Phytopath. medit., 1993, *32*, 235-244

Comparaison entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* des sols de palmeraies par l'étude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) (*)

A. Tantaoui et D. Fernandez *

Laboratoire de Phytopathologie, Centre Régional du Haouz Préshara, I.N.R.A., Marrakech, Maroc
* Laboratoire de Phytopathologie Tropicale, ORSTOM, Montpellier, France

Résumé. L'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) de l'ADN ribosomique (ADNr) et de l'ADN mitochondrial (ADNmt) a été réalisée sur un échantillon de 17 isolats de *F. oxysporum* collectés dans 3 palmeraies, à partir de palmiers fusariés ou de la rhizosphère de plantes qui leur sont associées. Les profils de restriction de l'ADNr ne mettent pas en évidence de polymorphisme entre les isolats. Par contre, l'analyse des RFLP de l'ADNmt différencie clairement 2 groupes d'isolats avec toutes les enzymes de restriction testées: les isolats de *F. o. albedinis* (RFLP1) et les isolats de *F. oxysporum* de racines et du sol (RFLP2). Le polymorphisme de l'ADNmt entre les isolats semble être dû à une difference de taille de l'ordre de 8 kb ainsi qu'à des variations dans le nombre de sites de restriction.

Summary. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) between *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and *Fusarium oxysporum* from palm grove soils. Analysis of restriction length polymorphism of ribosomal and mitochondrial DNA (rDNA and mtDNA) was conducted on 17 isolates of *Fusarium oxysporum* collected in three palm groves areas, from wilted palms and from rhizosphere of associated plants. No polymorphism was evidenced among the isolates with restriction profiles of rDNA. In contrast, analysis of mtDNA RFLPs clearly distinguished the isolates of *F. o. albedinis* (RFLP1) from the other *Fusarium oxysporum* from roots and soil (RFLP2). The mtDNA polymorphism between the isolates seems to originate from about a 8 kb-length difference as well as restriction sites changes.

Introduction

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* (Kill *et* Maire) Malençon et Gordon, est l'agent du Bayoud du Palmier dattier (*Phœnix dactylifera* L.). Apparue au Maroc vers 1870, la maladie a affecté la plupart des palmeraies marocaines (provoquant la mort de 12 millions d'arbres parmi les meilleurs variétés) avant d'atteindre progressivement une partie des palmeraies algériennes et de menaçer celles de Tunisie.

Une grande partie des recherches entreprises jusqu'à présent dans les différents pays concernés a porté sur la caractérisation du parasite dont la morphologie et le pouvoir pathogène sont sujets à variation selon l'origine des isolats. Les souches de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* isolées du rachis de palmes infectées présentent à la fois une morphologie caractéristique - thalle de couleur rose saumon et mycélium frisé - et une agressivité élevée. Par contre, celles provenant du sol, de racines de palmiers et de certaines plantes de culture associées (Luzerne, Henné) considérées comme porteurs sains présentent une morphologie variée et un pouvoir pathogène faible

(*) Ce travail a été réalisé au laboratoire de Phytopathologie des Plantes Tropicales de l'ORSTOM et financé par l'ORSTOM.

ORSTOM Fonds Documentaire
07 JUIN 1994
N° : 39.742 ex1
Cote : B

ou nul (Djerbi *et al.*, 1985 et 1985a; Sedra et Djerbi, 1985).

La compatibilité végétative entre les souches, utilisée comme critère d'identification et d'évaluation du polymorphisme génétique au sein des populations naturelles, a permis de séparer les souches de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*, réunies en un seul groupe de compatibilité végétative (ou GCV), de 5 autres formes spéciales de *F. oxysporum* (Djerbi et Den Brader, 1990). De façon plus précise, Tantaoui et Boisson (1991) ont pu différencier les isolats de palmes (GCV1) de ceux issus de racines ou rhizosphère de palmier (GCV2 et 3) ainsi que des isolats de rhizosphère de Luzerne (GCV2), Henné (GCV3) ou Orge (GCV4).

Tous ces résultats montrent qu'il existe une large diversité au sein des populations de *F. oxysporum* associées au palmier dattier, sans qu'il soit toujours possible d'identifier clairement les souches de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*, et de déterminer si les variations du pouvoir pathogène doivent être attribuées à des pathotypes différents de cette forme spéciale. Afin de caractériser la forme spéciale *albedinis*, mais aussi pour déterminer les relations génétiques existant entre les différentes composantes des populations de *F. oxysporum* des sols de palmeraies, nous avons

TABLEAU I. - Nom, origine, groupe de compatibilité végétative et groupe RFLP des isolats de *Fusarium oxysporum* étudiés.

