

Modifications biochimiques dans l'écorce de divers plants d'agrumes atteints d'exocortis

par

Victoria ROSSETTI (*), Colette BOVÉ,
Françoise MONIER, et J.-M. BOVÉ

Service de Biochimie
Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer.

I. INTRODUCTION

L'Exocortis est une maladie à virus des agrumes. Le virus de l'exocortis est présent dans un grand nombre d'espèces et variétés d'agrumes mais il ne provoque des symptômes typiques que dans un petit nombre d'entre elles : la Lime Rangpur (*Citrus limonia*, OSBECK), les citranges (*Citrus sinensis* × *Poncirus trifoliata*), le *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. Les symptômes typiques y apparaissent sous forme d'une desquamation de l'écorce.

Les plants des espèces précédentes sont principalement cultivés comme porte-greffes. L'exocortis leur est transmis par les greffons, porteurs du virus mais généralement tolérants à la maladie, donc ne manifestant pas de symptômes. Il s'écoule un temps assez long (plusieurs années) avant que les porte-greffes, sensibles, commencent à manifester la maladie. Pour déceler l'exocortis dans les arbres tolérants au virus on multiplie un œil de l'arbre à tester sur *P. trifoliata* ; si, après 8 ans, on n'observe pas de desquamation de l'écorce sur le porte-greffe, on estime que l'arbre dont venait l'œil est indemne d'exocortis.

MOREIRA a observé qu'un rameau de Lime Rangpur indemne d'exocortis, greffé sur un arbre atteint d'exocortis, manifeste, après quelques mois déjà, des symptômes particuliers : zones jaunâtres sur l'écorce, puis éclatement de l'écorce au niveau de ces zones. (MOREIRA, 1961).

V. ROSSETTI a exploité cette observation pour essayer de mettre au point une méthode rapide pour la diagnose de l'exocortis (V. ROSSETTI, 1961). Le test ne durerait que quelques mois. Il consiste à observer l'apparition des zones jaunâtres et des crevasses, après inoculation, sur l'écorce des rameaux de Lime Rangpur ; le *Poncirus trifoliata* se prête aussi au test mais l'apparition des symptômes est moins rapide.

Nous avons entrepris d'étudier les modifications biochimiques qui affectent l'écorce de certaines variétés d'agrumes manifestant les symptômes décrits par MOREIRA et ROSSETTI, dans le but d'établir une corrélation entre les modifications biochimiques éventuelles, les symptômes et le virus.

II. MATÉRIEL VÉGÉTAL

Nous avons utilisé des rameaux, avec et sans symptômes, de trois sources différentes :

a) Rameaux venant des États-Unis : Citrus Re-

search Center, University of California, Riverside (reçus en mars 1961) (1) :

1. Lime Rangpur (I 2), seedling de contrôle II E, 22-24.

(*) Adresse permanente : Instituto Biológico — C. P. 7119 — Sao Paulo (Brésil).

(1) Nous sommes très reconnaissants au D^r E. C. CALAVAN d'avoir bien voulu nous fournir ce matériel.

2. Lime Rangpur (I 2), inoculée en 1959 avec des yeux de Tangor Temple (359) porteur d'exocortis. Ces rameaux manifestaient des symptômes modérés de jaunissement. En plus de l'exocortis, ce matériel est également atteint de vein enation. Il n'est pas encore établi s'il est indemne de cachexie.

3. Lime Kusaïe (I 4), seedling de contrôle 11 F, 21-24.

4. Lime Kusaïe (I 4), inoculée en 1959 avec des yeux de Citronnier Eureka (CES code 373) porteur d'une souche pure d'exocortis. Ce matériel peut être considéré comme n'ayant que l'exocortis. Il manifeste des symptômes prononcés de jaunissement.

b) Rameaux venant des États-Unis, University of California, Los Angeles (U. C. L. A.), (reçus en mars 1961) (1) :

5. Redling mung, jeune lignée, contrôle.

6. Redling mung, vieille lignée, atteint d'exocortis. Sévères symptômes de jaunissement et d'éclatement de l'écorce.

7. Redling mung, vieille lignée, atteint de tristeza.

8. Redling mung, vieille lignée, atteint de tristeza et d'exocortis. Sévères symptômes de jaunissement et d'éclatement.

c) Rameaux venant du Brésil, Citrus Experiment Station, Limeira, Sao Paulo, (reçus en avril 1961) (2) :

9. Lime Rangpur, jeune lignée, contrôle.

10. Lime Rangpur, porteur d'exocortis, symptômes prononcés.

11. *Poncirus trifoliata*, jeune lignée, contrôle.

12. *Poncirus trifoliata*, porteur d'exocortis. Symptômes prononcés.

Il faut admettre que tout le matériel reçu du Brésil, y compris le matériel de contrôle, avait la tristeza.

Tous les morceaux de rameau avaient environ 1 cm de diamètre et une longueur de 10 à 20 cm.

Les expéditions vers la France ont été effectuées par avion.

