

Caractérisation des populations marocaines de *Phytophthora infestans* agent du mildiou de la pomme de terre « Virulence et type sexuel »

Hafidi¹ M., Andrivon² D., Achbani³ E.H. et El Bouami⁴ F.

1. Département de biologie; Faculté des Sciences et techniques, Fés- Saïs, Maroc.

2. UMR INRA-ENSAR BiO3P, BP 35327, F-35653 Le Rheu Cedex, France.

3. INRA, Centre Régional Saïs Moyen Atlas, BP 578, 50000 Meknès, Maroc.

4. Département de biologie; Faculté des Sciences Meknès, Maroc.

Résumé

Soixante six (66) isolats de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre, ont été collectés en 1999 et 2000 dans les régions de Meknès (N 33° 53.746, O 5° 32.247) et Larache (N 37° 11.697, O 8° 831), pour étudier la structure génétique des populations de l'agent pathogène au Maroc. Tous les isolats ont été caractérisés pour le type sexuel et le test de virulence sur une gamme différentielle de 10 cultivars de pomme de terre portant chacun un gène majeur de résistance au mildiou. Trente quatre isolats collectés de la région de Meknès (Nord Est Marocain) proviennent de 9 champs de pomme de terre et les 32 autres de la région de Larache proviennent de 10 champs de pomme de terre et un seul champ de tomate. Un à quatre isolats ont été obtenus de chaque champ.

Les résultats ont révélé que sur les 34 isolats de Meknès, 24 appartiennent au type sexuel A2, 7 de type A1 et 3 isolats présentent simultanément les deux types sexuels A1A2. Tous les isolats de Meknès appartiennent aux races simples avec un facteur moyen de virulence de 2.85 (1999) et 5.07 (2000) par isolat. Aucun isolat de la région de Meknès ne possède de virulence aux gènes R2, R5, R6 ou R8. Par contre à Larache, parmi les 32 isolats collectés, 28 sont de type sexuel A1, 3 appartiennent à A2 et un seul isolat provenant d'un champ de tomates est de type A1A2. Les isolats de Larache se sont montrés virulents sur tous les gènes testés sauf sur R2, R5 et R6. Les races caractérisées à Larache sont beaucoup plus complexes que celles de Meknès avec un facteur moyen de virulence de 5.5 (1999) et 6.85 (2000) par isolat.

Ces données ont permis de conclure une structuration géographique au sein des populations de *P. infestans* issues de pomme de terre et que les souches rencontrées sur tomate dans la région de Larache appartiennent aux anciennes populations.

En outre, la présence simultanée des deux types sexuels dans les deux régions et parfois dans une même parcelle laisse suggérer que la reproduction sexuée pourrait survenir dans les zones de culture de pomme de terre et de tomate au Maroc, après formation d'oospores et leur germination dans des conditions naturelles.

Mots clés: Pomme de terre, mildiou, *Phytophthora infestans*, type sexuel, virulence, Maroc.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تشخيص عزلات فطر فيطو فطورا انفستانس *Phytophthora infestans* مسبب مرض البياض الزغبى على زراعة البطاطس بالمغرب من خلال دراسة البنية الوراثية للفطر والتي تهم أساسا نوعية الجنس وحدة العداوة من خلال اختبارها على مجموعة من أصناف البطاطس (عشر أصناف) التفاضلية التي تحمل كل واحدة منها مورثا كبيرا لمقاومة البياض الزغبى . ولقد تناولت الدراسة 66 عزلات من الفطر, جمعت في 20 حقل, بمقدار 1 إلى 4 عزلات من كل حقل, قد تم استخلاصها خلال سنتي 1999 و 2000 في كل من منطقة مكناس (منطقة العرائش $N 33^{\circ} 53.746, O 5^{\circ} 32.247$) بـ 34 عزلات مأخوذة من 9 حقول كلها مزروعة بالبطاطس, ومن منطقة العرائش ($N 37^{\circ} 11.697, O 8^{\circ} 831$) بـ 32 عزلات صادرة عن 10 حقول من البطاطس وحقل واحد من الطماطم .

أظهرت النتائج أن من بين 34 عزلات مستخلصة بمكناس, 24 منها تنتمي إلى الصنف الجيني A2 و 7 إلى الصنف A1 وأن 3 عزلات تمثل معا الصنفين الجينيين A1A2 أما ما يخص حدة العداوة, فتبين أن عزلات مكناس تنتسب إلى الأجناس البسيطة مع عامل متوسط للعداوة للواحدة يتراوح بين 2,85 و 5,07 (1999). كما أباينت هذه المعطيات على أن عزلات الفطر بمكناس لا تحتوي على مورثات العداوة R2 و R5 و R6 و R8.