Référence	Origine	GCV (*a*)	Groupe RFLP
Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* :			
127	palme	GCV 1	1
BFG1	palme	GCV 1	1
BSL1	palme	GCV 1	1
SLY	palme	GCV 1	1
Fusarium oxysporum :			
ZL14	rhizosphère luzerne	GCV 2	2
ZL29	rhizosphère luzerne	GCV 2	2
ZL4	rhizosphère luzerne	GCV 2	2
ZL19	rhizosphère luzerne	GCV 2	2
IZ197	rhizosphère palmier	GCV 2	2
AZ4	rhizosphère palmier	GCV 2	2
A15	racine palmier	GCV 3	2
A16	racine palmier	GCV 3	2
H3	rhizosphère henné	GCV 3	2
H4	rhizosphère henné	GCV 3	2
ZC15	rhizosphère orge	GCV 4	2
ZC17	rhizosphère orge	GCV 4	2
ZC21	rhizosphère orge	GCV 4	2

(*a*) Groupe de compatibilité végétative déterminés par Tantaoui et Boisson (1991).

recherché des marqueurs moléculaires spécifiques.

Pour cela, nous avons choisi d'analyser les populations de *F. oxysporum* par des approches moléculaires de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) qui permettent d'estimer la proximité génétique des souches. Chez *F. oxysporum,* des travaux récents ont montré que les profils de restriction de l'ADN ribosomique (ADNr) et de l'ADN mitochondrial (ADNmt) permettent de caractériser une variabilité inter- et/ou intra-forme spéciale, et révèlent des taux de polymorphisme différents selon la spécialisation parasitaire. Ainsi, chez les *F. oxysporum* des crucifères qui comprennent trois formes spéciales, Kistler *et al.* (1987) ont montré que les profils de restriction de l'ADN ribosomique sont identiques pour les trois formes spéciales alors que ceux de l'ADN mitochondrial sont caractéristiques de chacune d'elle. Par contre, chez *F. oxysporum* f. sp. *pisi* (Whitehead *et al.,* 1992) et chez *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Fernandez et Assigbetse, 1992) différents groupes RFLP de l'ADNr ont été obtenus en fonction de la virulence ou de l'origine géographique des souches. Chez les *F. oxysporum* des cucurbitaceae de nombreux groupes RFLP de l'ADNmt ont été observés au sein de chacune des formes spéciales (Jacobson et Gordon, 1990; Kim *et al.,* 1992 et 1993). Cette variabilité de l'ADN mitochondrial a été retrouvée lors des études réalisées sur des *Fusarium oxysporum* non pathogènes du sol chez lesquels de nombreux GCV avaient été déterminés (Gordon et Okamoto, 1992 et 1992a; Jacobson et Gordon, 1992).

Nous présentons ici les résultats d'une étude préliminaire du polymorphisme de longueur des fragments de restriction de l'ADNr et de l'ADNmt menée sur une collection de 17 isolats de *Fusarium oxysporum* provenant de palmiers et de sol et appartenant à 4 groupes de compatibilité végétative (Tantaoui et Boisson, 1991).

Matériel et méthodes

Isolats de *Fusarium oxysporum* étudiés. Le Tableau I indique la source d'isolement et le groupe de compatibilité végétative des 17 isolats de *F. oxysporum* étudiés. La morphologie, l'origine géographique et le pouvoir pathogène des isolats ont été décrits par Tantaoui et Boisson (1991). Les quatre isolats de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* proviennent de trois palmeraies Marocaines différentes et présentent un pouvoir pathogène important. Les treize autres isolats de *F. oxysporum* proviennent d'une même palmeraie et sont peu ou pas pathogènes. Le mycélium de chaque isolat a été produit à partir d'un clone monospore par culture en fiole de Roux sur milieu G.Y.P. (glucose 2%, extrait de levure 0,5%, peptone 0,5%) pendant 6 jours à 25°C. Le mycélium a été récolté par filtration, rinçé avec de l'eau stérile, immédiatement congelé à l'azote liquide, puis lyophilisé.

TABLEAU II. - Caractéristique des sondes d'ADNmt isolées de *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* 4Kistler et Benny, 1989).

Sonde	Caractéristique
mtDNA	molécule purifiée (52 kb)
pUF1-9	fragment *EcoR* I (4,0 kb) cloné dans pUC119
pUF1-11	sous-clone de pUF1-14:
	fragment *EcoR* I (6,0 kb) cloné dans pUC119
pUF1-14	fragment *EcoR* I (7,6 kb) cloné dans pUC119
pUF1-22	fragment *EcoR* I (4,0 kb) cloné dans pUC119
pUF1-38	fragment *EcoR* I (5,0 kb) cloné dans pUC119

Extraction et digestion de l'ADN. L'ADN total des souches a été extrait à partir de mycélium lyophylisé selon la technique de Lee *et al.* (1988). Trois à cinq µg d'ADN ont été digérés respectivement par 20 à 30 u des endonucléases suivantes: *Bgl* II, *Cfo* I, *EcoR* I, *Hind* III, *Hae* III, *Hinf* I, *Msp* I, *Pst* I, et *Xho* I (Boehringer Manheim, Meylan, France). Les fragments d'ADN ont ensuite été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8% (pour les enzymes à site de 6 bases) ou 1,2% (pour les enzymes à site de 4 bases) dans un tampon TAE (Tris-acétate 0,04M; EDTA 0,001M), à 30V pendant 16 h, et transférés sous-vide (Alkaline Vacuum Transfer, TE 80 TransVac, Hoefer Scientific Instrument, San Francisco, USA) sur une membrane de Nylon N+ (Amersham, France).