Dans ce qui suit, les 12 échantillons d'écorces seront désignés par le numéro sous lequel ils viennent d'être décrits.

III. MÉTHODES

L'écorce des rameaux a été détachée du bois au moyen d'un scalpel. Le Tableau I indique le poids d'écorce pour chaque échantillon.

TABLEAU I.

		PRÉSENCE D'EXOCORTIS	POIDS DE L'ÉCORCE (en grammes)
1	Lime Rangpur I ₂	Non	19,85
2	Lime Rangpur I ₂	Oui	20,50
3	Lime Kusaïe I ₄	Non	20,40
4	Lime Kusaïe I ₄	Oui	17,30
5	Redling Mung.....	Non	20,72
6	Redling Mung.....	Oui	22,62
7	Redling Mung + tristeza.....	Non	23,40
8	Redling Mung + tristeza.....	Oui	23,06
9	Lime Rangpur Brésil.....	Non	21,77
10	Lime Rangpur Brésil.....	Oui	28,87
11	<i>Poncirus trifoliata</i> Brésil.....	Non	25,69
12	<i>Poncirus trifoliata</i> Brésil.....	Oui	19,18

(1) Nous remercions chaleureusement M. E. F. FROLICH pour l'expédition de ce matériel.

(2) Nous tenons à remercier nos collègues brésiliens pour l'obtention de ce matériel.

A. Extraction des acides aminés, des acides organiques et des substances neutres.

Chaque échantillon d'écorce est broyé, pendant 15 min., avec 60 ml d'eau glacée dans un homogénéiseur Virtis 45, à pleine vitesse. Le bol de broyage est entouré de glace. L'homogénéisat est mis en contact et agité dans un erlenmeyer entouré de glace pendant une heure avec une résine à cation : la Permutite 50 (forme H⁺, diamètre des grains supérieur à 0,62 mm ; refus du tamis 30 ; 10 ml de résine mouillée pour 20 g de tissu) qui fixe les substances basiques, dont les acides aminés, dans leur totalité ; le milieu devient acide et de nombreuses protéines précipitent. Après l'agitation, la résine se dépose au fond de l'erlenmeyer, le surnageant est décanté et la résine est lavée 3 fois avec de l'eau glacée. Surnageant et eaux de lavage réunis sont centrifugés à + 1° C pendant 10 minutes à 10 000 g. Le culot, contenant les débris cellulaires insolubles, est remis en suspension avec de l'eau glacée et centrifugé comme précédemment. Les surnageants sont réunis et mis à agiter, pendant 1 heure, à 0° C, avec une résine à anion, la Dowex 2 (forme carbonate ; diamètre des grains supérieur à 0,62 mm ; 20 ml de résine mouillée pour 20 g de tissu) pour fixer les substances acides, dont les acides organiques, à la place des ions carbonates, qui s'éliminent sous forme de CO₂. (A cause du dégagement de CO₂, la fixation des acides par la Dowex 2 ne peut être faite sur colonne !). Après dépôt de la résine, le surnageant est décanté et la résine est lavée 3 fois avec de l'eau glacée. Surnageant et eaux de lavage sont réunis et constituent la fraction neutre. La Permutite 50 et la Dowex 2 sont placées chacune sur une colonne de 18 mm de diamètre contenant quelques millilitres de la résine respective vierge. La fraction neutre, par mesure de précaution, est passée successivement sur la colonne de Permutite et la colonne de Dowex, pour retenir sur les résines les substances basiques ou acides qui n'auraient pas été fixées préalablement.

L'élution des acides aminés de la Permutite 50 est effectuée avec 25 ml de NH₄OH 1 M par millilitre de résine. Les acides organiques sont élués par CO₃(NH₄)₂ 0,5 M (25 ml par millilitre de résine). Les deux éluats sont concentrés à sec, sous vide à 35° C, repris par l'eau

et reconcentrés plusieurs fois pour chasser la majeure partie de l'ammoniaque et du CO₃(NH₄)₂. Tout l'ammoniaque n'est pas chassé par ce procédé et on retrouve un pic assez important de NH₃ lorsqu'on chromatographie les acides aminés sur la petite colonne de Moore et Stein utilisée pour séparer les acides aminés basiques. Le CO₃(NH₄)₂ restant est éliminé au moyen de Permutite 50, ce qui libère également les acides de leurs sels d'ammonium.

La solution des acides aminés et la solution des acides libres sont amenés à 25 ml après la dernière concentration. Toutes les séparations et les déterminations ont été faites avec ces solutions.

B. Séparation et détermination des acides aminés.

Les acides aminés (90 µ-litre de la solution des acides aminés) ont été séparés par chromatographie sur papier à deux dimensions suivant la méthode de Lévy et Chung modifiée par MÉNORET (MÉNORET, 1960). Les acides aminés basiques ont été séparés et déterminés par chromatographie d'échange sur une colonne de 15 cm d'Amberlite 1 R 120 suivant la technique de Moore et coll. (MOORE, 1958). 0,5 ml de la solution des acides aminés ont été utilisés pour chaque séparation.

