

Mise en évidence de souches sexuellement compatibles de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary dans le Saïss

Hammi A.¹, Bennani A.², El Ismaili A.³, Msetef Y.¹ et Serrhini M. N.⁴

¹ Faculté des Sciences Dhar El Mehrez, Fès

² Faculté des Sciences Mouley Ismail, Meknés

³ Service de la Protection des Végétaux, Fès - DPVCTRF

⁴ Ecole Nationale d'Agriculture, Département de Phytopathologie, Meknés

Résumé

Cinquante-deux isolats de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary ont été collectés à partir de parcelles cultivées de pomme de terre et de tomate, dans la région de Fès-Saïss (Maroc). Le pathogène a été isolé à partir d'organes infectés (feuilles, folioles, tiges et fruits) et incubé sur un milieu de culture non sélectif à base de petits pois. Des confrontations *in vitro* des différents isolats ont permis la formation d'oospores et le regroupement des isolats en deux lots sexuellement compatibles : l'un est formé de 4 isolats, l'autre de 48. En l'absence de souches de références, le type sexuel des isolats n'a pas pu être arrêté. Environ 22 % des oospores produites sont capables de germer dans une infusion à base de fumier frais de mouton. Des confrontations révélées compatibles *in-vitro* ont été reconduites *in-vivo* sur des folioles de pomme de terre; elles ont permis la formation d'oospores.

Le présent article confirme la présence dans les conditions du Maroc, de souches de *P. infestans* (Mont.) de Bary sexuellement compatibles. La reproduction sexuée dans la nature serait une menace pour nos cultures car : 1) elle peut entraîner l'apparition de recombinants très virulents dont le contrôle serait de plus en plus difficile, 2) les oospores sont des formes de conservation du champignon dans le sol et à ce titre le sol deviendrait infectieux.

Mots-clés : *Phytophthora infestans*, pomme de terre, tomate, reproduction sexuée

Abstract : Occurrence of strains of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary sexually compatible in the Saïss region

Fifty two isolates of *P. infestans* (Mont.) de Bary have been collected from potato and tomato crops throughout the Fès-Saïss (Morocco) region during the 1997-1998. This isolates were obtained from different infected organs (Leaves, Stems, and fruits). Cultures were maintained on pea agar without antibiotics. The pairing of the isolates have revealed production of oospores. Two groups of the isolates were distinguished according to their compatibility type.

These groups contained 4 and 48 isolates respectively. However, the mating type could not be determined because of the absence of the reference strains. Around 22% of oospores germinated in sheep fresh dung infusion. The oospores were observed also in leaf tissues of potato cultivar Desirée after testing some pairings that proved to be fertile in vitro.

These results confirm the presence of *P. infestans* (Mont.) de Bary strains that are sexually compatible under the Moroccan conditions. Oospore production constitute a threat for these crops : 1) it implies the occurrence of virulent recombinants which may be difficult to control. 2) in contrast to asexual spores, oospores can survive for longer periods in absence of the host plant in the soil which becomes infectious.

Key words : *Phytophthora infestans*, potato, tomato, sexual reproduction

ملخص: التوافق الجنسي عند *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary بمنطقة فاس - سايس

- حمي ع.1، بناني 2، الاسماعلي 3، مستفي 1، سرغيني م. ن. 4
 1 كلية العلوم ظهر المهران، فاس
 2 كلية العلوم مولاي اسماعيل، مكناس
 3 مصلحة وقاية النباتات، المديرية الاقليمية الفلاحية، فاس
 4 المدرسة الوطنية الفلاحية، مكناس

يعتبر *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary من الفطريات الخطيرة المسببة لمرض البياض الزعبي الذي يصيب البطاطس و الطماطم خصوصا عندما تكون الاحوال البيئية ملائمة لانتشاره. تهدف هذه الدراسة اساسا الى معرفة مدى وجود فصائل *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary منسجمة جنسيا في المغرب.

مكنت هذه الدراسة من عزل 52 فصيلة *Phytophthora infestans* من مجموعة من الحقول المزروعة بالبطاطس و الطماطم في منطقة فاس سايس. و قد تم عزلها من مختلف اعضاء النبات (الورق، الساق الثمرة) المصابة بالمرض وذلك في وسط غذائي غير انتقائي مكون اساسا من عصير الجلبان. و من خلال المجاهبات الاصطناعية بين هذه الفصائل الفطرية تمكنا من الحصول على البويضات و تقسيم هذه الفصائل الى مجموعتين الاولى تتكون من اربعة فصائل و الثانية من 48 فصيلة. ونظرا لغياب الفصائل المرجعية لم نتمكن من تحديد النوع الجنسي للفصائل. اظهرت الدراسة ايضا انه يمكن لحوالي 22 % من البويضات الانبات في وسط معد من منقوع السماد الطري للخروف. و قد تم ايضا اختبار بعض المجاهبات النسجة جنسيا على وريقات البطاطس حيث نتجت عنها تكون البويضات.

