

Distribution of mating types in *Zymoseptoria tritici* populations collected from bread wheat at El Haouaria region

Distribution des types sexuels dans une population de *Zymoseptoria tritici* collectée du blé tendre dans la région d'El Haouaria

R. BELHADJ CHEDLI^{1,4*}, L. AOUNI², S. BEN M'BAREK^{3,4}, A. YAHYAOUT^{4,5}, S. REZGUT¹, H. CHAABENE¹

¹ National Agronomic Institute of Tunisia (INAT), 43 Avenue Charles Nicolle, 1002 Tunis, Tunisia.

² Department of Agronomy, Purdue University, 915 West State Street, West Lafayette, IN 47907

³ Regional Field Crops Research Center of Beja (CRRGC) BP 350, 9000 Beja, Tunisia.

⁴ CRP Wheat Septoria Phenotyping Platform, Tunisia.

⁵ Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), km 45 Carretera México-Veracruz El Batán, Texcoco.

*Corresponding author: rimbeldhadjchedli@gmail.com

Abstract – Bread wheat is one of the most important cereal crop in Tunisia, nonetheless production is highly affected by drought and diseases mainly Septoria tritici blotch (STB) caused by the fungus *Zymoseptoria tritici*. The main objective of this study is to assess the mating types distribution of 103 bread-wheat-derived *Z. tritici* isolates collected during 2015-2016 cropping season from El Haouaria region where STB occurs annually on a bread wheat landrace that is called by farmers 'Farina Arbi'. For this study, a multiplex PCR was conducted using two pairs of mating type-specific primers for MAT1-1 and MAT1-2. The results showed that on average both mating types occurred with an equal frequency of MAT1-1 and MAT1-2 (44.7% and 55.3% respectively), except for one field where the MAT1-2 was predominant with 74%, which could be certainly related to the reduced population size in this field. Overall, the equal mating type distribution observed at El Haouaria region suggests a frequent sexual reproduction of bread-wheat derived *Z. tritici* isolates in Tunisia.

Keywords: Farina Arbi, Septoria, sexual reproduction

Résumé - Le blé tendre est l'une des céréales les plus importantes en Tunisie. Sa production reste hautement affectée par la sécheresse et les maladies fongiques notamment la septoriose, causée par le champignon *Zymoseptoria tritici* qui attaque principalement le blé dur. L'objectif majeur de cette étude est la détermination de la distribution des deux mating types (MAT1-1 and MAT1-2) d'une population de 103 isolats de *Z. tritici* collectés à partir du blé tendre ancien 'Farina Arbi' au niveau de quatre champs, dans la région d'El Haouaria là où une grande incidence de septoriose a été notée durant la saison agricole 2015-2016. Une PCR multiplexe utilisant deux paires d'amorces spécifiques MAT 1-1 et MAT1-2 a été effectuée. Les résultats de cette étude ont montré une distribution égale des deux types sexuels (44.7% vs 55.3%). Cependant, une prédominance du MAT1-2 avec 74% a été notée au sein d'un seul champ, ce qui pourrait s'expliquer par la taille réduite de la population de *Z. tritici* dans ce champ. D'une façon générale, la distribution équilibrée des deux types sexuels observée dans la région d'El Haouaria suggère une reproduction sexuée fréquente des isolats de blé tendre en Tunisie.

Mots clés : Farina Arbi, Septoriose, reproduction sexuée

1. Introduction

Vers la fin du XIX^{ème} siècle, la culture du blé tendre (*Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*) en Tunisie existait sous forme de mélange dans les champs avec l'orge (*Hordeum vulgare*), le blé dur cultivé (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.)), et d'autres espèces reconnaissables par la forme, la couleur et la taille des épis, et aussi par les barbes et les grains (Gharbi et al., 2013). A cette époque, les agriculteurs ne connaissaient même pas les noms vernaculaires aidant à la distinction de différents



cultivars de blé tendre et de blé dur, et n'utilisaient ainsi que la dénomination générale 'Farina' et 'Gameh' pour les deux espèces respectivement. Ce n'est que depuis la colonisation française que la culture du blé tendre a commencé à prendre de la place dans l'agriculture Tunisienne (Ammar et al., 2011 ; El Falleh et al., 2014).