TABLEAU III. - Taille en kilobases (kb) des fragments d'ADN mitochondrial obtenus après digestion de l'ADN des souches de *F. oxysporum* avec les enzymes *Hae* III, *EcoR* I, *Bgl* II et *Pst* I et hybridation avec la sonde d'ADNmt total. Groupe 1: isolats de *F. o. albedinis* ; groupe 2: isolats de *F. oxysporum* de racines de palmier et du sol. Les fragments spécifiques des isolats du groupe 1 sont indiqués en gras.

Hae III		*EcoR* I		*Bgl* II		*Pst* I	
1	2	1	2	1	2	1	2
			23,0	14,5	14,5	**19,0**	
8,0							12,0
		21,0		12,1	12,1	**10,0**	
5,0	5,0						8,5
		13,0	13,0	**7,8**			
4,6	4,6			**3,8**		6,2	6,2
4,6	4,6			3,8	3,8	5,5	5,5
		6,0					
4,1	4,1	5,0	5,0	2,6	2,6	4,6	4,6
					2,3	4,3	4,3
				2,2			
3,7	3,7			1,6	1,6	2,1	2,1
				1,3		**1,5**	
		3,9	3,9		1,2	1,1	1,1
2,7		3,7	3,7	**1,1**		**0,9**	
2,6	2,6				1,0		
2,5	2,5			**0,6**			
2,1	2,1	**1,8**					
2,0	2,0						
1,4							
1,2	1,2						
1,0	1,0						
0,8	0,8						
0,7	0,7						
0,6							
0,5	0,5						
0,2	0,2						
0,1	0,1						
Somme 48,2	35,6	54,4	48,6	51,3	39,0	55,2	44,3

Hybridation et détection des fragments d'ADN ribosomique. Les fragments d'ADN obtenus après digestion par les enzymes *EcoR* I, *Hind* III, *Pst* I et *Xho* I ont été hybridés avec une sonde d'ADN contenant l'unité ribosomique de *Sordaria macrospora* (8,5 kb) (Landry et Le Chevanton, com. pers.) marquée à la peroxydase, et détectés par chemi-luminescence (Kit ECL, Amersham, Les Ullis, France).

Hybridation et détection des fragments d'ADN mitochondrial. Les hybridations ont été réalisées avec de l'ADNmt de *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* (soit avec la molécule entière d'ADNmt purifiée, soit avec des sondes contenant des fragments *EcoR* I d'une région variable (Kistler et Benny, 1989), dont les caractéristiques sont données dans le tableau II). Les sondes ont été marquées radioactivement avec de la (α^{-32} P) dCTP par random-priming (kit Multiprime, Amersham) et hybridées pendant 3h à 65°C (tampon d'hybridation: Rapid Hyb Buffer, Amersham). Après 2 lavages à température ambiante dans du 2xSSC, 0,1% SDS, 1 lavage à 65°C dans du 1xSSC, 0,1% SDS, et 1 lavage à 65°C dans du 0,7xSSC, 0,1% SDS, les fragments d'ADN hybridés ont été détectés par autoradiographie.

Résultats

Etude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction de l'ADN ribosomique. La sonde d'ADNr a été hybridée sur les fragments d'ADN obtenus après digestion avec les enzymes de restriction à site de 6 bases (*EcoR* I, *Hind* III, *Pst* I, et *Xho* I). Le même type de profil a été obtenu pour toutes les souches testées. Seules les enzymes *EcoR* I et *Xho* I possèdent des sites de coupure dans l'unité ribosomique: 4 sites pour l'enzyme *EcoR* I et un seul site pour *Xho* I. Aucun polymorphisme de taille ou de type présence/absence de site n'a été observé entre les 17 souches étudiées. La taille de l'unité ribosomique de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* est de 8 kb environ, du même ordre que celle d'autres formes spéciales de *F. oxysporum* (*F. oxysporum* des crucifères, Kistler *et al.*, 1987, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, Fernandez et Assigbetse, 1992).

