

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE

(ENSA) - EL-HARRACH-ALGER



Thèse de DOCTORAT

Présentée et soutenue par

Sihem BELKHITER

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

Spécialité biotechnologie végétale

Analyse génotypique et phénotypique des populations
de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary agent du
mildiou de la tomate en Algérie.

Devant le jury

M. Lakhdar KHILIFI	Professeur (ENSA) EL Harrach	Président
M. Zouaoui BOUZNAD	Professeur (ENSA) EL Harrach	Directeur de thèse
Mme. Zoulikha KRIMI	Professeur (USDB) Blida	Examineur
M. Benali SETTI	Professeur (UHBC) Chlef	Examineur
Mme Saida MOUMENE	Maitre de conférences (USDB) Blida	Examineur
M. Moumene TAOUTAOU	Maitre de conférences (ENSA) EL Harrach	Examineur

Dédicace

A mes parents

Dont le mérite, les sacrifices et les qualités
humaines

M'ont permis de finaliser cette thèse et de voir ce
jour

A mes deux frères

Qui m'ont toujours épaulé et soutenu tout au
long du chemin, Pour que je puisse atteindre mes
objectifs

A tous les gens que j'aime.....

Sihem

Remerciement

Au terme de ce travail, j'adresse mes sincères remerciements à Monsieur « Bouznad .Z » qui en tant que Directeur de thèse, m'a accompagné tout au long de ces années durant mon magistère et doctorat et qui a énormément contribué dans ma formation scientifique. Je lui dois énormément qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude et ma grande reconnaissance. Je le remercie d'avoir été toujours à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de cette thèse, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a consacré et sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur « Khelifi. L » qui a contribué à ma formation et celle de mes camarades, il était toujours à l'écoute, je le remercie pour sa gentillesse et sa grande générosité et d'avoir accepté de présider le jury.

Mes remerciements les plus sincères vont à Madame « Krimi .Z » qui a eu la grande gentillesse de faire partie du jury et d'examiner cette thèse.

Je remercie également Madame « Moumene. S », qu'elle trouve ici ma profonde reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie du jury.

Je remercie aussi Monsieur « Setti. B » qui a accepté avec grand plaisir d'examiner ce travail et faire partie du jury.

Je remercie Monsieur « Taoutaou. M » pour avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie du jury.

Je remercie très profondément mon ami et collègue Monsieur « Beninal. L » pour ses précieux conseils pour son aide qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance.

Je remercie Madame « Lalla. S » pour son aide lors de l'extraction de l'ADN.

Je remercie aussi l'équipe du laboratoire de mycologie du CNCC pour m'avoir bien accueilli lors de certaines manipulations et pour leur sympathie.

Mes remerciements les plus sincères vont à l'équipe du laboratoire UMR 8103P - MRA - Le Rheu - Rennes - France pour m'avoir accueilli durant tout le long de mon séjour de stage, je remercie plus précisément madame « Corbière. R » ingénieur au laboratoire qui a suivi ce travail et pour ses orientations et conseils, je remercie aussi Monsieur « Mabon. R » pour m'avoir initié à l'utilisation des logiciels pour interpréter les résultats et Monsieur « Andriouan. D » directeur de laboratoire pour avoir accepté de m'accueillir.

Je remercie les ingénieurs du laboratoire du département Botanique Madame « Fatima, Nesrine et Soumia » et ainsi que notre technicien Monsieur « Mohamed » pour leur aide et leur gentillesse.

Je remercie Tous mes collègues et doctorants du laboratoire de phytopathologie et biologie moléculaire du département Botanique ainsi que les enseignants pour leur sympathie et leur aide, nous avons passé des moments agréables lors des sorties pendant les prospections.

Je n'oublierai jamais mes enseignants de l'Ecole nationale supérieure d'agronomie. Un remerciement particulier à Monsieur « Kedad. A ». Vous

avez toujours été présents. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

J'espère n'avoir oublié personne, à tout ce qui ont participé de près ou de loin à la finalisation de ce travail qu'ils trouvent ici l'expression de mes reconnaissances les plus sincères.

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Plante de la tomate.....	9
Figure 2	Cycle de développement et de la maladie chez <i>P. infestans</i> d'après Agrios (2005).....	14
Figure 3	Symptômes de mildiou sur différents organes de tomate.....	16
Figure 4	Zones prospectées pour le mildiou de la tomate.....	25
Figure 5	Différentes étapes d'isolement de <i>Phytophthora infestans</i>	28
Figure 6	Test de Mating type.....	32
Figure 7	Différentes étapes pour l'obtention des folioles de tomate et de pomme de terre.....	37
Figure 8	Etapes du test folioles détachées en conditions contrôlées.....	41
Figure 9	Image du site d'expérimentation prise par satellite.....	42
Figure 10	Dispositif expérimental.....	44
Figure 11	La valeur du $\Delta K = 4$ calculé par le logiciel Structure v. 2.3.4.....	53
Figure 12	Structure de la population de <i>Phytophthora infestans</i>	54
Figure 13	Arbre phylogénique représentant la distance génétique entre les différents MLGs et MLLs (génotypes).....	55
Figure 14	Croissance mycélienne des isolats de <i>P. infestans</i> à différentes doses du fongicide.....	58
Figure 15	Croissance mycélienne à différentes doses du fongicide.....	59
Figure 16	Taux de croissance mycélienne à différentes gammes de températures.....	60
Figure 17	Analyse des composantes principales (ACP) de la croissance mycélienne à différentes gammes de températures (10°C ; 15°C ; 20°C ; 25°C).....	62
Figure 18	Différents profils thermiques des isolats de <i>P. infestans</i> selon la région et le cluster.....	63
Figure 19	Agressivité des isolats appartenant à différentes lignées clonales sur les deux hôtes.....	65
Figure 20	Symptômes des isolats de <i>P. infestans</i> du génotype EU_13_A2 sur les folioles des deux hôtes.....	67
Figure 21	Symptômes des isolats de <i>P. infestans</i> du génotype EU_23_A1 sur les folioles des deux hôtes.....	68
Figure 22	Pourcentage de destruction foliaire en fonction du temps sur les dix variétés.....	69
Figure 23	Aspect de destruction foliaire de la tomate selon l'échelle utilisé.....	70
Figure 24	Histogramme des valeurs de l'AUDPC des dix variétés étudiées.....	72
Figure 25	Symptômes sur folioles détachées des variétés étudiées en conditions <i>in-vitro</i>	75
Figure 26	Agressivité des isolats appartenant à différentes lignées clonales sur les variétés de tomates.....	76

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Les principaux pays producteur de la tomate du monde (FAOSTAT, 2017)...	5
Tableau 2	Evolution des superficies, de la production et des rendements, de la culture de la tomate en Algérie depuis 2007 à 2016 (FAOSTAT,2017).....	6
Tableau 3	Les principales variétés de tomate cultivées en Algérie.....	8
Tableau 4	Isolats de <i>P. infestans</i> collectés de 2010 jusqu'à 2016.....	26
Tableau 5	Séquence des marqueurs microsatellites.	31
Tableau 6	Matériel fongique utilisé dans le test de résistance au Métalaxyl.....	33
Tableau 7	Matériel fongique utilisé dans le test de température.....	35
Tableau 8	Matériel fongique utilisé dans le test de spécialisation parasitaire.....	38
Tableau 9	Matériel végétal utilisé dans le test de spécialisation parasitaire.....	43
Tableau 10	Les différentes opérations culturales effectuées durant l'expérimentation.....	45
Tableau 11	Echelle de notation des symptômes.....	45
Tableau 12	Matériel fongique utilisé dans le test de folioles détachées.....	47
Tableau 13	Polymorphisme des marqueurs SSRs des 86 isolats.....	49
Tableau 14	Caractéristiques des 27 MLGs utilisant 17 marqueurs SSRs	51
Tableau 15	Caractéristiques de la population de <i>P. infestans</i>	52
Tableau 16	Classement des isolats selon le pourcentage d'inhibition des isolats.....	57
Tableau 17	Analyse de variance du comportement des isolats à l'égard de l'effet température.	60
Tableau 18	Classement des MLG selon leur croissance mycélienne à l'égard des différentes gammes de températures.....	62
Tableau 19	Classement des valeurs moyennes des composantes de l'agressivité de 36 isolats dans le test de spécialisation parasitaire.....	65
Tableau 20	Classement des valeurs moyennes des composantes d'agressivité des isolats selon leur hôte d'origine.....	66
Tableau 21	Classement des valeurs moyennes du pourcentage de destruction foliaire et de l'AUDPC.....	71
Tableau 22	Classement des valeurs moyennes des composantes de la résistance du test de feuilles détachées.....	74

LISTE DES ABREVIATION

A1	Type de compatibilité sexuelle A1
A2	Type de compatibilité sexuelle A2
ADN	Acide désoxynucléique
ACP	Analyse des Composantes Principales
ARN	Acide ribonucléique
AUDPC	Area Under the Disease progress Curve
CM	Carré Moyen
CNCC	Centre National de Certification et de Contrôle des Semences et de plants
DDL	Degré De Liberté
ENSA	Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
F_{st}	Indice de différenciation
H	Diversité
HSD	Test de Tukey
I	Indice de Shannon
I_A	Indice d'association
K	Delta K
MADR	Ministère d'agriculture et du développement rural et de la pêche
MLG	Multilocus Genotype
MLL	Multilocus Lineage
n	Nombre d'isolats
n.s	Non significatif
P	Probabilité
PPA	Petit Pois Agar
QTL	Quantitative Trait Locus
R	Indice de richesse
RFLP	Restriction Fragments Length Polymorphism
RG57	Sonde nucléique
RH	Réaction d'hypersensibilité
SAU	Surface Agricole Utile
SCE	Somme Carré des Ecart
SSR	Simple Sequence Repeat
Test F	F critique
USA	Unated States of America

LISTE DES UNITES DE MESURE

µl	microlitre
µm	micromètre
C°	degré Celsius
ha	hectare
hg/ha	hectogramme
J	jour
km	kilomètre
m	mètre
m²	mètre carré
ml	millitre
mm	millimètre
mm²	millimètre carré
pH	potentiel hydrogène
ppm	part
q/ha	partie par million
t	tonnes

Table des matières

Liste des tableaux	I
Listes des figures.....	II
Listes Abréviations	III
Introduction.....	1
I. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1. La culture de la tomate	5
I.1.1. La tomate dans le monde	5
I.1.2. La tomate en Algérie	6
I.1.2.1. Répartition de la culture de la tomate en Algérie	7
I.1.2.2. Les variétés de tomate cultivées en Algérie	7
I.1.3. Origine géographique	8
I.1.4. Description botanique	8
I.1.5. Exigences de la culture	10
I.1.6. Principaux ravageurs et maladies	9
I.2. Le mildiou (<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary	11
I.2.1. Origine et historique de l'agent pathogène	11
I.2.2. Position taxonomique	12
I.2.3. Description morphologique	12
I.2.4. Trait de vie de l'agent pathogène	13
I.2.5. Symptômes	15
I.2.6. Facteurs climatiques favorisant le développement du <i>P. infestans</i>	15
I.3. Caractérisation génotypique et phénotypique de <i>P. infestans</i>	17
I.3.1. Marqueurs génotypiques	17
I.3.1.1. Marqueurs SSR	17
I.3.2. Marqueurs phénotypiques	18
I.3.2.1. Mating type	18
I.3.2.2. Virulence	18
I.3.2.3. Agressivité	18
I.3.2.4. Réponse à différentes gamme de température	19
I.3.2.5. Résistance au métalaxyl	19
I.4. Génotypes ancestraux et les différentes migrations	19

I.5. Géotypes actuels existants dans le monde	20
I.6. Spécialisation parasitaire du <i>P. infestans</i>	21
I.7. Méthodes de lutte contre le mildiou	22
I.7.1. Mesures préventives	22
I.7.2. Lutte chimique	22
I.7.3. Résistance variétale	23
I.7.3.1. Résistance spécifique	23
I.7.3.2. Résistance non spécifique	23
I.7.3.3. Résistance non hôte	24
II. MATERIELS ET METHODES	
II.1. Prospection et échantillonnage	25
II.2. Isolement	28
II.3. Caractérisation génotypique (méthode SSRs)	29
II.3.1. Extraction d'ADN	29
II.3.2. PCR (Polymerase Reaction Chain)	30
II.3.4. Analyse des données génétiques	31
II.4. Caractérisation Phénotypique	32
II.4.1. Détermination du type de compatibilité sexuée (Mating type)	32
II.4.2. Etude du niveau de résistance des isolats à l'égard du fongicide (Metalaxyl)	33
II.4.2.1. Incorporation des doses du fongicide dans le milieu de culture	34
II.4.2.2. Lecture et notations des résultats	34
II.4.3. Effet de la température (<i>in vitro</i>) sur la croissance mycélienne des isolats de <i>P. infestans</i>	35
II.4.4. Étude de la spécialisation parasitaire des isolats de <i>P. infestans</i> sur les deux plantes hôtes tomate et pomme de terre	35
II.4.4.1. Matériel végétal	36
II.4.4.2. Matériel fongique	36
II.4.4.3. Préparation de l'inoculum	39
II.4.4.3.1. Pré-inoculation	39
II.4.4.3.2. Inoculation croisée	39
II.4.4.4. Lecture et notations des résultats	40
II.5. Résistance variétale à l'égard de <i>P. infestans</i>	42
II.5.1. Evaluation de la résistance des variétés de tomates sous abri serre	42
II.5.1.1. Situation et caractéristiques de lieu d'expérimentation	42

II.5.1.2. Matériel végétal	43
II.5.1.3. Dispositif expérimental	43
II.5.1.4. Conduite de l'essai	43
II.5.1.5. Notations des symptômes.....	45
II.5.2. Evaluation de la résistance des variétés en conditions contrôlées	46
II.5.2.1. Matériel végétal	46
II.5.2.2. Matériel fongique	46
II.5.2.3. Préparation de l'inoculum	47
II.5.2.3.1. Pré-inoculation	47
II.5.2.3.2. Inoculation	47
II.5.2.4. Lecture et notations des résultats	47
II.6. Analyse statistiques des résultats	48

III. RESULTATS ET DISSCUSSION

III. 1. Diversité génétique	49
III.1.1. Polymorphisme des SSR au niveau de la population	49
III.1.2. Classification de la population en MLLs (Lignée clonale) et en MLGs (sous population)	50
III.1.3. Etude de la structure de la population	52
III. 2. Caractérisation phénotypique des isolats	56
III. 2.1. Détermination du type de compatibilité sexuée (Mating type) des isolats collectés	56
III.2.2. Niveau de résistance exprimé par quelques génotypes de <i>P. infestans</i> à l'égard du metalaxyl.....	56
III.2.3. Effet de la temperature sur la croissance mycélienne des isolats	60
III.2.4. Etude de la spécialisation parasitaire sur les deux plantes hôtes (tomate et pomme de terre)	64
III.2.4.1. Evaluation de l'agressivité des différents génotypes selon les deux hôtes	64
III.2.4.2. Expressions de la virulence spécifique des différents isolats selon leurs hôtes d'origine	66
III.3. Evaluation de la résistance de quelques variétés de tomates sous serre et en conditions contrôlées à l'égard du mildiou	69
III.3.1. Comportement variétal de la tomate (sous serre) à l'égard du mildiou	69
III.3.1.1. Pourcentage de destruction foliaire	69

III.3.1.2. Evaluation du comportement variétél selon l’AUDPC (Area Under the disease progress curve)	71
III.3.2. Comportement variétal de la tomate en conditions contrôlées à l’égard du mildiou	72
III.3.3. Corrélation entre le comportement des variétés sous serre et en conditions contrôlées	76
III.4. Discussion	77
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	86
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	
COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS	
RESUME	

INTRODUCTION



INTRODUCTION GENERALE

La tomate (*Solanum lycopersicum* L.) est une culture importante cultivée dans le monde entier dans les climats tropicaux à tempérés. C'est le deuxième légume le plus consommé après la pomme de terre (Sadashiva et *al.*, 2016 ; Kalia et Palanisamy, 2014). La tomate appartient à la famille des Solanacées qui comprend plus de 3000 espèces trouvées dans différents habitats (Knapp et Peralta, 2016). Les espèces sauvages de tomates sont indigènes de la région ouest d'Amérique du sud (Tahira et *al.*, 2008).

La tomate au même titre que la pomme de terre occupe une place très importante dans l'économie agricole Algérienne, comme c'est une plante des régions tempérées celle-ci est cultivée durant toutes les saisons de l'année et s'adapte à tous les étages bioclimatiques de notre pays, y compris les oasis du sud. En raison de l'importance de cette plante sur le plan nutritionnel et diététique, le ministère de l'agriculture et du développement rural a établi de nombreux programmes nationaux en sa faveur, afin de remédier aux éventuels déficits, par l'introduction de nouvelles techniques de production ayant permis d'améliorer les rendements durant ces dernières années par rapport aux années précédentes. Ces améliorations ont vu les superficies augmentées de 20 079 en 2007 à 22 556 en 2016, soit un accroissement de 2 483 ha. La production a doublé durant ces dernières années, celle-ci est passée de 567 313 tonnes en 2007 à 1 280 570 en 2016 (FAO, 2016).

La culture de la tomate est répartie en quatre grandes zones de production en Algérie : l'est : (Skikda, El-Taref, Annaba, Guelma, et Jijel), le centre (Blida, Alger, Boumerdes, Béjaïa, Chlef, Tipaza et Ain Defla), les régions de l'Ouest (Rélizane, Mostaganem, Mascara, Aïn temouchent, Sidi-Bel-Abbès et Tlemcen) et enfin la région du Sud : (Adrar et Biskra). Selon les saisons de l'année cette culture est menée soit en plein champs ou sous serre, le choix des variétés est très important selon le mode de croissance et l'orientation de la production soit vers la consommation fraîches ou bien orientée vers l'industrie afin de produire de la tomate conserve, jus ou autres....

Souvent la tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) et la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) sont cultivées dans le même environnement et subissent souvent les mêmes contraintes biotiques et abiotiques. Dans la plupart des cas ces deux cultures hébergent les mêmes parasites qui se déplacent d'un hôte à un autre. Parmi les maladies les plus redoutables, le mildiou causé par *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary est connu par les anglo-saxons

sous le nom de « Late blight ». Ce pathogène est un Oomycète, hémibiotrophe presque obligatoire dans les conditions naturelles et agricoles (Fry, 2008).

Ce pathogène est originaire du Centre du Mexique plus précisément de la vallée Toluca, où il a été détecté pour la première fois sur la côte Est Américaine en 1843 (Griffith, 2007). Ensuite, en Europe où il a fait son apparition dramatique en Irlande en 1845-46, entraînant une importante famine qui a provoqué la mort de plus d'un million et la migration de plus d'un million et demi de personnes vers l'Amérique (Erwin et Ribeiro, 1996). Plusieurs travaux de recherches ont été effectués dans le passé afin de préciser la nature et la biologie de l'agent causal. Anton de Bary en 1861 a démontré qu'un oomycète était l'agent responsable de cette maladie pour finalement le renommer *Phytophthora infestans* en 1876, cette dénomination est resté inchangée depuis plus d'un siècle (Griffith, 2007).

Sur le plan reproduction cet oomycète, est hétérothallique avec deux formes sexuées (A1, A2) et parfois auto-fertile (Mizubuti et Fry 2006). Lorsque les deux types d'accouplement, A1 et A2, se rencontrent dans le même environnement, il en résulte la production de la forme sexuée qui est l'oospore (Goodwin, 1997; Fry, 2008). Les cycles de reproduction asexués sont responsables d'épidémies dévastatrices par la reproduction des sporanges qui peuvent germer directement (pour produire un tube germinatif) ou indirectement par la libération des zoospores (Fry et al, 2015). Dans des conditions climatiques fraîches et humides, le mildiou est une maladie très dommageable pour la tomate, une culture infectée par ce pathogène peut être complètement anéantie au bout de 7 à 10 jours causant ainsi de graves pertes économiques qui se caractérisent par une diminution du rendement suivi d'une réduction de la qualité de la production sans compter les couts élevés des fongicides et des méthodes de lutte. Cette maladie attaque toutes les parties aériennes de la plante, les tubercules chez la pomme de terre et les fruits chez la tomate. Elle peut se déclencher à n'importe quel moment de la saison, lorsque les conditions de températures et d'humidité sont favorables.

Une grande partie des travaux de recherche sur le mildiou (Beninal et al., 2008 ; Corbière et al., 2015 ; Rekad et al., 2017), en Algérie comme à l'échelle mondiale a été consacré au cas de la pomme de terre, même si dans les systèmes agricoles méditerranéens, les cultures de tomate occupent une place importante et coexistent souvent avec celles de la pomme de terre. En Algérie, la culture de la tomate (maraîchère et industrielle) occupe une superficie de 22 556 ha avec une production qui a atteint les 1 280 570 de tonnes (FAO, 2017). Malgré les potentialités que possède l'Algérie en matière de ressources naturelles, les rendements

demeurent assez éloignés de ceux enregistrés dans d'autres pays méditerranéens producteurs de tomate (Tunisie, Maroc, Espagne, France, Italie), dont les rendements varient entre 350 et 1500 Qx/ha (FAO, 2008). Cependant, cette culture connaît beaucoup de désordres sur le plan cultural et phytosanitaire où le mildiou, figure parmi les principales contraintes avec des pertes pouvant atteindre jusqu'à 50 % de la récolte comme rapportées durant la campagne agricole 2010- 2011.

L'amélioration du contrôle de la maladie requiert une bonne connaissance de la composition de populations pathogènes présentes, et en particulier une évaluation de leurs caractéristiques génétiques, de leur pouvoir pathogène et des risques de transmission entre différentes cultures.

Objectifs de la thèse :

Considérant, les données antérieures acquises sur les populations présentes sur pomme de terre en Algérie, nous avons orienté notre thèse sur les populations infectant les cultures de tomate, en travaillant autour de quatre grands axes :

Première partie : décrire la structure des populations présentes sur les cultures de la tomate, autour de la région d'Alger, notamment dans d'autres zones à proximité comme la wilaya de Tipaza et de Boumerdès. Par la suite, une collection de souches de *P. infestans*, a été établie comportant des isolats collectés de 2010 jusqu'à 2016. Ces, isolats ont été caractérisés génétiquement via des empreintes moléculaires (SSR) afin de connaître les différentes lignées clonales existantes en Algérie sur la culture de la tomate et d'analyser leur répartition au cours du temps et entre zones de culture en une même année. Comparer les données génotypiques avec d'autres pays méditerranéens ou plus éloignés (USA).

Dans une deuxième partie , identifier les propriétés biologiques des isolats de *P. infestans* collectés à partir de la tomate en caractérisant leurs types sexuels (A1 ou A2) par le test de compatibilité sexuée (Mating type) et étudier leur niveau de résistance à l'égard du fongicide le plus utilisé contre le mildiou dont la matière active est le Metalaxyl afin d'identifier d'éventuels génotypes ou souches ayant développé une résistance à l'égard de cette matière active. Identifier leurs caractéristiques écologiques, comme la tomate est une culture des régions tempérées chaudes, celle-ci doit abriter des populations pathogènes ayant les mêmes exigences thermiques ou ayant une grande plasticité à s'adapter aux hautes températures à cet effet, nous avons effectué des tests dans différentes gammes de températures afin de tracer les

courbes de température pour voir les variations intra clonales et entre génotypes au sein de la population en matière d'exigence thermique par rapport à leur développement.

Dans une troisième partie, comparer entre les symptômes occasionnés sur la tomate et sur la pomme de terre et voir l'existence d'une éventuelle spécialisation parasitaire en comparant entre l'agressivité sur les deux hôtes en utilisant plusieurs isolats appartenant à différents génotypes. Les tests ont été effectués sous des conditions contrôlées au laboratoire.

Enfin dans la quatrième partie : évaluation de la résistance variétale de quelques lignées ayant une bonne valeur agronomique sous serre et identifier leur niveau de résistance à l'égard du mildiou en effectuant une estimation par rapport au taux de destruction foliaire et en calculant par la suite l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve). Ces résultats obtenus sous serre ont été vérifiés au laboratoire par le test d'inoculation artificielle sur folioles détachées en conditions contrôlées. Ce test est effectué dans le but d'une éventuelle perspective d'une lutte génétique par l'utilisation de variétés résistantes.

I. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE



I. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. La culture de la tomate

I.1.1. La tomate dans le monde

La tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) est la deuxième culture légumière la plus importante après la pomme de terre. La production mondiale actuelle est d'environ 177 millions de tonnes de fruits frais sur une superficie totale de 4,7 millions d'hectares (FAOSTAT, 2017).

Selon le tableau 1, les deux premiers pays producteurs mondiaux sont la Chine qui représente 31,87 % de la production mondiale suivie de l'Inde avec 10,39%. Ces deux pays produisent plus de 10 millions de tonnes de tomates chaque année. Les USA occupent le troisième rang mondial. Toutefois, de nombreux pays tels que la Turquie, l'Égypte, l'Italie et l'Espagne, produisent chaque année plus d'un million de tonnes de tomates (FAOSTAT, 2017).

En Afrique, l'Égypte est en tête des pays producteurs, avec plus de 7,9 millions de tonnes. Les pays voisins tels que la Tunisie et le Maroc produisent également plus d'un million de tonnes par an. Cependant, le Maroc reste le seul pays africain qui tire avantage de l'attractivité du marché européen avec 87% des exportations vers l'Europe (Blancard et *al.*, 2009). Le bassin méditerranéen représente la zone principale de production du continent africain vue l'importante consommation de la tomate durant toutes les saisons de l'année (Blancard et *al.*, 2009).

Tableau 1 : Les principaux pays producteur de la tomate du monde (FAOSTAT, 2017).

Pays	Surface cultivée (ha)	Rendement (hg/ha)	Production (tonnes)
Chine	1 003 992	561 995	56 423 811
Inde	760 000	242 092	18 399 000
USA	144 410	902 874	13 038 410
Turquie	188 270	669 252	12 600 000
Egypte	199 712	397 737	7 943 285
Italie	103 940	619 353	6 437 572
Espagne	54 203	861 917	4 671 807
Tunisie	22 190	587 201	1 303 000
Maroc	15 239	807 943	1 231 248

I.1.2. La tomate en Algérie

La tomate, au même titre que la pomme de terre, occupe une place très importante dans le système maraîcher en Algérie. Elle est cultivée durant toutes les saisons de l'année et s'adapte à tous les étages bioclimatiques de notre pays. Celle-ci occupe 8,4 % de la SAU (surface agricole utile) (MADR, 2013).

La culture de la tomate a connu une forte extension durant ces dernières années en raison de l'intérêt particulier que portent les agriculteurs à cette Solanacée. Ainsi, les superficies ont augmenté de 20 079 ha en 2007 à 22 556 ha en 2016, soit un accroissement de 2 483 ha. La production a doublé durant ces dernières années, celle-ci est passée de 567 313 tonnes en 2007 à 1 280 570 en 2016 (FAO, 2017). La production est subdivisée en trois catégories : 18 % représente la tomate fraîche cultivée sous serre, 42 % tomates fraîches cultivées en plein champ et enfin 40% sont réservées à la tomate industrielle (Messak, 2014).

L'augmentation de la production de la tomate a été favorisée par les nombreux programmes nationaux réalisés en sa faveur par le ministère de l'Agriculture et du développement rural, en plus de l'introduction de nouvelles techniques de production ayant permis des rendements élevés par rapport aux années précédentes (MADR, 2013). Malgré les potentialités que possède l'Algérie en matière de ressources naturelles par rapport aux autres pays du bassin méditerranéen, celle-ci est loin d'enregistrer des rendements conséquents comparativement à la Tunisie, le Maroc, l'Espagne, la France et l'Italie (Snoussi, 2010).

Tableau 2 : Evolution des superficies, de la production et des rendements, de la culture de la tomate en Algérie depuis 2007 à 2016 (FAOSTAT, 2017).

Année	Superficies (ha)	Production (t)	Rendements (q/ha)
2007	20 079	567 313	282,54
2008	19 655	559 249	284,53
2009	20 789	641 034	608,35
2010	21 358	718 235	336,28
2011	20 575	771 606	375,02
2012	21 542	796 963	369,95
2013	22 497	975 075	433,42
2014	22 646	1 065 609	470,55
2015	24 065	1 163 766	483,59
2016	22 556	1 280 570	567,72
2017	23 977	1 286 286	536,46

I.1.2.1. Répartition de la culture de la tomate en Algérie

Selon les données du MADR (2013), la tomate est cultivée sur tout le territoire national, y compris les oasis du sud du pays. Au nord, elle occupe deux grandes régions agro-écologiques à savoir : les régions littorales et les plaines sub-littorales.

Les régions littorales sont caractérisées par des hivers très doux et un taux de précipitation de 1000 mm par an. Dans ces zones les sols très légers favorisent le développement des cultures maraîchères. Les plaines sub-littorales se caractérisent par des sols lourds et de grands périmètres irrigués. Parmi ces régions, nous avons tout d'abord celles de l'est où la tomate industrielle est principalement cultivée dans ces wilayas ; Skikda, El-Taref, Annaba, Guelma, et Jijel. Ainsi, 84 % des superficies sont réservées à la culture de la tomate (Bouزيد et Bedrani, 2013 ; Rekibi, 2015). Au niveau du centre, les wilayas de Blida, Alger, Boumerdes, Béjaïa, Chlef, Tipaza et Ain Defla sont considérées parmi les principales régions de la production. Elles représentent 12 % des superficies réservées à la culture maraîchère. La zone de l'ouest regroupe les wilayas de Rélizane, Mostaganem, Mascara, Ain Timouchent, Sidi-Bel-Abbès et Tlemcen qui, représentent 2,7 % des superficies de la culture de tomate.

Au niveau des hauts plateaux, le climat est un facteur limitant aux cultures maraîchères de saison et d'arrière-saison. Cependant, la culture de la tomate tend à se développer durant ces dernières années (Rekibi, 2015).

Enfin la région Sud, les conditions climatiques ne représentent plus un obstacle aux cultures maraîchères depuis l'installation gratuite des forages et des systèmes d'irrigations, où souvent nous retrouvons des petites parcelles réservées à la culture de la tomate dans les oasis. Cependant, les grandes zones de production sont représentées par la wilaya d'Adrar et en particulier Biskra qui détient la moitié de la production maraîchère algérienne, avec 100 000 abris-serres agricoles pour une production qui a atteint 2,8 millions de quintaux en 2012 (MADR, 2013).

I.1.2.2 . Les variétés de tomate cultivées en Algérie

Elles sont très nombreuses, et se différencient selon le mode de conduites culturales (sous serre ou en plein champ), selon la demande du marché (en frais ou pour la transformation industrielle) ou bien selon le mode de croissance déterminée ou indéterminée (Snoussi, 2010 ; MADR, 2013 ; Messak, 2014).

Au niveau des variétés à croissance indéterminée, la plante ne cesse de croître en hauteur jusqu'à épuisement des réserves. Par contre, les variétés à croissance déterminée s'arrêtent de

croître dès l'apparition de l'inflorescence terminale (Snoussi, 2010). Le Tableau 2 résume en général les variétés de tomates cultivées en Algérie.

Tableau 3 : Les principales variétés de tomate cultivées en Algérie

	Variétés à croissance indéterminée	Variétés à croissance déterminée
Variétés Hybrides	Actana , Agora, Akram ,Assala, Berbarine ,Bond Bouchra ,Boudour ,Carmello, Chourouk, Donjose, Doucen ,Khalida, Mondial , Mordjan, Nedjma ,Nissma ,Tafna, Tavira, Toufan, Tyerno ,Vernon, Zahra	Amely, Assila, Baheyia ,Chenoua , Doukkalia , El Khamar , Farouna, GS12, Hector, Hymar (Sahara), Joker, Karima , Lamantine ,Luxor, Noemy, Ouenza , Red Princess, Santiago, Super Red, Tomalet, Top 48 , Tover, Suzana, Zigana Zeralda
Variétés fixées	Saint Pierre	Marmande, Aicha
Les variétés les plus cultivées en Algérie	Actana, Agora, Bond, Nedjma ,Tafna, Tavira, Toufan, Tyerno, Zahra	Farouna, Joker, ,Luxor, Super Red, Tomalet, Top 48 , Suzana , Zigana, Zeralda

I.1.3. Origine géographique

Plantes indigènes de la région latine comprenant le Pérou, la Bolivie, l'Equateur, la Colombie et le nord du Chili (Bauchet et Causse, 2012). Elle a été domestiquée pour la première fois par les Indiens Mexicains « Azthèque » qui lui ont attribué le nom de « Xitomalt » qui est à l'origine actuel du mot tomate (Knapp et Peralta, 2016). Peu après la découverte du nouveau monde par Christophe Colomb vers le XVI^e siècle, cette plante accompagna les explorateurs espagnols lors de leur retour en Espagne. Elle prit ainsi le nom de « pome dei moro » (pomme mauresque), des écrits d'Italie qui remonte à 1544, ont mentionné que les premières appellations de la tomate étaient « pomo d'oro » qui veut dire pomme d'or, une indication que les premières espèces qui ont atteint le vieux monde étaient de couleur jaune (Brouwer et *al.*, 2006).

Cette espèce a été également introduite en Algérie par les cultivateurs espagnols « Tomateros », la première consommation de la tomate a débuté dans la région d'Oran en 1905 puis, s'étendit vers le centre pour atteindre par la suite le littoral algérois (Latigui, 1984).

I. 1.4. Description botanique

La tomate est une plante vivace cultivée comme annuelle, une dicotylédone appartenant à la famille des Solanacées, qui regroupe des espèces cultivées bien connues telles que la pomme de

terre, le tabac, l'aubergine et le poivre (Tahira et *al.*, 2008). Le genre *Solanum* renferme la tomate cultivée *Solanum lycopersicum* anciennement appelé *Lycopersicon esculentum* avec ses 13 parents qui renferment la tomate cerise *Solanum var cerasiforme* et d'autres espèces sauvages à savoir ; *Solanum arcanum* , *S. cheesmaniae* , *S. chilense* , *S. chmielewskii* , *S. corneliomulleri* , *S. galapagense* , *S. habrochaites* , *S. huaylasense* , *S. neorickii* , *S. pennellii* , *S. peruvianum* et *S. pimpinellifolium* (Kalia et Palanisamy, 2014). En outre, tous les membres de la section *lycopersicon* sont des espèces diploïdes étroitement apparentées ($2n = 24$) (Kimura et Sinha, 2008).

Comme le montre la figure 1, la tomate est une plante herbacée, avec un système racinaire qui comporte une racine principale pouvant atteindre plus de 50 cm de profondeur, à partir de laquelle se développent des racines latérales et adventives. La tige peut atteindre une longueur de 2 à 4 m, celle-ci est pleine, fortement poilue et globulaire. Les feuilles sont poilues et varient en taille et les fleurs sont de couleur jaune disposée en grappes. Le fruit est une baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre qui varie de 2 à 15 cm, variant du rouge, rose ou jaune à maturité. Les graines sont nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues de couleur beige ou brune et leur taille varie et de 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large (Naika et *al.*, 2005).



Figure 1 : Plante de la tomate (<https://www.pinterest.com/pin/828873506407456443/>)

I.1.5. Exigences de la culture

La tomate s'adapte à divers climats allant du climat tempéré au climat tropical chaud et humide (Naika et *al.*, 2005). Pour ce qui est sa température optimale, celle-ci se situe entre 21 et 25° C, en fonction du stade de la culture. Par conséquent, quelques degrés au-dessus de la température optimale entraînent une diminution de la nouaison. Aussi, une température de plus que 35°C affectera la germination, la floraison et le mûrissement de l'ensemble des fruits (Sadashiva et *al.*, 2016).

Quant à la lumière, celle-ci est exigeante en énergie lumineuse et un manque peut inhiber l'induction florale. La réduction de la lumière baisse le pourcentage de germination du pollen (Bamouh, 1999). Concernant, le sol, la tomate préfère les terres limoneuses profondes et bien drainées avec un pH compris entre 6 à 6,8 (Naika et *al.*, 2005 ; Kimura et Sinha, 2008).

Les besoins en eau de la culture de tomate évoluent selon l'environnement et le stade de développement de la plante. Un manque d'eau durant la phase de maturation des fruits destinés à la transformation est bénéfique pour leur qualité, qui se traduit par une augmentation du taux d'extraits secs (Sadashiva et *al.*, 2016).

Les éléments minéraux majeurs (N, P, K) jouent un rôle crucial dans le développement de la plante et une carence en azote peut se traduire par un feuillage vert clair, tandis qu'un excès peut induire une végétation abondante et un retard de maturation des fruits. En outre, le potassium est un facteur de qualité ; ses besoins augmentent dès le début de la récolte. Pour le phosphore bien que la plante ait besoin de quantités moindres par rapport aux deux éléments précédents, son importance est primordiale au niveau de l'enracinement, la fructification et la précocité de la production (Fadl et Chtaina, 2010).

I.1.6. Principaux ravageurs et maladies

La tomate est une culture très sensible aux maladies qui peuvent être d'ordre biotiques ou abiotiques, provoquant ainsi des perturbations au niveau du végétal qui se traduisent par des symptômes visibles, une diminution de la vigueur et de la production chez la plante (Déclert, 1990 ; Sadashiva et *al.*, 2016).

Les causes biotiques des maladies sont dues à plusieurs bioagresseurs à savoir : les champignons, les bactéries, les virus, les insectes, les nématodes et autres ravageurs (Reddy, 2016). En outre, les facteurs abiotiques peuvent également avoir des effets négatifs sur la croissance de la plante et la productivité de la culture ; ces facteurs sont en relation avec les changements environnementaux tels que les températures extrêmes, la sécheresse, l'excès en eau

, la toxicité des métaux lourds, la salinité et le stress oxydatif, à rajouter les carences en éléments majeurs comme le N, P, K et les éléments mineurs tels que ; B, Ca, Fe, Cu, Mg, Mn, Mo, S, Zn (Baire et *al.*, 2010 ; Sadashiva et *al.*, 2016).

I.2. Le mildiou (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary)

I.2.1. Origine et historique de l'agent pathogène

Le centre du Mexique plus précisément la vallée Toluca est considérée comme le centre d'origine de ce pathogène, ces deux formes sexuées (A1 et A2) existent depuis 1960 en un même ratio. La population est très diverse sur le plan génotypique et phénotypique en cette partie du monde. Cette région renferme également, un grand nombre de Solanacées sauvages et cultivées considérées comme des espèces hôtes. Cependant, parmi ces espèces, certaines possèdent des gènes de résistance à l'égard du *Phytophthora infestans* (Niederhauser, 1991 ; Goodwin et Drenth, 1997; Grünwald et *al.*, 2001). Au niveau du centre d'origine, il existe aussi d'autres espèces endémiques du genre *Phytophthora* comme *P. mirabilis*, *P. ipomoeae* et *P. phaseoli* (Grünwald et Flier, 2005).

Une étude récente, basée sur des comparaisons entre des populations du Mexique et des Andes utilisant des marqueurs SSR, ont confirmé que le Mexique est le centre d'origine puisque la population qui se trouve en cette partie du monde, est très diverse et se reproduit par voie sexuée contrairement aux Andes (Goss et *al.*, 2014).

Le mildiou a été détecté pour la première fois sur la côte Est Américaine en 1843 (Griffith, 2007). Ensuite, en Europe, cette maladie a fait son apparition dramatique en Irlande en 1845-46, provoquant une grande famine qui a entraîné la mort de plus d'un million d'habitants ainsi que la migration de plus d'un million et demi de personnes (Etrivon, 1996 ; Erwin et Ribeiro, 1996 ; Fry et Goodwin, 1997 ; Strange, 2003). Beaucoup de travaux de recherche ont été menés dans le passé afin de préciser la nature et la biologie de l'agent causal (Semal, 1995). Tout d'abord, le pathogène a été décrit comme étant *Botrytis infestans* par Jean Montagne dans le milieu du 19^{ème} siècle (Mizubuti et Fry, 2006). En 1861, après quinze années de recherches Anton de Bary a démontré que l'agent est un oomycète responsable de cette maladie et a publié ses recherches sur le cycle biologique du pathogène pour finalement le renommer *Phytophthora infestans* en 1876 ; cette dénomination est restée stable depuis plus d'un siècle (Griffith, 2007).

I.2.2. Position taxonomique

Le mildiou était perçu comme une maladie fongique, mais le genre *Phytophthora* n'a aucun lien de parenté avec les vrais champignons (Björn, 2007). Ce pathogène est actuellement considéré comme un Oomycète appartenant au règne des Chromista ou Straminopila (Nelson, 2008). Les Oomycètes diffèrent des champignons supérieurs par leur mycélium coenocytique non-septé, par leurs parois cellulaires qui contiennent de la cellulose au lieu de la chitine qu'on ne retrouve pas chez les champignons supérieurs (Björn, 2007). Au cours de leur cycle de vie, les Oomycètes, forment des spores mobiles (zoospores) munis de deux flagelles, celles-ci les rendent mobiles et capables de nager. Cette caractéristique peut être vue comme une indication d'une origine aquatique. Les Oomycètes du genre *Phytophthora* n'ont pas la capacité de synthétiser des stéroïdes et de la thiamine comme les vrais champignons (Erwin et Ribeiro, 1996).

D'après Kirk et al, (2008), la classification de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary est établie comme suit :

Règne : Chromista ou Straminopila

Phylum : Oomycota

Classe : Peronosporae

Ordre : Peronosporales

Famille : Peronosporaceae

Genre : *Phytophthora* de Bary.

I.2.3. Description morphologique

Le *Phytophthora infestans* possède un mycélium coenocytique hyalin à développement endogène, celui-ci attaque les cellules vivantes, dans lesquelles il forme des suçoirs (Lepoivre, 2003). De plus, cet Oomycète est hétérothallique, avec deux types d'accouplement (A1 ou A2), qui produit des sporanges citriformes qui renferment à leur tour des spores mobiles ciliées qu'on appelle zoospores. Lorsque ce pathogène se reproduit sexuellement, une spore à paroi épaisse (oospore) est formée (Mizubuti et Fry 2006). Les oospores sont de forme apleurotiques avec un diamètre en moyenne d'environ 30 µm. D'après Gallegly et Hong (2008), les organes de reproduction sexuée ou oogones sont globuleux et mesurent en moyenne 37µm de diamètres telles que les anthéridies qui sont généralement allongées, mesurant environ 23 x 18µm (Gallegly

et Hong, 2008). Ces structures sexuelles (anthéridies et oogones) sont diploïdes et ont des parois cellulaires riches en glucanes (Mizubuti et Fry, 2006).