Au début des années 1930-1940, un développement rapide et relativement considérable des emblavures de blé tendre a eu lieu grâce à l'introduction de la variété Florence Aurore. Dotée d'un bon rendement, d'une excellente adaptabilité à la sécheresse dans les zones semi-arides et d'une bonne résistance aux différentes maladies (Septoria, Oïdium, Rouille...), cette dernière a pris, progressivement de l'importance dans tous les pays du bassin méditerranéen jusqu'à l'introduction du blé semi-nain vers la fin des années 1960 par CIMMYT (Saade, 1996). Malgré leur performance en termes de qualité, ces variétés et beaucoup d'autres introduites après, ont été disparu très vite à cause de leurs susceptibilités à plusieurs maladies telles que la rouille et la septoriose. Jusqu'à ce jour, la sole nationale est prédominée par les variétés de blé tendre, Salambo (1980), Utique (1996), Haidra (2004) et plus récemment Tahent (2009). En effet, toutes ces variétés ont été sélectionnées pour leur bon rendement et leur résistance aux maladies à savoir la rouille jaune, rouille brune et la septoriose (Ammar et al., 2011 ; Gharbi et al., 2013 ; Ben Hamouda et al., 2016).

Etant donné leur contribution dans la production en grain du blé, l'introduction des variétés semi-naines a augmenté considérablement les attaques des pathogènes notamment la septoriose (Gharbi et al., 2013). En effet la progression verticale de la maladie à partir des feuilles basales là où l'infection commence vers la feuille drapeau est devenue très rapide avec les nouveaux cultivars grâce à la hauteur réduite de la plante (Ben Mohamed et al., 2000). Dans le cas de *Zymoseptoria tritici*, l'agent causal de la Septoriose du blé, la reproduction sexuée est possible uniquement lorsque les deux idiomorphes sont présents au même niveau et à la même localité géographique et celle-ci ne sera initiée que par la rencontre et la fusion de ces deux gamètes qui sont génétiquement compatibles (Zhan et al., 2002). L'identification, le clonage et le séquençage des idiomorphes de *Z. tritici* ont été réalisés à partir des deux isolats de référence IPO323 et IPO94269 (Waalwijk et al., 2002). Ces idiomorphes, lors du stade sexué de *Z. tritici*, donnent naissance aux pseudothèces qui sont produits sous certaines conditions durant l'année (Hunter et al., 1999). Toutefois, la distribution géographique des types sexuels paraît fortement liée à l'évolution et la biologie des populations des champignons hétérothalliques (McDonald et Mundt, 2016).

En Tunisie, cette maladie s'est intensifiée dans les zones humides de Bizerte et Béja engendrant des pertes des rendements dépassant 60% chez les variétés de blé dur sensibles comme 'Karim' (Gharbi et al., 2008). La sévérité d'attaque par *Z. tritici* dans les champs de blé dur est influencée par la sensibilité élevée des variétés améliorées 'Maali', 'Khiar' et 'Razzek'. Cependant, la variété Salim reconnue comme résistante à la rouille brune est considérée également comme la plus résistante à *Z. tritici* en Tunisie ((Ben Mohamed et al., 2000 ; Gharbi et al., 2013).

Toutefois, des études antérieures ont mentionné que la plus grande incidence de ce pathogène a été observée sur le blé dur que sur le blé tendre (Djerbi et Ghodhbane, 1975). Cette hypothèse a été aussi supportée par Gharbi et al. (2000), qui ont signalé que le blé tendre en Tunisie a montré depuis toujours un haut niveau de résistance à ce pathogène. C'est pour cette raison que seuls les travaux s'intéressant à l'équilibre gamétique, la diversité génétique, les gènes de résistance et l'importance de *Z. tritici* en Tunisie n'ont été effectués que sur le blé dur (Boukef et al., 2012 ; Ferjaoui et al., 2015 ; Aouini, 2018). Bien que la septoriose fût observée sur le blé dur annuellement, une incidence surprenante a été signalée ces dernières années, particulièrement dans la région d'El Haouaria chez une ancienne variété appelée par les agriculteurs de cette région : 'Farina Arbi' (Bel Hadj Chedli et al., 2018). Les objectifs majeurs de ce travail sont : (i) d'étudier la distribution des types sexuels (MAT1-1 et MAT 1-2) et d'évaluer le potentiel de la reproduction sexuée de *Z. tritici* à partir d'une collection de 103 isolats obtenue à partir de la variété de blé tendre 'Farina Arbi' durant la saison agricole 2015-2016, (ii) réévaluer l'importance relative de cette maladie en Tunisie.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Echantillonnage

