

## Transmission de certaines maladies infectieuses des agrumes à l'aide de disques de feuilles.

R. VOGEL et J.M. BOVE\*

TRANSMISSION DE CERTAINES MALADIES INFECTIEUSES DES AGRUMES A L'AIDE DE DISQUES DE FEUILLES.

R. VOGEL et J.M. BOVE.

*Fruits*, Avril 1987, vol. 42, n° 4, p. 231-234.

RESUME - Dans un essai effectué en Corse on a cherché à utiliser les disques de feuilles adultes comme inoculum pour transmettre diverses maladies infectieuses des agrumes. Cette technique d'inoculation a permis la transmission de la Cachexie-Xyloporose, du Cristacortis, de la Frisolée et de la Psorose écaillieuse. Par contre, aucune transmission n'a été obtenue avec le Concave Gum.

Les pourcentages de transmission des diverses maladies ne sont pas supérieurs à ceux obtenus avec l'inoculation à l'aide d'écussons d'écorce. L'utilisation de très jeunes plantes indicatrices ne paraît pas hâter l'apparition des symptômes. Pour ces deux raisons il ne semble pas souhaitable d'employer les disques de feuilles adultes dans les tests d'indexation.

### INTRODUCTION

La vérification sanitaire des agrumes fait encore largement appel à la technique d'indexation sur plantes indicatrices. Cette technique consiste à greffer des portions inoculum de l'arbre à tester sur des variétés très sensibles aux maladies que l'on recherche. En général ce sont des écussons d'écorce qui sont utilisés comme inoculum. Leur greffage nécessite, pour des raisons pratiques, l'emploi de plantes indicatrices âgées de 12 à 18 mois.

L'inoculation de plantes indicatrices à l'aide de portions de feuilles glissées sous l'écorce a été également utilisée pour la transmission de divers pathogènes des agrumes (WALLACE, 1947 ; SCHWARZ, 1968 ; GARNSEY et WHIDDEN, 1970 ; CALAVAN, 1972).

En Corse, le greffage de feuilles adultes entières (photo 1) ou de pétioles avait permis de transmettre les symptômes foliaires de «Psorose» et le greffage de jeunes feuilles était utilisé pour l'indexation du Stubborn (VOGEL, 1973). Par contre les panachures foliaires trouvées sur de nom-

breuses variétés d'agrumes au printemps, dénommées «Panachures de Pétri» et maintenant reconnues causées par les conditions climatiques hivernales, n'ont pas été transmises par cette technique. Les divers modes de greffage utilisés demandent des plantes indicatrices ayant un diamètre de tronc suffisant.

L'intérêt de l'utilisation de plantes indicatrices plus jeunes est évident, encore faut-il disposer d'une technique d'inoculation adaptée. C'est dans le cadre de la recherche d'une nouvelle technique d'inoculation que nous avons pensé employer le greffage de disques de feuilles. Les résultats obtenus dans cette expérience sont décrits ci-après.

### MATERIEL ET METHODES

Des graines de tangelo Orlando ont été semées sous serre chauffée en décembre 1970 à raison de 2 graines par pot de 5 litres de terre. Après la levée, un seul plant par pot a été conservé.

En juin 1971 l'inoculation par disques de feuilles adultes a été entreprise avec les agents pathogènes suivants :

- Traitement A : Cristacortis souche S. 21 de Corse,
- Traitement B : Psorose écaillieuse souche 339 de Californie
- Traitement C : Concave Gum souche 158-62 de Californie

\* - R. VOGEL - Station de Recherches Agronomiques de Corse, San Giuliano - 20230 SAN NICOLAO (Corse).  
J.M. BOVE - Station de Physiologie Végétale - Laboratoire de Biologie cellulaire et moléculaire - Domaine de la Grande Ferrade 33140 PONT DE LA MAYE (France).



Photo 1 - Inoculation à l'aide d'une feuille entière. Cette feuille présente des «Panachures de Pétri» ; elle a été utilisée pour essayer de transmettre cette manifestation.

- Traitement D : Frisolée souche 81-65 de Californie
- Traitement E : Cachexie-Xyloporose souche 114 de Californie
- Traitement F : Plants témoins non inoculés.

Chaque traitement comprenait 10 plants de tangelo Orlando, chaque plant recevant 2 inoculum à raison d'un inoculum par feuille.

La souche de Cristacortis S. 21 servait en fait de témoin positif, car dans un essai précédent, les tangelos Orlando inoculés selon cette technique avaient tous manifesté des symptômes de la maladie dans les 14 mois suivant l'inoculation (VOGEL, 1973). Nous avons donc la certitude que le Cristacortis pouvait être transmis à l'aide de disques de feuilles adultes provenant de plants contaminés.