في منطقة العرائش, من بين 32 عزلات المستخلصة, 28 منها تنتمي إلى الصنف الجيني A1 و 3 إلى الصنف A2 وواحدة إلى الصنف المشترك A1A2 وقد تم عزلها من الطماطم . و تبين أن كل العزلات تصيب جميع مورثات العداوة دون R2 و R5 و R6 وقد تميزت أصناف الفطر بكونها أكثر تعقيدا من مثيلاتها بمنطقة مكناس بعامل متوسط للعداوة يتراوح بين 5,5 و 6,85 (1999) عن كل صنف .

وقد خلصنا وفق هذه المعطيات إلى وجود تركيبة جغرافية داخل جماعة فطر فيطو فطورا انفستانس *Phytophthora infestans* , المستخلصة من زراعة البطاطس, وأن عزلات الطماطم المحصل عليها من منطقة العرائش تنتمي إلى فصيلة العزلات القديمة . ومن جهة أخرى, نعتبر أن وجود النوعين الجينيين في آن واحد في كلا المنطقتين, وأحيانا في نفس الحقل, يوحي إلى أن التوالد الجيني قد يقع في مناطق زراعتي البطاطس والطماطم بالمغرب بعد تكوين البويضات وإنباتها في ظروف طبيعية .

الكلمات المفتاحية : البطاطس , البياض الزغبى , *Phytophthora infestans* النوع الجيني , العداوة , المغرب .

Abstract

*Genetic structure of 66 isolates of Moroccan populations of *Phytophthora infestans* was analysed based on mating types and virulence spectrum on international differential potato cultivars carrying ten major resistance genes. Thirty four samples were collected from nine potato fields in Meknes (N 33° 53.746, O 5° 32.247) and 32 from ten potato and one tomato fields in Larache (N 37° 11.697, O 8° 831). One to four isolates were collected from each field. Mating type analysis showed that out of 34 isolates from Meknes 24 were A2, 7 were A1 and 3 were A1A2 mating type. All isolates from Meknes showed simple races with an average of 2.85 (1999) and 5.07 (2000) virulence factors per isolate. None possessed virulence to R2, R5, R6 or R8 genes. Among the 32 isolates collected in Larache, 28 were A1, 3 were A2 and one was A1A2 mating type, the last one was collected from tomato. Virulence was detected to all R genes tested except R2, R5 or R6. *P. infestans* races from Larache were much more complex than those from Meknes, with an average of 5.5 (1999) and 6.85 (2000) virulence factors per isolate.*

*These data indicate that *P. infestans* populations on potato are geographically differentiated in Morocco, and that the population on tomato in at least one region are more longer restricted to the single genotype.*

Further more, the simultaneous presence of both mating types in both regions, sometimes in the same field suggests that sexual reproduction might occur in the various potato and tomato cropping areas of Morocco after oospore formation and germination under natural conditions.

Key words : Potato, Population genetics, *Phytophthora infestans*, mating type, virulence, Morocco

Introduction

La pomme de terre est économiquement l'une des cultures les plus importantes au Maroc. La superficie emblavée en pomme de terre est de 50.000 à 60.000 ha par an. Elle représente 18 à 19% de la surface totale des récoltes végétales cultivées (Hanafi, 1999). En terme d'exportation, la pomme de terre est en second lieu par rapport à la tomate, elle représente le tiers de toute l'exportation végétale. La pomme de terre est cultivée tout au long de l'année, sa production n'est pas localisée dans une zone particulière, mais elle est bien adaptée à toutes les régions. Cinq variétés de pomme de terre sont cultivées typiquement au Maroc, trois sont destinées au marché local, en printemps (saison), en automne (arrière-saison) et en été (montagne). Les deux autres variétés, primeur et grenadine cultivées respectivement en hiver et en automne sont destinées à l'exportation (Hanafi, 1999). La culture est soumise à l'attaque de maladies diverses dues à des champignons, à des virus, à des bactéries et à des mycoplasmes. Parmi ces maladies, le mildiou reste la maladie la plus menaçante vu l'importance des dégâts qu'elle occasionne.