Des feuilles de blé tendre infectées par *Zymoseptoria tritici* ont été échantillonnées pendant la saison agricole 2015/2016. Tous les échantillons ont été collectés à partir des champs de blé tendre 'Farina Arbi' infectés naturellement dans la région de El Haouari vers la fin de la saison de croissance (GS 70 selon l'échelle Zadok (Zadoks et al., (1974)). L'échantillonnage a été réalisé selon la méthode

hiérarchique décrite par McDonald et al. (1999) (Figure 1). Après réception au laboratoire, des procédures du stockage des feuilles et d'isolement ont été adoptées.

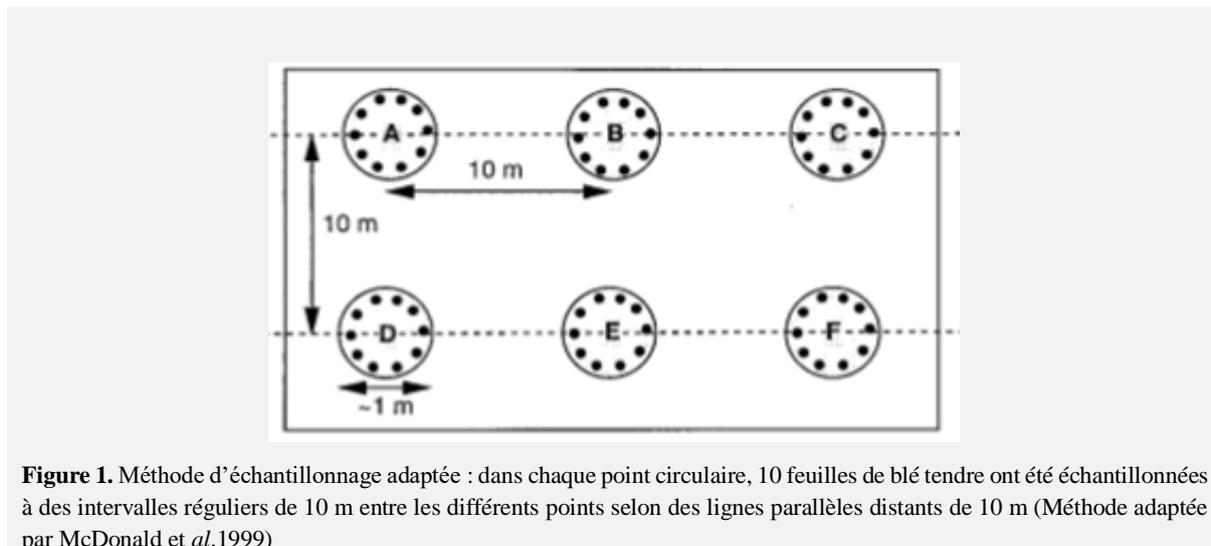


Figure 1. Méthode d'échantillonnage adaptée : dans chaque point circulaire, 10 feuilles de blé tendre ont été échantillonnées à des intervalles réguliers de 10 m entre les différents points selon des lignes parallèles distants de 10 m (Méthode adaptée par McDonald et al. 1999)

2.2. Préparation des isolats et multiplication sporale

Cette étape a consisté à préparer au total 103 souches mono-pycnidiales conformément à la méthode adaptée par Siah et al. (2010). En effet il s'agit d'incuber, des feuilles fraîches de blé tendre présentant des pycnides, une nuit dans une boîte de Pétri préalablement stérilisée contenant du papier filtre imbibé d'eau. L'environnement humide à l'intérieur de la boîte a permis la libération des cirrhes contenant des spores qui ont été récupéré sur milieu PDA. Ainsi, la masse fongique obtenue a été déposée sur milieu liquide pour la multiplication sporale puis récoltée dans des tubes Eppendorf et stockée au (-80) pour servir par la suite à l'extraction d'ADN. Les détails du nombre d'isolats et leurs origines sont décrits dans le tableau 1.

Tableau 1. Collection de *Z. tritici* utilisées dans cette étude : site, variété, hôte et nombre d'isolats.