اكدت هذه الدراسة نتائج سابقة تتبنى وجود فصائل *Phytophthora infestans* منسجمة جنسيا في المغرب. و بالتالي اذا تم اثبات وجود هذا التوالد الجنسي في الطبيعة، سيشكل لا محالة خطورة كبيرة على زراعة البطاطس (1). سينتج عنه ظهور فصائل فتاكة يصعب السيطرة عليها (2) تعتبر البويضات الشكل الذي يحتفظ به الفطر في التربة الامر الذي تصبح معه التربة مصدرا ممرضا.

الكلمات المفتاحية : *Phytophthora infestans*، البطاطس، الطماطم، التوالد الجنسي

Introduction

Le mildiou de la pomme de terre et de la tomate constitue une menace pour ces cultures. Cette maladie est causée par *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, un champignon de la classe des Oomycètes. C'est une espèce hétérothallique dont deux types sexuels sont connus (A1 et A2). La reproduction sexuée de *P. infestans* a été décrite pour la première fois au Mexique par Gallegly et Galindo (1958) et Smoot et al. (1958). Ce pays est considéré comme étant le lieu d'origine de ce champignon dévastateur (Goodwin et al., 1992). En dehors du Mexique, tous les isolats récoltés avant les années quatre-vingt ont été déterminés de type sexuel A1. L'existence du type sexuel A2 en Europe a été rapporté, pour la première fois, par Hohl et Islin en 1984. En Afrique, la forme A2 a, jusqu'à présent, été mise en évidence uniquement en Egypte (Shaw et al., 1985). Actuellement en Asie, le type sexuel A2 a été répertorié dans différents pays : Japon, Corée du sud et Chine (Drenth et al., 1993).

Lors d'une étude épidémiologique de *P. infestans* (Mont.) de Bary menée dans la région de Larache (Maroc), El Ismaili (1994) a observé la formation d'oogones et d'anthéridies dans une culture d'un isolat de sa collection. Cet auteur a conclu à la possibilité de la présence de souches sexuellement compatibles dans les conditions du Maroc. Selon Sedegui et al. (1997), la population de *P. infestans* de la région précitée, est composée uniquement de type sexuel A1. Par conséquent, le type sexuel A2 n'a jamais été mis en évidence au Maroc.

L'objectif de la présente étude est de vérifier la présence, dans nos conditions, d'isolats sexuellement compatibles, de les confronter pour la reproduction sexuée *in vitro* et *in vivo*, et de tester la capacité germinative des oospores résultant des confrontations effectuées.

Matériel et méthodes

Isolement de *P. infestans* (Mont.) de Bary

Durant la campagne agricole 1997-1998, des échantillons de plants infectés de mildiou ont été prélevés de parcelles cultivées de pomme de terre et de tomate dans la région de Fés-Saiss. L'isolement de *P. infestans* (Mont.) de Bary a été réalisé sur un milieu de culture, non sélectif, à base de petits pois, à partir des feuilles, folioles, tiges et fruits présentant les symptômes de la maladie. La technique d'isolement utilisée est celle décrite par Malcolmson (1979). L'identification du pathogène a été basée sur les caractères morphologiques décrits par Thurston et Shultz, (1981) et sur les températures cardinales favorables à la croissance du mycélium (4°C ; 20°C ; 25°C) (Waterhouse, 1963).

Test de pathogénicité des isolats

Des folioles et des tubercules de la variété Désirée de pomme de terre (moyennement sensible au mildiou) sont lavés, désinfectés et inoculés par une suspension sporangiale (50 à 100 µl)

de chacun des isolats. Ces suspensions (10^4 sporanges / ml) sont préparées à partir de cultures myceliennes âgées de 10 jours. L'incubation des folioles est réalisée à 20°C et à une photopériode de 16h, celle des tubercules à 20°C, à l'obscurité (Kadich et al., 1990).

Détermination de la compatibilité sexuelle des isolats

Pour chaque croisement envisagé, 4 pastilles myceliennes, prélevées au bord de jeunes colonies, sont mises en culture à 2 cm l'une de l'autre et à raison de deux pastilles par isolat et par croisement. Deux répétitions ont été effectuées pour chaque croisement. Les formes sexuées sont recherchés, dans la zone de contact des colonies, après 7 à 10 jours d'incubation (20° C, obscurité). L'évaluation de la fertilité est déterminée par le comptage du nombre d'oospores formées par millimètre cube du milieu de culture dans quatre croisements fertiles. Pour se faire la gélose contenant les oospores est fragmentée en des petits morceaux de volume bien déterminée.