A travers le monde, le mildiou est la maladie la plus répandue dans les aires de culture de la pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*) et de tomate (*Lycopersicon esculentum Milli.*). Elle revêt une importance particulière à cause des pertes économiques significatives qu'elle occasionne. Le pathogène est un Oomycète diploïde qui a probablement évolué dans les montagnes du Mexique central (Neitherhausser, 1991 ; Fry et al., 1992). L'agent pathogène est hétérothallique avec deux types sexuels désignés A1 et A2 présents en proportions égales au Mexique (Galindo et Galligly, 1960). Jusqu'au début des années 80, seul le type sexuel A1 était présent dans les régions productrices de pomme de terre en dehors du Mexique (Hohl et Iselin, 1984; Fry et al., 1993), le centre d'origine de *Solanum*, la plante hôte, et vraisemblablement de son agent pathogène, *Phytophthora infestans* (Tooley et al., 1985; Goodwin et al., 1992; Spielman et al., 1992). Cependant, en Europe, le type sexuel A1 était présent sur les pommes de terre importées d'ailleurs (Goodwin et Fry, 1994). Puis en 1978, une deuxième migration s'est probablement produite du Mexique et a inclu les deux types sexuels A1 et A2 (Fry et al., 1993). La première apparition du type sexuel A2 en dehors du Mexique est survenue en Suisse en 1984 (Hohl et Iselin, 1984). Drenth et al. (1993), Fry et al. (1993) et Goodwin (1997) ont cité 21 pays de différentes régions du monde où A2 avait été trouvé. Dans ces populations, la reproduction sexuée peut être prévue et aurait des conséquences importantes dans le programme de lutte contre le mildiou de la pomme de terre (Spielman et al., 1991 ; Fry et al., 1993). Ces changements dans les populations du pathogène ont été signalés en Hollande (Drenth et al., 1993), en Pologne (Sujkowski et al., 1994), et en Suède (Anderson et al., 1997). En France, avant 1994, seul le type A1 était trouvé (Andrivon, 1994a). En 1996, un autre type sexuel a été détecté en Bretagne sur des tomates attaquées par le mildiou (Lebreton et al., 1998).

Des études raciales en France ont montré que les populations de *P. infestans* présentent des compositions phénotypiques et génotypiques très différentes (Lebreton et al., 1998). Parmi les isolats testés durant 1992-96, les races les plus fréquentes étaient 1.3.4.7, 1.3.4.7.11 et 1.3.4.7.10.11. La diversité raciale dans les populations françaises est faible en la comparant aux populations européennes (Lebreton et al., 1996). En Norvège et en Finlande, la race la plus commune est 1.3.4.7.10.11 (Hermansen et al., 2000). La situation est similaire en Suède (Gisi et al., 1995) et au Danemark (Gürtler, 1984). En Pologne, durant 1985-91, la race la plus commune était 1.2.3.4.7.10.11 (Sujkowski et al., 1996), alors qu'en Allemagne, c'est la race 1.3.4.7.8.10.11 qui est la plus fréquente (Schöber-Butin et al., 1995). Au Pérou, les populations de *P. infestans* étaient semblables aux anciennes populations américaines et européennes et qui étaient toutes de type sexuel A1 (Tooley et al., 1989). Durant 1990-95, Rivera-Pena (1995), a travaillé sur des solanacées sauvages et sur des pommes de terre cultivées dans le Toluca au Mexique, il a trouvé que les races 1.2.3.4.5.7.10.11 et 1.2.3.4.5.7.8.9.10.11 sont les plus fréquentes. Cette étude confirme que le Mexique centrale est le centre d'origine de *P. infestans*.

Au Maroc, les pertes de rendement sont assez difficiles à chiffrer car elles affectent à la fois la production des tubercules récoltés et leur qualité. Lors de prospections effectuées dans la région de Larache durant 1996-98, Sedegui et al. (2000) ont enregistré des pertes de rendement à plus de 60%. Durant la période d'Octobre-Avril, les attaques sont beaucoup plus graves à cause des températures basses la nuit et hautes pendant la journée, et de l'humidité prolongée à la suite des précipitations. Les conséquences sont très graves sur les cultures d'automne, hiver et printemps qui se trouvent exposées à la maladie tout au long du cycle végétatif (Sedegui et al., 2000). Ces conditions climatiques dans les zones de production rendent le mildiou difficile à contrôler. En 1996, seul le type sexuel A1 a été trouvé sur pomme de terre et sur tomate. En 1998, A2 a été détecté sur pomme de terre. Sur le total des isolats obtenus en 1998, le rapport A2/A1 a augmenté de 0:1 en 1996 à 3:1 en 1998 (Sedegui et al., 2000). Les travaux réalisés par Hammi (2003), ont confirmé l'existence des deux types sexuels dans une même parcelle.

Le pathogène ayant été observé au Maroc pendant des décennies est récemment devenu un problème important dans la plupart des zones de production de pomme de terre et de tomate (Sedegui et al., 1997). Depuis 1990, des pertes significatives ont été enregistrées au Maroc malgré l'utilisation de diverses stratégies de lutte contre la maladie et qui ont inclut l'utilisation des fongicides systémiques et de contact.