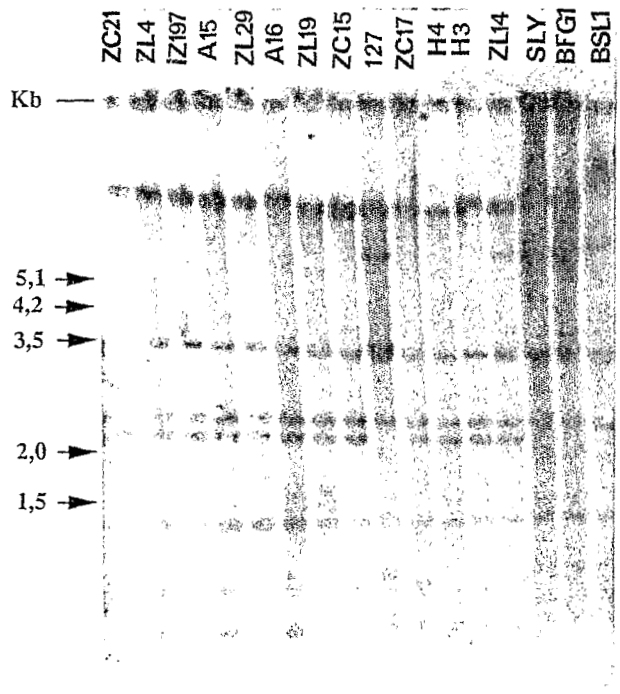

Fig. 1 - Profils d'hybridation de la sonde ADNmt total sur l'ADN des souches de *Fusarium oxysporum* digéré par l'enzyme *Bgl* II. Les flèches à gauche indiquent la taille des fragments d'ADN du marqueur de poids moléculaire.

Etude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction de l'ADN mitochondrial. Dans un premier temps, la sonde constituée d'ADNmt total (molécule d'ADN mitochondrial entière de *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans*) a été hybridée sur l'ADN des souches digéré par chacune des neuf enzymes, afin de mettre en évidence le polymorphisme de l'ADNmt qui pourrait exister entre les différents isolats. Les profils obtenus avec les enzymes *Hae* III, *Pst* I, *EcoR* I, *Bgl* II, *Cfo* I et *Msp* I différencient nettement deux groupes de souches. Le tableau III présente les fragments d'ADNmt observés pour les quatre premières enzymes. Le premier groupe RFLP1 rassemble les souches de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* (127, SLY, BFG1 et BSLI) et le deuxième RFLP2 est constitué des 13 autres souches de *F. oxysporum*. Avec l'enzyme *Bgl* II, les 4 souches 127, SLY, BFG1, et BSLI, toutes isolées de palmes d'arbres fusariés, se distinguent de toutes les autres par la présence notamment d'un fragment supplémentaire de 7,8 kb (Fig. 1). Les tailles

TABLEAU IV. - Taille (en kb) des fragments d'ADN obtenus par hybridation des sondes d'ADNmt sur l'ADN total des souches digéré par différentes enzymes de restriction et interprétation des changements entre les deux groupes (I: insertion d'ADN; S: modification du nombre de sites de restriction). Groupe 1: isolats de *F. o. albedinis* ; groupe 2: isolats de *F. oxysporum* de racines de palmier et du sol.

Sonde	Digestion	Groupe 1	Groupe 2	Changement entre 2 et 1
pUF1-38	*Cfo* I	2,2-1,0-0,8-0,6-0,4-0,3	2,2-1,0-0,8-0,4-0,3	I
	Hinf I	2,1-0,9	2,1-1,9	I
	Hind III	14,0-10,0	12,0	I
	Pst I	19,0-1,1	12,0-1,1	I
	Xho I	10,0	23,0	S
pUF1-9	*Xho* I	10,0	23,0	S
pUF1-14	*Hinf* I	1,8-1,4-1,0-0,9 (hybridation forte)	2,1-1,9-1,6 (hybridation faible)	I + S
	Pst I	19,0	12,0-8,5	I + S
pUF1-11	*Cfo* I	0,8-0,7-0,6-0,5-0,3	pas d'hybridation	I
	Hae III	2,6-1,4	pas d'hybridation	I
	Msp I	8,0-1,5-1,0-0,6	pas d'hybridation	I

des fragments ont été calculées par rapport à la migration des fragments du marqueur de poids moléculaire (ADN du phage lambda digéré par *EcoR* I ou par *EcoR* I et *Hind* III), avec une précision à 100 pb près dans la gamme de taille de 0,5 à 8 kb. Pour les tailles supérieures à 15 kb, la détermination est beaucoup plus difficile, ceci pouvant expliquer les différences de taille totale de l'ADNmt obtenue selon les enzymes de restriction. De plus, comme nous avons utilisé de l'ADNmt hétérologue comme sonde, tous les fragments ne sont peut-être pas révélés dans chaque digestion. Nous avons donc ensuite testé des fragments de l'ADNmt de *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* provenant d'une région variable (Kistler et Benny, 1989) sur les fragments d'ADN obtenus après digestion par les enzymes *Cfo* I, *Hae* III, *Hinf* I, *Msp* I, *Pst* I, et *Xho* I. Les sondes pUF1-38, 1-9 et 1-14 reconnaissent des séquences d'ADN chez toutes les souches testées et présentent des profils d'hybridation de 1 à 5 bandes, plus faciles à interpréter que ceux obtenus avec l'ADNmt total. Les couples sonde/enzyme pUF1-38/*Cfo* I, pUF1-38/*Hind* III, pFU1-38/*Hinf* I, pFU1-38/*Pst* I, pUF1-38/*Xho* I, pFU1-9/*Xho* I, pUF1-14/*Hinf* I et pUF1-14/ *Pst* I mettent en évidence un polymorphisme entre les souches du groupe RFLP1 et celles du groupe RFLP2. Les résultats des hybridations sont présentés dans le tableau IV. Les autres couples sonde/enzyme testés ne révèlent pas de différence entre les souches.