I.2.4. Trait de vie de l'agent pathogène

Le *P. infestans* est un Oomycète hétérothallique et un organisme hemibiotrophe en condition naturelle ou en plein champ (Fry, 2008). Le cycle asexué du pathogène est initié tout d'abord par la dissémination des sporanges ou des fragments de mycélium par le vent ou la pluie à partir des organes des plantes infectées, ces sporanges atteignent l'hôte sensible. Si les températures sont élevées entre 20°C et 25°C, les sporanges germent directement via des tubes germinatifs et pénètrent dans l'organe du végétal. Cependant, si les températures sont basses entre 10° et 15°C les sporanges libèrent des zoospores qui s'enkystent et forment une paroi qui libère des glycoprotéines adhésives qui facilitent la liaison à la surface des plantes, le tout se fait en une minute environ. Après environ 2 heures, chaque kyste étend un tube germinatif qui gonfle pour former ensuite, un appressorium sur les surfaces hydrophobes, telle que la cuticule des plantes (Fry, 2008 ; Judelson et al., 2008 ; Thorez, 2009). Le mycélium de l'agent pathogène pénètre dans les parois des cellules directement, envoie des suçoirs et se ramifie à travers les tissus internes de la plante, il détruit rapidement les cellules et conduit à l'élaboration de la nécrose caractéristique du symptôme du mildiou (Thorez, 2009).

Le cycle sexué est réalisé lorsque les deux types de compatibilité A1 et A2 sont présents dans le même tissu de la plante, les oospores peuvent être produites (Agrios, 2005). Ces oospores, sont probablement importantes pour la survie à long terme de l'agent pathogène dans le sol. Cependant, leur importance dans le cycle infectieux du pathogène n'a pas encore été définitivement fixé (Hausleten et München, 2006). Ces oospores peuvent à leur tour germer directement en produisant des sporanges qui libèrent soit des zoospores ou qui germent en produisant des tubes germinatifs (Gallegly et Hong, 2008). Grünwald et Flier (2005), affirment, que les oospores sont censées avoir deux fonctions principales dans le cycle de vie du *P. infestans*. D'abord, ils fournissent un moyen de survie et pourraient donc servir d'inoculum primaire pour le développement épidémique de la maladie. Deuxièmement, ils offrent un moyen de recombinaison sexuée. Conduisant à une variabilité et diversité génétique.

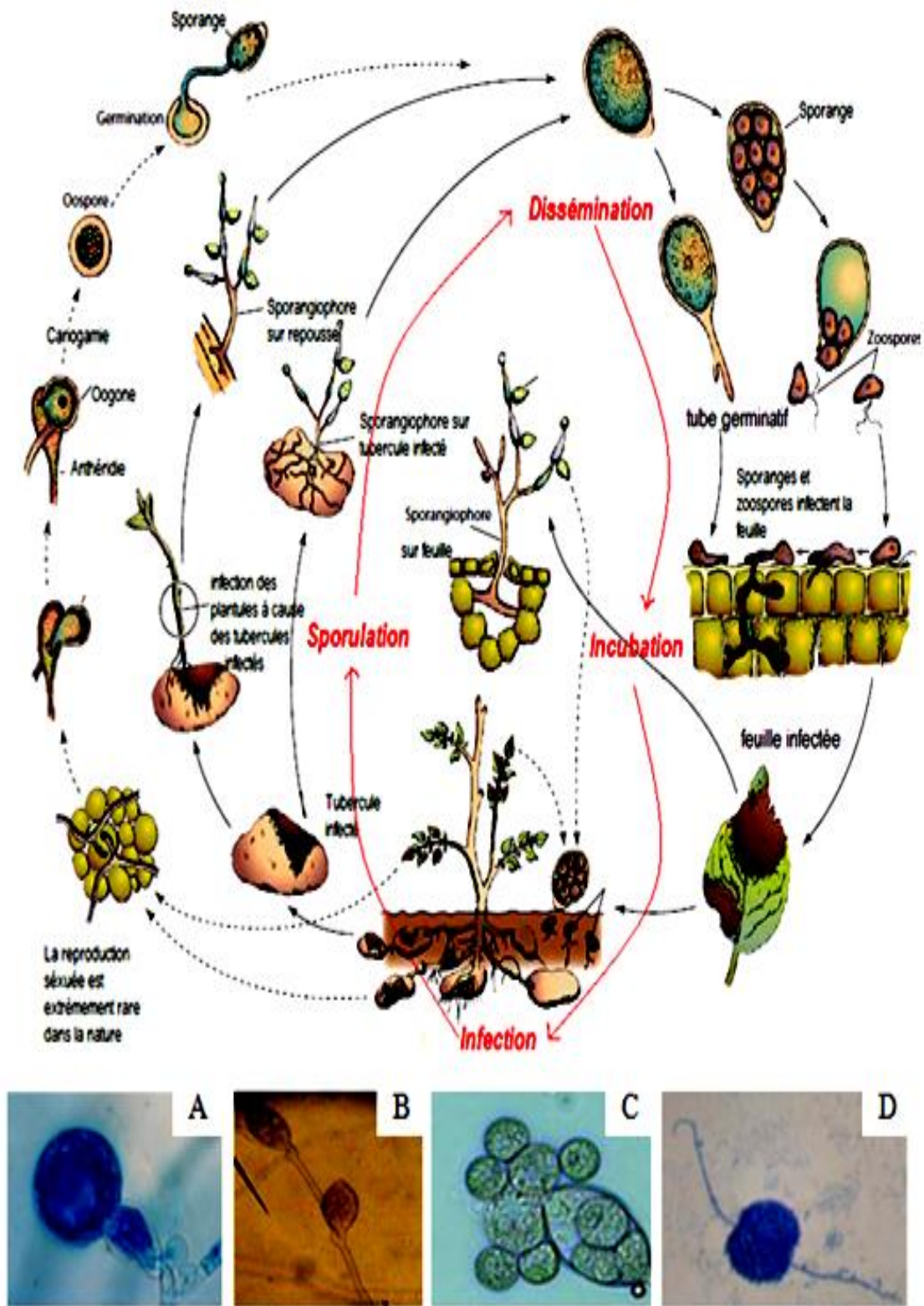


Figure 2 : Cycle de développement et de la maladie chez *P. infestans* d'après Agrios (2005).
 A : Oospore . B : Sporangie. C : Sporangie libérant des zoospores. D : Zoospore bicilié .
 (Photographies : R. Corbière, S. Belkhiter) .

I.2.5. Symptômes

Une culture attaquée par *P.infestans* peut être détruite au bout de 7 à 10 jours entraînant ainsi de grandes pertes économiques : baisse du rendement, détérioration de la qualité de la récolte, diminution la période de stockage et coûts élevés dûs à l'application des produits fongicides (Foulad et *al.*, 2012). Ce pathogène peut attaquer toutes les parties aériennes de la plante (feuilles, tiges, pétioles, fruits) et infecter aussi la semence de la tomate et les tubercules chez la pomme de terre (Nowicki et *al.*, 2013). Au niveau, du feuillage les lésions apparaissent comme des taches indéfinies, imbibées d'eau qui se développent rapidement en lésions vert pâle à brun noirâtre couvrant ainsi une grande partie de la foliole. Par temps humide, la partie abaxiale des folioles infectées est couverte d'un feutrage blanc souvent confondu avec la maladie de l'oïdium dont les spores apparaissent habituellement à la surface supérieure des folioles chez la tomate. La maladie progresse rapidement, le feuillage devient jaune puis brun et la plante s'enroule, se ratatine et meurt (Nelson, 2008). En outre, au niveau des fruits de la tomate, les lésions donnent des marbrures brunes sans avoir un aspect mou, et par la suite apparition d'un duvet blanc par temps humide (Griffith et *al.*, 1995 ;Nelson, 2008). Chez la pomme de terre cette maladie touche également les tubercules et réduit considérablement la qualité de la récolte et peut entraîner une perte totale de la production. Les tubercules infectés peuvent aussi représenter une source d'inoculum primaire pour la saison prochaine (Björn, 2007). Les tubercules contaminés par la maladie pourrissent rapidement pendant la période de stockage dû à des infections secondaires causées par le mildiou et par d'autres organismes de pourritures (Widmark, 2010).

I.2.6. Facteurs climatiques favorisant le développement du *P. infestans*

La propagation et la nuisibilité du mildiou est plus importante en conditions fraîches et humides. Dans les régions maritimes, le mildiou apparaît chaque année. Par contre dans les régions plus sèches, il est moins fréquent ou cause moins de dégâts (fig.2) (Platt, 2008). La température favorable au développement du pathogène est de 15°C à 25 °C ; à cette gamme de températures les sporanges sont produits dans les 14 heures qui suivent l'infection. Alors qu'à des températures basses entre (9 à 15°C), la production des sporanges est retardée jusqu'à 48 heures (Agrios, 2005). A des températures avoisinant 20 °C ou plus, les sporanges se détachent et germent en formant un hyphes en croissance, alors qu'à des températures plus basses à 12 °C ou moins, les sporanges subissent un clivage cytoplasmique pour produire des zoospores motiles (Deacon, 2006). La température optimale à la croissance du mycélium est d'environ 21 °C, même si une certaine croissance peut avoir lieu entre 2 à 30 °C. Toutefois, si les températures

augmentent et restent à environ 26 °C, le pathogène ne peut pas résister, ces hyphes meurent généralement en une semaine (Alexopoulos et al., 1996). Quant à l'humidité relative optimale, elle est de 100% et, un minimum de 9% pour la production de sporanges (Alexopoulos et al., 1996).

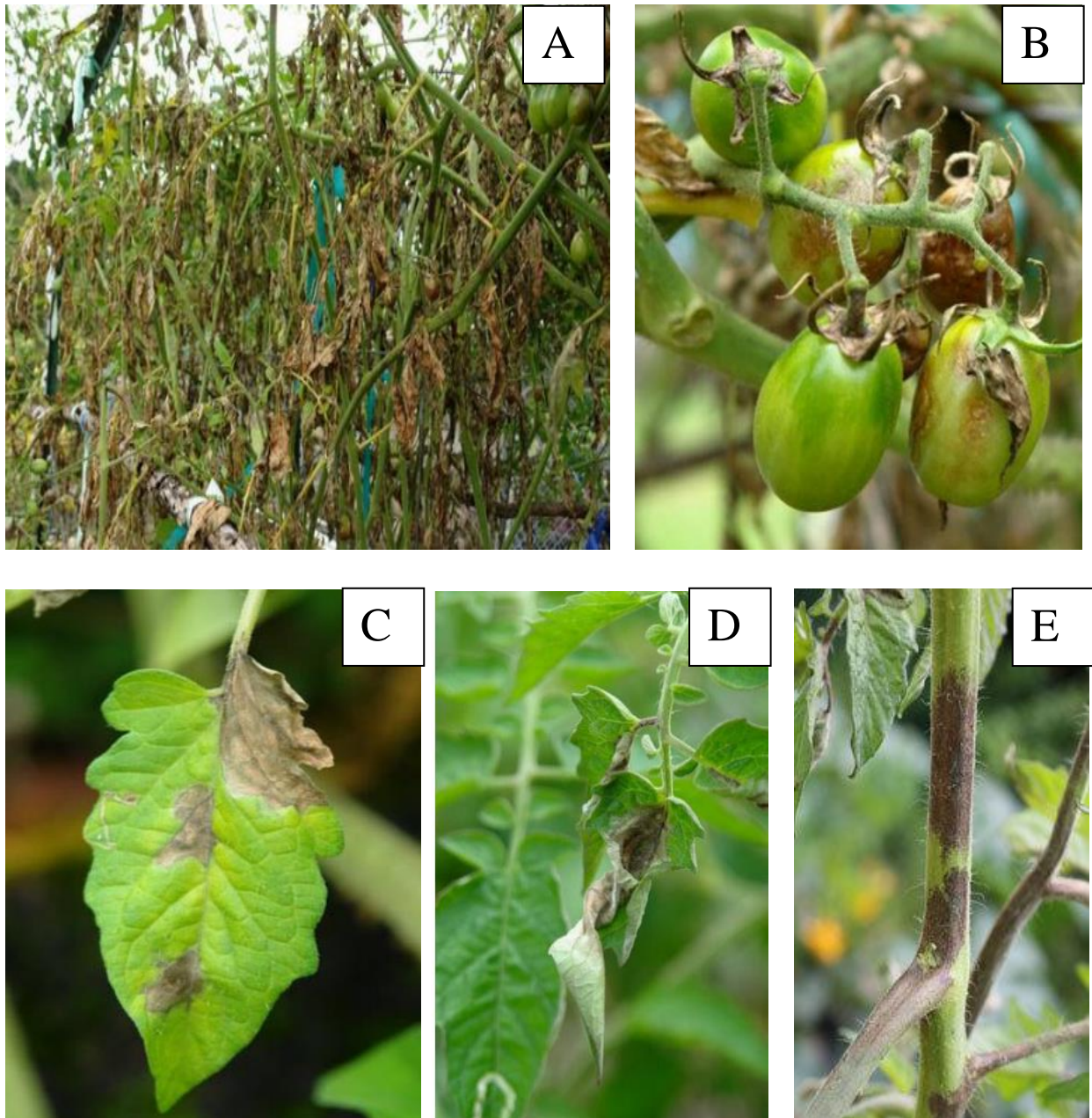


Figure 3 : Symptômes de mildiou sur différents organes de tomate .A : Champs complètement détruits par le *P. infestans*. B : Sur fruit. C : Sur folioles face supérieure. D : Sur folioles face inférieure. E : sur tiges (Photographie : Nelson, 2008).

I.3. Caractérisation génotypique et phénotypique de *P. infestans*

Les lignées clonales sont des descendants d'un seul individu, cependant des variations peuvent survenir chez une population par mutations ou par des recombinaisons mitotiques. Des marqueurs génotypiques et phénotypiques ont été développés afin d'identifier les différentes variations au sein d'une population sur le plan morphologique, biochimique ou plus précisément au niveau de l'ADN. En d'autres parts, ces marqueurs peuvent nous fournir des informations importantes comme l'origine et la migration au sein d'une population (Cooke et Lees, 2004).

I.3.1. Marqueurs génotypiques

Des marqueurs caractérisant la variabilité génétique, et le polymorphisme dans certaines régions d'ADN d'une population sont principalement basés sur les lois de succession Mendélienne. Ces marqueurs ont été largement utilisés dans les années 80 dans plusieurs travaux tels que les isozymes (Tooley *et al.*, 1985), la RFLP (Polymorphisme de Longueur de Fragment de Restriction) utilisant la sonde RG 57 (Goodwin *et al.*, 1992 ; Forbes *et al.*, 1998), l'ADN mitochondriale et la détermination de l'haplotype (Griffith et Shaw 1998 ; Gavino et Fry 2002 ; Avila-Adame *et al.*, 2005) et enfin, les marqueurs SSR que nous avons utilisés dans notre travail afin d'identifier notre population de l'agent pathogène.

I.3.1.1 Marqueurs SSR

Les SSR sont actuellement les marqueurs moléculaires, les plus utilisés car ils présentent beaucoup d'avantages ; ils sont hautement polymorphes, reproductibles, neutres, co-dominants, et relativement faciles à interpréter par des logiciels (Li *et al.*, 2013). Initialement trois marqueurs (PiG11, Pi4B, Pi4G) ont été testés par Knapova et Gisi (2002), pour étudier les populations de *P. infestans* de Suisse et de France. Par la suite, 12 marqueurs (Pi02, Pi04, Pi16, Pi33, Pi56, Pi63, Pi66, Pi70, Pi89, Pi4B, PiG11, D13) ont été développés et testés pour étudier des populations de *P. infestans* d'Angleterre. Ceux-ci ont montré une diversité très importante sur 90 isolats, 68 génotypes ont été identifiés soit 2 jusqu'à 9 allèles par locus ont été observés (Lees *et al.*, 2006). D'autres marqueurs ont été rajoutés comme les PinfSSR2, PinfSSR3, PinfSSR4, PinfSSR6a, PinfSSR7, PinfSSR8 et PinfSSR11 (Li *et al.*, 2010), pour mieux détecter le polymorphisme au sein des sous populations du pathogène. L'analyse par SSR est relativement basée sur peu de marqueurs, les locus sont très variables et présente une longueur définie. Cette approche objective de «locus spécifique» facilite l'analyse des populations et des taxons tels que *P. infestans*. Les deux allèles co-dominants à un locus sont amplifiés ce qui

confère des résultats très fiables pour interpréter la variabilité génétique au sein d'une population (Cooke et Lees, 2004).

I.3.2. Marqueurs phénotypiques

Concernant *P. infestans*, il existe peu de caractères morphologiques pour décrire les isolats de ce pathogène. Parmi les caractères phénotypiques les plus étudiés sont le mating type, la résistance aux fongicides (Metalaxyl ou mefenoxam), la virulence, l'agressivité et les réponses des isolats à l'égard des différentes gammes de températures.

I.3.2.1. Mating type

L'essai de compatibilité sexuée est basé sur la confrontation d'un isolat inconnu avec des isolats de type sexué A1 et A2 testeurs qui sont connus, la production d'oospores peut être observée en dessous d'une boîte de Petri sous un microscope optique. Un isolat qui produit des oospores lorsqu'il est confronté avec un isolat du type A1 connu, est désigné par le type A2, et vice versa. Cette méthode est considérée comme fiable et a été largement utilisée (Cooke et Lees, 2004). La compatibilité sexuelle ou mating type chez le genre *Phytophthora* est indépendante de l'espèce, et toute confrontation entre une souche A1 et une souche A2 produit en principe des oospores, quelle que soit la position taxonomique des deux confrontants (Boccas, 1979).

I.3.2.2. Virulence

Le test de virulence consiste à inoculer un isolat sur une série de pomme de terre qu'on appelle gamme différentielle, chaque génotype contient un gène ou plusieurs gènes de résistance, les résultats consistent à voir s'il y a contournement de la résistance par les facteurs de virulence des races du pathogène (Cooke et Lees, 2004).

Chez la pomme de terre onze gènes (R1 à R11) de résistance au mildiou, ont été identifiés chez l'espèce sauvage *S. demissum* (César et al., 2011). De même, chez la tomate, des gènes de résistance ont été identifiés chez l'espèce *S. pimpinellifolium*; ces gènes sont *Ph-1*, *Ph-2*, *Ph-3*, *Ph-4*, *Ph-5* (McGrath, 2015).

I.3.2.3. Agressivité

Généralement ce test est effectué sur feuille détachée pour prédire le comportement de certains isolats en plein champ (Legard et al., 1995; Goth et Keane, 1997; Foulad et al., 2014). Le degré d'agressivité est caractérisé par plusieurs traits mesurables comme la taille des nécroses

le taux de sporulation, la période de latence et la période d'incubation, le test est effectué sous des conditions contrôlées (César et *al.*, 2011).

I.3.2.4. Réponse à différentes gamme de température

La température joue un rôle crucial dans la croissance du pathogène, la germination des sporanges et l'agressivité des isolats et peut affecter énormément la composition et la structuration de la population de *P.infestans* (Mizubuti et fry, 1998 ; Mariette et *al.*, 2016). Au Brésil il a été démontré que certains génotypes associés à la tomate US_1 avaient une température optimale plus élevée que les génotypes associés à la pomme de terre BR-1 (Maziero et *al.*, 2009). De même aux USA, les génotypes US_23, ont une large gamme de températures, et supportent mieux les hautes températures dans les régions chaudes par rapport aux autres génotypes ou lignées clonales (Seidl Johnson et *al.*, 2015).

I.3.2.5. Résistance au métalaxyl

Depuis son introduction en Europe en 1977, ce fongicide a été employé intensivement pour contrôler les maladies provoquées par les Oomycètes par conséquent, le *P.infestans* a développé une certaine résistance à l'égard des fongicides du groupe des phenylamides, dont le fongicide le plus important et le plus actif est le Metalaxyl (Lees et *al.*, 1999). Le Metalaxyl est un fongicide systémique ayant une activité préventive et curative contre les Oomycètes. Son rôle est essentiellement l'inhibition de la polymérisation d'ARN qui rentre dans la synthèse de l'ARN ribosomique, ce qui entraîne l'arrêt de la croissance mycélienne, la formation de l'appressorium et la sporulation (Mazakova et *al.*, 2011). De nombreux pays ont signalé que le taux des isolats résistants a augmenté énormément, depuis l'apparition du type sexué A2. En revanche, le développement de la résistance au Metalaxyl peut avoir une relation avec la distribution du type A2. Mais en fait, il n'y a aucune corrélation entre le niveau de résistance et le type sexué (Gisi et Cohen, 1996).

I.4. Génotypes ancestraux et les différentes migrations

Jusqu'au début du 20^{ème} siècle, *P. infestans* était considéré comme un organisme asexué car seul le type A1 était connu. Des prélèvements systématiques dans différents pays d'Europe, d'Asie, d'Amérique du Sud et du Nord ont montré, que les populations étaient globalement similaires, appartenant majoritairement à une seule lignée clonale US_1 de type sexuel A1, cette lignée étaient la plus dominante dans le monde jusqu'à la fin des années 1970 (Andrivon, 1996 ; Goodwin, 1997). Suite à la sécheresse qui a sévi en 1976 en Europe, ce qui a nécessité

l'importation de 25.000 tonnes de pommes de terre en provenance du Mexique, centre de diversification du *P.infestans* (Lepoivre, 2003). Peu après, le type A2 a fait sa première apparition en Suisse où des oospores de l'Oomycète ont été observées, inexistantes jusque-là en Europe (Hohl et Iselin, 1984). Le type A2 aurait migré à partir du Mexique via des tubercules infectés. Simultanément, on observa la diminution des anciennes souches A1 et leur remplacement progressif par de nouvelles souches A2 caractérisées par des marqueurs biochimiques (Lepoivre, 2003).

Des études plus récentes menées par Yoshida et *al* (2013), ont montré que la lignée clonale US_1 n'était pas l'ancêtre des génotypes existants aujourd'hui, ni responsable de la grande famine qui avait sévi en Irlande en 1845 comme l'avaient démontré plusieurs auteurs auparavant (Andrivon 1996 ; Goodwin, 1997). Et pour confirmer cette hypothèse, le génome de 11 anciens isolats a été séquencé, cet ADN a été extrait à partir d'anciens échantillons infectés et stockés dans des herbiers ; ces échantillons ont été récoltés d'Amérique du Nord, Europe, Irlande, Grande-Bretagne, à partir de 1845. Yoshida et *al* (2013), ont trouvé que les anciens isolats appartenaient à une seule lignée clonale qui montrait très peu de diversité génétique. Ces anciennes souches qu'on appelle HERB-1 sont différentes de la lignée US_1 considérée auparavant comme responsable de la grande famine en Irlande. En revanche, ces deux lignées dérivait d'un même ancêtre qui existait à l'extérieur du Mexique au début des années 1800. Et donc, l'hypothèse que la lignée clonale US_1 est le premier génotype qui s'est propagé dans le monde est rejetée.

I.5. Génotypes actuels existants dans le monde

En Afrique du Nord, plusieurs études basées sur la caractérisation génotypique ont montré l'existence de plusieurs génotypes ou lignées clonales. Au Maroc les deux types sexués ont été identifiés par Sedegui et *al* (2000) et Hammi (2003). En Egypte El Ganainy et *al* (2013), ont montré la présence de deux génotypes le EU_23_A1 et le EU_13_A2 isolés à partir de cultures commerciales de pomme de terre. En Tunisie Harbaoui et *al* (2014), a identifié un génotype particulier qui est le NA-01, celui-ci est différent des génotypes européens, et spécifique à l'Afrique du Nord.

En Afrique subsaharienne (Burundi, Kenya, Rwanda, Tanzanie, Ugeta, Malawi, Mozambique et Afrique du sud) seul le type A1 a été détecté et la population est dominée essentiellement par le génotype US-1 et quelques variants KE-1 (Pule et *al.*, 2013).

En Europe le EU_13_A2, est le principal génotype de *P.infestans* sur la pomme de terre (Cooke et al., 2012; Mariette et al., 2016; Chmielarz et al., 2014). Sur la tomate, la diversité génétique des populations du pathogène est très importante, l'EU_23_A1 représente le principal génotype suivi de quelques variants ou de rares MLGs non identifiés appelés « autres » ou « others ».

Aux USA de nouveaux génotypes US-22 et US-23 ont fait leur apparition à partir de 2009, ces deux lignées clonales ont provoqués de graves épidémies sur la pomme de terre et sur la tomate (Hu et al., 2012; Fry et al., 2013; Danies et al, 2013). Fry et al (2015) ont indiqué que l'US-23 est très agressif sur la tomate, alors que le génotype US-24 attaque uniquement la pomme de terre.

En Algérie plusieurs travaux de recherche ont porté sur les populations du mildiou de pomme de terre (Beninal et al., 2008; Cobrière et al., 2010; Corbière et al., 2015; Rekad et al.,2017).Toutefois, la tomate occupe aussi une place importante dans les systèmes agricoles Algériens, celle-ci est cultivée en hiver sous abri-serre et en été en plein champs , souvent les deux Solanacées sont cultivées dans la même région géographique, l'inoculum passe facilement d'un hôte à un autre, sur la pomme de terre les deux types sexués A1 et A2 du pathogène ont été rapportés alors que uniquement le type A1 a été retrouvé sur la tomate. Cette distinction entre les deux populations issues de tomate et de pomme de terre est liée probablement à l'existence d'une spécialisation parasitaire qui est à vérifier dans ce travail de thèse.

I.6. Spécialisation parasitaire du *P. infestans*

La gamme d'hôtes de *P. infestans* est principalement limitée aux espèces de Solanacées cultivées, les plus communes ; la tomate et la pomme de terre. Erwin et Ribeiro (1996), ont indiqué que la gamme d'hôtes de *P. infestans* ne se limitait pas uniquement à la famille des Solanacées mais aussi à d'autres familles botaniques comme l'érable (*Acer sp.*), la gloire du matin (*Ipomoea hederacea*), et la vergerette (*Erigeron multicaulis*) et plus de 90 espèces ont été recensées. En revanche, la morelle noire (*Solanum nigrum*) et la patate douce (*Ipomea batatas*) ne sont pas hôtes pour le mildiou (Nelson, 2008).

La spécialisation parasitaire de *P. infestans* a des conséquences épidémiologiques importantes dans les zones où deux, ou plusieurs hôtes potentiels poussent à proximité. Si l'inoculum peut passer facilement d'un hôte à l'autre, cela signifie que plus d'un hôte est cultivé ; les activités de gestion de la maladie doivent prendre en considération les différentes espèces d'hôtes (Erselius et al.,1997). La séparation géographique des hôtes pourrait théoriquement conduire à séparer les populations de pathogènes (Erselius et al., 1997). Toutefois, plusieurs études ont montré que

certains génotypes spécifiques, étaient associés à un seul hôte (Lebreton et Andrivon, 1998; Oyarzun et al., 1998; Vega-Sanchez et al., 2000 ; Knapova et Gisi, 2002 ; Danies et al., 2014). Alors que d'autres études ont montré qu'il n'existait pas de spécialisation parasitaire entre la population qui attaque la pomme de terre et celle de la tomate (Bletón-Díaz et al., 2012; Chen et al., 2008 ; Chowdappa et al., 2015 ; Stroud et al., 2016).

I.7. Méthodes de lutte contre le mildiou

P. infestans s'est adapté à toutes les mesures phytosanitaires prises depuis 150 ans et demeure toujours aussi répandu et nuisible à l'échelle mondiale (Platt, 2008). Plusieurs études, expérimentales ont démontré que l'agressivité de *P. infestans* a essentiellement augmenté durant les 20 dernières années (Cooke et al., 2011). Généralement une culture infectée par *P. infestans* peut être détruite au bout de 7 à 10 jours, entraînant ainsi de grandes pertes économiques (Foulad et al., 2012). Chez la tomate, les pertes au niveau des fruits peuvent atteindre de 41 à 100 % de pertes dans une culture non protégée et de 12 % à 65 % dans des parcelles traitées par des fongicides systémiques (Nowicki et al., 2012). Pour contrôler cette maladie plusieurs mesures ont été entreprises afin d'éliminer ou limiter les pertes causées par la maladie.

I.7.1. Mesures préventives

Ces mesures visent à réduire les sources d'inoculum primaires qui sont les tas de déchets, les repousses de pomme de terre et de tomate dans les champs, les semences infectées comme les tubercules (Deumier et al., 2004 ; Nowicki et al., 2013). En outre, les oospores dans le sol ou les débris de plantes jouent un rôle important dans le déclenchement de la maladie dans les populations sexuées (Kamoun et Smart, 2005).

I.7.2. Lutte chimique

Le programme intégré de gestion du mildiou et des maladies, incluse généralement une protection avec des fongicides certifiés. Souvent contre le mildiou, deux types de fongicides sont utilisés ; protecteurs et systémiques (Nowicki et al., 2013). Tout d'abord, les fongicides protecteurs sont appliqués avant que la maladie ne se déclenche (Bohl et al., 2003). Le produit le plus utilisé est la bouillie bordelaise dont la matière active est le sulfate de cuivre (Stannard et Haccart, 2001 ; Widmark, 2010), et autres matières comme le chlorothalonil, les dithiocarbamates et l'hydroxyde de triphénylétain (Nowicki et al., 2013). En second lieu les fongicides systémiques qui sont représentés par les phénylamides tels que le métalaxyl ou mefenoxam, les fongicides aliphatiques à l'azote tels que le cymoxanil et les fongicides

morpholine tel que diméthomorphe , ces matières actives inhibent et réduisent la progression de la maladie (Nowicki et *al.*, 2013). Cependant, l'utilisation abusive de ces fongicides peut induire le phénomène de résistance, comme le cas des phénylamides et plus précisément le métalaxyl/mefenoxam qui ont induit à la sélection de nouveaux génotypes très résistants (Gisi et Cohen, 1996). Cependant, beaucoup d'isolats appartenant à la forme sexuée A2 ont montré une résistance aux métalaxyl (Gisi et Cohen, 1996). Les bonnes pratiques de gestion de la maladie par les producteurs sont essentielles afin de réduire la pression de sélection et de prolonger l'efficacité des produits fongicides (Saville et *al.*, 2015).

I.7.3. Résistance variétale

La sensibilité ou la résistance au mildiou joue un rôle important dans ce choix de lutte. En effet, la résistance variétale facilite la maîtrise du mildiou et présente des avantages économiques et environnementaux par la réduction des intrants (Stannard et Haccart, 2001). Les résistances aux pathogènes sont traditionnellement classées en : résistance spécifique, résistance non spécifique, et résistance non hôte (Collon et Budding, 1988 ; Agrios, 2005).

I.7.3.1. Résistance spécifique

La résistance spécifique, aussi appelée (résistance qualitative, verticale, pathotypes-spécifique ou gène pour gène interaction) est basée sur la présence d'une résistance issue de gènes R majeures ou dominants qui sont simplement hérités en conformité avec la loi de Mendel. Chez la tomate il existe 5 gènes majeurs qui sont *Ph-1*, *Ph-2*, *Ph-3*, et *Ph-5*. Le gène *Ph-4*, a été identifié en Asie (McGrath, 2015). Tous ces gènes dérivent des espèces sauvages *Solanum pimpinellifolium*, *S. habrochaites* et *S. pennellii* ((Foolad, et *al.*, 2014). De même, pour la pomme de terre 11 gènes (R1 à R11) ont été identifiés d'espèces sauvages de *Solanum* et ensuite incorporé au sein des variétés cultivées. Ces gènes sont issus essentiellement de *S. demissum*, *S. etigena*, *S. bulbocastanum*, *S. berthaultii* et *S. nigrum microdontum* (Colon et *al.*, 1995 ; Niederhauser et *al.*, 1996 ; Van Der Lee, 2003). La résistance spécifique n'est efficace que contre certaines souches du pathogène, elle est facilement contournée par l'évolution rapide de l'agent pathogène, ce qui entraîne un manque de sa durabilité dans le champ (Turkesteen et Flier, 2003).

I.7.3.2. Résistance non spécifique

Ce type de résistance est également connu sous plusieurs termes (polygénique, résistance générale, horizontale, résistance quantitative). Cette dernière est contrôlée par plusieurs gènes

ou locus définis comme des QTL (Quantitative trait loci) où tous les gènes ont un effet additif à la résistance (Golas, 2010). Cette résistance confère souvent une protection partielle à toutes les races du pathogène, elle ralentit mais n'arrête pas la progression de la maladie. Cependant, l'inconvénient de la résistance polygénique est que celle-ci n'assure pas une protection suffisante à cause du cycle très réduit du pathogène (Collon et Budding, 1988 ; Nowicki et al., 2013). Chez la tomate plusieurs QTL ont été identifiés à partir d'espèces sauvages comme *Solanum pimpinellifolium* et notamment *S. habrochaites* où plusieurs accessions ont été sélectionnées pour leurs QTLs ayant montré un bon niveau de résistance au mildiou comme LA2099 et LA1777. Une autre accession LA716 dérivant d'une autre espèce sauvage *S. pennellii* a été également sélectionnée (Kalia et Palanisamy, 2014).

I.7.3.3. Résistance non hôte

En général la résistance non hôte est souvent considérée comme une solution attrayante pour les contraintes impliquées dans la résistance traditionnelle des gènes R et la résistance polygénique. Il y a de nombreux organismes pathogènes, mais chacun d'eux a un nombre limité de plantes ou d'espèces d'attaques. Une espèce végétale qui n'est pas affectée par certains agents pathogènes est considérée comme un non hôte pour ces agents pathogènes et la résistance exprimée est considérée comme une résistance non hôte (Turkesteen et Flier, 2003). Dans le cas du *P. infestans* la résistance non hôte se produit à l'égard d'espèces végétales, les plantes adventices sont d'excellents exemples de la résistance non hôte, comme *Arabidopsis*, qui est capable de croître dans les champs infectés. Un autre exemple particulièrement intéressant, un parent de la pomme de terre qui est la morelle noire (*S. nigrum*), qui survit dans les champs de pommes de terre infectés par *P. infestans* (Van West et Vleeshouwers, 2001). Des études cytologiques sur *Arabidopsis* et *S. nigrum* ont indiqué qu'une (RH) réaction d'hypersensibilité extrêmement rapide se produit lors de l'inoculation avec *P. infestans* (Vleeshouwers et al., 2000).

II.MATERIELS ET METHODES



II.MATERIELS ET METHODES

II.1. Prospection et échantillonnage

Pour l'échantillonnage, il nous était très difficile de retrouver du mildiou actif au niveau des cultures de tomate sous serre ou en saison de plein champ, comme c'est une maladie dévastatrice les agriculteurs utilisent souvent des traitements préventifs, la plupart des échantillons récoltés appartiennent à la tomate cultivée en plein champ d'arrière saison.

Sur plus d'une centaine de prélèvements d'échantillons nous avons pu isoler 105 souches de *P. infestans* (Tabl.4, Fig. 5) collectés dans les principales zones de production autour d'Alger et de Tipaza (100 km à l'ouest d'Alger) durant les périodes de novembre et décembre 2014 et 2015.

Certains isolats ont été échantillonnés à partir des essais sur terrain et sous abri serre au niveau de la station expérimentale de l'ENSA El Harrach collectés au cours de la période de 2010 et 2016.

94 isolats ont été obtenus à partir des échantillons de tomates infectées et 11 isolats ont été prélevés sur la pomme de terre en 2015, dont certains proviennent de Tipaza échantillonnés dans les mêmes parcelles, où se trouve la tomate et d'autres proviennent de la région de Boumerdes.

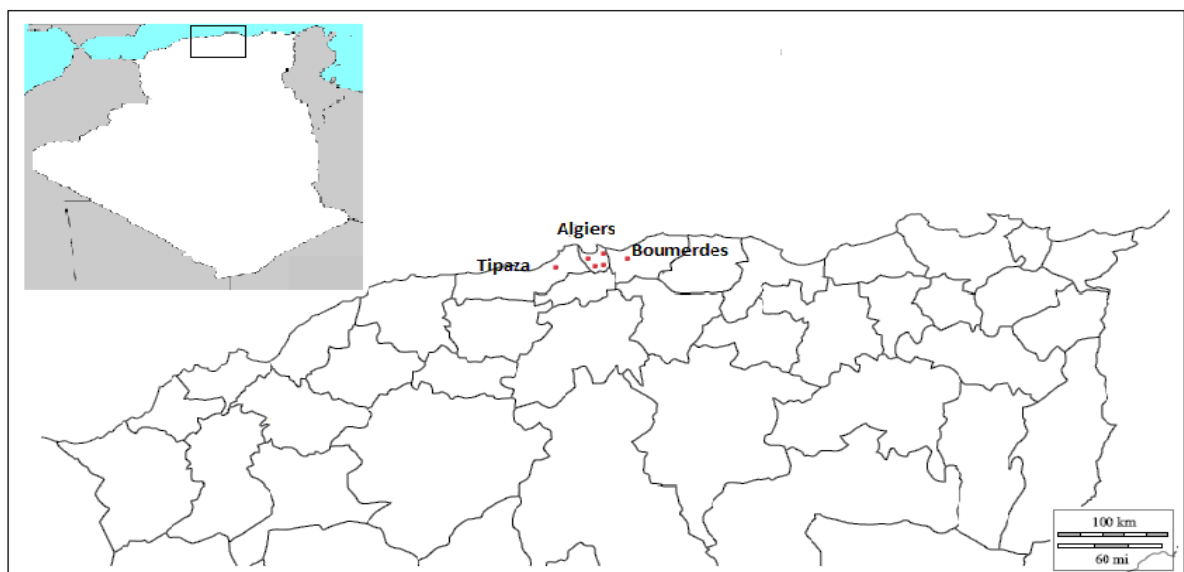


Figure 4 : Zones prospectées pour le mildiou de la tomate.

Tableau 4 : Isolats de *P. infestans* collectés entre 2010 et 2016.

Codification	Hôte	Variété	Type de culture	Date d'isolement	Organe	Commune	Wilaya	n ° parcelle
DZ-10-T05	Tomate	Inconnue	Sous serre	23/12/2010	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	1
DZ-11-T20	Tomate	Inconnue	Sous serre	10/05/2011	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	2
DZ-11-T21	Tomate	Inconnue	Sous serre	10/06/2011	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	2
DZ-13-T06	Tomate	Aicha	Sous serre	19/05/2013	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	3
DZ-13-T07	Tomate	Zahra	Sous serre	28/05/2013	Feuille	Bordj el Khifane	Alger	4
DZ-13-T08	Tomate	Zahra	Sous serre	06/06/2013	Feuille	Bordj el Khifane	Alger	5
DZ-14-T22	Tomate	Enigma	Sous serre	20/02/2014	Tige	Staouali	Alger	6
DZ-14-T23	Tomate	Enigma	Sous serre	21/02/2014	Feuille	Staouali	Alger	7
DZ-14-T42	Tomate	Inconnue	Sous serre	21/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	7
DZ-14-T44	Tomate	Inconnue	Sous serre	05/11/2014	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	8
DZ-14-T53	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	9
DZ-14-T54	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	9
DZ-14-T55	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	9
DZ-14-T56	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T57	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T58	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T59	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T60	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T61	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T78	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T83	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	10
DZ-14-T75	Tomate	Suzana	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	11
DZ-14-T76	Tomate	Inconnue	Plein champ	05/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	11
DZ-14-T77	Tomate	Inconnue	Plein champ	05/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	11
DZ-14-T62	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T63	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T64	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T65	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T66	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T67	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T68	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T74	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Fruit	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T79	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T80	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	12
DZ-14-T69	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	13
DZ-14-T70	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	13
DZ-14-T71	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	13
DZ-14-T72	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	13
DZ-14-T73	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	13
DZ-14-T82	Tomate	St Michel	Plein champ	20/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	14
DZ-14-T84	Tomate	Inconnue	Plein champ	20/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	14
DZ-14-T81	Tomate	Inconnue	Plein champ	28/12/2014	Fruit	Staouali	Alger	15
DZ-15- T01	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T02	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T03	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T04	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T05	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T06	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T07	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T08	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T09	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T10	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	16
DZ-15- T16	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	16

DZ-15- T11	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	17
DZ-15- T12	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	17
DZ-15- T25	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	17
DZ-15- T13	Tomate	Marmande	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	18
DZ-15- T14	Tomate	Marmande	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	18
DZ-15- T15	Tomate	Marmande	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	18
DZ-15- T17	Tomate	Stidya	Plein champ	24/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	19
DZ-15- T18	Tomate	Stidya	Plein champ	24/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	19
DZ-15- T19	Tomate	Stidya	Plein champ	24/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	19
DZ-15- T20	Tomate	Stidya	Plein champ	24/11/2015	Tige	Chenoua	Tipaza	19
DZ-15- T21	Tomate	Stidya	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	19
DZ-15-P59	P.de terre	Spunta	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	19
DZ-15-P60	P.de terre	Spunta	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	19
DZ-15- T22	Tomate	Dallel	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	20
DZ-15- T23	Tomate	Dallel	Plein champ	24/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	20
DZ-15- T24	Tomate	Dallel	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	20
DZ-15- T26	Tomate	Suzana	Plein champ	21/11/2015	Fruit	Staouali	Alger	21
DZ-15- T27	Tomate	Tomstar	Plein champ	21/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	22
DZ-15- T30	Tomate	Tomstar	Plein champ	21/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	22
DZ-15- T28	Tomate	Khalida	Sous serre	21/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	23
DZ-15- T29	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	24
DZ-15- T31	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	24
DZ-15- T32	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	24
DZ-15- T33	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	24
DZ-15- T39	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	24
DZ-15- T42	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	24
DZ-15- T34	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Tige	Staouali	Alger	25
DZ-15- T35	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	25
DZ-15- T37	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	25
DZ-15- T38	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	25
DZ-15- T41	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	25
DZ-15- T36	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	26
DZ-15- T40	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	26
DZ-15-P50	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-P51	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-P52	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-P53	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-P54	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-P55	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-P56	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-P58	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	27
DZ-15-T43	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	28
DZ-16-T01	Tomate	Khalida	Sous serre	26/01/2016	Feuille	Zeralda	Alger	29
DZ-16-T02	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-T03	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-T04	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-T05	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-T06	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-T07	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-T08	Tomate	Sultana	Sous serre	18/05/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-T09	Tomate	Sultana	Sous serre	18/05/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	30
DZ-16-P61	P.de terre	Desirée	Plein champ	18/05/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	31

II.2. Isolement

L'isolement du *P. infestans* de la tomate de part son caractère hémibiotrophe nécessite pour réussir ses isollements que les échantillons (feuilles, tiges, fruits) soient frais contenant du mildiou actif bien sporulé, il est réalisé selon le protocole proposé par Corbière et Glais (2005) où des petits fragments d'échantillons frais (feuille, tige et fruit) infectés par *P. infestans* sont coupés au niveau du front d'attaque. La face sporulante de la nécrose est placée en contact avec une tranche de pomme de terre coupée et séchée préalablement ; celle-ci est utilisée comme un appât. Le tout (fragment infecté plus tranche de pomme de terre) est mis dans une boîte de Petri bien fermée avec du parafilm et incubé à 18 ° C à l'obscurité. Dès l'apparition du mycélium typique du *P. infestans* après 4 à 5 jours d'incubation, de petits nuages de mycélium sont prélevés à l'aide d'une pipette Pasteur bien effilée et déposés sur du milieu solide PPA (petit pois agar) (Annexe 1) auquel est incorporé avec des antibiotiques (30 mg de Rifamycine et 200 mg d'ampicilline) ; le mycélium est purifié par des transferts répétitifs sur milieu agar petit pois. Les isolats purifiés sont conservés par des repiquages réguliers effectués chaque 7 à 10 semaines dans du milieu PPA et conservés au réfrigérateur. Cependant, il existe une autre méthode de conservation pour une longue durée, dans des tubes à essai en milieu PPA liquide bien autoclavé.