Les études réalisées auparavant ont porté sur l'identification du type sexuel et la résistance des souches de *P. infestans* au métalaxyl (Sedegui et al, 2000; Hammi et al., 2002). Par ailleurs aucun travail sur la détermination de la structure des populations de l'agent pathogène présentes sur pomme de terre n'a été réalisé. Pour contribuer à l'analyse de la situation

actuelle de cette maladie dans les conditions marocaines, la présente étude s'est fixée comme principaux objectifs :

- i) La détermination du type sexuel dans les différentes régions du pays pour prévoir la reproduction sexuée pouvant affecter la variabilité du pathogène.
- ii) La caractérisation de la virulence des populations marocaines du pathogène afin de mieux orienter les stratégies de lutte contre la maladie. Ceci implique de mesurer la diversité de ces populations et de déterminer la répartition de cette diversité entre les deux régions prospectées.

Matériel et méthodes

Collecte des isolats

Les prospections ont été effectuées au cours des campagnes 1999 et 2000 sur des cultures de pomme de terre et de tomate durant la période Octobre-Décembre où les conditions climatiques sont favorables pour le développement du mildiou. Les régions prospectées sont Meknès (N 33°53.746, W 5°32.247) et Larache (N 37°11.697, W8° 831). La majorité des échantillons sont prélevés dans des champs non traités et sur trois variétés Spunta, Désirée et Nicola largement cultivées au Maroc.

Dans tous les champs prospectés, les isolats sont pris sur des pieds de pomme de terre ou de tomate espacés de 50 à 100 m. La distance entre deux champs consécutifs est de l'ordre de 800 à 1000 m. Chaque échantillon consiste en 10-15 folioles contenant chacun une lésion. Parfois, plusieurs échantillons sont pris sur une seule plante.

Les échantillons sont ramenés au laboratoire pour l'isolement à partir des lésions sur feuilles et tiges. La technique d'isolement adoptée est la même que celle utilisée par Andrivon et al. (1994) sauf que la pimarinine, le bénomyl et la rifamicine ajoutées au milieu solide à base de petit-pois sont remplacés par 400 ppm de pimarinine et 200 ppm d'ampicilline. Après l'isolement, tous les isolats sont maintenus sur un milieu V8 à 10%.

La collection est constituée de trente deux isolats originaires de Larache et trente quatre de la région de Meknès. L'ensemble des isolats sont obtenus sur pomme de terre exceptés l'isolat 13 collecté en 1999 à Larache et l'isolat 27-3 en 2000 à Meknès issus de la tomate.

Test de virulence

Le test de virulence est réalisé sur une gamme différentielle de 10 variétés de pomme de terre portant chacune un gène majeur de résistance au mildiou (R1 à R11 excepté R9) et du cultivar Bintje sans gène de résistance. Les variétés de la gamme différentielle sont cultivées en serre durant six semaines. Les prélèvements de folioles sont réalisés à la même date pour pouvoir utiliser un matériel homogène. Les folioles détachées sont ensuite placées dans des enceintes humides contenant du papier buvard préalablement humidifié. Du coton hydrophile humidifié est

placé à l'extrémité de la nervure principale des différentes folioles pour éviter leur dessèchement (Andrivon et al. 1994).

Les 66 isolats collectés sont cultivés sur V8 gélosé, pendant 15 jours à 18°C à l'obscurité. Les sporanges sont récupérés en grattant légèrement la surface de culture après avoir ajouté 10 ml d'eau stérile. Le nombre de sporanges récupérés dans chaque suspension est déterminé par comptage à l'aide d'un hématocytomètre. Des suspensions contenant 10^4 sporanges par ml sont ensuite obtenues par dilution.

Chaque isolat est testé sur trois folioles détachées de chaque variété différentielle. Une goutte de $20\mu\text{l}$ de suspension de spores est déposée sur chaque demi foliole. Les folioles sont ensuite incubées pendant 5 jours dans une chambre de croissance à 18°C avec une alternance de 16 heures de jour et de 8 heures d'obscurité.

Un isolat est considéré comme virulent sur un cultivar donné quant au moins 4 des 6 inoculations réalisées sur les six demi-folioles ont conduit à l'apparition de lésions sporulantes. Un isolat est considéré comme avirulent sur un cultivar quand l'ensemble des 6 inoculations n'ont induit aucune lésion ou ont au plus provoqué des points nécrotiques autour de la goutte déposée.

