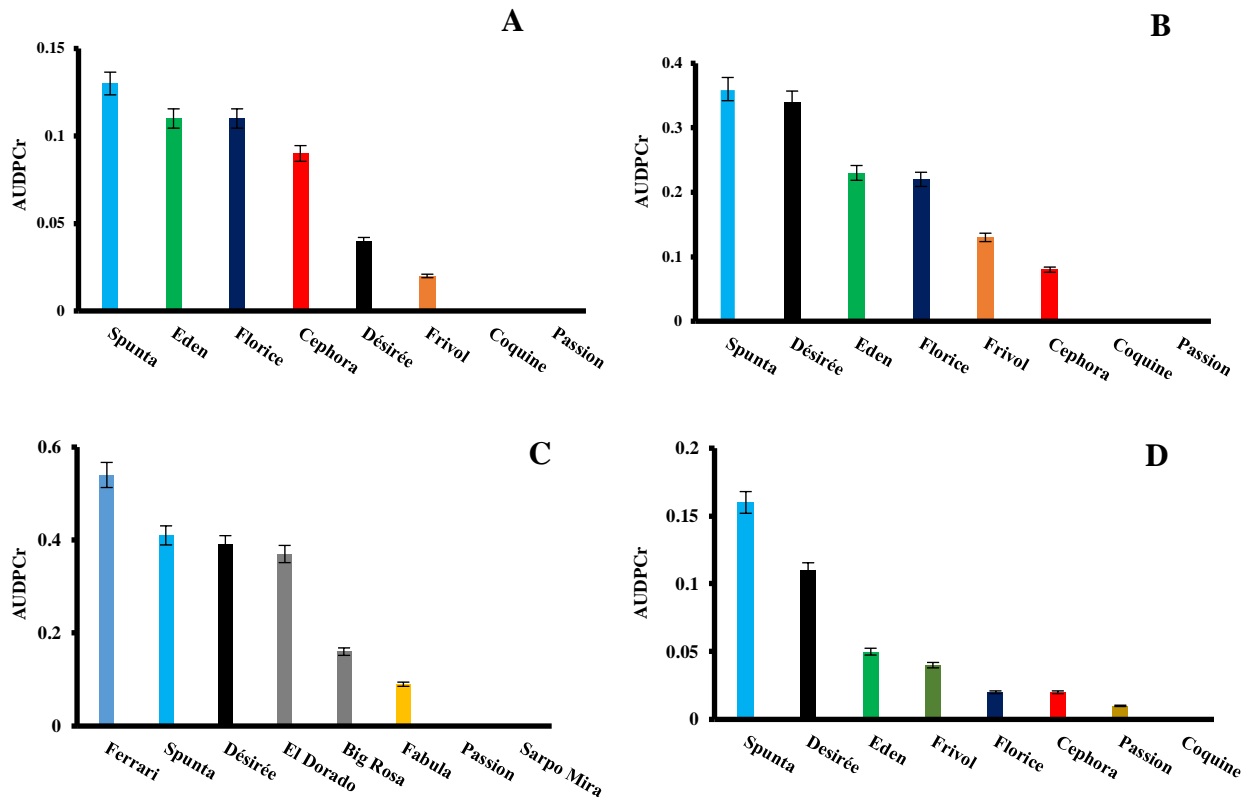


Figure 24. Evolution des valeurs de l’AUDPCr dans les deux sites d’essai en 2015 (A. Bab Ezzouar, B. Staouéli) et en 2016 (C. Bab Ezzouar, D. Staouéli).

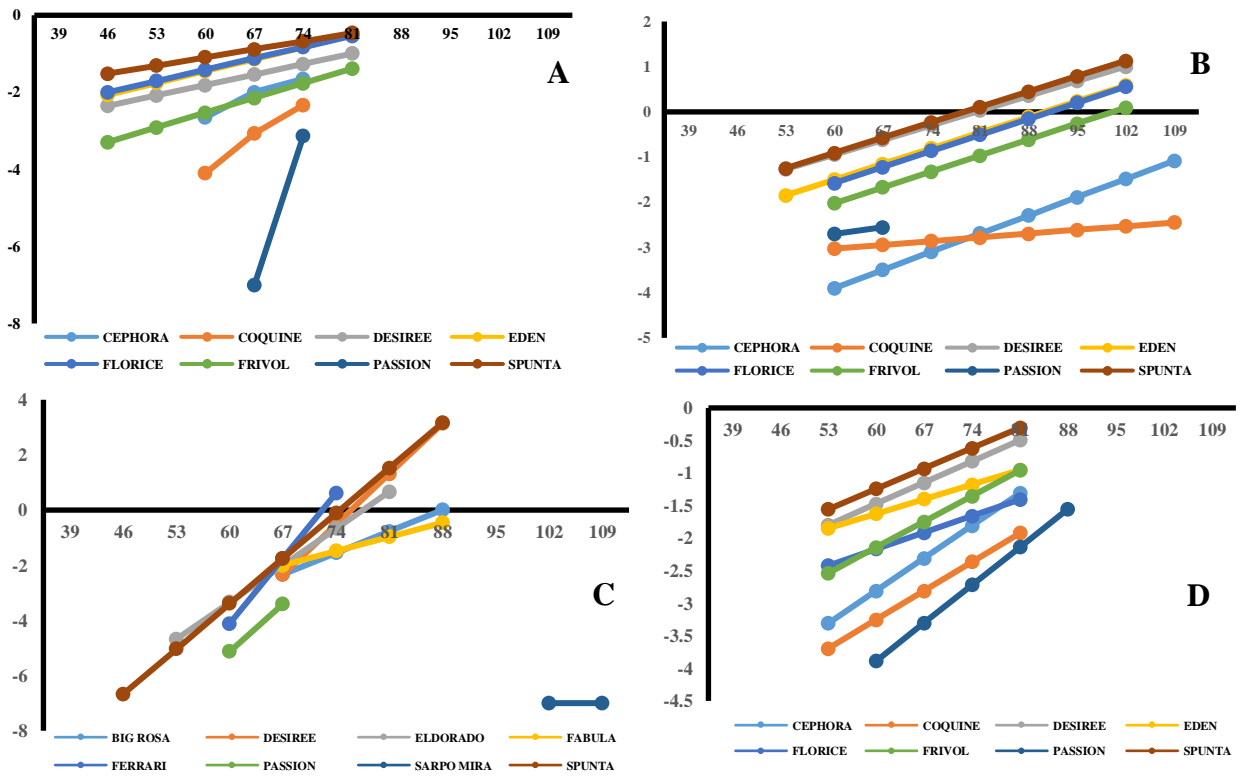


Figure 25. Courbes des valeurs ajustées de l’AUDPC par transformation logarithmique des deux sites expérimentaux en 2015 (A. Bab Ezzouar, B. Staouéli) et en 2016 (C. Bab Ezzouar, D. Staouéli).

TABLEAU 31. Analyse de la variance multivariée des valeurs de l'AUDPCr en fonction du type de résistance du cultivar, du site d'essai et de l'année d'expérimentation.

SOURCES	SC ¹	DLL ²	MC ³	F _{crit.} ⁴	P
TYPES DE RESISTANCE	0,171	3	0,057	5,748**	0,005
SITES	0,026	1	0,026	2,644	0,119
ANNEES	0,003	1	0,003	0,334	0,569
TYPES DE RESISTANCE/SITES	0,008	2	0,004	0,416	0,665
TYPES DE RESISTANCE/ANNEES	0,008	2	0,004	0,421	0,662
SITES D'ESSAI/ANNEES	0,172	1	0,172	17,321***	<0,001
TYPES DE RESISTANCE/SITES D'ESSAI/ ANNEES	0	0			
RESIDUEL	0,208	21	0,01		

¹ = Somme des carrés, ² = Degré de liberté, ³ = Moyenne des carrés, ⁴ = F critique, *** = 5% de signification, ** = 1% de signification, *** = 1 % de signification.

Les cultivars Ferrari, Eldorado, Désirée, Spunta, Sarpo Mira et Frivol ont montré en 2016 les plus faibles rendements qui ne dépassent pas les 200q/ha (Tableau 32). Les rendements les plus élevés ont été observés chez les variétés Passion et Coquine en 2015 avec respectivement 280 et 275,7 q/ha. Les variétés Fabula, Cephora, Eden et Big Rosa ont donné des rendements compris entre 201,2 et 247q/ha ce qui correspond à la moyenne nationale des rendements obtenues en culture de pomme de terre de saison (250 à 300q/ha). La production moyenne journalière des tubercules (DTP moyen) la plus faible soit 11,07 kg/jour/ha a été enregistrée chez le cultivar Ferrari en 2016 dans le site d'essai de Bab Ezzouar. Par contre, la DTP moyenne la plus élevée soit 25,69 kg/jour/ha a été observée chez le cultivar Passion en 2015 dans le site d'essai de Bab Ezzouar (Tableau 32).

L'analyse de la variance de la DTP moyenne montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les cultivars testés durant les deux années d'expérimentation 2015 et 2016 ($F_{crit.} = 1,337$, $P = 0,262$) avec une tendance à la baisse de la production en 2016 (Tableau 33). L'analyse de la corrélation entre les valeurs de l'AUDPCr et la DTP moyen a révélé une corrélation significative ($P < 0,001$) entre ces deux paramètres étudiés. Les valeurs de l'AUDPCr explique 51,55% de la variation des valeurs de DTP entre les cultivars et que la production quotidienne de tubercules était négativement liée à l'AUDPCr ($r = - 0,718$) (Fig.26).

IV.3.5. Discussion

Le comportement des cultivars testés à l'égard du mildiou n'était pas identique dans les deux

TABLEAU 32. Rendements moyens (q/ha) et DTP (kg/jour/ha) des cultivars testés obtenus dans les deux sites d'essais et durant les deux années d'expérimentation 2015 et 2016.

ANNEES	CULTIVARS	RENDEMENTS MOYENS (q/ha)	DTP ¹ (kg/jour/ha)
2015	Passion	280,00	25,70
	Coquine	275,70	25,30
	Cephora	227,80	20,90
	Désirée	222,60	20,42
	Frivol	204,20	18,73
	Spunta	212,10	19,46
	Eden	201,20	18,50
	Florice	183,80	16,86
2016	Passion	266,30	24,43
	Fabula	247,00	22,66
	Big Rosa	222,30	20,40
	Sarpo Mira	166,00	15,23
	Spunta	164,20	15,06
	Désirée	163,60	15,00
	Eldorado	128,80	11,82
	Ferrari	120,70	11,07

¹ = Productions journalière des tubercules.

TABLEAU 33. Analyse de la variance à un facteur pour les valeurs du DTP obtenues en 2015 et 2016.

SOURCES	SC ¹	DLL ²	MC ³	F _{crit.} ⁴	P ⁵
ANNEES	22,13	1	22,13	1,337	0,262
RESIDUEL	314,59	19	16,56		

¹ = Somme des carrés, ² = Degré de liberté, ³ = Moyenne des carrés, ⁴ = F critique, ⁵ = Probabilité.

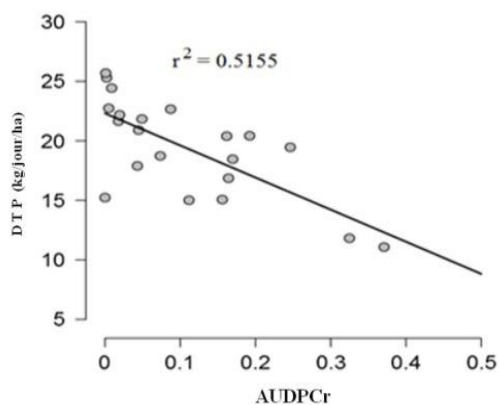


Figure 26. Matrice de corrélation des valeurs de la DTP des cultivars en fonction des valeurs de l'AUDPCr.

sites d'essai et durant les deux années d'expérimentation. Chez la plupart des cultivars les premières tâches du mildiou sont apparues à la fin du mois de Mars en 2016 et cinq jours plus tôt en 2015. La progression de la maladie a été également plus rapide en 2016. La majorité du feuillage des cultivars sensibles a été détruite en quatre semaines après l'apparition des premières taches du mildiou. Au niveau du site d'essai de Staouéli, la progression de la maladie a été faible chez les cultivars Frivol, Désirée, Eden et Florice en 2016 par rapport à 2015. Cette situation peut être due à la répartition hétérogène de l'inoculum dans ce site d'essai ainsi que les conditions climatiques qui étaient plus favorables en 2015. Chez les cultivars Spunta et Désirée qui sont couramment cultivés en Algérie, la progression du mildiou s'est avérée plus rapide. Ceci peut s'expliquer par l'adaptation des populations de *P. infestans* aux cultivars localement dominant et ce indépendamment de leur niveau de résistance (Andrison et al., 2007). Etant donné cette situation, la lutte contre le mildiou en Algérie nécessite plusieurs pulvérisations fongicides par type de culture dans les régions où les conditions climatiques sont favorables au développement du mildiou. Ceci est identique à ce qui existe dans certains pays européens (Pays-Bas, Belgique, Royaume-Uni, etc.) où 10 à 14 traitements sont appliqués par saison de culture (Cooke et al., 2011 ; Hansen et al., 2015).

Les cultivars Frivol, Eden, Florice, Eldorado et Ferrari se sont montrés sensibles au mildiou dans nos essais. Ceci est probablement dû à la prévalence dans nos deux sites d'essai d'isolats de la lignée clonale EU_13_A2 qui se sont montrés plus agressives (Latin et al., 1981; Ellisèche et al., 1999 ; Flier et al., 2003). En effet, divers cultivars de pomme de terre qui sont apparemment résistants au *P. infestans* se sont révélés sensibles aux isolats de la lignée clonale EU_13_A2 (Lees et al., 2012). Cette lignée semble posséder un profil complexe de virulence (Cooke et al., 2012; Corbière et al., 2010 ; 2015).

Les cultivars Fabula, Cephora et Big Rosa ont exprimé une résistance modérée. La présence d'un ou plusieurs gènes spécifiques de résistance *R* dans ces cultivars pourrait expliquer ce comportement à l'égard de la lignée clonale EU_13_A2. Les cultivars Coquine, Passion et Sarpo Mira ont montré des niveaux élevés de résistance à l'égard des isolats de la lignée EU_13_A2. La résistance au mildiou du cultivar Sarpo Mira a été signalée par plusieurs auteurs (Lees et al. 2009 ; White et Shaw 2009 ; 2010 ; Moulay, 2010). Le comportement de ce cultivar à l'égard du mildiou est due à la présence d'au moins cinq gènes *R* différents (*R3a*, *R3b*, *R4*, *Rpi-Smira1* et *Rpi-Smira2*) qui lui confère une bonne résistance quantitative et qualitative (Rietman et al., 2012).

La différence en termes de jours (Δt) entre la date de la première infection du cultivar et celle du témoin sensible et entre les pentes (Δa) ($a_i - a_r$) nous ont permis de déterminer les types de résistances pour chaque cultivar et de différencier les cultivars présentant des AUDPCr similaires.

La connaissance des types de résistance des cultivars de pomme de terre à l'égard du mildiou est utile car elle permet de décaler les premières pulvérisations fongicides sur les cultivars ayant une résistance spécifique (RS) pour retarder l'apparition des premières taches du mildiou. Les programmes de pulvérisation sur les cultivars ayant une résistance non spécifiques (RNS) devraient commencer en même temps que ceux des cultivars sensibles (S), mais ils pourraient être ajustés au niveau des intervalles compris entre les traitement et/ou les doses afin d'utiliser la capacité de la résistance du cultivar à diminuer la quantité d'inoculum produite ou son infectivité (Andrivon et *al.*, 2006).

Les valeurs des rendements moyens les plus élevées ont été observées chez les cultivars Big Rosa, Cephora, Fabula, Coquine et Passion. Ces rendements qui varient de 223,30 à 280 q/ha correspondent à ceux de la moyenne nationale obtenus en plein champ durant les cultures de saison (250 à 300q/ha). Par contre, la plus faible valeur de rendement moyen a été remarquée chez le cv. Sarpo Mira après 109 jours de culture. La DTP a été négativement corrélée à l'AUDPCr, ce qui indique que plus la sévérité de la maladie augmente moins sera la production de pomme de terre.

V. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le mildiou de la pomme de terre causé par l'oomycète *P. infestans* est responsable d'importants dégâts qui entraînent, le plus souvent, des pertes importantes sur la production et qui constituent, de ce fait, une menace directe pour la sécurité alimentaire en Algérie. Les travaux réalisés au cours de la période 2010-2016 nous ont permis de constituer une collection de 131 isolats de *P. infestans* et 92 empreintes d'ADN sur des cartes FTA provenant de différentes régions et étages bioclimatiques d'Algérie.

La détermination du type de compatibilité sexuelle des isolats a révélé que les populations algériennes de *P. infestans* sont constituées par un mélange des deux types A1 et A2 qui sont souvent présents au niveau des mêmes parcelles. Des différences dans la proportion entre ces deux types de compatibilité sexuelle A1 et A2 ont été observées entre les régions d'échantillonnage et les types de culture de saison et d'arrière-saison. Le type A1 paraît, cependant, moins fréquent dans les cultures de pommes de terre par rapport au type A2. Dans certaines régions, la présence de ces deux types A1 et A2 au niveau d'une même parcelle peut s'expliquer par la proximité des cultures de pomme de terre avec celles de la tomate. La coexistence de ces deux types dans les mêmes parcelles augmente sans aucun doute l'occurrence d'une reproduction sexuée de *P. infestans* dans les cultures de pomme de terre et génère ainsi une plus grande diversité génétique qui se traduit par l'apparition de nouveaux génotypes qui sont souvent plus agressifs et plus difficiles à contrôler.

Le test de résistance au métalaxyl des isolats de *P. infestans* réalisé *in vitro* a permis d'identifier au niveau des trois lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 deux phénotypes : sensible et résistant. La présence en Algérie de souches de *P. infestans* résistantes au métalaxyl est ainsi confirmée. Durant la période 2011-2016, le phénotype résistant s'est montré plus prévalent au niveau de toutes les wilayas prospectées. Tous les isolats appartenant aux deux lignées clonales EU_13_A2 et EU_2_A1 se sont révélés résistants au métalaxyl, alors que ceux de la lignée EU_23_A1 se sont montrés sensibles à l'égard de ce fongicide. Les changements récents dans les populations européennes de *P. infestans*, l'importation de semence de certains pays européens et l'utilisation intensive et unique du métalaxyl seraient probablement la cause de ce changement dans les populations algériennes de *P. infestans*. La prévalence de la lignée clonale EU_13_A2 et sa relative résistance au métalaxyl semblent être la principale cause de la diminution des rendements dans les cultures de saison de la pomme de terre.

Depuis la migration du type de compatibilité sexuelle A2 du continent américain vers l'Europe, la diversité génétique au sein des populations de *P. infestans* a considérablement augmenté en ce qui concerne les préférences environnementales plus particulièrement en ce qui concerne la température. En effet, celle-ci constitue un facteur limitant pour la croissance mycélienne des populations de *P. infestans*. Les isolats que nous avons testés à l'égard d'une gamme de températures (10, 15, 20, 25 et 30°C) ont montré une croissance mycélienne optimale à une température de 20°C et faible ou nulle à des températures comprise entre 25 et 30°C, ceci explique l'absence de cette maladie dans les régions du sud (El Oued et El Meniaa). Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par d'autres auteurs qui ont rapporté que la croissance mycélienne des isolats de *P. infestans* est optimale à 19°C et qu'elle est complètement inhibée à 27°C.

L'agressivité de quelques isolats de *P. infestans* à l'égard de deux cultivars de pomme de terre Spunta et Désirée a été évaluée sur des folioles détachées par les caractéristiques suivantes : périodes d'incubation et de latence, taille des lésions et intensité de la sporulation. D'une manière générale, cette évaluation a montré une variabilité de l'agressivité des isolats appartenant aux trois lignées clonales EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1. La durée des périodes d'incubation et de latence, les diamètres des lésions et l'intensité de la sporulation ont révélé que les isolats de la lignée EU_2_A1 sont plus agressifs par rapport à ceux des lignées EU_13_A2 et EU_23_A1. Certains isolats appartenant à la lignée clonale du type A1 se sont cependant montrés plus agressifs que celle du type A2. Certains travaux ont révélé que les isolats de *P. infestans* appartenant au type A2 sont plus agressifs que celles du type A1. Ceci indique que l'agressivité des isolats de *P. infestans* semble donc indépendante des types de compatibilité sexuelle A1 et A2.

Le génotypage et la structure génétique des populations algériennes de *P. infestans* ont été déterminés par le moyen d'un jeu de 17 marqueurs SSRs. Ces populations semblent être constituées par trois lignées clonales majeures EU_13_A2, EU_2_A1 et EU_23_A1 et quelques lignées mineures inconnues qui sont peut-être des recombinants. La lignée clonale EU_13_A2 semble la plus prévalente en Algérie. Cette prévalence semble être due à sa virulence et à son agressivité élevée bien que des travaux récents aient montré que d'autres facteurs sont probablement impliqués dans cette dominance. La lignée clonale EU_2_A1 qui semble moins fréquente que celle EU_13_A2 a été identifiée uniquement sur la pomme de terre avec une fréquence élevée, ce qui suggère fortement sa spécialisation parasitaire sur cet hôte. La lignée clonale EU_23_A1 a été détectée à Mostaganem en 2013 et 2014 puis dans les régions du centre et de l'est en 2015 et 2016. Cette lignée qui est principalement adaptée à la tomate est fréquente sur les cultures de pomme de terre d'arrière-saison dans certaines régions où cette dernière est cultivée à proximité des parcelles de la

tomate. Les populations des trois lignées clonales ne semblent pas géographiquement adaptées à chaque région. Les variations temporelles observées entre les saisons et les années au niveau des trois lignées clonales suggèrent un report de l'inoculum primaire entre les deux hôtes de *P. infestans* (pomme de terre et tomate).

La recherche de cultivars de pommes de terre résistants au mildiou pourrait être un moyen alternatif pour limiter l'utilisation des fongicides qui est pratiquement le seul moyen de lutte contre cette maladie en Algérie. Les cultivars testés ont montré différents types de résistance au mildiou de la pomme de terre. Le comportement des cultivars testés varie de très sensible à très résistant. Les cultivars Spunta, Désirée, Eden, Florice, Frivol, Eldorado et Ferrari se sont montrés très sensibles. Par contre, les trois cultivars Cephora, Fabula et Big Rosa ont exhibé un niveau de résistance satisfaisant et pourraient représenter une alternative au remplacement des cultivars sensibles tels que la Spunta et la Désirée qui occupent des superficies non négligeables en Algérie. Les cultivars Coquine, Passion et Sarpo Mira ont exprimé un niveau élevé et stable de la résistance et représentent, de ce fait, une option prometteuse pour lutter contre le mildiou de la pomme de terre en Algérie.

Au terme de ce travail qui a porté sur l'étude de la diversité phénotypique et géotypique des populations de *P. infestans* en Algérie et l'évaluation aux champs de quelques cultivars de pomme de terre à l'égard du mildiou, il est souhaitable d'approfondir les recherches sur les aspects suivants :

- L'évolution des populations de *P. infestans* et la probabilité d'introduction de nouvelles lignées clonales émergentes en Algérie,
- L'application d'autres associations de fongicides à mode d'action différent pour palier au phénomène de résistance de *P. infestans* au métalaxyl,
- Le monitoring du mildiou à d'autres zones géographiques en Algérie et d'autres cultures appartenant à la famille des Solanacées comme par exemple la tomate,
- La connaissance du comportement au champ d'autres cultivars de pomme de terre homologués en Algérie tels que Arizona, Kuroda, Ultra, Rudolph, Synergie et Royal à l'égard des populations de *P. infestans*.

VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABBOTT, C.L., GILMORE, S.R., LEWIS, C.T., CHAPADOS, J.T., PETERS, R.D., PLATT, H.W., COFFEY, M.D. & LÉVESQUE, C.A. 2010. Development of a SNP genetic marker system Based on variation in microsatellite flanking Regions of *Phytophthora infestans*. *Canadian Journal of Plant Pathology* **32** : 440-457.
- AGRIOS, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 5theds. Elsevier Academic Press. 922 p.
- AIT OUADA, M., BOUZNAD, Z., KEDDAD, A., MOKABLI, A., SIAFA, A. & YAHIAOUI, S. 2008. Principaux ravageurs et maladies de la pomme de terre : agents responsables, dégâts, conditions de développement et méthodes de lutte. *Journée d'étude sur la filière pomme de terre : Situation actuelle et perspectives*. I.N.A. El Harrach, le 18 Juin 2008, Alger.
- AKINO, S., TAKEMOTO, D. & HOSAKA, K. 2014. *Phytophthora infestans*: a review of past and current studies on potato late blight. *Journal of general plant pathology* **80** : 24-37.
- ALLALA-MESSAOUDI, L., GLAIS, L., KERKOU, M., BOUKHRIS-BOUHACHEM, S. & BOUZNAD, Z. 2019. Preliminary characterization of potato virus Y (PVY) populations in Algerian potato fields. *Journal of plant pathology* **101** (1): 1-14.
- AMRAR, S. 2005. Age physiologique et influence des conditions de stockage sous froid longue durée dans le développement de la culture de pomme de terre d'arrière-saison et de primeur en Algérie. *Macir revue* **2** : 11-14.
- ANDRIVON, D. 1995. Biology, Ecology, and Epidemiology of the Potato Late Blight Pathogen *Phytophthora infestans* in Soil. *Phytopathology* **85**: 1053-1056.
- ANDRIVON, D., PELLÉ, R. & ELLISSÈCHE, D. 2006. Assessing resistance types and levels to epidemic diseases from the analysis of disease progress curves: principles and application to potato late blight. *American Journal of Potato Research* **83**: 455-461.
- ANDRIVON, D., PILET, F., MONTARRY, J., HAFIDI, M., CORBIÈRE, R., ACHBANI, E.H., PELLÉ, R. & ELLISSÈCHE, D. 2007. Adaptation of *Phytophthora infestans* to partial resistance in potato: Evidence from French and Moroccan populations. *Phytopathology* **97**: 338-343.
- AVILA-ADAME, C., GOMEZ-ALPIZAR, L., ZISMANN, V., JONES, K.M., BUELL, C.R. & RISTAINO, P. 2006. Mitochondrial genome sequences and molecular evolution of the Irish potato famine pathogen, *Phytophthora infestans*. *Current Genetic* **49**: 39-46.

- AYAD, D., ARIBI, D., HAMON, B., KEDDAD, A., BOUZNAD, Z. & SIMONEAU, P. 2019. Distribution of large-spored *Alternaria* species associated with potato and tomato early blight according to hosts and bioclimatic regions of Algeria. *Phytopathologia Mediterranea* **58**:139-149.
- AYLOR, D.E., FRY, W.E., MAYTON, H. & ANDRADE-PIEDRA, J.L. 2001. Quantifying the rate of release and escape of *Phytophthora infestans* sporangia from a potato canopy. *Phytopathology* **91**: 1189-1196.
- AZIL, N., STEFANCZYK, E., SOBKOWIAK, S., CHIHAT, S., BOUREGHDA, H. & ŚLIWKA, J. 2021. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria. *European Journal of Plant Pathology* **159**: 495–509.
- BAJPAI, V.K., KANG, S.-R., XU, H., LEE, S.-G., BAEK, K.-H., & KANG, S.-C. 2011. Potential roles of essential oils on controlling plant pathogenic bacteria *Xanthomonas* species : a review. *The plant pathology journal* **27**: 207-224.
- BANAT, I.M., MAKKAR, R.S. & CAMEOTRA, S.S. 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied microbiology and biotechnology* **53**: 495-508
- BEAKES, G.W. & SEKIMOTO, S. 2009. The evolutionary phylogeny of *Oomycetes*-insights gained from studies of holocarpic parasites of algae and invertebrates. Pp. 1-24. In : *Oomycete Genetics and Genomics: Diversity, Interactions, and Research Tools*. LAMOUR, K. & KAMOUN, S. (eds). John Wiley and Sons, New York.
- BEAKES, G.W. & THINES, M. 2016. *Hyphochytriomycota* and *Oomycota*. Pp. 435-505. In : *Handbook of the Protists*, ARCHIBALD, J.M., SIMPSON, A.G.B. & SLAMOVITS, C.H.,(eds). 2nd edition. Springer International Publishing.
- BEAKES, G.W., GLOCKLING, S.L., SEKIMOTO, S. 2012. The evolutionary phylogeny of the oomycete “fungi.” *Protoplasma* **249** : 3-19.
- BELKHITER, S. 2022. Analyse génotypique et phénotypique des populations de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary agent du mildiou de la tomate en Algérie. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach. Algérie. 157 p.
- BELKHITER, S., BENINAL, L., KHEDIDJI, H., KRIMI, A. & BOUZNAD, Z. 2019. Aggressiveness and host adaptation of some Algerian *Phytophthora infestans* clonal lineages on potato and tomato. *Pakistan Journal of Phytopathology* **31**: 147-154.
- BENGTSSON, T. 2013. Boosting potato defence against late blight. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. 80 p
- BENINAL, L., CORBIÈRE, R., KEDDAD, A., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2009. A2 mating type, metalaxyl resistance and complex virulence profiles, common features in some *Phytophthora infestans*

- isolates from Algeria. Pp. 237-242. In : Schepers HTAM. eds. *PPO-Special Report no. 13*, 2009. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation.
- BIRCH, P.R.J., BRYAN, G., FENTON, B., GILROY, E., HEIN, I., JONES, J.T., PRASHAR, A., TAYLOR, M.A., TORRANCE, L. & TOTH, I.K. 2012. Crops that feed the world. Potato: are the trends of increased global production sustainable? *Food Security* **4**: 477-508.
- BLACK W., MASTENBROEK C., MILLS W.R. & PETERSON L.C. 1953. A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica* **2**: 173–179.
- BOURKE, A. 1991. Potato blight in Europe in 1845: The scientific controversy. Pp. 12–24. In : *Phytophthora*. LUCAS J.A., SHATTOCK, R.C., SHAW, D.S. & COOKE, L.R. (eds). Cambridge University Press, Cambridge,
- BOUWMEESTER, K., VAN POPPEL, P.M.J.A. & GOVERS, F. 2009. Genome biology cracks enigmas of oomycete plant pathogens. Pp. 102–133. In : *Molecular aspects of plant disease resistance*. PARKER, J. (ed). Oxford, UK. Wiley-Blackwell.
- BRASIER, C.M. 1992. Evolutionary biology of *Phytophthora* part I : genetic system, sexuality and the generation of variation. *Annual Review of Phytopathology* **30**: 153–171.
- BROWN, C.R. 1993. Origin and history of the potato. *American potato journal* **70**: 363-372.
- BRYLINSKA, M., SOBKOWIAK, S., STEFANCZYK, E. & SLIWKA, J. 2016. Potato cultivation system affects population structure of *Phytophthora infestans*. *Fungal Ecology* **20**: 132-143.
- BURKI, F., SHALCHIAN-TABRIZI, K., MINGE, M., SKJÆVELAND, A., NIKOLAEV, S.I., KJETILL, S.J., PAWLOWSKI, J. 2007. Phylogenomics Reshuffles the Eukaryotic Supergroups. *PLoS ONE* **2**(8): e790. doi:10.1371/journal.pone.0000790
- CARTER, D.A., ARCHER, S.A., BUCK, K.W., SHAW, D.S. & SHATTOCK, R.C. 1990. Restriction fragment length polymorphisms of mitochondrial DNA of *Phytophthora infestans*. *Mycological Research* **94**: 1123–1128.
- CASA-COILA, V.H., LEHNER, M.D.S., HORA JÚNIOR, B.T., REIS, A., NAZARENO, N.R.X., MIZUBUTI, E.S. & GOMES, C.B. 2017. First report of *Phytophthora infestans* self-fertile genotypes in Southern Brazil. *Plant Disease* **101** :1682–1682.
- CAULIER, S., GILLIS, A., COLAU, G., LICCIARDI, F., LIEPIN, M., DESOIGNIES, N., MODRIE, P., LEGREVE, A., MAHILLON, J. & BRAGARD, C. 2018. Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp., against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in Microbiology* **9**: 143-162.
- CAVALIER-SMITH, T. 1993. Kingdom *Protozoa* and its 18 phyla. *Microbiological Reviews* **57**: 953-994.

- CHMIELARZ, M., SOBKOWIAK, S., DEZBSKI, K., COOKE, D.E.L., BRURBERG, M.B. & SLIWKA, J. 2014. Diversity of *Phytophthora infestans* from Poland. *Plant Pathology* **63**: 203-211.
- CHOWDAPPA, P., NIRMAL-KUMAR, B.J., MADHURA, S., MOHAN-KUMAR, S.P., MYERS, K.L., FRY, W.E. & COOKE, D.E.L. 2015. Severe outbreaks of late blight on potato and tomato in South India caused by recent changes in the *Phytophthora infestans* population. *Plant Pathology* **64**: 191-199.
- CLARKE, K.R. & WARWICK, R.M. 2001. *Change in marine communities, an approach to statistical analysis and interpretation*. 2nd Edition, PRIMER-E, Ltd., Plymouth Marine Laboratory, Plymouth. 176 p.
- CLAYTON, R.C. & SHATTOCK, R.C. 1995. Reduced fungicide inputs to control *Phytophthora infestans* in potato cultivars with high levels of polygenic resistance. *Potato Research* **38**: 399-405.
- COHEN, Y. & KADISH, D. 1992. Determination of the sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamides: a quantitative tuber disc method. *EPPO Bulletin* **22**: 311-14
- COLON, L., NIEELSEN, B.L. & DARSOW, U. 2004. Detached leaf test for foliage blight resistance. <http://www.eucablight.org/EucaBlight.asp>.
- COOKE, D.E.L. & LEES, A.K. 2004. Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. *Plant Pathology* **53**: 692-704.
- COOKE, D.E.L., CANO, L.M., RAFFAELE, S., BAIN, R.A., COOKE, L.R., ETHERINGTON, G.J., DEAHL, K.L., FARRER, R.A., GILROY, E.M., GOSS, E.M., GRÜNWARD, N.K., HEIN, I., MACLEAN, D., MCNICOL, J.W., RANDALL, E., OLIVA, R.F., PEL, M.A., SHAW, D.S., SQUIRES, J.N., TAYLOR, M.C., VLEESHOUWERS, V.G.A.A., BIRCH, P.R.J., LEES, A.K. & KAMOUN, S. 2012. Genome analyses of an aggressive and invasive lineage of the Irish potato famine pathogen. *PLOS Pathogens* **8**, e1002940, doi: 10.1371/journal.ppat.1002940.
- COOKE, L.R., SCHEPERS, H.T.M., HERMANSEN, A., BAIN, R.A., BRADSHAW, N., RITCHIE, F., SHAW, D.S., EVENHUIS, A., KESSEL, G.J.T., WANDER, J.G.N., ANDERSON, B., HANSEN, J.G., HANNUKKALA, A., NÆRSTAD, R. & NIELSEN, B.J. 2011. Epidemiology and integrated control of potato late blight in Europe. *Potato Research* **54**: 183-222.
- CORBIÈRE, R. & ANDRIVON, D. 2003. Preparation of a Simple Pea Medium for Culturing *Phytophthora infestans*. <http://www.eucablight.org/EucaBlight.asp>.
- CORBIÈRE, R., BENINAL, L., BELKHITER, S., MABON, R., MARIETTE, N., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2015. Do the Algerian *Phytophthora infestans* populations show genotypic structuration on potato and tomato? Pp. 155-167. In : Schepers HTAM, (eds.) *PPO-Special Report no 17*, 2015. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation.

- CORBIÈRE, R., CHATOT, C., MABON, R. & MARIETTE, N. 2016. Mildiou en France : *P. infestans* sous surveillance. *Phytoma* **690**: 30-36.
- CORBIÈRE, R., REKAD, F.Z., GALFOUT, A., ANDRIVON, D. & BOUZNAD, Z. 2010. Phenotypic and genotypic characteristics of Algerian isolates of *Phytophthora infestans*. Pp. 133-146. In : Schepers HTAM. eds. *PPO-Special Report no. 14*, 2010. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation.
- DAAYF, F., ADAM, L. & FERNANDO, W.G.D. 2003. Comparative screening of bacteria for biological control of potato late blight (strain US-8), using *in-vitro*, detached-leaves, and whole-plant testing systems. *Canadian Journal of Plant Pathology* **25**: 276-284.
- DANIES, G., MYERS, K., MIDEROS, M.F., RESTREPO, S., MARTIN, F.N., COOKE, D.E., SMART, C.D., RISTAINO, J.B., SEAMAN, A.J., GUGINO, B.K., GRÜNWARD, N.J. & FRY, W.E. 2014. An ephemeral sexual population of *Phytophthora infestans* in the northeastern United States and Canada. *PLoS One* 9(12) : e116354
- DANIES, G., SMALL, I.M., MYERS, K., CHILDERS, R. & FRY, W.E. 2013. Phenotypic characterization of recent clonal lineages of *Phytophthora infestans* in the United States. *Plant Disease* **97**: 873-881.
- DAVIDSE, L., HENKEN, J., VAN DALEN, A., JESPER, A. & MANTEL, B. 1989. Nine years of practical experience with phenylamide resistance in *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **95**: 197-213.
- DAVIDSE, L.C., LOOIJEN, D., TURKENSTEEN, L.J. & VAN DER WAL, D. 1981. Occurrence of met-alaxyl resistance strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato fields. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **87**: 65-68.
- DAVIDSE, L.C., LOOIJEN, D., TURKENSTEEN, L.J. & VAN DER WAL, D. 1981. Occurrence of met-alaxyl resistance strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato fields. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **87**: 65-68.
- DE BARY, A. 1876. Researches into the nature of the potato fungus. *Journal of the Royal Agricultural Society of England* **12**: 239-269
- DE CLERCK, C.D., MASO, S.D., PARISI, O., DRESEN, F., ZHIRI, A. & JIJAKLI, M. . 2020. Screening of antifungal and antibacterial activity of 90 commercial essential oils against 10 pathogens of agronomical importance. *Foods* **9**: 1418
- DE MIRANDA, B.E.C., SUASSUNA, N.D. & REIS, A. 2010. Mating type, mefenoxam sensitivity, and pathotype diversity in *Phytophthora infestans* isolates from tomato in Brazil. *Pesquisa Agropecuaria brasileira* **45**: 671-679.