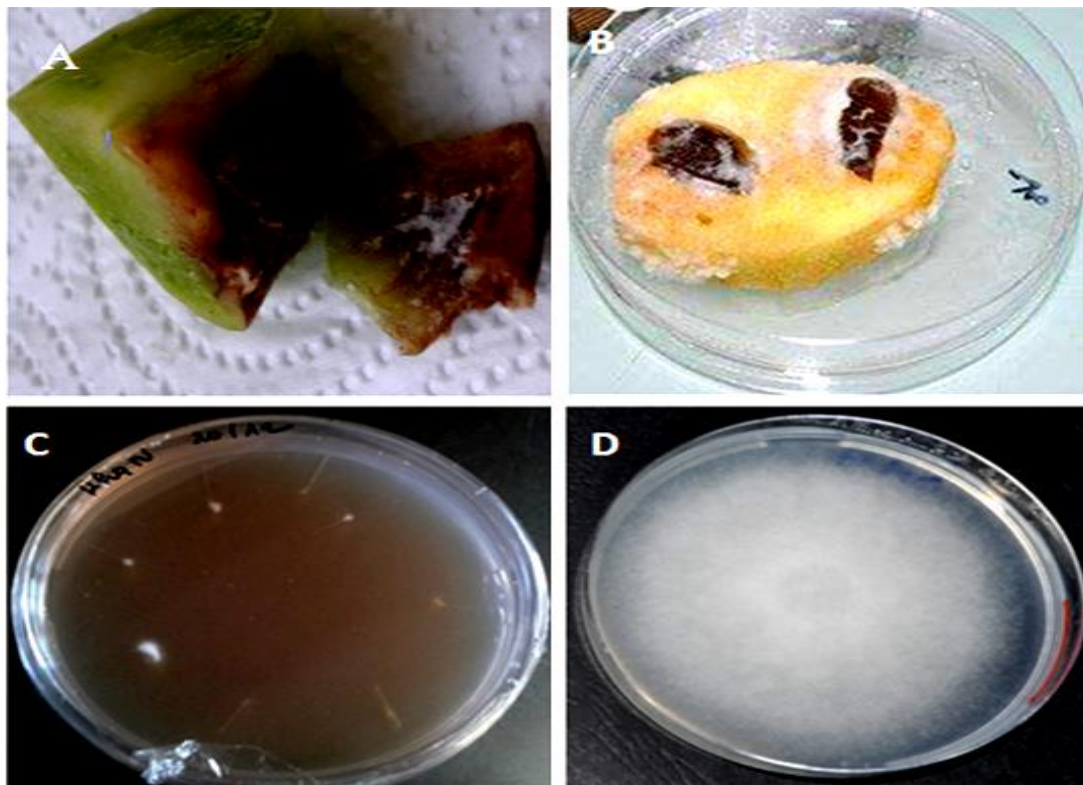


Figure 5 : Différentes étapes d'isolement de *Phytophthora infestans*.
A : Échantillon infecté par le mildiou. **B :** Fragment infecté par le mildiou déposé sur tranche de pomme de terre. **C :** Apparition de colonies typiques du mildiou. **D :** Isolat pur de *P. infestans* après âgé de trois semaines.

II.3. Caractérisation génotypique (méthode SSRs)

Sur 105 isolats seulement 86 ont été caractérisés sur le plan génotypique à cause des problèmes liés à la conservation, au transport dont certains isolats ont été éliminés à cause des données manquantes.

II.3.1. Extraction d'ADN

Des cultures pures d'isolats sont produites séparément dans du milieu PPA liquide préalablement autoclavé pendant 20 minutes à 120° C et refroidi à température ambiante (Annexe 2). Après trois semaines d'incubation dans l'obscurité à 18° C, le mycélium est filtré dans un entonnoir qui comporte du papier buvard stérile, lavé trois fois de suite dans de l'eau stérile et séché dans du papier stérile et ensuite lyophilisé. L'extraction d'ADN est effectuée à partir du mycélium lyophilisé en suivant les instructions du kit 'Nucleospin Tissue'.

Une quantité de 1 à 6 mg de mycélium est prélevée pour chaque isolat et mis dans un tube eppendorf de 2 ml. Par la suite, une solution de lyse contenant 25 µl de protéinase K et 180 µl de buffer T1 est préparée en fonction du nombre d'échantillons ; 200 µl de cette solution sont mis dans chaque tube, ces derniers sont centrifugés pendant 15s avec l'option short de la centrifugeuse. Les échantillons sont ensuite incubés durant une nuit à 56°C, après la lyse, l'incubateur est mis à 70°C pour le séchage des membranes ; une autre centrifugation est effectuée durant 15 s. Afin de fixer l'ADN sur la colonne, une autre solution est préparée à partir du Buffer BQ1 et l'éthanol à 96-100% à 50/50 à partir de laquelle une quantité de 400 µl est rajoutée pour chaque échantillon, une centrifugation est effectuée durant 15s. La plaque 'Nucleospin Tissue Binding' est placée sur le bloc 'MN square-well ' afin de transférer le lysat contenant dans les tubes à la plaque 'Nucleospin Tissue Binding' .Celle-ci est scellée avec un film 'Self-adhering PE Foil' et le tout est centrifugé durant 15 min. Deux lavages ont été effectués, le premier en ajoutant 500 µl de 'Buffer BW' pour chaque puits de la plaque ; une centrifugation est effectuée durant 3 min, pour le second lavage, 700 µl de la solution 'Buffer B5' est rajoutée dans chaque colonne puis la plaque est fermée avec un film adhésif et centrifugée une autre fois durant 5 min. Par la suite, la plaque est placée sur le 'Rack with tube Strips' est incubée à 70°C pendant 10 min, après le séchage de la membrane 50µl d'une solution tampon BE préchauffée à 70°C préalablement est rajoutée dans chaque puits, le tout est laissé pendant 1 min à température ambiante puis centrifugé pendant 3 min, 50 µl du tampon BE sont rajoutés encore une fois à chaque échantillon, le tout est laissé à

nouveau à température ambiante puis centrifugé pendant 3 min. La concentration et la pureté de l'ADN ont été mesurées en utilisant un Nanodrop.

II.3.2. Caractérisations par marqueurs SSRs

Au total 17 marqueurs microsatellites ont été utilisés afin de détecter les régions polymorphiques au niveau de notre population de *P. infestans* ; PiG11, Pi4B, Pi4G (Knapova and Gisi 2002), D13, Pi04, Pi33, Pi16, Pi56, Pi63, Pi70 (Lees et al., 2006), PinfSSR2, PinfSSR3, PinfSSR4, PinfSSR6a, PinfSSR7, PinfSSR8 , PinfSSR11 (Li et al., 2010). Les détails sont représentés dans le tableau 5 ci-dessous

Le kit « Type-it Microsatellite PCR » de QIAGEN a été utilisé, en suivant les étapes du protocole établi par Li et al (2013). Le volume de la réaction est égal à 5 µl contenant 2 µl (5 ng/µl) d'ADN et 2,5 µl de master mix (PCR du kit Qiagen), plus 0,5 µl d'amorces, plus 3nm de MgCl₂. L'amplification a été réalisée dans un thermocycleur Bio-Rad C1000 avec une dénaturation initiale à une température de 94 ° C pendant 5 min , suivi de 30 cycles de 20 s à 94 ° C puis 25 s à 58 ° C ensuite 30 s à 72 ° C et enfin avec un cycle d'élongation pendant 5 min à 72 ° C.

Pour chaque locus une des quatre couleurs fluorescentes est attribuées (6FAM, NED, VIC, PET). Le produit d'amplification a été subdivisé en deux panels multiplex :

Le premier panel contient: 6FAM (D13, PinfSSR8), VIC (Pi04, Pi70), NED (G11, PinfSSR3, PinfSSR11), PET (PinfSSR2, Pi4B).

Le deuxième panel contient : 6FAM (Pi63), VIC (Pi16, PinfSSR6) NED (Pi4G, PnfSSR4), PET (Pi33, Pi56).

Après amplification un volume de 8 µl est prélevé contenant : 5µl de formamide désionisé , une solution étalon et 3µl du produit PCR. Les échantillons sont placés dans un séquenceur d'ADN ABI Prism en suivant les instructions du fabricant (Applied Biosystems). Le traitement des données concernant la taille des allèles est effectuée à l'aide du logiciel GeneMapper v 3.5 (Applied Biosystems).

Tableau 5 : Séquence des marqueurs microsatellites.

Nom du marqueur	Séquence	Référence	
D13	TGCCCCCTGCTCACTC	GCTCGAATTCATTTTACAGACTTG	Knapova and Gisi (2002)
Pi04	AGCGGCTTACCGATGG	CAGCGGCTGTTTCGAC	Knapova and Gisi (2002)
Pi33	TGCCGACGACAAGGAA	CGGTCTGCTGCTGCTC	Knapova and Gisi (2002)
Pi16	CACAGCACGCGGAATC	ACGCCGAGTGTCTGA	Lees et al. (2006)
Pi56	AACTATCTATTCGCGCTGCAT	CAGGCCGCAATTGTAAGA	Lees et al. (2006)
Pi63	ATGACGAAGATGAAAAGTGAGG	CGTATTTTCCTGTTTATCTAACACC	Lees et al. (2006)
Pi70	ATGAAAATACGTCAATGCTCG	CGTTGGATATTTCTATTTCTTCG	Lees et al. (2006)
G11	TGCTATTTATCAAGCGTGGG	TACAATCTGCAGCCGTAAGA	Lees et al. (2006)
Pi4B	AAAATAAAGCCTTTGGTTCA	GCAAGCGAGGTTTGTAGATT	Lees et al. (2006)
PinfSSR1	CACGACGTTGTAAAACGACGGCGCCCTACCCACCGTC	GTTTGCCTCTTCGCGGACGC	Li et al. (2010)
PinfSSR2	CACGACGTTGTAAAACGACCGACTTCTACATCAACCGGC	GTTTGTCTGGACTGCGTCTTTAGC	Li et al. (2010)
PinfSSR3	CACGACGTTGTAAAACGACACTTGCAGAACTACCGCCC	GTTTACCCTTTCTCGGTTTC	Li et al. (2010)
PinfSSR4	CACGACGTTGTAAAACGACTCTTGTTGAGTATGCGACG	GTTTCACTTCGGGAGAAAGGCTTC	Li et al. (2010)
PinfSSR6	CACGACGTTGTAAAACGACTCGCCACAAGATTTATTCCG	(a)GTTTTGGTGGGGCTGAAGTTTT	Li et al. (2010)
		(b)GTTTCATCATGGAGCGTAGGATGG	Li et al. (2010)
PinfSSR7	CACGACGTTGTAAAACGACGTCCTCGCGTCTATGAC	GTTTCCGAGTACCGAATGAGGC	Li et al. (2010)
PinfSSR8	CACGACGTTGTAAAACGACAATCTGATCGCAACTGAGGG	GTTTACAAGATACACACGTCGCTCC	Li et al. (2010)
PinfSSR11	CACGACGTTGTAAAACGACTTAAGCCACGACATGAGCTG	GTTTAGACAATTGTTTGTGGTCGC	Li et al. (2010)

II.3.3. Analyse des données génétiques

L'interprétation des données génétiques a été effectuée à l'aide de plusieurs logiciels bioinformatiques qui nous ont permis de calculer plusieurs paramètres à savoir :

- Le nombre d'allèles par locus et le nombre répété de MLGs ont été calculés par le logiciel GENALEX v. 6.503 (Peakall et Smouse, 2012).
- l'indice de Shannon a été calculé selon la théorie de Shannon et Weaver (1949), $I = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$ avec : S = nombre total des allèles ; p_i = fréquence relative des allèles.
- La diversité a été calculée selon la formule établie par Nei (1978), $H = 1 - \sum x_j^2$ soit x_j^2 = la fréquence du j allèles par locus. Lorsque H= 0 il n'y a pas de diversité au sein de la population, en revanche lorsque, H= 1 cela signifie qu'il existe le maximum de diversité.
- L'indice d'association I_A et l'indice de déséquilibre des liaisons r_D sont calculés par le logiciel MULTILOCUS V.1.3 (Agapow et Burt, 2001).
- L'indice de richesse est calculé selon la formule établie par Dorken et Eckert (2001), $R = \text{MLGs} - 1 / N - 1$ avec MLGs = nombre de MLGs ; N = nombre total des isolats.

Pour tracer l'arbre Phylogénique, une matrice a été tout d'abord préparée en utilisant le logiciel GENALEX v.6.503 (Peakall et Smouse, 2012). À partir de cette dernière les distances

génétiques entre les différents MLGs (isolats) ont été calculées par le logiciel ARLEQUIN v.3.5.2.2 (Excoffier et Lischer, 2015), puis les différentes branches de l'arbre phylogénétique sont représentées graphiquement par le logiciel GRAPHVIZ package (<http://graphviz.org>).

La structure génétique de la population a été analysée par le logiciel structure v. 2.3.4 (Evano et al., 2005). Le nombre K représente le nombre de clusters au sein de la population (K = 1 à 10) où chaque groupe d'isolats se rapprochant génétiquement devraient être attribués.

L'analyse hiérarchique de la population a été effectuée par le logiciel R v.3.3.2. (The R Foundation for Statistical Computing, 2016).

II.4. Caractérisation phénotypique

II.4.1. Détermination du type de compatibilité sexuée (Mating type)

Le Mating type est une technique très simple nécessitant deux souches de références ou testeurs. Deux explants sont placés sur du milieu PPA, l'un appartenant à l'isolat inconnu et l'autre appartenant au testeur (A1 ou A2) ; sont placés l'un à côté de l'autre et la boîte est scellée avec du parafilm et incubées à 18°C à l'obscurité (Fig.6). Après 10 à 14 jours d'incubation, des observations microscopiques sont effectuées afin de détecter la présence ou l'absence des oospores au front de rencontre, des deux colonies. S'il y a présence d'oospores l'isolat à identifier ne possède pas le même type sexué que l'isolat testeur (présence du type sexué opposé A1 ou A2). Par contre, s'il n'y a pas d'oospores, l'isolat inconnu possède le même type sexué que l'isolat testeur au quel il est confronté.

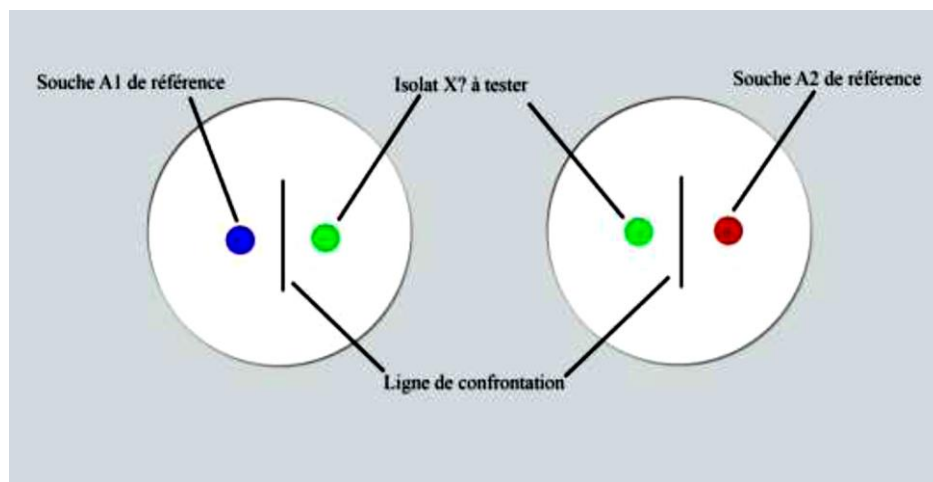


Figure 6: Test de Mating type.

II.4.2. Etude du niveau de résistance des isolats à l'égard du fongicide (Metalaxyl)

L'utilisation abusive de cette matière active a provoqué la sélection de souches résistantes à ce fongicide. Le but du test est de détecter le niveau de résistance au sein des isolats collectés à partir de la tomate et de comparer leur résistance à ceux de la pomme de terre. Au total 45 isolats ont été testés, soit 34 isolats collectés à partir de la tomate et 5 isolats collectés à partir de la pomme de terre de type sexué A1. Nous avons rajouté à notre essai 6 isolats appartenant au type sexué A2 isolé par Mr Beninal au niveau du laboratoire du CNCC (Tabl. 6).

Tableau 6 : Matériel fongique utilisé dans le test de résistance au Métalaxyl.

Codification	Hôte	Variété	Type de culture	Date d'isolement	Organe	Commune	Wilaya	Type sexué	Génotype
DZ-13-P18	P.de terre	Barna	Plein champ	20/12/2013	Feuille	-	Guelma	A2	EU_13_A2
DZ-14-P10	P.de terre	Désirée	Plein champ	06/02/2014	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	A2	EU_13_A2
DZ-14-P29	P.de terre	Spunta	Plein champ	30/05/2014	Feuille	-	Ain Defla	A2	EU_13_A2
DZ-14-P36	P.de terre	Spunta	Plein champ	30/06/2014	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	A2	EU_13_A2
DZ-14-P49	P .de terre	Spunta	Plein champ	12/12/2014	Feuille	Draa ben kheda	Tizi ousou	A2	EU_13_A2
DZ-15-P01	P .de terre	Inconnue	Plein champ	30/01/2015	Feuille	Bab Ezzour	Alger	A2	EU_13_A2
DZ-15-P51	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumerdès	A1	EU_23_A1
DZ-15-P55	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumerdès	A1	EU_23_A1
DZ-15-P58	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	A1	n.i
DZ-15-P59	P.de terre	Spunta	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-P60	P.de terre	Spunta	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-16-P61	P.de terre	Désirée	Plein champ	18/02/2015	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	A1	n.i
DZ-14-T22	Tomate	Enigma	Sous serre	20/02/2014	Tige	Staouali	Alger	A1	EU_2_A1
DZ-14-T53	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T61	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T63	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T64	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T66	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	n.i
DZ-14-T67	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T69	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T71	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T72	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T73	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T74	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Fruit	Zeralda	Alger	A1	n.i
DZ-14-T77	Tomate	Inconnue	Plein champ	05/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T79	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T84	Tomate	Inconnue	Plein champ	20/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T01	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T03	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15- T06	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	n.i
DZ-15-T13	Tomate	Marmande	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T17	Tomate	Stidya	Plein champ	24/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T19	Tomate	Dallel	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T25	Tomate	Tomstar	Plein champ	21/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-15-T27	Tomate	Khalida	Plein champ	21/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-15-T28	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-15-T33	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Tige	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-15-T34	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1

DZ-15-T37	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-15-T40	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-16-T01	Tomate	Khalida	Sous serre	26/01/2016	Feuille	Zeralda	Alger	A1	n.i
DZ-16-T02	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-16-T03	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-16-T04	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	El harrach	Alger	A1	n.i
DZ-16-T05	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	El harrach	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-16-T07	Tomate	Sultana	Sous serre	12/02/2016	Feuille	El harrach	Alger	A1	n.i

n.i : non identifié génétiquement

II.4.2.1. Incorporation des doses du fongicide dans le milieu de culture

Le nom commercial du fongicide utilisé est le Ridomil sous forme liquide. Cependant, sa concentration en matière active (Metalaxyl) est de 480 mg. La détermination du volume du fongicide à incorporer dans le milieu de culture dépend de la concentration de la matière active dans le fongicide. Tout d'abord trois flacons de 1000 ml contenant du milieu PPA sont autoclavés pendant 20 min à 120°C, ces derniers sont maintenus en surfusion à 40°C. En suite, un volume de 20,83 µl de Ridomil est rajouté au 1^{er} flacon pour avoir une dose de 10 ppm et un volume de 208,33 µl est rajouté dans le 2^{ème} flacon afin d'obtenir une dose de 100 ppm, le 3^{ème} flacon ne contient pas de fongicide et servira de témoin. Ainsi, un volume de 20 ml de milieu est coulé dans chaque boîte de Petri, trois répétitions sont effectués pour chaque isolats et pour chaque dose de fongicide (témoin, 10 ppm, 100 ppm). Enfin, des explants mycéliens de 14 mm de diamètre sont prélevés à partir d'isolats âgés entre 10 à 12 jours à l'aide d'un emporte-pièce stérile, sont ensuite déposés au centre des boîtes de Petri avec chacune des doses considérées. Les boîtes sont incubées à 18°C à l'obscurité.

II.4.2.2. Lecture et notations des résultats

La lecture des résultats est effectuée chaque trois jours en mesurant le diamètre de la colonie mycélienne pour chaque dose et chaque répétition. A la fin du test le pourcentage d'inhibition est calculé à partir de la formule suivante :

$$PI = (T - Dc) / T$$

avec :

PI = Pourcentage d'inhibition.

T = Diamètre du témoin.

Dc = Diamètre de l'isolat testé à une dose déterminée.

II.4.3. Effet de la température (*in vitro*) sur la croissance mycélienne des isolats de

P. infestans

Ce test est réalisé pour évaluer l'effet des différentes gammes de températures sur la croissance mycélienne afin de déterminer la température optimale au développement des différents isolats de notre collection. Au total 19 isolats collectés en 2014 sont testés (Tabl.7). A l'aide d'un emporte-pièce stérile des disques de 14 mm de diamètre sont prélevés à partir de colonies mycéliennes âgées entre 10 à 12 jours, ensuite chaque disque est placé au milieu de chaque boîte de Petri. Ces dernières sont incubées à différentes températures 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, et 30° C. Trois répétitions sont effectuées pour chaque isolat et par température. Les croissances mycéliennes sont notées chaque trois jours à partir du troisième jour d'incubation jusqu'au dixième jour. En mesurant le diamètre de chaque colonie pour chacune des températures testées.

Tableau 7 : Matériel fongique utilisé dans le test de température.

Codification	Hôte	Variété	Type de culture	Date d'isolement	Organe	Commune	Wilaya	Type sexué	Génotype
DZ-14-T53	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T54	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T55	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T56	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T58	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T60	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T61	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T62	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T66	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	n.i
DZ-14-T70	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T71	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T72	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T73	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T74	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Fruit	Zeralda	Alger	A1	n.i
DZ-14-T75	Tomate	Suzana	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T76	Tomate	Inconnue	Plein champ	05/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T77	Tomate	Inconnue	Plein champ	05/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T78	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T81	Tomate	Inconnue	Plein champ	28/12/2014	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1

n.i : non identifié génétiquement

II.4.4. Étude de la spécialisation parasitaire des isolats de *P. infestans* sur les deux plantes hôtes tomate et pomme de terre

Le but de ce test est de préciser le degré de spécialisation parasitaire des isolats de notre collection sur les deux plantes hôtes tomate et pomme de terre. A cet effet, nous avons réalisé des inoculations croisées sur feuilles détachées, en utilisant des isolats collectés à partir de la tomate et des isolats collectés à partir de la pomme de terre puis comparer leur

comportement sur les deux plantes hôtes, en mesurant les composantes de l'agressivité. Pour réaliser ce test, il nous faut du matériel biologique (végétal et fongique).

II.4.4.1. Matériel végétal

Le test est réalisé sur des folioles détachées d'une variété de tomate (Marmande) et d'une variété de pomme de terre (Spunta), les deux cultivars sont très cultivés en Algérie et très sensibles aux maladies. Pour obtenir des folioles, des plantations sont réalisées dans des pots sous serre (Fig.7).

Concernant la tomate, le semis est effectué tout d'abord dans des alvéoles contenant de la tourbe à raison d'une graine par trou. Ces alvéoles sont déposées dans une serre et sont arrosées une fois chaque deux jours. Les jeunes plants obtenus sont transplantés dans des pots après trois semaines de plantations.

Les folioles de la pomme de terre sont obtenues par plantation d'un ou deux tubercules par pot de 17 cm de profondeur et de 25 cm de diamètre. Les pots sont remplis d'un mélange de 50% de sol désinfecté dans une étuve à 105°C pendant 24 heures et de 50% de terreau, ces derniers sont ensuite disposés dans une serre en verre à une température de 25°C le jour et 20°C la nuit et à une photopériode de 14 à 16 heures (Fig.7). Une irrigation régulière est effectuée selon les besoins de croissance des plantes. Après 9 semaines de plantation, des folioles sont prélevées pour effectuer le test.

II.4.4.2. Matériel fongique

Au total 37 isolats (Tabl.8) ont été testés, dont 28 isolats appartenant à notre collection et sont du génotype EU_23_A1, les autres sont isolés par Mr Beninal au niveau du CNCC et appartiennent à d'autres génotypes (6 isolats du génotype EU_13_A2 et 3 isolats du génotype EU_2_A1) ; les détails des données sont mentionnés dans le tableau 8.



Pomme de terre

Tomate



Figure 7 : Différentes étapes pour l'obtention des folioles de tomate et de pomme de terre.

Tableau 8 : Matériel fongique utilisé dans le test de spécialisation parasitaire.

Codification	Hôte	Variété	Type de culture	Date d'isolement	Organe	Commune	Wilaya	Type sexué	Génotype
DZ-14-T53	Tomate	Inconue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T54	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T55	Tomate	Inconnue	Plein champ	08/11/2014	Feuille	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T56	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T60	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T61	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T78	Tomate	Dalel	Plein champ	19/11/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T62	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T63	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T64	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T75	Tomate	Suzana	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Zeralda	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-14-T69	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T70	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T71	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T72	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T73	Tomate	Dalel	Plein champ	07/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-14-T84	Tomate	Inconnue	Plein champ	20/12/2014	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T01	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T25	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T13	Tomate	Marmande	Plein champ	24/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T19	Tomate	Stidya	Plein champ	24/11/2015	Fruit	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-15-T27	Tomate	Tomstar	Plein champ	21/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-15-T37	Tomate	Khalida	Plein champ	24/12/2015	Fruit	Staouali	Alger	A1	EU_23_A1
DZ-15-P58	P .de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	A1	EU_23_A1
DZ-13-P18	P.de terre	Barna	Plein champ	20/12/2013	Feuille	-	Guelma	A2	EU_13_A2
DZ-15-P30	P.de terre	Spunta	Plein champ	26/04/2015	Feuille	Staouali	Alger	A2	EU_13_A2
DZ-15-P29	P.de terre	Spunta	Plein champ	26/04/2015	Feuille	Staouali	Alger	A2	EU_13_A2
DZ-15-P35	P.de terre	Kondor	Plein champ	08/12/2015	Feuille	-	Mascara	A2	EU_13_A2
DZ-15-P36	P.de terre	Spunta	Plein champ	05/11/2015	Feuille	Guel el kebir	Medea	A2	EU_13_A2
DZ-15-P45	P.de terre	Spunta	Plein champ	14/12/2015	Feuille	Ain Bessam	Bouira	A2	EU_13_A2
DZ-14-P18	P.de terre	Spunta	Plein champ	06/02/2014	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	A1	EU_2_A1
DZ-14-P24	P.de terre	Lesita	Plein champ	20/01/2014	Feuille	Soumaa	Tizi ouzou	A1	EU_2_A1
DZ-14-T22	Tomate	Enigma	Sous serre	20/02/2014	Tige	Staouali	Alger	A1	EU_2_A1

II.4.4.3. Préparation de l'inoculum

II.4.4.3.1. Pré-inoculation

L'inoculum est préparé à partir d'une culture mycélienne âgée de 3 semaines; environ 5 ml d'eau distillée stérile sont versées dans chaque boîte. La surface de chaque culture mycélienne est grattée à l'aide d'une pipette Pasteur bien recourbée. La suspension de sporanges est récupérée dans des tubes à essai puis mise au réfrigérateur à 4°C, pendant une durée de 3 à 4 heures afin de libérer les zoospores; une pré- inoculation de folioles détachées est effectuée. Les isolats provenant de la pomme de terre sont inoculés sur folioles de pomme de terre et ceux de la tomate sont inoculés sur folioles de tomate. Cette pré-inoculation est effectué dans le but de réactiver le pathogène et produire une quantité suffisante d'inoculum. Les folioles sont incubées à 20 °C pendant 6 jours en chambre de culture (Fig.8A).

II.4.4.3.2. Inoculation croisée

Après 6 jours, les sporanges formés à la surface des folioles (pomme de terre et tomate) sont récupérés par lavage des folioles avec une solution de 5ml d'eau distillée stérile; la suspension de sporanges est ajustée par la suite pour obtenir une concentration finale de 5×10^4 sporanges/ ml (Fig.8 B). La suspension est placée au réfrigérateur à 4°C pour une durée de 3 à 4 heures afin de libérer les zoospores; l'inoculum est ainsi préparé pour inoculer les deux plantes hôtes : pomme de terre et tomate.

Les boîtes de Petri sont préparées en disposant un cercle de papier buvard stérile et humidifié avec environ 10 ml d'eau distillée stérile, un autre cercle grillagé est superposé sur le papier buvard afin d'éviter le contact direct entre les folioles et le papier buvard humidifié.

Des folioles âgées entre 8 à 9 semaines sont prélevées de la serre et ensuite placées deux par boîte de Petri (la face abaxiale vers le haut), une goutte de 20 µl de la suspension de zoospores est déposée au centre de chaque foliole (Fig.8C).

Les boîtes sont ensuite fermées et incubées à 20°C en chambre de culture (16 heures de lumière), trois boîtes contenant deux folioles sont réservées pour chaque isolat, soit trois répétitions pour chaque souche (Fig.8 D).

II.4.4.4. Lecture et notations des résultats

Les notations sont effectuées dès l'apparition des premiers symptômes ; plusieurs paramètres sont pris en considération afin de mesurer le taux d'agressivité des isolats sur les deux plantes hôtes.

a) Période d'incubation

Cette période s'étend du premier jour d'incubation jusqu'à apparition des premiers symptômes ; elle est calculée en nombre de jours.

b) Période de latence

Cette période s'étend du premier jour d'inoculation jusqu'à apparition des premières fructifications (sporocystes ou sporanges) ; elle est évaluée en nombre de jours.

c) Taille des lésions

Elle est mesurée dès l'apparition du symptôme qui peut être à partir du 3^{ème} ou 4^{ème} jour après inoculation ; l'évolution de la taille des lésions est suivie par des notations régulières au 5^{ème} jusqu'au 6^{ème} jour après inoculation. Cependant, dans notre cas, la taille des lésions est mesurée au 5^{ème} jour après inoculation. D'après Vleeshouwers *et al.* (2000), la taille des nécroses est calculée selon la formule d'une surface d'une hélice $A = 1/4 \times \pi \times \text{longueur} \times \text{largeur}$.

d) Intensité de sporulation

Après 7 jours d'incubation, chaque foliole inoculée mise dans un tube est placée, ensuite au congélateur ; les tubes sont retirés au fur et à mesure afin de mesurer le taux de sporulation. Chaque foliole est lavée avec 10 ml d'eau distillée stérile. Le comptage des sporanges est évalué à l'aide d'une cellule de Malassez.

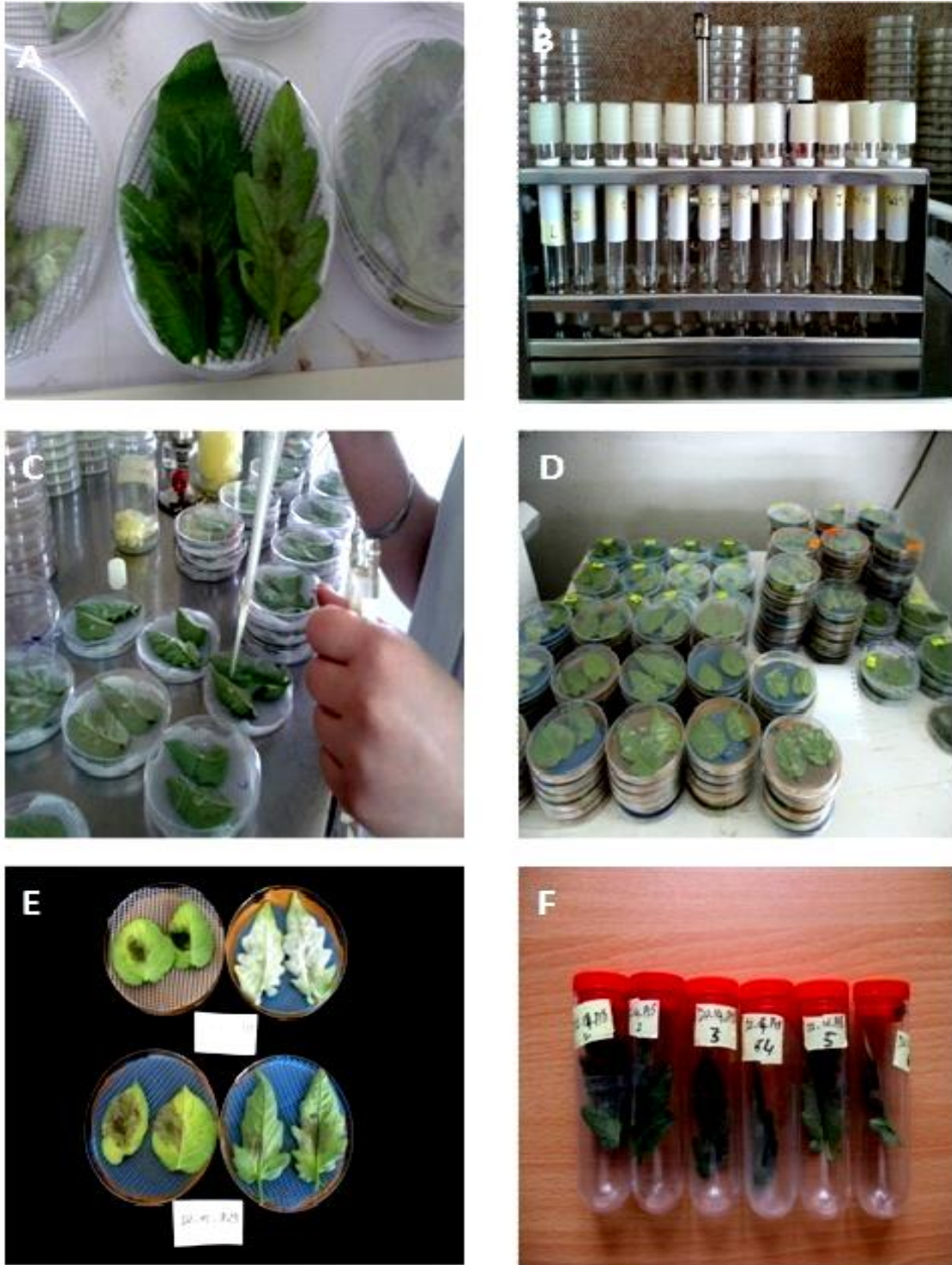


Figure 8 : Etapes du test folioles détachées en conditions contrôlées. A : Pré-inoculation, B : Inoculum, C : Inoculation, D : incubation en chambre de culture, E : Nécrose sur les deux hôtes pomme de terre et tomate, F : Conservation des folioles dans des tubes pour le calcul de sporulation.

II.5. Résistance variétale à l'égard de *P. infestans*

La résistance variétale pourrait être un moyen de lutte contre le mildiou, en sélectionnant les variétés qui ont un bon comportement à l'égard de cette maladie. À cet effet, deux essais ont été réalisés afin d'étudier le niveau de résistance de certaines variétés de tomate à l'égard du *P. infestans* sous abri-serre et en conditions contrôlées au laboratoire.

II.5.1. Evaluation de la résistance des variétés de tomates sous abri serre

II.5.1.1. Situation et caractéristiques de lieu d'expérimentation

L'expérimentation a été effectuée au sein de la station expérimentale de l'ENSA, appartenant à la région d'algérois (Fig.9). Cette zone est caractérisée par un climat méditerranéen et une pluviométrie annuelle moyenne comprise entre 600 à 700 mm/an.



Figure 9 : Image du site d'expérimentation prise par satellite.

II.5.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé comprend douze (12) variétés de tomates fixées (*Lycopersicum esculentum* Mill.), mais deux variétés V11 et V12 ont été éliminées pour des raisons expérimentales.

Tableau 9 : Matériel végétal utilisé dans le test de résistance variétal à l'égard du mildiou

Variétés	Forme du fruit	Nombre de loges	Poids moyen d'un fruit (g)	Port	Autres caractéristiques	Origine	Résistance
Marmande	aplatis et côtelé	8 à 10	120 à 150	Semi déterminée	Précoce	France	Sensible
Saint Pierre	rond et lisse	3 à 6	120 à 150	Indéterminé	Demi tardive à double fin	France	Inconnue
Ideal	rond	5 à 7	140 à 180	Indéterminé	–	Bulgarie	Inconnue
Trakia	gros fruit	5 à 9	120 à 180	Semi déterminée	Fruit de couleur rouge violacé	Bulgarie	Inconnue
Slava	fruit gros et rond	5 à 6	150 à 180	Déterminé	–	Tchécoslovaquie	Inconnue
Burbank	sphérique côtelée	4 à 6	125 à 180	Indéterminé	Couleur rouge	Ande	Inconnue
Rose de Berne	sphérique lisse	3 à 5	130 à 170	Indéterminé	Fruit de couleur rouge violacé	France	Inconnue
Mexique	sphérique lisse	2 à 3	20 à 40	Indéterminé	en forme de grappe à petit fruit	Mexique	Inconnue
Glacha	–	–	–	–	–	–	Inconnue
Biche serdese	–	–	–	–	–	–	Inconnue

II.5.1.3. Dispositif expérimental

L'essai est réalisé dans un abri-serre de 400 m², les variétés sont disposées en quatre blocs aléatoires complets avec deux parcelles élémentaires par bloc ayant un écartement de 2 m et six rangs par parcelle élémentaire d'un écartement de 1 m, soit 12 rangs par bloc. La plantation est réalisée à raison de 9 plants par rang et un écartement de 0,35 m soit 108 plants par bloc (Fig.10).

II.5.1.4. Conduite de l'essai

Les observations sont faites chaque semaine dès l'apparition des premières tâches foliaires typiques du mildiou. Plusieurs échelles de notation existent, mais, l'échelle utilisée dans notre cas repose sur l'évaluation visuelle du pourcentage de destruction du feuillage.

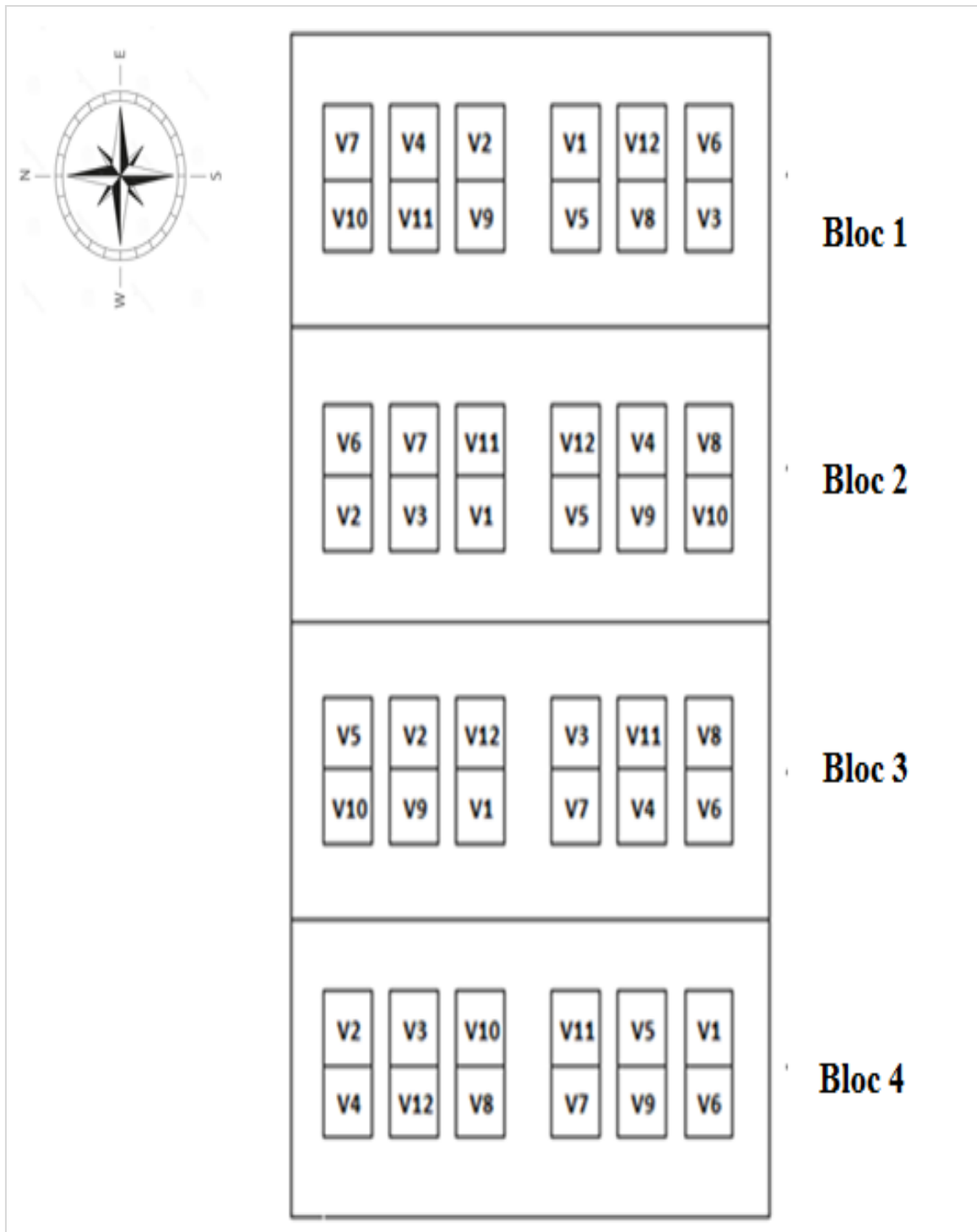


Figure 10 : Dispositif expérimental. V1:Saint Pierre , V2:Glacha, V3: Rose de Berne, V4: Burbank, V5: Miel de Mexique, V6 : Ideal,V7: Trakia, V8: Bitche serdse, V9: Marmande, V10: Slava, V11 : Datchnik, V12 : Bolivar.

Tableau 10 : Présentations des opérations culturales effectuées durant l'expérimentation.