A titre d'exemple les Figg. 2A et 3 présentent les résultats des couples pUF1-14/ *Hinf* I et pUF1-38/*Pst* I. La plupart des polymorphismes détectés semblent être dus à des changements dans la position des sites de restriction (différences de taille de l'ADNmt) plutôt qu'à des variations de type présence/ absence de site. En effet, avec la sonde pUF1-14 on observe des différences d'intensité

d'hybridation entre les fragments des souches 127, SLY, BFG1 et BSLI (forte intensité) et les fragments des autres souches (faible intensité) (photo n° 2A). Nous avons vérifié que cette différence d'intensité n'était pas due à une mauvaise qualité d'ADN ou à une différence de concentration entre les ADN des souches en rehybridant les mêmes membranes avec d'autres sondes. La photo 2B présente les résultats de l'hybridation de la sonde pUF1-9 sur l'ADN des souches digéré par *Hinf* I, précédemment hybridé avec la sonde pUF1-14 (photo 2A). Quatre fragments d'ADNmt sont détectés chez toutes les souches, avec la même intensité.

De plus, la sonde pUF1-11, qui est un sous-clone de la sonde pUF1-14, testée avec les enzymes *Hae* III, *Cfo* I et *Msp* I ne s'hybride que sur des séquences d'ADN des souches 127, SLY, BFG1 et BSLI, et ceci avec une forte intensité, laissant présumer l'existence d'une grande homologie de séquence (tableau IV). Le fragment d'ADN de *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* contenu dans les sondes pUF1-11 et pUF1-14 serait donc présent chez les souches 127, SLY, BFG1 et BSLI et absent chez les autres. L'ADNmt des deux groupes de souches semble donc différer par une variation de type insertion/délétion d'environ huit kilobases.

Discussion et conclusion

Nous avons entrepris ce travail dans le but d'estimer la diversité génétique des *F. oxysporum* associés aux palmiers atteints de Bayoud et d'obtenir des marqueurs moléculaires permettant d'identifier les isolats appartenant à la forme spéciale *albedinis*. Les profils de restriction de l'ADN ribosomique obtenus avec les enzymes testées n'ont pas mis en évidence de polymorphisme entre les isolats du sol et ceux issus de palmiers fusariés. En revanche, l'analyse des RFLP de l'ADN mitochondrial permet de distinguer 2 groupes de souches parmi les 17 isolats: les souches 127, SLY, BFG1 et BSLI (groupe RFLP1), et le deuxième groupe (RFLP2) constitué des 13 autres isolats (tableau I). Les souches du premier groupe appartiennent à la forme spéciale *albedinis*. Elles proviennent de trois palmeraies différentes, et sont classées dans le même groupe de compatibilité végétative (GCV1). Par contre, les souches du groupe RFLP2 sont des *F. oxysporum* issus de racines de palmier ou du sol d'une même palmeraie et sont réparties dans 3 GCV différents (Tantaoui et Boisson, 1991).