Test de germination des oospores in-vitro

Les croisements fertiles sont conservés à l'obscurité pendant deux mois pour la maturation des oospores (Ribeiro, 1983). Ces dernières sont extraites par macération des fragments de gélose prélevés dans la zone de contact des colonies compatibles. Les spores sont filtrées, lavées et incubées dans trois milieux de germination décrits par Gallegly et Galindo (1958) (eau distillée stérile ; infusions de fumiers frais de mouton et de cheval). Le test de germination a été conduit à 20° C et à une photopériode de 16h. Le taux de germination a été estimé après 2, 3, 5 et 10 jours d'incubation.

Induction de la reproduction sexuée in-vivo

Six croisements parmi ceux révélés fertiles in vitro, ont été reconduits in-vivo. Les inoculum des isolats, dont on souhaite tester la compatibilité, sont déposés deux à deux à une distance de 3 à 4 cm l'un de l'autre sur la face inférieure des folioles de la variété Désirée (15°C ; Photopériode de 16h).

Résultats

Isolement et caractérisation phénotypiques des isolats

Sur 15 parcelles prospectées, nous avons réussi l'isolement du pathogène à partir de plants issus de 10 parcelles seulement. Huit parmi elles sont cultivées de pomme de terre et 2 de tomate. Le champignon a été isolé à partir des différents organes analysés. Des repiquages suc-

cessifs nous ont permis de purifier *P. infestans* (Mont.) De Bary et d'obtenir 52 isolats (voir tableau 1). Après 15 à 20 jours d'incubation, le champignon colonise la totalité de la boîte de pétri. Deux morphotypes ont pu être distingués :

□ La colonie est dense ; elle a une bordure souvent diffuse. Le mycélium aérien est très abondant et occupe presque la totalité de la surface de la boîte de pétri. La croissance est parfois sectorielle ou en forme de bouquet. Ces derniers résultent de ramification dichotomique intense. Les sporanges sont abondants (fig. 1. A).

□ La colonie est peu dense et son contour est souvent net. Le mycélium aérien est absent ou peu développé. La sporulation asexuée est quasi inexistante. Les organes de reproduction sexués (oogones, anthéridies, oospores) sont par contre observés ; il s'agit d'isolats autofertiles (P10F10 et P6F15) (fig. 1. B). Le phénomène d'autofertilité observé s'avère, cependant, instable ; il disparaît après deux à trois repiquages successifs.

Sachant que *P. infestans* (Mont.) De Bary est une espèce hétérothallique, ce phénomène peut être expliquée de deux manières : il s'agit d'un mélange de souches de types sexuels compatibles ou alors d'une progéniture mono-oosporales autofertile chez *P. infestans* comme celle rapporté par Shattock et al., (1986) in Shattock et al., (1990).

Vérification de la pathogénicité des souches isolées

Tous les isolats collectés se sont révélés pathogènes. En effet, les folioles, inoculés par les suspensions sporangiales, ont tous développé, des lésions typiques du mildiou 2 à 5 jours après incubation. Le comportement des tubercules, par contre, est variable. Certain parmi eux n'ont manifesté aucun symptôme de la maladie, d'autres ont montré des degrés variables de pourriture caractéristique de *P. infestans* (Mont.) De Bary. La différence d'expression de sensibilité vis à vis du pathogène, observée entre les folioles et les tubercules chez le même cultivar, a été signalée par d'autres auteurs (Stewart et al., 1994).

Par ailleurs nous avons constaté que les isolats issus de la tomate sont relativement moins agressifs (petites lésions et faible sporulation) que ceux prélevés de la pomme de terre. Ceci peut être expliqué par la spécificité pathogénique du champignon (Oyarzun et al., 1997 et Lebreton et al., 1999) surtout que l'essai de pathogénicité a été conduit uniquement sur des folioles de la pomme de terre.

Tableau 1. Origine des isolats. (F = foliole ; T= tubercule ; MS = moyennement sensible ; PS = peu sensible ; ASP = assez peu sensible).