C. Séparation et détermination des acides organiques.

L'acidité totale (acidité minérale + acidité organique) a été déterminée par titrage à la soude d'une partie aliquote de la solution des acides organiques en présence de rouge de phénol.

Les acides organiques ont été séparés et déterminés par chromatographie de partage sur colonne de gel de silice suivant la technique de Bové et Raveux (BOVÉ, 1957). L'identité des acides ainsi séparés a été vérifiée par chromatographie à deux dimensions. (CHEFTEL, 1952). Pour chaque pic, les fractions qui le composent ont été réunies après titrage ; la phase aqueuse a été séparée de la phase chloroformique, passée sur Permutite 50 pour libérer le ou les acides composant le pic, évaporée à sec et chromatographiée à deux dimensions.

IV. RÉSULTATS

A. Vérification des méthodes.

Pour vérifier l'extraction, la séparation et la déter-

mination des acides aminés et des acides organiques, nous avons appliqué les techniques décrites sous le chapitre « Méthodes » à des quantités connues d'acides

aminés et d'acides organiques correspondant approximativement à celles trouvées dans 20 g d'écorce : 80 μ moles d'arginine, 20 μ moles des acides aminés ou amides suivants : alanine, acide aspartique, asparagine, cystéine, acide γ -amino-butyrrique, acide glutamique, glutamine, histidine, leucine, lysine, proline, sérine, thréonine, tryptophane, valine ; 2 milliéquivalents d'acide malique et 1 milliéquivalent d'acide citrique. 17 ml de Permutite 50 et 37 ml de Dowex 2 ont été utilisés pour fixer respectivement les acides aminés et les acides organiques.

Les acides aminés ont été élués avec 425 ml de NH_4OH 1 M et les acides organiques avec 925 ml de $\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2$ 0,5 M.

La solution des acides aminés a été évaporée à sec deux fois et reprise finalement par l'eau.

1 ml de cette solution a servi à la détermination de l'arginine et de la lysine après séparation sur colonne d'Amberlite IR 120.

Sur 1,00 μ mole de lysine et 4,00 μ moles d'arginine ajoutés au départ, on a retrouvé 1,09 μ moles de lysine et 4,10 μ moles d'arginine.

Les acides organiques dans le $\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2$ ont été

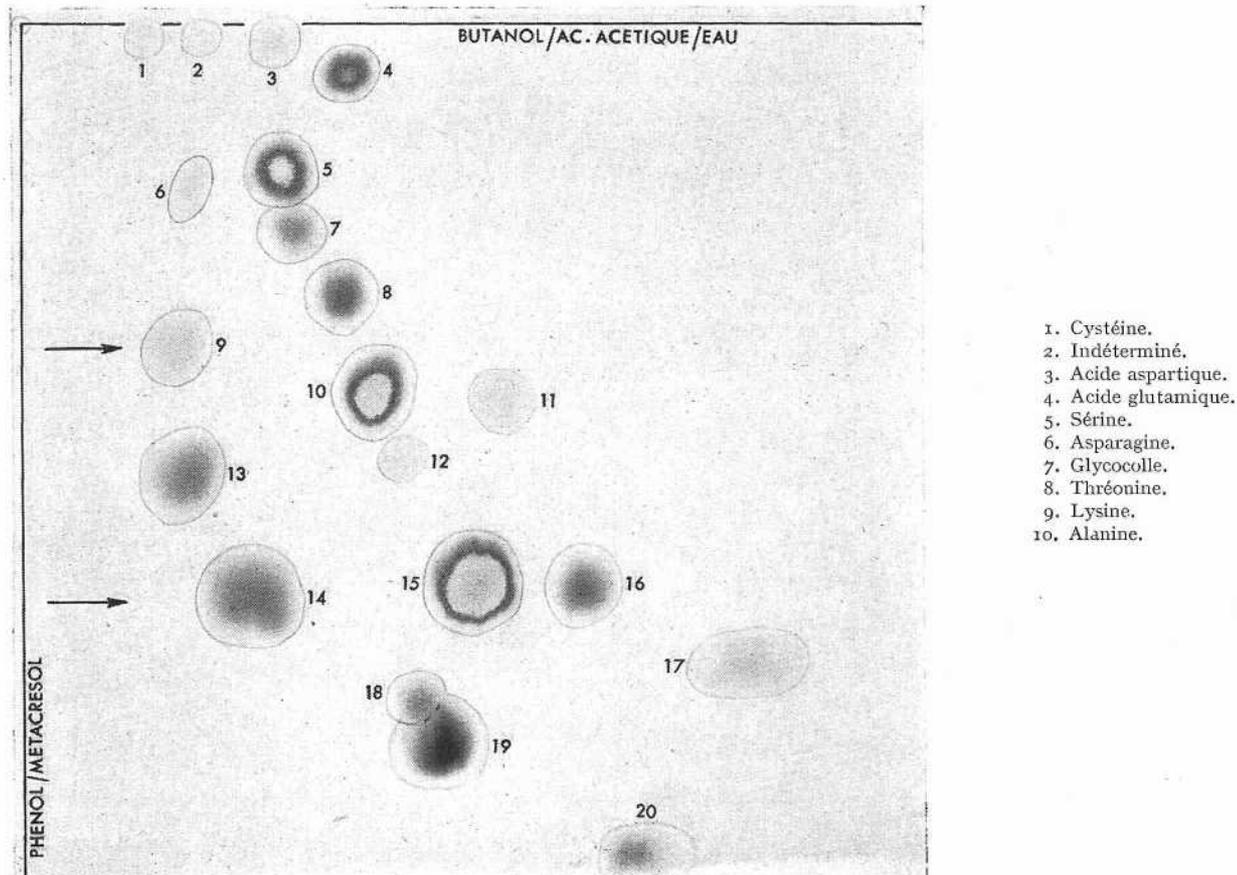
évaporés à sec 3 fois, repris par l'eau et libérés de leur sel d'ammonium par fixation des ions ammonium sur 7 ml de Permutite 50. Les acides libres ont été évaporés à sec, repris par l'eau et amenés à 20 ml. Une partie aliquote a été titrée par la soude 0,1 N en présence de rouge de phénol. Sur les 3,00 milliéquivalents ajoutés au départ, 2,96 ont été recouverts (rendement de 99 %). Une autre partie aliquote (10 ml) a été utilisée pour le titrage de l'acide malique et de l'acide citrique après séparation de ces acides sur colonne de gel de silice. On a retrouvé 96 % de l'acide malique et 89 % de l'acide citrique.

