



Best CIHEAM Master Thesis

Academic year 2007/2008

An integrated molecular and morphological study to design a DNA barcode discrimination protocol for Fusarium species involved in Dry root disease of citrus

Balech BACHIR - Lebanon

CIHEAM-MAI of Bari

Supervisors of thesis:

Pr. C. Saccone (supervisor)

Dr. A.M. D'Onghia (supervisor)

Dr. S. Vicario (advisor)

Dr. M. Santamaria (advisor)

Evaluation Commission:

Prof. G. P. Martelli, University of Bari, Italy, Chairman

Prof. R. Yokomi, USDA California, USA, Member

Prof. J. D. Janse, NAK, Netherlands, Member

Prof. E. Conti, University of Perugia, Italy, Member

Prof. A. C. Pappas, University of Thessaly, Greece, Member

Abstract

Fusarium solani is always associated to dry root rot disease of citrus. However other species such as *F. oxysporum* and *F. proliferatum* are also found in citrus rhizosphere and diseased tissues. Unfortunately, the complex species determination process limits the scope of association studies. *Fusarium* morphological determination and molecular characterization based on ND6, COX1, tub-2 and tef1 were carried out in this study to set up a molecular identification protocol in a barcode framework,. Bayesian phylogenetic analyses using MCMC were applied to construct consensus trees from dataset sequences based on the above markers. Results showed a low discrimination capacity for ND6 and COX1 markers; in contrast, tef1 and combined tef1+tub-2 proved to be good candidates for *Fusarium* DNA barcoding due to their ability to discriminate between the three tested species. Tub-2 could resolve intra-specific variation of *F. solani* and tef1 that of *F. oxysporum*. All the markers used could not give any ecological clustering relationship between root, soil and wood sample categories.

Key words: Citrus, *Fusarium* molecular identification, *Fusarium* barcoding, ND6, COX1, tub-2, tef1.

Titre de la thèse

Etude moléculaire et morphologique intégrée pour la mise au point d'un protocole de discrimination basé sur le code barre de l'ADN pour les espèces de Fusarium impliquées dans la pourriture sèche des agrumes

Résumé

Le *Fusarium solani* est toujours associé à la maladie de la pourriture sèche des agrumes. Toutefois, d'autres espèces telles le *F. oxysporum* et le *F. proliferatum* sont aussi observées dans la rhizosphère et dans les tissus infectés des agrumes. Malheureusement, la procédure complexe de détermination de l'espèce limite l'envergure des études d'association. La détermination morphologique et la caractérisation moléculaire du *Fusarium* ont été réalisées en utilisant les marqueurs ND6, COX1, tub-2 et tef1, afin de mettre au point un protocole d'identification moléculaire dans le cadre d'un système de code barre. Les analyses phylogénétiques bayésiennes utilisant le MCMC ont été réalisées pour construire des arbres de consensus à partir des séquences de données obtenues par les marqueurs cités. Les résultats ont montré une faible capacité de discrimination pour les marqueurs ND6 et COX1; par ailleurs, le tef1 et la combinaison tef1+tub-2 se sont avérés prometteurs pour l'application au code barre de l'ADN du *Fusarium* vu leur capacité de discriminer entre les trois espèces testées. Le Tub-2 pourrait résoudre la variabilité intra-spécifique de *F. solani* et le tef1 celle du *F. oxysporum*. Tous les marqueurs utilisés n'ont indiqué aucune relation de clustering écologique entre les catégories des échantillons de racines, sol et bois.

Mots clés : Agrumes, Identification moléculaire du *Fusarium*, *Fusarium* barcoding, ND6, COX1, tub-2, tef1.