- DEAHL, K.L., DEMUTH, S.P., SINDEN, S.L. & RIVERA-PENA, A. 1995. Identification of mating types and metalaxyl resistance in North American populations of *Phytophthora infestans*. *American Potato Journal* **72**: 35-49.
- DEAHL, K.L., PAGANI, M.C., VILARO, F.L., PEREZ, F.M., MORAVEC, B. & COOKE, L.R. 2003. Characteristics of *Phytophthora infestans* isolates from Uruguay. *European Journal of Plant Pathology* **109**: 277–281
- DEUMIER, J.M., GAUCHER, D., GRAVOUEILLE, J.M., LAURENT, F., LE SOUDER, C., MARTIN, M., TBUPIN, P., VAEHER, C. & VERJUX, N. 2004. Culture de la pomme de terre de conservation. Arvalis-Institut du végétal. Paris. 72 p.
- DEY, T., SAVILLE, A., MYERS, K., TEWARI, S., COOKE, D.E.L., TRIPATHY, S., FRY, W.E., RISTAINO, J.B. & ROY, S.G. 2018. Large sub-clonal variation in *Phytophthora infestans* from recent severe late blight epidemics in India. *Scientific Reports* **8**: 1-12. doi: 10.1038/s41598-018-22192-1.
- DICK, M.W. 2001. *Straminipilous Fungi. Systematics of the Peronosporomycetes Including Accounts of the Marine Straminipilous Protists, the Plasmodiophorids and Similar Organisms*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. xv+ 670 p.
- DOWLEY, L.J. & O'SULLIVAN, E. 1981. Metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Ireland. *Potato Research* **24**: 417-421.
- DRENTH, A., TURKENSTEEN, L. J. & GOVERS, F. 1993. The occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* in the Netherlands : Significance and consequences. *Netherland Journal of Plant Pathology* **99**: S57-S67.
- DUVAUCHELLE, S. & ANDRIVON, D. 1996. Maladie à distribution géographique mondiale : le mildiou et son agent *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Pp. 281-291. In : *La pomme de terre production, amélioration, ennemis, maladie et utilisation*. ROUSSELLE, P., ROBERT, Y., & CROSNIER, J.C. (Eds.), I.N.R.A. Editions. Paris. France.
- EARL, D.A. & VON HOLDT, B.M. 2012. Structure Harvester, a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* **4**: 359-361.
- EL-GANAINY, S.M., ISMAIL, A.M., SOLIMAN, M.S., AHMED, Y., SATTAR, M.N., CHELLAPPAN, B.V. & COOKE, D.E.L. 2023. Population Dynamics of *Phytophthora infestans* in Egypt Reveals Clonal Dominance of 23_A1 and Displacement of 13_A2 Clonal Lineage. *Journal of Fungi*. **9**: 349. <https://doi.org/10.3390/jof9030349>.
- EL-GANAINY, S.M., TOHAMY, A.M.M., AWAD, M.A., SQUIRES, J.N. & COOKE, D.E. 2013. The population dynamics of *Phytophthora infestans* in Egypt. In, *Proceedings of American Phytopathological Society (APS) Meeting (August 10-14, 2013, Austin, Texas, USA)*, **103**. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3041.7688>.

- ELLISECHE, D. 1996. Aspects physiologiques de la croissance et du développement. Pp. 71-124. In : *La pomme de terre production, amélioration, ennemis, maladie et utilisation*, ROUSSELLE, P., ROBERT, Y. & GROSNIER, J.C. (eds.). INRA Editions. Paris..
- ELLISECHE, D., PELLE, R. & ANDRIVON, D. 1999. Résistance variétale au mildiou : situation et perspectives. *La Pomme de terre française* **510** : 16-22.
- ERWIN D.C. & RIBEIRO, O.K. 1996. *Phytophthora Diseases Worldwide*. American Phytopathological Society Press, St Paul, MN, USA. 561 p.
- EUROBLIGHT. 2020. Results of the EuroBlight potato late blight monitoring in 2020. <https://agro.au.dk.EuroBlight>.
- EVANNO, G., REGNAUT, S. & GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE, a simulation study. *Molecular Ecology* **14**: 2611-2620.
- EWING, E.E., SIMKO, I., SMART, C.D., BONIERBALE, M.W., MIZUBUTI, E.S.G., MAY, G.D. & FRY, W.E. 2000. Genetic mapping of qualitative and quantitative field resistance to *Phytophthora infestans* in a population derived from *Solanum tuberosum* and *Solanum berthaultii*. *Molecular Breeding* **6**: 25-36.
- EXCOFFIER, L. & LISCHER, H.E. 2010. Arlequin suite ver3.5 : a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**: 564-567.
- FAOSTAT, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Agricultural Statistics. Available at, <http://www.faostat.fao.org/>.
- FIERS, M., EDEL-HERMANN, V., CHATOT, C., LE HINGRAT, Y., ALABOUVETTE, C. & STEINBERG, C. 2012. Potato soil-borne diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **32** : 93-132.
- FLIER, W.G., KROON, L.P.N.M., HERMANSEN, A., VAN RAAIJ, H.M.G., SPEISER, B., TAMM, L., FUCHS, J.G., LAMBION, J., RAZZAGHIAN, J., ANDRIVON, D., WILCOCKSON, S. & LEIFERT, C. 2007. Genetic structure and pathogenicity of populations of *Phytophthora infestans* from organic potato crops in France, Norway, Switzerland and the United Kingdom. *Plant Pathology* **56**: 562–572.
- FLIER, W.G., VAN DEN BOSCH, B.M. & TURKENSTEEN, L.J. 2003. Stability of partial resistance in potato cultivars exposed to aggressive strains of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* **52**: 326–337.
- FLOR, H.H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology* **9**: 275-296.
- FOOLAD, M.R., MERK, H.L. & ASHRAFI, H. 2008. Genetics, genomics and breeding of late blight and early blight resistance in tomato. *Critical Reviews in Plant Sciences* **27**: 75-107
- FORBES, G.A., ESCOBAR, X.C., AYALA, C.C., REVELO, J., ORDONEZ, M.E., FRY, B.A.,

- DOUCETT, K. & FRY, W.E. 1997. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador. *Phytopathology* **87**: 375-380.
- FRY, W.E. & GOODWIN, S.B. 1997. Reemergence of potato and tomato late blight in the United States. *Plant Disease* **81**: 1349-1357.
- FRY, W.E. 1975. Integrated effects of polygenic resistance and protective fungicide on development of potato late blight. *Phytopathology* **65**: 908-911.
- FRY, W.E. 1977. Integrated control of potato late blight - effects of polygenic resistance and techniques of timing fungicide applications. *Phytopathology* **67**: 415-420.
- FRY, W.E. 2008. *Phytophthora infestans*, the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology* **9**: 385-402.
- FRY, W.E., BIRCH, P.R.J., JUDELSON, H.S., GRÜNWARD, N.J., DANIES, G., EVERTS, K.L., GEVENS, A.J., GUGINO, B.K., JOHNSON, D.A., JOHNSON, S.B., MCGRATH, M.T., MYERS, K.L., RISTAINO, J.B., ROBERTS, P.D., SECOR, G. & SMART, C.D. 2015. Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology* **105** : 966-981.
- FRY, W.E., GOODWIN, S.B., DYER, A.T., MATUSZAK, J.M., DRENTH, A., TOOLEY, P.W., SUJKOWSKI, L.S., KOH, Y.J., COHEN, B.A., SPIELMAN, LI., DEAHL, K.L., INGLIS, D.A. & SANDLAN, K.P. 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Disease* **77**: 653-661.
- FRY, W.E., GOODWIN, S.D., MATUSZAK, J.M., SPIELMAN, L.J., MILGROON, M.G. & DRENTH, A. 1992. Population genetics and intercontinental migration of *Phytophthora infestans*. *Annual Review of Phytopathology* **30**: 107-129.
- FRY, W.E., McGRATH, M.T., SEAMAN, A., ZITTER, T.A., MCLEOD, A., DANIES, G., SMALL, I.M., MYERS, K., EVERTS, K., GEVENS, A.J., GUGINO, B.K., JOHNSON, S.B., JUDELSON, H., RISTAINO, J., ROBERTS, P., SECOR, G., SEEBOLD, K., SNOVERCLIFT, K., WYENANDT, A., GRÜNWARD, N.J. & SMART, C.D. 2013. The 2009 late blight pandemic in the eastern United States-causes and results. *Plant Disease* **97**: 296-306.
- FRY, W.E., THURSTON, H.D. & STEVENSON, W.R. 2001. Late blight. Pp. 28-30. In : *Compendium of Potato Diseases*, 2nd ed. STEVENSON, W.R., LORIA, R., FRANC, G.D. & WEINGARTNER, D.P. eds. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN. USA.
- 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.
- GALFOUT, A., KEDDAD, A., CORBIÈRE, R. & BOUZNAD. Z. 2010. Occurrence of late blight in Algeria during 2009 and evaluation of potato cultivars for resistance to *Phytophthora infestans*. Pp.

- 291-296. In Schepers HTAM. eds. *PPO-Special Report no. 12*, 2010. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation.
- GALINDO, J. & GALLEGLY, M.E. 1960. The nature of sexuality in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* **50**: 123-128.
- GALLEGLY, M.C. & HONG, C. 2008. *Phytophthora : Identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 158 p.
- GALLEGLY, M.E. & GALINDO, J. 1958. Mating type and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. *Phytopathology* **48**: 274-277.
- GARRETT, K.A. & DENDY, S.P. 2001. Cultural practices in potato late blight management. Pp.107-113. In : *Complementing resistance to late blight (Phytophthora infestans) in the Andes*. FERNANDEZ-NORTHCOTED, N. (Ed.). *Proceedings of GILB Latin American Workshop*, 13-16 February, 2001, Cochabamba, Bolivia.
- GAUCHER, D., DUVAUCHELLE, S. & ANDRIVON, D. 1998. Mildiou de la pomme de terre - le champignon évolue, la lutte aussi. *Perspectives Agricoles* **236**: 1-20.
- GAVINO, P.D. & FRY, W.E. 2002. Diversity in and evidence for selection on the mitochondrial genome of *Phytophthora infestans*. *Mycologia* **94**: 781-793.
- GAVINO, P.D., SMART, C.D., SANDROCK, R.W., MILLER, J.S., HAMM, P.B., YUN LEE, T., DAVIS, R.M. & FRY, W.E. 2000. Implications of sexual reproduction for *Phytophthora infestans* in the United States: generation of an aggressive lineage. *Plant Disease* **84**: 731-735.
- GISI, U. & COHEN, Y. 1996. Resistance to phenylamide fungicides : a case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. *Annual Review of Phytopathology* **34** : 549-572.
- GLAIS, I. & CORBIÈRE, R. 2005. Inoculation en conditions contrôlées de folioles détachées de pomme de terre pour déterminer l'agressivité et la virulence d'isolats de *Phytophthora infestans*. Pp. 143-147. In : *Méthode d'appréciation du comportement variétal vis-à-vis des bioagresseurs. Le cahier des techniques de l'INRA*. France.
- GOODWIN, S.B. 1997. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology* **87**: 462-473.
- GOODWIN, S.B., COHEN, B.A. & FRY, W.E. 1994a. Panglobal distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA **91**: 11591-11595.
- GOODWIN, S.B., COHEN, B.A., DEAHL, K.L. & FRY, W.E. 1994b. Migration from northern Mexico was the probable cause of recent genetic changes in populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada. *Phytopathology* **84**: 553-558.
- GOODWIN, S.B., SPIELMAN, L.J., MATUSZAK, J.M., BERGERON, S.N. & FRY, W.E. 1992. Clonal

- diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in northern and central Mexico. *Phytopathology* **82**: 955-961.
- GOTH, R. W. & KEANE, J. 1997. A detached-leaf method to evaluate late blight resistance in potato and tomato. *American Potato Journal* **74**: 347-352.
- GOVERS, F., DRENTH, A. & PIETERSE, C.M.J. 1997. The Potato Late Blight Pathogen *Phytophthora infestans* and Other Pathogenic *Oomycota*. Pp. 17-36. *In Plant Relationships. A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research*. CARROLL, G.C. et TUDZYNSKI, P. (edits) The Mycota V, Part B. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- GRIFFITH, G.W. & SHAW, D.S. 1998. Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of DNA from pure cultures or from host lesions. *Applied Environmental Microbiology* **64**: 4007-4014.
- GRÜNWARD, N.J., EVERHART, S.E., KNAUS, B.J., KAMVAR, Z.N. 2017. Best practices for population genetic analyses. *Phytopathology* **107**: 1000-1010.
- GRÜNWARD, N.J. & FLIER, W.G. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology* **43**: 171-190.
- GRÜNWARD, N.J., FLIER, W.G., STURBAUM, A.K., GARAY-SERRANO, E., VAN DEN BOSCH, T.B.M., SMART, C.D., MATUSZAK, J.M., LOZOYA-SALDANA, H., TURKENSTEEN, L.J. & FRY, W.E. 2001. Population structure of *Phytophthora infestans* in the Toluca Valley region of central Mexico. *Phytopathology* **91**: 882-890.
- GUPTA, J. 2016. Efficacy of biocontrol agents against *Phytophthora infestans* on potato. *International Journal of Engineering Science and Computing* **6**: 2249-2251
- HAFIDI, M., ACHBANI, E.H., LAMAARAF, N., BOUAMI, F., ANDRIVON, D. & CORBIÈRE, R. 2002. Geographic differentiation of populations of *Phytophthora infestans* in Morocco. *Al Awamia* **104**: 96.
- HAMMI, A. 2003. Caractérisation de populations de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary dans la région de Saïs. Thèse de Doctorat Nationale en Biologie. Université Sidi Mohamed Ibn Abdollah. Fes. Maroc. 272 p.
- HAMPTON, M.C. 1992. Some thoughts on demography of the great potato famine. *Plant Disease* **76**: 1284-1286.
- HANSEN, J.G., ANDERSSON, B., SJÖHOLM, L., LILJEROTH, E., EDIN, E., BAIN, R., LEES, A., RITCHIE, F., KILDEA, S., COOKE, L., YOUNG, G., FILIPPOV, A., HANNUKKALA, A., HAUSLADEN, H., HAUSVATER, E., HERMANSEN, A., NAERSTAD, R., KAPSA, J., RUNNOR-PAURSON, E., KOPPEL, M., MUSA, T., GULBIS, G., RONIS, A., VOGELAAR, K., SPOELDER, J., EVENHUIS, B. & VANHAVERBEKE, P. 2015. Epidemics and control of early & late blight, 2013 &

- 2014 in Europe. Pp. 11–30. In : Schepers HTAM, eds. *PPO-Special Report no 17*, 2015. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation.
- HARBAOUI, K., HAMADA, W., LI, Y., VLEESHOUWERS, V.G.A.A. & VAN DER LEE, T. 2014. Increased difficulties to control late blight in Tunisia are caused by a genetically diverse *Phytophthora infestans* population next to the clonal lineage NA-01. *Plant Disease* **98**: 898-908.
- HARBAOUI, K., HAMADA, W., VLEESHOUWERS, V.G.A.A., KHAMMASSY, N., HARRABI, M. & VAN DER LEE, T.A.J. 2013. Characterisation of *Phytophthora infestans* isolates collected from potato and tomato crops in Tunisia during 2006-2008. *Potato Research* **56**: 11–29.
- HARTILL, W.F.T., YOUNG, K., ALLAN, D.J. & HENSHALL, W.R. 1990. Effects of temperature and leaf wetness on the potato late blight. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **18**: 181-184.
- HAWKES, J.G. 1990. *The potato, evolution, biodiversity and genetic resources*. Belhaven Press. London. England. viii + 259 p.
- HAYNES, K.G., LAMBERT, D.H., CHRIST, B.J., WEINGARTNER, D.P., DOUCHES, D.S., BACKLUND, J.E., SECOR, G., FRY, W.E. & STEVENSON, W. 1998. Phenotypic stability of resistance to late blight in potato clones evaluated at eight sites in the United States. *American Journal of Potato Research* **75**: 211-217.
- HENFLING, J.W. 1987. Late blight of potato: *Phytophthora infestans*. Technical Information Bulletin 4. International Potato Center, Lima, Peru. 25 p. (Second edition, revised).
- HU, C.-H., PEREZ, F.G., DONAHOO, R., MCLEOD, A., MYERS, K., IVORS, K., SECOR, G., ROBERTS, P.D., DEAHL, K.L., FRY, W.E. & RISTAINO, J.B. 2012. Recent genotypes of *Phytophthora infestans* in eastern United States reveal clonal populations and reappearance of mefenoxam sensitivity. *Plant Disease* **96**: 1323-1330.
- INGLIS, D.A., JOHNSON, D.A., LEGARD, D.E., FRY, W.E. & HAMM, P.B. 1996. Relative resistances of potato clones in response to new and old populations of *Phytophthora infestans*. *Plant Disease* **80**: 575-578.
- JAMES, C. 1971. An illustrated series of assessment keys for plants diseases, their preparation and usage. *Canadian Plant Disease Survey* **51**: 39-65.
- JMOUR, W. & HAMADA, W. 2006. First report of A2 mating type of *Phytophthora infestans* in Tunisia using molecular markers and some observations on its metalaxyl resistance. *Tunisian Journal of Plant Protection* **1**: 85–92.
- JUDELSON, H.S. & BLANCO F.A. 2005. The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *Nature Reviews Microbiology* **3**:47-58.

- JUNG, T., SCANU, B., BRASIER, C.M., WEBBER, J., MILENKOVIĆ, I., CORCOBADO, T., TOMŠOVSKÝ, M., PÁNEK, M., BAKONYI, J., MAIA, C., BĀCOVÁ, A., RACO, M., REES, H., PÉREZ-SIERRA, A., JUNG, M.H. 2020. A survey in natural forest ecosystems of Vietnam reveals high diversity of both new and described *Phytophthora* taxa including *P. ramorum*. *Forests* 11, 93. <https://doi.org/10.3390/f11010093>
- KATO, M., MIZUBUTI, E.S., GOODWIN, S.B. & FRY, W.E. 1997. Sensitivity to protectant fungicides and pathogenic fitness of clonal lineages of *Phytophthora infestans* in the United States. *Phytopathology* **87**: 973-978.
- KAUR, S. & MUKERJI, K.G. 2004. Potato Diseases and their Management. Pp. 233-280. In : *Fruit and Vegetable Diseases. Disease Management of Fruits and Vegetables*. MUKERJI, K.G. (ed). Vol 1. Springer, Dordrecht.
- KESSEL, G.J.T. & FÖRCH, M.G. 2006. Effect of UV-exposure on germination of sporangia of *P. infestans*. Plant Research International B.V. Wageningen. Note **395**. 12 p.
- KIIKER, R., SKRABULE, I., RONIS, A., COOKE, D.E.L., HANSEN, J.G., WILLIAMS, I.H., MÄND, M. & RUNNO-PAURSON, E. 2019. Diversity of populations of *Phytophthora infestans* in relation to patterns of potato crop management in Latvia and Lithuania. *Plant Pathology* **68**: 1207-1214.
- KIRK, H. & FREELAND, J.R. 2011. Applications and implications of neutral versus non-neutral markers in molecular ecology. *International Journal of Molecular Sciences* **12**: 3966–3988.
- KIRK, W.W., FELCHER, K.J., DOUCHES, D.S., COOMBS, J.M., STEIN, J.M., BAKER, K. M. & HAMMERSCHMIDT, R. 2001. Effect of host plant resistance and reduced rates and frequencies of fungicide application to control potato late blight. *Plant Diseases* **85**: 1113-1118.
- KLOEPPER, J.W., RYU, C.M. & ZHANG, S.A. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* **94**: 1259-1266.
- KNAPOVA, G. & GISI, U. 2002. Phenotypic and genotypic structure of *Phytophthora infestans* populations on potato and tomato in France and Switzerland. *Plant Pathology* **51**: 641-653.
- KUHL, J.C., HANNEMAN, R.E. & HAVEY, M.J. 2001. Characterization and mapping of *Rpi1*, a late-blight resistance locus from diploid (1EBN) Mexican *Solanum pinnatisectum*. *Molecular Genetics and Genomics* **265** : 977-985.
- LAING, C. 1998. Le mildiou de la pomme de terre. Bulletin d'information de la division de la gestion des demandes d'homologation et de l'information. Agence de Réglementation de la lutte parasitaire. Canada. Juin 1996.
- LAMBERT, D.H. & CURRIER, A.I. 1997. Differences in tuber rot development for North American clones of *Phytophthora infestans*. *American Potato Journal* **74**: 39–43.

- LANDEO, J.A., GASTELO, M., RONCAL, E. & MENDOZA, A. 2000. Phenotypic stability for horizontal resistance to potato late blight in population B. *American Journal of Potato Research* **77**: 406.
- LARGE, E.C. 1940. *The advance of fungi*. Dover Publications, Inc. New York. 488 p.
- LATIN, R.X., MACKENZIE, D.R. & COLE, H. Jr. 1981. The influence of host and pathogen genotypes on the apparent infection rates of potato late blight epidemics. *Phytopathology* **71**: 82-85.
- LEBRETON, L., DUVAUCHELLE, S. & ANDRIVON, D. 1996. Occurrence in France and Belgium of A2 mating type isolates of *Phytophthora infestans* in 1995. Pp. 262-263. In : *Proceedings of the 13th Triennial conference of the EAPR, Veldhoven, Netherlands*.
- LEES, A.K., COOKE, D.E.L., STEWART, J.A., SULLIVAN, L., WILLIAMS, N.A. & CARNEGIE, S.F. 2009. *Phytophthora infestans* population changes: implications. Pp. 55-60. In : Schepers HTAM (eds) *Proceedings of the eleventh EuroBlight Workshop*, PPO-Special Report no. 13, Hamar, Norway, 31 October 2008.
- LEES, A.K., STEWART, J.A., LYNOTT, J.S., CARNEGIE, S.F. CAMPBELL, H. & ROBERTS, A.M.I. 2012. The effect of a dominant *Phytophthora infestans* genotype (13_A2) in Great Britain on host resistance to foliar late blight in commercial potato cultivars. *Potato Research* **55**: 125-134.
- LEES, A.K., WATTIER, R., SHAW, D.S., SULLIVAN, L., WILLIAMS, N.A. & COOKE, D.E.L. 2006. Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations. *Plant Pathology* **55**: 311-319.
- LEGARD, D.E., LEE, T.Y. & FRY, W.E. 1995. Pathogenic specialization in *Phytophthora infestans*: aggressiveness on tomato. *Phytopathology* **85**: 1356-1361.
- LI, Y., COOKE, D.E.L, JACOBSEN, E. & VAN DER LEE, T.A.J. 2013. Efficient multiplex simple sequence repeat genotyping of the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Journal of Microbiological Methods* **92**: 316-322.
- LI, Y., GOVERS, F., MENDES, O., TESTA, A., JACOBSEN, E. HUANG, S. W. & VAN DER LEE, T.A.J. 2010. A new set of highly informative SSR markers for *Phytophthora infestans* population analysis assembled into an efficient multiplex. *Molecular Ecology Resources* **10**: 1098-1105.
- LI, Y., VAN DER LEE, T.A.J., EVENHUIS, A., VAN DEN BOSCH, G.B.M., VAN BEKKUM, P.J., FÖRCH, M.G., VAN GENT-PELZER, M.P.E., VAN RAAJI, H.M.G., JACOBSEN, E., HUANG, S.W., GOVERS, F, VLEESHOUWERS, V.G.A.A.& KESSEL G.J.T. 2012. Population dynamics of *Phytophthora infestans* in the Netherlands reveals expansion and spread of dominant clonal lineages and virulence in sexual off spring. *G3: Genes, Genomes, Genetics* **2** : 1529–1540.
- MADR. 2018. Principaux indicateurs de la filière pomme de terre en Algérie pour la campagne agricole 2018-2019. Rapport. 8 p.

- MALCOLMSON, J.F. & BLACK, W. 1966. New R genes in *Solanum demissum* Lindl. and their complementary races of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Euphytica* **15** : 199–203.
- MARIETTE, N., MABON, R. & ANDRIVON, D. 2014. Souches de *Phytophthora infestans*, que nous apprennent les marqueurs microsatellites ? *La pomme de terre française* **593** : 30-32.
- MARIETTE, N., MABON, R., CORBIERE, R., BOULARD, F., GLAIS, I., MARQUER, B., PASCO, C., MONTARRY, J. & ANDRIVON, D. 2016. Phenotypic and genotypic changes in French populations of *Phytophthora infestans*, are invasive clones the most aggressive? *Plant Pathology* **65**: 577-586.
- MAZÁKOVÁ, J., TÁBORSKÝ, V., ZOUHAR, M., RYŠÁNEK, P., HAUSVATER, E. & DOLEŽAL, P. 2006. Occurrence and distribution of mating types A1 and A2 of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in the Czech Republic. *Plant Protection Science* **42**: 41-48.
- MAZIERO, J.M.N., MAFFIA, L.A., & MIZUBUTI, E.S.G. 2009. Effects of temperature on events in the infection cycle of two clonal lineages of *Phytophthora infestans* causing late blight on tomato and potato in Brazil. *Plant Disease* **93**: 459-466.
- MCDONALD, B.A. & LINDE, C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* **40**:349–79.
- MEDDOUR, R., SAHAR, O. & VELA, E. 2019. Les territoires phytogéographiques de l'Algérie du nord : essai de synthèse et révision partielle. Colloque International : La cartographie de la flore, un outil au service de la biodiversité, 7-8 Juin 2019 Université de Nantes, France. 21 p.
- MEIRMANS, P.G. & VAN TIENDEREN, P.H. 2004. GENOTYPE and GENODIVE : two programs of the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes* **4**: 792-794.
- MEIRMANS, P.G. & VAN TIENDEREN, P.H. 2013. The effects of inheritance in tetraploids on genetic diversity and population divergence. *Heredity* **100** : 131-137.
- MESSGO-MOUMENE, S., BOUKHALFA, R., BELAÏDI, D., BENINAL, L., HADDADJ-HAMDI, S. & BELLATRECHE, M. 2017. *In vitro* antifungal activity of different plant extracts against *Phytophthora infestans* the causal agent of potato late blight. *Tunisian Journal of Plant Protection* **12**: 19-33.
- MESSIAEN, C.M. 1981. *Les variétés résistantes, méthodes de lutte contre les ennemis et maladies des plantes*. INRA, Paris. 374 p
- MÉZIANE, D. 1991. Histoire de la pomme de terre. *Diététique* (**25**) : 29 pp.
- MINOGUE, K.P. & FRY, W.E. 1981. Effect of temperature, relative humidity, and rehydration rate on germination of dried sporangia of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* **71** : 1181-1184
- MIZUBUTI, E.S., JÚNIOR, V.L. & FORBES, G.A. 2007. Management of late blight with alternative products. *Pest technology* **1**: 106-116.

- MONTAGNE, J.F.C. 1845. Note sur la maladie qui ravage les pommes de terre et caracteres du *Botrytis infestans* (Note on the disease that ravages potatoes and characters of *Botrytis infestans*). *Bulletin des Sciences par la Societe Philomathique de Paris* **13** : 312–313.
- MONTARRY, J., GLAIS, I., CORBIERE, R. & ANDRIVON, D. 2008. Adaptation to the most abundant host genotype in an agricultural plant-pathogen system –potato late blight. *Journal of Evolutionary Biology* **21** : 1397–1407.
- MOULAY, Y. 2010. Contribution à l'étude du mildiou de la pomme de terre dans la wilaya de Bouira et essai de comportement de quelques variétés à l'égard de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Mémoire d'ingénieur en agronomie. ENSA El Harrach. 80 p.
- MULDER, A. & TURKENSTEEN, L.J. 2005. *Potato diseases, Diseases, pests and defects*. Aardappelwereld and NIVAP : The Hague, The Netherlands. 280 p.
- NAESS, S.K., BRADEEN, J.M., WIELGUS, S.M., HABERLACH, G.T., McGRATH, J.M. & HELGESSON, J.P. 2000. Resistance to late blight in *Solanum bulbocastanum* is mapped to chromosome 8. *Theoretical and Applied Genetics* **101**: 697-704.
- NAMADA, S., OLANYA, O.M., ADIPALA, E., HAKIZA, J.J., EL-BEDEWY, R., BAGHSARI, A.S., EWELL, P. 2004. Fungicide application and host- resistance for potato late blight management: benefits assessment from on-farm studies in S.W. Uganda. *Crop Protection* **23**: 1075-1083.
- NIEDERHAUSER, J.S. 1991. *Phytophthora infestans*: the Mexican connection. Pp. 25-45. In : *Phytophthora*, LUCAS, J.A., SHATTOCK, R.C., SHAW, D.S. & COOKE, L.R. (eds.). Cambridge University Press, Cambridge.
- NJOROGE, A.W., ANDERSSON, B., LEES, A.K., MUTAI, C., FORBES, G.A., YUEN, J.E. & PELLE, R. 2019. Genotyping of *Phytophthora infestans* in Eastern Africa reveals a dominating invasive European lineage. *Phytopathology* **109**: 670-680.
- NOWICKI, M., FOOLAD, M.R., NOWAKOWSKA, M. & KOZIK, E.U. 2012. Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: An overview of pathology and resistance breeding. *Plant Disease* **96**: 4–17.
- PATHAK, N. & CLARKE, D.D. 1987. Studies on the resistance of the outer cortical tissues of the tubers of some potato cultivars to *Phytophthora infestans*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **31**: 123-132
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* **28**: 2537-2539.
- PETERSON, P.D., Jr., CAMPBELL, C.L. & GRIFFITH, C.S. 1992. James E. Teschemacher and the cause and management of potato blight in the United States. *Plant Disease* **76** : 754-756

- PILET, F., PELLE, R., ELLISSECHE, D. & ANDRIVON, D. 2005. Efficacy of the *R2* resistance gene as a component of durable management of potato late blight in France. *Plant Pathology* **54** : 723-732.
- PLATT, R. 2008. Maladies de la pomme de terre causées par des oomycètes. *Cahiers Agricultures* **17** : 361-67.
- PUIDET, B., MABON, R., GUIBERT, M., KIKER, R., LOIT, K., LE, V.H. EIKEMO, H., DEWAEGENEIRE, P., SAUBEAU, G., CHATOT, C., AUROUSSEAU, F., COOKE, D.E.L., LEES, A.K., ABULEY, I.K., HANSEN, J.G., CORBIERE, R., LECLERC, M., NAJDABBASI, N. & ANDRIVON, D. 2023. Investigating the phenotypic traits as potential drivers of the emergence of EU_37_A2, an invasive new lineage of *Phytophthora infestans* in Western Europe. *Plant Pathology* Abstract. <https://doi.org/10.1111/ppa.13700>.
- PUIDET, B., MABON, R., GUIBERT, M., KIKER, R., SOONVALD, L., LE, V.H. EIKEMO, H., DEWAEGENEIRE, P., SAUBEAU, G., CHATOT, C., AUROUSSEAU, F., COOKE, D.E.L., LEES, A.K., ABULEY, I.K., HANSEN, J.G., CORBIÈRE, R., LECLERC, M. & ANDRIVON, D. 2022. Examining Phenotypic Traits Contributing to the Spread in Northern European Potato Crops of EU_41_A2, a New Clonal Lineage of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* **112**: 414-421. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-20-0542-R>
- PULE, B.B., MEITZ, J.C., THOMPSON, A.H., LINDE, C.C., FRY, W.E., LANGENHOVEN, S.D., MEYERS, K.L., KANDOLO, D.S., VAN RIJ, N.C. & McLEOD, A. 2013. *Phytophthora infestans* populations in central, eastern and southern African countries consist of two major clonal lineages. *Plant Pathology* **62** : 154–165.
- RADTKE, W. & RIECKMANN, W. 1991. *Maladies et Ravageurs de la Pomme de Terre*. Editions Th. Mann, Gelsenkirchen-Bue, Canada. 168 p.
- RAZUKAS, A., JUNDULAS, J. & ASAKAVICIUTE, R. 2007. Potato cultivars susceptibility to late blight (*Phytophthora infestans*). *Applied Ecology and Environmental Research* **6** : 95-106.
- RECKHAUS, P. 1997. *Maladie et ravageurs des cultures maraîchères : à l'exemple de Madagascar*. Margraf (edit.). Weikersheim, Allemagne. 402 p
- REKAD, F.Z., COOKE, D.E.L., PUGLISI, I., RANDALL, E., GUENAOU, Y., BOUZNAD, Z., EVOLI, M., PANE A, SCHENA, L., MAGNANO DI SAN LIO, G. & CACCIOLA, S.O. 2017. Characterization of *Phytophthora infestans* populations in northwestern Algeria during 2008-2014. *Fungal Biology* **121**: 467-477.
- RIBEIRO. 1983. Physiology of asexual sporulation and spore germination in *Phytophthora*. Pp. 55-70. In : *Phytophthora, Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. ERWIN, D.C., BARTNICKI-GARCIA, S. & TSAO, P.H. (eds). American Phytopathology Society, St. Paul, MN.

- RIETMAN, H., BIJSTERBOSCH, G., CANO, L.M., LEE, H.R., VOSSEN, J.H., JACOBSEN, E., VISSER, R.G., KAMOUN, S. & VLEESHOUWERS, V.G. 2012. Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sarpo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **25** : 910–919.
- ROETSCHI, A. 2001. *Arabidopsis-Phytophthora*, un pathosystème modèle pour la caractérisation d'une interaction entre une plante et un pathogène oomycète. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Fribourg (Suisse). 79 p.
- ROJAS, A. & KIRK, W.W. 2016. Phenotypic and genotypic variation in Michigan populations of *Phytophthora infestans* from 2008 to 2010. *Plant Pathology* **65**:1022–1033.
- RONFORT, J., JENCZEWSKI, E., BATAILLON, T. & ROUSSET, F. 1998. Analysis of Population Structure in Autotetraploid Species. *Genetics* **150**: 921-930.
- ROUSSELLE, P., ROBERT, Y. & GROSNIER, J.C. (eds.). 1996. *La pomme de terre : production, amélioration, ennemis, maladie, utilisations*. INRA Editions. Paris. 607 p.
- RUNNO-PAURSON, E., HANSEN, M., KOTKAS, K., NASSAR, H., WILLIAMS, I.H., NIINEMETS, Ü. & EINOLA A. 2019. Evaluation of foliar late blight resistance of potato cultivars in northern Baltic conditions. *Zemdirbyste-Agriculture* **106**: 45–52. DOI 10.13080/z-a. 2019. 106.006.
- RUNNO-PAURSON, E., KIIKER, R., JOUTSJOKI, T. & HANNUKKALA, A. 2016. High genotypic diversity found among population of *Phytophthora infestans* collected in Estonia. *Fungal Biology* **120**: 385-423.
- RUNNO-PAURSON, E., WILLIAMS, I.H., METSPALU, L., KAART, T., MÂND, M. 2013. Current potato varieties are too susceptible to late blight to be grown without chemical control under North-East European conditions. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B : Soil and Plant Science* **63**: 80-88.
- SASSER, J.N. & CARTER, C.C. (Eds.) 1985. *An advanced treatise on Meloidogyne*. Volume. I : *Biology and control*. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology and the United States Agency for International Development, North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina. USA. 422 p.
- SATO, N. 1994. Effect of sporulating temperature on the limit temperature in indirect germination of the sporangia of *Phytophthora infestans*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* **60**: 60-65.
- SAVILLE, A.C., LA SPADA, F., FAEDDA, R. MIGHELI, Q., SCANU, B., ERMACORA, P., GILARDI, G., FEDELE, G., ROSSI, V., LENZI, N., TESTA, A., ALLAGUI, B.M., MOUMNI, M., DONGIOVANNI, E., REKAD, F.Z., COOKE, D.E.L., PANE, A. CACCIOLA, S.O. & RISTAINO, J.B. 2021. Population structure of *Phytophthora infestans* collected on potato and tomato in Italy. *Plant Pathology* **70**: 2165-2178.
- SCHEPERS, H. 2007. Late blight in potatoes. *Applied Plant Research*. Wageningen. 19 p.

- SCOTT, P., BADER, M.K.F., BURGESS, T., HARDY, G. & WILLIAMS, N. 2019. Global biogeography and invasion risk of the plant pathogen genus *Phytophthora*. *Environment: Science and Policy* **101**: 175–182.
- SECOR, G.A. & GUDMESTAD, N.C. 1999. Managing fungal diseases of potato. *Canadian Journal of Plant Pathology* **21**: 212-221.
- SEDEGUI, M., CARROLL, R.B., MOREHART, A.L., EVANS, T.A., KIM, S.H. LAKHDAR, R. & ARI-FI, A. 2000. Genetic structure of the *Phytophthora infestans* population in Morocco. *Plant Disease* **84**: 173-176.
- SHANER, G. & FINNEY, R.E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* **67**: 1051-1056.
- SHANTHIYAA, V., SARAVANAKUMAR, D., RAJENDRAN, L., KARTHIKEYAN, G., PRABAKAR, K. & RAGUCHANDER, T. 2013. Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease. *Crop protection* **52**: 33-38.
- SHAW, D.S. 1991. Genetics of *Phytophthora infestans*. *Advances in Plant Pathology* **7**: 131-167.
- SJÖHOLM, L., ANDERSSON, B., HÖGBERG, N., WIDMARK, A.K. & YUEN, J. 2013. Genotypic diversity and migration patterns of *Phytophthora infestans* in the Nordic countries. *Fungal Biology* **117**: 722-730.
- SMOOT, J.J., GOUGH, F.J., LAMEY, H.A., EICHENMULLER, J.J. & GALLEGLY, M.E. 1958. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* **48**: 165-171.
- SOLTNER, D. 2005. *Phytotechnie spéciale : les grandes productions végétales : céréales - plantes sarclées – prairies*. 20^{ème} éd. Editeur : Sainte-Gemme-sur-Loire, Collection Sciences et techniques agricoles. 472 p.
- SOZZI, D., SCHWINN, F.J. & GISI, U. 1992. Determination of the sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamides : a leaf disc method. *EPPO Bulletin* **22**: 306–309
- STEVENSON, W.R., LORIA, R., FRANC, G.D. & WEINGARTHER, D.P. 2001. *Compendium of potato diseases*. 2nd edition. eds. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN. USA. 106 p.
- STRANGE, R.N. 2003. *Introduction to Plant Pathology*. John Wiley and Sons. Chichester, UK. x + 384 p.
- STRUİK, P.C. & WIERSEMA, S.G. 1999. *Seed potato technology*. Wageningen: Wageningen Pers. Netherland. 383 p.
- SWIONTEK, K. 2003. L'introduction d'une résistance au virus Y chez la pomme de terre par transgénèse sans marqueur de sélection. Mémoire DESS-Technologie du végétal. Station d'amélioration de la pomme de terre et des plants à bulbes, I.N.R.A d'Angers. France. 47 p.