On voit d'après ces résultats que les recouvrements sont bons.

B. Acides aminés dans les écorces normales et dans les écorces malades.

Les figures 1 et 2 représentent les chromatogrammes à deux dimensions des acides aminés extraits de l'écorce de Lime Rangpur I₂ normale (n° 1) et de Lime Rangpur I₂ malade (n° 2) respectivement. Les chromatogrammes correspondant aux Limes Kusaïe, aux

FIG. 1. — Chromatogrammes d'acides aminés extraits de l'écorce de Lime Rangpur I₂, sans Exocortis.



Red Ling mung et aux *Poncirus trifoliata* sont fort semblables à ceux des figures 1 et 2.

La différence la plus notable entre les chromatogrammes des figures 1 et 2 concerne l'arginine et la lysine. Alors que l'arginine est toujours présente sur les chromatogrammes relatifs aux écorces normales, cet acide aminé se trouve en quantité bien moins grande sur les chromatogrammes correspondant aux écorces atteintes de symptômes d'exocortis. Il peut même parfois être totalement absent, comme le montre le chromatogramme de la figure 2. Pour la lysine, les relations sont inversées : il y en a davantage dans les écorces manifestant les symptômes.

Pour vérifier quantitativement les indications suggérées par les chromatogrammes, l'arginine et la lysine ont été dosées après séparation sur colonne de résine. Le Tableau II résume les résultats. Dans tous les cas, il y a moins d'arginine dans l'écorce atteinte d'exocortis. Pour trois échantillons d'écorce malade (n°s 2, 10 et 12) nous n'avons pu déceler l'arginine avec les méthodes utilisées. Dans deux autres cas, la diminution de l'argi-

nine est très notable (n°s 4 et 8). Pour un seul échantillon, la diminution est faible (n° 6).

La quantité d'arginine présente dans l'écorce de Lime Rangpur semble varier suivant la provenance du matériel végétal : 2 μ moles/gr d'écorce fraîche pour la Lime Rangpur de Californie (n° 1), 0,6 pour celle du Brésil (n° 9), 5,0 pour celle de Corse (résultat non publié). Ces chiffres témoignent sans doute des différences de milieu plutôt que des variations d'ordre génétique. L'écorce normale de *Poncirus trifoliata* du Brésil (n° 11) a peu d'arginine ; cette faible teneur reflète sans doute moins un caractère d'espèce que les mêmes conditions de milieu qui, chez la Lime Rangpur (n° 11), amènent également une diminution de la quantité d'arginine par rapport aux valeurs trouvées pour la Lime Rangpur de Californie (n° 1).

Quant à la lysine, on observe pour toutes les espèces, sauf pour le *Poncirus trifoliata*, une augmentation de cet acide aminé dans l'écorce malade par rapport à l'écorce normale. L'augmentation est particulièrement notable pour les Redling mung. La différence entre

FIG. 2. — Chromatogrammes d'acides aminés extraits de l'écorce de Lime Rangpur I₂, avec Exocortis.

- 11. Tyrosine.
- 12. β alanine.
- 13. Histidine.
- 14. Arginine.
- 15. Acide γ aminobutyrique.
- 16. Valine.
- 17. Leucine.
- 18. Indéterminé.
- 19. Proline.
- 20. Acide pipécolique.