Date	Opérations
27/11/2014	Semis de la tomate en pépinière
18/12/2014	Repiquage des plants
11/01/2015	Travail superficiel du sol
11/01/2015	Epandage de la fumure de fond à raison de 2,08 q/ha de 15-15-15 (N.P.K)
12/01/2015	Traçage du dispositif expérimental
12/01/2015	Plantation sous serre
26/01/2015	Tuteurage (ficelles)
05/03/2015	Mise en place du système goutte à goutte
30/03/2015	Début des traitements phytosanitaires sous serre
12/02/2015	Ebourgeonnage (début)
19/04/2015	Premier effeuillage
16/04/2015	Première cueillette
10/06/2015	Dernière cueillette

II.5.1.5. Notations des symptômes

Les notations sont faites chaque semaine, dès l'apparition des premiers symptômes typiques du mildiou. L'échelle utilisée dans notre cas repose sur l'évaluation visuelle du pourcentage de destruction du feuillage en tenant compte des valeurs mentionnées dans le tableau 11.

Tableau 11: Echelle de notation des symptômes.

Valeurs	Description
0,1%	Entre 5 à 10 folioles attaquées/plant ou 2 feuilles / plant
1%	Entre 10 à 20 folioles attaquées / plant ; 1 feuilles sur 20 attaquée sévèrement
5%	Environ 100 lésions / plant ; 1 sur 10 folioles infectées (plus de 50 folioles infectées)
25%	Presque toutes les folioles sont infectées mais la plante conserve une forme normale
50%	Chaque plante est affectée et environ 50% de la surface foliaire est détruite. Le champ apparaît moucheté de brun
75%	Environ 75% de la surface foliaire détruite; le champ n'apparaît ni majoritairement vert ni brun
95%	Quelques feuilles sur les plantes; mais les tiges sont vertes.
100%	Toutes les feuilles et les tiges sont détruites et sèches

Le niveau de résistance des variétés est évalué par la formule AUDPC (Area under the disease progress curve ou aire sous la courbe de progression de la maladie) décrite par Shaner et Finney (1977). La surface de l'air prend en considération toutes les notations (pourcentage de destruction foliaire) prises au cours des observations effectuées durant la période de l'expérimentation.

L'AUDPC donne une mesure quantitative de la maladie au cours du temps. Cette valeur d'AUDPC à un temps (t_i) est définie à partir de deux points de données sur le graphique de la maladie en fonction du temps (le temps en abscisse et le pourcentage de destruction foliaire en ordonnée). L'AUDPC standardisée est calculée selon la formule suivante :

$$\text{AUDPC standardisée} = \sum_i^n [(X_i + X_{i-1})/2] (t_i - t_{i-1})$$

Avec : n = Nombre total d'observations ; X_i = pourcentage de la maladie à chaque observation ; $(t_i - t_{i-1})$ = temps séparant deux observations consécutives.

II.5.2. Evaluation de la résistance des variétés en conditions contrôlées

Ce test est effectué afin de confirmer les résultats obtenus précédemment sous serre concernant le comportement variétal. Dans ce cas, le test est effectué sous des conditions *in-vitro* et consiste à évaluer la résistance de trois variétés en utilisant le test de folioles détachées.

II.5.2.1. Matériel végétal

Trois variétés ayant montré différents niveaux de résistance à l'égard du mildiou ont été sélectionnées (Marmande, Saint Pierre, Trakia). Celles-ci sont plantées dans des pots à l'intérieur d'une serre en verre à une température de 25°C le jour et 20°C la nuit avec une photopériode de 14 à 16 heures. Les mêmes étapes ont été suivies comme pour le test précédent de la spécialisation parasitaire.

II.5.2.2. Matériel fongique

5 isolats ont été sélectionnés pour réaliser ce test (Tabl.12), ces derniers appartiennent à différents génotypes ; trois isolats appartiennent au génotype EU_23_A1, un isolat au génotype EU_2_A1 et un autre au génotype EU_13_A2. Toutes les informations sont mentionnées dans le tableau 12.

Tableau 12: Matériel fongique utilisé dans le test de folioles détachées.

Codification	Hôte	Variétés	Type de culture	Date d'isolement	Organe	Commune	Wilaya	Type sexuée	Génotype
DZ-15-T25	Tomate	Suzana	Plein champ	17/11/2015	Feuille	Chenoua	Tipaza	A1	EU_23_A1
DZ-16-P01	P.de terre	variété codée	Plein champ	15/01/2016	Feuille	Bab Ezzouar	Alger	A2	EU_13_A2
DZ-15-P58	P.de terre	Spunta	Plein champ	16/12/2015	Feuille	Khemis El khechna	Boumedes	A1	EU_23_A1
DZ-15-P30	P.de terre	Spunta	Plein champ	26/04/2015	Feuille	Staouali	Alger	A2	EU_13_A2
DZ-14-P18	P.de terre	Spunta	Plein champ	06/02/2014	Feuille	ENSA El Harrach	Alger	A1	EU_2_A1

II.5.2.3. Préparation de l'inoculum

II.5.2.3.1. Pré-inoculation

L'inoculum est préparé comme nous l'avons décrit précédemment et avec plus de détails au niveau du test de spécialisation parasitaire. À partir de cultures mycéliennes âgées d'environ 3 semaines, 5 ml d'eau distillée stérile sont versées dans chaque boîte afin de récupérer les sporanges. La suspension de spores obtenue est incubée au réfrigérateur à 4°C, pendant une durée de 3 à 4 heures afin de libérer les zoospores; la pré-inoculation des folioles détachées est effectuée sur la variété sensible "Marmande"; ces dernières sont incubées à 20°C pendant 6 jours en chambre de culture.

II.5.2.3.2. Inoculation

Après 6 jours, les sporanges formés à la surface des folioles de tomate sont récupérés dans une solution de 5 ml d'eau distillée stérile; la suspension est ajustée par la suite pour obtenir une concentration finale de 5×10^4 sporanges/ ml. Puis cette dernière, est placée au réfrigérateur à 4°C pour une durée de 3 à 4 heures afin de libérer les zoospores; l'inoculum est ainsi préparé pour inoculer des folioles âgées de 9 semaines des trois variétés de tomates (Marmande, Saint Pierre et Trakia). Une goutte de 20 µl de la suspension contenant les zoospores est déposée au centre de chaque foliole à la face abaxiale, Les boîtes sont ensuite fermées et incubées à 20°C en chambre de culture (16 heures de lumière); trois boîtes contenant deux folioles sont utilisées pour chaque isolat, constituant trois répétitions pour chaque isolat.

II.5.2.4. Lecture et notations des résultats

Les mêmes paramètres déjà présentés dans le test précédent de spécialisation parasitaire, sont pris en considération (période d'incubation, période de latence, taille de la lésion et intensité de sporulation), afin d'évaluer le niveau de résistance des variétés.

II.6. Analyse statistique des résultats

Tous les tests statistiques (ACP et analyse de variance) ont été effectués à l'aide du logiciel R v.3.3.2. (The R Foundation for Statistical Computing, 2016). Le classement des variables est effectué selon le test de Tukey HSD à $\alpha=0.05$ utilisant le logiciel Statistica version 10.

III. RESULTATS ET DISSCUSSION



III. RESULTATS ET DISSCUSSION

III. 1. Diversité génétique

III.1.1. Polymorphisme des SSR au niveau de la population

Sur une collection de 86 isolats, 61 allèles ont été détectés avec 17 marqueurs avec 2 allèles par locus ou plus. Le nombre d'allèles varie de 2 pour les marqueurs (Pi33, Pi56, PinfSSR2, Pi16, Pi70 et PinfSSR6a) à 9 allèles pour le G11 (Tabl.13). Le marqueur Pi 63 a enregistré la taille la plus large correspondant à 131 paires de bases. Cependant, les marqueurs Pi 56, PinfSSR2, PinfSSR6a et Pi16 ont montré une taille réduite égale à 2 paires de bases. Le G11 s'est montré très polymorphe et a montré la plus grande valeur concernant le nombre d'allèles ($n=9$), avec une fréquence allélique ($n=0,08$). Les deux marqueurs G11 et D13 ont montré une grande diversité au sein de la population ($H=0,77$ et $H=0,75$) respectivement et un indice de Shannon égale à ($I = 2,32$ et $I= 2, 27$) respectivement. En revanche, le marqueur PinfSSR7 n'a montré aucun polymorphisme au sein de la population ($H=0,02$ et $I= 0,01$). L'indice d'association est égal à $I_A=0,11$ et en ce qui concerne l'indice de linkage (r_D) ou de déséquilibre de liaison pour cette population le test à rejeter l'hypothèse d'une recombinaison génétique ($P \leq 0.001$).

Tableau 13 : Polymorphisme des marqueurs SSRs des 86 isolats.

Marqueur	Taille des allèles	Allèles	Fréquence	H	I	L3-4
G11	140-206	9	0,08	0,77	2,32	81
PinfSSR4	203-288	8	0,08	0,75	2,27	78
D13	134-222	7	0,05	0,69	1,96	1
Pi63	148-279	5	0,06	0,62	1,63	81
PinfSSR3	258-270	4	0,08	0,68	1,69	78
PinfSSR11	331-355	3	0,05	0,54	1,2	0
PinfSSR8	260-266	3	0,06	0,53	1,18	5
Pi4B	213-217	3	0,05	0,51	1,08	1
Pi4G	157-161	3	0,05	0,16	0,49	0
Pi04	166-170	3	0,05	0,1	0,33	0
Pi33	203-206	2	0,05	0,5	1	0
Pi56	174-176	2	0,05	0,5	1	0
PinfSSR2	173-175	2	0,05	0,5	0,99	0
Pi16	176-178	2	0,05	0,08	0,25	0
Pi70	192-195	2	0,05	0,08	0,25	0
PinfSSR6a	242-244	2	0,05	0,08	0,25	0
PinfSSR7	198	1	0,05	0,02	0,01	0
Moyenne		3,59	0,06	0,42	1,05	19,12

I : indice de Shannon ; H : Diversité ; L3-4 : nombre d'isolats ayant plus de trois à quatre allèles par locus

III.1.2. Classification de la population étudiée en MLLs (Lignée clonale) et en MLGs (sous population)

Les 86 isolats de *P. infestans* sont divisés en 27 MLGs ou groupe unique avec un indice de richesse égale à $R=0,3$ (Tabl.14). Il apparait que les 77 isolats collectés à partir de la tomate sont groupés en 2 MLLs ou lignées clonales. Cette classification est basée sur la comparaison avec des souches de références sélectionnées par Cooke et *al* (2012), en nous référant à la nomenclature européenne nous avons fait ressortir deux lignées clonales à savoir ; EU_2_A1 et EU_23_A1. La lignée clonale EU_2_A1 est représentée par 3 MLGs qui correspondent à 5 isolats. Cependant, le reste des autres isolats sont représentés par la lignée clonale EU_23_A1 qui correspondent à 20 MLGs (sous population) qui regroupent au total 70 isolats .Tandis, que, 2 isolats n'ont pas été classifiés avec les autres et sont appelés « others » ou autres.

La classification des isolats a montré que 11 MLGs sont représentés par plus d'un seul isolat, alors que 16 autres sont représentés par un seul isolat unique. Cependant, 2 MLGs renferment un nombre important d'isolats par rapport aux autres groupes. Le premier est le MLG_5 qui renferme 25 isolats collectés dans différentes régions d'Alger et de Tipaza durant l'année 2015 et le second qui est le MLG_09 qui regroupe 13 isolats distribués dans les deux régions d'Alger et Tipaza, collectés durant l'année 2014. En outre, les 9 isolats de pomme de terre que l'on a rajouté à notre collection correspondent également au génotype EU_23_A1 et sont regroupés dans deux MLGs uniques différents de ceux de la tomate .Concernant la répartition de la population nous avons remarqué que le même isolat peut se trouver dans plusieurs régions durant la même année. Chaque année au moins un nouveau MLG fait son apparition, A l'exception, le MLG_11 qui est détecté en 2010 à El Harrach, quatre ans après le même MLG est retrouvé à Staouali en 2014 ce qui prouve la persistance de l'inoculum durant les années.

Tableau 14: Caractéristiques des 27 MLGs utilisant 17 marqueurs SSRs .

Wilaya	Commune	MLGs	MLLs	n	Hôte
Alger	El Harrach	MLG_11	EU_2_A1	1	2010 Tomato
	Staouali	MLG_11	EU_2_A1	2	2014 Tomato
Alger	Staouli	MLG_09	EU_23_A1	6	2014 Tomato
	Zeralda	MLG_09	EU_23_A1	1	2014 Tomato
	El Harrach	MLG_09	EU_23_A1	1	2014 Tomato
Tipaza	Chenoua	MLG_09	EU_23_A1	5	2014 Tomato
Tipaza	Chenoua	MLG_10	EU_23_A1	1	2015 Tomato
Alger	Staouli	MLG_10	EU_23_A1	1	2015 Tomato
Tipaza	Chenoua	MLG_05	EU_23_A1	16	2015 Tomato
Alger	Staouli	MLG_05	EU_23_A1	1	2015 Tomato
Tipaza	Chenoua	MLG_01	EU_23_A1	1	2015 Tomato
Alger	Staoueli	MLG_01	EU_23_A1	1	2015 Tomato
Tipaza	Chenoua	MLG_07	EU_23_A1	3	2014 Tomato
Alger	Zeralda	MLG_07	EU_23_A1	2	2014 Tomato
Tipaza	Chenoua	MLG_03	EU_23_A1	2	2014 Tomato
Alger	Zeralda	MLG_03	EU_23_A1	5	2014 Tomato
Alger	El harrach	MLG_26	Other	1	2010 Tomato
	El harrach	MLG_27	Other	1	2011 Tomato
	El harrach	MLG_24	EU_2_A1	1	2013 Tomato
	El harrach	MLG_02	EU_23_A1	2	2016 Tomato
	El harrach	MLG_19	EU_23_A1	1	2016 Tomato
	Bordj El Kifan	MLG_25	EU_2_A1	1	2013 Tomato
	Bordj El Kifan	MLG_15	EU_23_A1	1	2013 Tomato
	Staouali	MLG_17	EU_23_A1	1	2014 Tomato
	Staouali	MLG_08	EU_23_A1	2	2015 Tomato
	Staouali	MLG_14	EU_23_A1	1	2015 Tomato
	Staouali	MLG_21	EU_23_A1	1	2015 Tomato
Tipaza	Chenoua	MLG_23	EU_23_A1	1	2014 Tomato
	Chenoua	MLG_16	EU_23_A1	1	2014 Tomato
	Chenoua	MLG_12	EU_23_A1	1	2014 Tomato
	Chenoua	MLG_13	EU_23_A1	1	2014 Tomato
	Chenoua	MLG_22	EU_23_A1	1	2015 Tomato
	Chenoua	MLG_18	EU_23_A1	1	2015 Tomato
	Chenoua	MLG_06	EU_23_A1	2	2015 Potato
	Chenoua	MLG_20	EU_23_A1	1	2015 Tomato
Boumerdes	Khemis El Khechna	MLG_04	EU_23_A1	7	2015 Potato

MLGs, multilocus genotypes ; n, number d'isolats ; MLLs multilocus lineages

III.1.3. Etude de la structure de la population

La structure génétique des 86 isolats a été analysée en utilisant le logiciel Structure 2.3.4 développé par Evano et *al* (2005). Le calcul du delta K (Fig.11) a fait ressortir deux pics, le premier lorsque K=2 ce qui veut dire qu'il y a une probabilité que la population peut se diviser en deux clusters génétiques, le second pic est représenté par K=4 qui montre que la population peut également se diviser en quatre clusters génétiques.

Le cluster A regroupe un grand nombre d'isolats (Fig.12;13) environ 53 isolats collectés à partir de la tomate et 9 isolats collectés à partir de la pomme de terre. Cette population est répartie en 17 MLGs appartenant tous à une seule lignée clonale le EU_23_A1 ; la majorité des isolats de ce cluster sont collectés en 2015, peu en 2016 et 2014 dans les environs d'Alger, Tipaza et Boumèrdes. En outre, ce groupe a un indice de richesse égale à R= 0,32.

Le cluster B renferme 5 MLGs et 17 isolats appartenant également au génotype EU_23_A1. Il regroupe des isolats collectés en 2014 et en 2013, avec un indice de richesse égale à R= 0,29.

Le cluster C regroupe 5 isolats appartenant au génotype EU_2_A1 tous isolés en année 2010 et 2014 ; ce groupe montre l'indice de richesse le plus important par rapport aux autres groupes avec R= 0,6 (Tabl.15).

Enfin deux isolats représentent un groupe à part (others) et n'appartiennent à aucune lignée clonale.

Tableau 15 : Caractéristiques de la population de *P. infestans*.

	n	MLG	R	F _{st}	MLL
Cluster A	53	17	0,32	0,89	EU_23_A1
Cluster B	17	5	0,29	0,83	EU_23_A1
Cluster C	5	3	0,60	0,70	EU_2_A1
Others	2	2	1	0,08	-

n : Nombre d'isolats ; MLG : Multilocus lineage ; R : Indice de richesse ; F_{st} : Indice de différenciation entre MLG des différents clusters.

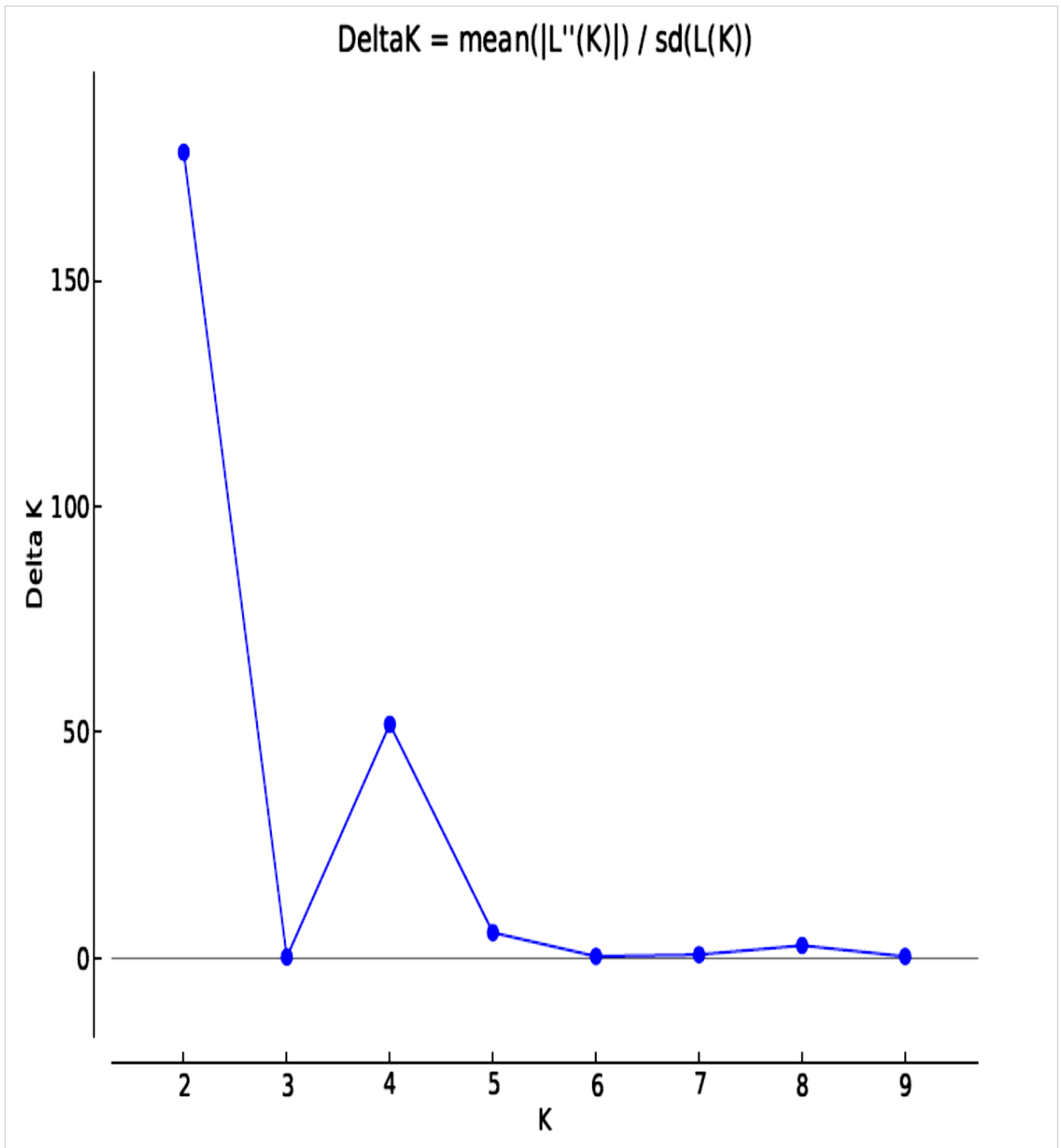


Figure 11 : La valeur du $\Delta K = 4$ calculé par le logiciel Structure v. 2.3.4.

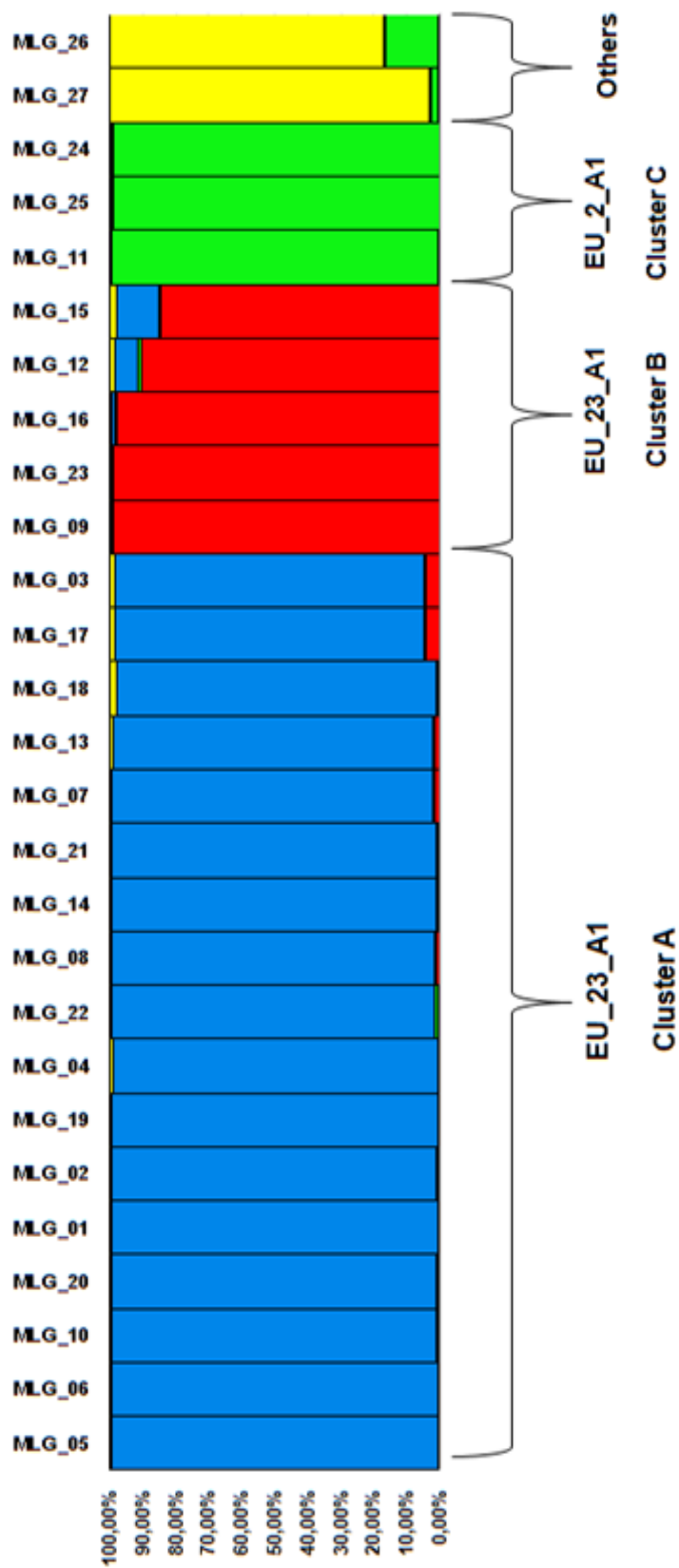


Figure 12 : Structure de la population de *Phytophthora infestans*. , le modèle d'illustration de la structure de la population composée de 86 isolats distribués dans 27 MLGs ces derniers sont divisés en 4 clusters, chaque cluster représente une lignée clonale nommée selon la nomenclature Européenne établie par Cooke et al (2012).

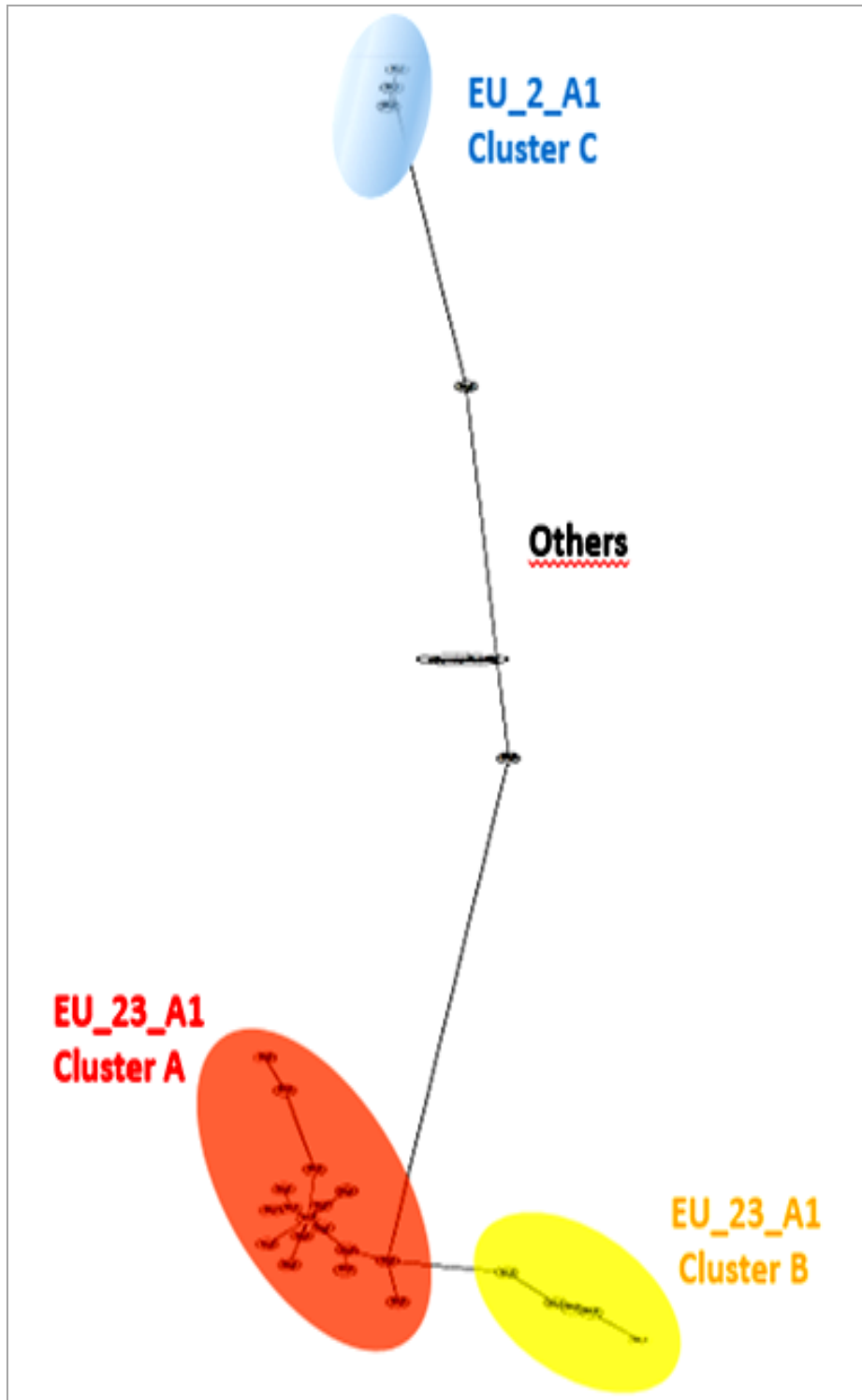


Figure 13 : Arbre phylogénique représentant la distance génétique entre les différents MLGs et MLLs (génotypes). Les distances génétiques sont tout d’abord calculées par le logiciel ARLEQUIN v.3.5.2.2. , l’arbre est réalisé par le logiciel GRAPHVIZ package (<http://graphviz.org>).

III. 2. Caractérisation phénotypiques des isolats

III. 2.1. Détermination du type de compatibilité sexuée (Mating type) des isolats collectés

Tous les isolats collectés à partir de la tomate depuis 2010 jusqu'à 2016 se sont avérés du type sexué A1, cela a été mis en évidence par les observations microscopiques au niveau de la zone de confrontation qui a montré la présence d'oospores avec les isolats testeurs du type A2 et l'absence d'oospore avec les isolats testeurs du type A1. Ce qui suggère que le pathogène se multiplie essentiellement par voie asexuée sur la tomate.

III.2.2. Niveau de résistance exprimé par quelques génotypes de *P. infestans*. à l'égard du métalaxyl

45 isolats ont été testés pour la résistance au métalaxyl, soit 34 isolats appartenant à la tomate et 11 isolats appartenant à la pomme de terre. Tous les isolats collectés à partir de la tomate étaient sensibles au métalaxyl à l'exception d'un seul isolat qui est le DZ-14-T22 appartenant au génotype EU_2_A1 (Fig. 14). En général, au niveau des isolats, le diamètre du mycélium varie entre 25,67 mm à 67,67 mm à la dose 0 ppm et entre 0 à 69 mm à la dose 10 et 100 ppm respectivement.

Par rapport aux génotypes identifiés (Fig. 14) nous avons remarqué que tous les isolats de la lignée clonale EU_23_A1 sont tous sensibles au métalaxyl, que ce soit des isolats collectés à partir de la tomate ou de la pomme de terre. Leur croissance mycélienne varie entre 25,67 mm à 70,33 mm en moyenne à la dose 0 ppm (témoin). Tandis que cette croissance diminue à la dose 10 ppm et varie entre 0 à 15 mm soit un taux d'inhibition qui varie de 69 % à 100 % par rapport au témoin (Tabl.16), cette croissance diminue davantage à la dose 100 ppm et varie de 0 à 11,33 mm soit un pourcentage d'inhibition qui varie entre 77 % à 100 % par rapport au témoin.

Par contre, les isolats du génotype EU_13_A2 appartenant à la pomme de terre sont tous résistants au métalaxyl. Nous avons enregistré une différence qui n'est pas très significative entre le témoin et les doses du fongicide. En effet, la croissance varie de 59,67 à 70,67 mm à la dose 0 ppm et celle-ci régresse entre 39,33 à 68,33 mm à la dose 10 ppm, avec un taux d'inhibition qui varie de 1 % à 17 %. En outre, cette croissance diminue davantage de 31,67 à 69,33 mm à la dose 100 ppm soit un pourcentage d'inhibition qui varie entre 1 % à 41 % par rapport au témoin (Tabl.16).

Seul un isolat de tomate appartenant au génotype EU_2_A1 s'est montré résistant en comparaison avec les autres isolats collectés à partir de la tomate lequel il a enregistré une

croissance égale à 68 mm en moyenne à la dose 0 ppm et une croissance moindre égale à 47,67 mm à la dose 10 ppm, soit un taux d'inhibition égale à 30% par rapport au témoin. A la dose 100 ppm une croissance égale à 40 mm a été enregistrée, soit un taux d'inhibition égale à 41 % par rapport au témoin (Fig.15).

Tableau 16 : Classement des isolats selon le pourcentage d'inhibition des isolats.

Isolats	Pourcentage d'inhibition à 10 ppm	Groupe	Pourcentage d'inhibition à 100 ppm	Groupe	Génotype
DZ-13-P18	1	a	1	a	EU_13_A2
DZ-14-P10	3	a	21	a b	EU_13_A2
DZ-14-P29	6	a	12	a	EU_13_A2
DZ-14-P36	10	a b c	42	b c	EU_13_A2
DZ-15-P01	17	a b c	21	a b	EU_13_A2
DZ-14-T22	30	b c	41	b c	EU_2_A1
DZ-14-P49	34	c	47	c	EU_13_A2
DZ-14-T67	69	d	77	d	EU_23_A1
DZ-14-T64	72	d e	80	d e	EU_23_A1
DZ-14-T84	73	d e f	89	d e	EU_23_A1
DZ-14-T74	76	d e f g	89	d e	EU_23_A1
DZ-15-T13	78	d e f g h	87	d e	EU_23_A1
DZ-14-T71	78	d e f g h i	89	d e	EU_23_A1
DZ-15-T17	79	d e f g h i	95	d e	EU_23_A1
DZ-14-T66	81	d e f g h i	91	d e	EU_23_A1
DZ-14-T79	82	d e f g h i	90	d e	EU_23_A1
DZ-16-T01	83	d e f g h i	95	d e	EU_23_A1
DZ-15-T03	84	d e f g h i	97	d e	EU_23_A1
DZ-14-T72	85	d e f g h i	89	d e	EU_23_A1
DZ-15-P60	86	d e f g h i	93	d e	EU_23_A1
DZ-15-T33	87	d e f g h i	89	d e	EU_23_A1
DZ-16-T02	88	d e f g h i	94	d e	EU_23_A1
DZ-16-T03	89	d e f g h i	95	d e	EU_23_A1
DZ-14-T61	89	d e f g h i	95	d e	EU_23_A1
DZ-15-T25	89	d e f g h i	98	d e	EU_23_A1
DZ-16-T05	90	d e f g h i	93	d e	EU_23_A1
DZ-14-T69	90	d e f g h i	93	d e	EU_23_A1
DZ-16-T04	90	d e f g h i	93	d e	EU_23_A1
DZ-15-T06	91	e f g h i	98	d e	EU_23_A1
DZ-16-T07	91	e f g h i	99	e	EU_23_A1
DZ-15-T28	91	e f g h i	99	e	EU_23_A1
DZ-15-P59	91	e f g h i	91	d e	EU_23_A1
DZ-15-T01	93	e f g h i	95	d e	EU_23_A1
DZ-15-T34	93	f g h i	100	e	EU_23_A1
DZ-15-T19	94	f g h i	98	e	EU_23_A1
DZ-14-T77	94	f g h i	94	d e	EU_23_A1
DZ-16-P61	95	g h i	95	d e	EU_23_A1
DZ-15-T27	96	g h i	100	e	EU_23_A1
DZ-14-T63	96	g h i	100	e	EU_23_A1
DZ-15-T40	96	g h i	100	e	EU_23_A1
DZ-14-T53	97	g h i	100	e	EU_23_A1
DZ-15-P51	97	g h i	100	e	EU_23_A1
DZ-15-P55	98	h i	100	e	EU_23_A1
DZ-15-P58	98	h i	100	e	EU_23_A1
DZ-15-T37	100	i	100	e	EU_23_A1
Moyenne	77		84		
Pr(>F)	2,11e-15 ***		1,68e-15 ***		

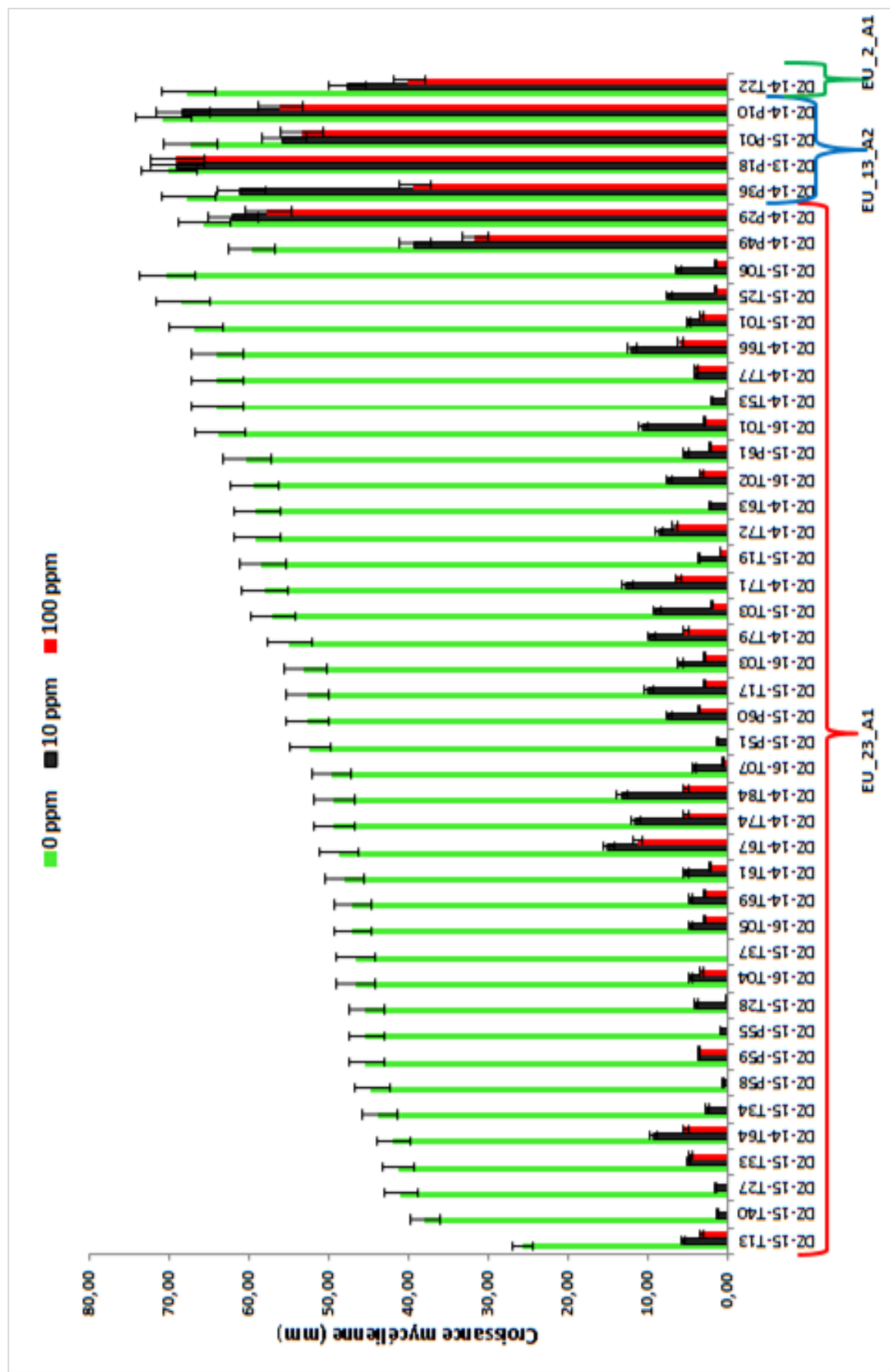


Figure 14: Croissance mycélienne des isolats de *P. infestans* à différentes doses du fongicide.

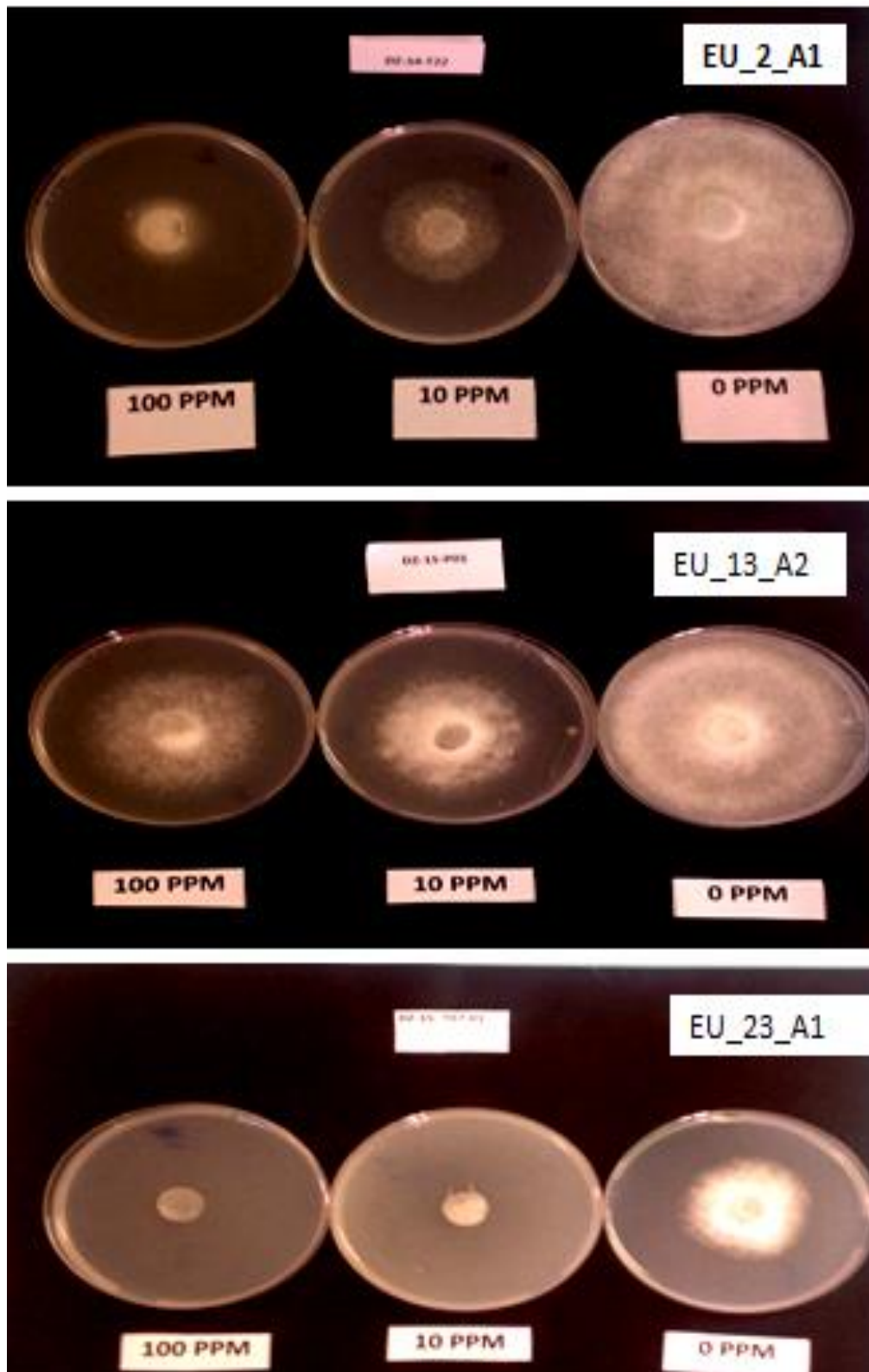


Figure 15 : Croissance mycélienne à différentes doses du fongicide.