Région	Site	Variété	Hôte	Latitude (intervalle)	Longitude (intervalle)	Nombre de champs	Nombre d'isolats
Cap Bon	Haouaria	Farina Arbi	Blé tendre	36.84-36.94	10.93-11.02	4	103

2.3. Extraction d'ADN

La première étape d'extraction a consisté à lyophiliser les échantillons qui ont été broyée par la suite moyennant un Tissue Lyser II (Qiagen cat.no. 85300) jusqu'à l'obtention d'une poudre qui a servi à l'extraction de l'ADN en utilisant le kit d'extraction 'Sbeadex® mini plant kit (LGC genomics) sur un système KingFisher KF96 conformément aux instructions du fabricant. La qualité d'ADN a été par la suite vérifiée sur gel d'agarose (1%).

2.4. Détermination des types sexuels

Les deux idiomorphes (MAT1-1 et MAT1-2) ont été déterminés avec une PCR multiplexe en combinant les couples d'amorces spécifiques à chaque type sexuel (Waalwijk et al., 2002) (Tableau 2). Dans cette étude, deux isolats de référence à savoir IPO95052 (660 bp, MAT1-2) et IPO323 (340 bp, MAT1-1), ont été utilisés comme témoin. Les produits PCR obtenus sont séparés par une électrophorèse sur gel d'agarose (1% agarose, 0,5X TBE) à 100V pendant 45min. Le gel d'agarose est ensuite coloré avec du bromure d'éthidium et visualisé sous lumière UV.

Tableau 2. Couple d'amorces spécifiques à chaque type sexuel

Mating Type	Primer 5'to 3'	longueur
Mat 1-1F	CCGCTTTCTGGCTTCTTCGCACTG	660 bp
Mat 1-1R	TGGACACCATGGTGAGAGAACCT	
Mat 1-2F	GGCGCCTCCGAAGCAACT	340 bp
Mat 1-2R	GATGCGGTTCTGGACTGGAG	

2.5. Analyse des données

Le potentiel de la reproduction sexuée a été évalué en utilisant le test Chi-deux (χ^2). En considérant le scénario des cycles réguliers d'une reproduction sexuée, une distribution égale (ratio 1:1) des idiomorphes à l'intérieur de chaque population est attendue.

Le Chi-deux a été calculé comme décrit ci-dessous et comparé avec la probabilité P dans le tableau de χ^2 à un degré de liberté. $\chi^2 = \sum (O-E)^2/E$

Avec, O : la fréquence observée

E : la fréquence attendue

Σ : somme pour les deux types sexuels

3. Résultats et Discussion

Différentes régions céréalières dans le Nord du pays considéré comme des foyers chauds (hot-spot) de septoriose ont été prospectées durant la saison agricole 2015-2016 afin d'étudier la distribution géographique de la septoriose chez le blé tendre (*Triticum aestivum*), le blé dur (*Triticum durum*) et le triticale (*Triticum secalis*) (Bel Hadj chedli et al., 2018). En effet, une incidence surprenante de *Z. tritici* a été observée exclusivement dans la région d'El Haouaria chez une variété ancienne de blé tendre. Désignée par 'Farina Arbi', cette variété sert à la fabrication des biscuits traditionnels de cette région et plus particulièrement le 'Kaak Arbi'.

Les résultats de cette étude ont montré que 46 isolats ont été amplifiés à 340 pb avec MAT1-1 et 57 isolats ont été amplifiés à 660 bp avec MAT1-2 avec des fréquences de 44,66 et 55,33 % respectivement (Figure 2). La détermination des types hétérothalliques (Mating type) a été bien documenté dans la littérature et l'existence des deux types (MAT1-1 et MAT1-2) sur le blé a été prouvée dans plusieurs études (Zhan et al., 2002 ; Siah et al., 2010 ; Ayad et al., 2013 ; Alioui et al., 2014 ; Harrat et Bouznad, 2018). Dans le cas de cette étude, les résultats du test Chi-deux (χ^2) appliqué pour tester l'hypothèse nulle (ratio 1 :1) pour une population se produisant au hasard a révélé une différence non significative entre les fréquences des deux idiomorphes dans toute la population d'une façon générale dans les champs 1, 2 et 4 particulièrement (Tableau 3).