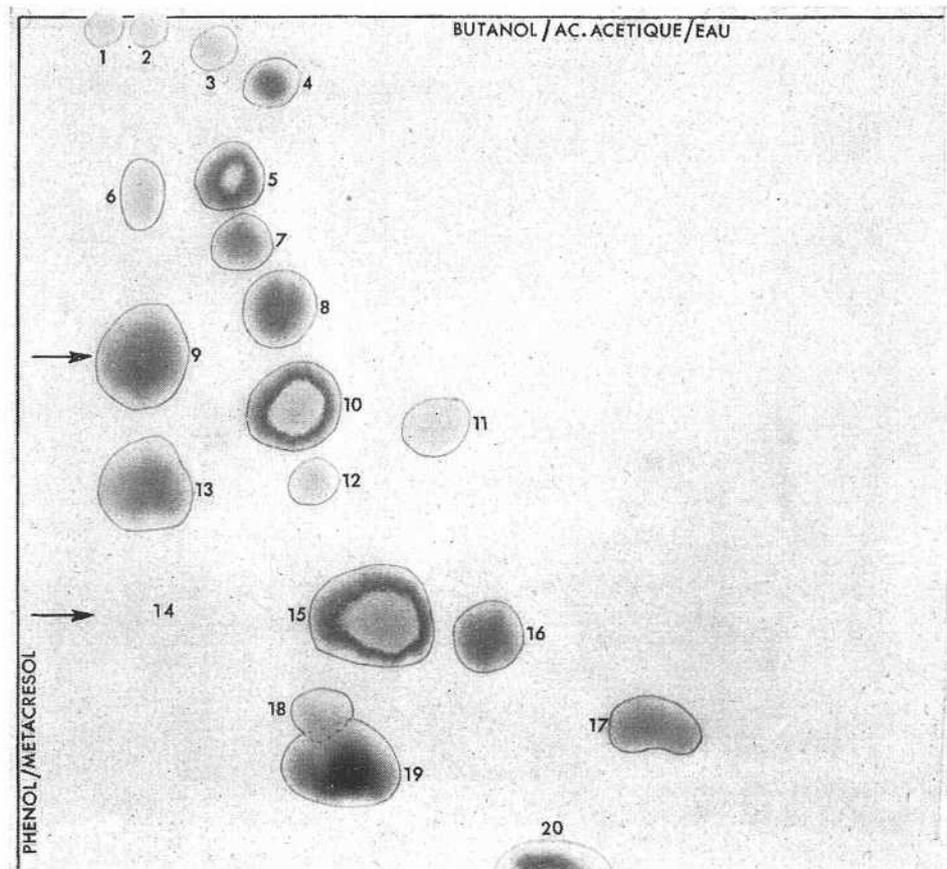


FIG. 9. — Chromatogramme d'un mélange synthétique d'acides organiques.

- 3. Acide fumarique.
- 4. Acide succinique.
- 5. Acide malonique.
- 6. Acides oxalique et glycolique.
- 7. Acide malique.
- 8. Acide citrique.