III.2.3. Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats

Les résultats obtenus montrent que la température a une influence sur la croissance mycélienne des isolats. En effet, tous les isolats ont montré des résultats très hautement significatifs ($P \leq 0.001$) à l'égard des différentes gammes de températures (10°C, 15°C, 20°C, 25°C et 30°C). Elle l'est également de même entre MLGs et l'interaction (MLGs x températures). Cependant, les régions d'origine (Alger, Tipaza) n'ont pas influencé le comportement des isolats à l'égard des températures et les résultats n'étaient pas très significatifs ($P \geq 0.001$) (Tabl.17).

Tableau 17 : Analyse de variance du comportement des isolats à l'égard de l'effet température.

Effets	DDL	S.C.E	CM	Test F	Pr(>F)
Température	4	53573	393	240,507	< 2e-16**
Région	1	261	261	4,688	0,031507*
MLGs	4	841	210	3,776	0,005484**
Région x MLGs	1	237	237	4,256	0,040343*
Température x MLGs	16	2490	156	2,794	0,000417***
Température x Région x MLGs	8	1372	172	3,080	0,002649**
Residuals	209	11639	56		

Les isolats testés appartiennent tous au génotype EU_23_A1 et se divisent en 5 MLGs (sous population). Seuls deux isolats n'ont pas été identifiés génotypiquement. La croissance mycélienne varie de 7,33 à 31 mm à 10 °C. Elle augmente et atteint entre 23,67 et 54,33 mm à 15°C, avec un optimum à 20°C pour une croissance comprise entre 27 et 58,67 mm. Celle-ci diminue progressivement et atteint entre 12 à 41,67 mm à 25°C. En revanche aucune croissance n'a été enregistrée à 30°C (Fig.16).

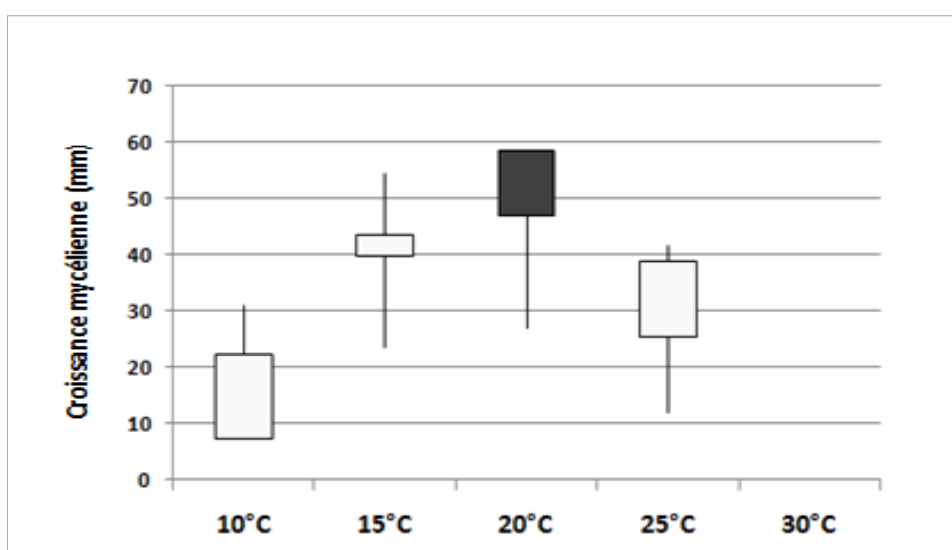


Figure 16 : Taux de croissance mycélienne à différentes gammes de températures.

L'analyse des composantes principales en deux dimensions, Dim 1 à 30,22% et Dim 2 à 37,88%, nous a permis de regrouper les isolats selon leur comportement à l'égard des différentes gammes de températures (Fig.17). Les isolats ayant le même comportement sont projetés dans le même axe et l'ACP a fait ressortir cinq groupes. Le premier groupe inclue uniquement les isolats du cluster B ; ceux-là ont montré une croissance très importante à 15°C, intermédiaire à 20°C et 25°C et une croissance très faible à 10°C.

Le deuxième groupe renferme uniquement les isolats du cluster A ; ces derniers ont enregistré une croissance très importante à 20°C, intermédiaire à 15°C et 25°C et faible à 10°C.

Le troisième groupe est représenté par des isolats appartenant aux clusters A et B, ceux-là ont montré une croissance mycélienne très importante à 20°C, intermédiaire à 15°C et faible à 10°C et 25°C.

Le quatrième groupe comprend des isolats du cluster A et B ayant montré une bonne croissance à 15°C et 20°C, et une croissance faible à 10°C et 25°C.

Le cinquième groupe renferme des isolats du cluster A uniquement ; ces derniers ont une préférence pour les hautes températures et ont une bonne croissance à 25°C, intermédiaire à 15°C et 20°C et faible à 10°C.

La classification des isolats selon leur exigence thermique n'est pas influencée par leur nature génétique ; cluster ou MLG (Tabl.18). Certains, isolats ont le même MLG mais n'ont pas les mêmes préférences thermiques. Les isolats du MLG_09 sont distribués dans le premier, troisième et quatrième groupe. Cette sous-population a montré un optimum de température entre 15°C et 20°C, le même cas a été observé avec les isolats appartenant au MLG_07. En revanche, les isolats du MLG_03 ont montré un optimum compris entre 20°C et 25°C. Cependant, nous avons remarqué que les isolats appartenant au cluster B montrent des colonies plus grandes à 10°C par rapport à ceux du cluster A (Fig. 18).

Tableau 18 : Classement des MLG selon leur croissance mycélienne à l'égard des différentes gammes de températures.

Groupe	n	Régions	MLGs	Cluster	10°C	15°C	20°C	25°C
1	2	Alger, Tipaza	MLG_09,MLG_12	B	26,67	48,92	44,34	37,67
2	3	Alger, Tipaza	MLG_03, MLG_07	A	7,66	38,56	53,00	33,22
3	6	Alger, Tipaza	MLG_09,MLG_17	A,B	19,50	34,23	44,36	26,95
4	6	Alger, Tipaza	MLG_07,MLG_09,MLG_?	A,B	19,45	33,45	32,78	19,51
5	2	Alger	MLG_03, MLG_?	A	12,67	25,34	28,00	37,00

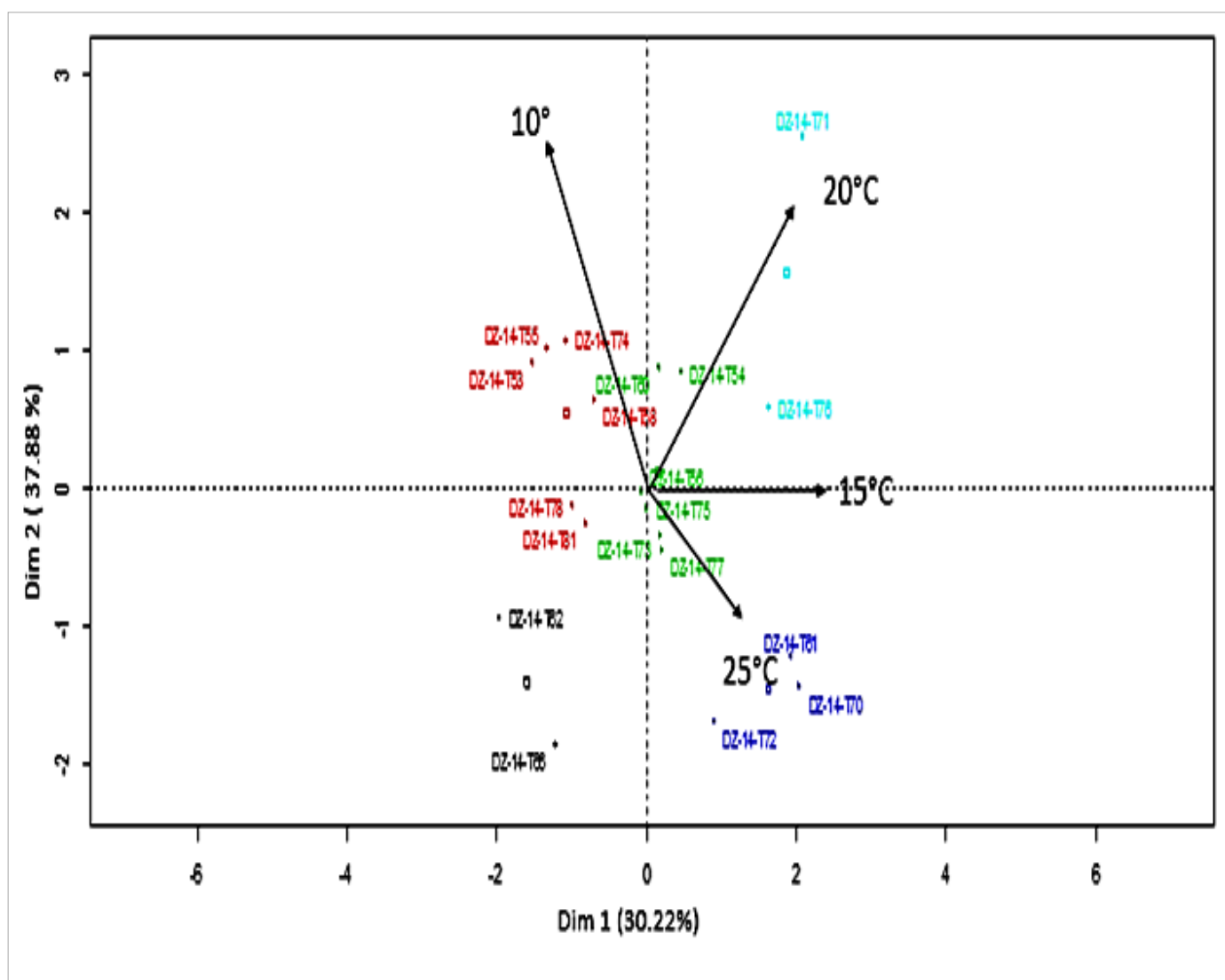


Figure 17 : Analyse des composantes principales (ACP) de la croissance mycélienne à différentes gammes de températures (10°C ; 15°C ; 20°C ; 25°C).

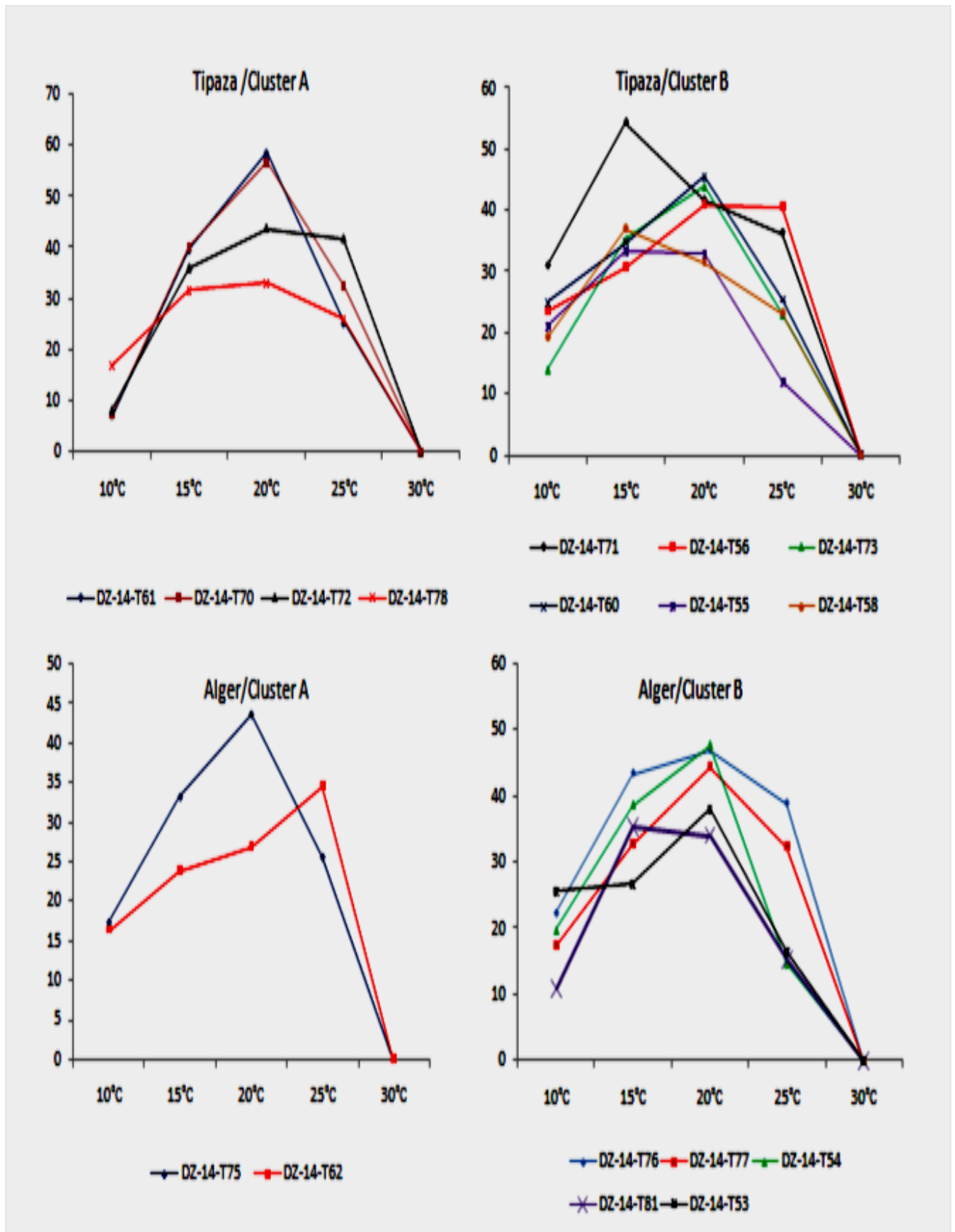


Figure 18 : Différents profils thermiques des isolats de *P. infestans* selon la région et le cluster.

III.2.4. Etude de la spécialisation parasitaire sur les deux plantes hôtes (tomate et pomme de terre)

III.2.4.1. Evaluation de l'agressivité des différents génotypes selon les deux hôtes

L'agressivité du pathogène a été évaluée en mesurant les différentes composantes: la taille des lésions au 5^{ème} jour après inoculation, la sporulation au 7^{ème} jour après inoculation ainsi que la période d'incubation et de latence (Tabl.19).

La taille de la surface des lésions (Fig.19 A) est comprise entre 357,57 mm² (EU_13_A2, tomate) à 629,44 mm² (EU_23_A1, pomme de terre). L'analyse de variance concernant le génotype EU_13_A2 a montré des résultats très hautement significatifs ($P \leq 0,001$) entre les deux hôtes, cette lignée clonale a provoqué des lésions de taille supérieure sur pomme de terre soit 549,06 mm² en moyenne alors que sur la tomate ces nécroses sont de tailles inférieures soit 357,57 mm² en moyenne. Par contre, les deux autres génotypes EU_2_A1 et EU_23_A1 n'ont montré aucune différence significative sur les deux plantes hôtes ($P = 0,58$ et $P = 0,317$).

L'intensité de sporulation (Fig.19 B) varie de $4,10 \times 10^4$ spores ml⁻¹ (EU_2_A1, pomme de terre) à $48,86 \times 10^4$ spores ml⁻¹ (EU_13_A2, pomme de terre), le génotype EU_13_A2 a montré des résultats significatifs ($P \leq 0,01$). Alors, que les autres génotypes EU_2_A1 et EU_23_A1 ont enregistré des résultats très hautement significatifs ($P \leq 0,001$) sur les deux hôtes. Les isolats du génotype EU_13_A2 ont montré une sporulation plus importante sur foliole de pomme de terre égale à $48,86 \times 10^4$ spores ml⁻¹ alors que sur les folioles de la tomate la sporulation était inférieure $21,99 \times 10^4$ spores ml⁻¹. Contrairement, les autres génotypes ont enregistré un taux de sporulation important sur les folioles de la tomate par rapport à ceux de la pomme de terre. Ce taux est de $21,56 \times 10^4$ spores ml⁻¹ sur tomate et de $4,10 \times 10^4$ spores ml⁻¹ sur pomme de terre avec le génotype EU_2_A1 et un taux de $43,53 \times 10^4$ spores ml⁻¹ sur tomate et $15,35 \times 10^4$ spores ml⁻¹ sur pomme de terre avec le génotype EU_23_A1.

La période d'incubation est comprise entre 3,5 à 4,73 jours et l'analyse de variance n'a montré aucune différence significative entre génotypes et cultivars ($P \geq 0,05$).

La période de latence est plus longue comprise entre 4,39 à 6 jours et l'analyse de variance a montré une différence non significative avec les isolats du génotype EU_13_A2 ($P = 0,151$), alors que les isolats des génotypes EU_2_A1 et EU_23_A1 ont montré des résultats très hautement significatifs ($P \leq 0,001$) en ce qui concerne cette période.

Tableau 19 : Classement des valeurs moyennes des composantes de l'agressivité de 36 isolats dans le test de spécialisation parasitaire.

Composante	Cultivars	EU_13_A2 (n=5)	EU_2_A1(n=3)	EU_23_A1(n=25)
Taille des lésions (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 **	0,583	0,317
Sporulation (Spores ml ⁻¹)	Marmande	21,99x10 ⁴ a	21,56x10 ⁴ b	43,53x10 ⁴ b
	Spunta	48,86x10 ⁴ b	4,10x10 ⁴ a	15,35x10 ⁴ a
	Pr(>F)	0,0107 *	0,000241 ***	<2e-16 ***
Période d'incubation (jours)	Marmande	3,5 a	4,73 a	3,73 a
	Spunta	3,60 a	4,53 a	3,77 a
	Pr(>F)	0,671	0,333	0,629
Période de latence (jours)	Marmande	4,39 a	5,2 a	4,44 a
	Spunta	4,88 a	6 b	4,86 b
	Pr(>F)	0,151	0,0049 **	7,96e-08 ***

Les moyennes sont classées selon le test de Tukey HSD avec $\alpha=0.05$; la signification statistique est exprimée par un astérix (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

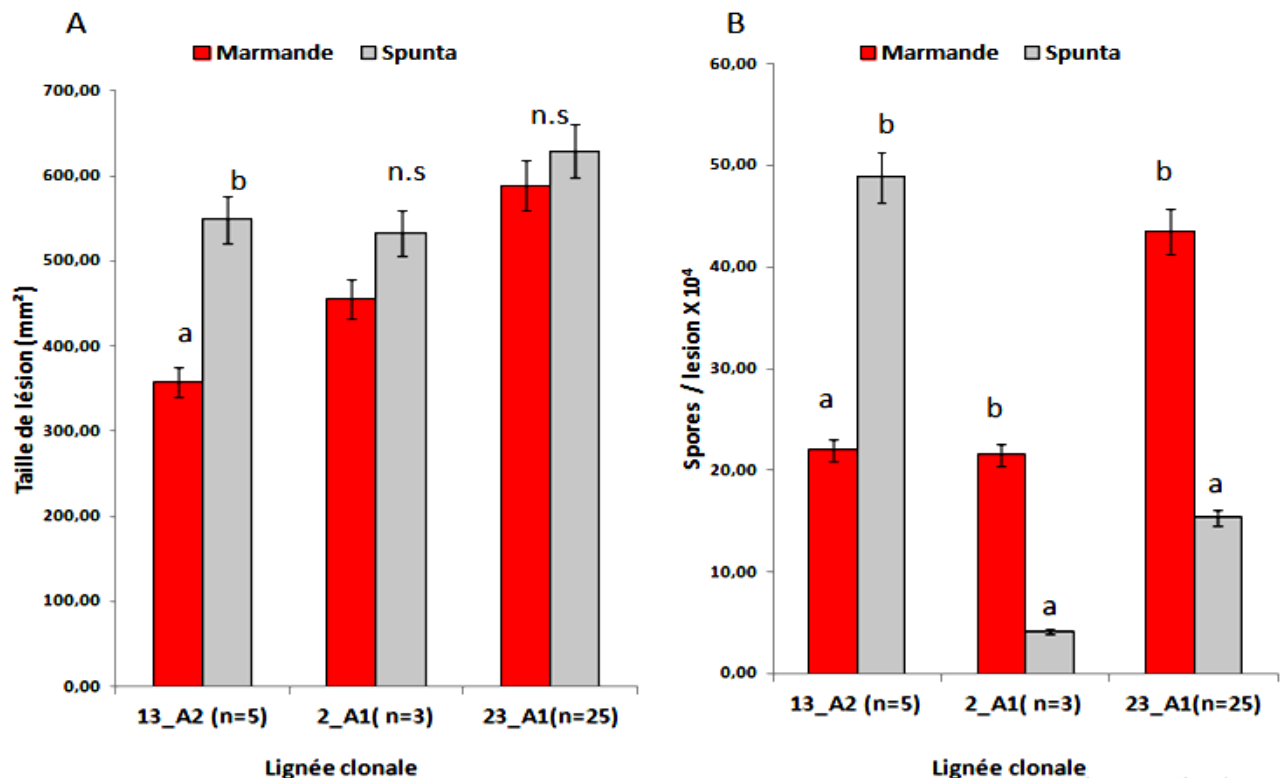


Figure 19 : Agressivité des isolats appartenant à différentes lignées clonales sur les deux hôtes. A. Taille des lésions en mm². B. Taux de sporulation x 10⁴ml⁻¹. Les moyennes sont classées selon le test de Tukey's HSD avec $\alpha=0.05$. n.s= non significatif.

III.2.4.2. Expression de la virulence spécifique des différents isolats selon leurs hôtes d'origine

Pour la taille des lésions, nous avons remarqué que les isolats collectés à partir de tomate n'ont montré aucune différences significatives entre la taille des lésions occasionnées sur foliole de pomme de terre ou sur tomate ($P=0,65$). Cependant, les isolats collectés à partir de la pomme de terre ont enregistré des résultats très hautement significatifs entre les deux hôtes. Ces derniers ont enregistré des lésions de taille supérieure soit $549,73\text{mm}^2$ sur leur hôte d'origine et des nécroses de taille inférieure soit $364,64\text{ mm}^2$ sur la tomate (Tabl.20). En se basant sur la sporulation, nous avons remarqué que les isolats collectés à partir de tomate sporulent quatre fois plus sur leur hôte d'origine que sur la pomme de terre (Fig.21) et les résultats étaient très hautement significatifs ($P\leq 0,001$). Contrairement, les isolats de pomme de terre sporulent plus sur leur hôte d'origine que sur la tomate (Fig.20) et ont montré des différences significatifs ($P\leq 0,01$). Concernant la période d'incubation, l'analyse de variance n'a montré aucune différence significative entre les isolats de pomme de terre et de tomate. Par contre la période de latence a enregistré des résultats très hautement significatifs ($P\leq 0,001$). Les isolats collectés à partir de tomate ont enregistré une période plus courte sur leurs hôtes d'origine que sur la pomme de terre, en revanche les isolats collectés à partir de pomme de terre montrent une période de latence plus longue sur leur hôte d'origine que sur la tomate.

Tableau 20 : Classement des valeurs moyennes des composantes d'agressivité des isolats selon leur hôte d'origine.

Composantes	Cultivars	Isolats (Tomate n = 25)	Isolats (Pomme de terre n= 11)
Taille des lésions (mm ²)	Marmande	615,19 a	364,64 a
	Spunta	625,89 a	549,73 b
	Pr(>F)	0,654	0,0263 *
Sporulation (Spores ml ⁻¹)	Marmande	46 x 10 ab	22,02 x 10 a
	Spunta	14,46 x 10 a	30,69 x 10 b
	Pr (>F)	<2e-16 ***	0,0483 *
Période d'incubation (jours)	Marmande	4,44a	4,56 a
	Spunta	4,83a	5,11 a
	Pr(>F)	0,998	0,852
Période de latence (jours)	Marmande	4,44a	4,83 a
	Spunta	4,56b	5,11 a
	Pr(>F)	1,96e-07 ***	0,0846

Les moyennes sont classées selon le test de Tukey HSD avec $\alpha=0.05$; la signification statistique est exprimée par un astérisx (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$).

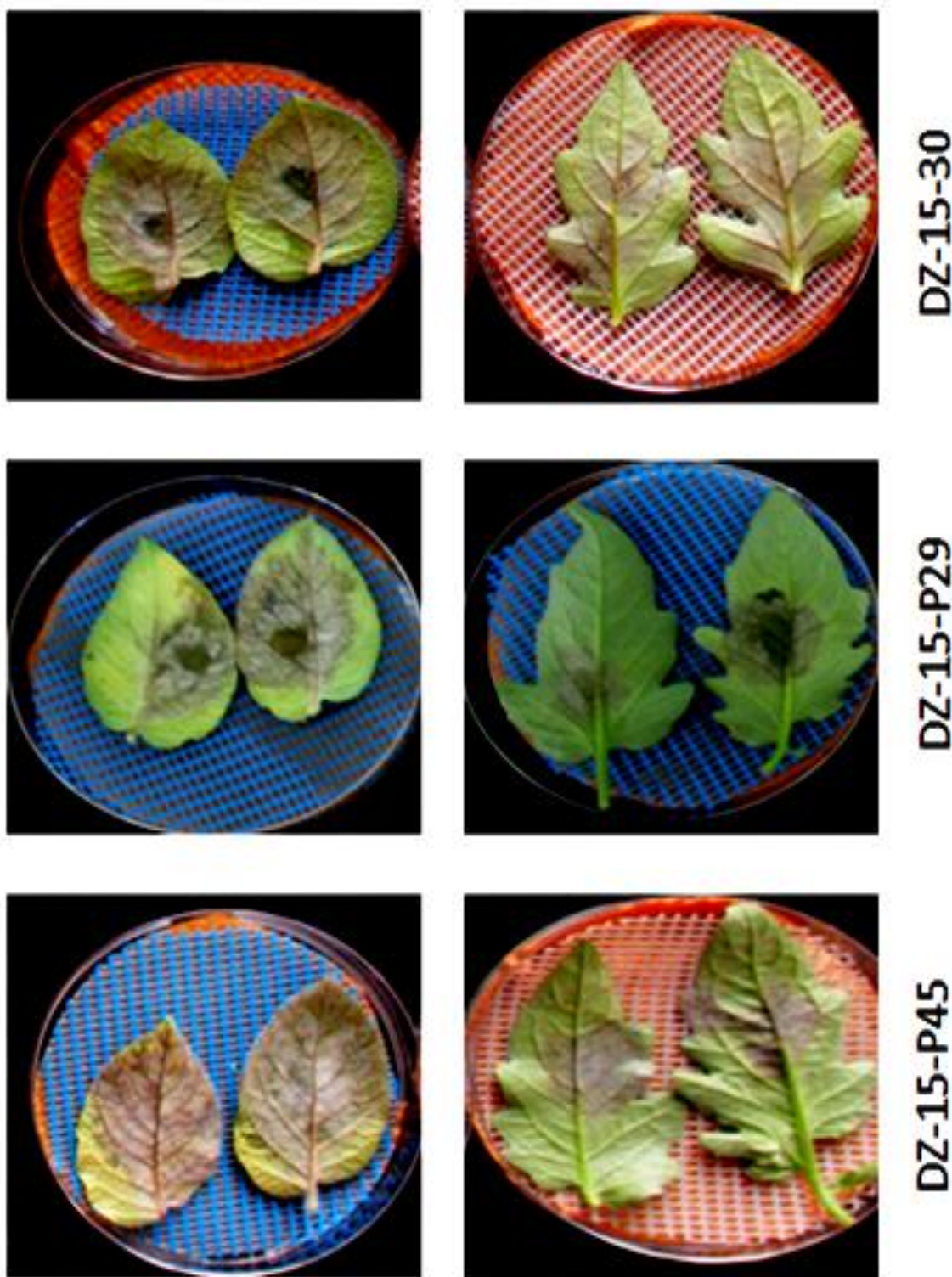
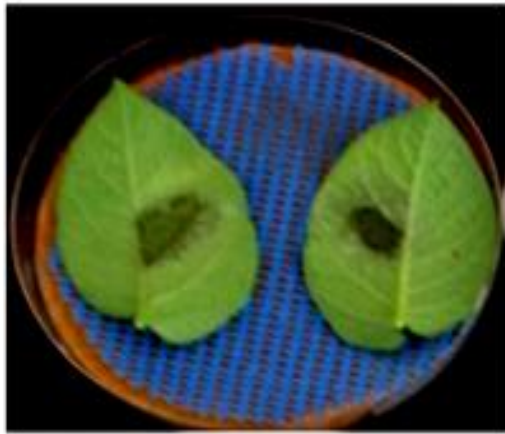


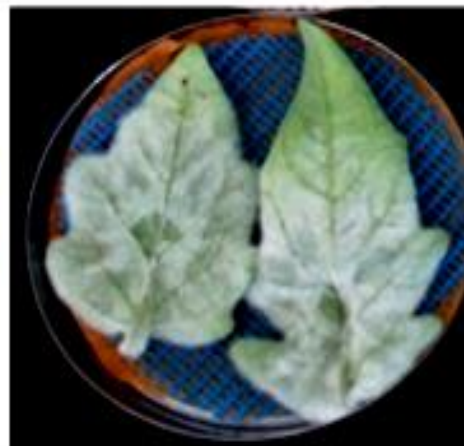
Figure 20 : Symptômes des isolats de *P. infestans* du génotype EU_13_A2 sur les folioles des deux hôtes. Nous remarquons une claire différence au niveau des symptômes, sur la pomme de terre qui est leur hôte d'origine, les nécroses sont nettement plus larges avec une sporulation très abondante. Alors que sur la tomate les nécroses sont moins larges, noires avec peu de sporulation (Photographie : S. Belkhiter).



DZ-15-T01



DZ-15-T37



DZ-15-T19

Figure 21 : Symptômes des isolats de *P. infestans* du génotype EU_23_A1 sur les folioles des deux hôtes. Sur la pomme de terre les nécroses sont noires avec des bordures claires et renferment peu de sporulations, la taille des lésions est moins importante par rapport aux nécroses présentées dans la figure précédente. Alors, que sur la tomate les nécroses ne sont pas visibles mais toutes la surface de la foliole est recouverte d'un feutrage blanc ce qui indique une sporulation très abondante (Photographie: S. Belkhiter).

III.3. Evaluation de la résistance de quelques variétés de tomates sous serre et en conditions contrôlées à l'égard du mildiou

III.3.1. Comportement variétal de la tomate (sous serre) à l'égard du mildiou

III.3.1.1. Pourcentage de destruction foliaire

A la fin de Mars début avril, les conditions environnementales étaient favorables ; les températures minimales étaient de 15°C et une humidité relative égale à 90% à l'intérieur de la serre, ont permis le déclenchement de la maladie. Les premiers symptômes sont apparus sur quatre variétés : Bitche serdes , Marmande, Miel de Mexique et Slava, et après deux semaines toutes les variétés ont été attaquées par le mildiou (Fig.22). Nous avons enregistré un pourcentage de destruction foliaire très significatif entre toutes les variétés durant toute la période de notation ($P \leq 0,001$). Les variétés qui ont montré un taux inférieur de destruction foliaire sont : la Saint Pierre et Ideal. Celles-ci ont enregistré un taux d'attaque égal à 27,36 % et 25,86% en moyenne respectivement, tandis, que les variétés Trakia et Burbunk ont montré un pourcentage d'attaque intermédiaire compris entre 39,03% et 46,53% en moyenne respectivement (Fig.23). Le reste des variétés comme Glacha , Rose de Berne, Datchnik , Bitche sedese ,Marmande , Miel de Mexique et Slava ont été sévèrement attaquées, avec un taux de destruction foliaire compris entre 51,25% et 68,75% en moyenne (Tabl.21).

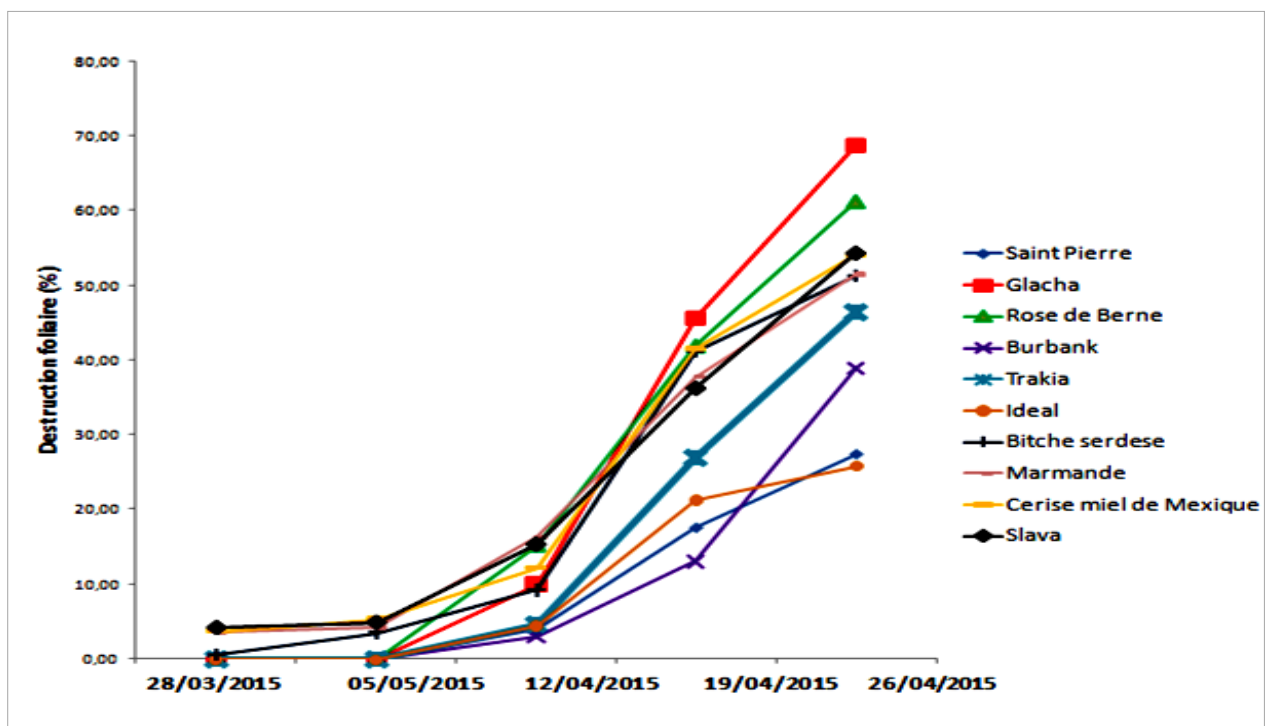


Figure 22 : Pourcentage de destruction foliaire en fonction du temps sur les dix variétés.



Figure 23 : Aspect de destruction foliaire de la tomate selon l'échelle utilisé.

III.3.1.2. Evaluation du comportement des variétés selon l'AUDPC (Area Under the disease progress curve)

À partir du pourcentage de destruction foliaire (Fig.22) nous avons tracé la courbe de la maladie dite l'AUDPC (Area under the disease progress curve). L'analyse de variance a montré des résultats très hautement significatifs entre les différentes variétés ($P \leq 0,0001$) (Tabl.21). Ainsi, le test de Tukey (HSD), a fait ressortir trois groupes homogènes à savoir (Fig.24).

-Le premier groupe renferme les variétés les moins attaquées par le mildiou, celles-ci ayant montré des valeurs AUDPC les plus faibles inférieures comprises entre 246,56 à 271,81 en moyenne. Ces variétés sont : la Saint Pierre, Burbank et Ideal.

-Le deuxième groupe comprend une seule variété Trakia, qui est moyennement attaquée et a enregistré une AUDPC égale à 384,77.

-Le troisième groupe renferme les variétés qui se sont montrées les plus sensibles, celles-ci ont enregistré des valeurs AUDPC élevées comprises entre 559,82 à 615,13 en moyenne ; ces variétés sont : Glacha, Rose de Berne, Datchnik, Bitche sedese, Marmande, Miel de Mexique et Slava.

Tableau 21 : Classement des valeurs moyennes du pourcentage de destruction foliaire et de l'AUDPC.

Cultivars	Destruction foliaire (%)					AUDPC
	28/03/2015 75J	05/04/2015 83J	12/04/2015 90J	19/04/2015 97J	26/04/2015 104J	
Saint Pierre	0,00 a	0,00 a	3,96 a	17,58 ab	27,36 a	246,56 a
Ideal	0,00 a	0,00 a	4,54 a	21,36 ab	25,86 a	271,81 a
Burbank	0,00 a	0,00 a	3,10 a	13,11 a	39,03 b	250,09 a
Trakia	0,00 a	0,00 a	4,73 a	26,97 bc	46,53 bc	384,77 b
Rose de Berne	0,00 a	0,00 a	15,31 c	41,94 d	61,25 de	615,13 c
Glacha	0,00 a	0,00 a	10,03 b	45,56 d	68,75 e	629,75 c
Bitche serdese	0,69 b	3,61 b	9,28 b	41,11 d	51,25 cd	559,82 c
Marmande	3,59 b	4,22 c	16,31 c	37,78 d	51,53 cd	601,06 c
Slava	4,31 c	5,00 d	15,42 c	36,25 cd	54,31 cd	601,82 c
Miel de Mexique	3,73 c	5,42 d	12,22 cb	41,53 d	54,17 cd	616,80 c
Pr(>F)	4,8e-16 ***	1,03e-13 ***	<2e-16 ***	<2e-16 ***	<2e-16 ***	<2e-16 ***

J: Jours; AUDPC : Area under the disease progress ; les moyennes du pourcentage de destruction foliaire ainsi que l'AUDPC sont classés selon le test de Tukey HSD avec $\alpha=0.05$; la signification statistique est exprimée par un astérix (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

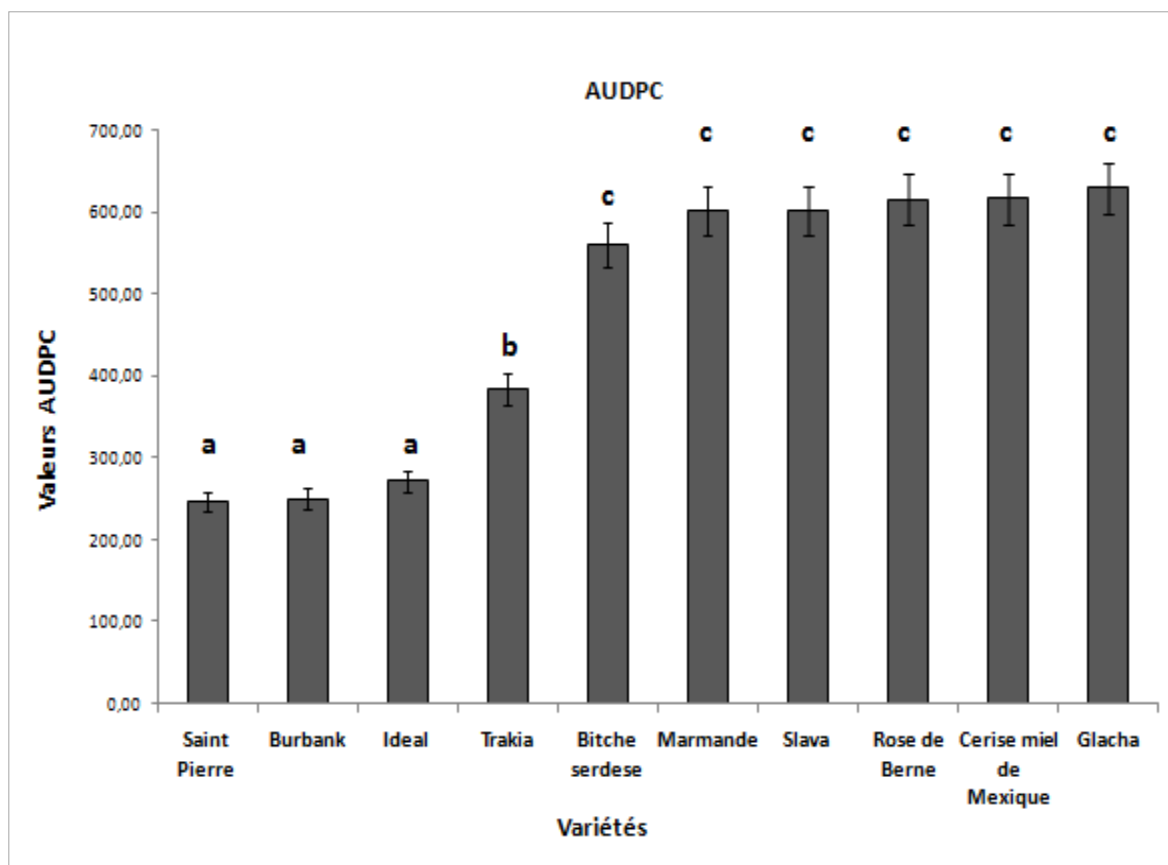


Figure 24 : Histogramme des valeurs de l’AUDPC des dix variétés étudiées.

III.3.2. Comportement variétal de la tomate en conditions contrôlées à l’égard du mildiou

Afin de confirmer les résultats obtenus sous abri serre, nous avons sélectionné trois variétés (Marmande, Trakia et Saint Pierre) ayant différents niveaux de résistance. Ce test a été effectué sous des conditions *in-vitro* en inoculant des folioles détachées de tomate avec cinq isolats appartenant à différents génotypes (EU_13_A2, EU_2_A1, EU_23_A1).

Les résultats obtenus montrent que les tailles des lésions sur les folioles sont comprises entre 36,24 mm² (DZ-15-T25 /EU_13_A2, Trakia) et 814,44 mm² (DZ-15-P58/EU_23_A1, Marmande). Tous les isolats ont enregistré des résultats très hautement significatifs ($P \leq 0,001$) sur les variétés testées. Cependant, l’isolat DZ-14-T18 appartenant au génotype EU_2_A1, a montré des résultats non significatifs ($P=0,49$) sur les trois cultivars (Tabl.22).

Ainsi la Marmande a montré des nécroses de taille supérieure (Fig.24) avec tous les génotypes testés. Par contre la Saint Pierre a enregistré des lésions de taille supérieure avec les isolats DZ-16-P01 et DZ-15-P30 appartenant respectivement au génotype EU_23_A1 et

EU_13_A2 ; et les lésions sont de taille réduites avec le reste des isolats. Tandis que, la variété Trakia a développé des lésions de taille inférieure à l'égard de tous les isolats testés.

L'intensité de sporulation est comprise entre $0,8 \times 10^4$ spores ml^{-1} (DZ-16-P01 / EU_23_A1 isolate, cv. Trakia) et 69.70×10^4 sporangia ml^{-1} (DZ-15-T58 / 23_A2 isolate, cv. Marmande. Concernant ce paramètre, tous les isolats appartenant aux lignées clonales EU_13_A2 et EU_23_A1, ont montré des résultats hautement significatifs ($P \leq 0,001$). Cependant l'isolat DZ-14-P18 du génotype EU_2_A1 a enregistré des résultats non significatifs ($P = 0,837$).