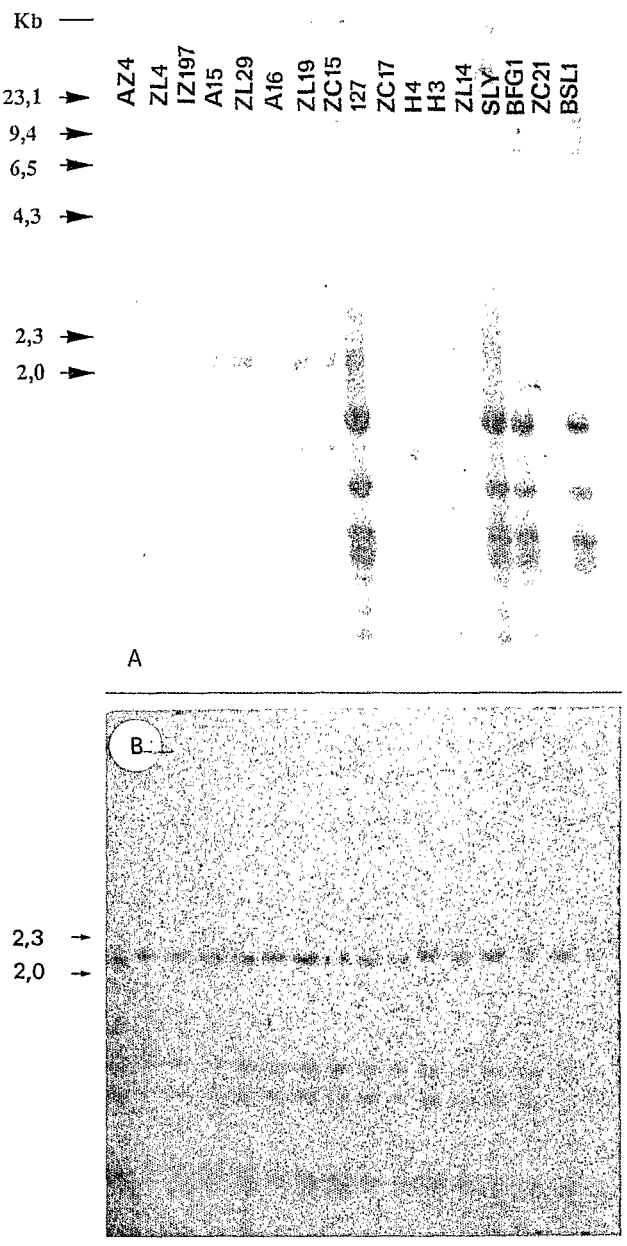

Fig. 2 - Profils d'hybridation des sondes d'ADNmt pUF1-14 (A) et pUF1-9 (B) sur l'ADN des souches de *Fusarium oxysporum* digéré par l'enzyme *Hinf* I. Les flèches à gauche indiquent la taille des fragments d'ADN du marqueur de poids moléculaire.

Le polymorphisme de restriction observé entre les deux groupes de souches semble provenir d'une différence de taille de l'ADN mitochondrial. La taille moyenne calculée en additionnant celle des différentes bandes hybridées pour les enzymes *Pst* I ou *EcoR* I est de 54,8 kb environ pour les souches