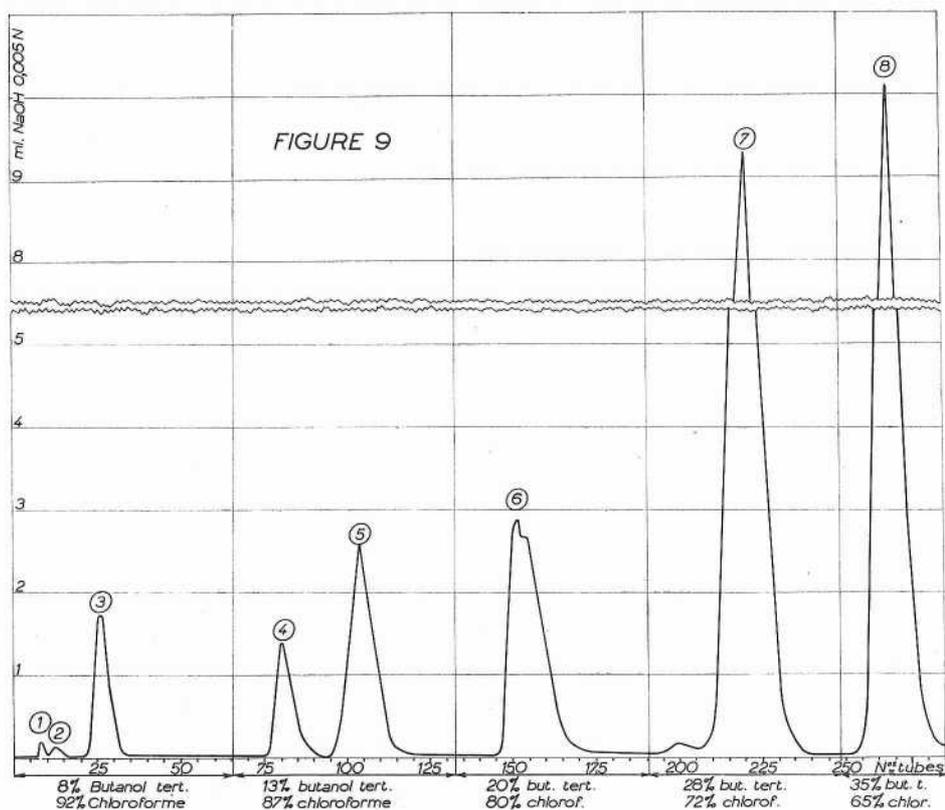
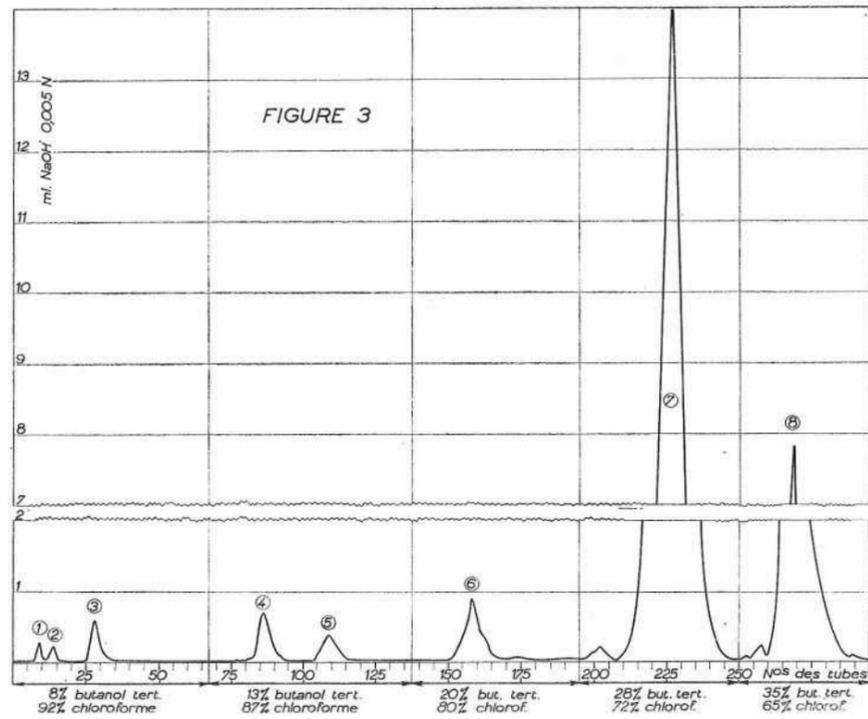


FIG. 3 A 8. — Chromatogrammes d'acides organiques extraits d'écorces.

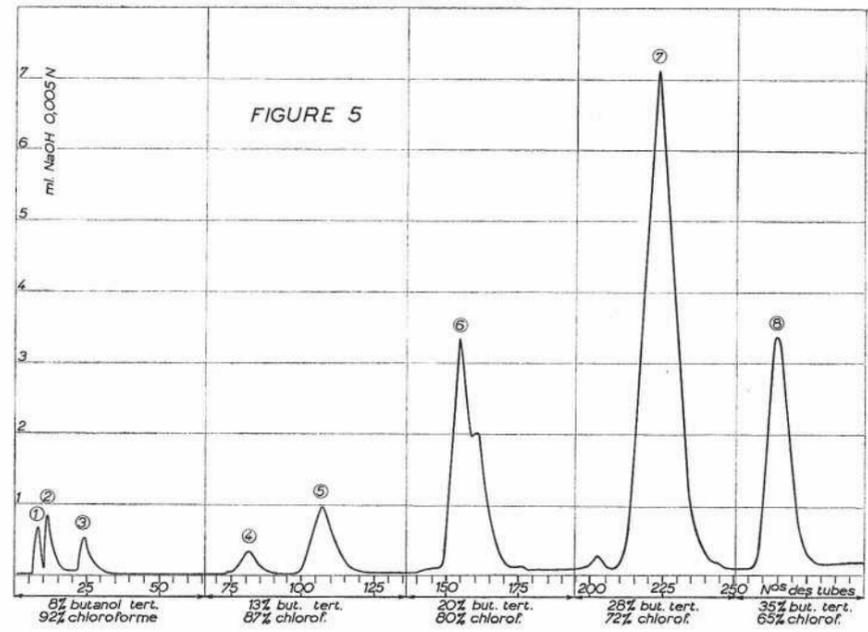
- FIG. 3. — Écorce de Lime Kusaie I₄ sans Exocortis.
 - FIG. 4. — — — avec Exocortis.
 - FIG. 5. — Écorce de Lime Rangpur « Brésil » sans Exocortis.
 - FIG. 6. — — — avec Exocortis.
 - FIG. 7. — Écorce de Poncirus trifoliata « Brésil » sans Exocortis.
 - FIG. 8. — — — avec Exocortis.
- Volume des fractions dans chaque tube : 1,85 ml.