Tableau 3. Fréquences des idiomorphes et test Chi-deux types sexuels MAT1-1 et MAT1-2 de *Zymoseptoria tritici* dans la région d'El Haouaria

Région	Parcelle	Nombre d'isolats	MAT1-1	MAT1-2	χ^2
El Haouaria	1	29	14 (48,27%)	15 (51,72%)	0.03
	2	31	18 (58,06%)	13 (41,93%)	0.80
	3	23	6 (26,08%)	17 (73,91%)	5.26
	4	20	8 (40%)	12 (60%)	0.8
Total		103	46 (44,66%)	57 (55,33%)	1.17

Ces résultats sont en accord avec ceux identifiés par Siah et al. (2010), El Chartouni et al. (2012) et Morais et al. (2017), suggérant ainsi l'existence d'un cycle régulier de la forme sexuée de *Z. tritici* en conditions naturelles. Des fréquences approximativement égales des idiomorphes soulignent le rôle important des ascospores impliqués dans l'initiation de la maladie et le maintien de l'épidémie dans cette région (Abrindaba et al., 2010 ; Meamiche et al., 2017).

Contrairement, un déséquilibre gamétique a été observé dans le champ 3, avec un ratio déviant signification du 1 :1 à ($P \leq 0.05$) entre les deux idiomorphes avec une prédominance du MAT 1-2. Des études similaires ont signalé la présence des fréquences inégales des types sexuels à partir de plusieurs populations de *Z. tritici* de différentes origines : Iran (Saidi et al., 2012) ; California et Kansas (Gurung et al., 2011) ; France (Morais et al., 2017). A partir d'une population syrienne de *Z. tritici*, Waalwijk et al. (2002) ont signalé des fréquences inégales des deux types sexuels avec une dominance du MAT 1-1, conséquente de la taille réduite de la population et de l'échantillonnage répété des clones. Certains

chercheurs ont attribué ce déséquilibre à l'effet de la sélection ou la dérive génétique qui favorise certains génotypes tout en augmentant la fréquence générant un déséquilibre jusqu'à ce que la reproduction sexuée aura le temps d'atteindre un équilibre (McDonald et Linde, 2002 ; Boukef, 2012 ; Abrindabaet al., 2010). Cette étude constitue une première approche dans la caractérisation moléculaire des isolats de *Z. tritici* collectés à partir du blé tendre en Tunisie. Ainsi, l'étude de l'équilibre gamétique identifié dans les trois champs ne pourra que confirmer le déroulement de la phase sexuée dans la région d'El Haouaria pour assurer un inoculum primaire dans le déclenchement des épidémies. La forme sexuée des isolats de blé tendre pourrait être ultérieurement confirmée par la présence des pseudothèces au niveau des champs. Par ailleurs, une étude de la diversité génétique à l'aide de marqueurs microsatellites permettra d'approfondir les connaissances sur la structure des populations de *Z. tritici* en Tunisie et améliorera significativement nos connaissances sur l'impact de la reproduction sexuée sur l'évolution de ce pathogène en Tunisie.

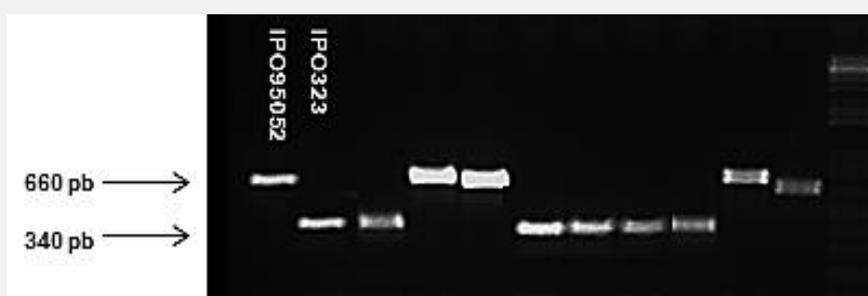


Figure 2. PCR Multiplex pour Mat1-1 et Mat1-2 pour quelques isolats de *Z. tritici* chez le blé tendre de la région d'El Haouaria (champs 1) avec les deux isolats de références : IPO95052 (660 bp, Mat1-2) et IPO323 (340 bp, Mat1-1).