- TALEB-HOSSENKHAN, N. & IBRAHIM, A. 2015. Pathogenic fitness, metalaxyl sensitivity and isozyme analysis of *Phytophthora infestans* isolates from Mauritius. *Plant Pathology Journal* **14**: 113-122.
- THINES, M., CHOI, Y.J., KEMEN, E., PLOCH, S., HOLUB, E.B., SHIN, D.H. & JONES, J.D.G. 2009. A new species of *Albugo* parasitic to *Arabidopsis thaliana* reveals new evolutionary patterns in white blister rusts (*Albuginaceae*). *Persoonia* **22** : 23-128
- THURSTON, H.D. & SCHULTZ, O. 1981. Late blight. Pp. 41-42. In : *Compendium of Potato Diseases*. HOOKER, W.J. (ed). American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN. USA. 106 p.
- TOLESSA, E.S. 2018. Importance, Nutrient Content and Factors Affecting Nutrient Content of Potato. *American Journal of Food, Nutrition and Health* **3**: 37-41.
- TOOLEY, P.W., FRY, W.E. & VILLARREAL, G.M.J. 1985. Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* population. *Phytopathology* **76**: 431-435.
- TUCKER, C.M.1931. *Taxonomy of the genus Phytophthora de Bary*. University Missouri Agricultural Experiment Research Station *Bulletin* no. 153. 207 p.
- TURKENSTEEN, L.J. 1993. Durable resistance of potatoes against *Phytophthora infestans*. Pp. 115-124. *In Durability of disease resistance*. JACOBS, T. & PARLEVLIET, J.E.(eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- VAN DER PLANK, J.E. 1968. *Disease resistance in plants*. Academic Press, New York. xiv + 210 p.
- VAN DER VOSSSEN, E., SIKKEMA, A., HEKKERT, B.T.L., GROS, J., STEVENS, P., MUSKENS, M., WOUTERS, D., PEREIRA, A., STIEKEMA, W. & ALLEFS, S. 2003. An ancient *R* gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *The Plant Journal* **36**: 867-882.
- VAN DER VOSSSEN, E.A.G., GROS, J., SIKKEMA, A., MUSKENS, M., WOUTERS, D., WOLTERS, P., PEREIRA, A. & ALLEFS, S. 2005. The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. *Plant Journal* **44**: 208-222.
- VARGAS, A.M., QUESADA OCAMPO, L.M., CESPEDES, M.C., CARRENO, N., GONZALEZ, A., ROJAS, A., ZULUAGA, A.P., MYERS, K., FRY, W.E., JIMÉNEZ, P., BERNAL, A.J. & RESTREPO, S. 2009. Characterization of *Phytophthora infestans* populations in Colombia : first report of the A2 mating type. *Phytopathology* **99**: 82-88.
- VREUGDENHIL, D., BRADSHAW, J., GEBHARDT, C., GOVERS, F., MACKERRON, D.K.L., TAYLOR, M.A. & ROS, H.A. (eds). 2007. *Potato Biology and Biotechnology. Advances and Perspectives*. Elsevier Science, Amsterdam. 823 p.
- WALMSLEY-WOODWARD, D.J. & LEWIS, B.G. 1977. Laboratory studies of potato tuber resistance to infection by *Phytophthora infestans*. *Annals of Applied Biology* **85**: 43-49.

- WASTIE, R. 1991. Breeding for resistance. Pp. 193–224. In *Phytophthora infestans, the Cause of Late Blight of Potato*. INGRAM, D. & WILLIAMS, P. (edits). London : Academic.
- WATERHOUSE, G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers* **92** : 1-22.
- WHITE, S. & SHAW, D. 2009. Resistance of Sàrpo clones to the new strain of *Phytophthora infestans*, Blue-13. Pp. 61-69. In: SCHEPERS HTAM. eds. *PPO-Special Report no. 13*, 2009. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation.
- WHITE, S. & SHAW, D. 2010. Breeding for host resistance: the key to sustainable potato production. Pp. 125-132. In: Schepers HTAM. Eds. *PPO-Special Report no. 14*, 2010. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation.
- WHITE, S. & SHAW, D. 2010. Breeding for host resistance: the key to sustainable potato production. Pp. 125-132. In : Schepers HTAM (eds) *Proceedings of the twelfth EuroBlight Workshop*, PPO-Special Report no. **14**, Arras, France, 3-6 May 2010.
- WOODHAM-SMITH, C. 1962. *The Great Hunger : Ireland 1845-1849*. First Edition. London, Hamish Hamilton. xii + 510 p.
- YAO, Y., LI, Y., CHEN, Z., ZHENG, B., ZHANG, L., NIU, B., MENG, J., LI, A., ZHANG, J. & WANG, Q. 2016. Biological control of potato late blight using isolates of *Trichoderma*. *American journal of potato research* **93**: 33-42.
- YUEN, J.E. & ANDERSSON, B. 2013. What is the evidence for sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Europe? *Plant Pathology* **62**: 485-491.
- ZADOKS, J.C. 2008. The potato Murrain of the European Continent and the revolutions of 1848. *Potato Research* **51**: 5-45.
- ZHU, W., YANG, L.N., WU, E.J., QIN, C.F., SHANG, L.P., WANG, Z.H. & ZHAN, J. 2015. Limited Sexual Reproduction and Quick Turnover in the Population Genetic Structure of *Phytophthora infestans* in Fujian, China. *Scientific Reports*. May5 :10094. DOI: 10.1038/srep10094. PMID: 25970264; PMCID: PMC4429539.
- ZWANKHUIZEN, M.J., GOVERS, F. & ZADOCKS, J.C. 1998. Development of potato late blight epidemics: disease foci, disease gradients, and infection sources. *Phytopathology* **88**: 754-763.

A N N E X E S

ANNEXE I. Préparation des milieux de culture : petits pois (PPA) (solide et liquide) et V8 (solide).

- **Milieu de culture petits pois(PPA)** : Faire bouillir 125 g des petits pois congelés dans une casserole contenant 1 litre d'eau distillée, puis laisser mijoter pendant 30 à 45 minutes, verser le jus de cuisson à travers une passoire dans un flacon contenant 15 g d'agar pour 1 litre de jus (tenir compte de l'évaporation), autoclaver à 120°C pendant 20 minutes et ajouter au milieu gélosé en surfusion les antibiotiques suivants : 200 mg/l d'Ampicilline et 30 mg/l de Rifamycine. Le milieu contenant les antibiotiques est ensuite coulé en boîtes de Petri stériles.
- **Milieu de culture liquide PPA** : Faire bouillir 120 g de petits pois congelés dans 1000 ml d'eau distillée pendant 20 minutes. Le jus est récupéré à l'aide d'une passoire dans un flacon qui est autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.
- **Milieu de culture gélosé V8** : 150 ml de V8 sont versés dans un Erlenmeyers de 1 litre auquel on ajoute 3 g de CaCO₃, 1 g de PDA et 10 g d'agar. On complète avec de l'eau distillée jusqu'à 1 litre. Le tout est autoclavé à 120°C pendant 20 minutes. Le milieu est en suit coulé dans des boîtes de Petri.

ANNEXE II. Liste des échantillons du mildiou collectés dans les différents sites géographique durant la période comprise entre 2010 et 2016.

N°	Wilayas	Dates de prélèvement des échantillons	Etages et sous étages bioclimatiques	Types de culture	Variétés
1	Bouira	2010	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
2	Alger	10/12/2010	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
3	Tizi Ouzou	2011	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
4	Tipaza	25/01/2011	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Désirée
5	Alger	20/01/2011	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Timate
6	Alger	2011	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Sarpo Mira
7	Alger	2011	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Bintje
8	Alger	2011	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
9	Tipaza	26/04/2011	Subhumide/Hiver frais	saison	Spunta
10	Aïn Defla	12/06/2011	Semi-aride/Hiver frais	saison	Kuroda
11	Alger	15/05/2011	Subhumide/Hiver tempéré	saison	Spunta
12	Alger	22/05/2011	Subhumide/Hiver tempéré	saison	-
13	Alger	23/05/2011	Subhumide/Hiver tempéré	saison	Spunta
14	Alger	02/06/2011	Subhumide/Hiver tempéré	saison	Spunta
15	Aïn Defla	13/05/2012	Semi-aride/Hiver frais	Saison	Sarpo Mira
16	Aïn Defla	13/05/2012	Semi-aride/Hiver frais	Saison	Timate
17	Aïn Defla	18/05/2012	Semi-aride/Hiver frais	Saison	Désirée
18	Alger	2012	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
19	Boumerdès	13/05/2012	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
20	Alger	10/05/2013	Subhumide/Hiver tempéré	saison	Spunta
21	Alger	10/05/2013	Subhumide/Hiver tempéré	saison	Désirée
22	Médéa	17/05/2013	Semi-aride/Hiver frais	saison	Spunta
23	Médéa	17/05/2013	Semi-aride/Hiver frais	saison	Désirée
24	Aïn Defla	17/05/2013	Semi-aride/Hiver frais	saison	Spunta
25	Alger	10/05/2013	Subhumide/Hiver tempéré	saison	Spunta
26	Alger	10/05/2013	Subhumide/Hiver tempéré	saison	Spunta
27	Alger	30/12/2013	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
28	Alger	30/12/2013	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
29	Alger	30/12/2013	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
30	Tizi Ouzou	25/12/2013	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Liseta
31	Tizi Ouzou	25/12/2013	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Liseta
32	Tizi Ouzou	25/12/2013	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Liseta
33	Guelma	20/12/2013	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Barna
34	Guelma	20/12/2013	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Barna
35	Guelma	20/12/2013	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Atlas

ANNEXE II (suite)

N°	Wilayas	Dates de prélèvement des échantillons	Etages et sous étages bioclimatiques	Types de culture	Variétés
36	Alger	08/06/2013	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
37	Alger	05/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
38	Alger	15/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
39	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
40	Alger	09/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
41	Alger	05/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
42	Alger	05/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
43	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
44	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
45	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
46	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
47	Alger	09/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
48	Alger	25/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
49	Alger	05/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
50	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
51	Alger	06/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
52	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
53	Alger	06/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
54	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
55	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
56	Alger	06/02/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
57	Skikda	10/04/2014	Subhumide/Hiver chaud	saison	Spunta
58	Tizi Ouzou	20/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Liseta
59	Alger	05/01/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Liseta
60	Skikda	15/05/2014	Subhumide/Hiver chaud	Saison	Atlas
61	Skikda	15/05/2014	Subhumide/Hiver chaud	Saison	Spunta
62	Alger	20/05/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	-
63	Aïn Defla	30/05/2014	Semi-aride/Hiver frais	Saison	Spunta
64	Aïn Defla	30/05/2014	Semi-aride/Hiver frais	Saison	Spunta
65	Alger	18/06/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
66	Alger	18/06/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Bartina
67	Alger	18/06/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Liseta
68	Alger	30/06/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
69	Alger	30/06/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
70	Alger	30/06/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
71	Alger	30/06/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Atlas
72	Guelma	15/05/2014	Semi-aride/Hiver tempéré	Saison	Désirée

ANNEXE II (suite)

N°	Wilayas	Dates de prélèvement des échantillons	Etages et sous étages bioclimatiques	Types de culture	Variétés
73	Médéa	03/12/2014	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
74	Tizi Ouzou	12/12/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
75	Alger	20/12/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
76	Alger	20/12/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Désirée
77	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
78	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
79	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
80	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
81	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
82	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
83	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
84	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
85	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
86	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
87	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
88	Alger	30/01/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
89	Tizi Ouzou	07/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
90	Tizi Ouzou	07/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
91	Tipaza	27/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
92	Tizi Ouzou	07/6/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
93	Tizi Ouzou	07/ 60/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
94	Tizi Ouzou	07/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
95	Mascara	09/05/2015	Aride/Hiver tempéré	Saison	Spunta
96	Tizi Ouzou	20/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
97	Tizi Ouzou	20/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
98	Alger	06/04/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
99	Alger	06/04/2014	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Coquine
100	Alger	05/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
101	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
102	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
103	Alger	08/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Coquine
104	Bouira	12/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
105	Bouira	15/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
106	Bouira	18/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
107	Mascara	08/12/2015	Aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Kondor
108	Médéa	15/11/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
109	Mascara	08/12/2015	Aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta

ANNEXE II (suite)

N°	Wilayas	Dates de prélèvement des échantillons	Etages et sous étages bioclimatiques	Types de culture	Variétés
110	Tipaza	08/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
111	Bouira	14/12/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
112	Médéa	27/11/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
113	Mascara	14/12/2015	Aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
114	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Coquine
115	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Coquine
116	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
117	Alger	30/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
118	Alger	30/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
119	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
120	Alger	08/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Coquine
121	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
122	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
123	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
124	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
125	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
126	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
127	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
128	Bouira	14/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
129	Tizi Ouzou	16/11/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Liseta
130	Mascara	26/11/2015	Aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
131	Mascara	26/11/2015	Aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Kondor
132	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Eden
133	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
134	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Frivol
135	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
136	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
137	Tipaza	27/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
138	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
139	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Coquine
140	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Frivol
141	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
142	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
143	Alger	30/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
144	Mascara	09/05/2015	Aride/Hiver tempéré	Saison	Spunta
145	Tizi Ouzou	20/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Liseta
146	Alger	06/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Liseta

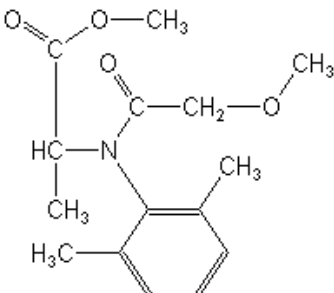
ANNEXE II (suite)

N°	Wilayas	Dates de prélèvement des échantillons	Etages et sous étages bioclimatiques	Types de culture	Variétés
147	Aïn Defla	01/12/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
148	Bouira	18/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Timate
146	Bouira	12/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
150	Médéa	05/11/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
151	Médéa	05/11/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
152	Mascara	09/05/2015	Aride/Hiver tempéré	Saison	Spunta
153	Mascara	26/11/2015	Aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
154	Mascara	26/11/2015	Aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Kondor
155	Mostaganem	30/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
156	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Eden
157	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Frivol
158	Alger	06/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
159	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Eden
160	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
161	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Frivol
162	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
163	Alger	26/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
164	Tipaza	26/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
164	Alger	30/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
166	Alger	30/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
167	Alger	30/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
168	Tizi Ouzou	20/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Liseta
169	Alger	22/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Liseta
170	Boumerdès	19/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Royal
171	Boumerdès	26/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
172	Alger	30/04/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	-
173	Alger	08/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Frivol
174	Alger	08/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
175	Alger	06/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
176	Alger	06/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
177	Alger	06/05/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
178	Alger	06/06/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
179	Bouira	01/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
180	Bouira	04/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
181	Médéa	05/11/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
182	Médéa	05/11/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
183	Médéa	05/11/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta

ANNEXE II (suite)

N°	Wilayas	Dates de prélèvement des échantillons	Étages et sous étages bioclimatiques	Types de culture	Variétés
184	Bouira	12/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
185	Tizi Ouzou	16/11/2015	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	Liseta
186	Bouira	18/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
187	Bouira	26/11/2015	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
188	Aïn Defla	01/12/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
189	Skikda	03/05/2016	Subhumide/hiver chaud	Saison	Spunta
190	Aïn Defla	30/01/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
191	Aïn Defla	30/01/2015	Semi-aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
192	Aïn Defla	30/01/2015	Semi/aride/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
193	Boumerdès	16/12/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
194	Tipaza	26/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
165	Tipaza	08/06/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
196	Tipaza	24/11/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
197	Tipaza	24/11/2015	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
198	Tipaza	27/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
199	Tipaza	26/04/2015	Subhumide/Hiver frais	Saison	Spunta
200	Alger	15/01/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Arrière-saison	-
201	Boumerdès	06/01/2016	Subhumide/Hiver frais	Arrière-saison	Spunta
202	Guelma	29/11/2016	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
203	Guelma	29/11/2016	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
204	Alger	01/01/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	-
205	Alger	10/02/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	-
206	Alger	28/03/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
207	Alger	03/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Eldorado
208	Alger	11/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Ferrari
209	Alger	12/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
210	Alger	17/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
211	Alger	17/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Fabula
212	Alger	17/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
213	Alger	17/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Eldorado
214	Alger	23/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Désirée
215	Tizi Ouzou	07/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Liseta
216	Boumerdès	11/04/2016	Subhumide/Hiver frais	Saison	Fabula
217	Alger	14/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
218	Alger	14/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
219	Alger	14/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Spunta
220	Alger	14/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Passion
221	Alger	30/04/2016	Subhumide/Hiver tempéré	Saison	Florice
222	Bouira	24/11/2016	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta
223	Bouira	17/11/2016	Semi-aride/Hiver tempéré	Arrière-saison	Spunta

ANNEXE III. Caractéristiques techniques du métalaxyl.

Nom commercial	Ridomil Gold® 480
Nom commun de la matière	Metalaxyl
Nom chimique	Méthyl N-(méthoxyacétyle)-N-(2,6-xylyle)-DL-alaninate
Groupe chimique	Phénylamides
Formule moléculaire	<p style="text-align: center;">$C_{15}H_{21}NO_4$</p> 
Concentration en matière active	480 mg
Forme	Poudre mouillable (WP)
Propriétés physiques et chimiques	<p>Fine poudre blanche Poids moléculaire : 279,33 g/mol Solubilité dans l'eau : 8 400 mg/l à 22°C Soluble dans la plupart des solvants organiques Densité : 1,20 g/cm³ à 20°C Point de fusion : 71-72°C Point d'ébullition : 295,9°C à 760 mm Hg</p>
Informations toxicologiques	<p>Toxicité aiguë par voie orale : DL₅₀chez le rat est de 669 mg/kg Toxicité aiguë par pénétration cutanée : DL₅₀chez le rat est supérieur à 3 mg/kg Irritation de la peau : moyenne irritation Irritation des yeux : légère irritation</p>
Informations écologiques	<p>Pratiquement non toxique pour les oiseaux et les poissons d'eau douce N'est pas persistant dans le sol Non-toxique pour les abeilles</p>
Spectre d'activité	Large spectre d'action, principalement sur les Oomycètes (<i>Phytophthora</i> spp. , <i>Plasmopara viticola</i>)
Mode d'action :	Fongicide systémique présentant une action préventive et curative pour le contrôle des mildious

ANNEXE IV. Croissance mycélienne moyenne des isolats de *P. infestans* appartenant aux trois lignées clonales sous différentes températures par wilaya.

Lignées clonales	Wilayas	Code des isolats	Croissance mycélienne moyenne (mm)à différentes températures				
			10°C	15°C	20°C	25°C	30°C
EU_13_A2							
	Alger	11 P 12	28,67	63,00	71,67	17,67	-
	Alger	11 P04	29,33	62,00	70,67	56,67	-
	Alger	11 P11	32,67	63,00	71,67	12,00	-
	Alger	11 P12	28,67	62,00	73,50	17,67	-
	Alger	11 P06	39,67	72,00	71,33	12,00	-
	Alger	14 P28	24,67	70,33	72,33	12,67	-
	Alger	15 P30	25,67	71,67	74,00	13,00	-
	Alger	15 P29	41,67	60,33	68,67	15,00	-
	Bouira	15 P33	27,00	72,67	72,00	33,00	-
	TiziOuzou	15 P16	34,00	57,33	68,67	14,00	-
	TiziOuzou	14 P20	24,00	54,33	68,67	12,33	-
	Médéa	15 P22	21,00	39,67	49,00	25,33	-
	Tizi Ouzou	15 P13	37,33	65,33	73,00	10,67	-
	Médéa	15 P31	31,33	59,67	71,67	9,67	-
	Bouira	15 P41	26,67	71,67	72,33	15,00	-
	Tizi Ouzou	15 P17	34,33	72,00	72,67	12,00	-
	Tipaza	15 P14	26,67	68,00	72,00	11,33	-
	Bouira	15 P44	29,67	71,67	71,67	13,00	-
	Aïn Defla	14 P30	25,33	59,33	71,33	13,00	-
	Alger	15 P30	28,66	66,33	73,33	12,33	-
	Alger	11 P10	33,00	58,33	75,33	15,00	-
	Guelma	13 P18	36,00	71,00	73,00	7,00	-
	Mascara	15 P37	30,00	70,33	72,33	15,33	-
EU_2_A1							
	Aïn Defla	11 P08	29,00	65,00	72,33	14,67	-
	Alger	11 P09	30,00	67,67	73,00	18,33	-
	Alger	11 P02	35,33	72,67	73,33	6,33	-
	Alger	14 P03	32,00	69,67	87,66	13,33	-
	Alger	13 P01	29,67	67,67	71,33	9,00	-
EU_23_A1							
	Aïn Defla	15 P29	26,00	33,00	69,33	20,33	-
	Boumerdès	15 P51	32,33	62,33	71,33	15,33	-
	Boumerdès	15 P55	51,00	72,00	69,00	17,33	-
	Tipaza	15 P59	36,67	63,33	72,00	8,67	-
	Bouira	15 P32	33,67	41,00	69,33	12,67	-
	Boumerdès	15 P50	32,33	66,00	71,67	12,33	-
	Alger	16 P01	24,67	66,00	71,33	11,33	-
	Alger	15 P39	33,33	73,00	78,00	16,67	-
	Mascara	15 P35	26,33	72,00	74,00	11,67	-

ANNEXE V. Classement des 213 isolats de *P. infestans* génotypés par type sexuel et par MLL correspondant.

Régions	Wilayas	Codes des isolats	Etages bioclimatiques	Types sexuels	MLLs
Ouest	Mascara	O.15.94	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mascara	O.15.113	Aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Ouest	Mascara	O.15.115	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mascara	O.15.119	Aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Ouest	Mascara	O.15.122	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mascara	O.15.123	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mascara	O.15.124	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mascara	O.15.125	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mascara	O.15.126	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mascara	O.15.127	Aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Ouest	Mostaganem	O.15.128	Aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Bouïra	C.10.1	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.10.2	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Tizi Ouzou	C.11.3	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tipaza	C.11.4	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.11.5	Subhumide/Hiver tempéré	A1	MLL inconnu
Centre	Alger	C.11.6	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.11.7	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.11.8	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Tipaza	C.11.9	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Aïn Defla	C.11.10	Semi-aride/Hiver frais	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.11.11	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.11.12	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.11.13	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.11.14	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Aïn Defla	C.12.15	Semi-aride/Hiver frais	A2	MLL inconnu
Centre	Aïn Defla	C.12.16	Semi-aride/Hiver frais	A2	MLL inconnu
Centre	Aïn Defla	C.12.17	Semi-aride/Hiver frais	A2	MLL inconnu
Centre	Alger	C.12.18	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Boumerdès	C.12.19	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.13.20	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.13.21	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.13.22	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.13.23	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Aïn Defla	C.13.24	Semi-aride/Hiver frais	A2	EU_13_A2

ANNEXE V (suite)

Régions	Wilayas	Codes des isolats	Etages bioclimatiques	Types sexuels	MLLs
Centre	Alger	C.13.25	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.13.26	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.13.27	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.13.28	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.13.29	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Tizi Ouzou	C.13.30	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.13.31	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.13.32	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.13.36	Subhumide/Hiver tempéré	A1	MLL inconnu
Centre	Alger	C.14.37	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.38	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.39	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.40	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.41	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.42	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.43	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.44	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.45	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.46	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.47	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.48	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.49	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.50	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.51	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.52	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.53	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.54	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.55	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.56	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Tizi Ouzou	C.14.58	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.59	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.62	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Aïn Defla	C.14.63	Semi-aride/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Aïn Defla	C.14.64	Semi-aride/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.14.65	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.14.66	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2

ANNEXE V (suite)

Régions	Wilayas	Codes des isolats	Etages bioclimatiques	Types sexuels	MLLs
Centre	Alger	C.14.67	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.14.68	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.14.69	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.14.70	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.14.71	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Médéa	C.14.73	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	TiziOuzou	C.14.74	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.14.75	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.14.76	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.15.77	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.78	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.79	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.80	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.15.81	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.82	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.83	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.84	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.85	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.86	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.87	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.88	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Tizi Ouzou	C.15.89	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tipaza	C.15.90	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.91	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.92	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.93	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.95	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.96	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.97	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.98	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_2_A1
Centre	Alger	C.15.99	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.100	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.101	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.102	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.103	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.104	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2

ANNEXE V (suite)

Régions	Wilayas	Codes des isolats	Etages bioclimatiques	Types sexuels	MLLs
Centre	Alger	C.15.105	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.106	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.107	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.108	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.109	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.110	Semi-aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Bouira	C.15.111	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.112	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.15.114	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tipaza	C.15.116	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.117	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.15.118	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tipaza	C.15.120	Subhumide/Hiver frais	A1	EU_23_A1
Centre	Tipaza	C.15.121	Subhumide/Hiver frais	A1	EU_23_A1
Centre	Bouira	C.15.129	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.130	Subhumide/Hiver tempéré	A2	MLL inconnu
Centre	Alger	C.15.131	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.132	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.133	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.134	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.135	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tipaza	C.15.136	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.137	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.138	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.139	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.140	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.141	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.142	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.143	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.144	Subhumide/Hiver tempéré	A2	MLL inconnu
Centre	Aïn Defla	C.15.145	Semi-aride/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.146	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.147	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.15.148	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.15.149	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.150	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2

ANNEXE V (suite)

Régions	Wilayas	Codes des isolats	Etages bioclimatiques	Types sexuels	MLLs
Centre	Alger	C.15.151	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.152	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.153	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.154	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.155	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.156	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.157	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tipaza	C.15.158	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.159	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.160	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.161	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	TiziOuzou	C.15.162	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.163	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Boumerdès	C.15.164	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Boumerdès	C.15.165	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.166	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.167	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.168	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.169	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.170	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.171	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.172	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.173	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.174	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.175	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.176	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.15.177	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Bouira	C.15.178	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.179	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.15.180	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.15.181	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Médéa	C.15.182	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.183	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.15.184	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Bouira	C.15.185	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.15.186	Semi-aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1

ANNEXE V (suite)

Régions	Wilayas	Codes des isolats	Etages bioclimatiques	Types sexuels	MLLs
Centre	Aïn Defla	C.15.187	Semi-aride/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.188	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Boumerdès	C.16.189	Subhumide/Hiver frais	A1	EU_23_A1
Centre	Alger	C.16.193	Subhumide/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Centre	Alger	C.16.194	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.195	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.196	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.197	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.198	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.199	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.200	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.201	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.202	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.203	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Tizi Ouzou	C.16.204	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Boumerdès	C.16.205	Subhumide/Hiver frais	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.206	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.207	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.208	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.209	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.210	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Alger	C.16.211	Subhumide/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Centre	Bouira	C.16.212	Semi-aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Est	Bouira	C.16.213	Semi-aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Est	Guelma	E.13.33	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Est	Guelma	E.13.34	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Est	Guelma	E.13.35	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Est	Skikda	E.14.57	Subhumide/Hiver chaud	A2	EU_13_A2
Est	Skikda	E.14.60	Subhumide/Hiver chaud	A2	EU_13_A2
Est	Skikda	E.14.61	Subhumide/Hiver chaud	A2	EU_13_A2
Est	Guelma	E.14.72	Semi-aride/Hiver tempéré	A2	EU_13_A2
Est	Skikda	E.16.190	Subhumide/Hiver chaud	A2	EU_13_A2
Est	Guelma	E.16.191	Semi-aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1
Est	Guelma	E.16.192	Semi-aride/Hiver tempéré	A1	EU_23_A1

ANNEXE VI. Caractéristiques et nombre des répliquas des 98 MLGs de *P. infestans* obtenus.

N°	Wilayas	Années	MLLs	MLGs	Nombre des répliquas par MLG	
1	Centre	Bouira	2011	EU_23_A1	MLG_01	
2	Centre	Boumerdès	2012	EU_23_A1	MLG_01	
3	Centre	Boumerdès	2012	EU_23_A1	MLG_01	
4	Centre	Boumerdès	2012	EU_23_A1	MLG_01	
5	Centre	Boumerdès	2013	EU_23_A1	MLG_01	9
6	Centre	Boumerdès	2014	EU_23_A1	MLG_01	
7	Centre	Boumerdès	2014	EU_23_A1	MLG_01	
8	Centre	Boumerdès	2015	EU_23_A1	MLG_01	
9	Centre	Boumerdès	2015	EU_23_A1	MLG_01	
10	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_02	2
11	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_02	
12	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_03	2
13	Centre	Bouira	2014	EU_13_A2	MLG_03	
14	Centre	Bouira	2010	EU_13_A2	MLG_04	
15	Centre	Bouira	2011	EU_13_A2	MLG_04	
16	Centre	Bouira	2011	EU_13_A2	MLG_04	6
17	Centre	Bouira	2011	EU_13_A2	MLG_04	
18	Centre	Bouira	2011	EU_13_A2	MLG_04	
19	Centre	Bouira	2011	EU_13_A2	MLG_04	
20	Est	Skikda	2011	EU_13_A2	MLG_05	2
21	Est	Skikda	2011	EU_13_A2	MLG_05	
22	Centre	Tizi Ouzou	2011	EU_13_A2	MLG_06	2
23	Centre	Tizi Ouzou	2012	EU_13_A2	MLG_06	
24	Centre	Aïn Defla	2013	EU_13_A2	MLG_07	2
25	Centre	Aïn Defla	2013	EU_13_A2	MLG_07	
26	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_08	
27	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_08	
28	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_08	5
29	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_08	
30	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_08	
31	Centre	Tizi Ouzou	2014	EU_13_A2	MLG_09	2
32	Centre	Tizi Ouzou	2014	EU_13_A2	MLG_09	
33	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_10	
34	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_10	3
35	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_10	

ANNEXE VI (suite)

N°	Wilayas	Années	MLLs	MLGs	Nombre des répliquats par MLG	
36	Centre	Ain Defla	2014	EU_13_A2	MLG_11	
37	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_11	
38	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_11	
39	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_11	
40	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_11	
41	Centre	Médéa	2014	EU_13_A2	MLG_11	12
42	Centre	Médéa	2014	EU_13_A2	MLG_11	
43	Centre	Médéa	2014	EU_13_A2	MLG_11	
44	Centre	Médéa	2014	EU_13_A2	MLG_11	
45	Centre	Médéa	2014	EU_13_A2	MLG_11	
46	Centre	Médéa	2014	EU_13_A2	MLG_11	
47	Centre	Tipaza	2014	EU_13_A2	MLG_11	
48	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_12	2
49	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_12	
50	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_13	
51	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_13	4
52	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_13	
53	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_13	
54	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_14	
55	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_14	
56	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_14	5
57	Centre	Bouira	2014	EU_13_A2	MLG_14	
58	Centre	Tipaza	2014	EU_13_A2	MLG_14	
59	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_15	2
60	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_15	
61	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_16	
62	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_16	4
63	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_16	
64	Centre	Boumerdès	2015	EU_13_A2	MLG_16	
65	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	
66	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	
67	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	
68	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	
69	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	
70	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	
71	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	
72	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17	

ANNEXE VI (suite)

N°	Wilayas	Années	MLLs	MLGs	Nombre des répliquats par MLG
73	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
74	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
75	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
76	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
77	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
78	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
79	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
80	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
81	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
82	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
83	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
84	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
85	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
86	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
87	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
88	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
89	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
90	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
91	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
92	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
93	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
94	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
95	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
96	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_17
97	Ouest	Mascara	2015	EU_13_A2	MLG_17
98	Ouest	Mascara	2015	EU_13_A2	MLG_17
99	Ouest	Mascara	2015	EU_13_A2	MLG_17
100	Centre	Tipaza	2015	EU_13_A2	MLG_17
101	Centre	Tipaza	2015	EU_13_A2	MLG_17
102	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_17
103	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_17
104	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_17
105	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_18
106	Est	Guelma	2015	EU_13_A2	MLG_18
107	Est	Guelma	2015	EU_13_A2	MLG_18
108	Est	Guelma	2015	EU_13_A2	MLG_18

40

4

ANNEXE VI (suite)

N°	Wilayas	Années	MLLs	MLGs	Nombre des répliquats par MLG
109	Centre Alger	2015	EU_13_A2	MLG_19	
110	Centre Alger	2015	EU_13_A2	MLG_19	
111	Centre Alger	2015	EU_13_A2	MLG_19	5
112	Centre Tipaza	2015	EU_13_A2	MLG_19	
113	Centre Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_19	
114	Centre Aïn Defla	2015	MLL inconnu	MLG_20	2
115	Centre Aïn Defla	2015	MLL inconnu	MLG_20	
116	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_21	
117	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_21	3
118	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_21	
119	Centre Alger	2013	EU_2_A1	MLG_22	
120	Centre Alger	2013	EU_2_A1	MLG_22	
121	Centre Alger	2013	EU_2_A1	MLG_22	
122	Centre Alger	2013	EU_2_A1	MLG_22	
123	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
124	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
125	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	14
126	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
127	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
128	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
129	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
130	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
131	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_22	
132	Centre Tizi Ouzou	2014	EU_2_A1	MLG_22	
133	Centre Aïn Defla	2011	EU_2_A1	MLG_23	
134	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
135	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
136	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
137	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
138	Centre Alger	2010	EU_2_A1	MLG_23	11
139	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
140	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
141	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
142	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
143	Centre Alger	2014	EU_2_A1	MLG_23	
144	Est Guelma	2015	EU_23_A1	MLG_24	1

ANNEXE VI (suite)



N°	Wilayas	Années	MLLs	MLGs	Nombre des répliqués par MLG	
145	Est	Guelma	2015	EU_23_A1	MLG_25	1
146	Centre	Bouira	2015	EU_23_A1	MLG_26	1
147	Centre	Alger	2015	EU_23_A1	MLG_27	1
148	Ouest	Mascara	2015	EU_23_A1	MLG_28	1
149	Centre	Tizi Ouzou	2015	MLL inconnu	MLG_29	1
150	Centre	Alger	2015	EU_23_A1	MLG_30	1
151	Ouest	Mascara	2015	EU_23_A1	MLG_31	1
152	Ouest	Mostaganem	2016	EU_23_A1	MLG_32	1
153	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_23_A1	MLG_33	1
154	Centre	Alger	2014	EU_23_A1	MLG_34	1
155	Centre	Alger	2015	EU_23_A1	MLG_35	1
156	Centre	Bouira	2015	EU_23_A1	MLG_36	1
157	Centre	Alger	2015	MLL inconnu	MLG_37	1
158	Centre	Alger	2015	EU_23_A1	MLG_38	1
159	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_39	1
160	Centre	Alger	2015	EU_13_A1	MLG_40	1
161	Centre	Boumerdès	2015	EU_13_A2	MLG_41	1
162	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_42	1
163	Centre	Médéa	2015	EU_13_A2	MLG_43	1
164	Centre	Tipaza	2016	EU_13_A2	MLG_44	1
165	Centre	Alger	2016	EU_13_A2	MLG_45	1
166	Centre	Tizi Ouzou	2013	EU_13_A2	MLG_46	1
167	Centre	Aïn Defla	2013	EU_13_A2	MLG_47	1
168	Ouest	Mascara	2013	EU_13_A2	MLG_48	1
169	Centre	Bouira	2014	EU_13_A2	MLG_49	1
170	Centre	Alger	2016	EU_13_A2	MLG_50	1
171	Est	Skikda	2016	EU_13_A2	MLG_51	1
172	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_52	1
173	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_53	1
174	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_54	1
175	Centre	Bouira	2015	EU_13_A2	MLG_55	1
176	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_56	1
177	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_57	1
178	Centre	Tizi Ouzou	2015	EU_13_A2	MLG_58	1
179	Centre	Médéa	2015	EU_13_A2	MLG_59	1
180	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_60	1
181	Ouest	Mascara	2015	EU_13_A2	MLG_61	1

ANNEXE VI (suite)

N°	Wilayas	Années	MLLs	MLGs	Nombre des répliquats par MLG	
182	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_62	1
183	Ouest	Mascara	2015	EU_13_A2	MLG_63	1
184	Centre	Boumerdès	2015	EU_13_A2	MLG_64	1
185	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_65	1
186	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_66	1
187	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_67	1
188	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_68	1
189	Centre	Bouira	2015	EU_13_A2	MLG_69	1
190	Centre	Boumerdès	2015	EU_13_A2	MLG_70	1
191	Centre	Médéa	2015	EU_13_A2	MLG_71	1
192	Centre	Boumerdès	2014	EU_23_A1	MLG_72	1
193	Centre	Tizi Ouzou	2014	EU_13_A2	MLG_73	1
194	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_74	1
195	Ouest	Mascara	2016	EU_13_A2	MLG_75	1
196	Ouest	Mascara	2011	EU_13_A2	MLG_76	1
197	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_77	1
198	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_78	1
199	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_79	1
200	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_80	1
201	Centre	Alger	2011	EU_13_A2	MLG_81	1
202	Centre	Ain Defla	2013	EU_13_A2	MLG_82	1
203	Est	Guelma	2013	EU_13_A2	MLG_83	1
204	Centre	Alger	2013	EU_13_A2	MLG_84	1
205	Centre	Alger	2014	EU_13_A2	MLG_85	1
206	Est	Skikda	2015	EU_13_A2	MLG_86	1
207	Centre	Ain Defla	2015	MLL inconnu	MLG_87	1
208	Centre	Bouira	2015	EU_13_A2	MLG_88	1
209	Centre	Alger	2015	MLL inconnu	MLG_89	1
210	Centre	Alger	2015	EU_2_A1	MLG_90	1
211	Centre	Alger	2015	EU_2_A1	MLG_91	1
212	Centre	Alger	2015	EU_2_A1	MLG_92	1
213	Centre	Alger	2015	EU_2_A1	MLG_93	1
214	Centre	Alger	2015	EU_2_A1	MLG_94	1
215	Centre	Alger	2015	EU_2_A1	MLG_95	1
216	Centre	Alger	2015	EU_13_A2	MLG_96	1
217	Centre	Alger	2016	EU_2_A1	MLG_97	1
218	Centre	Alger	2011	EU_2_A1	MLG_98	1
Nombre total des MLGs				98		
Nombre total des répliquats					218	

ORIGINAL ARTICLE

Distribution of major clonal lineages EU_13_A2, EU_2_A1, and EU_23_A1 of *Phytophthora infestans* associated with potato late blight across crop seasons and regions in Algeria

Lyes Beninal^{1,2}  | Zouaoui Bouznad¹ | Roselyne Corbière³ | Sihem Belkhiter^{1,4} | Romain Mabon³ | Abdelmoumen Taoutaou¹ | Abdelaziz Keddad¹ | Eve Runno-Paurson⁵ | Didier Andrivon³ 

¹Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire, ENSA (Ecole Nationale Supérieure Agronomique), Algiers, Algeria

²CNCC (Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plants), Algiers, Algeria

³INRAE, UMR 1349 IGEPP, Centre de Rennes, Le Rheu Cedex, France

⁴USDB (Université de Saad Dahleb), Blida, Algeria

⁵EULS (Estonian University of Life Sciences) Chair of Crop Science and Plant Biology, Institute of Agricultural and Environmental Sciences, Tartu, Estonia

Correspondence

Zouaoui Bouznad, Laboratoire de Phytopathologie et Biologie Moléculaire, ENSA (Ecole Nationale Supérieure Agronomique), 1 Avenue Pasteur, Hassan Badi, El Harrach, Algiers, 16004, Algeria. Email: z.bouznad@ensa.dz

Funding information

PoH-MED; ARIMNet; ERA-Net, Grant/Award Number: KBBE 219262

Abstract

Potato is one of the most important agricultural crops in Algeria and worldwide. Each year, potato late blight, caused by *Phytophthora infestans*, is responsible for significant damage that leads to large production losses, and is thus a direct threat to food security in Algeria. In this study, 131 isolates of *P. infestans* and 92 DNA fingerprints captured on FTA cards were sampled from commercial and seed production fields in three major potato production regions (western, eastern, and central) during the main-season and late-season in Algeria over six cropping seasons (2010–2016). Genotypes of *P. infestans* and population genetic diversity were analysed using a 17-plex simple-sequence repeat (SSR) marker assay, and the mating type of all isolates was characterized. Both mating types (A1 and A2) were found, and often occurred in the same field. Differences in mating type proportion were observed between regions and between sampling periods. Analysis with SSR markers showed the prevalence of the EU_13_A2 lineage (70%) over EU_2_A1 (16%), EU_23_A1 (10%), and 4% of unknown multilocus lineage (MLL). The EU_13_A2 showed differentiation within the group. EU_23_A1 was found mainly in late-season crops. However, the cropping region did not influence the distribution of lineages due to the dispersal of the pathogen in Algeria by seeds. Genetic structure did not reveal a clear variation in distribution of the three lineages throughout the sampling regions. These data provide important new information on the composition and change over time of *P. infestans* populations in Algeria and open the way for a better understanding of the local epidemiology of this important pathogen.