Enfin la Marmande a enregistré le taux de sporulation le plus important à l'égard de tous isolats appartenant aux génotypes EU_13_A2 et EU_23_A1 (Fig. 24). À l'exception celle-ci a enregistré une intensité de sporulation inférieure à l'égard de l'isolat DZ-14-P18, appartenant à la lignée clonale EU_2_A1. Cet isolat s'est montré le moins agressif par rapport aux autres. En revanche, les deux variétés Saint Pierre et Trakia ont enregistré un taux de sporulation inférieur à l'égard de tous les isolats testés.

La période d'incubation est comprise entre 3 à 4,9 jours et, l'analyse de variance a montré des résultats très hautement significatifs ($P \leq 0,001$) avec tous les isolats testés. Cette variété a enregistré une période d'incubation plus courte à l'égard de tous les isolats testés ce qui prouve que le pathogène se développe rapidement sur cette variété par rapport aux autres cultivars.

Quant à la période de latence, elle est comprise entre 4 et 6 jours. L'analyse de variance a montré des résultats très hautement significatifs ($P \leq 0,001$), avec les isolats des génotypes EU_2_A1 et EU_23_A1, et des résultats non significatifs ($P = 0,116$) avec l'isolat DZ-15-P30 du génotype EU_13_A2.

La variété Marmande a donc enregistré une période de latence la plus courte par rapport aux autres variétés. Le comportement des isolats était très variable, même ceux qui appartiennent au même génotype ; en outre, l'isolat DZ-15-P58 s'est montré le plus agressif.

Tableau 22 : Classement des valeurs moyennes des composantes de la résistance du test de feuilles détachées.

Composantes	Cultivars	DZ-15-T25	DZ-16-P01	DZ-15-P58	DZ-15-P30	DZ-14-P18
Taille des lésions (mm ²)	Marmande	113,04b	218,23b	814,44b	278,05b	189,71 a
	St Pierre	37,41a	107,74ab	367,54a	186,31b	156,61 a
	Trakia	36,24a	39,77a	237,54a	82,95a	75,62 a
	Pr(>F)	4,8e-06 ***	0,014 *	8,97e-05 ***	0,000264 ***	0,491
Sporulation (Spores ml ⁻¹)	Marmande	56,27x 10 ⁴ b	8,4x10 ⁴ b	69,7x10 ⁴ b	59,04x10 ⁴ b	3,1x10 ⁴ a
	St Pierre	16,5x10 ⁴ a	3,5x10 ⁴ ab	43,88x10 ⁴ a	5,03x10 ⁴ a	4,45x10 ⁴ a
	Trakia	14,87x10 ⁴ a	0,8x10 ⁴ a	34,84x10 ⁴ a	6x10 ⁴ a	3,6x10 ⁴ a
	Pr(>F)	0,00213 **	0,045 *	0,00073 ***	3,1e-05 ***	0,837
Période d'incubation (jours)	Marmande	3,67a	3a	4a	3a	4 a
	St Pierre	5b	4ab	5b	4b	4,75 b
	Trakia	5b	5c	4,6b	4b	4 a
	Pr(>F)	9,72e-07 ***	0,000275 ***	0,000399 ***	<2e-16 ***	0,00363 **
Période de latence (jours)	Marmande	4,67a	3a	4a	4a	5a
	St Pierre	6b	4ab	5b	4,33a	6b
	Trakia	6b	5,33b	5b	4a	6b
	Pr(>F)	9,72e-07 ***	0,00233 **	<2e-16 ***	0,116	<2e-16***

Les moyennes sont classés selon le test de Tukey HSD avec $\alpha=0.05$; la signification statistique est exprimée par un astérix (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).



Figure 25 : Symptômes sur folioles détachées des variétés étudiées en conditions *in-vitro*.

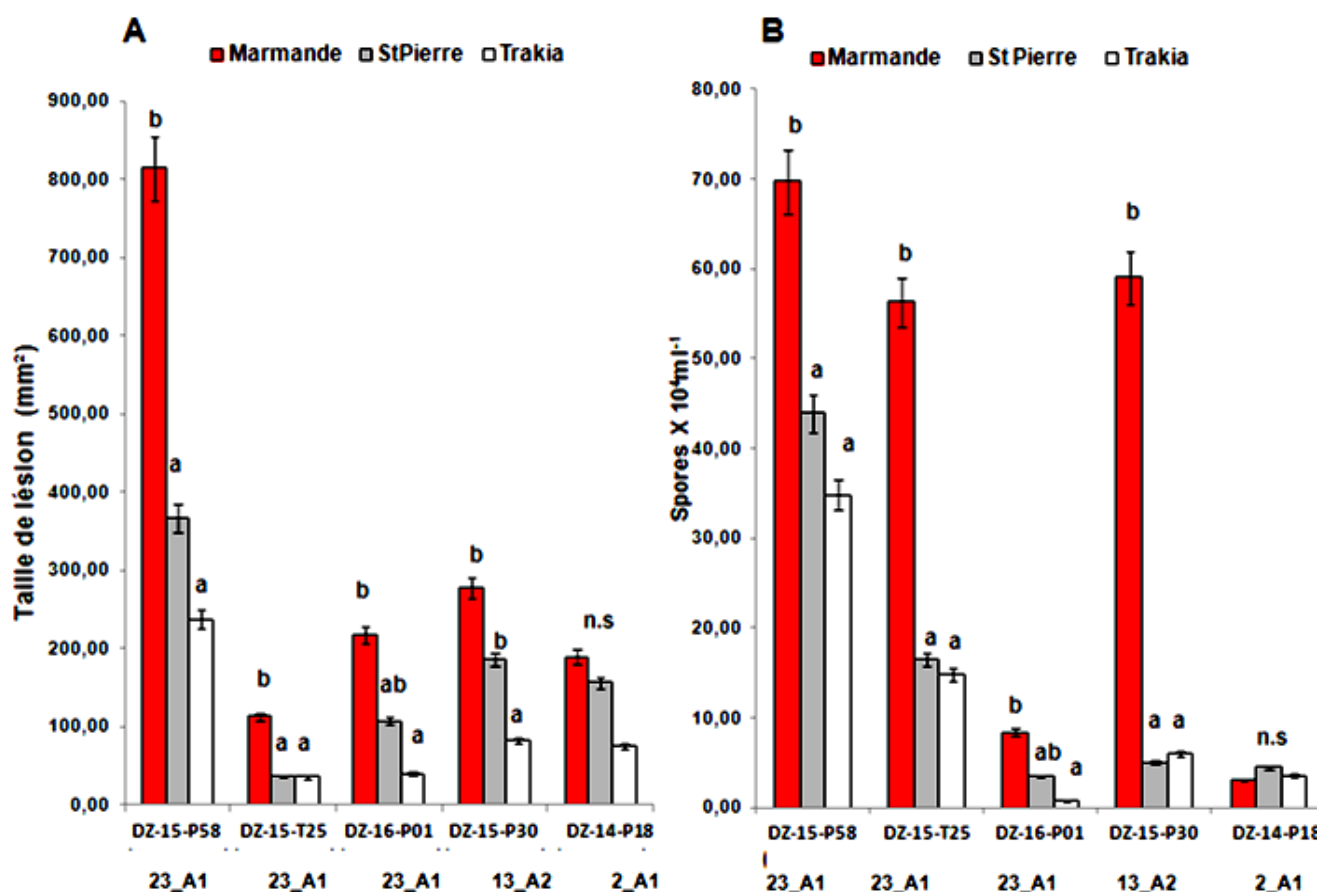


Figure 26 : Agressivité des isolats appartenant à différentes lignées clonales sur les variétés de tomates. A. Taille des lésions en mm². B. Taux de sporulation x 10⁴ml⁻¹. Les moyennes sont classées selon le test de Tukey's HSD avec $\alpha=0.05$. n.s= non significatif.

III.3.3. Corrélation entre le comportement des variétés sous serre et en conditions contrôlées

L'analyse de variance a montré des résultats non significatifs ($P=0,47$) entre la taille des lésions mesurées *in-vitro* et L'AUDPC et les deux composantes sont corrélées positivement ($r=0,74$). De même pour le taux de sporulation et l'AUDPC ($P=0,31$, $r=0,88$). La Marmande s'est montrée sensible sous serre et en conditions contrôlées. Par contre, la variété Trakia s'est montrée moyennement sensible sous serre. Contrairement, en conditions contrôlées, cette variété était la moins attaquée par les isolats testés, alors que la Saint Pierre était classée parmi les variétés les moins attaquées sous serre et la plus sensible par rapport la variété Trakia en condition *in-vitro*.

III.4. Discussion

Tous les isolats de *Phytophthora infestans* collectés à partir de la tomate dans la région centre du Nord Algérien sont essentiellement dominés par le type sexué A1 et la population est divisée en deux lignées clonales. Le génotype EU_23_A1 représente 91% de la population collectée entre 2013 et 2016. Cependant le génotype EU_2_A1 représente 6% de la population collectée entre 2010 et 2014 ; ce génotype a disparu à partir de 2015 et a été remplacé par le EU_23_A1. Toutefois, les isolats collectés de 2015 à 2016 sont de lignée clonale EU_23_A1 excepté, deux isolats qui étaient différents des autres sur le plan génotypique et sont appelés « others » qui représentent 3% de la collection dont un isolat a été collecté en 2010 et un autre en 2011.

Tous les isolats du génotype EU_23_A1 étaient sensibles au métalaxyl, à l'exception d'un seul isolat appartenant au génotype EU_2_A1, qui s'est montré moyennement sensible. Les mêmes résultats ont été observés dans d'autres régions du monde. Par exemple, au Brésil tous les isolats collectés à partir de la tomate sont du type A1, contrairement à nos résultats, tous ces isolats étaient résistants au méfenoxam (de Miranda et al., 2010). En Europe, plus précisément, en France le génotype EU_23_A1 a été retrouvé sur la tomate (Corbière et al., 2015). En Grande Bretagne cette lignée clonale est représentée à 20% et 14% des échantillons collectés en 2011 et 2012 respectivement. Ce génotype a été retrouvé également sur la pomme de terre commerciale. Mais, il a disparu en 2013 (Stroud et al., 2016). Dans notre étude nous avons remarqué que seul le type A1 est associé à la culture tomate, ce qui suggère qu'il n'existe pas de reproduction sexuée sur cette plante hôte ainsi rapporté par de Miranda et al (2010).

En comparant les profils SSR du génotype EU_23_A1 retrouvé sur la tomate en Algérie avec la lignée clonale US-23 retrouvée en USA et détecté par Danies et al (2014), nous avons remarqué que les deux lignées avaient les mêmes profils SSR et presque les mêmes comportements phénotypiques. Le US-23 est apparu pour la première fois en 2009 au niveau des jardins de plants de tomate, et par la suite le pathogène s'est propagé rapidement pour atteindre les champs commerciaux de pomme de terre et de tomate (Hu et al., 2012; Fry et al., 2013). La sensibilité au méfenoxam est la principale caractéristique de ce génotype (Danies et al., 2013). Les causes sont probablement liées à la diminution de l'utilisation de ce fongicide aux USA, ce qui a induit à la réapparition de souches sensibles (Hu et al., 2012). La même situation a été observée en Grande-Bretagne, les jardiniers utilisent moins de fongicides par rapport aux producteurs commerciaux, ce qui a induit à l'apparition de génotypes sensibles (Stroud et al.,

2016). De même en Algérie, tous les isolats du génotype EU_23_A1 testés se sont montrés sensibles au métalaxyl, parce que probablement les producteurs n'utilisent pas cette matière active pour traiter la culture de tomate et donc ce génotype n'a pas développé encore une résistance à l'égard de cette matière active.

La structure de la population a montré une large diversité, celle-ci est divisée en 4 clusters. La population du génotype EU_23_A1 est subdivisée en deux clusters (A et B) ; le cluster A comprend un grand nombre de MLGs regroupant les isolats de EU_23_A1 collectés à partir de tomate et ceux de la pomme de terre, alors que le cluster B contient un nombre inférieur de MLGs par rapport au premier. En 2015, ce génotype qui était auparavant essentiellement limité à la culture de la tomate, a été retrouvé également sur la pomme de terre au centre nord de l'Algérie dans la région de Chenoua et Boumerdés. Ce même génotype a été également signalé en 2014 dans la région nord ouest du pays sur la culture de pomme de terre par Rekad et *al* (2017). Habituellement, le EU_23_A1 est rarement retrouvé sur la pomme de terre et représente le principal génotype de *P. infestans* sur tomate (Stroud et *al.*, 2014). Contrairement, aux USA, le génotype US-23 est reconnu pour sa virulence sur la pomme de terre et la tomate et de son potentiel pathogénique par rapport aux autres génotypes existants comme le US-22 et le US-24 (Fry et *al.*, 2013; Seidl Johnson et *al.*, 2015).

Nous avons remarqué que la distance entre les régions et les années d'échantillonnages n'a pas influencé la structuration de la population. Cependant, nous avons remarqué que durant chaque année il y avait apparition de nouveau MLGs. Par contre, Montarry et *al* (2010), ont indiqué que 45% des MLGs identifiés en 2004 en France réapparaissaient l'année d'après. Dans notre cas à l'exception d'un seul MLG qui a été retrouvé en 2010 et en 2014, chaque année de nouveaux MLGs font leur apparition, à cause des mutations qui se produisent probablement au sein de la population. En outre, les conditions climatiques telles que l'humidité et le vent favorisent la propagation et la survie des spores (Glais et *al.*, 2014).

Le second génotype est l'EU_2_A1, a été retrouvé en très faible pourcentage au niveau des isolats de *P. infestans* collectés à partir de la culture de tomate entre 2010 et 2014. En revanche, nous avons remarqué la disparition de ce génotype au niveau des échantillons collectés entre 2015 et 2016 et son remplacement par le EU_23_A1. Le EU_2_A1 est un génotype très important retrouvé sur la culture de pomme de terre en Algérie (Corbière et *al.*, 2015).

En France le EU_2_A1 était le génotype le plus dominant sur la pomme de terre avant 2006, mais par la suite celui-ci a été remplacé par le EU_13_A2 (Mariette et *al.*, 2016a).

Jusqu'à présent, le type sexué A2 n'a pas été retrouvé au niveau des populations de *P. infestans* collectées à partir de la tomate en Algérie, alors que ce type couvre une large partie de la population de *P. infestans* collectés à partir de la pomme de terre (Corbière et *al.*, 2015). Ce qui fait que, la lignée clonale EU_13_A2 a été détecté uniquement sur la pomme de terre en Algérie (Corbière et *al.*, 2015). Contrairement aux autres pays, le génotype EU_13_A2 cause de sévères épidémies, à la fois sur la pomme de terre et la tomate dans le sud de l'Inde (Chowdappa et *al.*, 2015).

La raison pour laquelle le type sexué A2 est lié à la culture de pomme de terre est probablement due aux importations des tubercules de la pomme de terre en provenance d'Europe, essentiellement de France et de Hollande. En effet, le tubercule infecté représente une source d'inoculum primaire, en assurant la conservation des oospores et du mycélium du pathogène (Wangsomboondee et *al.*, 2002).

Par contre, nous avons remarqué que le type sexué A1 est lié à la culture de la tomate, il est possible que l'inoculum du type sexué A1 ne se conserve pas au niveau des tubercules de la pomme de terre, contrairement celui-ci reste viable au niveau des débris de la tomate qui représente aussi une source d'inoculum primaire (Vega-Saánchez et *al.*, 2000). En outre, les semences infectées de tomate contenant du mildiou viable, constituent une source d'inoculum (Frost et *al.*, 2016). Il est probable que c'est la raison principale de la propagation de la lignée clonale EU_23_A1 sur la culture de la tomate en Algérie.

Dans le nord Algérien la tomate et la pomme de terre sont cultivées dans la même région géographique. Cependant, la spécialisation parasitaire apparaît clairement entre les populations de *P. infestans* collectés à partir de la tomate et ceux de la pomme de terre ; les pratiques culturales et les facteurs climatiques sont probablement la raison. Notamment, la température et l'humidité affectent considérablement la composition génétique de la population de *P. infestans* (Mariette et *al.*, 2016b). Plusieurs études ont montré une distinction entre les populations de *P. infestans* collectés à partir de la pomme de terre avec ceux de la tomate (Oyarzun et *al.*, 1998 ; Seidl Johnson et *al.*, 2014). D'autres études, n'ont trouvé aucune différence entre les

populations de *P. infestans* collectées à partir des deux hôtes (Blandón-Díaz et al., 2012; Chowdappa et al., 2015; Stroud et al., 2016).

En Algérie, la tomate est cultivée en plein champ et à grande échelle en été, celle-ci représente un hôte potentiel pour la population de *P. infestans* qui supporte des températures supérieures à 20°C, comme le cas du génotype EU_23_A1, cela s'explique car les isolats du génotype EU_23_A1, avaient différents profils thermiques. En revanche, cette plasticité phénotypique permet l'adaptation de cette population à plusieurs gammes de températures. Certains isolats ont différentes exigences thermiques, malgré que ceux-là appartiennent à la même lignée clonale (Yang et al., 2016).

La capacité d'un isolat d'attaquer un hôte plus rapidement par rapport à d'autres peut être un avantage lorsque les conditions environnementales sont extrêmes (Suassuna et al., 2004). Ce cas, est observé en Algérie avec le génotype EU_23_A1 sur la tomate. La même situation a été observée au Brésil où de graves épidémies de mildiou ont été observées sur les cultures de tomate pendant l'été. Le même phénomène a été constaté avec la lignée clonale US-1 collectée à partir de la tomate qui avait un optimum de température plus élevé que la lignée BR-1 associée à la pomme de terre (Maziero et al., 1999). La même situation a été constatée avec le génotype US-23, ces isolats ne sont pas affectés par les températures froides et présente une grande plasticité sous des températures plus élevées. Par conséquent, ce génotype, peut-être agressif dans les régions chaudes ou devenant chaudes par l'effet des changements climatiques (Seidl Johnson et al., 2015).

Nous pouvons expliquer l'adaptation du génotype EU_23_A1 aux hautes températures par le fait que l'Algérie est parmi les régions qui sont affectées par les changements climatiques, notamment, la période chaude devenant plus longue par rapport à la période froide. Mariette et al (2016 b) a montré que les isolats du bassin Méditerranéen étaient nettement plus agressifs dans les hautes températures que les isolats de l'ouest Européen et vice-versa. En Egypte, le génotype EU_23_A1 a été identifié dans les champs commerciaux de la pomme de terre et il est considéré comme étant le principal génotype avec 57%. Alors, que EU_13_A2 représente 35%. Cependant, les deux lignées clonales sont bien adaptées aux conditions environnementales chaudes de l'Egypte (El Ganainy et al. 2013).

Nous pouvons considérer le EU_23_A1 comme une lignée clonale émergente en Algérie avec une capacité de celle-ci à s'adapter à une large gamme de températures et à attaquer à la fois la

tomate et la pomme de terre. Le EU_23_A1 pourrait devenir aussi résistant au métalaxyl et notamment aux fongicides appartenant à la famille des phenylamides, si les agriculteurs l'utilisaient abusivement et ne respectaient pas les doses prescrites et l'alternance. Récemment, la résistance au méfenoxam a été observée chez quelques isolats de la lignée clonale US_23, alors que celle-ci était sensible au méfenoxam auparavant (Saville *et al.*, 2015).

La distribution des génotypes de *P. infestans* selon les hôtes (pomme de terre et tomate) a montré l'existence d'une spécialisation parasitaire parmi ces populations. Certains génotypes attaquent à fois la pomme de terre et la tomate en plein champ, comme le cas de la lignée clonale EU_23_A1 et EU_2_A1 en Algérie (Corbière *et al.*, 2015; Rekad *et al.*, 2017). Ainsi, le génotype EU_23_A1 est considéré comme une lignée clonale généraliste (Kröner *et al.*, 2017). Dans notre cas nous avons remarqué que le génotype EU_2_A1 avait le même comportement que le génotype EU_23_A1 à l'égard des deux hôtes et donc considérés également comme des généralistes. Turkensteen (1973), a indiqué que les génotypes qui sont capables à s'adapter à plusieurs hôtes sont très compétitifs par rapport aux génotypes qui s'adaptent à un seul hôte.

Par contraire, le génotype EU_13_A2 a été signalé uniquement sur la pomme de terre en Algérie, malgré que celle-ci soit cultivée dans le même environnement que la tomate, et en même temps (Beninal *et al.*, 2008 ;Corbière *et al.*, 2015; Rekad *et al.*, 2017). Certains génotypes spécifiques sont généralement associés à un seul hôte. En Europe, les isolats appartenant aux génotypes EU_13_A2 et EU_6_A1 attaquent uniquement la pomme de terre en plein champ et sont appelés des lignées clonales spécialistes (Kröner *et al.*, 2017). Ces observations ont été rapportées aussi dans certaines études en Équateur par exemple, la lignée clonale US_1 (type d'accouplement A1) était exclusivement associée à la tomate. Alors, que le génotype EC_1 (type d'accouplement A2) était spécifique à la pomme de terre (Oyarzun *et al.*, 1998). Le même cas a été observé dans le sud et le sud-est du Brésil où la lignée clonale US_1 a été trouvée uniquement sur la tomate. En revanche, la lignée BR_1 (type d'accouplement A2) est retrouvée uniquement sur la pomme de terre (Reis *et al.*, 2003, Maziero *et al.*, 2009, de Mireta *et al.*, 2010).

Contrairement à ce qui est observé en Algérie en Inde, le génotype EU_13_A2 s'est adapté à la fois à la pomme de terre et la tomate et provoquent des pertes considérables sur ces deux hôtes (Chowdappa *et al.*, 2013 ; Chowdappa *et al.*, 2015).

En considérant les symptômes, les isolats du génotype EU_23_A1 se sont montrés très biotrophes sur la tomate avec les mêmes types de nécroses décrites par Vega-Sanchez et *al* (2000), Smart et *al* (2003), et Danies et *al* (2013), sur les folioles. Les lésions ne sont presque pas visibles ou bien il est difficile de définir leurs bordures. Par contre, celles-ci sont couvertes d'une sporulation très abondante après quatre à cinq jours d'inoculations. Contrairement, les isolats du génotype EU_13_A2 produisent des nécroses très visibles et foncées sur les folioles de la tomate avec peu de sporulations comparables à celles rapportées par Vega-Sanchez et *al.*, (2000).

Par rapport à la taille des nécroses nous avons remarqué que la lignée clonale EU_23_A1 est la plus agressive que les autres génotypes ; celle-ci a montré des lésions de grande taille sur les deux hôtes, suivi du génotype EU_2_A1 ce dernier a montré des lésions de taille similaire sur les deux hôtes. Cependant, le génotype EU_13_A2 a produit des lésions de grande taille sur les folioles de la pomme de terre et des lésions de taille inférieure sur la tomate. Lebreton et *al* (1999), ont noté que la taille des nécroses n'était pas un critère mesurable pour l'agressivité ou la spécialisation parasitaire. En revanche, un autre paramètre a été mesuré qui est la sporulation, l'EU_23_A1 sporule trois fois plus que les autres génotypes sur la tomate, contrairement au EU_13_A2 qui sporule trois fois plus sur la pomme de terre que sur la tomate en comparaison avec les autres génotypes. La sporulation est donc considérée comme un critère majeur qui peut nous aider à déterminer l'agressivité et la spécialisation parasitaire des isolats (Lebreton et *al.*, 1999).

Il est par contre rapporté que la spécialisation parasitaire des populations de *P. infestans* dérive aussi de l'origine de leur hôte (Michalska et *al.*, 2016). Dans notre cas nous avons remarqué que les isolats collectés à partir de la tomate produisaient des nécroses de même taille sur les deux hôtes ; les mêmes résultats ont été rapportés par Kröner et *al* (2017). Par contraire, les isolats collectés à partir de la pomme de terre sont plus agressifs sur leurs hôtes d'origine que sur la tomate. Legard et *al* (1996), a mentionné que tous les isolats testés étaient agressifs sur la pomme de terre et que, quelques isolats étaient agressifs sur la tomate. Les raisons sont probablement liées à la différence intrinsèque de l'habitat entre la pomme de terre et la tomate.

Aussi, la pomme de terre est considérée comme un excellent substrat pour le développement de *P. infestans* par rapport à la tomate (Michalska et *al.*, 2016). Les isolats spécialistes à la pomme de terre ne peuvent pas se développer sur un substrat autre que celui-ci et perdent ainsi

leurs performances avec un autre hôte. Alors que les isolats collectés à partir de la tomate et qui sont des généralistes, ont la capacité de se développer sur d'autres substrats. Ce qui explique leur large gamme d'hôtes et leur niveau de virulence. Aux USA, il existe des lignées clonales qui attaquent uniquement la pomme de terre en plein champ comme le cas des lignées clonales US-8 et US-24, il a été prouvé que même en conditions contrôlées la lignée clonale US-24 n'attaquait pas la tomate (Fry et al., 2013; Danies et al., 2013 ; Seidl Johnson et al., 2014; Seidl Johnson et al., 2015).

Les conditions météorologiques de température et d'humidité jouent un rôle crucial dans la propagation et le développement du mildiou (Razukas et al., 2007). Dans notre cas, les températures avoisinant les 20°C et l'humidité relative à 100% pendant le mois de mars et d'avril, ont favorisé le déclenchement de la maladie et la propagation de l'agent pathogène sous abri plastique; des observations similaires ont été rapportées par Fontem, (2003); Meya et al (2015). Au début, seulement quatre variétés (Bitche serdes, Marmande, Ceri de miel de Mexique et Slava) ont été attaquées par le mildiou, mais après deux semaines, la maladie s'est répandue rapidement sur toutes les variétés.

L'expérimentation des variétés de tomate sous serre a montré différents comportements de celles-ci à l'égard de la maladie. En estimant le pourcentage de destruction foliaire et en calculant la valeur AUDPC, plusieurs études basées sur la résistance variétale de la tomate ont montré différents comportements à l'égard de cette maladie (Foolad et al., 2014; Dufera , 2014; Hansen et al., 2014 ; McGrath , 2015; Arafà et al., 2017). Dans notre cas les gènes de résistance de ces variétés ne sont pas connus. Généralement cette résistance est le résultat du croisement avec des espèces sauvages de Solanacées comme le cas de *Solanum pimpinellifolium*, *S. habrochaites* et *S. pennellii*.

Le mode de croissance chez la tomate peut jouer un rôle dans la résistance aux maladies, puisque dans notre cas, les variétés ayant montré un bon niveau de résistance et une valeur AUDPC inférieure sont les variétés à croissance indéterminée, telles la Saint Pierre, Burbank et Ideal. En revanche la variété Trakia a montré un niveau modéré de résistance ; cette dernière est aussi une variété à croissance indéterminée.

Les variétés à croissance déterminée telles la Marmande et Slava étaient parmi les variétés les plus fortement attaquées et ont enregistré une valeur AUDPC la plus élevée. Le mode de croissance peut jouer un rôle de résistance aux maladies. Ainsi, les variétés à croissance

indéterminée peuvent ajouter de nouvelles folioles sur les extrémités des tiges infectées, contrairement aux variétés à croissance déterminée (Hansen et *al.*, 2014). Certaines variétés, comme Rose de Berne et Miel de Mexique, se sont montrées sensibles, bien qu'elles soient des variétés à croissance indéterminée. Le mode de croissance peut jouer un rôle protecteur contre le mildiou, lorsque la maladie progresse lentement ; cette caractéristique perd son rôle protecteur lorsque la maladie progresse rapidement (Hansen et *al.*, 2014).

Le test sur foliole détachée a été utilisé comme un prédicateur du comportement des isolats dans les conditions de terrain (Legard et *al.*, 1995, Goth et Keane, 1997, Foulad et *al.*, 2014). Dans notre cas les deux essais, sous serre et en laboratoire sont corrélés positivement. En revanche quelques légères variations ont été notées entre les deux essais. En conditions contrôlées, le génotype ainsi que le type sexué (A1 ou A2) des isolats sont connus, alors que sous serre, le génotype et le type d'accouplement des isolats sont inconnus. Généralement, en Algérie, la tomate est infectée uniquement par des isolats du type sexué A1, comme l'ont montré nos résultats de génotypage sur cette population (Belkhiter et *al.*, 2017).

La Marmande s'est montrée la plus sensible au niveau des deux tests. En conditions contrôlées celle-ci a été très sensible aux génotypes EU_13_A2 et EU_23_A1 et a montré une courte période d'incubation et de latence. De même sous serre, celle-ci a été infectée en premier par le mildiou.

Par contre, Saint Pierre est la variété la moins attaquée sous serre, avec des comportements variables à l'égard des différents génotypes testés en conditions contrôlées.

De même, la variété Trakia était moyennement attaquée sous serre, alors que, celle-ci a été la moins attaquée par tous les génotypes en conditions contrôlées. En outre, il existe certaines variations entre les tests effectués en conditions contrôlées et sous serre, qui peuvent affecter les résultats tels que l'âge physiologique des plantes, la taille des folioles, la concentration en spores et les variations micro-environnementales d'une boîte à l'autre (Foolad et *al.*, 2014).

Les génotypes avaient des comportements différents selon les variétés ; les deux lignées clonales EU_23_A1 et EU_13_A2 étaient très agressives sur Marmande en comparaison avec les autres variétés, alors que, le génotype EU_2_A1 n'a pas montré des résultats significatifs entre les variétés. Toutefois, certains isolats de la même lignée clonale tel que le génotype EU_23_A1 ont eu des comportements variables à l'égard des variétés de tomates testées. Généralement l'EU_23_A1 est le génotype le plus agressif sur la tomate par rapport aux génotypes EU_2_A1

et EU_13_A2. Aux USA, la lignée US-23 qui a les mêmes profils SSR que le EU_23_A1 en Algérie est classée actuellement parmi les géotypes les plus agressifs notamment sur la tomate (McGrath, 2015). En Algérie le EU_23_A1 est le principal géotype retrouvé sur la tomate, celui-ci a été détecté également sur la pomme de terre à partir de 2015 dans les wilayas du centre Tipaza et Boumerdes.

CONCLUSION



CONCLUSION ET PERCPECTIVES

En conclusion ce travail est le premier du genre en Algérie à traiter particulièrement le mildiou de la tomate. Les données obtenues nous ont permis de ressortir avec plusieurs informations intéressantes.

Tout d'abord les isolats de *P. infestans* collectés à partir de la tomate depuis 2010 jusqu'à 2016 sont tous du type sexué A1. Cette population se divise en deux grandes lignées clonales, le EU_2_A1 et le EU_23_A1 qui est majoritaire, dont chaque lignée se divise à son tour en plusieurs sous populations ou MLGs. L'existence d'un seul type sexué veut dire que cette population se développe par voie clonale, excluant la reproduction sexuée sur cet hôte.

Par ailleurs cette population de *P. infestans* collectée à partir de la tomate s'est avérée très sensible au Metalaxyl, ce qui prouve que ces isolats n'ont pas encore développé de la résistance à l'égard de ce fongicide, contrairement aux isolats collectés à partir de la pomme de terre de type sexué A2 et qui sont résistants au Metalaxyl.

Sur le plan exigence biologique, les isolats ont montré des réponses variables à l'égard de la température, ce qui montre la grande plasticité de cette population à s'adapter à l'environnement notamment aux hautes températures, nous avons repéré des isolats qui avaient même un optimum à 25 °C. Comme la tomate constitue un hôte potentiel durant la période chaude de la saison, cette population de *P. infestans* a retrouvé refuge au sein de cet hôte.

En particulier, nous avons remarqué que les isolats de EU_23_A1 MLL ont les mêmes profils génotypiques et caractéristiques phénotypiques que les isolats de la lignée clonale US-23 américaine, il n'est pas exclu que notre population de *P. infestans* provient à partir des semences de tomate provenant des Etats Unies.

Par rapport à l'hôte, la spécialisation parasitaire existe au sein des populations de *P. infestans* en Algérie, contrairement à d'autres pays dans le monde, on voit clairement avec un simple test de Mating type. En effet, tous les isolats du type sexué A1 sont liés à la tomate, alors que le type A2 est retrouvé uniquement sur la pomme de terre.

Aussi, en comparant les symptômes obtenus sur tomate et pomme, de terre nous avons remarqué que les génotypes EU_23_A1 et EU_2_A1 sont particulièrement bien adaptés à la

tomate, notamment par les sporulations très abondantes occasionnées sur la tomate, ce comportement prouve que cet hôte peut constituer une source d'inoculum primaire dans le cas d'une attaque de mildiou, puisque les génotypes retrouvés sur la tomate passe facilement sur la pomme de terre dans les conditions de champs. Ces génotypes peuvent être considérés comme des lignées clonales généralistes, qui s'adaptent aux deux hôtes mais surtout à la tomate. Contrairement à l'EU_13_A2 qui est une lignée spécialiste qu'on retrouve uniquement sur la pomme de terre.

La connaissance de la spécialisation parasitaire est importante car elle peut nous aider dans la lutte contre ce pathogène, et donc le mildiou de la pomme de terre doit être traité différemment par rapport au mildiou de la tomate puisque les populations de *P. infestans* inféodés à la pomme de terre ont développé une résistance au Metalaxyl, contrairement à ceux de la tomate qui se sont montrés sensibles à cette matière active.

Enfin les résultats des inoculations des variétés montrent que la résistance variétale pourrait nous aider à réduire la nuisibilité du mildiou et à la réduction de l'utilisation des produits chimiques, qui ont un impact négatif sur l'environnement et la santé. Dans nos tests de résistance variétale, nous avons détecté des variétés ayant montré un bon niveau de résistance à l'égard du mildiou comme le cas des variétés Saint Pierre et Ideal. Certains, cultivars ayant un comportement appréciable à l'égard du mildiou, pourraient constituer de bons candidats pour un programme de sélection variétale. Cependant, ces résultats restent à vérifier sur plusieurs années en plein champ et en conditions contrôlées avec plusieurs isolats afin de confirmer cette hypothèse.

L'Algérie doit prendre des mesures de contrôle rigoureux des semences de pomme de terre et de la tomate provenant de plusieurs pays afin de réduire les sources d'inoculum primaires. Il serait très intéressant, d'introduire des variétés de tomate ayant un bon niveau de résistance aux maladies afin de diminuer l'utilisation des produits phytosanitaires, ou chercher à établir un programme de sélection et d'amélioration variétale afin d'obtenir des cultivars résistants qui s'adaptent réellement à nos conditions environnementales.

Sensibiliser les agriculteurs de l'importance de cette maladie et de son impact, en les incitant à utiliser des variétés résistantes et d'éliminer les déchets des anciennes récoltes surtout celles infectées par le mildiou tout en évitant la monoculture et le système pomme de terre sur tomate. Les producteurs doivent prendre conscience du danger des produits chimiques sur l'environnement et la santé humaine. A cet effet, ils doivent respecter les doses

et les fréquences et surtout les périodes de traitements, et alterner les familles chimiques des produits phytosanitaires, afin d'éviter le phénomène de résistance chez les populations du mildiou.

En termes de perspectives, des prospections doivent être effectuées constamment dans plusieurs régions d'Algérie où le *P. infestans* représente une contrainte biotique afin de suivre l'évolution des populations d'agents pathogènes pour éviter les grandes épidémies.

Vérifier la présence de la forme sexuée du mildiou dans les sols surtout dans les régions où la pomme de terre est cultivée à grande échelle. Cependant, les oospores assurent la pérennité du pathogène dans le sol, il serait intéressant d'effectuer des recherches sur cet aspect par des essais *in-vitro* et déterminer la contribution réelle des oospores dans la propagation de la maladie.

Cette recherche devrait être poursuivie et étendue à d'autres gammes d'hôtes de Solanacées en dehors de la tomate et de pomme de terre en Algérie. En effet, il est important d'étudier l'adaptation des populations de *P. infestans* sur les plantes hôtes afin de mieux contrôler ce pathogène potentiellement destructeur.

Et enfin, effectuer plus d'efforts pour une lutte intégrée en combinant plusieurs moyens (culturelles, chimiques et biologiques) dans le but de mieux maîtriser la maladie.

A close-up photograph of a tomato plant. The leaves are green but show significant signs of white powdery mildew, appearing as white, fuzzy patches on the leaf surfaces. Some leaves are distorted and curled. In the background, several red tomatoes are visible on the stems.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Agapow, P.M., Burt, A. 2001. Indices of multilocus linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Notes* 1: 101–102.
2. Agrios, G N. 2005. *Plant Pathology*. 5th ed ., Elsevier Academic Press. 922 p.
3. Al Fadl, A., Chtaina, N. 2010. Etude de base sur la culture de la tomate au Maroc. FAO. 109 p.
4. Alexopoulos, C.J., Mims, C.W et Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*, 4th ed ., John Wiley and Sons , New York. 880 p.
5. Arafa, R.A., Moussa, O.M., NourSoliman, E.K., Shirasawa, K., Kamel, S.M., Rakha, M.T. 2017. Resistance to *Phytophthora infestans* in tomato wild relatives. *African Journal of Agricultural Research* 26: 2188-2196.
6. Avila-Adame, C., Gomez-Alpizar, L., Zismann, V., Jones, K.M., Buell, C. R., Ristaino, J.B. 2005. Mitochondrial genome sequences and molecular evolution of the Irish potato famine pathogen, *Phytophthora infestans*. *Current Genetics*: 1-8.
7. Baire, S., Amirouche, F., Kestali, T. 2010. Principaux désordres physiologiques, maladies et ravageurs présents en Algérie : Les tomates. ITCMI/APEFE. 64 p.
8. Bamouh, A., 1999. Tomate sous serre. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, Transfert de technologie en agriculture, n° 57, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, Maroc., 4 p.
9. Bauchet, G., Causse, M. 2012. Genetic diversity in tomato (*Solanum lycopersicum*) and its wild relatives, genetic diversity in plants. Edition Tech, Chine, 498 p.

10. Belkhiter, S., Khedidji, H., Krimi, A., Mabon, R., Corbière, R., Andrivon, D., Bouznad, Z., 2017. In:H.T.A.M (ed.). PAGV-Special Report n°18. Variable temperature response in Algerian *Phytophthora infestans* EU_23_A1 isolates from tomato. *Proceedings of 16th Euroblight Workshop, Aarhus 2017*: 211-212.
11. Beninal, L., Corbiere, R., Kedad, A., Andrivon, D., Bouznad, Z., 2008. A2 mating type, metalaxyl resistance and complex virulence profiles: common features in some *Phytophthora infestans* isolates from Algeria. In:H.T.A.M (ed.). PPO-Special Report n°13. *Proceedings of 11th EuroBlight Workshop, Hamar 2008*:237-241.
12. Björ, J. 1987. Testing resistance of potato to genotypes to tuber late blight. *Potato Research* 30: 525-532.
13. Blancard D., Laterrot H., Marchoux G., Candresse T. 2009. Les maladies de la tomate : identifier connaître maîtriser. Edition Quæ, Paris, 679 p.
14. Blandón-Díaz, J. U., Widmark, A.-K., Hannukkala, A., Andersson, B., Högberg, N., Yuen, J. E. 2012. Phenotypic variation within a clonal lineage of *Phytophthora infestans* infecting both tomato and potato in Nicaragua. *Phytopathology* 102 : 323-330.
15. Boccas, B. 1979. La production sexuée chez le *Phytophthora infestans* : ses voies et quelques unes de ses conséquences génétiques. ORSTOM. Paris. 179 p.
16. Bohl, WH., Hamm P B., Nolte, P., Thornton, R E et Johnson, D A. 2003. Managing Late Blight on Irrigated Potatoes in the Pacific Northwest. A Pacific Northwest Extension Publication. University of Idaho. Oregon State University. Washington State University. 1-12.
17. Bouzid, A., Bedrani, S. 2013. La performance économique de la filière tomate industrielle en Algérie. Les cahiers du CREAD 103 : 85-105.
18. Brouwer, C., Elliott, M. 2016. As American as tomatoes: History of tomato. Gardening fact sheet. <http://harris-tx.tamu.edu/hort>.

19. César, V., Rolot, J-L., Labbé, V., Laguesse, L .2011.La recherche sur le mildiou de la pomme de terre au CRA-W à Libramont. *Fiwap-Info* 121:14-20.
20. Chen, C.H., Shen, Z.M., Wang, T.C. 2008 .Host specificity and tomato-related race composition of *Phytophthora infestans* isolates in Taiwan during 2004 and 2005. *Plant Disease* 92: 751–755.
21. Chmielarz, M , Sobkowiak, S., Dezbski, K., Cooke, D.E.L., Brurber, M.B., Sliwka, J. 2014. Diversity of *Phytophthora infestans* from Poland. *Plant Pathology* 63: 203–211.
22. Chowdappa, P., Nirmal Kumar, B.J., Madhura, S., Kumar, M.S.P., Myers, K.L., Fry, W.E., Squires, J.N., Cooke, D.E.L. 2013. Emergence of 13_A2 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.
23. Chowdappa, P., Kumar, B.J.N., 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* 64:191–9.
24. Corbière, R., Glais, I. 2005. Evaluation du comportement de génotype de pomme de terre vis- à-vis de la forme sexuée de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou. In Méthode d’appréciation du comportement variétal vis-à-vis des bioagresseurs. Le cahier des techniques de l’INRA. France. 149-152.
25. Corbiere, R., Beninal, L., Belkhiter, S., Mabon, R., Mariette, N., Andrivon, D, Bouznad, Z. 2015. Do the Algerian *Phytophthora infestans* population show gentic structuration on potato and tomato?. *Proceedings of 15th EuroBlight Workshop, 13-15 may*. Brasov, Roumania. In:H.T.A.M (ed.) PPO- Special Report n°17, 155-167.

26. Colon, L.T., Turkensteen, L.J., Prummel, W., Budding, D.J., Hoogendoorn, J. 1995. Durable resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in old potato cultivars. *Plant Pathology* 101: 387-397.
27. Colon, L.T., Budding, D.J. 1988. Resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in ten wild Solanum species. *Euphytica* : 77–86.
28. Cooke, L. R., Schepers, H. T. A. M., Hermansen, A., Bain, R. A., Bradshaw, N. J., Ritchie, F., Shaw, D.S., Evenhuis, A., Kessel, G. J. T., Wander, J. G. N., Andersson, B., Hansen, J.G., Hannukkala, A., Nærstad, R. et Nielsen, B.J. 2011. Epidemiology and integrated control of potato late blight in Europe. *Potato Research* 54:183–222.
29. 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.J., 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: 1e14.
30. Cooke, D. E. L., Lees, A. K. 2004. Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. *Plant Pathology* 53: 692 - 704.
31. Danies, G., Myers, K., Mideros, M.F., Restrepo, S., Martin, FN., et al. 2014. An Ephemeral Sexual Population of *Phytophthora infestans* in the Northeastern United States and Canada. *PLoS ONE* 9: e116354.
32. 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.