La technique utilisée a consisté à découper, dans le limbe des feuilles des plants à inoculer, des disques à l'aide d'un perce-bouchon de 8 mm de diamètre et à les remplacer par des disques équivalents prélevés sur des feuilles adultes de la souche inoculum. Un morceau de ruban plastique d'électricien de couleur blanche fixé sur les deux faces de la feuille inoculée maintenait l'inoculum en place.

Dans le présent essai les disques ont été prélevés à cheval sur la nervure centrale de la feuille (photo 2). Au moment de la pose de l'inoculum la base de la nervure centrale de celui-ci a été placée en contact avec la nervure centrale de la feuille à inoculer (schéma 1). Dans l'essai précédent, portant uniquement sur la transmission du Cristacortis, on avait montré que les résultats de transmission étaient équivalents, que le disque soit pris à cheval sur la nervure centrale ou en dehors de cette nervure (photo 3) (VOGEL, 1973).

Quatre semaines après l'inoculation tous les plants ont

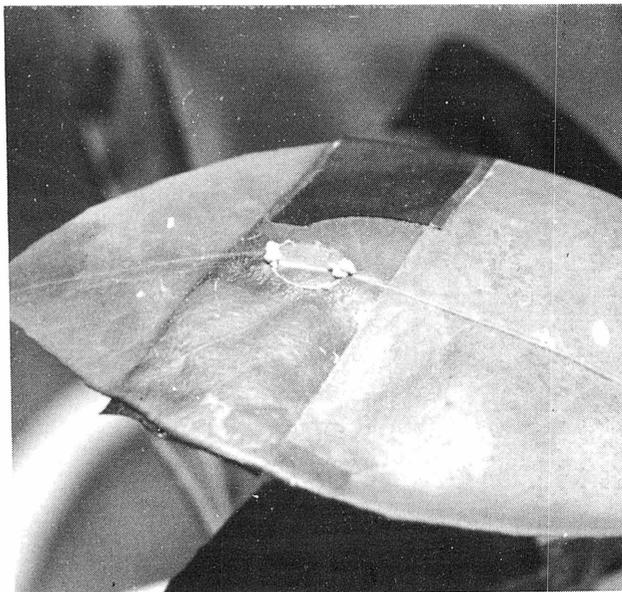


Photo 2 - Inoculation par disque de feuille adulte. L'inoculum a été placé au contact de la nervure centrale de la feuille inoculée. Remarquer les bourrelets cicatriciels qui se sont développés au niveau de la nervure centrale.

été transférés sous cage d'isolement à température ambiante.

La soudure de l'inoculum s'est traduite par l'apparition d'un bourrelet de cicatrisation plus ou moins important, principalement au niveau de la base de la nervure centrale, qui soulevait petit à petit le ruban adhésif.

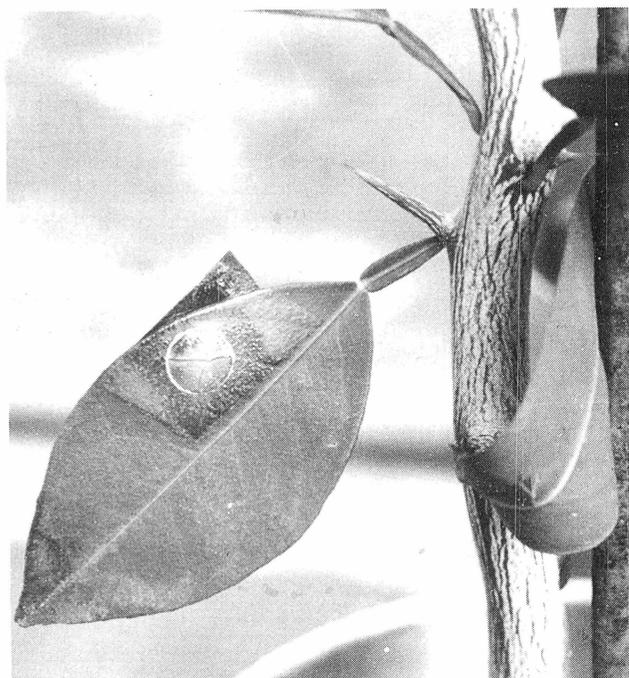
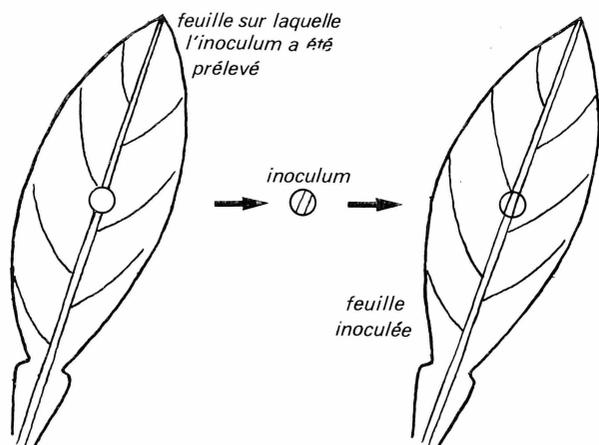
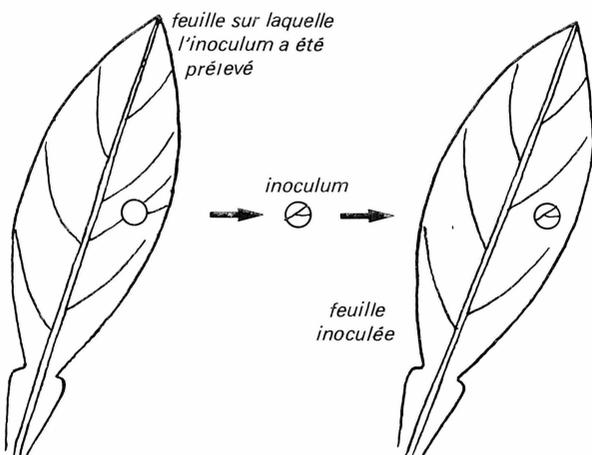