KEYWORDS

genetic structure, genotypes, mating types, potato late blight, simple-sequence repeat markers

1 | INTRODUCTION

Potato (*Solanum tuberosum*) is a major food crop that provides important nutrients around the world, being the first non-cereal crop globally in terms of production after wheat, rice, and maize (FAOSTAT, 2019). It is the third largest agricultural crop in Algeria, in terms of acreage and production, after cereals and vegetables. Potatoes are grown in almost all agricultural regions across the country. However, the most important areas are those where the soil-water potential is favourable, such as in the regions of Aïn Defla, Bouïra, Chlef, Guelma, Mascara, Mostaganem, Relizane, and Skikda, all located in the north of Algeria. The total potato-growing area exceeds 157,864 ha for both the main and late seasons, with an annual production of 5.02 million tonnes (FAOSTAT, 2019). Recently, potato production has started in the El Oued region, in the south-east of the country in the Sahara desert.

Late blight, caused by the oomycete *Phytophthora infestans*, is a major threat to potato crops worldwide and is the most devastating potato disease in Algeria. Since 2007, late blight has been responsible for significant yield losses in each growing season. Potato yield losses are greater in the northern regions under the Mediterranean climate due to more favourable conditions for late blight development, compared to areas with semi-arid climates (Beninal et al., 2009).

While the main control method for this disease is currently the repeated application of fungicides, alternative disease control strategies are effective in reducing both the yield losses and the negative side effects of chemicals on the environment and human health (Flier et al., 2003).

P. infestans is a near-obligate hemibiotrophic pathogen with two known mating types, A1 and A2 (Fry, 2008), that enable the pathogen to reproduce both asexually and sexually, generating zoospores and oospores, respectively (Fry & Goodwin, 1997). The presence of both mating types enables sexual reproduction of the pathogen, which may generate a higher genetic diversity within *P. infestans* populations and lead to increased adaptability of the pathogen to environmental conditions, in particular to wider moisture and temperature ranges (Mariette et al., 2016; Runno-Paurson et al., 2019). These changes could make potato late blight control even more challenging (Yuen & Andersson, 2013). This is why the detailed knowledge of population genetic structures is critical for sustainable control strategies.

Before 1980, the global *P. infestans* population (except in central Mexico) was asexual and consisted of A1 mating type genotypes only. In the late 1980s, the A2 mating type was introduced into Europe as a result of successive potato imports from Mexico to fill the crop shortage caused by the 1976 drought (Fry et al., 1993).

In Europe, the A2 mating type was first reported in Switzerland in 1981 by Hohl and Iselin (1984) and has subsequently been identified in all European populations (Cooke et al., 2011). In Algeria, the first report of the A2 mating type was in isolates collected in 2008, which showed a complex virulence profile and resistance to the fungicide metalaxyl (Beninal et al., 2009). In neighbouring countries, the

A2 mating type was first reported in Morocco in 1999 (Hafidi et al., 2002) and in Tunisia in 2005 (Jmour & Hamada, 2006).

The genotyping of *P. infestans* populations progressed when microsatellite (also known as simple-sequence repeat, SSR) markers were developed (Lees et al., 2006). In Europe, new clonal lineages have spread very quickly and have replaced the old ones (Cooke et al., 2012). EU_13_A2, which is one of the most common genotypes in Europe currently, was first detected in 2004 (Chmielarz et al., 2014; Cooke et al., 2012; Mariette et al., 2016). *P. infestans* populations have recently undergone rapid genetic changes due to cross-breeding between genotypes and their subsequent appearance throughout the potato-growing areas all over the world (Cooke et al., 2012; Dey et al., 2018; Mariette et al., 2016).

Initial surveys of the composition of Algerian *P. infestans* populations collected from tomato and potato fields have been undertaken in recent years. These studies showed that the clonal lineage EU_13_A2 was present in Algerian *P. infestans* populations along with two other clonal lineages, EU_2_A1 and EU_23_A1, between 2007 and 2014 (Corbière et al., 2015; Rekad et al., 2017). However, these data remain insufficient because they do not cover all potato production areas in Algeria and more recent epidemics.

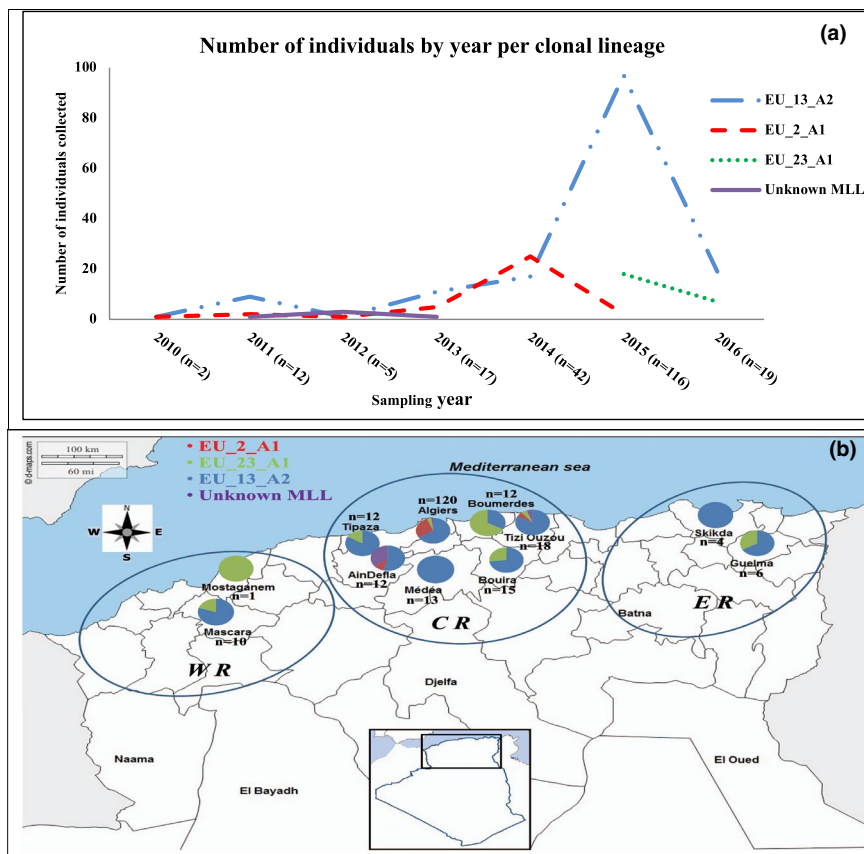
Thus, in this study, a larger number of isolates from the main potato-producing areas of the three main regions (west, east, central) were collected and genotypically characterized with a 17-plex SSR marker set, and also characterized for mating type. More specifically, we were interested in answering the following questions: is there variation in the genotype and phenotype of *P. infestans* isolates collected in Algeria during the period 2010 to 2016 according to region and cropping season and, if so, does it affect the pathogen's sexual reproductive potential and late blight management advice? Thus, knowledge of the genetic structure of this pathogen and its geographical distribution in Algeria is a key element in establishing effective control strategies.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Sampling

Leaves with late blight lesions and stems of several cultivars of potatoes (mainly cv. Spunta) were sampled to obtain either living isolates for in vitro culture or DNA on Whatman Flinders Technology Associates (FTA) cards. These samples were collected from potato fields in western, central, and eastern regions during seven consecutive cropping years, from 2010 to 2016, and from the two main potato crops grown in a calendar year. The first crop (main season) is planted from November to April, with harvest in May to July, while the second crop (late season) is planted in August/September and harvested in December/January. A total of 223 isolates were collected from the 11 main potato-growing areas in Algeria: Mostaganem and Mascara in the north-western region; Aïn Defla, Algiers, Tipaza, Médéa, Tizi Ouzou, Boumerdès, and Bouïra in the central region; and Guelma and Skikda in the east. Over all years, the

FIGURE 1 Number of isolates per year and sampling map used in this study. (a) Each line represents a clonal lineage: blue dash with dot, EU_13_A2 ($n = 152$); green dotted line, EU_23_A1 ($n = 18$); red dashed line, EU_2_A1 ($n = 36$); and purple solid line, unknown multilocus lineage (MLL; $n = 7$). (b) Map of northern Algeria showing sampling sites by clonal lineage, WR, western region; ER, eastern region; CR, central region [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]



number of samples collected from each region was 202 (central), 10 (east), and 11 (west) (Table 1, Figure 1). We also scouted crops in the eastern Sahara production area (El Oued), but, due to unfavourable climatic conditions for late blight development, *P. infestans* was not found there.

2.2 | Isolation, purification, and conservation of isolates of *P. infestans*

Small pieces of infected tissue (leaves and stems) were cut from the sporulating margin of the lesion and placed on slices of a susceptible potato cultivar (Spunta), making sure that the sporulating side of the lesion was in contact with the tuber surface.

Tuber slices were then placed on a moistened sponge pad in closed plastic boxes, and thereafter incubated at 15°C for 5 days. The mycelia with sporangiophores and sporangia forming on the tuber slice surface were collected and transferred to pea agar containing antibiotics (30 mg/L rifamycin and 200 mg/L ampicillin; Corbière & Andrivon, 2003). Petri dishes with pure cultures were incubated in the dark at 15–18°C.

From the 223 total isolates, 131 were obtained as live cultures. The remaining 92 were obtained as mixed potato and pathogen DNA on FTA cards. These cards were used to collect DNA fingerprints from remote late blight outbreaks and of different genotypes from closely spaced lesions on the same leaf, probably derived from sexual recombination (samples were taken from the same location, from

basal leaves very close to the ground and repeated only in the experimental trials; Table 1).

2.3 | Mating type determination

The mating type of each live isolate was determined by individual pairing on pea agar with known A1 and A2 tester isolates. After 10–14 days of incubation in darkness at 15°C, Petri dish cultures were examined under a microscope for the presence or absence of oospores in the zone of mycelial interaction between paired isolates. Isolates forming oospores on Petri dishes with the A1 mating type tester were rated as A2; isolates that formed oospores with the A2 mating type were registered as A1.

2.4 | DNA extraction

Mycelial discs of *P. infestans* were grown in liquid pea broth previously autoclaved at 120°C for 20 min. After 3 weeks of incubation at 15°C, mycelium was washed three times in sterile distilled water and lyophilized. In addition, well-marked prints of late blight were kept on FTA cards, onto which DNA is quickly fixed (http://agro.au.dk/fileadmin/euroblight/Protocols/Protocol_for_sampling_Phytophthora_infestans_DNA_using_FTA_cards.pdf). DNA of the live isolates was extracted using NucleoSpin Tissue kit according to the manufacturer's instructions. The manufacturer's protocol was used to

purify the DNA from FTA cards using a 2 mm disk punched from each card.

2.5 | SSR genotyping

Each isolate was genotyped at 17 microsatellite loci, namely PiG11, Pi4B, Pi4G (Knapova & Gisi, 2002), D13, Pi04, Pi33, Pi16, Pi56, Pi63, Pi70 (Lees et al., 2006), PinfSSR2, PinfSSR3, PinfSSR4, PinfSSR6a, PinfSSR7, PinfSSR8, and PinfSSR11 (Li et al., 2010). For each locus, one of four fluorescent markers (6FAM, NED, VIC, or PET) was assigned.

PCRs were performed using Type-it Microsatellite PCR kit (QIAGEN). The reaction volume of 5 μ l consisted of 2 μ l DNA (5 ng/ μ l), 2.5 μ l of PCR master mix (Qiagen), 0.5 μ l of primers, and 3 μ M MgCl₂.

Amplification was carried out in a C1000 thermal cycler (Bio-Rad) under the following conditions: initial denaturation step at 94°C for 5 min; 30 cycles of 94°C for 20 s, 58°C for 25 s, and 72°C for 30 s; and a final elongation step at 72°C for 5 min.

Amplification products were divided into two batches, based on expected allele sizes: 6FAM (D13, PinfSSR8), VIC (Pi04, Pi70), NED (G11, PinfSSR3, and PinfSSR11), PET (PinfSSR2, Pi4B) in batch 1 and 6FAM (Pi63), VIC (Pi16, PinfSSR6), NED (Pi4G, PinfSSR4), PET (Pi33, Pi56) in batch 2. Samples 8 μ l in volume, comprising a loading buffer containing a mixture of 5 μ l Hi-Di deionized formamide, 500 LIZ size marker, and 3 μ l of 150-fold dilutions of the multiplexed PCR products, were sequenced in an ABI Prism 3130xl DNA sequencer, according to the manufacturer's instructions (Applied Biosystems). Allele size and assignment were read using GeneMapper v. 3.5 (Applied Biosystems) software.

2.6 | Data analysis

Mating type frequency across regions was calculated and the proportions of each type calculated according to each potato-growing season (main and late seasons).

SSR genotypes were grouped according to their geographical location. Parameters studied included total number of alleles (A_r), effective number of alleles (A_e) at each locus and at each population, and the number of private alleles (P_a). Genetic diversity, such as expected heterozygosity in the data set (H_d) and that calculated from expected heterozygosity (H_g) at each locus and in each population, were estimated using Genodive v. 2.0 (Meirmans & Van Tienderen, 2004). A kinship covariance matrix constructed in Genodive v. 2.0 was loaded into Primer 7. A two-way analysis of variance (permanova+), (factor 1 = regions; factor 2 = multilocus lineages [MLLs]), was conducted with 10,000 unrestricted permutations of raw data and type III sums of squares. The significance is based on pseudo-F value (Clarke & Warwick, 2001).

Genotype v. 1.2 login was used to calculate the distance matrix using the infinite allele model with a threshold set to 0. Two

levels of analysis were considered: (a) individuals were grouped according to their geographical location, and (b) MLL was assigned to each individual, and therefore the total number of genotypes (MLGt), the effective number of genotypes (MLGe), genotypic diversity (Div), and the Shannon–Weiner's corrected index (Shc) were calculated in Genodive v. 2.0. The constructed genetic matrix, based on the neighbour-joining clustering algorithm using 1000 bootstraps, was used to construct a polar tree in FigTree v. 1.4.2. The MLL for each isolate and multilocus genotypes (MLGs) were determined using GenAIE v. 6.5.0.3 software (Peakall & Smouse, 2012). The population genetic structure was analysed using STRUCTURE v. 2.3.4, with the optimal number of clusters (K) determined with the ΔK method (Evanno et al., 2005), implemented in STRUCTURE HARVESTER (Earl & VonHoldt, 2012). The number of genetic groups (K) was tested from $K = 1$ to 10, with 20 replicates for each K to check for the Markov chain Monte Carlo (MCMC) convergence. For each run, 20,000 burn-in period steps followed by 100,000 iterations were performed. The posterior probability of the data [$\ln P(D)$] for each K value was checked to confirm the optimal number of clusters (K) chosen. A complementary principal component analysis (PCA) was performed using Genodive v. 2.0 in order to validate the genetic structure. The pairwise population differentiation F statistics and the level of significance were calculated using Genodive v. 2.0.

Analysis of molecular variance (AMOVA) was performed twice (Excoffier et al., 1992). First, the individuals were grouped according to their geographical location (west, central, and east). Then, the grouping was done considering the MLL (EU_13_A2, EU_2_A1, and EU_23_A1). These analyses helped determine how the genetic diversity is partitioned within and among populations. AMOVA was performed using Genodive v. 2.0. The ploidy independent infinite allele model (*Rho-st*) algorithm (Ronfort et al., 1998) was selected as it is the only measure of population differentiation that is independent of the ploidy level and appears unbiased by the type of inheritance (Meirmans & Van Tienderen, 2013).

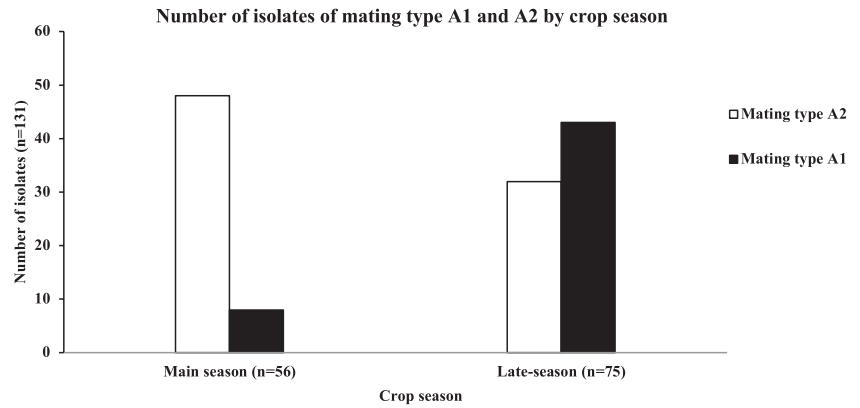
3 | RESULTS

3.1 | Mating types

Both A1 and A2 mating types were found among *P. infestans* isolates collected in Algeria. Out of the 131 live isolates characterized, 60% (78 isolates) belonged to the A2 mating type and 40% (53 isolates) to the A1 mating type. No isolate formed oospores with both testers (Table 1).

The A2 mating type prevailed throughout the years of study and in all regions except Boumerdès and Mostaganem. However, it should be noted that in these areas only one isolate (A1 mating type) was collected in 2015 (Figure 1). Both mating types (A1 and A2) were found in the same disease outbreak, especially in the central and western regions. Differences between the proportion of both mating types and the growing season were observed, with prevalence

FIGURE 2 Proportion of mating type A1 (black) and A2 (white) by crop season



of the A1 mating type in late-season and of the A2 mating type in main-season isolates (Figure 2).

3.2 | SSR polymorphism

The total number of alleles per locus ranged from 2 to 20 according to the populations. When populations were pooled according to regions, the total number of alleles was 45 (east), 47 (west), and 78 (central). The D13 locus was most polymorphic, with a large number of alleles ($n = 20$) and a high allele frequency (0.253). By contrast, Pi16, Pi33, Pi56, Pi70, Pinf SSR2, and Pinf SSR7 markers showed a small number of alleles ($n = 2$) and a lower allele frequency of 0.025 (Table 2).

The average number of informative alleles per locus was 2.083 and varied from 1.046 to 3.785 depending on populations (Table 2). The overall mean number of informative alleles was similar in all regions, rating at 2.011 (east), 2.061 (west), and 2.205 (central).

The central population of *P. infestans* exhibited a high number of private alleles (27), while only one private allele was found in the eastern population and none were revealed in the west.

Heterozygosity levels were significantly different for both H_t (0.046–0.754) and H_s (0.047–0.758) with a mean H_t of 0.464 and H_s of 0.462 (Table 2). Values of H_t and H_s were similar for each regional group, with a mean of 0.464 and varying slightly between 0.456 (east), 0.467 (west), and 0.469 (central) (Table 3).

TABLE 2 Allelic richness, allelic frequency, effective number of alleles, average expected heterozygosity, and the overall heterozygosity per locus

Locus ID	Size range (bp)	Ar (Af)	Ae	H_s	H_t
D13	132–222	20 (0.253)	3.447	0.746	0.730
G11	140–208	10 (0.127)	3.182	0.700	0.707
Pi04	166–170	3 (0.038)	1.876	0.478	0.484
Pi16	176–178	2 (0.025)	1.818	0.462	0.466
Pi33	203–206	2 (0.025)	1.145	0.130	0.131
Pi4B	205–217	3 (0.038)	2.440	0.606	0.610
Pi4G	157–161	3 (0.038)	1.897	0.500	0.490
Pi56	174–176	2 (0.025)	2.000	0.506	0.517
Pi63	148–157	3 (0.038)	2.347	0.591	0.593
Pi70	192–195	2 (0.025)	1.046	0.047	0.046
Pinf SSR11	329–356	4 (0.051)	1.276	0.224	0.224
Pinf SSR2	173–175	2 (0.025)	1.088	0.085	0.084
Pinf SSR3	258–272	5 (0.063)	2.308	0.577	0.584
Pinf SSR4	284–300	8 (0.101)	3.785	0.758	0.754
Pinf SSR6a	240–246	4 (0.051)	1.811	0.464	0.464
Pinf SSR7	196–198	2 (0.025)	1.786	0.447	0.456
Pinf SSR8	260–268	4 (0.051)	2.153	0.543	0.554
Overall		79 (4.647)	2.083	0.462	0.464

Note: Total number of alleles (Ar), allelic frequency (Af), effective number of alleles (Ae), average expected heterozygosity (H_s), and the overall heterozygosity (H_t).

Population	N	Ar (Af)	Ae	Pa	H_s	H_t
West	11	47 (0.595)	2.061	0	0.467	0.467
Central	192	78 (0.987)	2.205	27	0.469	0.469
East	10	45 (0.57)	2.011	1	0.456	0.456
Overall		56.67	2.092		0.464	0.464

Note: Number of individuals (N), allelic richness (Ar), allelic frequency (Af), effective number of alleles (Ae), number of private alleles (Pa), average expected heterozygosity (H_s), and the overall heterozygosity (H_t).

TABLE 3 Number of individuals, allelic richness, allelic frequency, effective number of alleles, number of private alleles, average expected heterozygosity, and the overall heterozygosity per geographical region

Source	df	Sum of squares	Mean squares	Pseudo-F	P
MLL	3	15.173	5.058	13.95	<0.001
Region	2	0.775	0.387	1.069	0.286
MLL × Region	3	1.074	0.358	0.988	0.462
Residual	204	73.96	0.362		
Total	212	90.98			

Note: Multilocus lineage (MLL), degrees of freedom (df), F value by permutation (pseudo-F), and p value from 10,000 unrestricted permutations of raw data and type III sums of squares.

TABLE 4 Permanova for the pair of variables Var1 = MLL and Var2 = region for the whole data set (N = 206)

3.3 | Multilocus lineages

Out of 223 individuals, 213 were genotyped successfully, with 192 (central), 10 (east), and 11 (west). They could be grouped into three major MLLs, namely EU_13_A2 ($n = 152$), EU_2_A1 ($n = 36$), and EU_23_A1 ($n = 18$). Seven individuals exhibited an as yet unrecorded MLL and were excluded from all further analyses. Mating type results supported the assigned genotypes.

The EU_13_A2 lineage was present in all sampling years from 2010 to 2016 and in all Algerian potato-growing areas, while EU_2_A1 was not detected in the 2015 collection and was replaced by EU_23_A1. Unclassified MLLs were also found in the central region between 2011 and 2016 (Figure 1a).

F_{ST} showed no significance in levels of differentiation between pairs of populations, with F_{ST} values of 0.002 (central-east; $p = 0.235$), 0.003 (west-central; $p = 0.086$), and 0.004 (west-east; $p = 0.179$). A different pattern was observed for the same parameter between pairs of MLLs; differences were small but statistically

significant between EU_13_A2 and EU_23_A1 (0.068; $p < 0.001$), EU_13_A2 and EU_2_A1 (0.076; $p < 0.001$), and between EU_23_A1 and EU_2_A1 (0.089; $p < 0.001$).

The two-way permanova showed that the effect of the MLL is very highly significant on the kinship coefficient and is sufficient to explain most of the variance (pseudo- $F_{3,197} = 13.95$; $p < 0.001$). The region variable explains a small part of the total variance, with no statistical significance (pseudo- $F_{2,197} = 1.07$; $p = 0.286$; Table 4). The MLGt and MLGe found by region varied from 5 to 4.17 in west, from 6 to 3.33 in east, and from 32 to 2.6 in central. The genotypic diversity value in the west population was the highest (0.836) followed by the east population (0.778), and the central population (0.618). Shc values were high, ranging from 0.756 in west, 0.89 in central, and 0.97 in east. When individuals were grouped according to their MLL, results for MLGt varied between 6 (EU_2_A1), 12 (EU_23_A1), and 18 (EU_13_A2). The MLGe values varied between 1.342, 1.618, and 9.529, respectively, for the three MLLs. Div values were significantly different between EU_2_A1 (0.262), EU_13_A2 (0.384),

Population	n	MLGt	MLGe	Div	Shc
EU_13_A2	152	18	1.6182	0.3845	0.5744
EU_2_A1	36	6	1.3416	0.2619	0.4296
EU_23_A1	18	12	9.5294	0.9477	1.3154
West	11	5	4.1724	0.8364	0.7561
Central	192	32	2.5968	0.6181	0.8903
East	10	6	3.3333	0.7778	0.9701

Note: Number of individuals (n), total number of genotypes (MLGt), effective number of genotypes (MLGe), genotypic diversity (Div), Shannon-Weiner's corrected index (Shc).

TABLE 5 Number of individuals, total number and effective number of genotypes, genotypic diversity, and the Shannon-Weiner's corrected index by geographical region (west, central, and east), and per multilocus lineage (EU_13_A2, EU_2_A1, and EU_23_A1)

FIGURE 3 Individual neighbour-joining clustering based on Bruvo's distance for the Algerian *Phytophthora infestans* population by region (individuals from the central region marked in black, individuals from the west region marked in purple, and individuals from the east region marked in brown) and per multilocus lineage (MLL; light blue dot, EU_13_A2; red dot, EU_2_A1; green dot, EU_23_A1; black dot, unknown MLL) [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

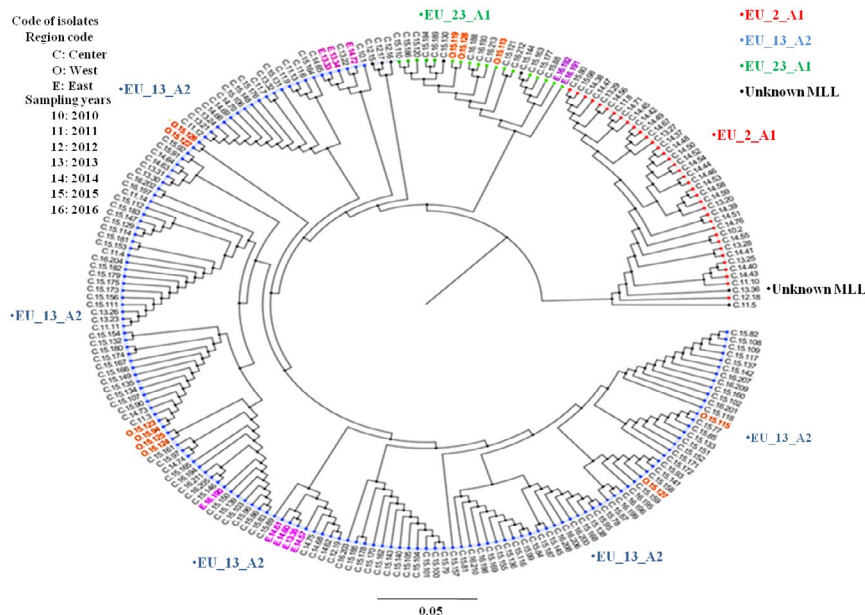
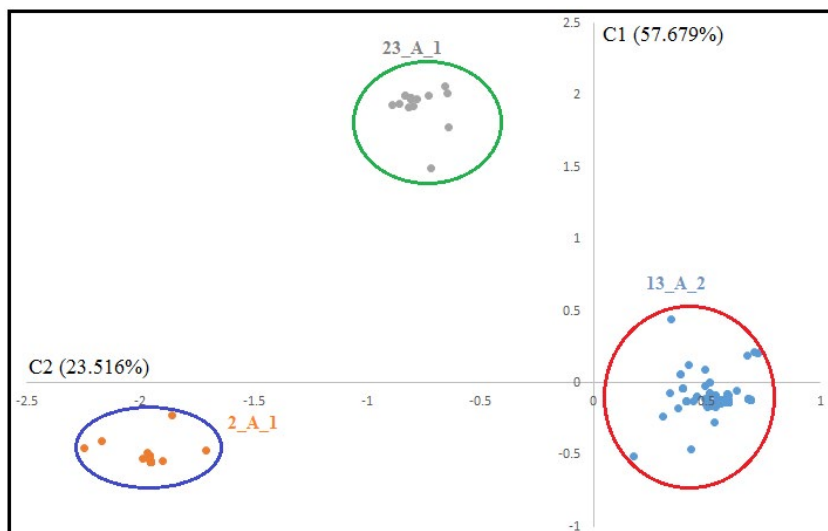


TABLE 6 Analysis of molecular variance tests for the whole data set (N = 206) divided according to geography and multilocus lineage (MLL)

Source of variation	Nested in	Sum of squared deviation	df	Mean squares	Percentage of variance
Region	Within population	1662.4	210	7.9	98.2
	Among population	21.4	2	10.7	1.8
MLL	Within population	953.5	203	4.7	40.9
	Among population	593.6	2	296.8	59.1 ^a

^aStatistical significance at $p < 0.05$.

FIGURE 4 Principal component analysis results for the whole data set (N = 206) grouped according to multilocus lineage on the two main components that explain 81.2% of the total variance. Blue circle, EU_13_A2; red circle, EU_2_A1; and green circle, EU_23_A1. EU_23_A1 and EU_2_A1 were negatively correlated to axis 1 while EU_13_A2 was positively correlated with it [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]



and EU_23_A1 (0.948). Also, Shc values varied between EU_2_A1 (0.430), EU_13_A2 (0.574), and EU_23_A1 (1.315) (Table 5).

AMOVA analysis showed a low and insignificant percentage of variance (1.8%; $p = 0.06$) that is explained by the regions, which increased significantly for clustering based on MLLs (59.1%; $p = 0.02$; Figure 3; Table 6).

3.4 | Genetic structure

The genetic structure for the whole data set revealed that individuals were distributed into three main groups, matching the three major lineages described above (Figure 4). One group contained all individuals belonging to the A1 mating type. The EU_13_A2 MLL

divided into two groups. No introgression was found except for only one individual from the EU_23_A1 MLL that showed a mixed assignment to group 3 (Figure 5) and might be a recombinant. The EU_13_A2 was the most prevalent lineage, representing 70% of all isolates collected from 2010 to 2016, and was present in all Algerian potato production regions. The EU_2_A1 clonal lineage, representing 16% of the *P. infestans* population collected from 2010 to 2015, was found mainly in the centre of Algeria (Algiers, Aïn Defla, and Tizi Ouzou). EU_23_A1, which represented 10%, was detected in 2015 and 2016 in central regions such as Algiers, Boumerdès, Bouïra, Tipaza, and Tizi Ouzou, but also in the west (Mascara and Mostaganem) and in the east (Guelma). Other, unclassified isolates were detected between 2011 and 2016 in low numbers and represented only 4% of the collection. Overall, the distribution of MLGs showed multiple occurrences of the same genotypes within each region. In total, 98 MLGs were found during the sampling period (2010–2016) with the 218 replicates. The highest frequency of occurrence (0.179) was noted for MLG_17, with 40 replicates found in four localities. The major MLGs, with a number of replicates above 10, were mainly distributed in Algiers (MLG_17, MLG_22, MLG_11, and MLG_23), Tipaza (MLG_17 and MLG_11), Tizi Ouzou (MLG_17 and MLG_22), and Aïn Defla (MLG_11 and MLG_23) (Table 7).

4 | DISCUSSION

Several investigations on *P. infestans* populations in Algeria have been carried out over the past decade, such as the studies of Rekad et al. (2017) in the west of Algeria during the period 2008–2014 and Belkhter et al. (2019) on host adaptation in *P. infestans* populations. This paper supplements these earlier reports with more comprehensive data on the population structure of *P. infestans*, and comes to three major conclusions: (a) in Algeria, *P. infestans* populations are dominated by three major clones (EU_13_A2, EU_2_A1, and EU_23_A1), but also contain some minor lineages that are possibly recombinants; (b) these populations are not geographically differentiated; and (c) temporal variations between seasons and years suggest carry-over of primary inoculum between hosts.

Our data confirm the presence in Algeria of three major clonal lineages (EU_13_A2, EU_2_A1, and EU_23_A1) of *P. infestans*, alongside other unclassified isolates possibly resulting from sexual reproduction. They highlight the prevalence of *P. infestans* EU_13_A2 genotype across Algerian potato crops, and the regional distribution of EU_2_A1 and EU_23_A1. The rise of EU_13_A2 explains the recent increase in the frequency of the A2 mating type (Rekad et al., 2017), and mirrors findings in neighbouring

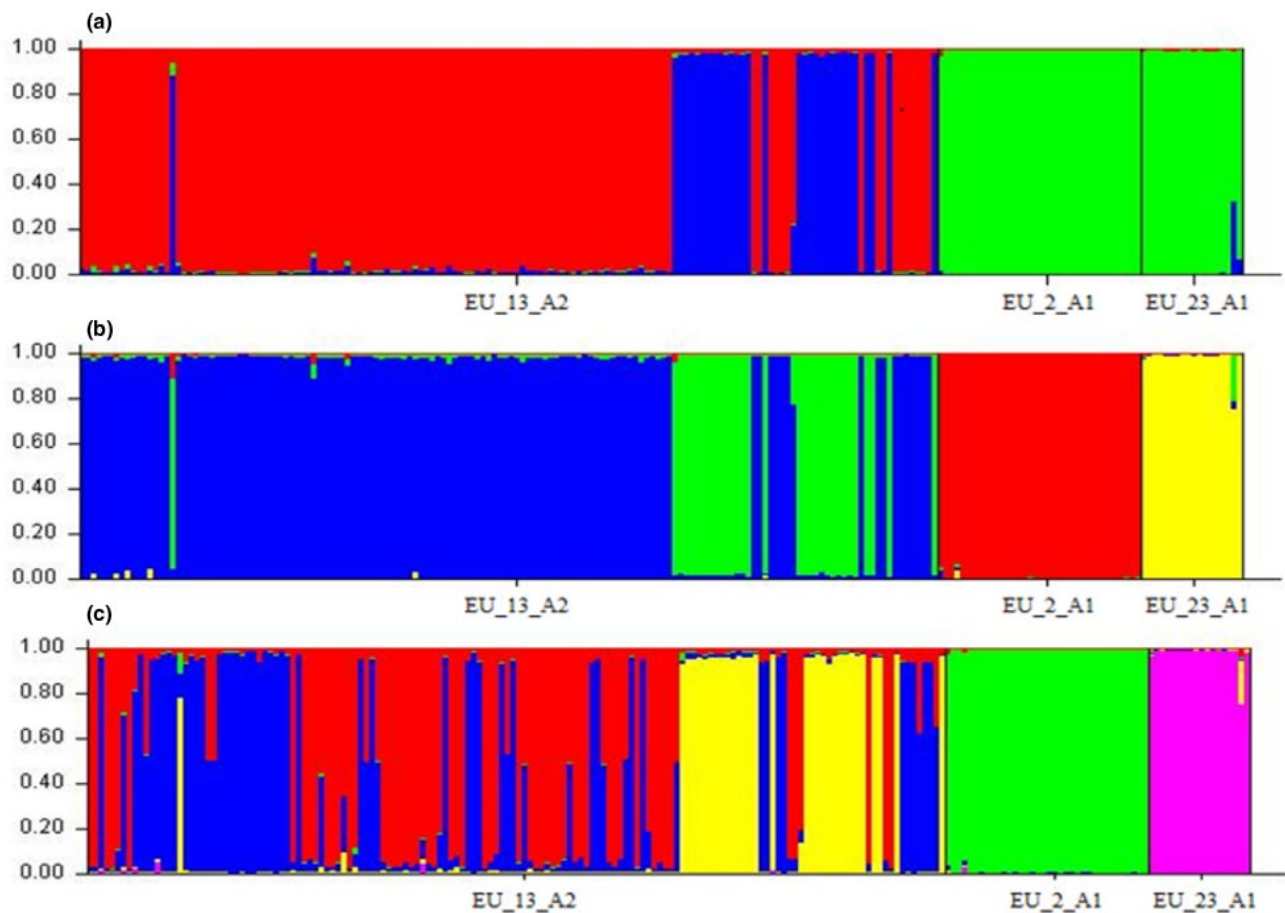


FIGURE 5 Bar plot indicating the probability of microsatellite assignment based on STRUCTURE analysis for the whole data set grouped by MLLs. (a) $K = 3$; (b) $K = 4$; (c) $K = 5$ [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

TABLE 7 Major MLGs occurrence frequency and replicates count (over 10) distributed by locality

Locality	MLL	MLG ID	No. of MLG replicates	Frequency of occurrence
Algiers, Mascara, Tipaza, Tizi Ouzou	EU_13_A2	MLG_17	40	0.179
Algiers, Tizi Ouzou	EU_2_A1	MLG_22	14	0.062
Ain Defla, Algiers, Médéa, Tipaza	EU_13_A2	MLG_11	12	0.053
Ain Defla	EU_2_A1	MLG_23	11	0.049

Abbreviations: MLG, multilocus genotype; MLL, multilocus lineage.