3. Conclusion

L'identification des proportions égales des deux idiomorphes au sein des mêmes champs dans la région du Cap Bon suggère que la forme téléomorphe se reproduit dans les champs de blé tendre et même dans un espace réduit (même champs). D'autres travaux sont nécessaires pour consolider les résultats trouvés dans cette investigation. En effet, l'identification du cycle sexué, sa fréquence tout au long du cycle de la plante et l'étude de la diversité génétique de *Z. tritici* chez le blé tendre en Tunisie restent à déterminer.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement toute l'équipe de "CRP Wheat Septoria Precision Phenotyping Platform, Tunisia" pour leur contribution dans ce travail. Egalement nos remerciements s'adressent à l'équipe du Pr. Kema du laboratoire de Phytopathologie à l'Université de Wageningen (Pays-Bas) pour leur collaboration.

4. Références

- Abrinbana M, Mozafari J, Shams-Bakhsh M, Mehrabi R (2010)** Genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* populations in Iran. *Plant Pathology* 59:829-838. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2010.02309.
- Ammar K, Gharbi MS, Deghais M (2011)** Wheat in Tunisia. In: *The World Wheat Book: A History of Wheat Breeding*. Lavoisier, 2 pp: 443-463.
- Allioui N, Siahb A, BrinisaL, Reignault P, et Halama P (2014)** Mating type distribution provides evidence for sexual reproduction of *Mycosphaerella graminicola* in Algeria. *Canadian Journal of Plant Pathology* 36(4): 475-481. DOI: 10.1080/07060661.2014.964777
- Aouini L (2018)** Durum wheat and septoria tritici blotch : gene and prospects for breeding. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, Netherlands: 1-225.
- Ayad D, Sayoud R, Benbelkacem K, Bouznad Z (2013)** La tache septorienne du blé: Première signalisation de la présence en Algérie des deux Mating types du téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter, (anamorphe : *Septoriatritici* Rob. ex Desm.) et diversité phénotypique de l'agent pathogène. *Nature and Technology* :34-45.
- Be lHadj Chedli R, Ben M'Barek S, Yahyaoui A, Kehel Z, Rezgui, S (2018)** Occurrence of *Septoria tritici* blotch (*Zymoseptoria tritici*) disease on durum wheat, triticale, and bread wheat in Northern