Photo 3 - Inoculation par disque de feuille adulte : l'inoculum a été placé en dehors de la nervure centrale. La cicatrisation s'est réalisée sur tout le pourtour du disque.

SCHEMA 1



a) inoculum prélevé avec une portion de la nervure centrale.



b) inoculum prélevé en dehors de la nervure centrale.

Six plants de chaque traitement ont été plantés en mai 1972 dans la parcelle B3 de la Station, en choisissant les plants qui avaient au moins un inoculum soudé.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans le tableau 1 sont indiqués les résultats obtenus en juillet 1986 date d'arrachage de l'essai, soit 15 ans après l'inoculation des plants.

TABLEAU 1 - Symptômes observés sur les tangelos Orlando inoculés à l'aide de disques de feuilles adultes.

Traitements	Maladies	Symptômes observés						
		Foliaires	Psorose	Cristacortis	Psorose	Concave gum	Frisolée	Cachexie
A	Cristacortis	5/6 (1)	5/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
B	Psorose	5/6	0/6	5/6	0/6	0/6	0/6	0/6
C	Concave gum	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
D	Frisolée	6/6	0/6	0/6	0/6	6/6	0/6	0/6
E	Cachexie	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	5/6	0/6
F	Témoin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

1 - Nombre de plants ayant présenté des symptômes sur le nombre de plants du traitement.

Traitement A.

5 des 6 plants de tangelo Orlando inoculés avec le Cristacortis ont manifesté des symptômes typiques de la maladie. Ces symptômes sont apparus entre 3 et 4 ans après l'inoculation. Rappelons que dans l'expérience précédente les mêmes symptômes avaient été décelés 14 mois seulement après l'inoculation mais que celle-ci avait été effectuée sur des plants plus âgés. Ce délai d'apparition des symptômes est également bien supérieur à celui exigé lors de l'indexation courante du Cristacortis qui consiste à greffer le même jour un oeil de tangelo Orlando (William's ou Webber) entre deux inoculum d'écorce, sur la même ligne verticale d'un porte-greffe vigoureux tel que le *Citrus volkameriana*.

Ces cinq plants avaient présenté préalablement des symptômes foliaires de «Psorose». Le sixième plant n'a rien manifesté bien que l'un des deux inoculum se soit parfaitement bien soudé.

Traitement B.

5 des 6 tangelos Orlando inoculés ont présenté un écaillage de l'écorce à partir de 1973 soit environ 24 mois après l'inoculation. Ces mêmes 5 plants avaient manifesté des symptômes foliaires de choc dans les mois suivant l'inoculation. Le sixième plant n'a manifesté aucun symptôme.

Il est possible que le fort pourcentage de transmission et surtout la rapidité avec laquelle sont apparues les manifestations d'écaillage proviennent du fait de la forte virulence de la souche 339 utilisée. Il est intéressant de noter que les symptômes de choc se sont manifestés aussi sévèrement et aussi rapidement que dans le cas de l'inoculation par écussons d'écorce.

Traitement C.

Les 6 plants de tangelo Orlando inoculés n'avaient présenté ni symptôme foliaire de «Psorose» ni symptôme cortical de Concave gum en juillet 1986 date de leur arrachage.

Traitement D.

Les 6 plants inoculés ont manifesté des symptômes

typiques de Frisolée sur leurs feuilles. Ils avaient tous présenté préalablement des symptômes foliaires de «Psorose». Aucun gaufrage n'a été observé sur leurs fruits.