Localités	Isolats	Dates de prélèvement	Cultures et variétés	Degré sensibilité	Organes Végétaux analysés
D.R. Douyet		12/1/1997	Tomate (Var. Daniela)	Moyennement sensible	Feuille Fruit
Serre 67	I1S67	20/1/1997	"		"
	I3S67		"		"
	I4S67		"		"
	I5S67		"		"
	I6S67		"		"
	I7S68		"		"
	I2S68		"		Feuille
Serre 68					
Ain Cheggag		22/5/1997 24/5/1997			
Parcelle 3	P3F1	26/5/1997	Pomme de terre (Var. Désirée)	F : MS T : PS	Foliole
Parcelle 5	P5F4		Pomme de terre (Var. Nicola)	F : AS T : APS	Foliole
Parcelle 6	P6F4 P6F5 P6F11 P6F12		Pomme de terre (Var. Désirée) " " "		Foliole " " "
	P6F14 P6F15 P6F16 P6F17		" " " "		" " " "
Parcelle 7	P7F1 P7F2 P7F3		" " "		" " "
Parcelle 10	P10F1 P10F2 P10F3 P10F4 P10F5 P10F6 P10F10 P10F18 P10F20 P10F33		" " " " " " " " " "		" " " " " " " " " "
Boughioul (Sefrou)1	S1F4 S1F15 S1F27 S1F30	11/1/1998 17/1/1998	Pomme de terre (Var. Désirée)	"	Foliole " " "

Tableau 1. Suite

Localités	Isolats	Dates de prélèvement	Cultures et variétés	Degré sensibilité	Organes Végétaux analysés
Ain Baida (Fés)		14/1/1998			
Parcelle 2	S2F1	19/1/1998	Pomme de terre (Var.Désirée)	“	Foliote
	S2F5		“		“
	S2F6		“		“
	S2T9		“		Tige
	S2F14		“		Folite
	S2F18		“		“
	S2F19		“		“
	S2F20		“		“
	S2F22		“		“
	S2F25		“		“
	S2T30		“		Tige
Parcelle 3	S3F12		“	“	Folite
	S3F21		“		Foliote
	S3F25		“		“
	S3F28		“		“
	S3F31		“		“
	S3F39		“		“
	S3T40		“		Tige

Détermination de la compatibilité sexuelle des isolats

Description des principaux stades de la phase sexuée chez *P. infestans* (Mont.) de Bary

Des essais préliminaires portant sur la compatibilité sexuelle des isolats collectés ont mis en évidence, dans certains croisements, la formation d'organes sexués (oogones, anthéridies et oospores). Les ébauches de ces organes apparaissent dans la zone de confrontation des mycéliums, 2 à 3 jours après qu'ils soient entrés en contact. Le gamétocyste femelle pénètre à travers l'anthéridie ; sa différenciation en oogone nécessite 12 heures environ. Ce dernier présente un aspect sphérique et granuleux. Le jeune anthéridie enserre le pied de l'oogone. Cette configuration dite amphigyne (Fig. 1. C) est rencontrée fréquemment chez les espèces hétérothalliques du genre *Phytophthora* (Savage et al., 1968). Après fécondation, le protoplasme de l'oogone perd son aspect granuleux et forme des vacuoles réfringentes. Le développement de ces dernières entraîne le rétrécissement du cytoplasme et sa migration vers la périphérie de l'organe. La jeune oospore, de forme sphérique, s'entoure d'une paroi épaisse, 15 à 30 jours après fécondation (Fig. 1. D).

L'ensemble des observations décrites sont conformes à celles rapportées par Gallegly, (1970) et Drenth et al., (1994) chez *P. infestans* et par Boccas, (1979) chez *P. parasitica* et *P. cinnamomi*.