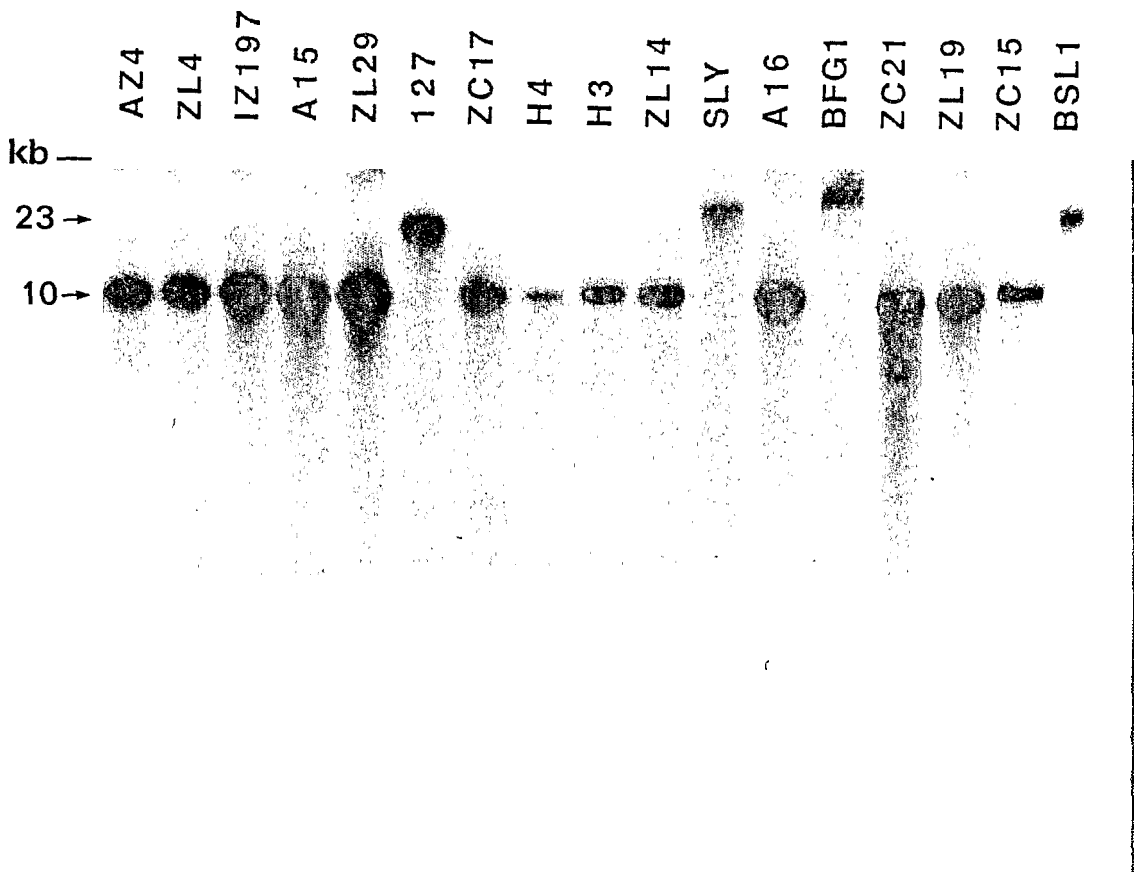

Fig. 3 - Profils d'hybridation de la sonde ADNmt pUF1-38 sur l'ADN des souches de *F. oxysporum* digéré par l'enzyme *Pst* I.

du groupe RFLP1 et de 46,5 kb pour les souches du groupe RFLP2 (tableau III). Une différence de taille d'environ 8 kb pourrait donc être à l'origine des polymorphismes observés avec chacune des enzymes testées, cette différence pouvant être due à une ou plusieurs insertions (ou délétions) dans le génome mitochondrial, comme cela a souvent été observé chez les champignons (Taylor, 1986) et chez le *F. oxysporum* des crucifères (Kistler et Benny, 1989) et des cucurbitaceae (Jacobson et Gordon, 1990; Kim *et al.*, 1992). Les profils de restriction des deux groupes de souches diffèrent à la fois par des variations au niveau de la position des sites de restriction et par la présence de bandes supplémentaires chez les souches 127, SLY, BFG1 et BSLI, très bien mises en évidence avec les sondes pUF1-11 et pUF1-14. Ainsi, il semble aisé de distinguer les isolats de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* des *F. oxysporum* saprophytes du sol.

Cependant, les profils de restriction, obtenus notamment avec l'enzyme *EcoR* I, sont à rapprocher de ceux déjà décrits chez d'autres formes spéciales. Chez les souches du groupe RFLP1, sept fragments d'ADNmt sont obtenus (tableau III) dont la taille est proche de celle des fragments décrits chez *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* (Kistler et Benny, 1989) et *vasinfectum* (Fernandez et Assigbetse, 1992). Les profils *EcoR* I obetnus chez les souches du groupe RFLP2 (tableau III) diffèrent par le fragment de 3,7 kb ou de 3,9 kb de ceux décrits chez *F. oxysporum* f. sp. *raphani* (Kistler et Benny, 1989), *melonis* (Jacobson et Gordon, 1990) et *niveum* (Kim *et al.*, 1992). Ainsi, bien que les profils de restriction de l'ADN mitochondrial ont permis de différencier les isolats de *F. oxysporum* de palmes de ceux de racines ou du sol, ils ne semblent pas suffisamment spécifiques pour permettre d'identifier la forme spécialisée *albedinis*.

Aucun polymorphisme n'a été observé entre les isolats issus de racines de palmier ou de la rhizosphère de cultures associées. Un seul haplotype d'ADN ribosomique et mitochondrial a été obtenu avec toutes les enzymes testées. Ces souches appartiennent à trois groupes de compatibilité différents, et constituent donc des populations entre lesquelles aucun échange génétique n'est possible. Le fait que nous n'ayons pas observé de polymorphisme suggère que les souches dérivent d'une même ancêtre commun et que les mutations ayant conduit à la différenciation en trois groupes de compatibilité se sont produites récemment.

Chez *F. oxysporum* f. sp. *melonis,* une stricte correspondance entre les profils de restriction de l'ADNmt des souches et leur appartenance à un GCV a été établie (Jacobson et Gordon, 1990), mais il semble que cela soit un cas particulier puisque chez d'autres formes spécialisées comme *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Ploetz, 1990), ou *F. oxysporum* f. sp. *elaeidis* (Flood *et al.,* 1992) et dans les populations de *F. oxysporum* du sol où de nombreux groupes de compatibilité sont observés, de telles corrélations n'ont pas été mises en évidence (Gordon et Okamoto, 1992 et 1992a; Jacobson et Gordon, 1992).

En ce qui concerne *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis,* à notre connaissance aucune autre étude n'a encore été entreprise sur la diversité génétique des souches par l'analyse RFLP. Ce travail sera étendu à un population plus importante de souches, et mettra en oeuvre des techniques de biologie moléculaire révèlant davantage de polymorphisme: sondes moléculaires répétées (fingerprint) (Levy *et al.,* 1991) ou technique d'amplification au hasard d'ADN polymorphique (RAPD) (Welsh et McLelland, 1990; Williams *et al.,* 1990).

Remerciements

Nous remercions H.C. Kistler (Univ. Floride, USA) de nous avoir fourni les sondes d'ADN mitochondrial, et MM. Lourd et Geiger (Orstom, Montpellier) pour leurs suggestions quant à la rédaction de cet article.