- Tunisia. CHILEAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH, 78(4): 559-568.doi:10.4067/S0718-58392018000400559
- Ben Hamouda M., Ben Youssef S, Bedhief S, Annabi M, Draief Z, Gharbi M S (2016)** Status of Agricultural Innovations, Innovation Platforms, and Innovations Investment in Tunisia. PARI project country report: Republic of Tunisia. Forum for Agricultural Research in Africa: 21-25.
- Ben Mohamed L, Rouaissi M, Sebei A, Hamza S, Harrabi M (2000)** Effet du génotype, de la date de semis, de la fertilisation azotée et potassique et des fongicides sur le développement de *Septoriatriitici*. In Royo C. (ed.), Nachit M. (ed.), Di Fonzo N. (ed.), Araus J.L. (ed.). Durum wheat improvement in the Mediterranean region : New challenges. CHIEHAM- options méditerranéenne : Série A. Séminaires Méditerranéens 40: 350-356.
- Boukef S (2012)** Structure des populations, spécificité parasitaire et évaluation de la résistance aux fongicides chez *Zymoseptoriatriitici*, agent de la septoriose du blé en Tunisie. Institut National Agronomique de Tunisie : 1-102.
- Djerbi M, Ghodhbane A (1975)** Contribution à l'étude du *Septoriatriitici* Rob. ex Desm., conservation et résistance variétale. Ann INRAT 48:1.
- EL Chartouni L, Tisseront B, Siah A, Duyme F, Durant R, Halama PP, Reignault P (2012)** Evolution of *Mycosphaerella graminicola* at the wheat leaf and field levels. Phytopathologia Mediterranea 51 (52): 332–339.
- El Felah M, Gharbi MS, Ghanem HB, Elloumi M (2015)** Les céréales en Tunisie entre mythe et réalité. Annales de l'INRAT, 2^{ème} Numéro Spécial Centenaire 88: 1-17.
- Ferjaoui S, Ben M'Barek S, Bahri AB, Slimane RB, Hamza S (2015)** Identification of resistance sources to septoriatriitici blotch in old durum wheat germplasm applied for the analysis of the *Zymoseptoria tritici*-durum wheat interaction. Journal of Plant Pathology 97 (3): 471- 481.
- Gharbi MS, et El Faleh M (2013)** Les céréales en Tunisie : plus d'un siècle de recherche variétale. Ann INRAT, Numéro Spécial- Centenaire de l'INRAT 86 :45-68.
- Gharbi MS, Berraïess S, Fakhar S, Ammar K, Hajlaoui MR, Yahyaoui A, Trifi M (2008)** Breeding durum wheat with resistance to Septoria leaf blotch for sustainable production under Mediterranean conditions. International durum wheat symposium: from seed to pasta, 30/06-03/07/2008, Bologne, Italie.
- Gharbi MS, Deghais M, Ben Amar F (2000)**. Breeding for resistance to Septoria tritici in durum wheat. In: Royo C. (ed.), Nachit M. (ed.), Di Fonzo N. (ed.) , Araus J.L. (ed.). Durum wheat improvement in the Mediterranean region : New challenges. Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens 40: 397- 401.
- Gurung SB, Goodwin S, Kabbage MW, Bockus W, Adhikari T (2011)**. Genetic Differentiation at Microsatellite Loci Among Populations of *Mycosphaerella graminicola* from California, Indiana, Kansas, and North Dakota. Phytopathology 101(10): 1251-1257.doi:10.1094/PHYTO-08-10-0212
- Harrat W, Bouznad Z (2018)** Prevalence, cultural and pathogenic characterization of *Zymoseptoriatriitici*, agent of wheat septoria leaf blotch, in Algeria. African Journal of Agricultural Research 13(40): 2146-2153.doi:10.1094/PHYTO-08-10-0212
- Hunter T, Coker RR, et Royal DJ (1999)** The teleomorph stage, *Mycosphaerella graminicola*, in epidemic of *Septoriatriitici* blotch on winter wheat in the UK. Plant Pathol 48:51-57.
- McDonald BA, Mundt CC (2016)** How knowledge of Pathogen Population Biology Informs Management of SeptoriaTritici Blotch. Phytopathology 106(09): 948-955.
- McDonald BA, Linde, CC (2002)** The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. Euphytica, 124: 163-180. Annu. Rev. Phytopathol. 2002. 40:349–79 doi: 10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443
- McDonald BA, Zhan J, et Burdon J J (1999)** Genetic Structure of *Rhynchosporium secalis* in Australia. Ecology and Population Biologie 89(8): 639-644.DOI:10.1094/PHYTO.1999.89.8.639
- Meamiche HN, Aouini L, Bouznad Z, Gerrit HJ (2018)** Equal distribution of mating type alleles and the presence of strobilurin resistance in Algerian *Zymoseptoria tritici* field populations. Plant Disease: 1-27. doi.org/10.1094/PDIS-03-16-0298-RE
- Morais D, Duplais C, Sache I, Laval V, Suffert F, Walker AS (2017)**. Stability in the genetic structure of a *Zymoseptoria tritici* population from epidemic to interepidemic stages at a small spatial scale. bioRxiv: 1-37.
- Saade, M.E. 1996**. Adoption and impact of high yielding wheat varieties in Northern Tunisia. CIMMYT, Mexico D.F. Economics Working Paper: 03-96.

- Saidi A, Safaie N, Palizi P (2012)** Study on mating types and sensitivity to strobilurin fungicide in fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. J. Crop Prot. 1 (4): 271-277.
- Siah A, Bomble M, Tisserant B, Cadalen T, Holvoet M, Hilbert R, Reignault P, Halama P (2018)** Genetic structure of *Zymoseptoria tritici* in northern France at region, field, plant and leaf layer scales. Phytopathology: 1-42. doi.org/10.1094/PHYTO-09-17-0322-R
- Siah A, Tisserant B, El Chartouni L, Duyme F, Deweer C, Fichter C, Sanssené J, Durand R, Reignault P, Halama P (2010)**. Mating type idiomorphs from French population of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*: widespread equal distribution and low but distinct levels of molecular polymorphism. Fungal Biology 114:980-990. doi :10.106/j.funbio.2010.09.008
- Waalwijk C, Mendes O, Verstappen ECP, de Waard MA, Kema GHJ (2002)**. Isolation and characterization of the mating type idiomorphs from the wheat septoria leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola*. Fungal Genetics and Biology 35:277-286. doi:10.1006/fgbi.2001.1322
- Zhan J, Kema GH J, Waalwijk C, McDonald BA (2002)** Distribution of mating type alleles in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* over spatial scales from lesions to continents. Fungal Genetics and Biology 36:128-136.