Maghreb countries, Morocco (Sedegui et al., 2000) and Tunisia (Harbaoui et al., 2013; Jmour & Hamada, 2006). The study period (2010 to 2016) was characterized by an important increase in late blight prevalence and severity nationwide, and closely follows the first detection of A2 genotypes in the country in 2007 (Beninal et al., 2009; Rekad et al., 2017). Many reports mention the current dominance of EU_13_A2 on potato since 2004–2006 in Europe (Cooke et al., 2012; Mariette et al., 2016), and more recently outside Europe (Dey et al., 2018). This dominance was often attributed to increased virulence and aggressiveness (Chmielarz et al., 2014; Cooke et al., 2012), although recent work showed that other factors, such as over-seasoning ability, are probably involved (Mariette et al., 2016). The EU_2_A1 clonal lineage was previously reported on potato and tomato in Algeria (Rekad et al., 2017). However, this genotype was found at low frequencies in recent years relative to EU_13_A2. It was identified only from potato at high frequency, which strongly suggests its specialization to the potato crop. In France, the EU_2_A1 lineage was dominant on potato before 2006 (Mariette et al., 2016), but is now infrequent. The low frequency of EU_2_A1 isolates in Algerian populations could be explained by a better inclusive fitness or particular adaptive capabilities of EU_13_A2 compared to EU_2_A1 (Corbière et al., 2015). However, EU_2_A1 recently emerged as an invasive clone in eastern Africa, where it caused severe epidemics (Njoroge et al., 2019). There is evidence that EU_2_A1 was introduced in eastern Africa through seed imports from Europe, a situation that may also have occurred in Algeria, where average yearly seed tuber importations are important (100,000 tonnes) and originate mainly from the Netherlands (58%), France (16%), and Denmark (13%). EU_2_A1 was probably introduced several years ago, and then became established in Algeria. However, it is noteworthy that some clones prevalent in western Europe at the same time as EU_2_A1, such as EU_6_A1 or EU_8_A1, were not found within the Algerian populations surveyed. In Europe these clones are mainly restricted to oceanic climates prevalent in north-western Europe and might not be able to thrive under Mediterranean conditions.

By contrast, EU_23_A1 was detected in one sample collected from potato in Mostaganem in 2013 and in a further five samples from the same area the following year (Rekad et al., 2017). We found this lineage in 2015 and 2016 in the centre and east of Algeria. While it is primarily adapted to tomato in Europe (Mariette et al., 2016), it was present at a higher frequency on potato in Egypt (El-Ganainy et al., 2013). EU_23_A1 is genetically identical to the US_23 genotype,

which has caused severe epidemics on both potato and tomato in the USA in recent years (Danieš et al., 2013). It is quite possible that EU_23_A1 may be of local origin and persists thanks to its ability to bridge hosts grown year-round in the Mediterranean area. This hypothesis is reinforced by the observation that the A2 mating type was rare from late-season samples, unlike the A1 mating type. It is thus likely that the inoculum infecting the late-season crops is mainly born on tomato, to which the EU_23_A1 is best adapted. This inoculum transfer between crops is made easier than in many other areas, because potato and tomato crops are grown year-round in Algeria, often in close proximity under the same environmental conditions (Belkhit et al., 2019).

While A1 genotypes were genetically well structured, with few MLL variants, the EU_13_A2 lineage seems to be undergoing genetic differentiation. The phylogenetic tree shows a clustering of individuals according to geographical sites, indicating the emergence of local variants of this lineage. This confirms the results obtained in the AMOVA and mirrors the report of subclonal variation noticed by Rekad et al. (2017). Interestingly, four MLGs were missing in the central region (the most intensely sampled). This might be due to restrictive conditions for their development in this area, in response to continuous climate variation. However, this subclonal variation and regional distribution of some of the minor genotypes were not sufficient to generate a strong geographic differentiation within population genetic structures. Indeed, and unlike the situation reported in some other Maghreb countries such as Morocco (Hafidi et al., 2002), no clear regional structure emerged from our surveys. The low variance part explained by the variable “Region” for the kinship coefficient indicates that individuals are different not because they belong to different geographical regions, but rather because there is not a clear pattern of MLG distribution.

This lack of regional differentiation may be due to the national seed production strategy, according to which seeds are produced in defined areas and sold all over the country, favouring the dispersal of the same pathogen genotypes in Algeria. It might also reflect the fact that the hosts themselves are not geographically structured: Spunta is the dominant potato cultivar in all production regions sampled, and all these regions grow both potato and tomato. The relatively low values of MLGs indicate that the pathogen is well adapted within its range of expansion. Often *P. infestans* populations have the capacity to adapt locally and let local variants emerge (e.g., Mariette et al., 2016), but this adaptation is negated when populations are

strongly subjected to largely uniform selection pressures by a single host (Montarry et al., 2008).

The geographical and temporal overlaps in the distribution of both crops possibly also favours the presence of both mating types (A1 and A2) in the same field outbreak, which was observed in several fields in Algiers, Boumerdès, and Mascara. This co-occurrence increases the likelihood of sexual reproduction of *P. infestans* in Algerian potato fields. While we have no direct evidence of recombination among genotypes, it is hypothesized that sexual reproduction would generate greater genetic diversity resulting in genotypes that are more aggressive and difficult to control. This sexual population also means an increased risk of oospore-derived late blight attacks very early in the season, as reported in northern populations (Kiiker et al., 2019). However, the genetic diversity revealed in this study was quite low within sites with little heterozygosity, which is consistent with a clonal structure of local populations. This result does not match observations by Rekad et al. (2017) for the western region. This discrepancy might be explained by the relatively low number of SSR markers used in their study. It is therefore important to continue tracking both recombinants and oospore formation during future surveys.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the PoH-MED project (2012–2016), Potato Health—Managed for Efficiency and Durability, funded under the ARIMNet (Agricultural Research in the Mediterranean Area) ERA-Net (KBBE 219262). The authors thank M. El Mokhefi Mhamed (Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire) for the genetic data analysis.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Lyes Beninal  <https://orcid.org/0000-0001-5904-1817>

Didier Andrivon  <https://orcid.org/0000-0002-0060-1231>

REFERENCES

- Belkhit, S., Beninal, L., Khedidji, H., Krimi, A. & Bouznad, Z. (2019) Aggressiveness and host adaptation of some Algerian *Phytophthora infestans* clonal lineages on potato and tomato. *Pakistan Journal of Phytopathology*, *31*, 147–154.
- Beninal, L., Corbière, R., Kedad, A., Andrivon, D. & Bouznad, Z. (2009) A2 mating type, metalaxyl resistance and complex virulence profiles, common features in some *Phytophthora infestans* isolates from Algeria. In: Schepers, H.T.A.M. (Ed.) *PPO-Special Report*. 13 Wageningen, Netherlands: Wageningen DLO Foundation, pp. 237–242.
- Chmielarz, M., Sobkowiak, S., Dezbski, K., Cooke, D.E.L., Brurberg, M.B. & Sliwka, J. (2014) Diversity of *Phytophthora infestans* from Poland. *Plant Pathology*, *63*, 203–211.
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M. (2001) *Change in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation*, 2nd edition, Plymouth: PRIMER-E Ltd.
- Cooke, D.E.L., Cano, L.M., Raffaele, S., Bain, R.A., Cooke, L.R., Etherington, G.J. et al (2012) Genome analyses of an aggressive and invasive lineage of the Irish potato famine pathogen. *PLoS Pathogens*, *8*, e1002940.
- Cooke, L.R., Schepers, H.T.A.M., Hermansen, A., Bain, R.A., Bradshaw, N.J., Ritchie, F. et al (2011) Epidemiology and integrated control of potato late blight in Europe. *Potato Research*, *54*, 183–222.
- Corbière, R. & Andrivon, D. (2003) *Preparation of a simple pea medium for culturing Phytophthora infestans*. Available at: <http://www.eucablight.org/EucaBlight.asp> [Accessed 4th January 2007].
- Corbière, R., Beninal, L., Belkhit, S., Mabon, R., Mariette, N., Andrivon, D. et al (2015) Do the Algerian *Phytophthora infestans* populations show genotypic structuration on potato and tomato? In: Schepers, H.T.A.M. (Ed.) *PPO-special report no 17, 2015*. Wageningen, Netherland: Wageningen DLO Foundation, pp. 155–167.
- Danies, G., Small, I.M., Myers, K., Childers, R. & Fry, W.E. (2013) Phenotypic characterization of recent clonal lineages of *Phytophthora infestans* in the United States. *Plant Disease*, *97*, 873–881.
- Dey, T., Saville, A., Myers, K., Tewari, S., Cooke, D.E.L., Tripathy, S. et al (2018) Large sub-clonal variation in *Phytophthora infestans* from recent severe late blight epidemics in India. *Scientific Reports*, *8*, 4429.
- Earl, D.A. & Von Holdt, B.M. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, *4*, 359–361.
- El-Ganainy, S.M., Tohamy, A.M.M., Awad, M.A., Squires, J.N. & Cooke, D.E. (2013) The population dynamics of *Phytophthora infestans* in Egypt. In: *Proceedings of American Phytopathological Society (APS) Meeting* (August, 10–14, 2013, Austin, Texas, USA). Available at: https://www.apsnet.org/meetings/Documents/2013_Meeting_Abstracts/aps2013abP118.htm [Accessed 29th August 2021].
- Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, *14*, 2611–2620.
- Excoffier, L., Smouse, P.E. & Quattro, J.M. (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes, application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, *131*, 479–491.
- FAOSTAT (2019) *Agricultural statistics*. Available at: Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://www.fao.org/faostat> [Accessed 7th September 2021].
- Flier, W.G., van den Bosch, G.B.M. & Turkensteen, L.J. (2003) Stability of partial resistance in potato cultivars exposed to aggressive strains of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*, *52*, 326–337.
- Fry, W.E. (2008) *Phytophthora infestans*, the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, *9*, 385–402.
- Fry, W.E. & Goodwin, S.B. (1997) Reemergence of potato and tomato late blight in the United States. *Plant Disease*, *81*, 1349–1357.
- Fry, W.E., Goodwin, S.B., Dyer, A.T., Matuszak, J.M., Drenth, A., Tooley, P.W. et al (1993) Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Disease*, *77*, 653–661.
- Hafidi, M., Achbani, E.H., Lamaaraf, N., Bouami, F., Andrivon, D. & Corbière, R. (2002) Geographic differentiation of populations of *Phytophthora infestans* in Morocco. *Al Awamia*, *104*, 96.
- Harbaoui, K., Hamada, W., Vleeshouwers, V.G.A.A., Khammassy, N., Harrabi, M. & van der Lee, T.A.J. (2013) Characterisation of *Phytophthora infestans* isolates collected from potato and tomato crops in Tunisia during 2006–2008. *Potato Research*, *56*, 11–29.
- Hohl, H.R. & Iselin, K. (1984) Strains of *Phytophthora infestans* from Switzerland with A2 mating type behaviour. *Transactions of the British Mycological Society*, *83*, 529–531.

- Jmour, W. & Hamada, W. (2006) First report of A2 mating type of *Phytophthora infestans* in Tunisia using molecular markers and some observations on its metalaxyl resistance. *Tunisian Journal of Plant Protection*, *1*, 85–92.
- Kiiker, R., Skrabule, I., Ronis, A., Cooke, D.E.L., Hansen, J.G., Williams, I.H. et al (2019) Diversity of populations of *Phytophthora infestans* in relation to patterns of potato crop management in Latvia and Lithuania. *Plant Pathology*, *68*, 1207–1214.
- Knapova, G. & Gisi, U. (2002) Phenotypic and genotypic structure of *Phytophthora infestans* populations on potato and tomato in France and Switzerland. *Plant Pathology*, *51*, 641–653.
- Lees, A.K., Wattier, R., Shaw, D.S., Sullivan, L., Williams, N.A. & Cooke, D.E.L. (2006) Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations. *Plant Pathology*, *55*, 311–319.
- Li, Y., Govers, F., Mendes, O., Testa, A., Huang, S. & Jacobsen, E. et al (2010) A new set of highly informative SSR markers for *Phytophthora infestans* population analysis assembled into an efficient multiplex. *Molecular Ecology Resources*, *10*, 1098–1105.
- Mariette, N., Mabon, R., Corbière, R., Boulard, F., Glais, I., Marquer, B. et al (2016) Phenotypic and genotypic changes in French populations of *Phytophthora infestans*: are invasive clones the most aggressive? *Plant Pathology*, *65*, 577–586.
- Meirmans, P.G. & VanTienderen, P.H. (2004) GENOTYPE and GENODIVE: two programs of the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, *4*, 792–794.
- Meirmans, P.G. & VanTienderen, P.H. (2013) The effects of inheritance in tetraploids on genetic diversity and population divergence. *Heredity*, *100*, 131–137.
- Montarry, J., Glais, I., Corbière, R. & Andrivon, D. (2008) Adaptation to the most abundant host genotype in an agricultural plant-pathogen system – potato late blight. *Journal of Evolutionary Biology*, *21*, 1397–1407.
- Njoroge, A.W., Andersson, B., Lees, A.K., Mutai, C., Forbes, G.A., Yuen, J.E. et al (2019) Genotyping of *Phytophthora infestans* in Eastern Africa reveals a dominating invasive European lineage. *Phytopathology*, *109*, 670–680.
- Peakall, R. & Smouse, P.E. (2012) GenA1Ex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, *28*, 2537–2539.
- Rekad, F.Z., Cooke, D.E.L., Puglisi, I., Randall, E., Guenaoui, Y., Bouznad, Z. et al (2017) Characterization of *Phytophthora infestans* populations in northwestern Algeria during 2008–2014. *Fungal Biology*, *121*, 467–477.
- Ronfort, J., Jenczewski, E., Bataillon, T. & Rousset, F. (1998) Analysis of population structure in autotetraploid species. *Genetics*, *150*, 921–930.
- Runno-Paurson, E., Hansen, M., Kotkas, K., Nassar, H., Williams, I.H., Niinemets, Ü. et al (2019) Evaluation of foliar late blight resistance of potato cultivars in northern Baltic conditions. *Zemdirbyste*, *106*, 45–52.
- Sedegui, M., Carroll, R.B., Morehart, A., Evans, T.A., Kim, S.H., Lakhdar, R. et al (2000) Genetic structure of the *Phytophthora infestans* population in Morocco. *Plant Disease*, *84*, 173–176.
- Yuen, J.E. & Andersson, B. (2013) What is the evidence for sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Europe? *Plant Pathology*, *62*, 485–491.

How to cite this article: Beninal, L., Bouznad, Z., Corbière, R., Belkhiter, S., Mabon, R., Taoutaou, A., et al. (2022) Distribution of major clonal lineages EU_13_A2, EU_2_A1, and EU_23_A1 of *Phytophthora infestans* associated with potato late blight across crop seasons and regions in Algeria. *Plant Pathology*, *71*, 458–469. <https://doi.org/10.1111/ppa.13471>



Official publication of Pakistan Phytopathological Society

Pakistan Journal of Phytopathology

ISSN: 1019-763X (Print), 2305-0284 (Online)

http://www.pakps.com



AGGRESSIVENESS AND HOST ADAPTATION OF SOME ALGERIAN *PHYTOPHTHORA INFESTANS* CLONAL LINEAGE ON POTATO AND TOMATO

^aSihem Belkhiter*, ^bLyes Beninal, ^aHassiba Khedidji, ^aAmira Krimi, ^aZouaoui Bouznad

^aLaboratoire de Phytopathologie et Biologie Moléculaire, Département de Botanique, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) – 16200 El Harrach – Algiers-Algeria.

^bCNCC El Harrach, Algiers, Algeria.

ABSTRACT

Late blight caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary is one of the most important biotic constraints to Solanaceae crops. This investigation was carried out to study host adaptation of some *P. infestans* clonal lineages present in Algeria. A total of 36 isolates from different clonal lineages were tested, including EU_23_A1 (n=28), EU_2_A1 (n=3) and EU_13_A2 (n=5), cross inoculation were carried out on potato and tomato leaflets, aggressiveness components such as incubation period, latency period, lesion area and sporangia production were assessed. The results indicated that isolates of EU_23_A1 and EU_2_A1 clonal lineage showed no significant differences in lesion size on both hosts, but sporulated more abundantly on tomato than on potato. However, EU_13_A2 isolates were more aggressive on potato than on tomato, these results suggest that the *P. infestans* population in Algeria is subdivided into potato specialist isolates such as the EU_13_A2 lineage, which attacked only potato under field conditions and generalists such as EU_23_A1 and EU_2_A1 lineages which are more adapted to tomato, but attack potato under field conditions. This study is the first in Algeria to identify host adaptation among *P. infestans* clonal lineages. These data can be useful in developing sustainable control strategies to treat both hosts, especially tomato, which contribute to the production of secondary inoculum in order to reduce the risk of major late blight epidemics.

Keywords: Host specialization, Late blight, *Solanum lycopersicum*, *Solanum tuberosum*

INTRODUCTION

Potato *Solanum tuberosum* (L.), and tomato *Solanum lycopersicum* (L.), occupy an important place in Algerian agricultural economy. Potato is grown during three seasons in 156 thousand ha with an annual production of 5 million tons (FAOSTAT, 2016). Whereas, tomato is grown all year-round in 22 thousand ha, in plastic house and in open fields with an annual production of 1 million tons (FAOSTAT, 2016); most part of its production is located in the northern regions, including Biskra in the south.

Phytophthora infestans is the major biotic constraint to these crops in Algeria. Since 2007, severe late blight

Submitted: September 01, 2019

Revised: December 01, 2019

Accepted for Publication: December 19, 2019

* Corresponding Author:

Email: belkhiterjihem@gmail.com

© 2017 Pak. J. Phytopathol. All rights reserved.

epidemics have been recorded annually, in northern regions where climatic conditions are very favourable for late blight development, infection can occur at any time during the growing season. This Oomycete pathogen is heterothallic with two mating types A1 and A2, which can induce sexual reproduction and oospores formation (Mizubuti and Fry, 1998). The pathogen infects all above ground parts of the plant, even tomato seeds and potato tubers. Under favourable conditions black lesions develop on leaves and stems; the underside of leaf is covered with a fine white mycelium with sporangiophores and sporangia which are rapidly disperse by wind or rain (Akhtar *et al.*, 2012; Nowicki *et al.*, 2012). The infected field can be destroyed in seven to ten days due to the pathogen's ability to spread rapidly (Fry, 2008).

Potato and tomato are the main hosts infected by *P. infestans* (Seidl Johnson and Gevens, 2014), this specific ecological situation in which two or more potential hosts are grown in the same environment leads to important

epidemiological consequences; the inoculum can move easily from one host to the other and vice versa (Erselius *et al.*, 1997). It is essential to determine the host adaptation among new *P. infestans* clonal lineages in order to have an optimal integrated late blight management (Seidl Johnson and Gevens, 2014).

Some specific *P. infestans* lineages are usually associated with only a single host. In Brasil and Ecuador, the BR_1 lineage (A2 mating type) and EC_1 lineage (A2 mating type) were associated only with potato; while US_1 lineage (A1 mating type) with tomato, respectively (Oyarzun *et al.*, 1998; Reis *et al.*, 2003; Maziero *et al.*, 2009; de Miranda *et al.*, 2010). However, some clonal lineages in USA, infect both potato and tomato, such as US_11 (A1 mating type), US_22 (A2 mating type), and US_23 (A1 mating type) (Blandón-Díaz *et al.*, 2012; Danies *et al.*, 2013).

Most of *P. infestans* genotypes present in Algeria originate from Europe. The EU_13_A2 is the current highly aggressive lineage; which had been detected in many potato fields in Europe, Africa and Asia (Naveed *et al.*, 2017). It has been reported in Europe since 2004 (Cooke *et al.*, 2012). While, EU_2_A1 was the main genotype in France until 2006 (Corbière *et al.*, 2015). However, EU_23_A1 has been reported on tomato crops in Great Britain (Stroud *et al.*, 2016). It seems that this clonal lineage has the same SSR profile as the US_23 genotype, which is very aggressive on potato and tomato crops in USA. In Algeria, isolates of EU_13_A2 clonal lineage were detected only on potato (Beninal *et al.*, 2008; Corbière *et al.*, 2015; Rekad *et al.*, 2017). However, isolates widely found on tomato belong to A1 mating type such as EU_2_A1 and EU_23_A1 (Corbière *et al.*, 2015).

The purpose of this study is to clarify the possibility of host adaptation of some Algerian *P. infestans* clonal lineages by aggressiveness tests on detached leaflets of potato and tomato using cross-inoculation under controlled conditions. The aggressiveness components such as incubation period, latency period, lesion area and sporangia production were quantified which revealed the effect of the original host on isolate aggressiveness.

MATERIALS AND METHODS

Plant material: Commercial seeds of tomato cv. Marmande and potato cv. Spunta have been used in this study. Those were provided by the Vegetables Institute (ITCMI) located at Staoueli (Algiers) Both cultivars are very susceptible to late blight. Plants were grown in pots filled with a mixture of 50% disinfected soil and 50% compost, under glasshouse with regulated temperature between 25°C

during day and 20°C during night. Leaflets of the same stage were harvested after nine weeks for pathogenicity tests.

Phytophthora infestans isolates: In total, 36 isolates were used in this study (Table 1), collected from the main tomato and potato production regions around Algiers and other areas such as Tipaza, Boumerdès, Mascara, Guelma, Medea, Bouira, Tizi ouzou during 2013 to 2016. Isolates were obtained from infected potato and tomato stems, by isolation technique, small pieces of infected fresh samples (leaf, stem and fruit) were placed on potato slices, these were put in closed Petri dishes and incubated at 18°C in the dark. After 4 or 5 days, mycelium formed was purified by repetitive transfers in pea agar medium amended with antibiotics (30 mg of Rifamycine and 200 mg of Ampicillin); pure cultures were maintained at 18°C.

The isolates have been characterized genotypically using 17 SSR loci (Belkhit *et al.*, 2017). The clonal lineages were named according to the classical European nomenclature established by Cooke *et al.*, (2012). We used 5 isolates of EU_13_A2 clonal lineage, 3 isolates of EU_2_A1 clonal lineage and 28 isolates of EU_23_A1 clonal.

Inoculation: Sporangial suspensions were prepared by flooding 3-weeks old *P. infestans* cultures with 5 ml of sterilized distilled water. The concentration of sporangia was adjusted to 5×10^4 sporangia ml⁻¹ and kept at 4°C for 3 h to promote zoospores release. All detached leaflets were inoculated with a 20 µl sporangial suspension on the abaxial side. Six leaflets were inoculated for each isolates and placed on a moist sterilized filter paper in Petri dishes and incubated at 20°C in a growing chamber during a 16 h light, 8h dark period.

Aggressiveness evaluation: Aggressiveness components such as incubation period expressed by daily observation of the first symptoms; latency period was determined by daily observation of the first sporangia production were assessed. Lesion area was measured five days post inoculation, using the formula reported by Vleeshouwers *et al.* (2000) as follows: the lesion area = $1/4 \times \pi \times \text{length} \times \text{width}$ of necrosis. Sporangia production was scored seven days post inoculation, infected leaflets were washed with 10 ml of stzed distilled water and sporangia were counted using Malassez cell, expressed as the number of sporangia ml⁻¹.

P. infestans is an oomycete that has the ability to produce sporangia. Under microscope the sporangia have an ovoid shape containing swimming cells called zoospores. This asexual form is responsible for inoculum spread.

Table 1. Characteristics of isolates used in this study, collected during 2013 - 2016 from different Algerian regions on infected potato and tomato.

Region	Locality	Year of Sampling	Number of isolates	Original host	Clonal lineages
Algiers	Staoueli	2014,2015	4	Tomato	EU_23_A1
		2015	2	Potato	EU_13_A2
		2014	1	Tomato	EU_2_A1
	El Harrach	2014	1	Potato	EU_2_A1
		2016	2	Tomato	EU_23_A1
	Bab Ezzouar	2016	1	Potato	EU_23_A1
	Zeralda	2014	4	Tomato	EU_23_A1
Tipaza	Chenoua	2014,2015	14	Tomato	EU_23_A1
		2015	1	Potato	EU_23_A1
Boumerdès	Khemis el khechna	2015	1	Potato	EU_23_A1
Mascara	-	2015	1	Potato	EU_23_A1
Guelma	-	2013	1	Potato	EU_13_A2
Medea	Galb el kebir	2015	1	Potato	EU_13_A2
Bouira	Ain bessam	2015	1	Potato	EU_13_A2
Tizi ouzou	Soumaa	2014	1	Potato	EU_2_A1

DATA ANALYSIS

The data for aggressiveness components were subjected to an analysis of variance (ANOVA) and the mean values were compared using the Tukey HSD test with $\alpha = 0.05$. All Statistical analyses were performed using the software R v.3.3.2. (The R Foundation for Statistical Computing, 2016).

RESULTS

Symptoms assessment: All isolates tested were pathogenic to both potato and tomato. However, *P.*

infestans clonal lineages don't produce the same kind of symptoms (Figure 1). EU_23_A1 isolates were very biotrophic on tomato and showed lesions difficult to delimit on leaflets with abundant sporulation after five days post inoculation (Figure 1A). On potato, this lineage produced dark lesions with less sporulation. In contrast, EU_13_A2 produced a darker necrosis; with less abundant sporulation on tomato leaflets. Unlike potato leaflets, EU_13_A2 isolates showed large lesions with abundant sporulation (Figure 1B).

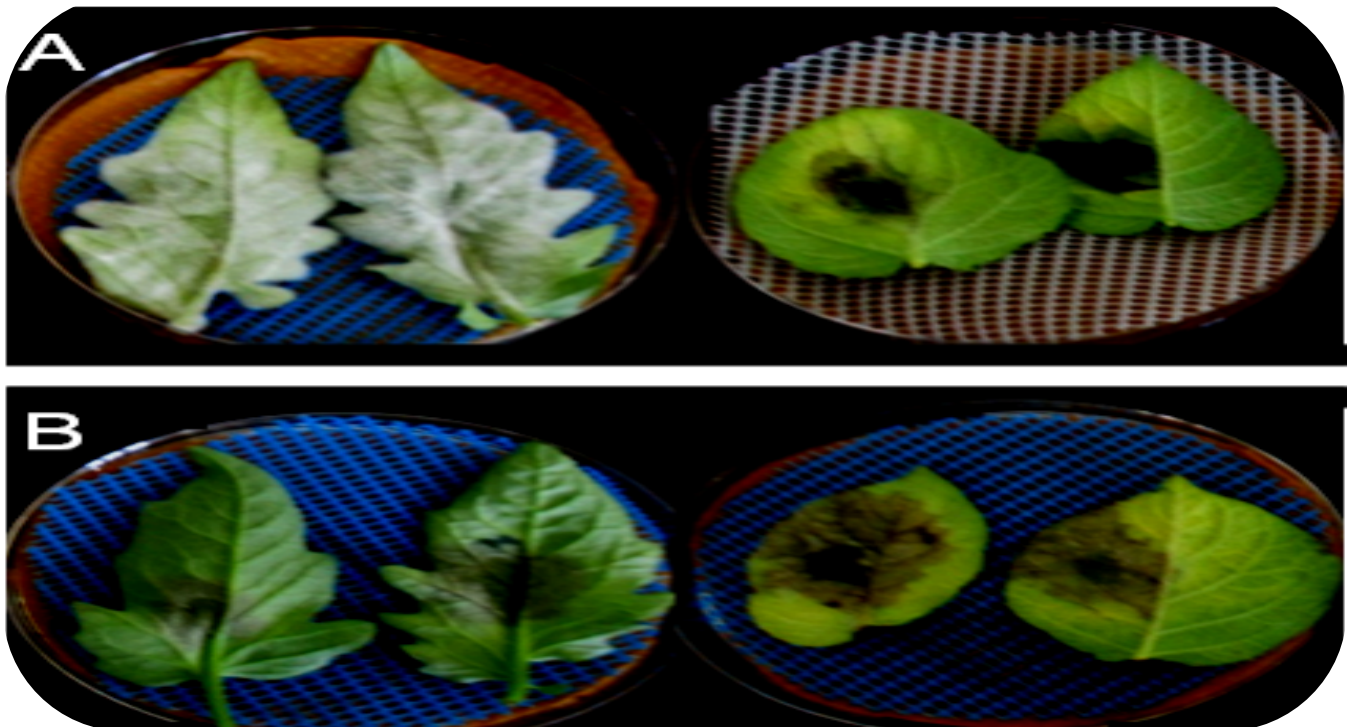


Figure 1. Symptoms of tomato and potato isolates on detached leaflets of both hosts. (A) Lesions produced by isolate of EU_23_A1 clonal lineage. (B) Lesions produced by isolates of EU_13_A2 clonal lineage.

Aggressiveness of *P. infestans* clonal lineages on potato and tomato:

Incubation period showed no significant interaction between *P. infestans* clonal lineages and hosts (Table 2), it ranged from 3.5 days (EU_13_A2, on tomato) to 4.73 days (EU_2_A1, on tomato). However, on potato this period was ranged from 3.6 days with EU_13_A2 isolates to 4.53 days with EU_2_A1 isolates.

Latency period was shorter on tomato than on potato, ranging from 4.39 days (EU_13_A2, on tomato) to 6 days (EU_2_A1, on potato). It was statistically significant between hosts and EU_23_A1 and EU_2_A1 clonal lineages (P≤0.001). While, no significant difference was noticed with EU_13_A2 lineage and both hosts (P=0.15).

Lesions area ranged from 357.57 mm² (EU_13_A2, on tomato) to 629.44 mm² (EU_23_A1, potato), it's been significantly larger on potato than on tomato with EU_13_A2 isolates (P≤0.001). Both EU_23_A1 and EU_2_A1 lineages had slightly larger mean lesions area on potato than tomato, these differences were not significant (P = 0.32 and P = 0.58, respectively) (Table 2, Figure 2).

Sporangia production ranged from 4.1 x10⁴ sporangia ml⁻¹ (EU_2_A1, on potato) to 48.86x10⁴ sporangia ml⁻¹ (EU_13_A2, on potato). EU_23_A1 and EU_2_A1 isolates sporulated more abundantly on tomato than on potato (P≤0.001). In contrast, EU_13_A2 isolates sporulated more profusely on potato than on tomato (Table 2, Figure 2).

Table 2. Mean values of aggressiveness components; thirty six isolates were inoculated on potato cv. Spunta and tomato cv. Marmande.

Components	Cultivars	EU_13_A2 (n=5)	EU_2_A1(n=3)	EU_23_A1(n=28)
Incubation period (days)	Marmande	3.5 a	4.73 a	3.73 a
	Spunta	3.60 a	4.53 a	3.77 a
	Pr(>F)	0.67	0.33	0.63
Latency period (days)	Marmande	4.39 a	5.2 a	4.44 a
	Spunta	4.88 a	6 b	4.86 b
	Pr(>F)	0.15	0.0049 **	7.96e-08 ***
Lesion area (mm ²)	Marmande	357.57a	455.88 a	588.77 a
	Spunta	549.06 b	533.85 a	629.44 a
	Pr(>F)	0.00551 **	0.58	0.32
Sporangia production (Sporangia x 10 ⁻⁴) ml ⁻¹	Marmande	21.99x10 ⁴ a	21.56x10 ⁴ b	43.53x10 ⁴ b
	Spunta	48.86x10 ⁴ b	4.1x10 ⁴ a	15.35x10 ⁴ a
	Pr(>F)	0.0107 *	0.000241 ***	<2e-16 ***

The mean aggressiveness components are expressed using Tukey's HSD test with α=0.05. The statistic significant are expressed using asterisk (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

Specific virulence of isolates on their respective and alternative host:

Incubation period showed no significant interaction between potato and tomato isolates and their hosts (P=0.94, P=0.85, respectively). It ranged from 3.73 days (tomato isolates, on tomato) to 3.91 days (potato isolates, on potato).

Latency period was shorter on tomato than on potato with all isolates ranging from 4.44 days (Tomato isolates, on tomato) to 5.11 days (Potato isolates, on potato). Tomato isolates showed significant results between hosts (P≤0.001). While,

potato isolates showed no significant hosts interaction (P= 0.085). Lesion areas ranged from 364.64 mm² (Potato isolates, on tomato) to 625.89 mm² (Tomato isolates, on potato), values were not significant between tomato isolates and both hosts (P = 0.65). While, potato isolates showed a larger lesion on potato than on tomato (P≤ 0.05).

Sporangia production of tomato isolate was important on tomato than on potato leaflets (P≤0.001). In contrast, potato isolates sporulated more abundantly on their original host than on the tomato (P≤ 0.05) (Table 3).

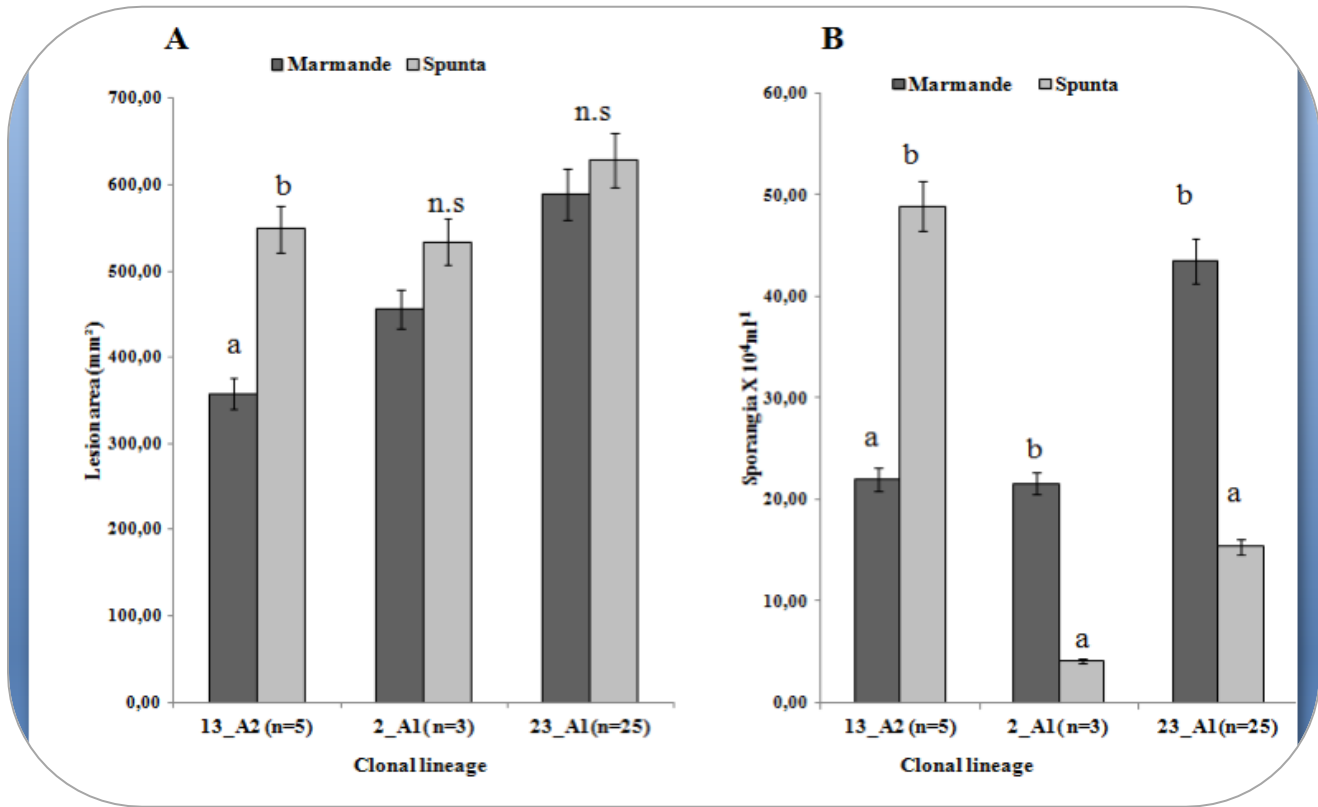


Figure 2. Pathogenicity of each clonal lineage on tomato cv. Marmande and potato cv. Spunta. (A) Lesion area expressed in mm². (B) Sporangia production expressed by the number of sporangia x 10⁴ml⁻¹. The means of lesion area and sporangia production are separated using Tukey's HSD test with α=0.05. n.s.= no significant.

Table 3. Mean values of the aggressiveness components of isolates on tomato and potato.

Components	Cultivars	Tomato isolates n= 25	Potato isolates n=11
Incubation period (days)	Marmande	3.72 a	3.80 a
	Spunta	3.73 a	3.91 a
	Pr(>F)	0.94	0.85
Latency period (days)	Marmande	4.44 a	4.56 a
	Spunta	4.83 b	5.11 a
	Pr(>F)	1.96e-07 ***	0.085
Lesion size (mm ²)	Marmande	615.19 a	364.64 a
	Spunta	625.89 a	549.73 b
	Pr(>F)	0.654	0.0263 *
Sporangia production (Sporangia x 10 ⁻⁴) ml ⁻¹	Marmande	46 ab	22.02 a
	Spunta	14.46a	30.69 b
	Pr(>F)	<2e-16 ***	0.0483 *

The mean aggressiveness components are expressed using Tukey's HSD test with α=0.05. The statistic significant are expressed using asterisk (*P <0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

DISCUSSION

In Algeria, potato and tomato crops are grown all year round and often in close proximity under the same environmental conditions. Investigations on *P. infestans* have shown that isolates of the EU_13_A2 clonal lineage have been detected only on potato at all sites (Beninal et

al., 2008; Corbière et al., 2015; Rekad et al., 2017). While EU_23_A1 and EU_2_A1 clonal lineages were found on tomato and little on potato under field conditions. These observations theoretically showed the presence of host adaptation among *P. infestans* populations, confirmed by aggressiveness tests carried out during the

present study on potato and tomato leaflets under controlled conditions. The symptoms exhibited by *P. infestans* clonal lineages were very different on potato and tomato. The EU_23_A1 isolates were highly biotrophic on tomato and showed the same symptoms described by Vega-Sanchez et al (2000), and Danies *et al.* (2013).