— Exocortis



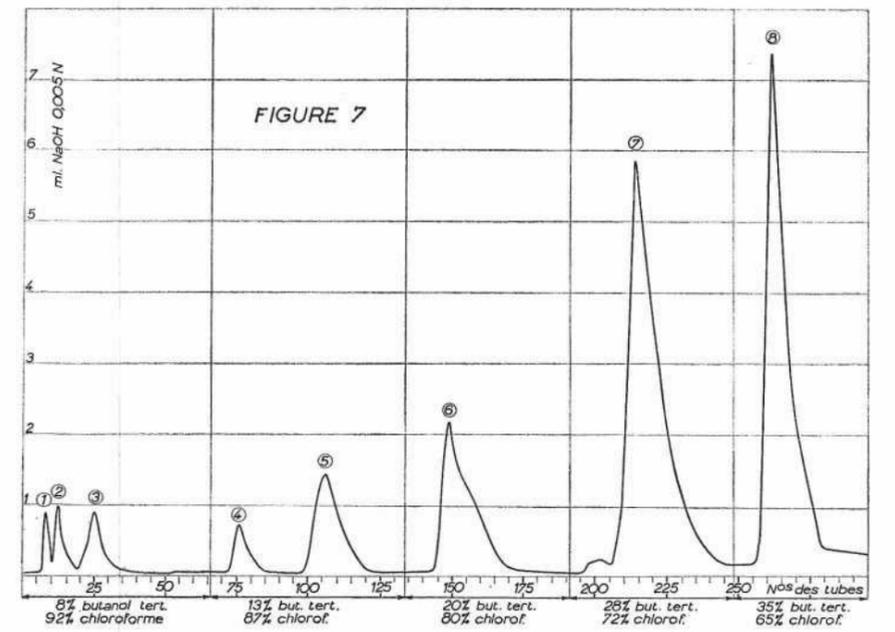
Lime Kusaie I₄

— Exocortis

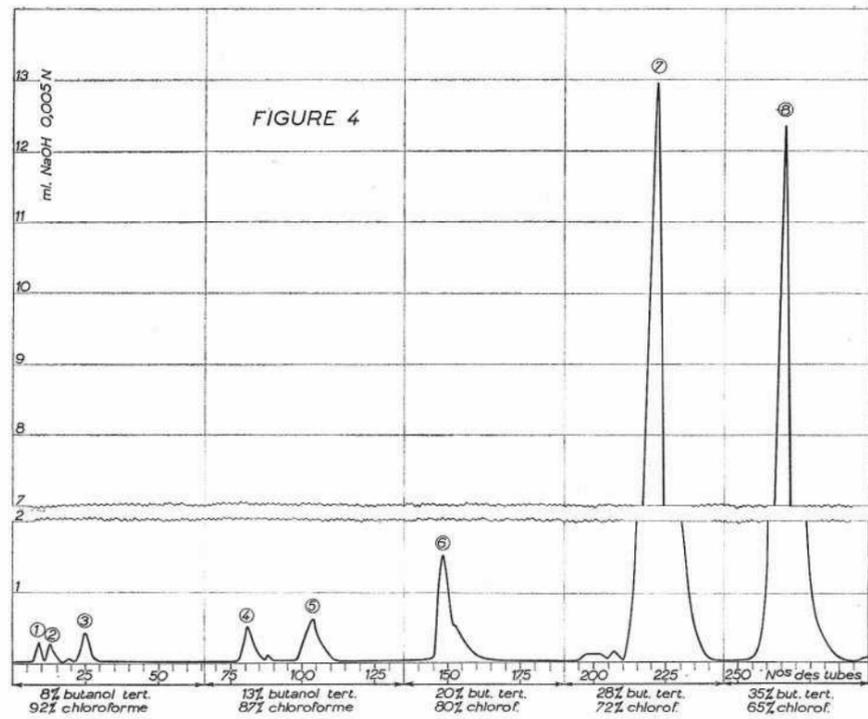


Lime Rangpur « Brésil »