#### Traitement E.

Les symptômes de Cachexie-Xyloporose sont apparus sur 5 des 6 tangelos Orlando inoculés. Les premières manifestations ont été décelées quatre ans après l'inoculation. En Corse, lorsque le tangelo Orlando était utilisé comme plante indicatrice de la Cachexie-Xyloporose, c'est-à-dire avant son remplacement par le mandarinier Parson's Special, les premiers symptômes de la maladie n'apparaissent que 3 à 5 ans après l'inoculation des plantes indicatrices (VOGEL et BOVE, 1976). L'inoculation à l'aide de disques de feuilles ne permet donc pas une apparition plus rapide des symptômes sur cette variété par rapport à l'utilisation d'écussons d'écorce comme inoculum.

#### Traitement F.

Les 6 tangelos Orlando témoins non inoculés n'ont montré aucun symptôme.

L'inoculation par disques de feuilles adultes a donc permis la transmission du Cristacortis, de la Psorose écailluse, de la Frisolée et de la Cachexie-Xyloporose, le taux de transmission étant d'au moins 5/6 soit 83 p. 100. Par contre nous n'avons pas obtenu la transmission du Concave gum.

Dans un essai similaire mené en Californie, l'inoculation par disques de feuilles a également été utilisée pour transmettre plusieurs maladies infectieuses des agrumes (BLUE et coll., 1976). Parmi celles-ci la Tristeza a pu être transmise dans d'aussi bonnes conditions, que l'inoculation soit effectuée par disques de feuilles ou par écussons d'écorce. Par contre la transmission a été relativement mauvaise

pour la Psorose écailluse et pour le Concave gum. Ces résultats ne portaient cependant que sur les symptômes foliaires visualisés, les auteurs ne mentionnant pas si les plants de leur essai manifestaient des symptômes corticaux de ces deux maladies. De plus les souches d'inoculum utilisées en Californie et en Corse n'étant pas les mêmes, il est difficile de comparer les résultats. On peut cependant noter les difficultés rencontrées dans les deux cas dans la transmission du Concave gum par disques de feuilles.

L'inoculation par cette technique présente l'avantage de pouvoir utiliser de très jeunes plantes indicatrices puisqu'il est théoriquement possible de poser l'inoculum sur les deux premières feuilles d'un plant de semis. Pratiquement, plus les feuilles sont près du sol plus le greffage est délicat et plus l'opération demande de temps. Cette perte de temps par rapport à l'inoculation par écussons d'écorce est évidente. Pour que cette technique soit rentable, il faudrait que les pourcentages de transmission soient au moins équivalents à ceux obtenus avec la technique classique qui avoisinent les 100 p. 100. Or les résultats enregistrés dans notre essai ne nous paraissent pas suffisants pour pouvoir conseiller l'utilisation des disques de feuilles comme inoculum dans les tests d'indexation.

#### CONCLUSION

L'inoculation par disques de feuilles a permis de transmettre le Cristacortis, la Psorose écailluse, la Frisolée et la Cachexie-Xyloporose. On note cependant que pour ces maladies les pourcentages de transmission sont inférieurs à ceux obtenus par greffage d'écussons d'écorce et que le Concave gum est difficile à transmettre par cette technique. On observe également que l'utilisation de jeunes plantes indicatrices ne semble pas hâter l'apparition des symptômes corticaux de Cristacortis et de Cachexie-Xyloporose. Pour toutes ces raisons il ne paraît pas souhaitable d'employer les disques de feuilles dans les tests d'indexation.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BLUE (R.L.), ROISTACHER (C.N.), CARTIA (G.) and CALAVAN (E.C.). 1976.  
Leaf disc grafting. A rapid indexing method for detection of some Citrus Viruses.  
*Proc. Seventh. Conf. Intern. Org. Citrus Virol.*, 207-212.
- CALAVAN (E.C.), OLSON (E.O.) and CHRISTIANSEN (D.W.). 1972.  
Transmission of the Stubborn pathogen in Citrus by leaf piece grafts.  
*Proc. 5th Conf. Intern. Org. Citrus Virol.*, 11-14.
- GARNSEY (S.M.) and WHIDDEN (R.). 1970.  
A rapid technique for making leaf tissue grafts to transit Citrus Virus.  
*Plant Dis. Rep.*, 54, 907-908.
- SCHWARZ (R.E.). 1968.  
Transmission of the Tristeza virus by a leaf union method.  
*S. Afr. J. Agric. Sci.*, 11, 617-622.
- VOGEL (R.). 1973.  
Le Cristacortis, une nouvelle maladie à virus des agrumes.  
*Thèse Doct. Etat*, 153 p.
- VOGEL (R.) et BOVE (J.M.). 1976.  
La nouvelle technique d'indexation de la Cachexie-Xyloporose : son utilisation en Corse.  
*Fruits*, 31 (2), 93-96.
- WALLACE (J.M.). 1947.  
The use of leaf tissue in graft transmission of Psorosis virus.  
*Phytopathology*, 37, 149-152.