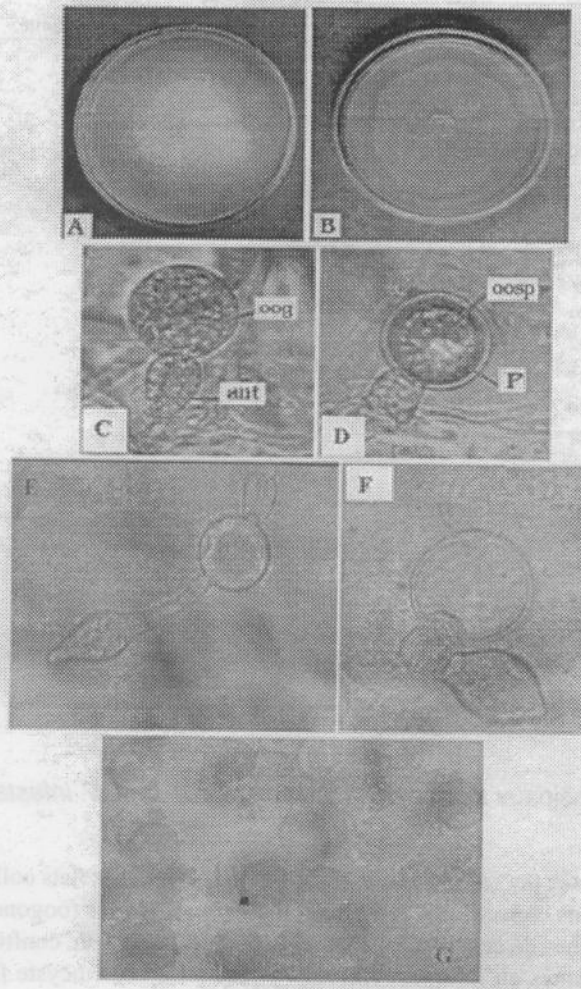


Figure 1. A-B) Morphotypes des isolats autosteriles (A) et autofertiles (B) de *P. infestans* développés sur un milieu à base de pois 10 jours après incubation. C) Oogone et anthéridie amphygine matures. D) Oospore mature. E) Germination d'une oospore de *P. infestans* produite in vitro avec un tube germinatif présentant un sporange terminale. F) Germination indirecte d'une oospore en produisant un sporange sessile émergeant de l'anthéridie. G) Oospores formées sur foliole de pomme de terre (var. désirée) suite à une inoculation par deux suspensions sporangiales appartenant à deux isolats de *P. infestans* révélés compatibles in vitro (ant : anthéridie ; oog : oogone ; oosp : oospore ; P : paroi)

Groupement des isolats selon leur compatibilité sexuelle

Dans l'objectif de regrouper l'ensemble des isolats selon leur type sexuel et en l'absence de souches de référence internationale, nous avons mené un test préliminaire comportant 55 croisements. Celui-ci a été conduit avec 14 isolats choisis au hasard. Vingt-et-un croisements parmi ceux là se sont révélés fertiles. Deux isolats issues d'un des croisements fertiles ont servis à l'évaluation de la compatibilité des 52 isolats de la collection. Il s'agit de "S2F18" et "P10F1" ; leur choix n'est basé sur aucun critère. Ainsi, tous les isolats ont été croisés séparément avec chacun des deux isolats retenus. Dans la première série de croisements (S2F18 x Isolat à tester) nous avons obtenu 48 confrontations fertiles, tandis que dans la deuxième série (P10F1 x Isolat à tester) nous n'avons obtenu que quatre croisements fertiles. Nous avons alors classé dans le groupe A les isolats du même type sexuel que "S2F18" (incompatibles avec celui-ci) ; ceux du même type sexuel que "P10F1" ont été rassemblés dans le groupe B (voir tableau 2).

Ces résultats confirment la coexistence dans nos champs de deux populations de *P. infestans* (Mont.) De Bary sexuellement compatibles.

Tableau 2. Groupement des isolats selon leur compatibilité sexuelle (* : souche de référence)

Groupe A	Groupe B
P6F16	1S67; 12S68 ; 13S67; 14S67; 15S66; 16S67; 17S67.
P6F17	P3F1; P5F6; P6F4 ; P6F5 ; P6F11; P6F12 ; P6F14 ; P6F15.
S2F18*	P7F1; P7F2; P7F3.
S2F19	P10F1*; P10F2 ; P10F3 ; P10F4 ; P10F5; P10P6 ; P10F10 ; P10F18 ; P10F20 ; P10F33. S1F4; S1F15; S1F27; S1F35. S2F1; S2F5; S2F6; S2T9; S2F14; S2F20; S2F22; S2F25; S2F30. S3F12 ; S3F21; S3F25; S3F28; S3F31; S3F39; S3T40.

Evaluation de la fertilité in vitro

Le dénombrement d'organes sexués, produits dans quatre croisements, a révélé que le nombre moyen d'oospores formées varie de 121 à 199 oospores/mm³ (voir tableau 3). L'analyse de la variance des valeurs enregistrées montre une différence hautement significative (P<0,05) du facteur type de croisement. Le pourcentage moyen des oospores abortives varie de 10 à 30 % selon les cas. Les mesures diamétrales des différents organes de la reproduction sexuée (100 mesures/organe/croisement) ont révélé que ces dimensions présentent souvent des similitudes surtout pour les anthéridies et les oospores (voir tableau 3).