Les races sont déterminées sur la base de réaction de la gamme différentielle (R1 à R11 sauf R9). La diversité raciale est déterminée par l'utilisation des indices de Gleason (HG) et Shannon (HS) (Groth et Roelfs, 1987; Andrivon, 1994b) définis comme suit :

$$\text{Indice de Gleason : } HG = (N_p - 1) / \ln N_i$$

$$\text{Indice de Shannon : } H_s = \sum P_j \ln P_j$$

Avec :

N_p : nombre de races identifiées

N_i : nombre d'isolats testés

P_j : fréquence des races identifiées, avec $j = 1, \dots, N_p$

La complexité de la virulence est évaluée par :

- La moyenne de facteur de virulence par isolat :

$$C_i = \sum_j (P_j V_j) \text{ avec } j = 1, \dots, N_p$$

- La moyenne de facteur de virulence par race :

$$C_p = \sum V_j \cdot N_p$$

Avec V_j étant le nombre de gène de virulence par race

Détermination du type sexuel

Tous les isolats sont testés pour la détermination du type sexuel. Ils ont été confrontés à deux isolats de référence, A1 et A2. Ensuite, ils sont incubés pendant 5 jours à l'obscurité et à 18°C. La confrontation est évaluée par la production d'oospores dans la zone de confrontation à la suite de la reproduction sexuée. L'isolat ayant produit des oospores avec l'isolat de référence est considéré comme l'opposé de celui-ci. L'isolat produisant des oospores avec les deux isolats de référence, est noté A1A2.

Résultats et discussion

Collecte des isolats

A la suite des prospections effectuées durant les campagnes 1999 et 2000 dans les régions Meknès et Larache, soixante six isolats de *P.infestans* ont été collectés des champs de pomme de terre (Spunta, Désirée et Nicola) et de tomate. En 1999, 13 isolats originaires de Meknès et 10 de Larache sont collectés sur pomme de terre. En l'année 2000, parmi les 41 isolats recueillis, 20 proviennent de Meknès et 21 de Larache. Sur tomate, deux isolats sont collectés, il s'agit de l'isolat 13 collecté en 1999 à Larache et l'isolat 27-3 obtenu à Meknès en 2000 (Tableau 1).

Tableau 1: Isolats de *P.infestans* collectés sur pomme de terre et tomate durant les campagnes 1999 et 2000 à Meknès et Larache.

Région	Année	Hôte	Isolat
Meknès	1999	Pomme de terre	1 ; 2-1 ; 2-2 ; 3 ; 4 ; 5-1 ; 5-2 ; 7-1 ; 7-2 ; 8 ; 9-1 ; 9-2 ; 9-3.
	2000	Pomme de terre	18-1 ; 18-2 ; 19-2 ; 19-4 ; 20-3 ; 20-5 ; 20-6 ; 21-1 ; 21-2 ; 22-1 ; 22-3 ; 22-4 ; 23-1 ; 23-2 ; 23-3 ; 23-5 ; 25-2 ; 25-3 ; 33-1 ; 33-2.
		Tomate	27-3
Larache	1999	Pomme de terre	11-1 ; 11-2 ; 11-3 ; 11-4 ; 15-1 ; 15-2 ; 15-3 ; 16-1 ; 17-1 ; 17-2.
		Tomate	13
	2000	Pomme de terre	35-1 ; 35-6 ; 35-7 ; 36-1 ; 36-2 ; 36-7 ; 36-9 ; 36-11 ; 37-1 ; 37-3 ; 37-5 ; 38-4 ; 39-1 ; 39-5 ; 39-7 ; 40-1 ; 40-2 ; 40-5 ; 40-8 ; 41-4.

Test de virulence

Le test de virulence a été effectué sur les 66 isolats collectés durant 1999 et 2000 à Meknès et Larache. A l'exception de la virulence pour le gène de résistance R9, qui n'a pas été testée, tous les gènes connus de virulence ont été trouvés dans les isolats testés (Tableau 2). La plupart des isolats (75%) ont pu surmonter la résistance d'au moins trois gènes.

Tableau 2 : Caractérisation du type sexuel et de la virulence des isolats de *Phytophthora infestans* collectés en 1999 et 2000 à Meknès et à Larache.

Région	Type sexuel	Isolats collectés en 1999		Isolats collectés en 2000	
		N° Isolat	Virulence	N° Isolat	Virulence
Meknès	A1			23-2	1.4
				22-4	1.7
				22-3	1.4.10
		9-3	1.4.10.11	20-6	1.4.10.11
				23-5	3.4.7.10.11
				33-1	1.3.4.7.10.11
	A2			25-3	-
		5-1	1	20-5	4
		2-1	4.7	18-2, 22-1	1.4
		7-1	4.11	18-1	1.3.4
		4	4.7.10	19-4	1.4.7
		7-2,9-1	1.4.10	21-1	1.4.10
		5-2,8	4.7.11	23-3	1.3.4.7
		3	4.7.10.11	20-3, 21-2	1.4.7.11
		1	1.4.7.10.11	19-2, 23-1, 25-2	1.4.7.10.11
				27-3	1.3.4.10.11
	A1A2			33-2	-
		2-2	4.11		
	9-2	4.10			
Larache	A1	17-1	4.7	37-5	4.7.11
		15-1	3.4.7	36-2	1.3.4.7
		15-3	1.3.4.7	40-2	1.3.7.10
		11-1	1.3.4.7.11	37-3	1.4.10.11
		11-2,11-4	1.3.4.7.10.11	39-5	1.4.7.11
		16-1	1.3.4.7.8.1 1	35-7, 36-11, 41-4	1.4.7.10.11
		11-3,15-2, 16-2,17-1	1.3.4.7.8.1 0.11	38-4	1.3.4.7.10
				40-1	1.3.4.7.11
	A2			36-9, 40-8	1.3.4.7.10.11
				35-6, 35-7	-
				37.1	1.3.7
				35-1, 36-1	1.3.4.7.10.11
	A1A2	13	1.3.4.7.10.11	39-1 ; 39-7	1.4.7
				40-5	1.3.4