With regard to sporulation, the EU_23_A1 clonal lineage sporulated two times more than both EU_2_A1 and EU_13_A2 lineages on tomato leaflets. While, EU_13_A2 lineage sporulated profusely on potato than on tomato leaflets. However, EU_2_A1 sporulated less than the other lineages, but sporulated profusely on tomato than on potato. Abundant sporulation on the foliage suggests that these host plants are more likely to contribute to epidemics through the production of secondary inoculums and to increase the inoculum amount of the same genotype, which contributes to the maintaining of separate *P. infestans* populations (Suassuna *et al.*, 2004; Seidl Johnson and Gevens, 2014).

The adaptation of *P. infestans* population on both potato and tomato is also derived from their original host (Michalska *et al.*, 2016). In our data, we found that isolates collected from tomato produced almost lesion of the same size on potato and tomato leaflets. Usually, lineages detected on tomato are more generalist than those found on potato (Kröner *et al.*, 2017). Vega-Sanchez et al (2000); suggests that *P. infestans* adaptation to tomato is not always associated with reduced fitness on potato. As the case in Algeria, it would appear that isolates of EU_23_A1 and EU_2_A1 lineages are well adapted to tomato plants and have the ability to switch from tomato to potato under field conditions. In the other hand, potato isolates are more aggressive on their original host than on tomato. As in Europe, some lineages such as EU_13_A2 and EU_6_A1 are considered as potato specialists (Kröner *et al.*, 2017). Consequently, they do not adapt well to a substrate other than potato and lose their performance on another host plant (Michalska *et al.*, 2016).

According to our results, the Algerian EU_13_A2 lineage may also be considered as a specialist potato lineage. However, in southern India, this lineage causes serious outbreaks in potato and tomato fields (Chowdappa *et al.*, 2013, 2015). The population structure of *P. infestans* is different in each country and influenced by several factors such as environmental conditions: presence of potential host in the region, cultural practices and the

introduction of new lineages by infected seeds from other countries.

This research should be continued and extended to other host ranges of Solanaceae outside potato and tomato in Algeria. Indeed, it is important to monitor the evolution and adaptation of *P. infestans* populations on host plants to better control this potentially destructive pathogen by taking into account appropriate rotation and an effective fungicide treatment schedule.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the PoH-MED project, Potato Health – Managed for Efficiency and Durability, funded under the ARIMNet (Agricultural Research in the Mediterranean Area) ERA-Net (KBBE 219262) and the Ministry of higher education and scientific research of Algeria for allowing for awarding to S. Belkhitir a scholarship for her stay at (INRA, UMR IGEPP, and 35653 Le Rheu, France). The authors thank R. Mabon (INRA, UMR IGEPP, and 35653 Le Rheu, France) for isolates genotyping, R. Corbière (INRA, IGEPP) for providing advices and constructive discussions during experiments and D. Andrivon for his orientations.

REFERENCES

- Akhtar, K.P., M.Y. Saleem, M. Asghar, S. Ali, N. Sarwar and M.T. Elahi. 2012. Resistance of *Solanum* species to *Phytophthora infestans* evaluated in the detached-leaf and whole-plant assays. *Pakistan Journal of Botany*, 44:1141-1146.
- Beninal, L., R. Corbiere, A. Kedad, D. Andrivon and Z. Bouznad. 2009. A2 mating type, metalaxyl resistance and complex virulence profiles: common features in some *Phytophthora infestans* isolates from Algeria. PPO-Special Report no. 13.237.
- Blandón-Díaz, J.U., A.K. Widmark, A. Hannukkala, B. Andersson, N. Högberg and J.E. Yuen. 2012. Phenotypic Variation Within a Clonal Lineage of *Phytophthora infestans* Infecting both Tomato and Potato in Nicaragua. *Phytopathology*. 102:323-330.
- Chowdappa, P., N.B. Kumar, S. Madhura, M.S. Kumar, K.L. Myers, W.E. Fry, J.N. Squires and D.E. Cooke. 2013. Emergence of 13_A 2 Blue Lineage of *Phytophthora infestans* was Responsible for Severe Outbreaks of Late Blight on Tomato in South-West India. *Journal of Phytopathology*. 161:49-58.
- Chowdappa, P., B. Nirmal Kumar, S. Madhura, S. Mohan

- Kumar, K. Myers, W. Fry and D. Cooke. 2015. Severe outbreaks of late blight on potato and tomato in South India caused by recent changes in the *Phytophthora infestans* population. *Plant Pathology*. 64:191-199.
- Cooke, D.E.L., L.M. Cano, S. Raffaele, R.A. Bain, L.R. Cooke, G.J. Etherington, K.L. Deahl, R.A. Farrer, E.M. Gilroy, E.M. Goss, N.J. Grünwald, I. Hein, D. Maclean, J.W. McNicol, E. Randall, R.F. Oliva, M.A. Pel, D.S. Shaw, J.N. Squires, M.C. Taylor, V.G.a.A. Vleeshouwers, P.R.J. Birch, A.K. Lees and S. Kamoun. 2012. Genome Analyses of an Aggressive and Invasive Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *PLoS Pathogens*. 8:e1002940.
- Corbiere, R., L. Beninal, S. Belkhiter, R. Mabon, N. Mariette, D. Andrivon and Z. Bouznad. 2015. Do the Algerian *Phytophthora infestans* populations show genotypic structuration on potato and tomato? PPO-Special Report no. 17.155.
- Danies, G., I.M. Small, K. Myers, R. Childers and W.E. Fry. 2013. Phenotypic Characterization of Recent Clonal Lineages of *Phytophthora infestans* in the United States. *Plant Disease*. 97:873-881.
- Erselius, L., H. Hohl, M. Ordoñez, P. Oyarzun, F. Jarrin, A. Velasco, M. Ramon and G. Forbes. 1997. Genetic diversity among isolates of *Phytophthora infestans* from various hosts in Ecuador. Impact on a Changing World. Program Report. 1998:39-48.
- Faostat. 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Agricultural Statistics.
- Fry, W. 2008. *Phytophthora infestans* : the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*. 9:385-402.
- Kröner, A., R. Mabon, R. Corbière, J. Montarry and D. Andrivon. 2017. The coexistence of generalist and specialist clonal lineages in natural populations of the Irish Famine pathogen *Phytophthora infestans* explains local adaptation to potato and tomato. *Molecular Ecology*. 26:1891-1901.
- Maziero, J.M.N., L.A. Maffia and E.S.G. Mizubuti. 2009. Effects of Temperature on Events in the Infection Cycle of Two Clonal Lineages of *Phytophthora infestans* Causing Late Blight on Tomato and Potato in Brazil. *Plant Disease*. 93:459-466.
- Michalska, A.M., S. Sobkowiak, B. Flis and E. Zimnoch-Guzowska. 2015. Virulence and aggressiveness of *Phytophthora infestans* isolates collected in Poland from potato and tomato plants identified no strong specificity. *European Journal of Plant Pathology*. 144:325-336.
- Miranda, B.E.C.D., N.D. Suassuna and A. Reis. 2010. Mating type, mefenoxam sensitivity, and pathotype diversity in *Phytophthora infestans* isolates from tomato in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 45:671-679.
- Mizubuti, E.S.G. and W.E. Fry. 1998. Temperature Effects on Developmental Stages of Isolates from Three Clonal Lineages of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*. 88:837-843.
- Naveed, K., N.A. Rajputt, S.A. Khan and A. Ahmad. 2017. Population structure of *Phytophthora infestans* on worldwide scale: a review. *Pakistan Journal of Phytopathology*. 29:281.
- Nowicki, M., M.R. Foolad, M. Nowakowska and E.U. Kozik. 2012. Potato and Tomato Late Blight Caused by *Phytophthora infestans*: An Overview of Pathology and Resistance Breeding. *Plant Disease*. 96:4-17.
- Oyarzun, P.J., A. Pozo, M.E. Ordoñez, K. Doucett and G.A. Forbes. 1998. Host Specificity of *Phytophthora infestans* on Tomato and Potato in Ecuador. *Phytopathology*. 88:265-271.
- Reis, A., C.D. Smart, W.E. Fry, L.A. Maffia and E.S.G. Mizubuti. 2003. Characterization of Isolates of *Phytophthora infestans* from Southern and Southeastern Brazil from 1998 to 2000. *Plant Disease*. 87:896-900.
- Rekad, F.Z., D.E.L. Cooke, I. Puglisi, E. Randall, Y. Guenaoui, Z. Bouznad, M. Evoli, A. Pane, L. Schena, G. Magnano Di San Lio and S.O. Cacciola. 2017. Characterization of *Phytophthora infestans* populations in northwestern Algeria during 2008–2014. *Fungal Biology*. 121:467-477.
- Seidl Johnson, A.C. and A.J. Gevens. 2014. Investigating the Host Range of the US-22, US-23, and US-24 Clonal Lineages of *Phytophthora infestans* on Solanaceous Cultivated Plants and Weeds. *Plant Disease*. 98:754-760.
- Stroud, J.A., D.S. Shaw, M.D. Hale and K.A. Steele. 2015. SSR assessment of *Phytophthora infestans* populations on tomato and potato in British gardens demonstrates high diversity but no evidence for host specialization. *Plant Pathology*. 65:334-341.
- Suassuna, N.D., L.A. Maffia and E.S.G. Mizubuti. 2004. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. *Plant*

Pathology. 53:405-413.

Vega-Sanchez, M.E., L.J. Erselius, A.M. Rodriguez, O. Bastidas, H.R. Hohl, P.S. Ojiambo, J. Mukalazi, T. Vermeulen, W.E. Fry and G.A. Forbes. 2000. Host adaptation to potato and tomato within the US-1 clonal lineage of *Phytophthora infestans* in Uganda

and Kenya. Plant Pathology. 49:531-539.

Vleeshouwers, V.G.a.A., W. Van Dooijeweert, F. Govers, S. Kamoun and L.T. Colon. 2000. The hypersensitive response is associated with host and nonhost resistance to *Phytophthora infestans*. Planta. 210:853-864.

Contribution of Authors:

Sihem Belkhiter	:	Layout experiment
Lyes Beninal	:	Provide research facilities
Hassiba Khedidji	:	Researcher
Amira Krimi	:	Researcher
Zouaoui Bouznad	:	Supervisor of the whole research

In vitro Antifungal Activity of Different Plant Extracts against *Phytophthora infestans* the Causal Agent of Potato Late Blight

Saida Messgo-Moumene, Rym Boukhalfa, Djazia Belaïdi, Laboratoire de Recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques, Faculté des Sciences, de la Nature et de la Vie, Département des Biotechnologies, Université de Blida 1, BP. 270, Route de Soumaa, Ouled Yaich, 09100, Blida, Algeria, Lyes Beninal, Centre National de Certification de Plants et de Semences, Route Hacén Badi, El Harrach, Alger, Algeria, Siham Haddadj-Hamdi and Mohamed Bellatreche, Institut National de la Protection des Végétaux, Route Hacén Badi, El Harrach, Alger, Algeria

ABSTRACT

Messgo-Moumene, S., Boukhalfa, R., Belaïdi, D., Beninal, L., Haddadj-Hamdi, S., and Bellatreche, M. 2017. In vitro antifungal activity of different plant extracts against *Phytophthora infestans* the causal agent of potato late blight. *Tunisian Journal of Plant Protection* 12: 19-33.

Our study aimed to evaluate the in vitro antifungal activity of aqueous extracts prepared from seven medicinal plants (*Carya illinoensis*, *Equisetum arvense*, *Rosmarinus officinalis*, *Pistacia lentiscus*, *Mentha suaveolens*, *Punica granatum*, and *Posidonia oceanica*) against A₁ and A₂ isolates of *Phytophthora infestans* the causal agent of potato late blight. The crude (100%) plant extracts were prepared by decoction and tested at various concentrations (70, 50, 30 and 10% v/v) for determining their relative effectiveness against target pathogen. Their antifungal potential was assessed based on their ability to inhibit pathogen mycelial growth, sporulation, germination and their capacity to affect pathogen in vitro and in vivo survival after treatment. Tested aqueous extracts showed a variable efficiency. For all noted parameters, the greatest inhibition rates were recorded using aqueous extracts from *P. granatum* bark and from *P. lentiscus* leaves and berries (88%) used at the concentration of 10% v/v. Their antifungal potential was expressed by lysis of mycelia and sporangia as well as inhibition of *P. infestans* mycelial growth. Chemical analysis of phenolic compounds of tested aqueous extracts revealed a close relationship between their contents in total polyphenols and the observed antifungal activity. This study clearly demonstrated that pomegranate bark and leaves or berries mastic can be explored as potential sources of bioactive molecules for potato late blight control.

Keywords: Biocide effect, *Phytophthora infestans*, plant aqueous extracts, polyphenols, *Solanum tuberosum*

Late blight caused by the pseudo-fungus *Phytophthora infestans* is the most important disease of potato crops

Corresponding author: Saida Messgo-Moumene
Email: moumene_saida@yahoo.fr

Accepted for publication 22 March 2017

worldwide. It can become pandemic under low temperatures below 20°C and high relative humidity (over 90%). Under favorable conditions, total destruction of potato crops may occur within 5 days (Namanda et al. 2004).

Commercially grown potato cultivars are moderately or extremely

susceptible to disease. Thus, chemical control is still being the mostly used tool for late blight management (Fry and Goodwin 1997). However, the abusive use of metalaxyl, active ingredient in various systemic fungicides, has led to the development of highly resistant *P. infestans* strains, thus, rendering disease control more difficult and increasing crop production costs (Bashan et al. 1989; Daayf and Platt 2000; Daayf et al. 2000).

In response to public concerns about fungicide toxicity and health risks together with environmental pollution, the tendency to substitute these chemicals with naturally derived products was timely in plant protection. Thus, natural plant-derived products seem to be the most interesting alternatives.

In this concept, seven herbal aqueous extracts were evaluated in vitro against *P. infestans* to determine their antifungal potential against mycelial growth, sporulation and germination as well as pathogen survival after treatment, followed by chemical identification of polyphenols in the different tested plant extracts.

MATERIALS AND METHODS

Plant material.

Seven medicinal plants were selected for this study. Plant parts collected for extraction were randomly removed during autumn 2015, air-dried and stored in dark glass jars until use. For the study of the in vivo pathogen survival after treatments, healthy detached leaves of potato cv. Spunta were used.

Table 1. Plants selected for this study and their sampling sites

Tested plant	Code	Common name	Organ used	Sampling site
<i>Carya illinoensis</i>	CI	Pecan	Leaves	Regional station of the National Plant Protection of Boufarik city
<i>Equisetum arvense</i>	EA	Horsetail	leaves and stems	The experimental university station of Blida 1
<i>Rosmarinus officinalis</i>	RO	Rosemary	Leaves	The experimental university station of Blida 1
<i>Pistacia lentiscus</i>	PLL PLB	Mastic	Leaves and berries	The forest of Fouka marine city
<i>Mentha suaveolens</i>	MS	Fragrant Mint	Leaves	The fields in Kolea city
<i>Punica granatum</i>	PG	Pomegranate	Bark	The fields in Kolea city
<i>Posidonia oceanica</i>	PO	Posidonia	Leaves	The sea in Cherchell

Pathogen inoculum.

Two purified isolates of *P. infestans* were used. They were originally isolated from potato-producing areas at El Abbadia (Department of Ain Defla) and Bourkika (Department of Tipasa) sites. They were previously identified as belonging to A₁ and A₂ *P. infestans* mating types (Messgo-Moumene et al. 2015).

Preparation of plant aqueous extracts.

Plant aqueous extracts were prepared according to Kalbende and Dalal (2013) protocol with some modifications. A 100 g-sample of plant material powder was mixed with 1000 ml of sterile distilled water (SDW) and held on a rotary shaker for 12 h. The mixture was subsequently filtered through a double-layered tissue and then centrifuged at 4000 rpm for 30 min.

The supernatant was filtered through Whatman filter paper No. 1 and sterilized by autoclaving at 100°C for 10 min. The resulting crude plant aqueous extracts were separately stored aseptically at 4°C for later use.

Assessment of the in vitro antifungal activity of plant extracts against *P. infestans*.

Inhibition of pathogen mycelial growth. The in vitro antifungal activity of tested plant extracts was assessed based on Farooq and Nasreen (2015) technique. It consists of placing 2 ml of each crude (100%) extract in Petri plates (90 mm in diameter) to which 20 ml of molten (cooled at 48°C) Agar Pea medium (PPA) were added just before solidification. A series of dilutions (70, 50, 30 and 10% (v/v)) were prepared for each plant extract. Control plates were poured with PPA medium only.

After medium solidification, 5 mm of mycelial plugs, removed from 21-day-old cultures of either A1 or A2 *P. infestans* isolates, were deposited on medium surface. After 7 days of incubation at 20°C, the diameter of pathogen colony was measured. The antifungal activity of aqueous plant extracts was determined by calculating mycelial growth inhibition rates according to Mishra and Dubey (1992) formula:

$$I (\%) = \frac{(DT - Dt)}{DT} \times 100$$

where I: Inhibition rate of mycelial growth (%), DT: Diameter of pathogen colony in control plates (mm), and Dt: Diameter of pathogen colony grown on medium amended with tested aqueous extract (mm).

Inhibition of pathogen sporulation and germination. After 21 days of incubation at 20°C, 10 ml of SDW were poured onto each culture of pathogen isolates growing on PPA medium amended or not with different concentrations (the

same mentioned above) of the tested crude plant aqueous extracts. Colonies were scraped with a sterile Pasteur pipette and the obtained sporangial suspension was suspended in sterilized test tubes and stirred using a Vortex. The sporangial suspensions of A₁ and A₂ *P. infestans* isolates were used for the determination of the concentration of sporangia and germinating sporangia using a Malassez haemocytometer. The inhibition of sporulation was calculated based on Hmouni et al. (1996):

$$IS (\%) = \frac{(ST - St)}{ST} \times 100$$

where IS: Inhibition rate of pathogen sporulation (%), ST: Concentration of sporangia (Number of sporangia/ml) in control tubes, and St: Concentration of sporangia in treated tubes.

In addition, the inhibition rate of sporangia germination (IG) was calculated for each isolate using Berber et al. (2009) formula:

$$IG(\%) = \frac{(GT - Gt)}{GT} \times 100$$

where IG: Inhibition rate of sporangia germination (%), GT: Concentration of germinated sporangia in control tubes (number of germinated sporangia/ml), and Gt: Concentration of germinated sporangia in treated tubes.

Survival of *P. infestans* isolates after treatments. The survival of A₁ and A₂ *P. infestans* isolates grown on PPA medium amended or not with tested plant aqueous extracts was assessed in vitro on unamended PPA medium and in vivo on potato leaf discs.

The in vitro trial was carried out according to Mahanta et al. (2007) technique with slight modification. This method relies on the recovery or not of mycelial growth previously inhibited by the extract after re-inoculation of explants on

fresh PPA medium and incubation under the same conditions. The mycelial growth was followed daily during one week.

Trial performed on potato leaf discs was carried out according to Klarfeld et al. (2009) method. Potato leaves were cut into discs of 3 cm in diameter, washed with water, disinfected for 10 min in 2% sodium hypochlorite solution and then rinsed with SDW.

Sterile filter papers impregnated with SDW were placed in plastic boxes containing potato leaf discs. Explants of control isolates and those previously treated with crude aqueous plant extracts, at the tested concentrations, were added.

Leaf discs were regularly examined for disease development. Results were expressed as the rate of infected leaf areas. Inhibition rate of late blight infection was determined according to Berber et al. (2009) formula:

$$\text{Inf}(\%) = \frac{(\text{InfT} - \text{Inf}(t))}{\text{InfT}} \times 100$$

where Inf: Leaf infection rate (%), Inf T: Infection rate in control leaf discs (%), Inf (t): Infection rate in treated leaf discs (%).

Determination of total polyphenols in plant aqueous extracts.

The total polyphenol contents in plant aqueous extracts were determined using the Folin-Ciocalteu method (Singleton and Rossi 1965) where 200 µl of the 1/50 diluted extract were mixed with 1 ml of Folin-Ciocalteu reagent at 10% and 0.8 ml of Na₂CO₃ at 7.5%. The mix was incubated at room temperature for 30 min. Absorbance was read at 765 nm using a spectrophotometer. The results were expressed in mg equivalent of gallic acid/µg of dry plant material.

Statistical analysis.

In order to validate the eventual efficiency of plant aqueous extracts against *P. infestans* isolates and to compare their antifungal activity based on the various pathogen biological parameters, statistical analysis were carried out using the SYSTAT software Version. The differences were considered significant at $P \leq 0.05$ (Philippeau 1989).

Analysis of the variance was carried out by the ANOVA test. It concerned the inhibition rates of mycelial growth, sporulation and germination of *P. infestans* at five replicates for each parameter.

The total polyphenol contents of each of the tested crude aqueous plant extracts (100%) were also analyzed by the ANOVA test at three replicates.

RESULTS

Effects of plant aqueous extracts on mycelial growth of *P. infestans* isolates.

The inhibition of *P. infestans* mycelial growth varied significantly (at $P \leq 0.05$) depending on the crude (100%) tested plant aqueous extracts, targeted pathogen isolates (A₁ and A₂) and their interactions. Meanwhile, mycelial growth inhibition rates were higher for A₂ *P. infestans* isolate (90-72%) than for A₁ mating type (90-25%) for all plant extracts excepting those from posidonia (5-15%). The inhibition was more important using mastic leaf and berry extracts, pomegranate bark (90%) for the two isolates and pecan leaf extracts (90%) just for A₂ isolate, good for horsetail (80%), fragrant mint (75%) and rosemary plant extracts, concerning A₂ isolate, but moderate for the common fragrant mint (53%) concerning the A₁ isolate and remained low for all the other plant extracts (Fig. 1).

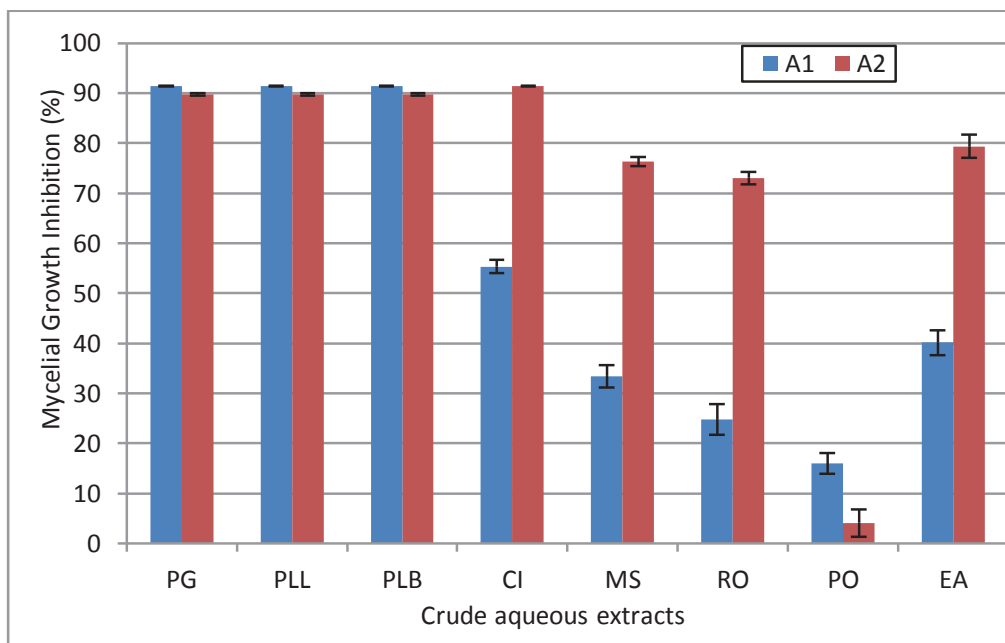


Fig. 1. Effect of tested plant aqueous extracts on the mycelial growth of *Phytophthora infestans* isolates cultured on Agar Pea Medium noted after 7 days of incubation at 20°C. Bar segments mean standard deviation. CI: *Carya illinoensis*; EA: *Equisetum arvense*; RO: *Rosmarinus officinalis*; PL: *Pistacia lentiscus* (PLL: leaves & PLB: berries); MS: *Mentha suaveolens*; PG: *Punica granatum*; PO: *Posidonia oceanica*.

The three effective aqueous extracts of pomegranate bark, mastic leaves and berries showed variability in their potential to inhibit the mycelial growth of each A1 and A2 *P. infestans* isolates depending on used concentrations. All plant extracts tested at different concentrations induced a strong inhibition of the mycelial growth of the A2 isolate. It seems to be maximal for both *P. infestans* isolates at the following concentrations: 100, 70, 50 and 30% share for A1 isolate for pomegranate bark (75%). The analysis of variance revealed a significant difference ($P \leq 0.05$) between the two isolates of *P. infestans* with respect to the aqueous extracts of the pomegranate

bark and the mastic leaves (PLL), but not significant for the mastic berries (PLB, $P = 0.082$).

A strong pathogen inhibition (90-82%) was induced by extracts applied at 100, 70, 50 and 30% for A2 isolate but just for the third first concentrations for A1 isolate. It should be highlighted that the inhibition rates recorded at the lowest concentration (10%) of all tested plant extracts exceeded 60% for isolate A2 and 70% for A1 isolate. Thus, these plant aqueous extracts can be recommended for the important reduction (90%) of pathogen growth at the inhibitory concentration of 30% (Fig. 2).

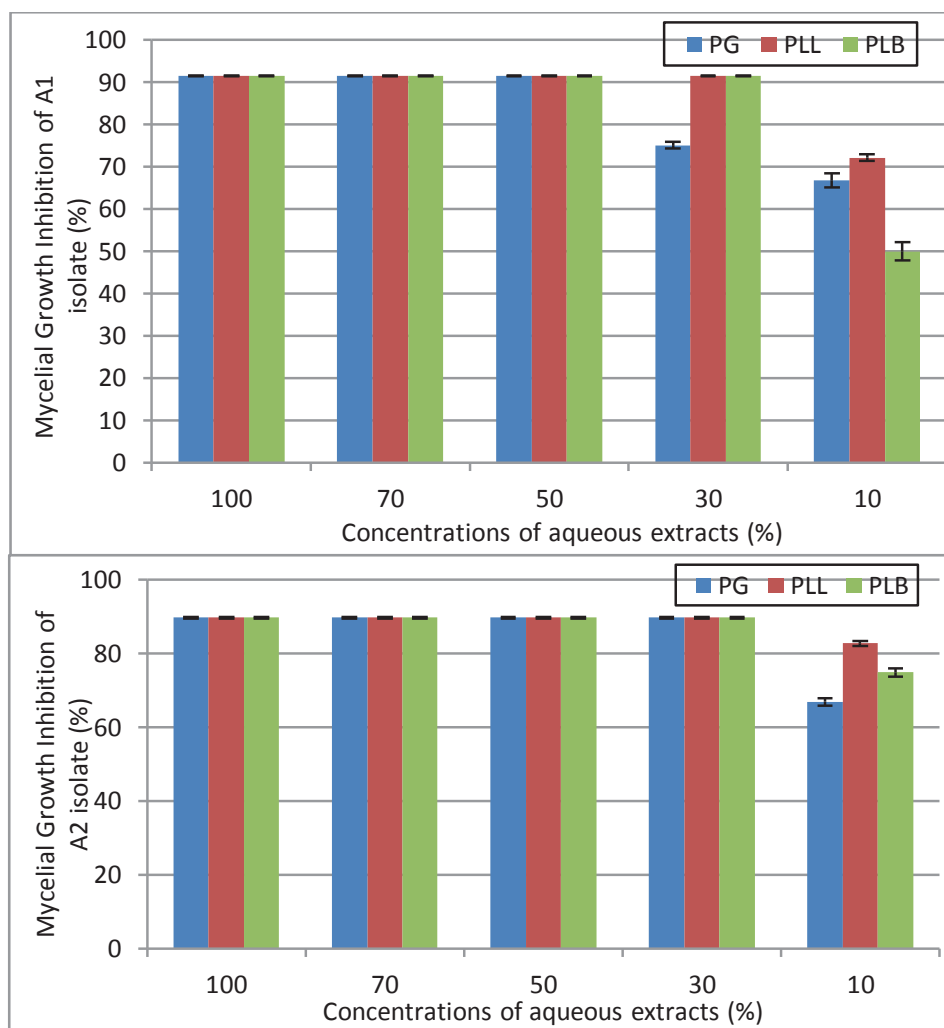


Fig. 2. Effect of three tested plant aqueous extracts at five concentrations on the mycelial growth of A1 (above) and A2 (below) *Phytophthora infestans* isolates cultured on Agar Pea Medium noted after 7 days of incubation at 20°C. Bar segments mean standard deviation. PG: *Punica granatum*; PLL: *Pistacia lentiscus* leaves; PLB : *Pistacia lentiscus* berries.

Effects of plant aqueous extracts on sporulation and germination of *P. infestans* isolates.

Analysis of the variance of sporulation and germination inhibition rates showed a significant difference ($P \leq 0.05$) between the extracts of tested plants but not significant between A1 and A2 of *P. infestans* isolates ($P = 0.976$ and $P = 0.392$ for the sporulation and germination trials, respectively).

Inhibition of *P. infestans* sporulation induced by tested extracts ranged between 15 and 100%. In fact, leaf (100%) and berry mastic (98%), pomegranate bark

(100%) and pecan (80-95%) extracts triggered high levels of inhibition of pathogen sporulation whereas this effect appeared to be moderate using horsetail (58%) aqueous extract and remained low for the other tested plant extracts (Fig. 3). Moreover, all the tested extracts had inhibited the germination of *P. infestans* sporangia. The highest inhibition rates were recorded using extracts from mastic (berries and leaves) (100-94%), pomegranate bark (100%), pecan leaves (78-95%) but they were moderate for common horsetail leaves (55%) and low for the other plant extracts (Fig. 3).

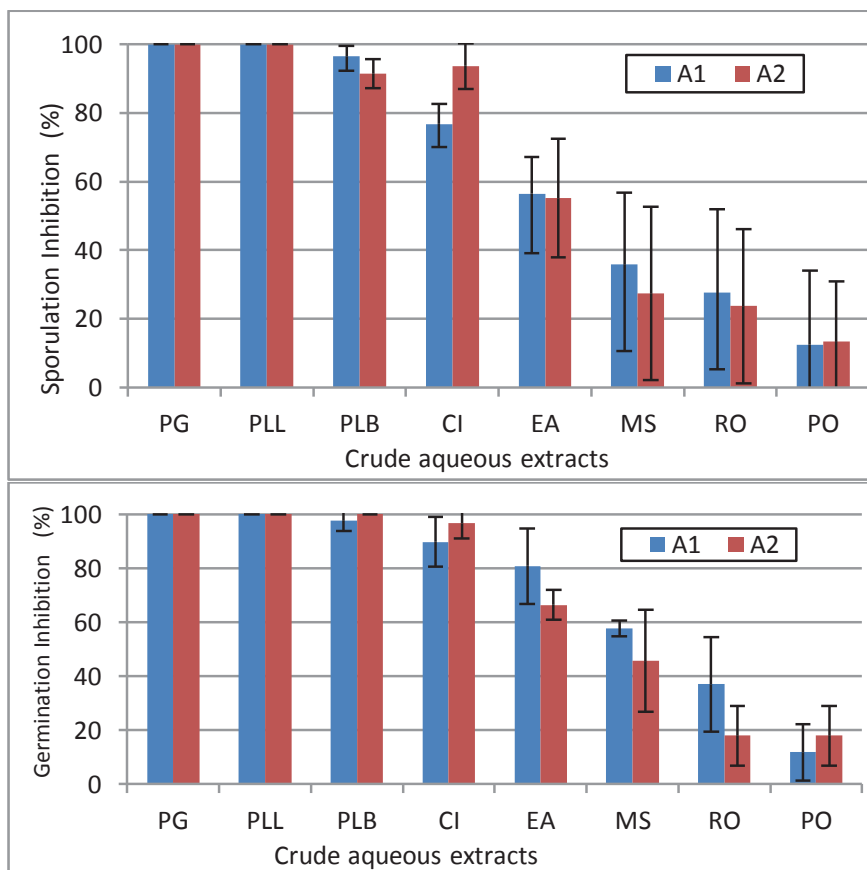


Fig. 3. Inhibition of sporulation (above) and germination (below) of A1 and A2 isolates of *Phytophthora infestans*, noted after 21 days of incubation 20°C on Agar Pea Medium, depending on plant aqueous extracts. Bar segments mean standard deviation. CI: *Carya illinoensis*; EA: *Equisetum arvense*; RO: *Rosmarinus officinalis*; PL: *Pistacia lentiscus* (PLL: leaves & PLB: berries); MS: *Mentha suaveolens*; PG: *Punica granatum*; PO: *Posidonia oceanica*.

Survival of *P. infestans* isolates following treatments using plant aqueous extracts.

Analysis of the variance of inhibition rates of mycelial growth and infection of potato leaf discs of *P. infestans* isolates previously inhibited in vitro by the tested aqueous extracts showed a significant difference ($P \leq 0.05$) between the extracts of plants but not in vitro and in vivo significant difference ($P = 0.687$ and $P = 0.987$) between A1 and A2 *P. infestans* isolates, respectively.

Inhibition of mycelial growth of *P. infestans* isolates previously inhibited by crude (100%) plant aqueous extracts, noted after one week of incubation at 20°C, varied depending on tested plant extracts (60-91%). In fact, very high levels of inhibition were observed using pomegranate bark extracts, mastic leaves and berries as well as for pecan (91%) (Fig. 4). This confirms their high fungicidal potential recorded in vitro.

Furthermore, all tested aqueous plant extracts had inhibited disease

development on potato leaf discs. A total suppression of disease expression (100%) was recorded after one week of the incubation using extracts from mastic (berries and leaves), pomegranate bark and pecan leaves. Also, the rate of infected leaf

areas was more than 40% using treatments based on common horsetail (70%), fragrant mint (50-67%) and rosemary (45-50%) extracts compared to 20% noted on leaf discs treated with *Posidonia* aqueous extracts (Fig. 4).

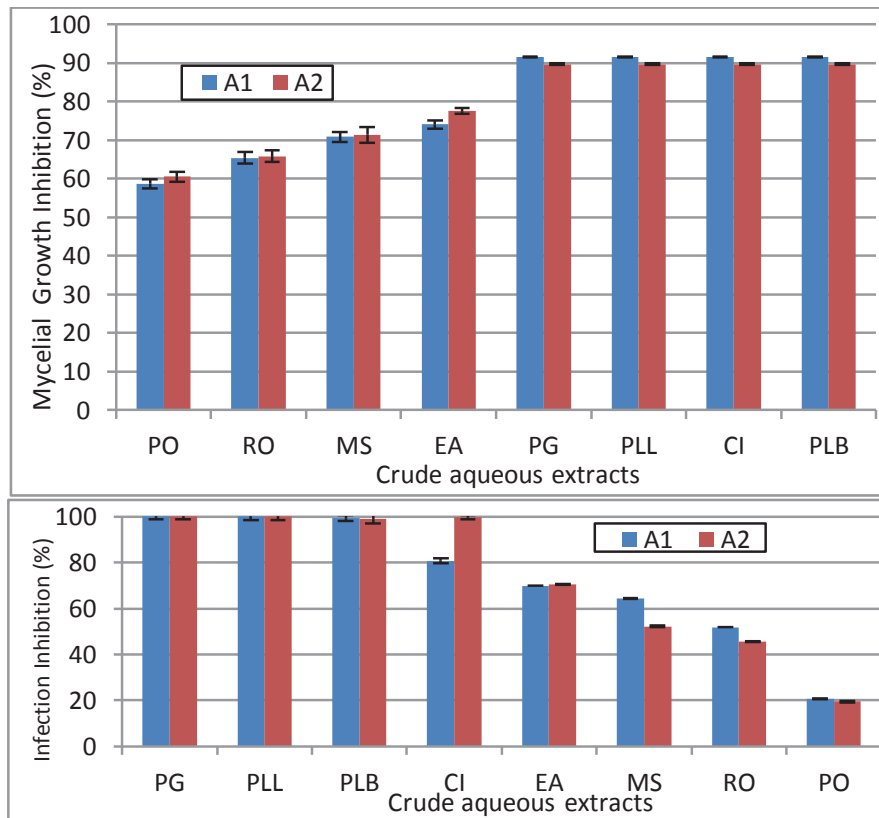


Fig. 4. In vitro (above) and in vivo (below) inhibition of survival of A1 and A2 isolates of *Phytophthora infestans* previously inhibited by plant aqueous extracts noted after 7 days of incubation at 20°C. Bar segments mean standard deviation. CI: *Carya illinoensis*; EA: *Equisetum arvense*; RO: *Rosmarinus officinalis*; PL: *Pistacia lentiscus* (PLL: leaves & PLB: berries); MS: *Mentha suaveolens*; PG: *Punica granatum*; PO: *Posidonia oceanica*.

Content of total polyphenols from aqueous plant extracts.

The total polyphenol contents of plant extracts varied significantly ($P \leq 0.05$) depending on tested plants. The

highest levels were found in extracts from pomegranate bark (344 µg/ml) and mastic leaves (126 µg/ml) and mastic berries (98 µg/ml). However, they were detected in lower levels in the other plants (Fig. 5).

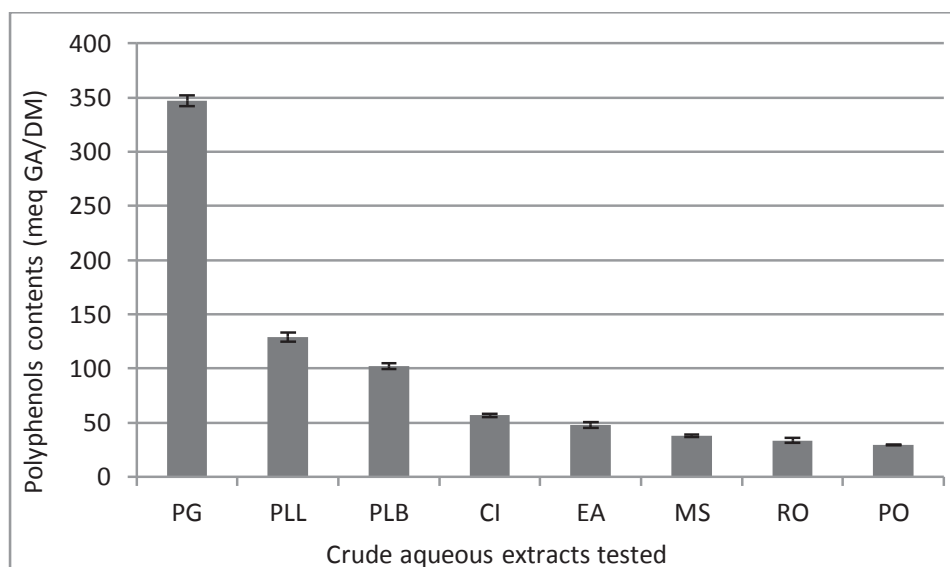


Fig. 5. Total polyphenol contents detected in tested plant aqueous extracts against *Phytophthora infestans*. Bar segments mean standard deviation. GA: Gallic acid; DM: dry material; CI: *Carya illinoensis*; EA: *Equisetum arvense*; RO: *Rosmarinus officinalis*; PL: *Pistacia lentiscus* (PLL: leaves & PLB: berries); MS: *Mentha suaveolens*; PG: *Punica granatum*; PO: *Posidonia oceanica*.