Tableau 3. Evaluation de la fertilité de quatre croisements menés in-vitro et mensurations des organes sexués produits

Croisement	Nombre moyen* d'oospores	Oospores bien différenciées	Diamètre (µm)		
			Oogone	Oospore	Anth
S2F18xS2F25	138 ± 36,1	90 %	22,5-28,8-35	10-13-20	17,5-23,5-32,5
S2F18xP6F11	199 ± 33,8	85 %	25-29,5-35	10-13,15-20	15-23,5-32,5

Tableau 3. Suite

P6F16xS3F12	121 ± 45,55	90 %	25-30,37-37,5	10-14,23-22,5	17,5-22,5-30
P6F16xP6F12	165 ± 29,7	70 %	20-25,5-45	10-14,7-23,75	15-22,44-32,5

* : le nombre représente la moyenne de 10 répétitions

Evaluation de la germination des oospores produites in-vitro

Les oospores germent en présence de la lumière, 2 à 3 jours après leur mise en culture. Le taux de germination augmente avec le temps d'exposition à la lumière. Le pourcentage moyen de germination varie entre 12 et 22%. L'analyse de la variance ne montre pas de différence significative du facteur milieu de culture ($P < 0.05$). Ainsi nous constatons que les oospores produites in vitro sont capables de germer (fig. 1. E et F). Elles sont donc fonctionnelles.

Induction de la reproduction sexuée in vivo

Les observations microscopiques des lésions développées sur les folioles, 7 jours après inoculation par les isolats dont nous avons testé la compatibilité, ont révélé une formation abondante des oogones et des anthéridies dans quatre croisements parmi six. Les formes de la reproduction sexuée sont concentrées dans la zone de contact des lésions. Les oospores sont détectées 10 jours après incubation (Fig. 1. G). Leur nombre varie selon les croisements (voir tableau 4). L'analyse de la variance a, encore une fois, montrée une différence hautement significative du facteur croisement ($P < 0.05$). L'absence des formes sexuées dans les croisements P6F16 x S3F12 et S2F18 x P10F33 peut-être expliquée par le fait que les isolats P10F33 et S3F12 sont très agressifs. Selon Drenth et al., (1995), plus l'expansion du champignon est rapide plus l'établissement de la reproduction sexuelle est moins probable.

En conclusion, la population de *P. infestans* présente dans la région d'étude comporte des souches de types sexuels A1 et A2. La coexistence de ces deux formes dans une même parcelle renseigne sur la possibilité de la recombinaison sexuelle en plein champ.

Tableau 4. Evaluation de la fertilité de six croisements conduits in vivo

Croisements	Nombre d'oospores/0,8 m ² de la surface foliaire*
S2F18xS2F25	1250 ± 241
S2F18xP6F12	980 ± 147,87
P6F16xP6F11	750 ± 143,75
P6F16xS2F20	150 ± 51,25
P6F16xS3F12	0
S2F18xP10F33	0

*Les valeurs enregistrées correspondent à la moyenne de 10 répétitions

Discussion

Dans le périmètre de Fès-Saïss, en dépit du nombre relativement réduit des isolats collectés, nos tests de compatibilité sexuelle menés *in vitro* et *in vivo* nous ont permis l'obtention des organes de reproduction sexuée (oogones, anthéridies et oospores). Sachant que *P. infestans* (Mont.) de Bary est une espèce hétérothallique, ces résultats suggèrent la coexistence, dans nos champs, des types sexuels A1 et A2. Les essais que nous avons réalisé, ne nous permettent pas de savoir si le type A2 a été introduit par importation ou s'il s'agit d'une évolution de la population marocaine de départ.

Si les conditions du milieu sont favorables à la reproduction sexuée, la recombinaison génétique peut donner naissance à des lignées très virulentes et conduire à des épidémies. Cependant, la coexistence des deux types sexuels n'implique pas forcément l'établissement de la recombinaison sexuelle dans les conditions naturelles. Les populations de *P. infestans* (Mont.) de Bary au Japon, au Brésil et en Corée de Sud comportent des génotypes des deux types sexuels mais aucun recombinant n'a été prouvé (Fry et al., 1992 et Young et al., 1994). Par contre, au Mexique, les populations de *P. infestans* (Mont.) de Bary sont essentiellement le fruit de la reproduction sexuée (Tooley et al., 1986). Drenth et al., (1994) ont prouvé, par analyse de l'ADN, que la composition génétique de la population de *P. infestans* (Mont.) de Bary en Hollande, diffère d'une année à l'autre ; ceci est caractéristique d'une population se reproduisant sexuellement.

Les observations microscopiques que nous avons réalisé sur des organes naturellement infectés n'ont pas révélé la présence d'organes de reproduction sexuée. Selon Drenth et al., (1995) et Hanson et Shattock, (1998), la production des oospores dans les tissus de l'hôte dépend de degré de sensibilité des cultivars au mildiou et sur certains facteurs du milieu tels que la température d'incubation.