En 1999, toutes les races identifiées parmi les 13 isolats de Meknès étaient simples avec une moyenne de facteur de virulence par isolat de 2.84 (Tableau 3). Aucun gène ne possède de virulence pour R2, R3, R5, R6 ou R8. Réciproquement, les races trouvées à Larache étaient beaucoup plus complexes avec une moyenne de facteur de virulence par isolat de 5.5 (Tableau 3). L'isolat 16-1 possédant la virulence 1.3.4.7.8.11 et les isolats 11-3, 15-2, 16-2, et 17-1 ayant la virulence 1.3.4.7.8.10.11 ont surmonté la résistance au gène R8 (Tableau 3).

En l'année 2000, les 21 isolats collectés à Meknès et testés sur les 11 génotypes de la gamme différentielle, ont révélé la présence de 14 pathotypes de *P. infestans*. Alors que 12 races ont été identifiées parmi les 20 isolats collectés au voisinage de Larache (Tableau 3). Dans les deux régions prospectées, les races les plus communes étaient 1.4.7.10.11 et 1.3.4.7.10.11. Parmi les 41 isolats testés en 2000, tous sites confondus, aucun ne possède de virulence aux gènes R2, R5, R6 ou R8.

Aucune structuration géographique n'a été observée dans les races de Meknès et Larache. Par contre, de grandes variations dans la diversité raciale et la complexité de la virulence étaient observées au sein des populations des deux sites d'une année à l'autre. A Meknès, la diversité et la complexité étaient grandes en 2000 ($H_s = 2.24$ et $C_i = 5.07$) et basses en 1999 ($H_s = 1.75$ et $C_i = 2.84$). Au Nord Ouest du Maroc, la diversité normalisée de Shannon était 2.85 en 2000 et 1.73 en 1999. La complexité était basse en 1999 ($C_i = 5.5$) et plus élevée en 2000 ($C_i = 6.8$) (Tableau 3).

Tableau 3 : Indices et facteurs de virulence utilisés pour mesurer la diversité des populations de *P. infestans* durant 1999 et 2000 dans les régions de Meknès et Larache.

		Ni	Np	H _G	H _s	C _i	C _p
Meknès	1999	13	10	3.51	1.75	2.84	2.9
	2000	21	14	4.27	2.24	5.07	3.5
Larache	1999	12	7	2.41	1.73	5.5	4.71
	2000	20	12	3.6	2.85	6.8	4.08

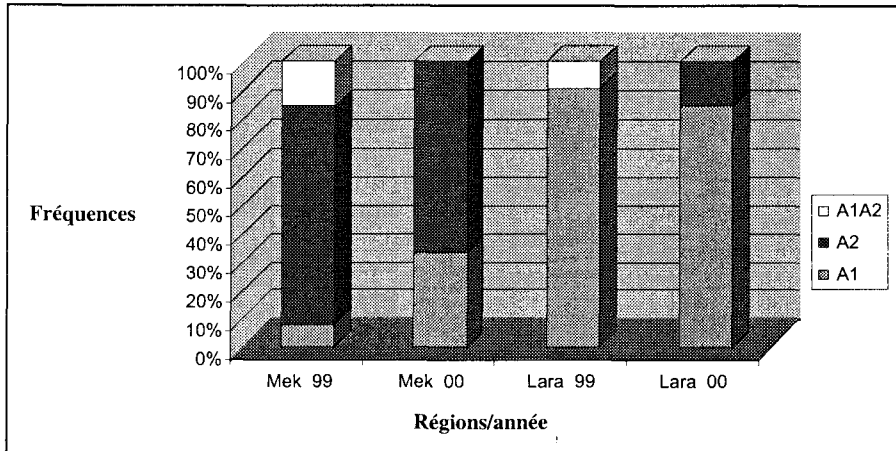
Ni : nombre d'isolats testés, Np : nombre de races identifiées, H_G : indice de Gleason, H_s : indice de Shannon, C_i : moyenne de facteur de virulence par isolat et C_p : moyenne de facteur de virulence par race.