Littérature citée

DJERBI M. et K. BRABER DEN, 1990. A new method of identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* on the basis of vegetative compatibility. *Proc. 8th Congress of the - Mediterranean Phytopathological Union.* October 28th-November 3th 1990. Agadir, Morocco, p. 513.

DJERBI M., M.A. EL GHORFI et M.A. EL IDRISSI AMMARI, 1985a. Etude du comportement du Henné (*Lawsonia inermis* L.) et de la Luzerne (*Medicago sativa* L.) et de quelques espèces de palmiers à l'égard du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis,* agent du bayoud. *Annls. Inst. Natl. Rech. Agron. Tunisie, 58,* Note de recherche n. 3, 1-11.

DJERBI M., M.H. SEDRA et M.A. EL IDRISSI AMMARI, 1985. Caractéristiques culturales et identification du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis,* agent causal du bayoud. *Annls. Inst. Natl. Rech. Agron. Tunisie, 58,* Note de recherche n. 1, 1-8.

FERNANDEZ D. et K.B. ASSIGBETSE, 1992. Etude de la diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* par RFLP et RAPD. Résumé n. A7-12. 3ème Congrès Société Française Microbiologie, Lyon (France), 21-24 Avril 1992.

FLOOD J., D.S. WHITEHEAD et R.M. COOPER, 1992. Vegetative compatibility and DNA polymorphisms in *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* and their relationship to isolate virulence and origin. *Physiol. Mol. Plant Pathol., 41,* 201-215.

GORDON T.R. et D. OKAMOTO, 1992. Population structure and the relationship between pathogenic and non pathogenic strains of *Fusarium oxysporum. Phytopathology, 82,* 73-77.

GORDON T.R. et D. OKAMOTO, 1992a. Variation in mitochondrial DNA among vegetatively compatible isolates of *Fusarium oxysporum. Experimental Mycology, 16,* 245-250.

JACOBSON D.J. et T.R. GORDON, 1990. Variability of mitochondrial DNA as an indicator of relationship between populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis. Mycological Research, 94,* 734-744.

JACOBSON D.J. et T.R. GORDON, 1991. *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* : a case study of diversity within a forma specialis. *Phytopathology, 81,* 1064-1067.

JACOBSON D.J. et T.R. GORDON, 1992. Variation within and between populations of *Fusarium oxysporum* based on vegetative compatibility and mitochondrial DNA. *Can. J. Bot., 70,* 1211-1217.

KIM D.H., R.D. MARTYN et C.W. MAGILL, 1992. Restriction fragment length polymorphism group and physical map of mithocondrial DNA from *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum. Phytopathology, 82,* 346-353.

KIM D.H., R.D. MARTYN et C.W. MAGILL, 1993. Mitochondrial DNA (mtDNA) - Relatedness among *formae speciales* of *Fusarium oxysporum* in the Cucurbitaceae. *Phytopathology, 83,* 91-97.

KISTLER C.K. et U. BENNY, 1989. The mitochondrial genome of *Fusarium oxysporum. Plasmid, 22,* 86-89.

KISTLER C.K., P. BOSLAND, U. BENNY, S. LEONG et P. WILLIAMS, 1987. Relatedness of strains of *Fusarium oxysporum* from crucifers measured by examination of mitochondrial and ribosomal DNA. *Phytopathology, 77,* 1289-1293.

LEE S., M. MILGROOM et J. TAYLOR, 1988. A rapid, high yield miniprep method for isolation of total genomic DNA from fungi. *Fungal Genetics Newsletter, 35,* 23-24.

LEVY M., J. ROMAO, M. MARCHETTI et J. HAMER, 1991. DNA fingerprinting with a dispersed repeated sequence resolves pathotype diversity in the rice blast fungus. *Plant Cell, 3,* 95-102.

PLOETZ R.C., 1990. Population biology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*: *In* : Fusarium wilt of banana. (R.C. PLOETZ ed.) American Phytopathological Society, St. Paul, MN, U.S.A., 63-75.

SEDRA M.H. et M. DJERBI, 1985. Mise au point d'une méthode rapide et précise d'identification "in vitro" du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* agent causal du bayoud. *Annls. Inst. Natl. Rech. Agron. Tunisie, 58,* Note de recherche n°2, 1-12.

TANTAOUI A. et C. BOISSON, 1991. Compatibilité végétative d'isolats du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et des *Fusarium oxysporum* de la rhizosphère du Palmier dattier et des sols de palmeraies. *Phytopath. medit., 30,* 155-163.

TAYLOR J.W., 1986. Fungal evolutionary biology and mitochondrial DNA. *Experimental Mycology, 10,* 259-269.

WELSH J. et M. MCLELLAND, 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res., 18,* 7213-7218.

WILLIAMS J., A. KUBELIK, K. LIVAK, J. RAFALSKI et S. TINGEY, 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res., 18,* 6531-6535.