DISCUSSION

One of the major originalities of plants is their ability to produce highly diversified natural substances. They frequently accumulate these secondary metabolites which represent an important source of bioactive molecules (Haddouchi and Benmansour 2008) intensively examined and used in plant protection (Daferera et al. 2000). Some plant extracts (Davidson and Naidu 2000) and essential oils (Kurita et al. 1981) showed activity against a wide range of plant pathogenic fungi.

In the present study, aqueous extracts from pomegranate bark, pecan leaves and mastic leaves and berries have shown an excellent inhibitory effect but low antifungal potential was noted for the fragrant mint, rosemary and common horsetail leaves and very low for Posidonia ones. Our results are in agreement with those of many authors reporting the efficiency of some plant extracts in the control of potato late blight (Bekele et al.

2006; Maharjan et al. 2010; Yanar et al. 2011).

The inhibitory effect of extracts from *P. granatum* bark against the mycelial growth of other plant pathogenic fungi has been already reported by Shuhua et al. (2010). Their results have shown the efficiency of methanolic and aqueous extracts against *Penicillium digitatum*. These extracts may contain active antifungal compounds such as punicalagine, castagalagine, granatine, catechin, gallocatechin, kaempferol, and quercetin (Jayaprakasha et al. 2006). The synergistic interactions of these compounds could increase their antifungal activity. Indeed, the punicalagine isolated from the pomegranate bark displayed an antimicrobial activity against *Candida albicans* (De et al. 1999). Pomegranate bark extract showed antifungal activity against *Penicillium citrinum*, *P. patulum*, *P. roquefortii* and *Aspergillus ochraceus*.

Moreover, the high frequency of use of *P. lentiscus* leaves may be explained by the fact that they are rich in secondary

metabolites responsible for its interesting biological properties (Bigendako-Polygenis and Lejoly 1990). Several studies have reported significant antibacterial and antifungal activities in this plant (Gardeli et al. 2008; Kordali et al. 2003). However, antifungal activity seems to be much more interesting (Iauk et al. 1996). Its efficiency lies much more in the synergistic effect of some of its active compounds (Derwich et al. 2008). Studies on the effect of *P. lentiscus* extracts on plant pathogens are limited. Kordali et al. (2003) showed the inhibitory effect of crude extracts from *P. vera*, *P. terebinthus*, and *P. lentiscus* against the mycelial growth of *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* but these extracts did not inhibit *Fusarium sambucinum*.

Pecan leaf extract was extensively tested against several phytopathogenic agents. In fact, Osorio et al. (2009) confirmed the high antifungal potential of its acetonic extracts against *R. solani*. Goussous et al. (2010) also demonstrated the important in vitro inhibitory effect of crude extracts from *Rosmarinus officinalis* against *Alternaria solani* when applied at various concentrations. Also, Yanar et al. (2011) and Dellavalle et al. (2011) observed complete inhibition of mycelial growth of *P. infestans* and *Alternaria* spp. Its antibacterial and antifungal capacities can be explained by the chemical composition of its extracts as demonstrated by Pinto et al. (2006). Indeed, the same effect was noted with extracts from *P. oceanica* against *Fusarium* spp. (Kouki et al. 2012) and those from *Carya illinoensis* toward *R. solani* (Hernández-Castillo et al. 2010).

The different aqueous herbal extracts exhibited low antifungal activity for the respective dilutions compared to the crude extracts. These results are in agreement with those of Banso et al. (1999) claiming that high concentrations of

antimicrobial substances induce greater inhibition. In addition, our results showed that all tested plant extracts, even at the lowest tested concentration (10%), had efficiently inhibited *P. infestans* sporulation and germination. These inhibition rates recorded have generally exceeded 84% and even reached 100% using aqueous extracts of mastic, pecan and pomegranate bark. These are consistent with the work of Itako et al. (2008) and Goussous et al. (2010) who noted a complete inhibition of sporulation and germination of *A. solani* conidia following treatments with *R. officinalis* extracts. Blaeser and Steiner (1998) have also shown that extracts from different plants had also prevented germination and affected the outflow and mobility of *P. infestans* zoospores. Indeed, the inhibitory effect of the aqueous extracts of the tested plants is in agreement with the work of Omidbeygi et al. (2007) suggesting that the components of essential oils and plant extracts are able to cross the cell membrane of fungal pathogens and interact with their enzymes and proteins. It is the production of a proton flux at the external cell part which induces cellular changes and finally the death of targeted microorganisms.

Sharma and Tripathi (2006) demonstrated the antifungal activity of compounds of essential oils and plant extracts on hyphae, leading to the release of cytoplasmic inclusions, loss of rigidity and integrity of the cell wall, culminating at the end to the destruction and the death of the fungus. Concerning the survival of *P. infestans* isolates after in vitro or in vivo treatments, all the tested aqueous plant extracts showed a fungistatic effect at low concentrations and a fungicidal effect with the increase of extract concentrations. However, plant aqueous extracts prepared from the pomegranate bark, aerial parts of mastic and pecan have prevented the resumption of growth of *P. infestans*

isolates and completely inhibited the development of late blight symptoms on potato leaf discs. In the same way, Blaeser and Steiner (1998) demonstrated the reduction of the severity of disease using plant extracts.

The inhibitory capacity of tested aqueous plant extracts on both isolates of *P. infestans* can be supported by findings of Burt (2004), Lahlou (2004) and Davicino et al. (2007) who affirmed that the biological activity of a plant extract is related to its chemical composition, the functional groups of its major compounds, their synergistic effect and their proportions. In this concept, the total polyphenol contents detected in each plant extract could be related to its recorded antifungal activity. Pomegranate bark aqueous extracts, mastic leaves and berries and pecan leaves contain high levels of polyphenols, in contrast to rosemary, common horsetail, posidonia and fragrant mint aqueous extracts. Also, Prasad and Kapoor (2004) found that the quantity and quality of these active ingredients depend on plant, plant tissues and several exogenous factors (Demo and Oliva 2008; Webster et al. 2008). Several authors have also asserted that antifungal broad-spectrum chemical compounds belong mainly to these three major families: phenylpropanoids and phenolic substances (Cakir et al. 2004; Chuang et al. 2007), terpenoids and steroids (Grande et al. 1992), alkaloids and nitrogen compounds. In this sense, several studies have shown that plant extracts rich in phenol groups displayed high inhibitory activity toward fungal sporulation (Inouye et al. 1998).

In conclusion, this study demonstrated the antifungal activities of plant aqueous extracts of seven medicinal plants as part of research for identification of new biological control methods for potato late blight control. All tested aqueous extracts showed variability in their mycelial growth inhibitory activity of the two isolates A₁ and A₂ of *P. infestans*. The inhibition was very important (88%) even at the concentration of 10% using extracts from pomegranate bark and from *P. lentiscus* leaves and berries, and from *C. illinoensis* (74%). A moderate activity was displayed by *E. arvense* (58%), *M. suaveolens* (51%) and *R. officinalis* (45%) compared to the weak inhibitory effect (9%) expressed by *P. oceanica* extracts.

Sporulation and germination of the two *P. infestans* isolates were also affected by all treatments with plant aqueous extracts. Significant levels of inhibition were recorded using extracts from mastic leaves and berries (99%), pomegranate bark (99%) and pecan leaves (85%).

The fungicidal effect of plant extracts was also confirmed *in vitro* and *in vivo*, respectively, by the lack of resumption of mycelial growth and the lack of development of symptoms of late blight on potato leaf discs. Furthermore, the determination of the phenolic compounds of the crude plant aqueous extracts was strongly linked to their fungicidal potential. In this context, pomegranate bark, mastic leaves and berries as well as pecan leaves aqueous extracts should be tested under field conditions with different sprays for their effects against *P. infestans* inoculum and consequently late blight incidence and severity.

RESUME

Messgo-Moumene S., Boukhalfa R., Belaïdi D., Beninal I, Haddadj-Hamdi S. et Bellatreche M. 2017. Activité antifongique *in vitro* de différents extraits de plantes contre *Phytophthora infestans*, l'agent causal du mildiou de la pomme de terre. Tunisian Journal of Plant Protection 12: 19-33.

Notre étude a visé l'évaluation de l'activité antifongique *in vitro* des extraits aqueux préparés à partir de sept plantes médicinales (*Carya illinoensis*, *Equisetum arvense*, *Rosmarinus officinalis*, *Pistacia lentiscus*, *Mentha suaveolens*, *Punica granatum* et *Posidonia oceanica*) contre les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*, agent causal du mildiou de la pomme de terre. Les extraits aqueux bruts (100%) de plantes ont été préparés par décoction et aux concentrations de 70, 50, 30 et 10%, pour les extraits les plus efficaces. Leur potentiel antifongique a été évalué *in vitro* et *in vivo* après traitement, en se basant sur l'inhibition de la croissance mycélienne, de la sporulation, de la germination et de la survie des isolats pathogènes de *P. infestans*. Les extraits aqueux des plantes testés ont montré une efficacité variable. Les taux d'inhibition les plus élevés ont été enregistrés pour l'ensemble des paramètres en utilisant des extraits aqueux préparés d'écorce de *P. granatum* et de feuilles et de baies de *P. lentiscus* (88%), à la concentration de 10%. Leur potentiel antifongique a été exprimé par la lyse mycélienne et la digestion du contenu des sporanges ainsi que par l'inhibition de la croissance mycélienne de *P. infestans*. L'analyse des composés phénoliques des extraits aqueux des plantes testés a révélé une relation étroite entre le contenu des polyphénols totaux et l'activité antifongique observée. Cette étude a clairement démontré que l'écorce de grenade, les feuilles et/ou les baies du pistachier lentisque peuvent être exploités comme sources potentielles de molécules bioactives pour la lutte contre le mildiou de la pomme de terre.

Mots clés: Effet biocide, extraits aqueux végétaux, *Phytophthora infestans*, polyphénols, *Solanum tuberosum*

ملخص

مسقومون، سعيده وريم بوخالفة وجازية بلعدي و الياس بنينال وسهام حمدي حداج ومحمد بلطرش. 2017. النشاط المضاد للفطريات في المخبر لعدة مستخلصات نباتية ضد شبه الفطر *Phytophthora infestans* العامل المسبب لمرض اللفحة المتأخرة على البطاطا/البطاطس. **Tunisian Journal of Plant Protection 12: 19-33.**

هدفت دراستنا إلى تقييم النشاط المضاد في المختبر للمستخلصات المائية التي أعدت من سبعة أعشاب طبية هي *Carya illinoensis* و *Equisetum arvense* و *Rosmarinus officinalis* و *Posidonia oceanica* و *Mentha suaveolens* و *Punica granatum* و *Posidonia oceanica* ضد العزلات (A1 / A2) لشبه الفطر *Phytophthora infestans* العامل المسبب لمرض اللفحة المتأخرة على البطاطا. تم إعداد المستخلصات النباتية الخامة (100%) بواسطة الاستخلاص بالإغلاء وبالتركيزات 70 و 50 و 30 و 10% بالنسبة إلى المستخلصات الأكثر فعالية. تم تقييم النشاط المضاد للفطريات في التجارب البلورية والإحيائية بعد المعاملة، على أساس تثبيت نمو شبه الفطر وتبوغه وإنباته وبقاء السلالات الممرضة لـ *P. infestans*. أظهرت المستخلصات المائية للنباتات المجربة فعالية متفاوتة. سجلت أعلى نسبة تثبيط لمجموعة من المعلمات باستخدام المستخلصات المائية المحضرة من لحاء *P. granatum* و من أوراق وثمره *P. lentiscus* (88%) بالنسبة إلى تركيز 10%. بينت القدرة المضادة للفطريات عن طريق تدمير مشائج شبه الفطر والأبواغ وعن طريق تثبيط نمو *P. infestans*. أظهر تحليل المركبات الفينولية في المستخلصات المائية للنباتات المختبرة علاقة وثيقة بين المحتوى الإجمالي للبوليفينولات والنشاط المضاد للفطريات. وأظهرت هذه الدراسة بوضوح أن لحاء *P. granatum* وأوراق و/أو ثمار *P. lentiscus* يمكن استغلالها كمصادر محتملة للجزيئات النشطة بيولوجيا لمكافحة مرض اللفحة المتأخرة للبطاطا.

كلمات مفتاحية: بوليفينولات، مستخلصات نباتية مائية، نشاط ضد حيوي، *Phytophthora infestans*، *Solanum tuberosum*

LITERATURE CITED

- Banso, A., Adeyemo, S.O., and Jeremiah, P. 1999. Antimicrobial properties of *Vernonia amygdalina* extract. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 3: 9-11.
- Bashan, B., Kadish, D., Levy, Y., and Cohen, Y. 1989. Infectivity to potato sporangial germination, and respiration of isolates of *Phytophthora infestans* from metalaxyl-sensitive

- and metalaxyl-resistant populations. *Phytopathology* 79: 832-836.
- Bekele, K., Kasetsart, J., and Tharmmasak, S. 2006. Effect of intercropping on potato late blight *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary development and potato tuber yield in Ethiopia. *Kasetsart Journal (Natural Science)* 40: 914-924.
- Berber, F., Ouazzani, T.M., Badoc, A., and Douira, A. 2009. Antagonisme *in vivo* de deux isolats de *Trichoderma* à l'égard de quatre espèces de *Bipolaris* pathogènes sur le sorgho. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux* 148: 93-114.
- Bigendako-Polygenis, M.J., and Lejoly, J. 1990. La Pharmacopée Traditionnelle Au Burundi. Pages 425-442 In: *Pesticides et médicaments en santé animale*. M. Ansay and G. Thill. Presses Univ. Namur, Belgique.
- Blaeser, P., and Steiner, U. 1998. Antifungal activity of plant extracts against potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*. Pages 491- 499. In: *Proceedings of the 11-12th International Reinhardtsbrunn Symposium*, May 24-29, 1998, Friedrichrode, Germany.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223-253.
- Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., and Hirata, T. 2004. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flavour and Fragrance Journal* 19: 62-68.
- Chuang, H., Cheng, Y., Wu, C., Chang, S., Chang, T., and Su, Y. 2007. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *fomiosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresource Technology* 99: 6266-6270.
- Daayf, F., and Platt, H.W. 2000. Changes in metalaxyl resistance among glucose phosphate isomerase genotypes of *Phytophthora infestans* in Canada during 1997-1998. *American Journal of Potato Research* 77: 311-318.
- Daayf, F., Platt, H.W., and Peters, R.D. 2000. Changes in mating types, resistance to metalaxyl, and Gpi-allozyme genotypes of *Phytophthora infestans* in Canadian provinces from 1996 to 1998. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22: 110-116.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N., and Polissiou, M.G. 2000. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 48: 2576-2581.
- Davicino, R., Mattar, M.A., Casali, Y.A., Graciela, S., Margarita, E., and Micalizzi, B. 2007. Antifungal activity of plant extracts used in folk medicine in Argentina. *Revista Peruana de Biología* 14: 247-251.
- Davidson, P.M., and Naidu, A.S. 2000. Phyto-phenols. Pages 265-294 in: *Natural food antimicrobial systems*. A.S. Naidu, Ed. CRC Press, Boca Raton.
- De, M.A., Krishna, D.E., and Banerjee, A.B. 1999. Antimicrobial screening of some Indian spices. *Phytotherapy Research* 13: 616-618.
- Dellavalle, P.D., Cabrera, A., Alem, D., Larrañaga, P., Ferreira, F., and Rizza, M.D. 2011. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71: 231-239.
- Demo, M.S., and Oliva, M. 2008. Antimicrobial activity of medicinal plants from South America. Pages 152-164 in: *Botanical medicine in clinical practice*. R.R. Watson, and V.R. Preedy, Ed. CABI International, Wallingford, UK.
- Derwich, E., Manar, A., Benziane, Z., and Boukir, A. 2010. GC/MS Analysis and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil isolated from leaf of *Pistacia lentiscus* growing in Morocco. *World Applied Sciences Journal* 8: 1267-1276.
- Farooq, M., and Nasreen, S. 2015. Evaluation of botanicals *in vitro* against *Fusarium oxysporum* causing Fusarium Rot of *Pleurotus* spp. *Caribbean Journal of Science and Technology* 3: 731-738.
- Fry, W.E., and Goodwin, S.B. 1997. Resurgence of the Irish potato famine fungus. *Journal of Bioscience* 47: 363-371.
- Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, M., and Komaitis, M. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107: 1120-1130.
- Grande, M., Torres, P., Piera, E., and Bellido, I.S. 1992. Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochemistry* 31: 1826-1828.
- Goussous, S.J., Abu-El-Samen, F.M., and Tahhan, R.A. 2010. Inhibitory effects of rosemary and sage extracts on mycelia growth and sclerotial formation and germination of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 46: 1745-1757.
- Haddouchi, F., and Benmansour, A. 2008. Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les Technologies de Laboratoire* 3: 20-27.
- Hernández-Castillo, F.D., Castillo, R.F., Gallegos, M.G., Rodríguez, H.R., and Aguilar, G.C.N. 2010. *Lippia graveolens* and *Carya illinoensis* organic extracts and their *in vitro* effect against *Rhizoctonia solani* Kuhn. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 5: 380-384.
- Hmouni, A., Hajlaoui M.R., and Mlaiki, A. 1996. Résistance de *Botrytis cinerea* aux

- benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. EPPO Bulletin 26: 697-705.
- Iauk, L., Ragusa, S., Rapisarda, A., Franco, S., and Nicolosi, V.M. 1996. *In vitro* antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts: Preliminary report. Journal of Chemotherapy 8: 207-209.
- Inouye, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., Takeo, K., Akao, M., and Yamagushi, H. 1998. Anti-sporulation and respiration inhibitory effect of essential oils on filamentous fungi-Mycoses. Mycoses 41: 403-410.
- Itako, A.T., Schwan-Estrada, K.R.F., Júnior, J.B.T., Stangarlin, J.R., and Cruz, M.E.S. 2008. L'activité antifongique et la protection des plants de tomates par des extraits de plantes médicinales. Tropical Plant Pathology 33: 241-244.
- Jayaprakasha, G.K., Negi, P.S., and Jena, B.S. 2006. Antimicrobial activities of pomegranate. Pages 167-183 In: Pomegranates: Ancient roots to modern medicine. N.P. Seeram, R.N. Schulmann, and D. Heber. Ed. CRC Press. Boca Raton, FL, USA.
- Kalbende, S., and Dalal, L. 2013. Antifungal activity of aqueous plant extracts against some book deteriorated fungi. International Journal of Engineering Science and Innovative Technology 2: 136-139.
- Klarfeld, S., Rubin, A.E., and Cohen, Y. 2009. Pathogenic fitness of oosporic progeny isolates of *Phytophthora infestans* on late-blight-resistant tomato lines. Plant Disease 93: 947-953.
- Kordali, S., Cakir, A., Zengin, H., and Duru, M.E. 2003. Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. Fitoterapia 74: 164-167.
- Kouki, S., Saidi, N., Ben Rejeb, A., Brahmi, M., Bellila, A., Khiari, L., Fumio, M., Hassen, A., Jedidi, N., Downer, J., and Ouzari, H. 2012. Control of Fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* using mixture of vegetable and *Posidonia oceanica* compost. Applied and Environmental Soil Science 2012. Article ID 239639, 11 pp. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/239639>.
- Kurita, N., Makoto, M., Kurane, R., and Takahara, Y. 1981. Antifungal activity of components of essential oils. Agricultural and Biological Chemistry 45: 945-952.
- Lahlou, M. 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research 18: 435-448.
- Mahanta, J.J., Chugiak, M., Bordoi, M., Adhikary, R.K., Pathak, M.G., and Sharma, T.C. 2007. *Cymbopogon citratus* L. essential oil as a potential antifungal agent against key weed moulds of *Pleurotus* spp. Spawns. Flavour and Fragrance Journal 22: 525-530.
- Maharjan, B.L., Shrestha, K., and Basnyat, S. 2010. Botanical control of late blight of potato. Nepal Journal of Science and Technology 11: 37-40.
- Mishra, A.K., and Dubey, N.K. 1992. Evolution of some essential oil for their toxicity against fungi causing stored deterioration of food commodities. Applied and Environmental Microbiology 60: 1101-1105.
- Messgo-Moumene, S. Li, Y., Bachir, K., Houmani, Z., Bouznad, Z., and Chemat, F. 2015. Antifungal power of *Citrus* essential oils against potato late blight causative agent. Journal of Essential Oil Research 27: 169-176.
- Namanda, S., Olanya, O.M., Adipala, E., Hakiza, J.J., Elbedewy, R., Baghsari, A.S., and Ewell, P. 2004. Fungicide application and host-resistance for potato late blight management: Benefits assessment from on-farm studies in S.W. Uganda. Crop Protection 23: 1075-1083.
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., and Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control 18: 1518-1523.
- Osorio, E., Flores, M., Hernandez, D., Ventura, J., and Rodriguez, R. 2009. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts shell (*Carya illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentate* Cov.) against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Product 31: 153-157.
- Philipeau, G. 1989. How to interpret the results of a principal component analysis. Technical Institute of Cereal and Feeds (ITCF), Paris, France. 63 pp.
- Pinto, E., Vaz, C.P., Salgueiro, L., Goncalves, M.J., and Costa-de-Oliveira, S.C. 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. Journal of Medical Microbiology 55: 1367-1373.
- Prasad, R., and Kapoor, K. 2004. Multidrug resistance in yeast *Candida*. International Review of Cytology 242: 215-248.
- Sharma, N., and Tripathi, A. 2006. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogen. World Journal of Microbiology and Biotechnology 22: 587-593.
- Shuhua, Q., Hongyum, J., Yanning, Z., and Weizhi, H.E. 2010. Inhibitory effects of *Punica granatum* peel extracts on *Botrytis cinerea*. Journal of Plant Diseases and Protection 36: 148-150.
- Singleton, V.L., and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-153.
- Webster, D., Taschereau, P., Belland, R.J., Sand, C., and Rennie, R.P. 2008. Antifungal activity of medicinal plant extracts; preliminary screening

studies. Journal of Ethnopharmacology 115: 140-146.
Yanar, Y., Kadiođlu, I., Gökçe, A., Demirtaş, I., Gören, N., Çam, H., and Whalon, M. 2011. In

vitro antifungal activities of 26 plant extracts on mycelial growth of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. African Journal of Biotechnology 10: 2625-2629.

Do the Algerian *Phytophthora infestans* populations show genotypic structuration on potato and tomato?

ROSELYNE CORBIERE¹, LYES BENINAL², SIHEM BELKHITER³, ROMAIN MABON¹, NICOLAS MARIETTE¹, DIDIER ANDRIVON¹ & ZOUAOUI BOUZNAD³

¹ INRA, UMR1349 IGEPP, F- 35653 Le Rheu, France

² CNCC, 16200 - El Harrach, Algiers, Algeria

³ ENSA, 16200 - El Harrach, Algiers, Algeria

SUMMARY

Phytophthora infestans, the causal agent of late blight, is a serious threat to Algerian potato and tomato productions. This study was carried out to investigate host specialization on potato and tomato among Algerian and French *P. infestans* populations. A total of 74 Algerian isolates collected on potato and tomato from 2007 to 2014 were genotyped using 12 SSR markers, and compared with 43 French isolates mostly sampled in commercial tomato fields over the same period. Populations were clonal, with no evidence for sexual recombination and no geographic structuration, but significant differences were observed between the samples collected from potato and tomato. Potato Algerian isolates showed a low genotypic diversity; most of them belonged to the 13_A2 or to the 2_A1 clonal lineages. On the opposite, genotypic diversity of tomato isolates was high. Tomato isolates essentially fell into three genetic clusters: MLGs 23_A1, 2_A1, and a third group of unclassified MLGs belonging to both A1 and A2 mating types. Lineage 13-A2 was seldom found among the tomato isolates tested. Algerian and French 23_A1 isolates appeared to show preference for tomato, but were also pathogenic on potato. Under controlled conditions, on leaflets of a susceptible potato cultivar, they caused profuse sporulation, as do 6_A1 isolates, and small lesions similar in size to those produced by the 13_A2 isolates. Their virulence spectrum was very simple on potato and all were sensitive to metalaxyl. Overall, our data suggest host preference for either potato or tomato in some lineages (13_A2 on potato, 23_A1 on tomato), as well as the presence of ubiquitous lineages developing on both hosts (*e.g.* 2_A1). They also point to a possible role of tomato crops as 'refuges' of genetic diversity.

KEYWORDS

Late blight, *Solanum tuberosum*, *Solanum lycopersicum*, genotypic diversity, microsatellites, host specialization

INTRODUCTION

Phytophthora infestans, the causal agent of late blight, is a serious threat to Algerian potato and tomato productions, two economically important crops for this country. Common practice is to grow these two plants almost year round. For potato, two main crops are grown during a calendar year, one from January to May/June and the other from September to December/January. Moreover, commercial potato and tomato fields can be found in close proximity to each other or separately, according to the regions. These factors lead to the potential for late blight infections and aerial inoculum production at any time of the year. Except for studies with a reduced collection of isolates (Corbière *et al.*; 2010b), little is known about Algerian *P. infestans* populations on both plants. Therefore, we intended to further characterize Algerian isolates collected on potato and tomato from 2007 to 2014, and compared them with some French isolates sampled in commercial tomato fields over the same period.

We used neutral microsatellites to analyse *P. infestans* populations structure, in order to measure the distribution of genotype diversity on both hosts (potato and tomato) and gain insight into the pathogen reproductive system in Algeria, as sexual and asexual inoculum contribute differently to epidemic development. We also compared the phenotypic diversity of some of the main clonal lineages collected on potato and tomato for quantitative traits that are important in plant pathology, such as fungicide sensitivity, aggressiveness and virulence to potato. As knowledge regarding the host preference of *P. infestans* genotypes could provide information important for disease management strategies, the final objective of this study was to investigate host specialization on potato and tomato among Algerian and French populations.

MATERIALS AND METHODS

Isolates sampling

Isolates of *P. infestans* were collected from potato and tomato plants in six Algerian regions (Fig. 1). A total of 74 isolates was obtained in 2007 to 2014 (few in 2009-2010), generally either during May or in December and January, according to the growing season. Infected potato leaves and some stems from several cultivars were predominantly sampled in production fields, but also in trials around Algiers. Tomato leaves (n=10) with typical late blight symptoms were sampled from commercial fields or open-ended high tunnels.

In total, 43 French tomato isolates from leaves, stems or fruits were also collected during the same period, from commercial outdoor tomato crops in Southern France. Part of the isolates came from South-Western locations, around Marmande from four tomato fields of varieties Perfect Peel and Caladou, in July and September 2013 (n=18), and near Libourne from tomato trials in July 2014 (n=10). Other isolates were collected from South-Eastern France, near Avignon, in a greenhouse, in November 2007. In addition, several isolates were obtained from two gardens, one in Western France, near Rennes, on three tomato varieties (Pyros, Supersweet 100 F1 and Costoluto Genovese) at the end of August 2012 (n=13), and one in Eastern France, near Reims, in September 2014 (n=1).

Single-lesion isolates and pure axenic cultures were obtained as previously described (Corbière *et al.*, 2010b).

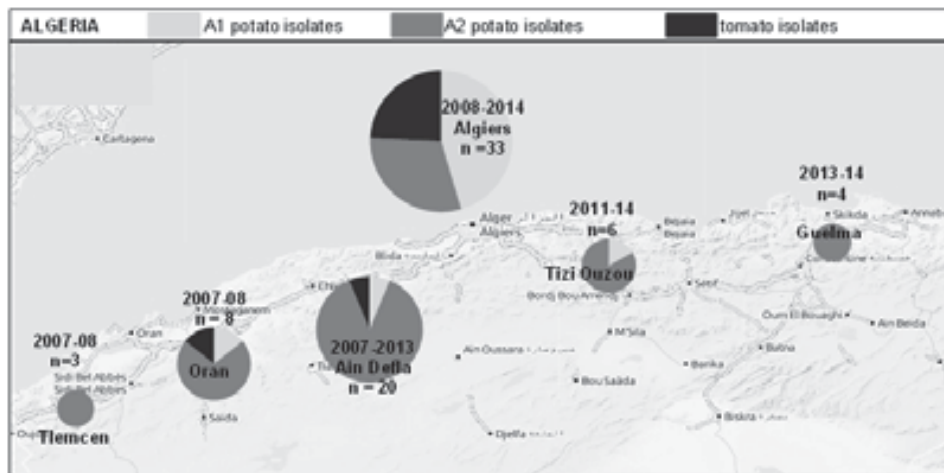


Figure 1. Sampling of *P. infestans* isolates in Algeria. A survey was performed on potato and tomato plants from 2007 to 2014. Frequency of isolates from potato are presented in grey, according to their mating-type, A1 MT (clear grey) or A2 MT (dark grey) and frequency of isolates from tomato, in black

Microsatellite genotyping and data analysis

DNA was extracted from lyophilised mycelium as previously described (Corbière *et al.*, 2010b). Twelve microsatellites loci were genotyped in each isolate : D13, G11, Pi04, Pi4B, Pi63, Pi70, *Pinf* SSR 2, 3, 4, 6, 8, 11. Amplification of the single sequence repeat (SSR) markers was carried out in multiplexed PCR assays, according to Li *et al.* (2013). PCR products were capillary electrophoresed on an automated ABI 3130 according to the manufacturer's instructions. SSR allele sizes were determined using GeneMapper version 3.5, and the microsatellite data were used to define multilocus genotypes (MLGs). Twelve reference isolates representing EU 1_A1, 2_A1, 6_A1, 23_A1 and 13_A2 were included in microsatellite analyses (Cooke *et al.*, 2012). In some isolates, loci with three alleles were observed (mainly for loci D13, G11, Pi 63, SSR 4, SSR 8). Such ploidy variation has been reported previously (Cooke *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2013). Alleles were then scored using a binary representation of the presence or absence of specific alleles.

Two types of clustering methods were conducted to reveal genetic relationships among the *P. infestans* genotypes. Population genetic substructure was inferred using the STRUCTURE software (one representative isolate for each genotype) and the genetic distance between individual MLGs was calculated using the binary data. A minimum spanning network was then calculated using MINSNET from the matrix and visualized using the Graphviz package.

Phenotypic characterization

Mating types of all isolates were determined by pairing each of them with known testers of *P. infestans*, either A1 and A2 mating-type, on pea agar medium.

Metalaxyl sensitivity, virulence and foliar aggressiveness tests were conducted with some isolates, as previously described (Corbière *et al.*, 2010b). As pathogenicity could be affected during axenic culture, isolates were inoculated onto detached leaflets of cultivar Bintje to prepare sporangia suspensions adjusted to 5×10^4 spores. mL⁻¹ and chilled at 4°C for two hours before inoculation on plant material.

Sensitivity to metalaxyl was assessed on 20 French tomato isolates from Avignon and Marmande in a floating leaflet bioassay, with metalaxyl concentrations of 10 and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ alongside a pure water control.

Virulence tests of five tomato isolates from Avignon was carried out on detached leaflets of Black's differential set of 11 potato clones, according to the protocol detailed by Andrivon *et al.* (2011).

Aggressiveness was measured in a laboratory study, on detached leaflets of the susceptible cultivar Bintje. Four tomato isolates from Avignon (collected on November 2007) were compared in May 2008, to three 2_A1 isolates, eight 6_A1 isolates and eight 13_A2 isolates, sampled from potato during the same year. The A1 isolates were obtained from cultivar Bintje, in Western France (Ploudaniel) and the 13_A2 isolates from cultivar Agata, in central France. Incubation temperatures were 15°C night - 20°C light (with a 16 hours light period) and six technical repetitions per isolate were performed. Two components of aggressiveness, lesion area and number of sporangia per lesion, were scored six days post inoculation (dpi). Statistical analyses were carried out using the software R, version 3.1.0 (R Development Core Team, 2014) and the normality of variances was checked with the Shapiro-Wilk test. Differences in lesion area between clonal lineages were analysed with the Kruskal Wallis test, and mean values were compared with the Wilcoxon test, because normal distribution was not met to use parametric tests. Differences in spore production were analysed with ANOVA and mean values were compared with Tukey's HSD tests.

RESULTS

Genotypic structure of the populations

In total, 72 microsatellite alleles were detected over the 12 SSR loci, with two to fifteen alleles per locus. Allelic diversity per locus ranged from two or three (for loci Pi70, SSR2, SSR6), four or five (for loci Pi04, Pi4B, Pi63, SSR8, SSR11), seven (for locus SSR3) to ten or eleven (for loci G11, SSR4). Locus D13 had the highest observed number of alleles (fifteen). A large range of allele sizes was also noticed for SSR3 (from 173 to 272 bp), D13 (from 132 to 212 bp) and G11 (140 to 206 bp), whereas SSR2, Pi70 and SSR6 had the smallest range variation (2, 3 and 4 bp, respectively).

SSR genotyping of the 117 *P. infestans* isolates from potato and tomato resulted in 51 distinct multi locus genotypes. STRUCTURE analysis (Fig. 2) indicated the presence of three major clusters: cluster A with only tomato isolates (except one from Algerian potato), cluster B corresponding to the 13_A2 clonal lineage and cluster C with isolates from the 2_A1 clonal lineage. Further subdivision showed that cluster A consisted of three subclusters clusters, whereas cluster B (13_A2 MLG) cluster C (2_A1 MLG) remained as single groups. A sixth cluster was only composed of reference isolates belonging to the 6_A1 MLG, and 12 isolates were unclassified. This analysis showed that the *P. infestans* populations from potato and tomato were dominated by clonal lineages, but that isolates from tomato were much more diverse than their potato counterparts.

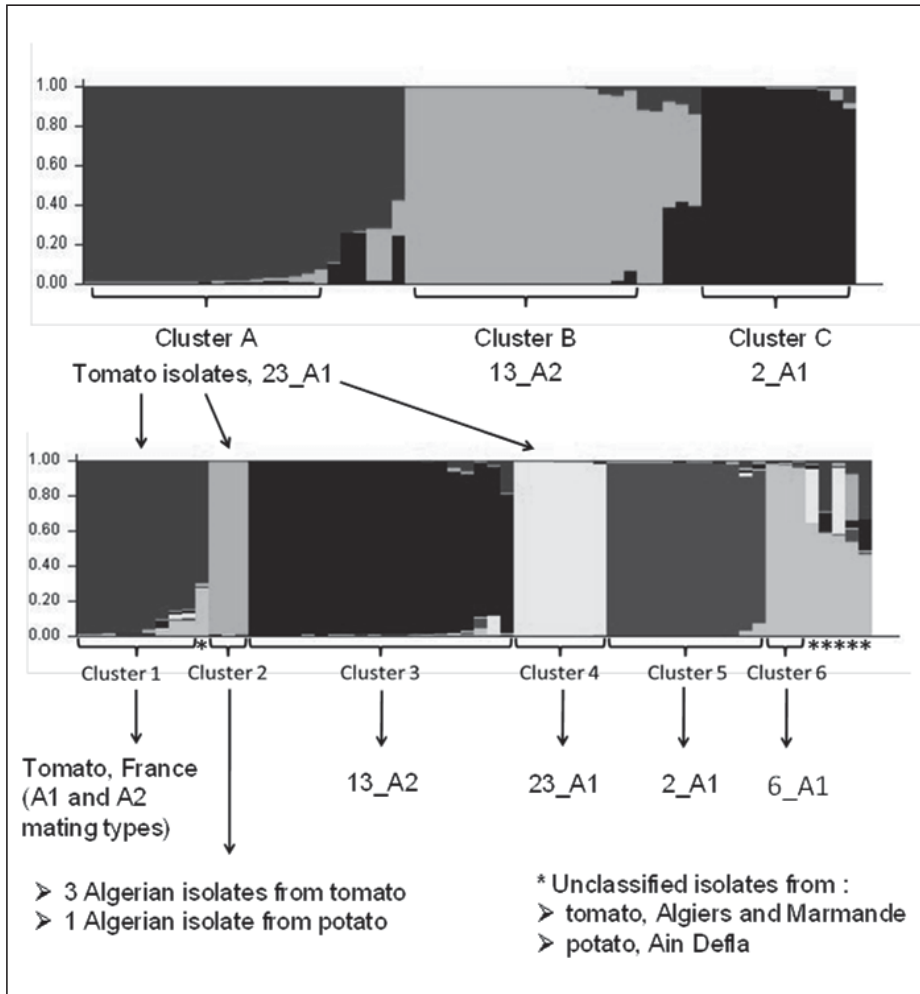


Figure 2. STRUCTURE analysis of twelve microsatellite loci for *P. infestans* isolates collected from tomato and potato. Each grey color represents one population and each isolate is presented by a vertical bar.

- Top : for $K = 3$, isolates were grouped into three main clusters : A with isolates sampled from tomato, B with 13_A2 MLG isolates and C with 2_A1 MLG isolates.

- Down : for $K = 6$, isolates were grouped into six distinct clusters. Cluster A was then divided in three clusters :

cluster 1 with French isolates from tomato,

cluster 2 with four Algerian isolates,

cluster 4 with 23_A1 MLG isolates.

Cluster 3 contained 13_A2 isolates and cluster 5, 2_A1 isolates.

Twelve isolates from tomato and potato were unclassified (*)

The network of all 117 isolates from the survey, plus 12 SSR reference isolates, split the isolates into five main clusters (Fig. 3). These clusters corresponded to the five clusters identified in the STRUCTURE analysis, among the sampled isolates. As no isolate from 1_A1 and 6_A1 MLGs were found in Algeria, nor on potato or on tomato, the sixth cluster in STRUCTURE only contained reference isolates.