Par ailleurs, le fait que les oospores soient capables de germer signifie qu'elles sont fonctionnelles. Elles constituent des lignées nouvelles car elles sont le fruit de la recombinaison génétique. La variabilité génétique induite par la reproduction sexuée augmente le pouvoir adaptatif du champignon aux changements de l'environnement. La pression de sélection à laquelle le champignon peut être soumis est capable d'induire des adaptations permettant parfois la colonisation d'autres hôtes (Drenth et al., 1993). Le problème de l'acquisition de la résistance au métalaxyl en plein champ, observée dans plusieurs pays y compris le Maroc (El Ismaili, 1994 ; Sedigui et al., 1997) ne peut être qu'un exemple d'adaptation du champignon au milieu. En effet, l'émergence des isolats de *P. infestans* (Mont.) de Bary résistants au métalaxyl a commencé vers le début des années quatre-vingt en Irlande et en Hollande (Davise et al., 1981). Cette période coïncide avec les premières apparitions du type sexuel A2 en Europe (Fry et al., 1993).

Les oospores constituent par ailleurs une forme de conservation de l'espèce dans le sol. Perches et Galindo, (1969) in Schöber et Turkensteen, (1992) rapportent qu'après une attaque sévère d'un sol au Mexique par le mildiou de la pomme de terre, celui-ci a conservé son pouvoir infectieux pendant environ 3 années. Selon Drenth et al., (1995) ni les spores asexuées ni le mycélium ne peuvent survivre au-delà de 23 semaines.

Au Maroc, environ 36% des tubercules de semences proviennent annuellement de certains pays Européens (Anonyme, 1998 et 1999). Dans ces derniers, les deux types sexués A1 et A2 coexistent. Ainsi, l'importation de semences non certifiées indemnes peut entraîner l'introduction de populations très hétérogène de *P. infestans* (Mont.) De Bary de types sexuels compatibles. En Europe et aux Etats Unis/Canada la migration est considérée parmi les causes principales de la diversité génétique dans les populations de *P. infestans* (Mont.) De Bary (Fry et al., 1992 ; Sujkowski et al., 1993 ; Drenth et al., 1993 ; Goodwin et al., 1994).

Pour maîtriser le fléau de mildiou, Il est important de déterminer la distribution des fréquences des deux types sexuels A1 et A2 dans l'ensemble des régions de production de la pomme de terre, de vérifier si les conditions climatiques marocaines favorisent la reproduction sexuée, et d'examiner la contribution des oospores dans le déclenchement des épidémies.

Références bibliographiques

Anonyme, 1998 et 1999. SONACOS, Bilan activité., 1998 et 1999.

Boccas, B. 1979. La reproduction sexuée chez les *Phytophthora*, ses voies et quelques unes de ses conséquences génétiques. Travaux et documents de l'O. R. S. T. O. M. n°100, Paris. 188 pp.

Davids, L. C., Looijen, D., Turkensteen, L. J., and Van Der Wall, D. 1981.

Occurrence of metalaxyl resistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato fields. *Neth. J. Pl. Pathl.*, 87: 65-68.

Drenth, A., Janssen, E. M, and Govers, F. 1995. Formation and survival of oospores of *Phytophthora infestans* under natural conditions. *Plant pathol.*, 44: 86-94.

Drenth, A., Taq, I. C. Q, and Govers, F. 1994. DNA fingerprinting uncovers a new sexually reproducing population of *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*, 100 : 97-107

Drenth, A., Turkensteen, L. J., and Govers, F. 1993. The occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* in the Netherlands; significance and consequences. *Neth. J. Path.*, 99: 57-67.

El Ismaili, A. 1994. Le mildiou de la pomme de terre: Epidémiologie dans le périmètre de la base Mouloya et niveaux de sensibilité au metalaxyl. Mémoire de 3ème cycle. ENA Méknès. 129 pp.

Fry, W. E., Goodwin, S. D., Dyer, A. T., Matuszak, J. M, Drenth, A., Tooley, P. W, Sujowski, L. S., Koh, Y. J, Cohen, B. A., Spielman, L. J., Deahl, K. L, Inglis, D. A., and Sandlan, K. P. 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans* : chronology, pathways and implications. *Plant Dis.*, 77 : 1330-1336.

Fry, W. E, Goodwin, S.D., Matuszak, J. M.; Spielman, L.J. and Milgroom, M.G. 1992. Population genetics and intercontinental migration of *Phytophthora infestans*. *annu. Rev. Phytopathol.*, 30 : 107-129.

Gallegly, M. E. 1970. Genetic of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 60 : 375-396.

Gallegly, M. E., and Galindo, J. 1958. Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. *Phytopathology*, 48 : 274-277.