Détermination du type sexuel

Les trois types sexuels A1, A2, A1A2 ont été trouvés à l'issue des tests de confrontation effectués sur les 66 isolats collectés à Larache et à Meknès.

Parmi les 13 isolats identifiés à Meknès en 1999, 76.92% étaient du type A2, 7.69% étaient du type A1 et 15.4% étaient interfertiles (A1A2). Sur les 12 isolats testés à Larache durant la même année, seuls les types A1 et A1A2 étaient observés respectivement avec les fréquences 91.66% et 8.3% (Fig.1) et aucun type A2 n'a été détecté.

Durant l'année 2000, seuls les types A1 et A2 étaient présents. Il y avait des différences considérables entre les deux régions dans les fréquences des deux types sexuels rencontrés. La fréquence de A2 était plus élevée à Meknès (66.6%) et basse à Larache (15%) alors que celle de A1 était élevée à Larache (85%) et plus faible à Meknès (33.3%) (Fig. 1).

Fig. 1. Fréquences des types sexuels de *phytophthora infestans*

Discussion

Des différences locales importantes des fréquences phénotypiques et génotypiques ont été notées à l'intérieur de chacune des deux régions de production. Les différences ont été observées aussi bien entre les deux sites au cours d'une même année que dans un même site d'une année à l'autre. Des situations similaires ont été rencontrées dans d'autres régions du Maroc : Saïs et Moyen Atlas (Hammi et al., 2002) et dans d'autres parties du monde, comme la Hollande (Drenth et al., 1993), le Nord Ouest du Mexique (Goodwin et al., 1992) et la France (Lebreton et al., 1998).

Ces observations s'associent à l'étude des fréquences raciales et impliquent que les populations marocaines de *P. infestans* sont probablement soumises à une forte sélection pour la détermination de génotypes en début d'épidémie. Comme *P. infestans* est doté d'une faible capacité saprophytique (Andriveau 1995), ces variations pourraient s'expliquer par un fort taux d'extinction locale en fin de saison et par la mise en place de nouvelles populations obtenues soit par la reproduction sexuée soit par la migration locale (Lebreton et al., 1998).

La présence simultanée des deux types sexuels A1 et A2 dans les deux régions de production lors de la première année d'expérimentation montre *P. infestans* peut se reproduire sexuellement. Cette reproduction peut avoir deux impacts majeurs, d'une part la production d'oospores permettant à l'agent pathogène de survivre dans le sol durant plusieurs mois voire plusieurs années, d'autre part l'augmentation de la diversité génétique suite à cette reproduction sexuée induisant l'apparition de nouvelles populations remplaçant les plus anciennes constituées d'un seul type sexuel.

La structure des populations rencontrées au Maroc sont très proches de celles présentes dans la vallée de la Toluca au Mexique, centre d'origine de la maladie (Rivera Pena, 1995). Il semble donc que la reproduction sexuée joue un rôle important dans l'évolution des populations de *P. infestans* présentes sur la culture de pomme de terre au Maroc.

Références Bibliographiques

- Anderson B., Sandström M., Strömberg A. (1997). Sexual reproduction of *Phytophthora infestans* on potato in Sweden. In : Shepers H, Bouma E, eds. Second workshop of the European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Carlow, Ireland, 24-27.09.1996, 92-96.
- Andrivon D., Béasse C., Laurent C. (1994). Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* collected in northwestern France from 1988 to 1992. *Plant pathol.* 43 : 471-478.
- Andrivon D. (1994a). Races of *Phytophthora infestans* in France, 1991-1993. *Potato Res.* 37 : 261-268.
- Andrivon D. (1994b). Race structure and dynamics in populations of *Phytophthora infestans*. *Can.J.Bot.* 72 : 1681-1687.
- Drenth A., Turkensteen L.J., Govers F. (1993). The occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* in the Netherlands ; significans and consequences. *Neth.J.Plant Pathol.* 99, suppl.3 : 57-67
- Fry W.E., Goodwin S.B., Matusak J.M., Spielman L.J., Milgroom M.G., Drenth A. (1992). Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. *Annu.Rev.Phytopathol.* 30 : 107-729.
- Fry W.E., Goodwin S.B., Dyer A.T., Matusak J.M., Drenth, A., Tooley P.W., Sujkowski L.S., Koh Y.J., Cohen B.A., Spielman L.J., Deahl K.L., Inglis D.A., Sandlan K.P. (1993). Historical and recent migration of *Phytophthora infestans* : chronology, pathways, and implications. *Plant dis.* 77 : 653- 661.
- Galindo J., Gallegly M.E. (1960). The nature of sexuality in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 50 : 123-128.
- Gisi U., Iten F., Ohl L. (1995). Changes in sensitivity to fungicides and epidemiological behaviour of *Phytophthora infestans* field isolates. In : Dowley LJ, Bannon E, Cooke LR, Keane T., O'Sullivan E., eds, *Phytophthora infestans* 150. Dublin, Ireland : Boole Press Ltd, 142-147.
- Goodwin S.B. (1997). The population genetics of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 87 : 462-473.
- Goodwin S.B., Fry W.E. (1994). Genetics analyses of interspecific hybrids between *Phytophthora infestans* and *Phytophthora mirabilis*. *Exp.Mycol.* 18 : 20-32.
- Goodwin S.B., Spielman L.J., Matusak J.M., Bergeron S.N. and Fry W.E. (1992). Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in Northern and central Mexico. *Phytopathology* 82 : 955-961.
- Groth J.V., Roelfs A.P. (1987). The concept and measurement of phenotypic diversity in *Puccinia graminis* on wheat. *Phytopathology* 77 : 1395-1399.
- Gürtler H. (1984). Physiological races of *Phytophthora infestans* in Denmark and low temperature storage of isolates. *Potato research* 27: 25-31.
- Hammi A. (2003): Caractérisation des populations de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary dans la région de Saïs et Moyen Atlas. Thèse de Doctorat, Université Sidi Mohammed Ibn Abdallah, Fac. Des Sciences Dhar El Mehraz, 287p.
- Hammi A., Msatef Y, Bennani A., El Ismaili A ; et Serrhini M.N (2002) : Mating type, metaxyl resistance and aggressiveness of *Phytophthora infestans* in morocco. *Journal of Phytopathology*, volume 150 Issue 4-5, pages :289-291.