33. Danies,G., Myer, 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., Fry W.E., 2014. An Ephemeral Sexual Population of *Phytophthora infestans* in the Northeastern United States and Canada. *PLoSOne* 9 : e116354.
34. 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.
35. Deacon, J .2006. Fungal biology. 4th edition. Blackwell. UK. 384 p.
36. Déclert, C. 1990. Manuel de phytopathologie maraichère et tropicale : Culture de Côte- d'ivoire. Edition Orstom, Paris. 329 p.
37. Deumier, M., Gaucher, D., Gravouelle, J-M. 2004. Culture de la pomme de terre de conservation. Arvalis. Paris.72 p.
38. Dorken, M.E., Eckert, C.G. 2001. Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology* 89: 339–50.
39. Dufera, J.T., 2014. Field, greenhouse and detached-leaf evaluation of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) genotypes for late blight resistance. *World Applied Sciences Journal* 32: 2259-2263.
40. 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 10e14, 2013, Austin, Texas, USA), vol. 103.
41. Erselius, L.J., Hohl., H.R., Ordonez M.E., Oyarzun, P.J., Janin, F., Valasco A., Ramon M.P., Forbes G.A., 1997. Genetic diversity among isolates of *Phytophthora infestans* from various hosts in Ecuador. *Program Report*: 39-48.

42. Erwin, D. C., Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. *The American Phytopathological Society*. St. Paul, Minisota. 561 p.
43. 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.
44. Excoffier, L., Smouse P.E. 1994. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species – molecular variance parsimony. *Genetics* 136: 343–59.
45. FAOSTAT. 2008. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Agricultural Statistics. Available at: <http://faostat.fao.org/>.
46. FAOSTAT. 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Agricultural Statistics. Available at: <http://faostat.fao.org/>.
47. Fontem, D.A. 2003. Quantitative effects of early and late blights on tomato yields in Cameroon. *Tropicultura* 21: 36-41.
48. 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.
49. Foolad, M.R., Panthee, D.R., 2012. Marker-assisted selection in tomato breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences* 31: 1–31.
50. Foolad, M. R., Sullenberger, M. T., Ohlson, E. W., Gugino, B., C. 2014. Response of 17 accessions within tomato wild species, *Solanum pimpinellifolium* to late blight. *Plant Breeding* 133:401–411.
51. Frost, K. E., Seidl Johnson., A. C., Gevens, A. J. 2016. Survival of isolates of the US-22, US-23, and US-24 clonal lineages of *Phytophthora infestans* by asexual means in tomato seed at cold temperatures. *Plant Disease* 100: 180-187.

52. Fry, W.E., Goodwin, S.B. 1997. Resurgence of the Irish potato famine fungus. *Bioscience*, 47: 363–371.
53. Fry, W.E. a. 2008. *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology* 9: 385–402.
54. Fry, W.E. b. 2008. Late Blight and Early Blight. *Potato Research* 50: 243-245.
55. Fry, W.E., Myers, K., Roberts, P., McGrath, M.T., Everts, K., Secor, G. et al. 2013. The 2009 late blight pandemic in the eastern United States causes and results. *Plant Disease* 97: 296-306.
56. Fry W.E., Birch, P.R., Judelson, H.S., Grünwald, N.J., Danies, G., Everts, K.L., Gevens, A.J., et al., 2015. Five reasons to consider *Phytophthora infestans* reemerging pathogen. *Phytopathology* 105: 966-981.
57. Gallegly, M. E., Hong, C. 2008. *Phytophthora: Identifying species by morphology and DNA Fingerprints*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota .USA. 76-77 p.
58. Gavino, P. D. ., Fry, W. E. 2002. Diversity in and evidence for selection on the mitochondrial genome of *Phytophthora infestans*. *Mycologia* 94: 781-793.
59. 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.
60. Glais,I., Montarry, J., Corbiere, R et al.2014. Long-distance gene flow outweighs a century of local selection and prevents local adaptation in the Irish famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Evolutionary Applications* 7: 442–52.
61. Golas , T. M . 2010. European *Solanum dulcamara* L. and its interaction with *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. PhD. Université Nijmegen. Pays bas. 131 p.

62. Goodwin, S. B., Drenth, A., Fry, W. E. 1992. Cloning and genetic analyses of two polymorphic, moderately repetitive nuclear DNAs from *Phytophthora infestans*. *Current Genetics* 22: 107-115.
63. Goodwin, S.B., Drenth, A. 1997. Origin of the A2 Mating Type of *Phytophthora infestans* Outside Mexico. *Phytopathology* 87: 992-999.
64. Goss, E.M., Tabima J.F., Cooke D.E.L et al., 2014. The Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* originated in central Mexico rather than the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 111, 8791–6.
65. 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.
66. Griffith, G.W., Snell, R., Shaw, D.S. 1995. Late blight (*Phytophthora infestans*) tomato in the tropics. *Mycologist* may 1995: 87-89.
67. 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.
68. Griffith, G. 2007. *Phytophthora* : a blight on Ireland. *Microbiology* 07: 12-15.
69. Grünwald, N. J., Flier, W. G., Sturbaum, A. K., Garay-Serrano, E., Trudy, B. M., van den, B., Smart, C. D., Matuszak Lozoya-Saldaña, J. M. 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.
70. Grünwald, N.J., Flier, W.G. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Phytopathology* 43:171–90.

71. Hammi, A. 2003. Caractérisation de populations de *Phytophthora infestans* (mont.) de Bary dans la région de Saïs. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohammed Ibn Abdallah, Fès, Maroc. 272p.
72. Hansen, Z.R., Small, I.M., Mutschler, M., Fry, W.E., Smart, C.D. 2014. Differential susceptibility of 39 tomato varieties to *Phytophthora infestans* clonal lineage US-23. *Plant Disease* 98:1666-1670.
73. 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.
74. Hauslanden, H., München, T. 2006. *Phytophthora infestans* : A pathogen of global importance. *Bayer Crop Science* . Courier Février 2006. Allemagne: 10-15.
75. Hohl, H.R., Iselin, K., 1984. Strains of *Phytophthora infestans* with A2 mating type behaviour. *Transactions of the British Mycological Society* 83: 529–30.
76. 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.
77. Judelson, H.S., Ah-Fong, A.M.V., Aux, G., Avrova, A.O., Bruce, C., Cakir, C., Cunha L.D., Grenville-Briggs, L., Latijnhouwers, M., Ligterink, W., Meijer, H.J.G., Roberts, S., Thurber S.T., Whisson, S.C., Birch P.R.J., Govers, F., Kamoun, S., van West, P., Windass, W. 2008. Gene expression profiling during asexual development of the late blight pathogen *Phytophthora infestans* reveals a highly dynamic transcriptome. *Molecular plant-Microb interactions*. 21: 433-447.
78. Kalia, P., Palanisamy, M. 2014. Alien gene transfer in crop plants, Volume 2. Edition Pratap, A., Kumar, J. Inde. 347 p.

79. Kamoun, S., Smart, S. 2005. Late blight of potato and tomato in the genomics Era. *Plant Disease* 89:692-699.
80. Kimura, S., Sinha, N. 2008. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A model fruit-bearing crop. *Cold Spring Harbor Protocols* 3: 1-9.
81. Knapova, G., Gisi, U. 2002. Phenotypic and genotypic structure of *Phytophthora infestans* populations on potato and tomato in France and Switzerland. *Plant Pathology* 51: 641–53.
82. Knapp, S., Peralta, I.E. 2016. The tomato genome, compendium of plant genomes. Edition M. Causse et al, Berlin.
83. Kröner, A., Mabon, R., Corbière, R., Montarry, J., Andrivon D. 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.
84. Latigui, A.1984. Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse de magister. INA El-Harrach, Algérie.
85. Lebreton, L., Andrivon, D. 1998. French isolates of *Phytophthora infestans* from potato and tomato differ in phenotype and genotype. *European Journal of Plant Pathology* 104: 583-594.
86. Lebreton, L., Lucas, J.M., Andrivon, D.1999. Aggressiveness and competitive fitness of *Phytophthora infestans* isolates collected from potato and tomato in France. *Phytopathology* 89: 679– 686.
87. Lee, T.Y., Mizubuti, E., Fry, W.E. 1999. Genetics of metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans*. *Fungal Genetics and Biology*, 26: 118–130.

88. 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* 55:311–9.
89. Legard, D.E., Lee, T.Y., Fry, W.E. 1995. Pathogenic specialization in *Phytophthora infestans*: aggressiveness on tomato. *Phytopathology* 85:1356–1361.
90. Lepoivre, P. 2003. Phytopathologie. Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de luttés. De Boeck. *Les presses agronomiques de Gembloux*. Bruxelles: 427 p.
91. Li,Y., Govers, F., Mendes,O., Testa, A., 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.
92. Li, Y., Cooke, D.E.L., Jacobsen,E., van der Lee, T. 2013. Efficient multiplex simple sequence repeats genotyping of the Oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Journal of Microbiological Methods* 92:316–22.
93. MADR, 2013. Ministère de l’agriculture et de développement rural. Service statistiques.
94. Mariette, N., Androdias, A., Mabon, R , Corbiere, R., Marquer, B., Montarry, J., Andrivon, D. 2016. Local adaptation to temperature in populations and clonal lineages of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Ecology and Evolution*: 1-12.
95. Mariette, N ., Mabon, R., Corbiere, R., Boulard, F., Glais, I. , Marquer, B.B., Pasco, C. 2016. Phenotypic and genotypic changes in French populations of *Phytophthora infestans*: are invasive clones the most aggressive? *.Plant pathology* 65: 577–586.
96. Mazáková, J., Zouhar, M ., Ryšánek, P., Táborský, V. , Hausvater, E., Doležal, P. 2011. Sensitivity to fungicides in the isolates of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in the Czech Republic from 2003 to 2008. *Plant Protection Science* 1: 5-12.

97. 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.
98. McGrath, M.T. 2015. Late blight management in tomato with resistant varieties. *eOrganic*10822.<http://articles.extension.org/pages/72678/late-blight-management-in-tomato-with-resistant-varieties>.
99. Messak, M.R. 2014. Tomato sector in Algeria. Agri benchmark Horticulture conférence. Italie , Septembre 2014.
100. Meya, A.I .,Mamiro, D.P., Kusolwa, P. 2015. Response of late blight disease resistant-variety to common occurring tomato diseases in the field. *Asian Journal of Plant Science and Research* 5: 8-15.
101. Michalska, A.M., Sobkowiak, S., Flis, B., Zimnoch-Guzowska, E. 2016. 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.
102. Mizubuti, E.G.S ., Fry, W.E. 1998 . Temperature effects on developmental stages of isolates from three clonal lineages of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* **88**: 837–843.
103. Montarry, J., Andrivon, D., Glais, I., Corbiere, R., Mialdea, G., Delmotte, F. 2010. Microsatellite markers reveal two admixed genetic groups and an ongoing displacement within the French population of the invasive plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Molecular Ecology*19 : 1965–77.
104. Naïka, S., de Jeude, J. L., de Goffau, M., Hilm, M., Dam, B. 2005. La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation. Ed. Fondation Agromisa et CTA, Wageningen, Pays-Bas.105 p.

105. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583–90.
106. Nelson, S.C. 2008. Late blight of tomato (*Phytophthora infestans*). *Plant Disease* 45:1-10.
107. Niederhauser, J.S. 1991. *Phytophthora infestans*: the Mexican connection. In *Phytophthora* . Cambridge University Press, Cambridge: 25-45.
108. Niederhauser, J.S., Alvarez-Luna, E., Mackenzie, D. R. 1996. A new strategy in the control of potato late blight. *American potato journal* 73 : 225-229.
109. 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.
110. Nowicki, M., Kozik, E.U., Foolad, M.R. 2013. Late blight of tomato. *Translational genomics for crop breeding*. John Wiley & Sons: 241- 265.
111. Oyarzun, P.J., Pozo, A., Ordonez, M.E., Doucett, K., Forbes, G.A. 1998. Host specificity of *Phytophthora infestans* on tomato and potato in Ecuador. *Phytopathology* 88: 265-271.
112. Peakall, R., Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in EXCEL. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288–95.
113. Platt, B. 2008. Maladies de la pomme de terre causées par des oomycètes. *Cahiers Agricultures* 17:361-367.
114. 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*

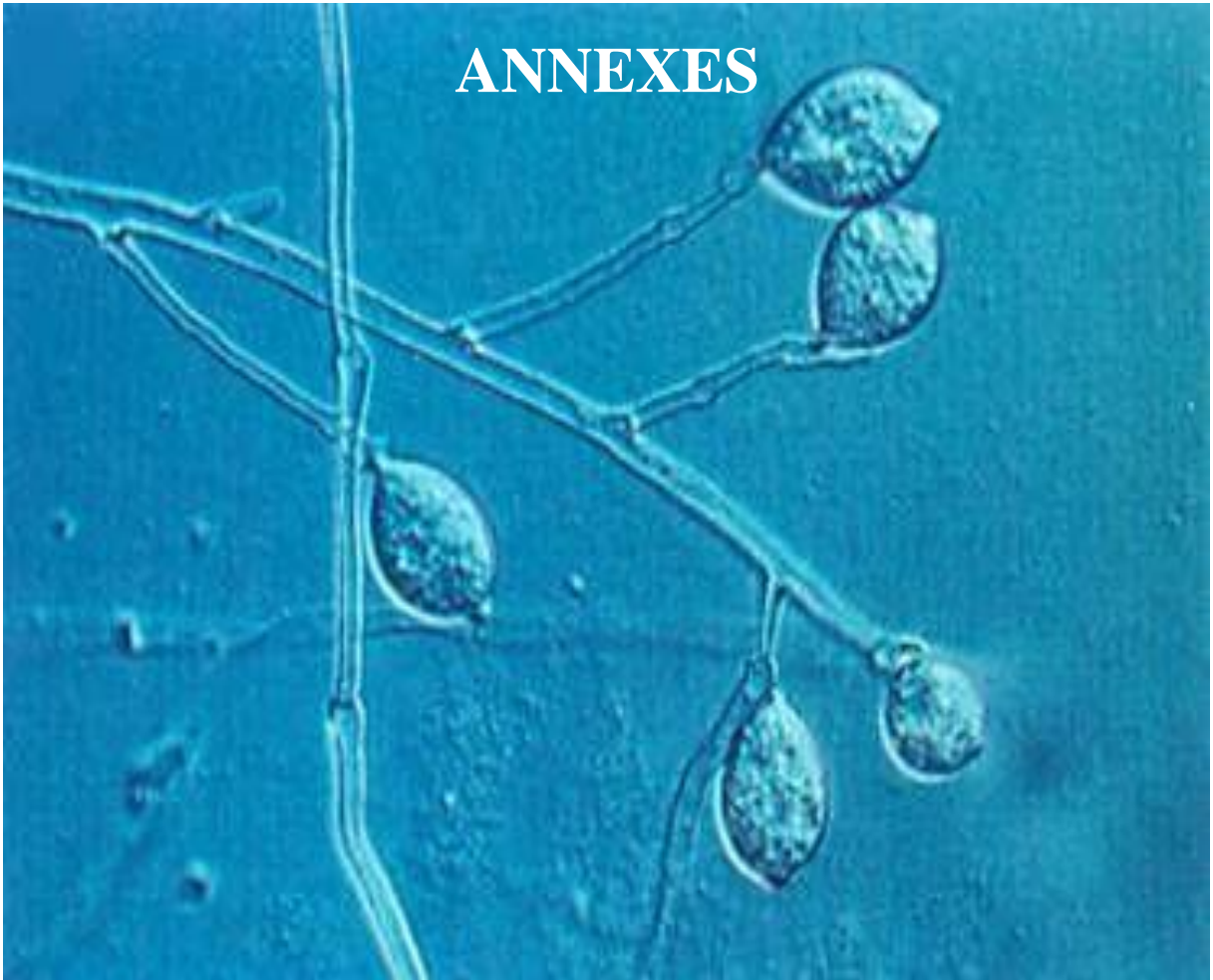
- infestans* populations in central, eastern and southern African countries consist of two major clonal lineages. *Plant Pathology* 62: 154–165.
115. R Foundation for Statistical Computing 2016. R version 3.3.2 (2016-10-31) Copyright (C).
 116. Razukas, A., Jundulas, J., Asakaviciute, R. 2007. Potato cultivars susceptibility to potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Applied Ecology and Environmental Research* 6:95-106.
 117. Reddy, P.P. 2016. Sustainable crop protection under protected cultivation. Ed. Springer. Singapore .451 p.
 118. Reis, A., Smart, C. D., Fry, W. E., Maffia, L. A., Mizubuti, E. S. G. 2003.Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from southern and southeastern Brazil from 1998 to 2000. *Plant Disease* 87: 896-900.
 119. Rekad, F.Z., Cooke, D.E.L., Puglisi, I., Randall, E., Guenaoui, 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.
 120. Rekibi, F. 2015. Analyse compétitive de la filière tomate sous serre. Cas de la wilaya de Biskra. Magistère. Université de Biskra. Algérie. 140 p.
 121. Sadashiva, A.T., Aradhana ,S., Punith Kumar ,R.,, Sowmya ,V., Dominic , P. D'mello. 2016. Tomato in: Abiotic stress physiology of horticultural crops. Ed. Springer. India. 121-128.
 122. Saville ,A ., Graham, K., Grünwald, N. J., Myers, K. , Fry, W. E ., Ristaino, J. B. 2015. Fungicide sensitivity of U.S. genotypes of *Phytophthora infestans* to six oomycete-targeted compounds. *Plant Disease* 99: 659-666.

123. Sedegui, M., Carroll, RB., Morehart, A et al., 2000. Genetic structure of the *Phytophthora infestans* population in Morocco. *Plant Disease* 84 : 173–6.
124. Seidl Johnson, A. C ., Gevens, A. J. 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.
125. Seidl Johnson, A.C ., Frost, K.E ., Rouse, D. I ., Gevens, A. J. 2015. Effect of temperature on growth and sporulation of US-22, US-23, and US-24 clonal lineages of *Phytophthora infestans* and implications for late blight epidemiology. *Phytopathology* 105: 449-459.
126. Seidl Johnson, A. C ., Jordan , S. A ., Gevens , A. J. 2015. Efficacy of organic and conventional fungicides and impact of application timing on control of tomato late blight caused by US-22, US-23, and US-24 isolates of *Phytophthora infestans*. *Plant Disease* 99: 641-647.
127. Semal, J. 1995.L'épopée du mildiou de la pomme de terre (1845-1995).*Cahiers Agricultures* 17 :287-298.
128. 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.
129. Smart, C.D., Myers, K.L., Restrepo, S., Martin, G.B., Fry, W.E. 2003. Partial resistance of tomato to *Phytophthora infestans* is not dependent upon ethylene, jasmonic acid or salicylic acid signaling pathways. *Molecular Plant Microbe Interaction* 16:141–148.

130. Snoussi, S.M. 2010. Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission : programme régional intégré des ravageurs pour le proche orient .Rome. FAO. Cooperazione Italiana. 52 p.
131. Stannard, M., Haccart, K .2001. Pomme de terre bio en Nord-Pas-de-Calais le mildiou ne nous fait pas peur ! *Alter Agri* 49 : 14-16.
132. Strange, R.N. 2003. Introduction to plant pathology. John Wiley et Sons Ltd. England. 464p.
133. Stroud, J., Burrows, J., Crawford, S., Shaw, D., Hale, M , Steele, K. 2013. Does *Phytophthora infestans* exhibit host specialization on tomato in Great Britain? 14th *EuroBlight Workshop*, Limassol, Cyprus , 12-15, May 2013. 267-270.
134. Stroud, J.A., Shaw, D. S., Hale, M.D., Steele, K.A. 2016. SSR assessment of *Phytophthora infestans* on tomato and potato in British gardens demonstrates high diversity but no evidence for host specialization. *Plant Pathology* 65: 334-341.
135. Suassuna, N.D., Maffia, L.A., Mizubuti, E.S.G. 2004. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 53: 405-413.
136. Tahira, F., Marisela, R-D., Rosalba, T-R., Martin-Ernesto, T-H., Avtar, K.H., Autar K. M. 2008. Tomato in Compendium of transgenic crop plants: transgenic vegetable crops. Ed. John Wiley & Sons. 261 p.
137. Thorez, J-P. 2009. Puceron, mildiou et limaces : Prévenir, identifier, soigner bio. Edition terre vivante. Paris. 318 p.
138. Tooley, P. W., Fry, W. E., Villarreal Gonzalez, M. J. 1985. Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* populations. *The Journal of Heredity* 76: 431 - 435.

139. Turkensteen, L. J. 1973. Partial resistance of tomatoes against *Phytophthora infestans*, the late blight fungus. PhD. Universit  de Wageningen. Netherlands.
140. Turkensteen, L.J., Flier, W.G. 2003. Host and non-host resistance against *Phytophthora infestans*, the causal organism of late blight of potatoes and tomatoes. *Eucarpia Leafy Vegetables*. 23-24.
141. Van Der Lee, T. 2003. Genetic analysis of *Phytophthora infestans*. PhD. Universit  de Wageningen .119 p.
142. Vega-Sánchez, M.E., Erselius, L.J., Rodríguez, A.M., Bastidas, O., Hohl, H.R., Ojiambo, P.S., Mukalazi, J., Vermeulen, T., Fry, W.E., Forbes, G.A. 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.
143. Vleeshouwers, V.G.A.A., Van Dooijeweert, W., Govers, F., Kamoun, S., Colon, L.T. 2000. The hypersensitive response is associated with host and non host resistance to *Phytophthora infestans*. *Planta* 210:853-864.
144. Wangsomboondee, T., Groves, C. T., Shoemaker, P. B., Cubeta, M. A., Ristain, J. B. 2002. *Phytophthora infestans* populations from tomato and potato in North Carolina differ in genetic diversity and structure. *Phytopathology* 92: 1189-1195.
145. Widmark, A K. 2010. The late blight pathogen, *Phytophthora infestans* : Interaction with the Potato Plant and Inoculum Sources .PhD. Swedish University of Agricultural Sciences. Su de. 67 p.
146. Yang, L.N., Zhu, W., Wu, E.J., Yang, C., Thrall, P.H., Burdon, J.J., Jin, L.P., Shang, L.P., Zhan, J. 2016. Trade-offs and evolution of thermal adaptation in the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Molecular Ecology* 25: 4047–4058.
147. Yoshida, K., Schuenemann, V.J., Cano, L.M et al., 2013. The rise and fall of the *Phytophthora infestans* lineage that triggered the Irish potato famine. *e Life* 2 :e00731.

ANNEXES



ANNEXES

Annexe 1

Préparation du milieu de culture solide PPA :

Le milieu qui favorise le développement et la croissance de *P. infestans* est le milieu gélosé PPA (petit pois agar). Dans notre cas nous avons utilisé le milieu PPA. Pour le préparer nous avons suivi les étapes suivantes :

- 125 g de petits pois congelés sont bouillis dans 1000 ml d'eau distillée pendant 20 min.
- L'eau des petits pois bouillis est récupérée à l'aide d'une passoire.
- Le volume est ajusté à 1000 ml d'eau distillée auquel sont ajoutés 20 g d'agar agar.
- Le tout est mis dans un flacon et autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.
- Après autoclavage celui-ci en surfusion est coulé dans des boîtes de Pétri , Après 48 h le milieu est prêt pour le repiquage des isolats.

Annexe 2

Préparation du milieu de culture liquide PPA :

Ce milieu permet la croissance de *P. infestans* dans un milieu liquide sans gélosé. Pour le préparer nous avons suivi les étapes suivantes :

- 125 g de petits pois congelés sont bouillis dans 1000 ml d'eau distillée pendant 20 min.
- L'eau des petits pois bouillis est récupérée à l'aide d'une passoire.
- Le volume est ajusté à 1000 ml d'eau distillée.
- Le tout est mis dans un flacon et autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.
- Après autoclavage celui-ci en surfusion est coulé dans des tubes à hémolyse ou tube en verre .

Annexe 3 : Fréquences alléliques des 17 marqueurs SSRs au niveau de la population.

Locus	Allèle	n	Fréquence	Locus	Allèle	n	Fréquence
D13	134	16	0,09	Pi63	148	9	0,05
	136	77	0,45		157	9	0,05
	208	1	0,01		270	75	0,42
	210	16	0,09		273	5	0,03
	218	1	0,01		279	79	0,45
	220	54	0,31	Pi70	192	163	0,96
	222	8	0,05		195	7	0,04
G11	140	31	0,12	PinfSSR11	331	79	0,46
	142	48	0,19		341	86	0,50
	154	5	0,02		355	7	0,04
	156	85	0,34	PinfSSR2	173	94	0,55
	160	1	0,00		175	78	0,45
	162	1	0,00	PinfSSR3	258	5	0,02
	202	1	0,00		266	79	0,32
	204	17	0,07		268	86	0,34
	206	64	0,25	270	80	0,32	
	Pi04	166	6	0,04	PinfSSR4	288	83
168		3	0,02	290		6	0,02
170		162	0,95	292		6	0,02
176		7	0,04	294		78	0,31
178		163	0,96	296		21	0,08
Pi33	203	93	0,54	298	50	0,20	
	206	79	0,46	300	8	0,03	
Pi4B	213	83	0,48	302	1	0,00	
	215	2	0,01	PinfSSR6a	242	7	0,04
	217	88	0,51		244	163	0,96
Pi4G	157	3	0,02	PinfSSR7	198	170	0,99
	159	12	0,07		PinfSSR8	260	85
	161	155	0,91	264		6	0,03
Pi56	174	87	0,51	266	86	0,49	
	176	85	0,49				

Annexe 4

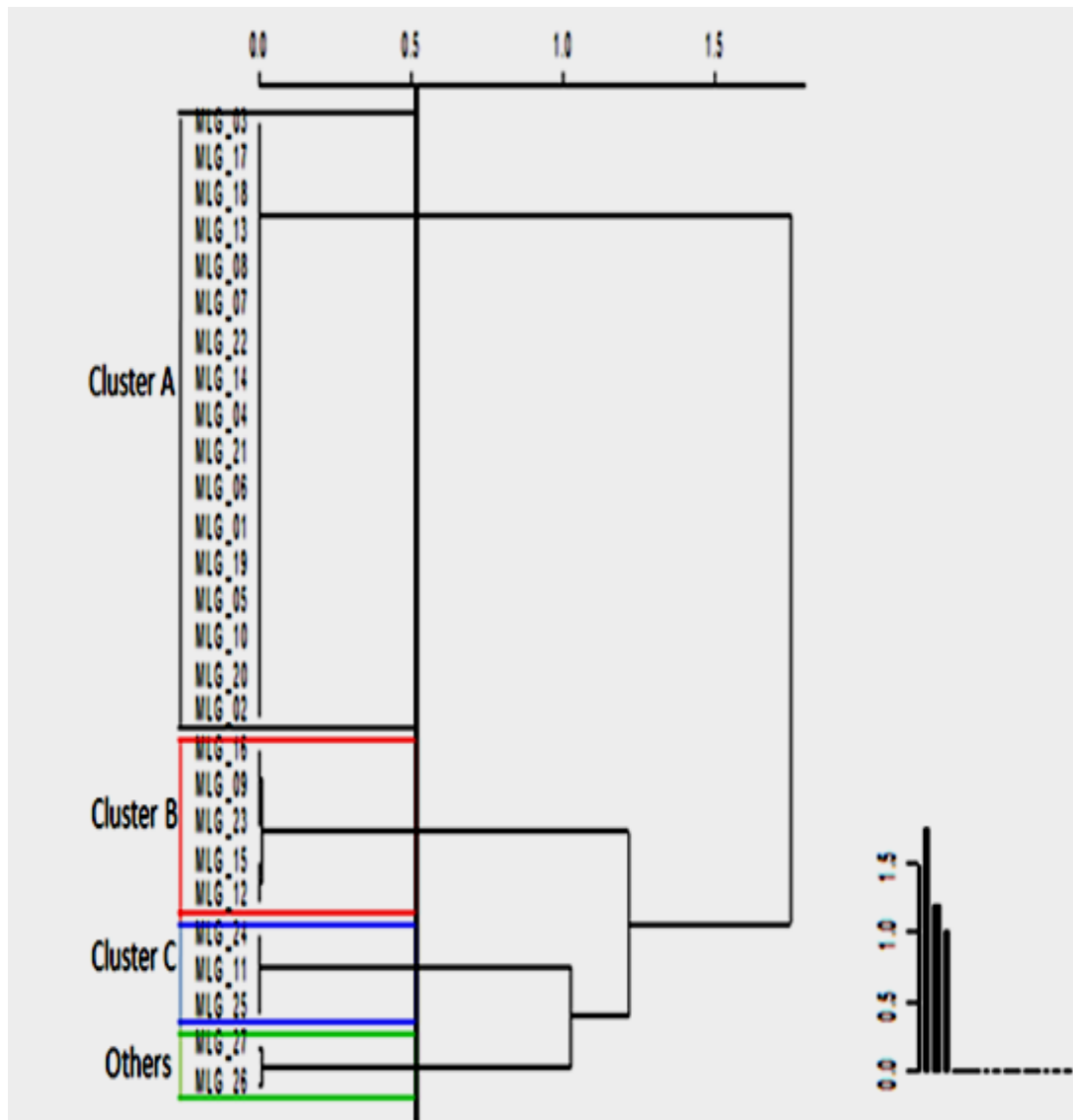


Figure S1 : Analyse hiérarchique de la population. Cet arbre phylogénétique a été effectué par deux logiciels Structure v. 2.3.4 et le logiciel R v.3.3.2. (The R Foundation for Statistical Computing, 2016).

COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS



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).

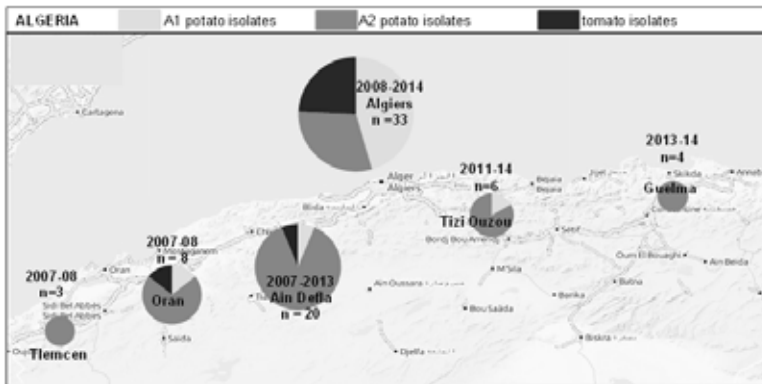


Figure 1. Sampling of *P. infestans* isolates in Algeria. A survey was performed on potato and tomato plants from 2007 to 2014. Frequency of isolates from potato are presented in grey, according to their mating-type, A1 MT (clear grey) or A2 MT (dark grey) and frequency of isolates from tomato, in black

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.

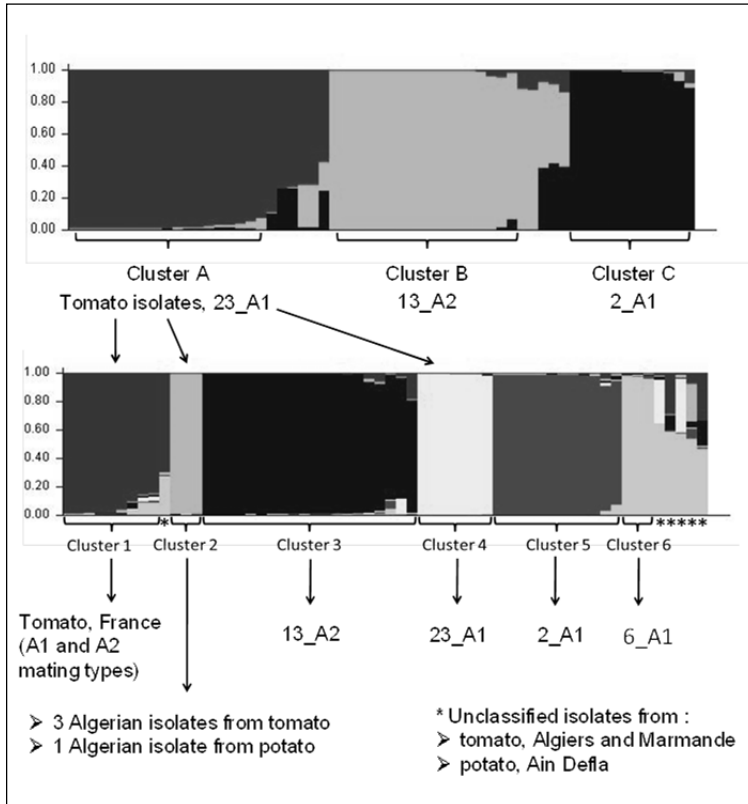


Figure 2. STRUCTURE analysis of twelve microsatellite loci for *P. infestans* isolates collected from tomato and potato. Each grey color represents one population and each isolate is presented by a vertical bar.

- 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 (Sarpo 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.

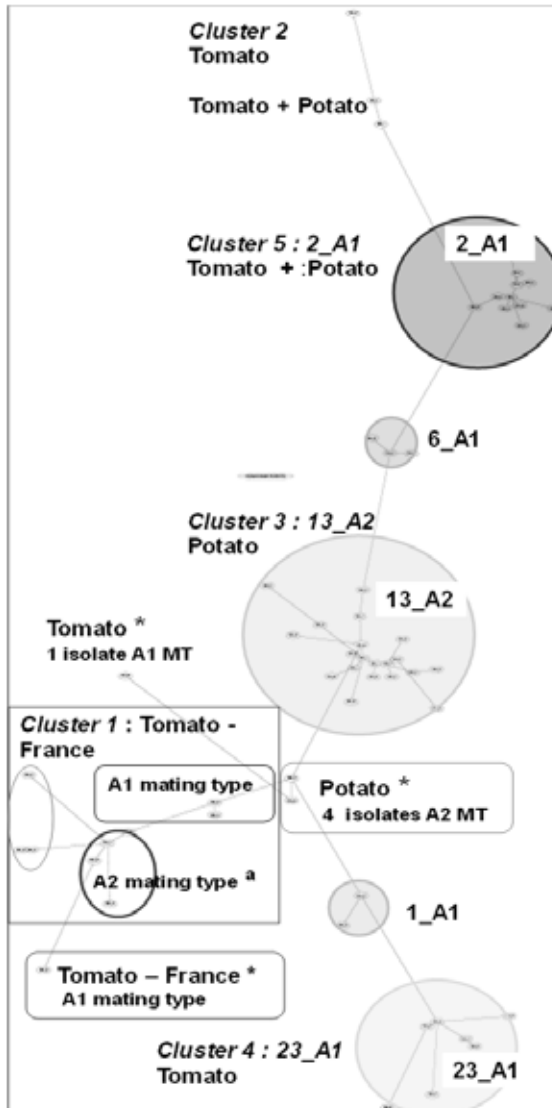


Figure 3. Minimum Spanning Tree on the alleles at 12 SSR loci. indicating the genetic distance between multilocus genotypes (MLGs) and unclassified isolates of *P. infestans*. The 117 Algerian and French isolates sampled on tomato and potato were classified into five clusters and miscellaneous isolates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

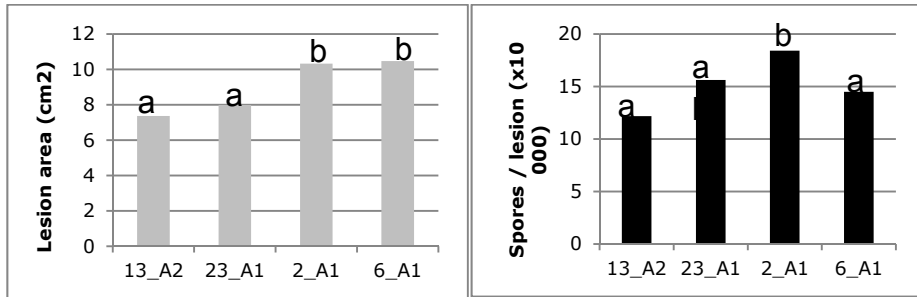


Figure 5. Aggressiveness on cv. Bintje detached leaflets of 23 *P. infestans* isolates, grouped into four clonal lineages : 13_A2 (n=8), 23_A1 (n=4), 2_A1 (n=3), 6_A1 (n=8). Measurements made after six incubation days, at 15°C night / 20°C light (16 h light period).

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.

Constrasting 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 (Danieš *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 Giovanazzo (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.

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



Roselyne CORBIERE ¹, Lyes BENINAL ², Sihem BELKHITER ³, Romain MABON ¹,
Nicolas MARIETTE ¹, Didier ANDRIVON ¹, Zouaoui BOUZNAD ³

¹ INRA - UMR1349 IGEPP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes) - Le Rheu – FRANCE
² CNCC (Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plantes) - El Harrach - Algiers - ALGERIA
³ ENSA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie) - El Harrach - Algiers - ALGERIA

Introduction

Late blight, caused by *Phytophthora infestans*, is the major biotic constraint to potato and tomato crops in Algeria. Knowledge on population structure of *P. infestans* on both hosts will help in devising integrated management strategies.

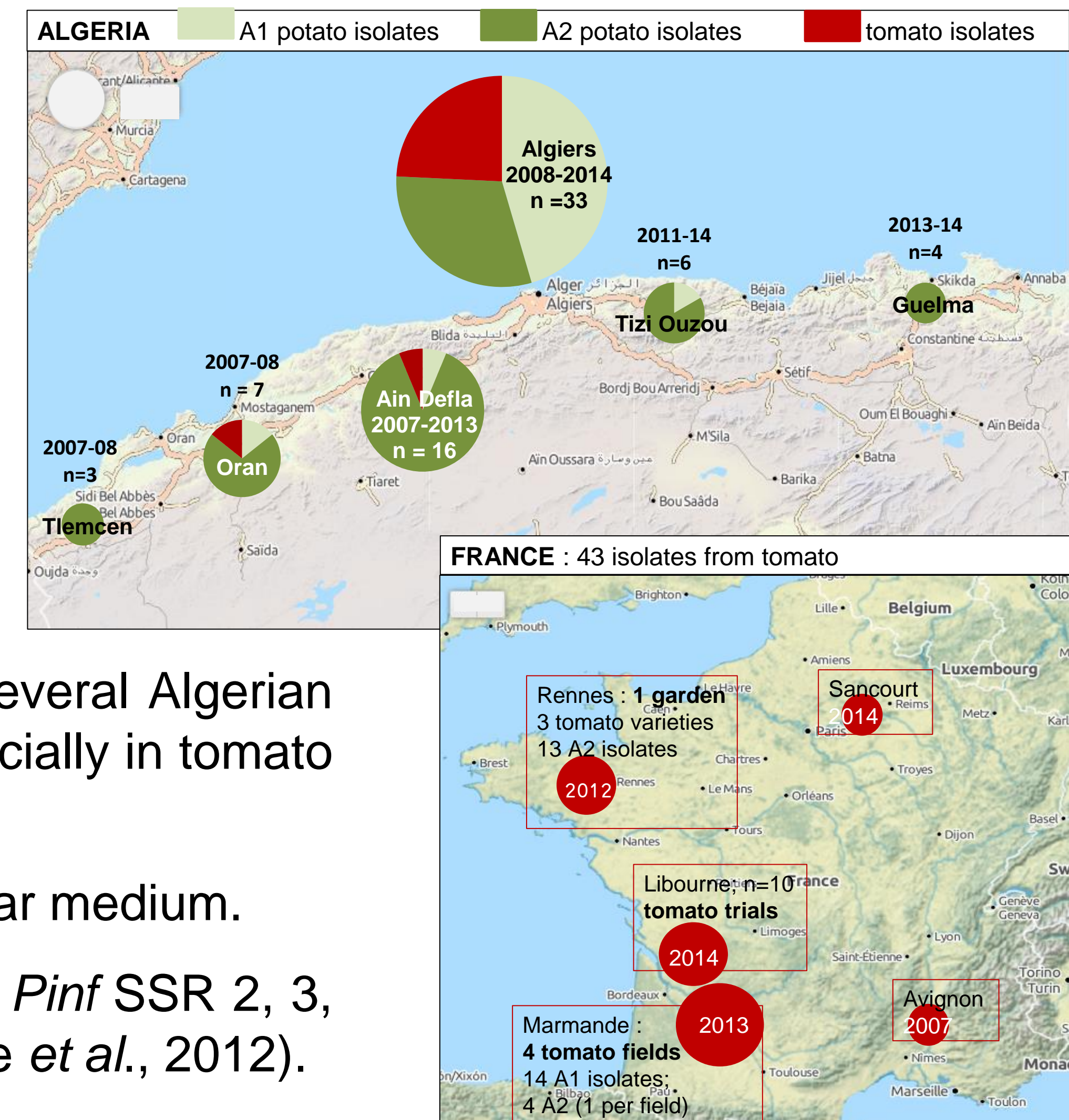
The objective of this study was to explore the genotypic structure of Algerian isolates monitored on potato and tomato and to compare these populations to French isolates sampled on the same period from tomato crops.

Material and methods

Isolates of *P. infestans* were collected from single lesions, on potato and tomato, in several Algerian locations from 2007 to 2014. During this period, French isolates were also sampled especially in tomato fields of South-West, one of the main tomato-growing area (see maps).

The mating type of each isolate : tested by pairing with known tester isolates on pea agar medium.

Isolates genotyped using 12 microsatellite markers : Pi4B, G11, Pi04, Pi63, Pi70, D13, *Pinf* SSR 2, 3, 4, 6, 8, 10 (Li *et al.*, 2012). SSR allele size were calibrating with reference isolates (Cooke *et al.*, 2012).



Results

Genotypic analysis revealed :

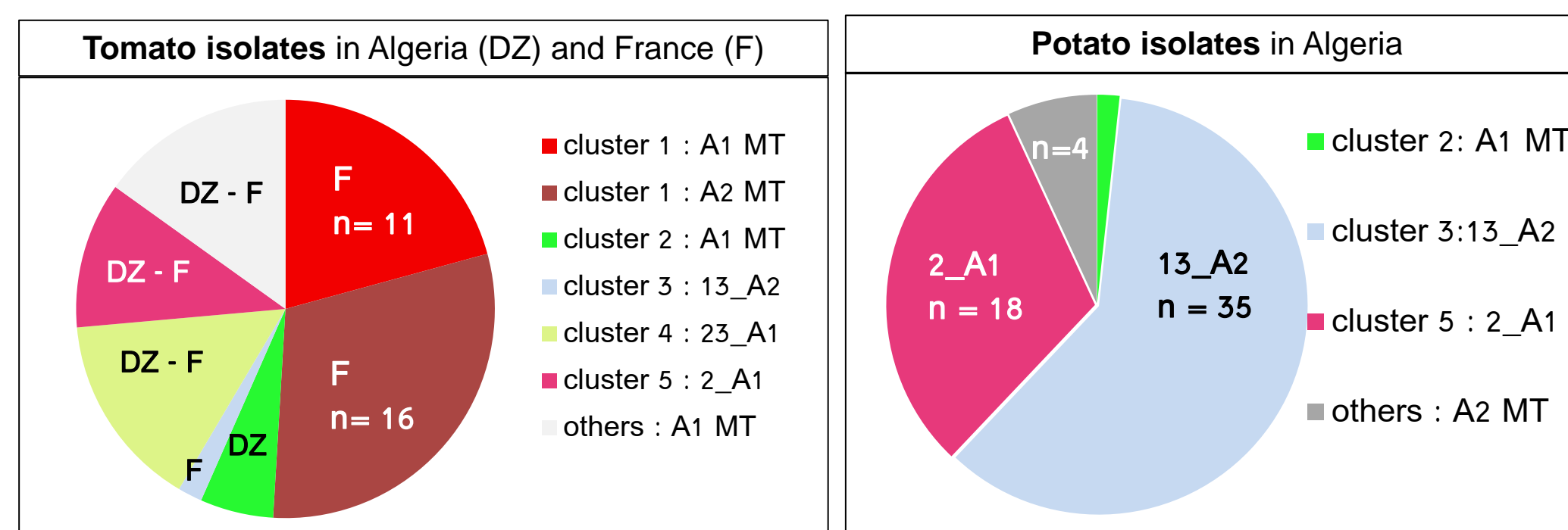
- Clonal lineages on the two plants.
- No country structuration between the Algerian and French isolates from tomato.