Potato Algerian isolates collected between 2007 to 2014 did not show a high genotypic diversity. Most of them (n=35) belonged to the 13_A2 clonal lineage and they were sampled across all locations. 13_A2 seemed to be the dominant genotype on potato in Algeria. Nevertheless, within this clonal lineage, 20 MLGs were identified, which revealed sub-clonal variations. Most other Algerian isolates obtained from potato (n=20) belonged to the 2_A1 clonal lineage. They were mainly collected around Algiers, but were also found near Oran in 2007, Ain Defla in 2011 and Tizi-Ouzou in 2014. However, five isolates from Algerian potato plants remained unclassified. Four of them are A2 mating-type; they grouped together and are related to the 13_A2 clonal lineage. All were sampled in May 2012, on three cultivars (Sarpò Mira, Désirée and Timate) in three different locations of the Ain Defla region, one of the main potato production areas in Algeria. The last potato isolate grouped with tomato isolates from cluster 2. It was collected in ENSA trials at Algiers in January 2011, where the same genotype was found three months later on tomato.

All the tomato Algerian isolates analysed were A1 mating-type. Most of them were sampled around Algiers. Some (n=6) belonged to known MLGs : 2_A1 (cluster 5) or 23_A1 (cluster 4), but others (n=4) were unclassified. One isolate was unique, and the other three composed the cluster 2; they were obtained in two different years (2008 and 2011) and from three locations (Oran, Ain Defla and Algiers).

Tomato isolates from France were added in this study to further describe the genotypic diversity of *P. infestans* on this host. They were essentially fell into three clusters : MLGs 23_A1 (cluster 4) and 2_A1 (cluster 5), like the Algerian isolates from tomato, but also cluster 1 which is presently not clearly identified. In this study, we noticed that the 23_A1 clonal lineage was exclusively composed of tomato isolates; the French ones (n=7) were collected from Eastern and South-western France during 2007, 2013 and 2014. Surprisingly, cluster 1 contained both A1 and A2 mating type isolates, but they were distant from each other in the network. In this cluster, four A1 isolates were collected from Marmande in three fields in July and September 2013; the A2 mating type isolates were sampled in three fields in Marmande (2013) and also in a garden in Western France, in 2012. Several unclassified A1 mating type isolates (n=7), related to cluster 1, were also found in a single field in Marmande in July 2013. Finally, only one 13_A2 isolate was detected on tomato plants, although this clonal lineage is predominant on potato all over France.

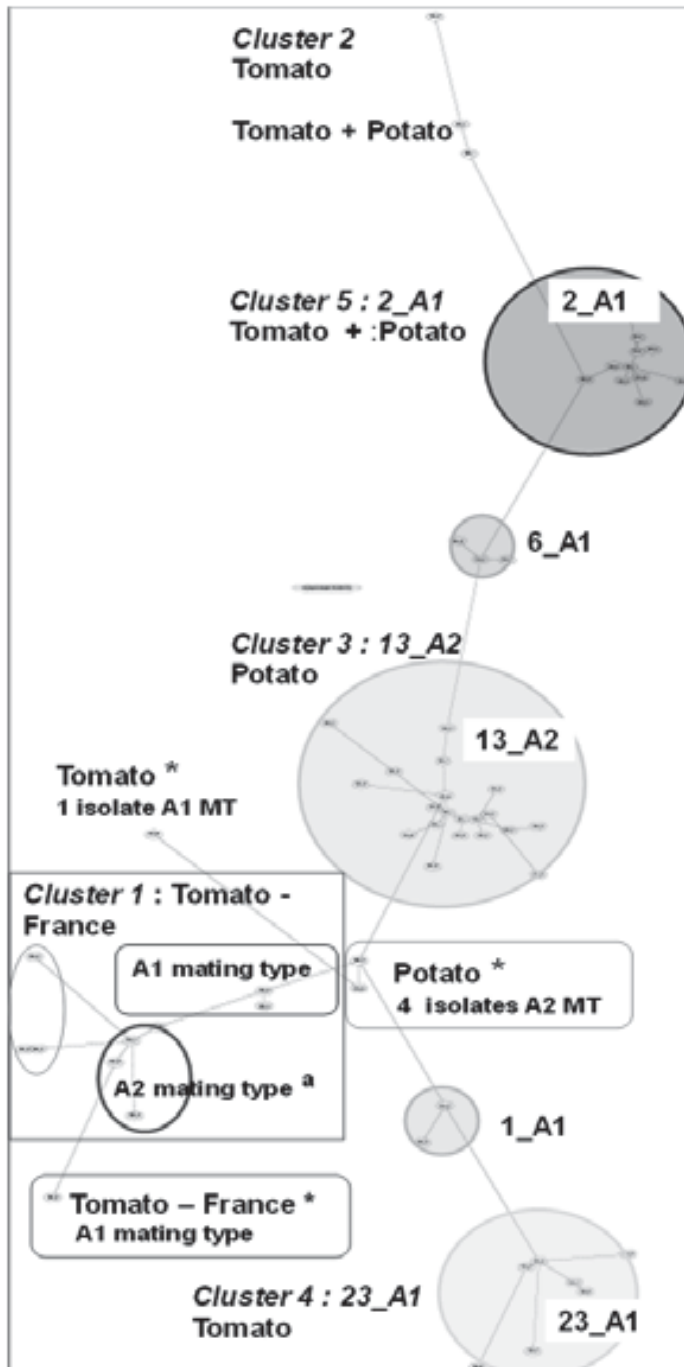


Figure 3. Minimum Spanning Tree on the alleles at 12 SSR loci. indicating the genetic distance between multilocus genotypes (MLGs) and unclassified isolates of *P. infestans*. The 117 Algerian and French isolates sampled on tomato and potato were classified into five clusters and miscellaneous isolates (corresponding to STRUCTURE analysis, Figure 2):

- Cluster 2 : four Algerian A1 mating type isolates (2 isolates collected from tomato at Oran and Ain Defla in 2008 and 2 isolates (1 from tomato, 1 from potato) from ENSA, Algiers in 2011).

- Cluster 5 : 2_A1 MLG isolates from tomato and potato. On tomato : 5 isolates sampled near Algiers (2013 and 2014) and 1 French isolate from Marmande (2013). On potato : 20 Algerian isolates from all locations, each year.

- Cluster 3 : 13_A2 clonal lineage. Most isolates came from potato (35 from all Algerian regions, each year) and one isolate was only collected on tomato in France (Marmande, 2013).

- Cluster 1 : 27 French isolates from only tomato, but both A1 and A2 mating types (MT). They were sampled in fields and gardens, in all parts of France, except Avignon, during 2012 to 2014.

- * unclassified isolates : from Algerian potato, 4 isolates (A2 MT, Ain Delfla, 2012) and from tomato : 1 Algerian isolate (A1 MT, Algiers, 2010) and 7 French isolates (A1 MT, Marmande, 2013).

- Cluster 4 : 23_A1 MLG isolates. All of them were collected from tomato :

1 near Algiers (2013), 11 from Southern France, in Avignon (2007), Marmande (2013) and Libourne (2014).

^a A2 mating type isolates were also recovered from potatoes growing in a greenhouse and a volunteer in Brittany on 2013 - 2014 (Mabon et al., 2015).

Phenotypic traits of some French isolates collected on tomato

We observed a strong diversity in colony morphology of some isolates grown on pea agar (Fig. 4). The A1 and A2 mating type isolates from cluster 1 showed diverse mycelium aspects. All A2 isolates exhibited a distinct lumpy phenotype. The A1 mating type isolates (from cluster 1 and 23_A1 lineage) had a regular and even mycelium, whereas mycelial appearance of unclassified A1 isolates was airy.



Figure 4. Colony morphology of French isolates collected from tomato. Isolates were grown on pea agar medium, at 15°C in darkness, during three weeks.

Left : five A2 mating type isolates from cluster 1; their mycelium exhibited a distinct lumpy phenotype.

Right : six A1 isolates sampled in Marmande in 2013; on right column : two 23_A1 MLG isolates; in middle column : two isolates from cluster 1 and on left column : two unclassified isolates

In the metalaxyl sensitivity assay, A1 mating type isolates (n=19) and one 13_A2 isolate (collected in Marmande in 2013) were compared. Only the 13_A2 isolate proved resistant to metalaxyl and a single one, a 2_A1 isolate (from Marmande) had an intermediate behaviour. All other 18 isolates were sensitive to metalaxyl : four A1 isolates from cluster 1, seven A1 miscellaneous isolates and seven 23_A1 isolates from Avignon (2007) and Marmande (2013).

We also examined the ability of five 23_A1 isolates to overcome foliar late blight resistance on eleven potato *R* genes differential plants, in a laboratory test. Virulence profiles of these isolates were simple. Four isolates only overcame three *R* genes, *R3*, *R4* and *R7*, while the last one had a more complex profile and overcame two additional *R* genes, *R1* and *R8*.

In the aggressiveness bioassay, 23_A1 isolates (n=4) were tested alongside isolates representative of three dominant MLGs in Algeria or in France, in potato crops : 13_A2 (n=8), 2_A1 (n=3) and 6_A1 (n=8). Differences in lesion areas were highly significant between MLGs ($P < 0,001$) : 23_A1 and 13_A2 isolates showed smaller lesions than 2_A1 and 6_A1 isolates. As for lesion area, sporulation differed significantly between MLGs ($P < 0,01$) : 13_A2 isolates presented the lowest spore production and 2_A1 isolates produced the highest number of spores, whereas 23_A1 and 6_A1 isolates were intermediate (Fig. 5).

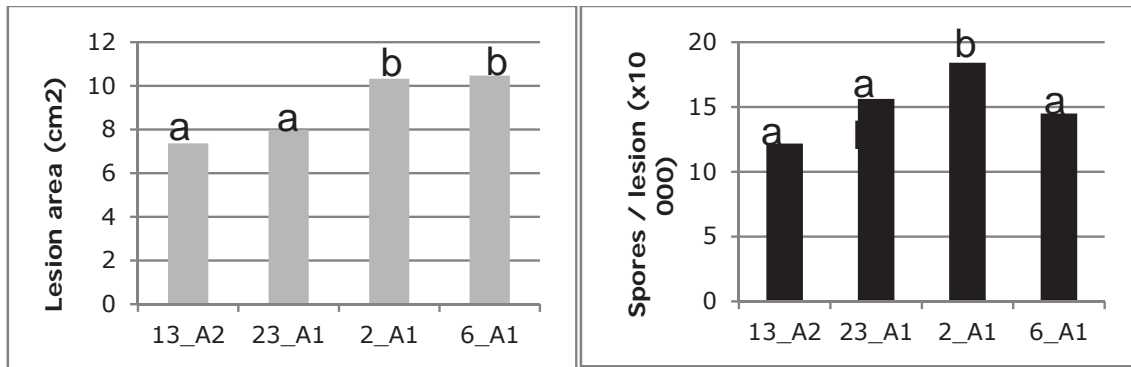


Figure 5. Aggressiveness on cv. Bintje detached leaflets of 23 *P. infestans* isolates, grouped into four clonal lineages : 13_A2 (n=8), 23_A1 (n=4), 2_A1 (n=3), 6_A1 (n=8). Measurements made after six incubation days, at 15°C night / 20°C light (16 h light period).

Left : mean lesion size (in grey) and right : mean number of sporangia per lesion (in black) within each clonal lineages. Different letters above the bars indicate significant difference between each lineage

DISCUSSION AND CONCLUSION

To understand the epidemiology of potato and tomato late blight, it is important to have a good knowledge of the genotypic diversity, structuration and relationships of *P. infestans* populations on its two main hosts. In this study, we characterized Algerian *P. infestans* isolates collected from potato or tomato at SSR loci and compared them with French isolates essentially sampled in commercial tomato fields at the same period (2007-2014). We revealed important aspects of the *P. infestans* populations in Algeria and an absence of geographic structuration, but differences between samples collected from potato and tomato. Throughout Algeria and France, we found that populations were clonal with no evidence for sexual recombination, even though both mating types have become distributed widely and found together in the same fields.

The low genotypic diversity of Algerian isolates obtained from potato (Corbière *et al.*, 2010b) was confirmed on a larger sampling. In the six Algerian regions sampled, the predominant population on potato was composed of the 13_A2 clonal lineage. Many studies have reported the current dominance of this lineage on potato since 2006, in Europe, especially in France, Great Britain and more recently outside Europe (Cooke *et al.*, 2012), but remarkably not in Tunisia where *P. infestans* populations were specific (Harbaoui *et al.*, 2014). On the opposite, we found that tomato was seldom infected with 13_A2, suggesting host preference of 13_A2 isolates for potato in Algerian and French commercial fields. However, the 13_A2 lineage has been found equally adapted to both hosts in some other countries, such as India (Chowdappa *et al.*, 2015). The 13_A2 lineage showed a sub-clonal population structure, with many minor variants which may have different fitness. The climatic, environmental or agronomic effects on the pathogenic traits of these sub-clonal variants have not clearly established, and may need to be considered in future research.

Contrasting with 13_A2, the 2_A1 lineage constituted another important lineage on Algerian potato crops but also on tomato. This observation may indicate that the 2_A1 lineage does not show any strong potato or tomato host preference. In France, the 2_A1 lineage, dominant before 2006 on potato (Mariette *et al.*, 2015), is also present on tomato, but is now infrequent on potato. In temperate regions such as the main French potato production areas, the low frequency of 2_A1 isolates on potato could be explained by a better inclusive fitness or particular

adaptative traits of 13_A2 new lineage isolates, compared with 2_A1 old lineage isolates, on this host. During epidemic stage, 13_A2 isolates may thus fast overcome potato crops which lead to the nonappearance of 2_A1 isolates and the displacement of the old lineages. We also noticed that many sub-clonal variants were found into the 13_A2 lineage (20 MLGs for 36 analysed isolates). This is in contrast with 2_A1 lineage where fewer minor variants were found (10 MLGs for 26 tested isolates), even though this lineage has been present for a long period in France and also probably in Algeria, and is detected on both potato and tomato.

STRUCTURE analysis revealed that most Algerian and French *P. infestans* isolates, sampled from tomato, were grouped together and belonged to one major cluster. These isolates were not found in Algerian and French potato fields; moreover the 6_A1, now dominant in French potato crops (<http://euroblight.net/>) was not detected on tomato. Further analysis showed that this major cluster could be further subdivided into three main subgroups (clusters 1, 2, 4) and some unclassified isolates, showing a higher level of genotypic diversity in populations collected on tomato compared to those from potato. This diversity is also reflected in the morphological aspect of axenic cultures on pea agar. This large genetic diversity also explains the high proportion of unclassified isolates from tomato in the minimum spanning network, compared to samples from potato. By comparison with reference isolates, we could only identify cluster 4 as 23_A1; the two other clusters and unclassified isolates were not referenced in the European data base (<http://euroblight.net/>).

Cluster 1 consisted of French isolates from A1 and A2 mating types, whereas cluster 2 only contained Algerian isolates from A1 mating type. The MLGs inside these clusters were not unique, but found in multiple locations or multiple years. For example, A2 mating type isolates, from cluster 1, were recovered from tomato in Western and Southern France, in 2012 and 2013 respectively. Interestingly, they were also detected in the early season of 2013 and 2014 from potato in Western France, on a volunteer and on early potatoes in a greenhouse which was cultivated with tomato during the previous year (Mabon *et al.*, 2015). Some isolates from cluster 1 could then also be recovered from potato in the early season. In the same way, in Algeria, an isolate from cluster 2 was found in a small potato trial where tomato crop was grown in a same location. It then appeared that isolates collected in commercial tomato fields showed preference for tomato, although they were also pathogenic on potato. Host preference of the isolates may be different in large area commercial fields and in gardens where potato and tomato were often grown close together or in tight successions during the crop season. Indeed, in British gardens, no evidence for host specialization was found on tomato and potato (Stroud *et al.*, 2015). Further studies are warranted to investigate the *P. infestans* host preference in the main Algerian and French commercial tomato areas, with and without potato fields in the same regions.

Several studies have characterized dominant clonal lineages and demonstrated the existence of variation among different clonal lineages in phenotypic traits, included phenylamide fungicide resistance, virulence profiles or aggressiveness. In Algeria and France, 23_A1 isolates were only found on tomato and in Great Britain on 2011-2012, this lineage was more frequent in garden tomato samples (20 and 14%) than in samples from commercial potato crops with a 0,23 to 0,56% frequency (Stroud *et al.*, 2015). However, it seems that the same MLG US-23, according to SSR profiles (Danies *et al.*, 2014), devastated potato crops in North America, since 2011. We then compared some phenotypic traits of Algerian and French dominant lineages on potato to those of some 23_A1 French tomato isolates, in order to investigate pathogenic characters of this 23_A1 MLG, on potato.

Differences in metalaxyl sensitivity was observed between MLGs : all A1 mating-type isolates from tomato, including 23_A1 isolates, were sensitive to metalaxyl, except one 2_A1 isolate (intermediate), whereas the 13_A2 isolate was resistant, as all 13_A2 Algerian and French isolates previously analysed (Corbière *et al.*, 2010a, 2010b). Nevertheless, absence of 23_A1 isolates on French potato could not be explained by this factor as very few phenylamide fungicides are now sprayed on this crop, in this country. Virulence spectrum of 23_A1 isolates differed strongly from those of other MLGs : they presented very simple profiles, whereas most 13_A2 isolates were virulent against nine to the eleven *R* genes of the differential set (Corbière *et al.*, 2010a, 2010b; Cooke *et al.*, 2012). Virulence patterns in 23_A1 isolates were also clearly distinct from those of potato A1 mating type isolates, which mostly overcame six to seven *R* genes (Corbière *et al.*, 2010a) and from those of Algerian tomato A1 isolates of cluster 2 (named ITC and AD), virulent against ten potato *R* genes (Corbière *et al.*, 2010b). Algerian and French 23_A1 isolates appeared to show preference for tomato, but they were also pathogenic on potato. On a susceptible potato cultivar, they caused profuse sporulation, as do 6_A1 isolates, and although limited necrosis were observed with 23_A1 isolates, they caused lesions similar in size to those produced by the 13_A2 isolates. In order to determine difference in host preference for isolates, cross-inoculations have now to be conducted on tomato and potato. Many factors (inoculum concentration, incubation temperature and humidity, plant age and growth period, ...) have then to be accurately selected for valid conclusions (Danies *et al.*, 2013, Nowakowska *et al.*, 2014).

Interestingly, on potato, the 13_A2 isolates showed the smallest necrotic lesions and the lowest sporulation, whereas 2_A1 isolates had the highest lesion size and spore production. However 13_A2 MLG is now prevalent on potato in Western Europe and 2_A1 MLG previously dominant, is now sporadic. It then appears that aggressiveness measurements under controlled conditions are important criteria, but may not explain the total fitness of *P. infestans* isolates under different agro-ecosystems, during epidemics (*i.e.* thermal adaptation in relation with global warming) and during survival stages or may not reflect all the interactions between *P. infestans* isolates and the two hosts in field environment and under different climatic features.

In this study, high differences were found between the distribution of clonal lineages from tomato and potato commercial fields samples. In Algeria as in France, *P. infestans* genotypic diversity was higher on tomato than on potato, but unique genotypes were not frequent. Some lineages were mainly found on tomato and seemed to show a preference for tomato as a host, although some of them were also sampled on early potato, potato volunteer or potato grown close to tomato. Tomato crops may then act as a "refuge" for highly diverse genotypes, whereas commercial potato crops with low range of cultivars on large areas may select some lineages especially during epidemics.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Robert Giovinazzo (SONITO, 84912 Avignon, France) for providing tomato samples and Fatma Zohra Rekad (University of Mostaganem, Algeria) for some Algerian isolates. We are grateful to Amélie Viard, undergraduate student, for assistance in phenotyping. This work was supported by PoH-MED project, Potato Health – Managed for Efficiency and Durability, funded by ARIMNet, Agricultural Research in the Mediterranean Area (KBBE 219262).

REFERENCES

- Andrивon D., Avendaño-Corcoles J., Cameron A., Carnegie S., Cooke L.R., Corbière R., Detourné D., Forisekova K., Griffin D., Hannukkala A., Lebecka R., Lees A.K., Niepold F., Polgar Z., Shaw D.S., Thompson J., Trognitz B., van Raaij H., and Zimnoch-Guzowska E. 2011. Stability and variability of virulence of *Phytophthora infestans* assessed in a ring test across European laboratories. *Plant Pathology* 60, 556-565.
- Chowdappa P., Nirmal Kumar B.J., Madhura S., Mohan Kumar S.P., Myers K.L., Fry W.E. and Cooke D.E.L., 2015. Severe outbreaks of late blight on potato and tomato in South India caused by recent changes in the *Phytophthora infestans* population. *Plant Pathology* 64, 191-199. DOI: 10.1111/ppa.12228.
- Cooke D.E.L., Cano L.M., Raffaele S., Bain R.A., Cooke L.R., Etherington G.J., Deahl K.L., Farrer R.A., Gilroy E.M., Goss E.M., Grünwald N.K., Hein I., MacLean D., McNicol J.W., Randall E., Oliva R.F., Pel M.A., Shaw D.S., Squires J.N., Taylor M.C., Vleeshouwers V.G.A.A., Birch P.R.J., Lees A.K. and Kamoun S., 2012. Genome analyses of an aggressive and invasive lineage of the Irish potato famine pathogen. *PLOS Pathogens* 8, e1002940, doi: 10.1371/journal.ppat.1002940.
- Corbière R., Magalon H., Boulard F. and Andrивon D., 2010a. Study of invasive French populations (2006-2008) in *Phytophthora infestans*, the oomycète causing potato late blight. In : Schepers HTAM (eds) Proceedings of the twelfth EuroBlight Workshop, PPO-Special Report no. 14, Arras, France, 3-6 May 2010, 289-290.
- Corbière R., Rekad F.Z., Galfout A., Andrивon D. and Bouznad Z., 2010b. Phenotypic and genotypic characteristics of Algerian isolates of *Phytophthora infestans*. In : Schepers HTAM (eds) Proceedings of the twelfth EuroBlight Workshop, PPO-Special Report no. 14, Arras, France, 3-6 May 2010, 133-146.
- Danies G., Small I.M., Myers K., Childers R. and Fry W.E., 2013. Phenotypic characterization of recent clonal lineages of *Phytophthora infestans* in the United States. *Plant Disease* 97, 873-881. doi.org/10.1094/PDIS-07-12-0682-RE.
- Danies G., Myers K., Mideros M.F., Restrepo S., Martin F.N., Cooke D.E.L., Smart C.D., Ristaino J.B., Seaman A.J., Gugino B.K., Grünwald N.J. and Fry W.E., 2014. An ephemeral sexual population of *Phytophthora infestans* in the Northeastern United States and Canada. *PLOS ONE* 9, e0116354, doi: 10.1371/journal.pone.0116354.
- Harbaoui K., Hamada W., Li Y., Vleeshouwers V.G.A.A. and van der Lee T., 2014. Increased difficulties to control late blight in Tunisia are caused by a genetically diverse *Phytophthora infestans* population next to the clonal lineage NA-01. *Plant Disease* 98, 898-908. doi.org/10.1094/PDIS-06-13-0610-RE.
- Li Y., Cooke D.E.L., Jacobsen E. and van der Lee T.A.J., 2013. Efficient multiplex simple sequence repeat genotyping of the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Journal of Microbiological Methods* 92, 316-322. doi:10.1016/j.mimet.2012.11.021.
- Mabon R., Mariette N., Corbière R., Marquer B., Montarry J. and Andrивon D., 2015. Genotypic and phenotypic characterization of *Phytophthora infestans* isolates sampled in Brittany in two consecutive years (2013-2014). 15th EuroBlight Workshop, Brasov, Romania, 10-13 May 2015. This volume.
- Mariette N., Mabon R., Corbière R., Boulard F., Glais I., Marquer B., Pasco C., Montarry J. and Andrивon D., 2015. Phenotypic and genotypic changes in French populations of *Phytophthora infestans* : are invasive clones the most aggressive? *Plant Pathology*. Published online : 1 Sept. 2015. DOI: 10.1111/ppa.12441

-
- Nowakowska M., Nowicki M., Kłosińska U., Maciorowski R. and Kozik E.U., 2014. Appraisal of artificial screening techniques of tomato to accurately reflect field performance of the late blight resistance. PLOS ONE 9, 0109328, doi: 10.1371/journal.pone.0109328.
- Stroud J.A., Shaw D.S., Hale M.D. and Steele K. A., 2015. SSR assessment of *Phytophthora infestans* populations on tomato and potato in British gardens demonstrates high diversity but no evidence for host specialization. Plant Pathology. Published online : 4 June 2015. DOI: 10.1111/ppa.12407.

A2 mating type, metalaxyl resistance and complex virulence profiles : common features in some *Phytophthora infestans* isolates from Algeria

LYES BENINAL¹, ROSELYNE CORBIERE², ABDELAZIZ KEDAD¹,
DIDIER ANDRIVON² & ZOUAOUI BOUZNAD¹

¹INA, 16200 El Harrach, ALGIERS, Algeria

²INRA, UMR INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes I - 1099 BiO3P, BP 35327,
35653 LE RHEU, France

SUMMARY

Phytophthora infestans isolates were collected on potato in the main production areas of Northern and Central regions of Algeria in 2007 and 2008. They were characterized for mating type, sensitivity to metalaxyl and virulence. Metalaxyl resistance was assessed with a floating leaf disk method and virulence patterns were determined using Black's differential set of potato clones. All ten Algerian isolates tested proved to belong to the A2 mating type and to be resistant to metalaxyl. They have highly complex virulence spectra : six of them overcame the eleven specific resistance gene of the differential set, and the remaining four isolates overcame all the specific genes but R9. The high level of metalaxyl resistance in Algerian populations of *P. infestans* probably makes this active ingredient now inefficient against late blight on potato. Since most of the Algerian isolates tested had the eleven virulence factors, the *Solanum demissum* genes would probably not be of substantial use to control current *P. infestans* populations. These results are the first report about Algerian isolates and constitute a first step for the development of better late blight control strategies.

KEYWORDS

Phytophthora infestans, late blight, mating type, metalaxyl resistance, virulence

INTRODUCTION

Algeria, with a population of 35 millions, is an important country for potato production ; indeed, potato is one of the priorities of the Algerian National Plan for Agricultural Development (PNDA). Potato crops occupy 90 000 ha, for a total production of two millions tons. In several regions, two main potato crops are grown during a calendar year: the first crop is planted from December to April, with harvest in May to July, while the second crop is planted in July / August and harvested in November to January. Moreover, crop rotations are not always practiced, and potato and tomato fields are often close to each other. Therefore, *Phytophthora infestans* inoculum is present in these regions throughout the year. Late blight is thus a permanent worry : in 2007, serious epidemics led to shortage on Algerian markets. The predominant cultivar is Spunta, susceptible to late blight, and metalaxyl is now widely used to control the disease.

Knowledge of *P. infestans* populations is thus essential to elaborate control strategies against late blight in Algeria, but has been missing so far. The aim of this study was therefore to collect *P. infestans* isolates from main potato production areas in Algeria and compare their phenotypic traits, to provide insights into their impact on blight epidemiology and disease management practices.

MATERIALS AND METHODS

Origin of *Phytophthora infestans* isolates

Ten Algerian isolates were collected in Western and Central wilayas (Algerian regions) between Algiers and Oran (distant from 360 km), during 2007 and 2008, from fields on different potato cultivars (Table 1). Two additional French isolates were used in the metalaxyl test; they were sampled in INRA experimental trials of Ploudaniel (29). These single-lesion isolates were maintained as axenic cultures on pea agar medium.

Table 1. Origin of Algerian isolates collected in 2007 and 2008 and of two French isolates

Name of isolate	Year of isolation	Location	Potato cultivar
Z0	2007	Ain Delfa	Spunta
Z1	2007	Ain Delfa	Martina
Z3	2007	Mostaganem	Spunta
Z5	2007	Mostaganem	Spunta
Z12	2007	Oran	-
Z13	2007	Tiaret	Atlas
Z18	2007	Tiaret	Atlas
Z21	2007	Chlef	Désirée
Z32	2008	Staouali	-
Z33	2008	Tipaza	Kondor
06-P33	2006	Ploudaniel (France)	Bintje
07-P13-04	2007	Ploudaniel (France)	Bintje

Mating type determination

The mating-type of each isolate was determined by individually pairing them on pea agar with known A1 and A2 testers. After 10-14 days incubation in the dark at 15°C, the presence or absence of oospores was recorded under a microscope.

Metalaxyl resistance test

The sensitivity to metalaxyl of the isolates was assessed using a floating leaf disk method. Four leaf disks, taken from leaves of potato cv Bintje (6 to 8 week-old plants), were used per isolate (two disks per Petri dishes). Leaf disks (21 mm in diameter) were floated abaxial side up in Petri dishes (55 mm diameter) each containing 7 mL sterile distilled water, metalaxyl (Ridomil 25 WP, Novartis experimental compound) at concentrations of 10 and 100 mg L⁻¹. For each isolate, a suspension of sporangia was prepared by flooding a 2 to 3-week-old culture with 6 mL sterile distilled water and gently scrapping the colony surface to harvest sporangia. Each disk was inoculated with a 20 µL droplet of sporangial suspension that has been induced to release zoospores by chilling at 4°C for 2 h. After seven days incubation at 15°C night, 18°C light with a 16h photoperiod, sporulation of the pathogen was recorded visually. Isolates sporulating on the disks floating on water containing 100 mg L⁻¹ metalaxyl were rated as resistant, those on 10 mg L⁻¹ were rated as intermediate and those that sporulated only on water were rated as sensitive.

Assessment of virulence spectrum

Potato plant material

Plants were grown in pots (one tuber per pot) filled with 1:1:1 sand-peat-compost mixture, in a glasshouse regulated at 15-20°C and 16 h of photoperiod, and were watered with a nutrient solution (Hakaphos, NPK 15/10/15) once a week. Virulence patterns were determined using Black's differential set of potato clones, each having one of the R1-R11 race-specific resistance genes, and Craig's Royal as susceptible cultivar. This set was originally provided by Scottish Agricultural Science Agency (SASA, Edinburgh, UK) and seed tubers were multiplied by INRA (UMR APBV, Ploudaniel, France). Leaflets were picked from 6-8 week-old plants, for experiments.

Inoculum preparation

Each isolate was first multiplied separately on detached Bintje leaflets. The leaflets were infected by depositing a drop of suspension of *P. infestans* sporangia collected as described above. After seven days of incubation in humid chambers under controlled conditions (15°C/18°C night/day temperatures, 16h daylight), the sporangia produced on infected leaflets were collected in sterile water ; the resulting suspensions were adjusted to 5 x 10⁴ sporangia mL⁻¹ and used for virulence experiments.

Virulence phenotype determination

Each leaflet was placed abaxial face up on a moist filter paper in a clear plastic dish, and inoculated by depositing a 20 µL drop of the sporangial suspension on each side of the midrib. Two leaflets per isolate and differential host were inoculated. After incubation as described in the metalaxyl test above, each inoculation site was scored for the presence or absence of a sporulating lesion and interaction was considered compatible if sporangiophores were visible.

RESULTS AND DISCUSSION

The Algerian isolates tested are all A2 mating type and insensitive to metalaxyl which is consistent with recent changes in many European populations (Cooke *et al.*, 2007; Corbière *et al.*, 2009, this volume, Lees *et al.*, 2009, this volume).

Among *P. infestans* populations from Maghreb, some studies have been conducted between 1996 and 2001, especially in Morocco where A1 and A2 mating types were detected. In this country, regional structure was often noticed with a predominant mating type in some locations (Hammi *et al.*, 2001; Andrivon *et al.*, 2007). According to Sedegui *et al.* (2000), there was mating type shift within the *P. infestans* population in Morocco on potato and A2 frequency went from 0% in 1996 to 74% in 1998. Moreover, both mating types were identified in some fields by all these authors,

which indicates the potential for sexual reproduction of the pathogen. Sexual reproduction would then generate greater genetic diversity in the populations, which may lead to genotypes that are more aggressive and difficult to control. This sexual population also means increasing risk of oospores derived late blight attacks very early in the season. This situation had maybe existed in Algeria, afterwards most A1 isolates have disappeared or they are still present in some regions. Moreover, all A2 isolates tested by Sedegui *et al.* (2000) were intermediate or resistant to metalaxyl. In Tunisia, A2 mating type was also detected, but in a smaller proportion (Jmour and Hamada, 2006). The origin of A2 isolates is discussed because A2 mating type was identified from imported potato seed from Europe, which suggests the possible introduction of A2 mating type from Europe (Sedegui *et al.*, 2000). In Algeria, seed tuber importations are important (100 000 tons in 2007-2008), mainly coming from The Netherlands (58%), France (16%) and Denmark (13%) (Bourget, 2008; Rousselle, 2008).

All ten Algerian isolates were resistant to metalaxyl, whereas French isolates were A1 mating type and sensitive to metalaxyl. None of the tested isolates were rated metalaxyl-intermediate. The high frequency of resistance in Algerian isolates is understandable given the widespread use of phenylamides against late blight in Algeria. It makes this class of fungicides virtually useless for successful control of the disease in this country. Metalaxyl resistance must obviously be taken into account in future choice of fungicides.

The Algerian isolates have highly complex virulence spectrum. Only two virulence complex profiles were found into the ten Algerian isolates. Most of them overcame the eleven specific resistance genes of the differential set and four of them (Z1, Z12, Z13, Z21) were not virulent to R9, but they overcame all the other specific genes. Some isolates collected on the same year and in the same location did not show a similar spectrum as isolates Z0 and Z1 from Ain Delfa or Z13 and Z18 from Tiaret. All isolates thus overcome specific resistance genes as R2, R5, R6 and R9 against which virulence is still unfrequent in most parts of Europe (Andrivoon *et al.*, 2004; Lehtinen *et al.*, 2008). Such complex virulence patterns are however been noticed in some of the most recent studies from northern Europe. In Poland, in 2006, the average number of virulence factors per isolate was eight, the highest of the European countries. Increase of virulence to some genes was observed in Polish isolates, but frequency of virulence factor 9 was still around 30% (Lebecka *et al.*, 2007). A similar situation was observed in Finland where average number of virulence was more than seven in 2007, whereas, in earlier studies, five to six virulences per isolate have been found in the Nordic countries where sexual reproduction was suspected (Lehtinen *et al.*, 2008; Hannukkala *et al.*, 2009, this volume). None of the Nordic isolates possessed virulence to R9 in 2003, but some rare Finnish isolates containing all 11 virulences were found in 2007. Interestingly, most of the Algerian isolates possessed virulence R9, although R9 has to our knowledge never been introduced into commercial cultivars. In Algeria, the *Solanum demissum* genes would thus probably not be of substantial use to control current *P. infestans* populations, as the 11 resistance genes were broken very often. It is important to be aware of this phenotypic trait in Algerian populations when planning future actions in potato late blight management. High incidence of very complex pathotypes may result in a breakdown of resistance among current potato cultivars.

This study provides us the first data on *P. infestans* populations in Algeria and its results are worrying for late blight control and cultivars management. Due to the limited number of isolates tested in this study, further investigations would be worthwhile to establish the current structure of Algerian *P. infestans* populations and to have a better understanding of pathogen-host coevolution. This should be considered to develop integrated management strategies which is crucial in the coming years for Algerian potato production.

REFERENCES

- Andriveau, D., R. Corbière, L. Lebreton, F. Pilet, J. Montarry, R. Pellé and D. Ellissèche, 2004. Host adaptation in *Phytophthora infestans* : a review from population biology perspectives. *Plant Breeding and Seed Science* 50, 15-28.
- Andriveau, D., F. Pilet, J. Montarry, M. Hafidi, R. Corbière, E.H. Achbani, R. Pellé and D. Ellissèche, 2007. Adaptation of *Phytophthora infestans* to partial resistance in potato : evidence from French and Moroccan populations. *Phytopathology* 97, 338-343.
- Bourget, D., 2008. Pommes de terre en Algérie, un potentiel à exploiter. *Potato Planet*, mai/ juin 2008, 22-29.
- Cooke, D.E.L, A.K .Lees, J. G. Hansen, P. Lassen, B. Adersson and J. Bakonyi 2007. Eucablight one year on : an update on the European blight population database. Proceedings of the 10th Workshop of an European Network for development of an integrated control strategy of potato late blight, 2-5 May 2007, Bologna, Italy, 129-135.
- Corbière, R., J. Montarry, I. Glais, A. Viard and D. Andriveau, 2009. Aggressiveness differences between A1 and A2 isolates of *Phytophthora infestans* from France. Proceedings of the Euroblight Workshop, 28-31 October 2008, Hamar, Norway. This volume.
- Hammi, A., A. Bennani, A.E.L. Ismaili, Y. Msatef and M.N. Serrhini, 2001. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Morocco. *European Journal of Plant Pathology* 107, 553--556.
- Hannukkala, A., M. Rastas and A. Hannukkala, 2009. Phenotypic characteristics of Finnish and North-Western Russian populations of *Phytophthora infestans* in 2006-2007. Proceedings of the Euroblight Workshop, 28-31 October 2008, Hamar, Norway. This volume.
- Jmour, W. and W. Hamada, 2006. First report of A2 mating type of *Phytophthora infestans* in Tunisia using molecular markers and some observations on its metalaxyl resistance. *Tunisian Journal of Plant Protection* 1, 85-91.
- Lebecka, R., J. Sliwka, S. Sobkowiak and E. Zimnoch-Guzowska, 2007. *Phytophthora infestans* population in Poland. Proceedings of the 10th Workshop of an European Network for development of an integrated control strategy of potato late blight, 2-5 May 2007, Bologna, Italy, 155-159.
- Lees, A.K., D.E.L. Cooke, S Carnegie, J. Stewart, L. Sullivan and N.A. Williams, 2009. *Phytophthora infestans* population changes; implications. Proceedings of the Euroblight Workshop, 28-31 October 2008, Hamar, Norway. This volume.
- Lehtinen, A., A. Hannukkala, B. Andersson, A. Hermansen, V. H. Le, R. Naerstad, M. B. Brurberg, B. J. Nielsen, J. G. Hansen and J. Yuen, 2008. Phenotypic variation in Nordic populations of *Phytophthora infestans* in 2003. *Plant Pathology* 57, 227-234.
- Rousselle, B., 2008. Algérie, essai en plein désert. *La pomme de terre française* 558, 46-47.
- Sedegui, M., R.B. Carroll, A.L. Morehart, T.A. Evans, S.H. Kim, R. Lakhdar and A. Arifi, 2000. Genetic structure of the *Phytophthora infestans* population in Morocco. *Plant Disease* 84, 173-176.