- Hanafi A. (1999). Potato production in Morocco. Article of the month in : Potato news (www.potato.congress.org).
- Hermansen A., Hannukkala A., Hafskjold Naerstad R., Brurberg M.B. (2000). Variation in population of *Phytophthora infestans* in Finland and Norway : mating type, metalaxyl resistance and virulence phenotype. *Plant Pathology* 49: 11-22.
- Hohl H. R., Iselin K. (1984). Strains of *Phytophthora infestans* with the A2 mating types behaviour. *Trans.Br.Mycol. Soc.* 83 : 529-531.
- Lebreton L., Laurent C., Andrivon D. (1998). Evolution of *Phytophthora infestans* Switzerland's populations in the two most important potato production areas of France during 1992-1996. *Plant Pathol.* 47 : 427-439.
- Neitherhauser J.S. (1991). *Phytophthora infestans* : The Mexican connection. In : Lucas J.A., Shattock, R.C., Shaw D.S., Cooke L.R., eds. *Phytophthora*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 25-45.
- Rivera-Pena A. (1995). Racial composition in a population of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in the Toluca valley and slopes of the volcano Nevado de Toluca over the period 1989-94. *Proceedings of joint conference, Potato section, In CIP* : 116-121.
- Schöber-Butin B., Knapova G., Knepfelberg I., Niepold F. (1995). *Phytophthora infestans* in Germany : population dynamics. In : Dowley L.J., Bannon E., Cooke L.R., Keane T., O'Sullivan E., eds. *Phytophthora infestans* 150. Dublin, Ireland: Boole Press Ltd, 96-101.
- Sedegui M., Carroll R.B., Morehart A.L., Lakhdar R., Arifi A. (1997). First report from Morocco of *Phytophthora infestans* isolates with metalaxyl resistance. *Plant Dis.* 81 : 831.
- Sedegui M., Carroll R.B., Morehart A.L., Evans T.A., Kim S.H., Lakhdar R., Arifi A. (2000). Genetic structure of the *Phytophthora infestans* population in Morocco. *Plant Dis.* 84 : 173-176.
- Spielman L.J., McMaster B. J., Fry W.E. (1992). Relationships among measurements of fitness and disease severity in *Phytophthora infestans*. *Plant Pathol.* 41 : 317-324.
- Spielman L. J., Drenth A., Davidse L.C., Sujkowski L.S., Gu W., Tooley P.W., Fry W.E. (1991). A second world-wide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*. *Plant pathol.* 40 : 422-430.
- Sujkowski L.S., Goodwin S.B., Dyer A.T., Fry W.E. (1994). Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophthora infestans*. In *Poland. Phytopathology* 84 : 201-207.
- Sujkowski L.S., Goodwin S.B., Fry W.E. (1996). Changes in specific virulence in Polish populations of *Phytophthora infestans* : 1985-91. *European Journal of Plant Pathology* 84, 201-207.
- Tooley P.W., Fry W.E., Villareal-Gonzales M.J. (1985). Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* populations. *Journal of Heredity* 76 : 431-435.
- Tooley P.W., Therrien C.D., Rich D.L. (1989). Mating type, race composition, nuclear DNA content, and isozyme analysis of Peruvian isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 79: 478-481.