On potato in Algeria

- 13_A2 MLG was the dominant genotype.
- 2_A1 MLG was also present.
- Some isolates from the main potato production area belonged to a rare MLG.

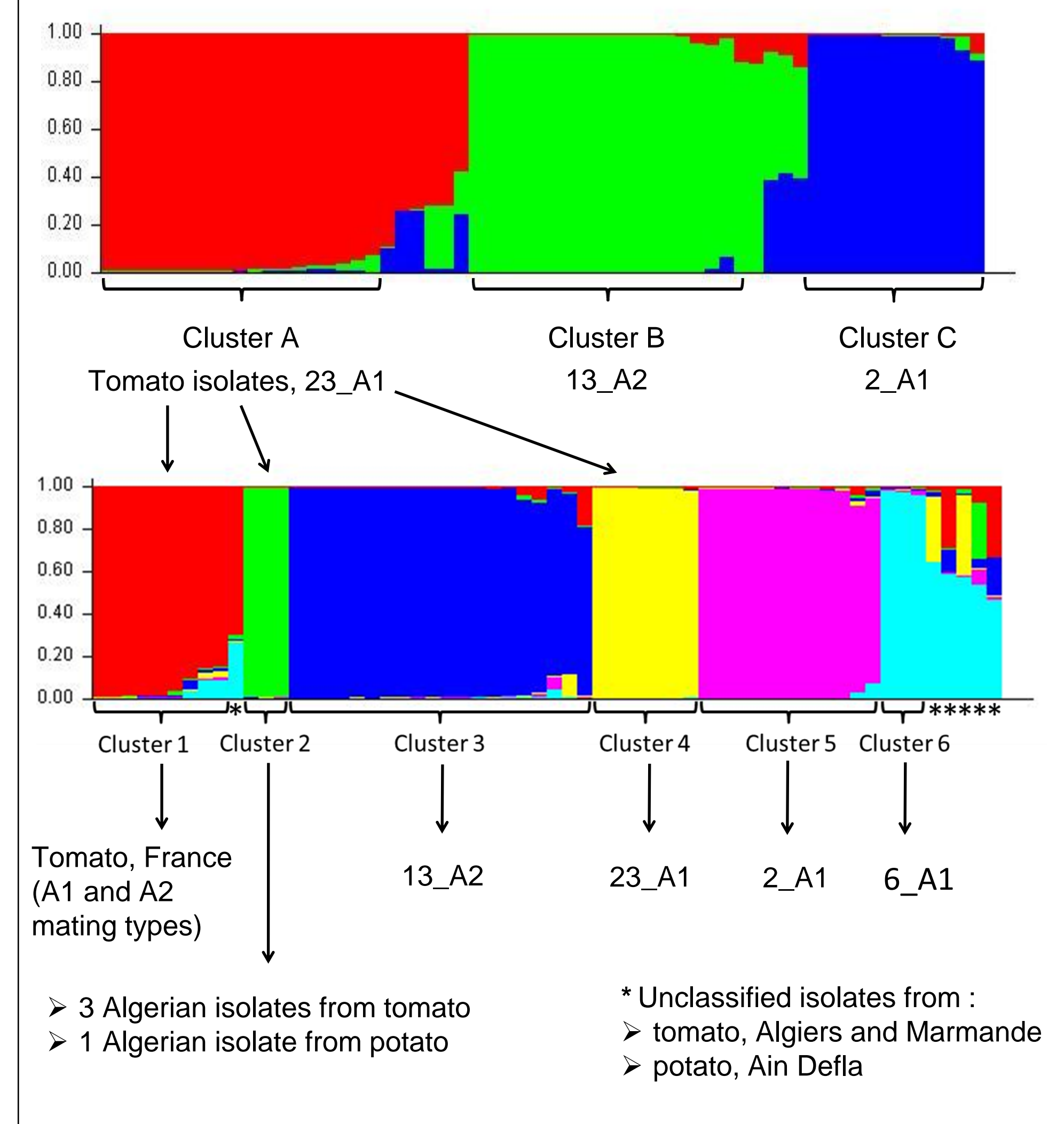
On tomato

- Diversity was higher than on potato.
- 2_A1 MLG was found as on potato. On the opposite, 13_A2 MLG was almost absent.
- 23_A1 MLG seemed specific to tomato.
- Several tomato isolates were grouped into two clusters (1 and 2). Both A1 and A2 mating types were present in cluster 1.



STRUCTURE analysis

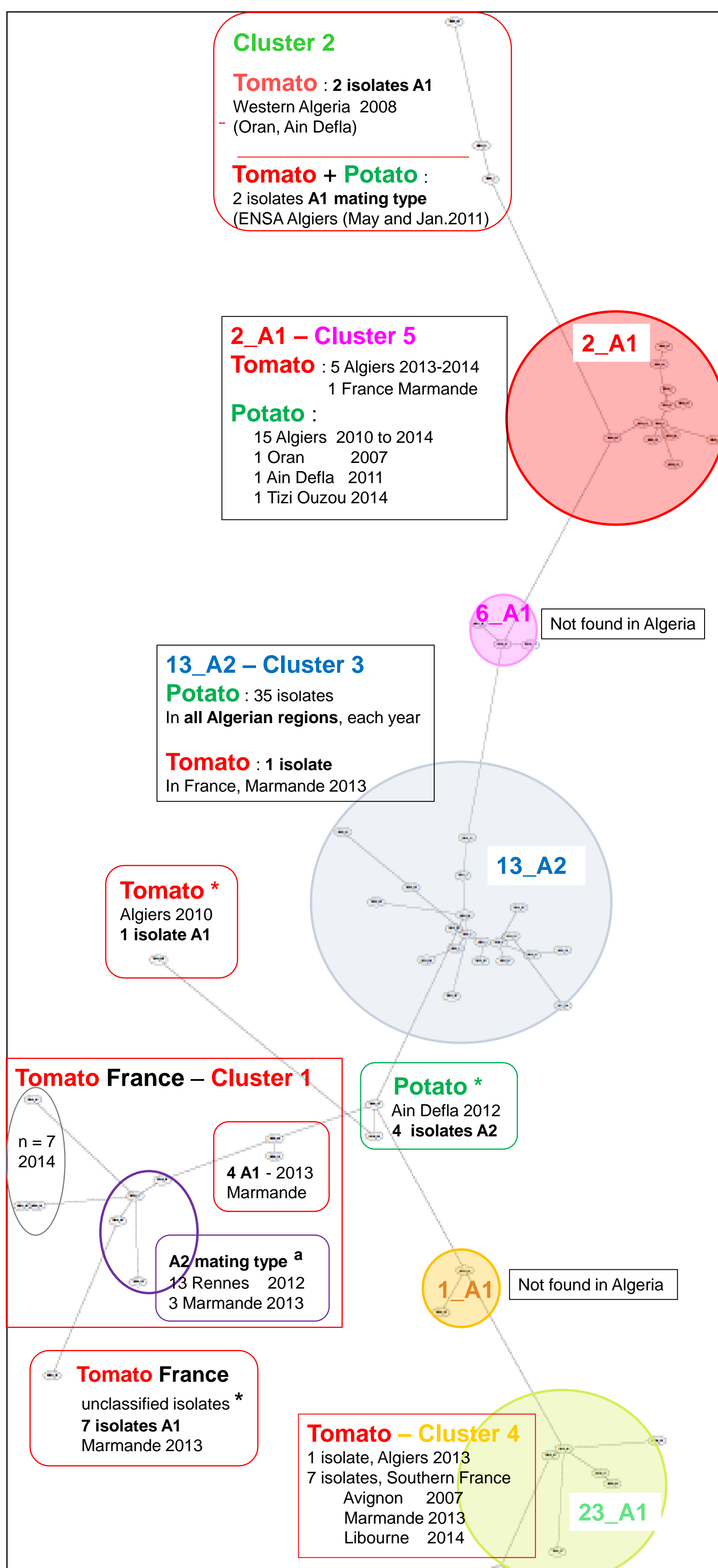
- for K=3 (top) 3 main clusters : A with only tomato isolates (except one from potato), B (13_A2 MLG), C (2_A1 MLG).
- for K=6 (down) 6 clusters : cluster A was then divided in three clusters 1, 2, 4.



Discussion

A host-specific substructure in the Algerian populations may indicate adaptation of some tomato lineages to their host. Nevertheless, this specialization did not seemed really specific, and some previously analysed tomato isolates (from cluster 2) were aggressive on potato under experimental conditions (1). Moreover, A2 mating type isolates from cluster 1 were recovered from potato in the early season in Brittany (cf Mabon *et al.* poster).

More studies have then to be conducted to evaluate host preference of tomato isolates on both hosts or adaptation and dynamic of *P. infestans* genotypes to different climatic features.



Minimum Spanning Tree indicating the genetic distance between MLGs and unclassified isolates of *P. infestans* from tomato and potato (calculated by MINSPNET and visualized using Graphviz package).

^a A2 mating type isolates were also recovered from potato growing in greenhouse and volunteer in Brittany on 2013 - 2014 (cf Mabon *et al.* poster).

(1) Corbière R., Rekad F.Z., Galfout A., Andrivon D. & Bouznad Z., 2010. Phenotypic and genotypic characteristics of Algerian isolates of *Phytophthora infestans*. *Proceedings of the 12th EuroBlight Workshop*, Arras, France, 3-6 May 2010, 133-146.

This work was supported by PoH-MED project (Potato Health – Managed for Efficiency and Durability) funded by ARIMNet (Agricultural Research in the Mediterranean Area)

Adaptation à l'hôte chez *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre et de la tomate



Roselyne CORBIERE ¹, Sihem BELKHITER ², Lyes BENINAL ³, Romain MABON ¹,
Alexander KRÖNER ¹, Didier ANDRIVON ¹, Zouaoui BOUZNAD ²

¹ INRA - UMR1349 IGEPP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes) - Le Rheu – FRANCE
² ENSA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie) - El Harrach - Alger - ALGERIE
³ CNCC (Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plants) - El Harrach - Alger - ALGERIE

Introduction

Phytophthora infestans cause de très graves épidémies de mildiou sur deux cultures économiquement importantes, la pomme de terre et la tomate. Cette étude vise à connaître la diversité des populations de *P. infestans* sur ses deux hôtes et dans des agro-écosystèmes différents.

Des isolats collectés en Algérie et en France, sur pomme de terre et tomate, ont été génotypés afin de décrire la structure des populations de *P. infestans* et de comprendre leurs relations. Certains de ces isolats ont également été phénotypés pour comparer leurs agressivités sur pomme de terre.

Matériel et méthodes

Les isolats de *P. infestans* : prélevés de 2007 à 2014 en Algérie et en France, sur pommes de terre et tomates, principalement en parcelles commerciales dans les grands bassins de production et aussi dans des parcelles expérimentales.

Le génotypage : réalisé avec 12 loci microsatellites. Ces marqueurs sont utilisés mondialement et la dénomination des principales lignées clonales de *P. infestans* est harmonisée en Europe (EU, puis un nombre suivi du type sexuel, A1 ou A2; ex : EU_23_A1).

L'agressivité des isolats : déterminée sur folioles d'une variété sensible de pomme de terre (Bintje), en conditions contrôlées par mesure de la sporulation (voir poster Mariette, Mabon *et al.*).

Résultats

Le génotypage montre que plusieurs lignées clonales présentent une préférence d'hôte en parcelles de production (Fig.1 et 2) ...

- Sur les deux plantes, en Algérie et en France
 - ❖ pas de structuration claire entre populations algériennes et françaises.
 - ❖ des lignées clonales spécifiques d'une plante :
 - EU_13_A2 et EU_6_A1 sur pomme de terre ; EU_23_A1 sur tomate.
 - ❖ une lignée ubiquiste: EU_2_A1 (dominante en France sur pomme de terre avant 2007).

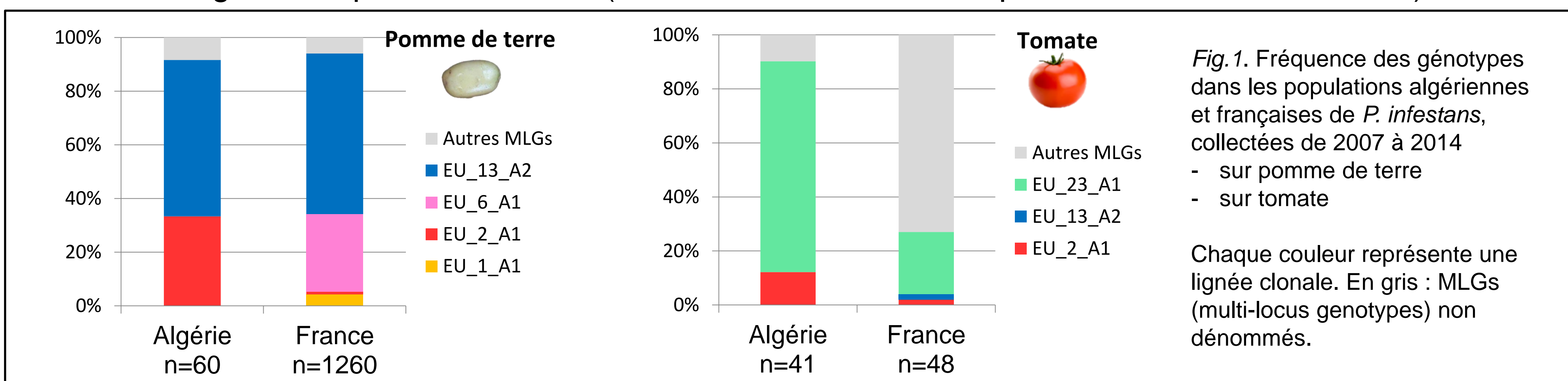


Fig. 1. Fréquence des génotypes dans les populations algériennes et françaises de *P. infestans*, collectées de 2007 à 2014 - sur pomme de terre - sur tomate
Chaque couleur représente une lignée clonale. En gris : MLGs (multi-locus genotypes) non dénommés.

- Sur pomme de terre : quelques lignées clonales dominantes.
- Sur tomate : une diversité plus importante, avec de nombreux MLGs non identifiés (de type sexuel A1 et A2) et rarement trouvés sur pomme de terre.

.... mais leur agressivité, en conditions contrôlées, ne reflète pas cette apparente séparation de niche (Fig.3)

- Les isolats des lignées majoritaires sur pomme de terre (EU_13_A2, 6_A1, 2_A1) sporulent abondamment sur pomme de terre.
- Les isolats de la lignée EU_23_A1, trouvés uniquement sur tomate, sporulent autant sur pomme de terre que les lignées dominantes sur cet hôte.

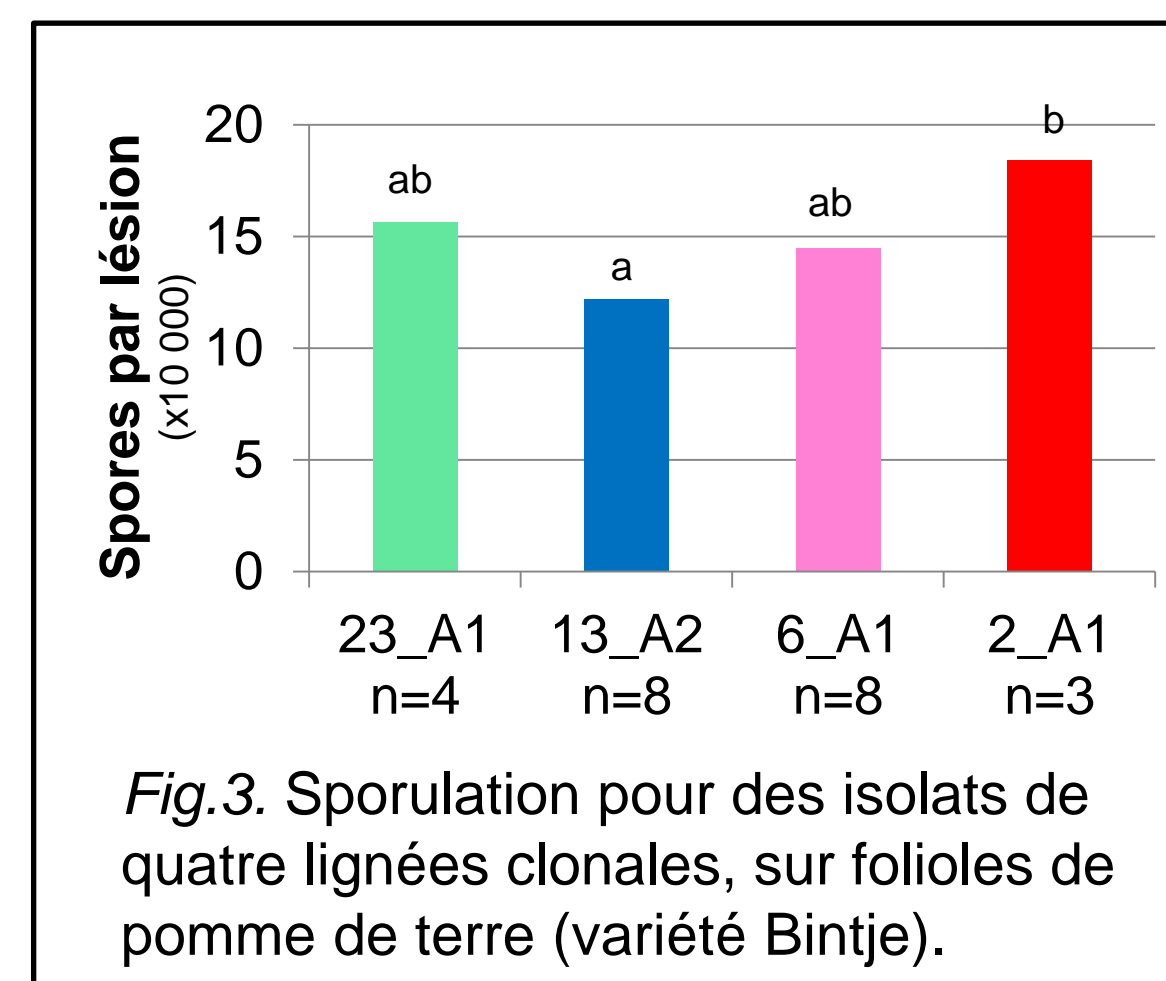


Fig. 3. Sporulation pour des isolats de quatre lignées clonales, sur folioles de pomme de terre (variété Bintje).

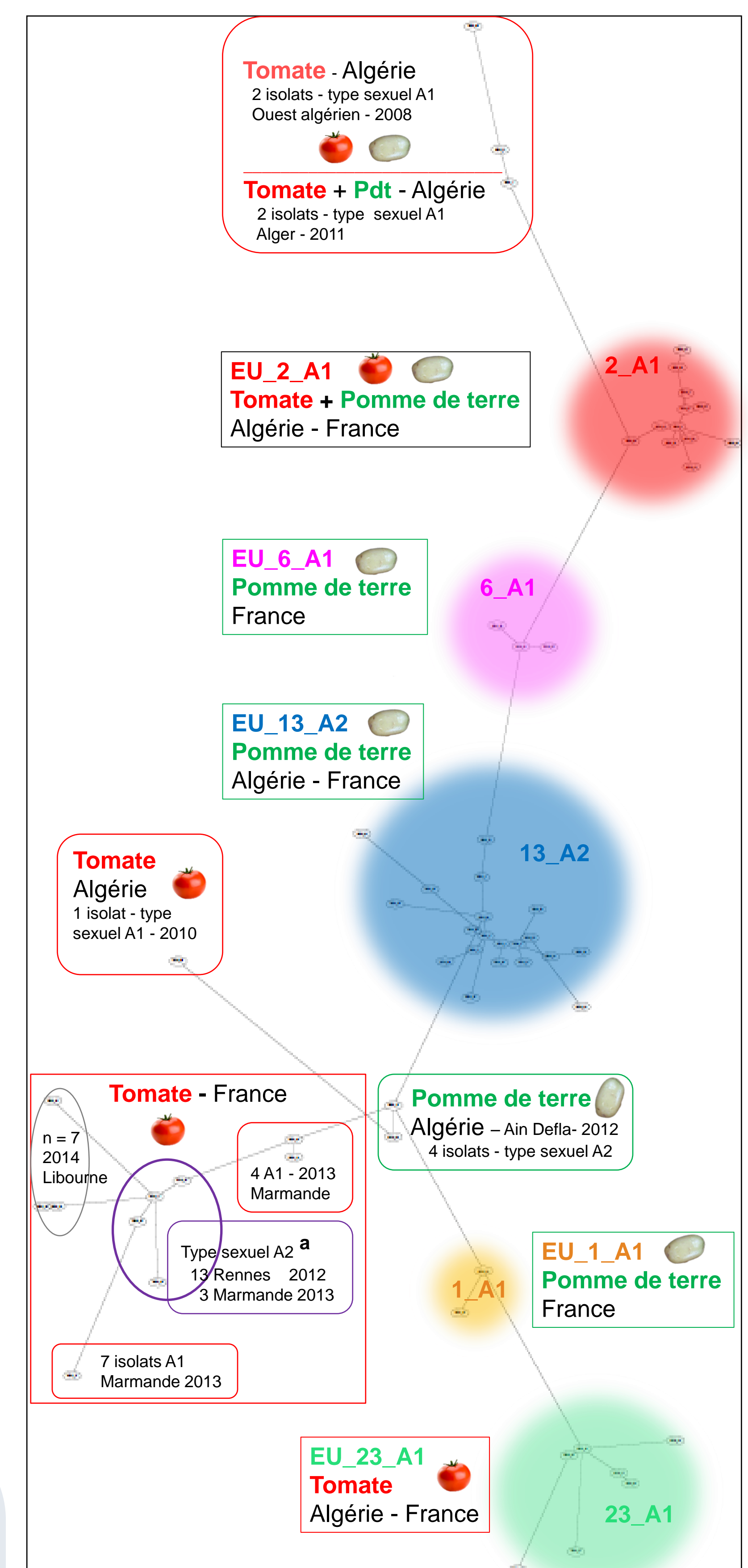


Fig. 2. Dendrogramme (Minimum Spanning Tree) indiquant les distances génétiques entre les lignées clonales et MLGs (multilocus genotypes) de *P. infestans*, prélevés de tomates et de pommes de terre, en Algérie et en France, de 2007 à 2014. Plusieurs MLGs ne sont pas dénommés (« autres MLGs » en gris sur la fig.1). Calcul avec MINSPNET et représentation avec Graphviz package.

^a Six isolats de type sexuel A2 ont aussi été collectés en Bretagne (2013 et 2014) de pommes de terre primeurs cultivées dans une serre (avec des tomates, l'année précédente) et d'une repousse de pomme de terre en parcelle.

Conclusion et perspectives

La tomate : une plante « refuge » pour des génotypes très divers ?

- La structuration des populations algériennes et françaises de *P. infestans* montre une diversité génotypique faible sur pomme de terre, mais importante sur tomate.

L'agressivité n'explique pas la préférence d'hôte de certaines lignées clonales en parcelles de production.

- Prochaine étape : une approche d'évolution expérimentale avec inoculations croisées pour évaluer l'adaptation des génotypes dominants de *P. infestans*, à l'un ou l'autre de ses hôtes.

Cette étude a été soutenue par ARIMNet (Agricultural Research in the Mediterranean Area), projet PoH-MED (Potato Health – Managed for Efficiency and Durability)

Variable temperature response in Algerian *Phytophthora infestans* EU_23_A1 isolates from tomato

SIHEM BELKHITER¹, HASSIBA KHEDIDJI¹, AMIRA KRIMI¹, ROMAIN MABON², ROSELYNE CORBIERE²,
DIDIER ANDRIVON², ZOUAOUI BOUZNAD¹

¹ ENSA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie) – El Harrach – Algiers – ALGERIA

² INRA – UMR IGEP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes) – Le Rheu - FRANCE



Variable temperature response in Algerian *Phytophthora infestans* EU_23_A1 isolates from tomato

Siheem BELKHITER¹, Hassiba KHEDIDJI¹, Amira KRIMI¹, Romain MABON², Roselyne CORBIERE², Didier ANDRIVON², Zouaoui BOUZNAD¹

¹ ENSA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie) - El Harrach - Algiers - ALGERIA

² INRA - UMR IGEPP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes) - Le Rheu - FRANCE

Introduction

In the north-center of Algeria, tomato is an important crop, grown during summer in fields and during winter under plastic tunnels. The tomato crops are often grown in close proximity to potato.

On these two plants, *Phytophthora infestans*, the causal agent of late blight, is a very serious threat, but little is known about the local *P. infestans* population on tomato.

➤ A survey was thus carried out in commercial tomato fields around Algiers, between 2010 and 2016 (predominantly in 2014 and 2015), to determine the genotypic structuration of *P. infestans* population on this crop.

➤ The response of this population to temperature, a major abiotic factor for disease development, was evaluated.

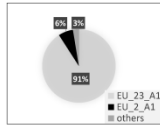
Sampling locations

77 tomato isolates of *P. infestans* were collected from the main production areas around Algiers and Tipaza (100 km West of Algiers) on November and December 2014 and 2015. Some were also sampled in experiment trials and plastic tunnels from 2010 to 2016.

SSR analysis

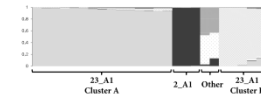
16 microsatellite markers (Cooke *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2013) revealed that tomato population of *P. infestans* is composed of 2 clonal lineages:

- EU_23_A1 is the dominant lineage
- EU_2_A1: sampled in experimental trials from 2010 to 2014.
- Two "other" isolates (A1 mating type) were also collected in 2010 and 2011.



Frequency of *P. infestans* clonal lineages within the isolate collection from tomato in Algeria

➤ Structure analysis (K=5) showed that the isolate collection was split into 4 clusters, of which 2 corresponded to EU_23_A1:



- Cluster A with isolates mainly sampled from 2014 to 2016;
- Cluster B with a majority of 2014 isolates.



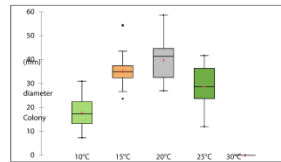
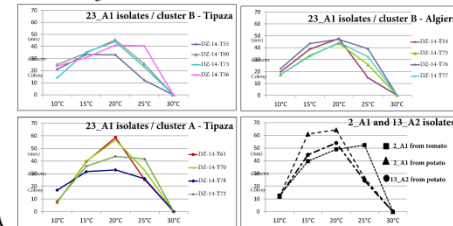
Minimum Spanning Tree

Temperature effect on mycelial growth on pea medium

Isolates were tested at five constant temperatures : 10°C, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C (3 replicates per isolate and T°).

- 19 isolates of EU_23_A1: 10 from Tipaza and 9 sampled around Algiers;
 - 3 isolates used for comparison :
 - two EU_2_A1 isolates: 1 from tomato, 1 from potato
 - one EU_13_A2 isolate from potato
- Colony diameter was assessed after 10 incubation days.

- ❖ Temperature response profiles varied markedly between isolates, but did not sign EU_23_A1 clusters or locations.



Colony diameter (mean, minimum, maximum values) of 19 isolates of *P. infestans* EU_23_A1 lineage on pea agar medium, at 10, 15, 20, 25 and 30°C.

- ❖ The optimal temperature for mycelial growth was :
 - 20°C for 11 isolates, as for the 2_A1 and 13_A2 isolates from potato;
 - 25°C for 3 isolates, and for the 2_A1 isolate from tomato;
 - 15 °C for 5 isolates.
- ❖ The 23_A1 isolates grew generally faster at 15°C than 25°C.
- ❖ The minimum mycelial growth was at :
 - 10°C for 15 isolates, as for the 2_A1 and 13_A2 isolates;
 - 25°C for 4 isolates.
- ❖ At 10°C, colonies of 23_A1 isolates (especially from cluster B) were larger than those of 2_A1 and 13_A2 isolates.
- ❖ None of the isolates grew at 30°C.

Discussion and perspectives

- ❖ Our study revealed a clear host specialization of EU_23_A1 isolates on tomato in Algeria. EU_13_A2, the dominant clonal lineage on potato, was not detected on tomato.
- ❖ The north-center Algerian 23_A1 population on tomato is composed of two main clusters.
- ❖ Isolates showed variable thermal responses and some isolates developed well at 25°C. However, *in vitro* mycelial growth at five constant temperatures did not allow to differentiate the two clusters within EU_23_A1.

- ❖ These results, which need now to be confirmed *in vivo* on plants, may reflect an adaptation of some EU_23_A1 isolates to high temperatures which occur during summer.
- ❖ Tomato cultivated in summer represents a potential host for specific populations of *P. infestans* with a preference for high temperatures and grow well above 20°C.
- ❖ In Algeria, the warm period becomes longer than the cold period; these results have thus to be considered in the context of climate change.



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).

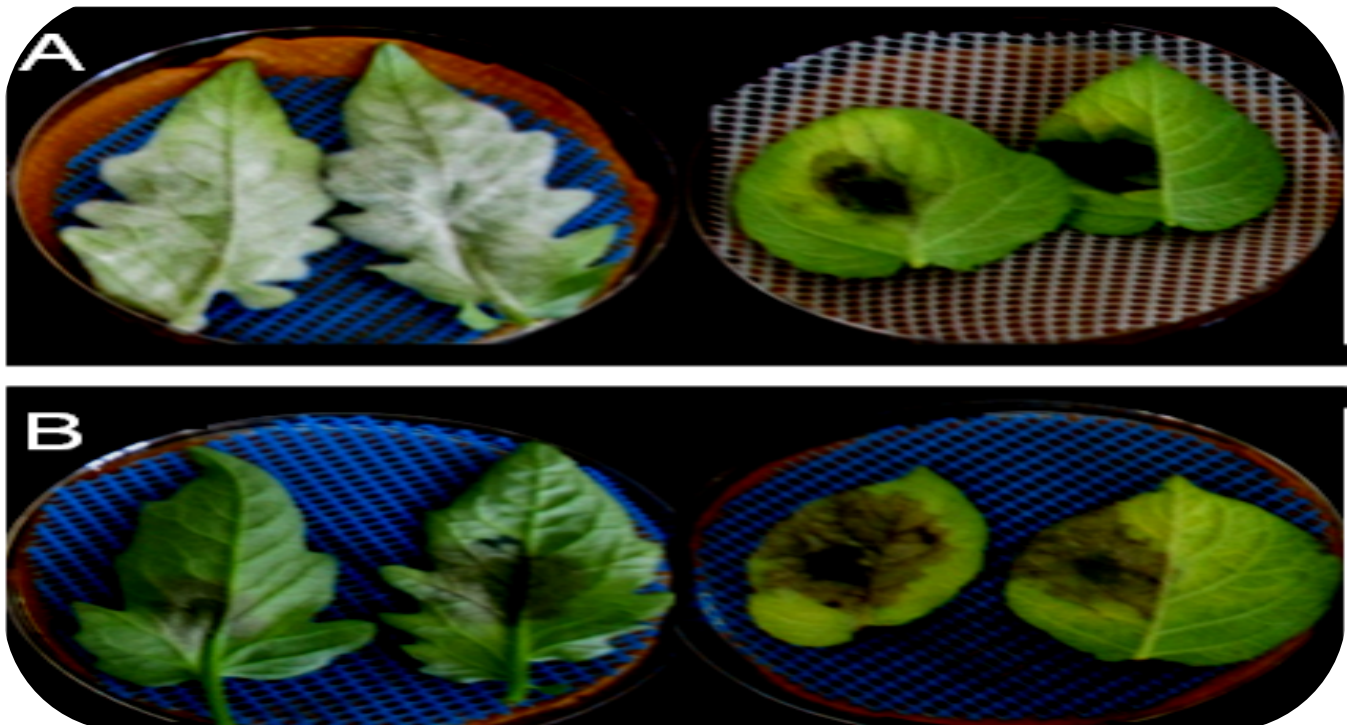


Figure 1. Symptoms of tomato and potato isolates on detached leaflets of both hosts. (A) Lesions produced by isolate of EU_23_A1 clonal lineage. (B) Lesions produced by isolates of EU_13_A2 clonal lineage.

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).

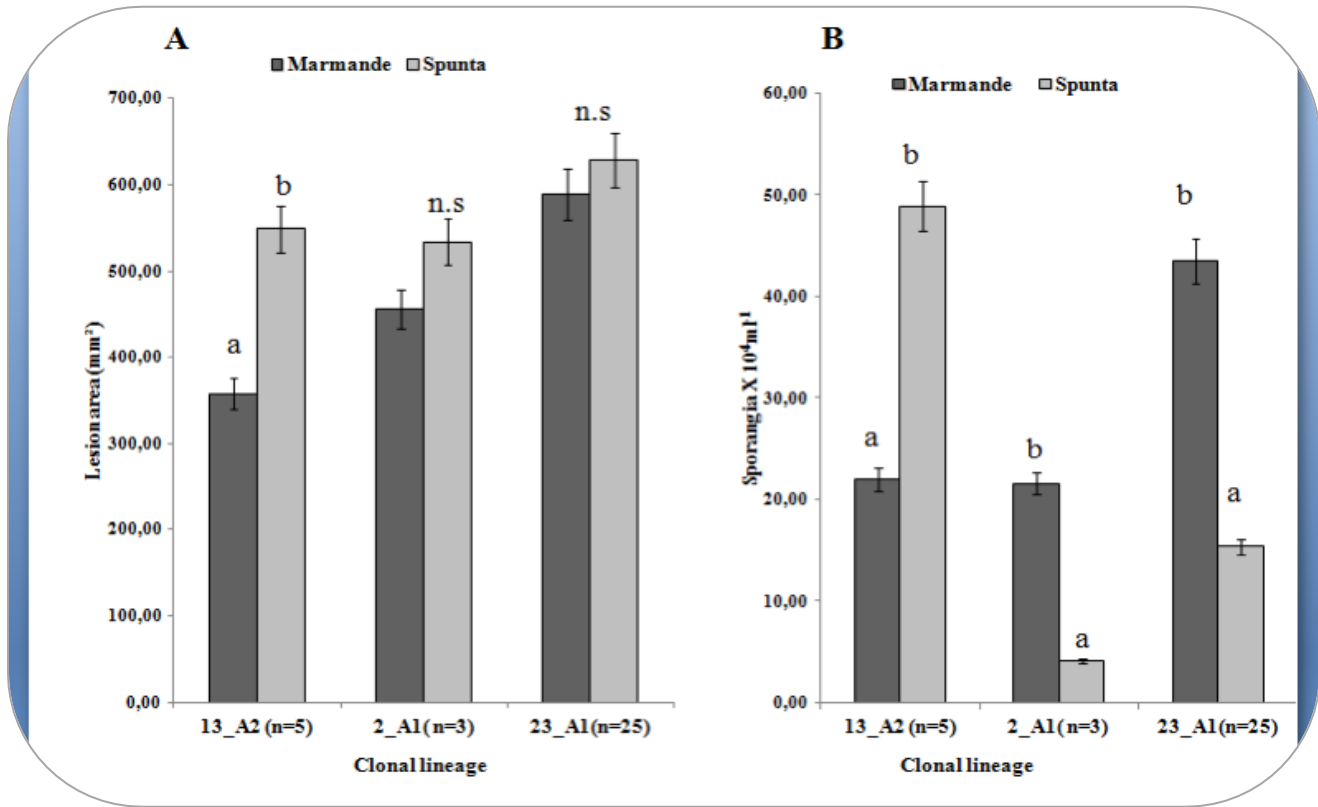


Figure 2. Pathogenicity of each clonal lineage on tomato cv. Marmande and potato cv. Spunta. (A) Lesion area expressed in mm². (B) Sporangia production expressed by the number of sporangia x 10⁴ml⁻¹. The means of lesion area and sporangia production are separated using Tukey's HSD test with α=0.05. n.s.= 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

Résumé

Le mildiou causé par *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary est l'une des contraintes biotiques sur les cultures de Solanacée notamment la tomate et pomme de terre. La présente étude s'est focalisée sur le mildiou de la tomate. Une collection de 105 isolats a été isolée à partir d'échantillons de tomates infectées dans les principales zones de production de la tomate dans le centre-nord de l'Algérie, allant de la période 2010 jusqu'à 2016. Ces isolats ont été caractérisés sur le plan génotypique en utilisant des marqueurs SSRs, ensuite sur le plan phénotypique en identifiant leurs types sexués, leur résistance au Metalaxyl et leur réponse à la température, nous avons également étudié leurs agressivités et adaptation à la tomate et à la pomme de terre en conditions contrôlées. Pour finir, nous avons testé la résistance de quelques variétés de tomates à l'égard du mildiou sous serre et en conditions *in-vitro*. Cette étude montre clairement la présence d'une population de *P. infestans* ayant des caractéristiques génotypiques et phénotypiques spécifiques sur la tomate. Tous les isolats collectés à partir de la tomate sont de type d'accouplement A1. En ce qui concerne les caractéristiques biologiques (les isolats se développent dans une large gamme de températures, et sont tous sensibles au fongicide, le Metalaxyl, mis à part un isolat). Ainsi, pour la spécialisation parasitaire les isolats collectés à partir de la tomate sont des généralistes et donc s'adaptent à la fois à la tomate et la pomme de terre contrairement aux isolats collectés à partir de la pomme de terre qui sont spécialistes c'est-à-dire n'attaque que la pomme de terre en condition de champ. Pour le test de résistance variétale, certaines variétés ont montré un bon comportement à l'égard du mildiou sous serre et *in-vitro* comme le cas de la Saint-Pierre et Trakia, à cet effet, ces variétés devraient être étudiées davantage afin de confirmer cette résistance. Enfin, ces données peuvent être utiles pour développer des stratégies de lutte durables pour traiter les deux hôtes, en particulier la tomate, qui contribue à la production d'inoculum secondaire afin de réduire les risques d'épidémies majeures de mildiou en Algérie.

المخلص

يعتبر البياض الزغبي من اهم الامراض التي تمس البد نجليات خاصة الطماطم و البطاطس . دراستنا تمحورت حول البياض الزغبي اللذي يمس خاصة الطماطم. تم الحصول على مجموعة من 105 عزلة من عينات الطماطم المصابة في مناطق إنتاج الطماطم الرئيسية في شمال وسط الجزائر ، من الفترة 2010 إلى 2016. تم تحليل هذه العزلات وراثيا باستخدام علامات SSR ثم على المستوى الظاهري من خلال تحديد خصائصها البيولوجية (الأنواع الجنسية ، ومقاومة ميتالاكسيل) والبيئية (الاستجابة لدرجة الحرارة) والمرضية (العدوانية على الطماطم والبطاطس في ظل ظروف خاضعة للمخبر) . اختبرنا أيضًا مقاومة بعض أصناف الطماطم ضد البياض الزغبي في البيت لبلاستيكي من خلال تقييم نسبة تدمير الأوراق ، ثم تم تأكيد هذه النتائج تحت ظروف خاضعة للرقابة. تظهر هذه الدراسة وجود مجموعة من العزلة لها خصائص وراثية و ظاهرية محددة على الطماطم . جميع العزلات التي تم جمعها من الطماطم هي تزاوج من النوع 1أ فيما يتعلق بالخصائص البيولوجية العزلات لها نطاق واسع من النمو في درجات الحرارة ، و تعتبر كلها حساسة لمبيد الفطريات ميتالاكسيل باستثناء عزلة واحدة). وبالتالي ، بالنسبة للتخصص الطفيلي ، تكون العزلات التي يتم جمعها من الطماطم هي عزلات عامة وبالتالي تتكيف مع كل من الطماطم والبطاطس على عكس العزلات التي تم جمعها من البطاطس والتي تعتبر من المتخصصين. أي يهاجم فقط البطاطس في الحقل. بالنسبة لاختبار مقاومة الأصناف ، أظهرت بعض الأصناف سلوكًا جيدًا فيما يتعلق بالبياض الزغبي في البيت البلاستيكي وفي المختبر ، مثل حالة سان بيبير وتراكيا ، ولهذا الغرض ، يجب دراسة هذه الأصناف بشكل أكبر من أجل تأكيد هذه المقاومة. وأخيرًا ، قد تكون هذه المعطيات مفيدة في تطوير استراتيجيات مكافحة مستدامة لعلاج كلا المضيفين ، ولا سيما الطماطم ، من أجل تقليل مخاطر انتشار مرض البياض الزغبي في الجزائر.

Summary

Late blight caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary is one of the most biotic constraints on Solanacea crops, especially tomato and potato. The present study focused on tomato late blight. 105 isolates were isolated from infected tomato samples in the main tomato production areas in north-central Algeria, from 2010 to 2016. These isolates were characterised genetically using SSRs markers, then phenotypically by identifying their biological (Mating types, Metalaxyl resistance), ecological (temperature response) and pathological (aggressiveness and adaptation on tomato and potato under controlled conditions) properties. We also tested tomato resistance cultivars in greenhouse by assessing leaf destruction percentage and AUDPC, these results were then confirmed *in vitro* under controlled conditions. This study shows the presence of *P. infestans* population with specific genotypic and phenotypic characteristics on tomato. All isolates collected from tomatoes were of A1 mating type. With regard to biological characteristics (isolates grow over a wide temperature range, and all isolates are susceptible to the fungicide metalaxyl). Thus, for host adaptation, isolates collected from tomato are generalists and therefore adapt to both tomato and potato, unlike isolates collected from potato, which are specialists, they only attack potatoes in field conditions. For cultivars resistance test, some tomato cultivars have shown good behaviour against late blight in greenhouses and *in vitro* as in the case of Saint-Pierre and Trakia. For this reason, these cultivars should be studied further in order to confirm this resistance. Finally, these data may be useful in developing sustainable control strategies to treat both hosts, particularly tomato, which contribute to the production of secondary inoculum to reduce the risk of major late blight epidemics in Algeria.