Goodwin, S. B., Cohen, B. A., Deahl, K. L., and Fry, W. E. 1994. Migration from northern Mexico as probable cause of recent genetic changes in populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada. *Phytopathology*, 84 : 553-558.

- Goodwin, S. B., Spielman, L. J., Matuszak, J. M., Bergeron, S. N., and Fry, W. E. 1992. Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* in northern and central Mexico. *Phytopathology*, 82 : 955-961.
- Hanson, K., and Shattock, R. C. 1998. Formation of oospores of *Phytophthora infestans* in cultivars of potato with different levels of race-non specific resistance. *Plant Pathol.*, 47 : 123-129.
- Hohl, J. C., and Iselin, K. 1984. Strains of *Phytophthora infestans* with A2 mating type behavior. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 83 : 529-530.
- Kadish, D., Grinberger, M., and Cohen, Y. 1990. Fitness of metalaxyl-sensitive and metalaxyl-resistant isolates of *Phytophthora infestans* on susceptible and resistant potato cultivars. *Phytopathology*, 80: 200-205.
- Lebreton, L., Lucas, J-M., and Andviron, D. 1999. Aggressiveness and competitive fitness of *Phytophthora infestans* isolates collected from potato and tomato in France. *Phytopathology*, 89 : 679-686.
- Malcolmson, J. F. 1979. Isolation and identification of races of *Phytophthora infestans* from breeders assessment plots. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 73 : 155-156.
- Oyarzun, P. J., Pozo, A., Ordonez, M. E., Doucett, K., and Forbes, G. A. 1997. Host specificity of *Phytophthora infestans* on tomato and potato in Ecuador. *Phytopathology*, 88 : 265-271.
- Ribeiro. 1983. Physiology of asexual sporulation and spore germination in *Phytophthora* in : Erwin, D. C., Bartnicki-Garcia, S., and Tsao, P. H.(eds); *Phytophthora, Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. American Phytopathology Society, St. Paul, MN. p. 55-70.
- Savage, E. J., Clayton, C. W., Hunter, J. H., Breneman, J. A., Laviola, C., and Gallegly, M. E. 1968. Homothallism, heterothallism, and interspecific hybridization in the genus *Phytophthora*. *Phytopathology*, 58 : 1004-1021.
- Schôber, B., and Turkensteen, L. J. 1992. Recent and future developments in potato fungal pathology. *Neth. J. Pl. Path.*, 98 : 73-83.
- Sedigui, M., Carroll, R. B., Morehart, A. L., Whittington, D. P., Arifi, A., and Lakhdar, R. 1997. First report from Morocco of *Phytophthora infestans* isolates with metalaxyl resistance. *Plant Dis.*, 81 : 831 (abstract).
- Shattock, R. C., Shaw, D. S., Fyfe, A. M., Dunn, J. R., Loney, K. H., and Shattock, J. A. 1990. Phenotypes of *Phytophthora infestans* collected from England and Wales from 1985 to 1988 : mating type, response to metalaxyl and isoenzyme analysis. *Plant Pathol.*, 39: 242-248.
- Shaw, D. S., Fyfe, A. M., and Hibberd, P. G. 1985. Occurrence of the race A2 mating type of *Phytophthora infestans* on imported Egyptian potatoes and the production of sexual progeny with A1 mating types from the UK. *Plant pathol.*, 34 : 552-556.
- Smoot, A. J., Googh, F. J., Lamey, H. A., Eichenmuller, J. J., and Gallegly, M. E. 1958. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 48 : 165-171.
- Stewart, H. E., Bradshaw, J. E., and Watsie, R. L. 1994. Correlation between resistance to late blight in foliage and tubers in potato clones from parents of contrasting resistance. *Potato research*, 37 : 429-434.
- Sujowski, L. S, Goodwin, S. B., Dyer, A. T., and Fry, W. E. 1993. Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Poland. *Phytopathology*, 84 : 201-207.
- Thurston, H. D., and Schultz, O. 1981. Late blight in compendium of potato disease. Ed Hooker. APS Press Michigan (USA). p. 40-42.

Tooley, P. W., Sweigard, J. A., and Fry, W. E. 1986. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual populations. *Phytopathology*, 76 : 1209-1212.

Waterhouse, M. G. 1963. Key of the species of *Phytophthora* de Bary. Mycological papers N° 92. Commonwealth Mycological Institute.

Young, J. K., Goodwin, S. B., Dyer, A. T., Cohen, B. A., Ogoshi, A., Sato, N., and Fry, W. E. 1994. Migration and displacements of *Phytophthora infestans* populations in East countries. *Phytopathology*, 84 : 922-927.