ETUDE DU POLYMORPHISME DE LONGUEUR DES FRAGMENTS DE RESTRICTION (RFLP) DE L'ADN RIBOSOMIQUE CHEZ *VERTICILLIUM DAHLIAE*

D. FERNANDEZ(1), P. MARMEY(2), F. DAAYF(1) et J.P. GEIGER(1)
(1)Laboratoire de Phytopathologie Tropicale
(2)Laboratoire de Ressources Génétiques et d'Amélioration des Plantes Tropicales
ORSTOM - B.P. 5045
34032 MONTPELLIER Cedex 1

Verticillium dahliae est un champignon responsable de maladies vasculaires chez de nombreuses plantes cultivées et qui présente peu de spécificité d'hôte. On distingue cependant des pathotypes à l'intérieur des couples hôte-parasite, comme les races 1 et 2 dans l'interaction *V.dahliae*/tomate et les types "défoliant" et "non-défoliant" dans l'interaction *V.dahliae*/cotonnier. La caractérisation des souches est compliquée par l'extrême variabilité morphologique et pathogénique de ce champignon. Par isolements monospores, il est possible d'isoler des variants hyalins ne produisant plus de microsclérote et présentant un pouvoir pathogène stable.

Nous avons envisagé l'utilisation des RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) en tant que marqueurs moléculaires pour la caractérisation des souches et pour l'étude de la variabilité des populations de *Verticillium dahliae*. Nous présentons ici les premiers résultats obtenus sur l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction de l'ADN ribosomique nucléaire de *Verticillium dahliae*.

L'étude a porté sur huit isolats de *Verticillium dahliae*, provenant de tomates et de cotonniers d'origines géographiques différentes, ainsi que sur les variants hyalins obtenus à partir des isolats issus de cotonniers. L' ADN total a été extrait et digéré avec les enzymes de restriction EcoRI, PstI, BglI, XbaI et XhoI. Après séparation par électrophorèse en gel d'agarose, les fragments de restriction ont été transférés sur une membrane de Nylon, puis hybridés avec une sonde contenant les gènes d'ARNr nucléaires de Sordaria (8,5 kb). Cette sonde a été marquée par sulfonation et l'hybride a été détecté par immunochimie (kit Chemiprobe,Orgenics).

Les profils electrophorétiques observés montrent de nombreuses bandes d'ADN répétitif dont certaines correspondent à l'ADN ribosomique. Pour chacune des souches, l'hybridation a révélé 3 fragments avec EcoRI (environ 3,2 kb, 2,1kb et 1,2 kb), deux fragments avec BglI (environ 5,2kb et 2,2kb) et un seul fragment d'environ 7,7 kb avec PstI, XhoI et XbaI. Par contre, aucun site de coupure ne semble exister dans l'unité d'ADN ribosomique pour les enzymes SalI, BamHI, KpnI, EcoRV et HindIII.

Les premiers résultats obtenus n'ont pas permis de détecter de RFLP ni entre les isolats et leurs variants hyalins ni entre les isolats étudiés. L'étude se poursuit sur ce matériel avec d'autres enzymes de restriction et avec des sondes génomiques obtenues par amplification (PCR).

Fernandez Diana, Marmey P., Daayf F., Geiger Jean-Paul.
(1990).

Etude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) de l'ADN ribosomique chez Verticillium dahliae.

In : Deuxième congrès de la Société Française de Phytopathologie.

Montpellier : SFP, 1 p. Congrès de la Société Française de Phytopathologie, 2., Montpellier (FRA), 1990/11/28-30.

ISBN 09898964