— Exocortis

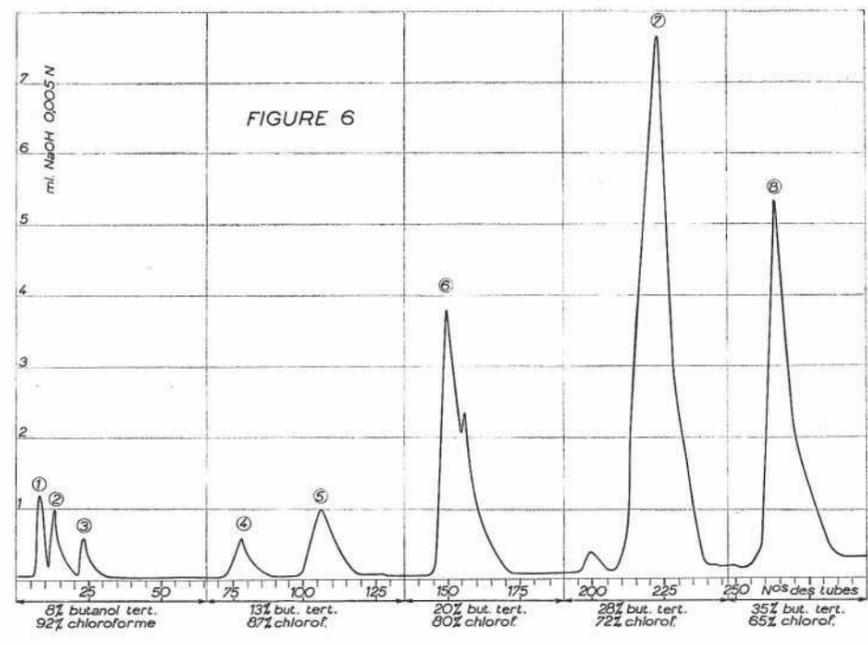


Poncirus trifoliata « Brésil »



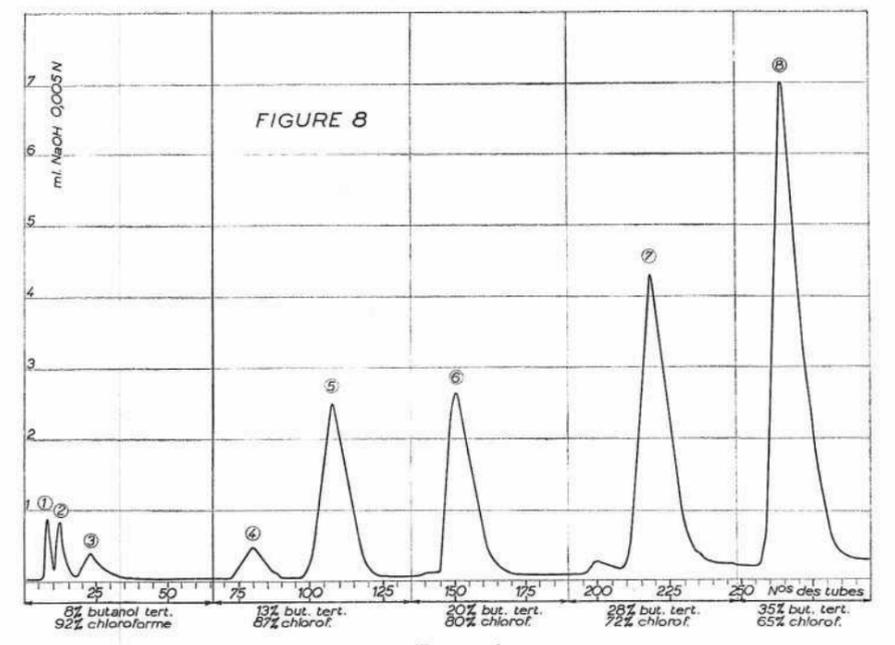
+ Exocortis

— Exocortis



+ Exocortis

— Exocortis



+ Exocortis

TABLEAU II.

μ moles d'Arginine et de Lysine par gramme d'écorce fraîche.

PROVENANCE	MATÉRIEL VÉGÉTAL	N ^{OS}	PRÉSENCE D'EXOCORTIS	ARGININE	LYSINE
U. S. A.	Lime Rangpur I ₂	1	Non	2,0	1,4
U. S. A.	Lime Rangpur I ₂	2	Oui	0,0	2,0
U. S. A.	Lime Kusaie I ₄	3	Non	2,0	1,7
U. S. A.	Lime Kusaie I ₄	4	Oui	0,6	2,0
U. S. A.	Redling Mung	5	Non	6,9	0,6
U. S. A.	Redling Mung	6	Oui	6,5	1,2
U. S. A.	Redling Mung + tristeza	7	Non	6,4	1,1
U. S. A.	Redling Mung + tristeza	8	Oui	3,0	5,0
Brésil	Lime Rangpur	9	Non	0,6	2,6
Brésil	Lime Rangpur	10	Oui	0,0	3,4
Brésil	<i>Poncirus trifoliata</i>	11	Non	0,3	2,7
Brésil	<i>Poncirus trifoliata</i>	12	Oui	0,0	1,5

écorce normale et écorce malade semble cependant moins significative pour la lysine que pour l'arginine.

C. Acides organiques dans les écorces normales et dans les écorces malades.

L'acidité totale et l'acidité organique en micro-équivalents par gramme d'écorce figurent dans le Tableau III. On voit qu'il ne semble pas exister de différence significative entre l'acidité de l'écorce normale et celle de l'écorce malade.

Les figures 3 à 8 représentent les chromatogrammes obtenus en chromatographiant les solutions des acides sur colonne de gel de silice. La nature du ou des acides correspondant à chaque pic a été déterminée d'après l'emplacement du pic sur le chromatogramme et d'après les R_f de la ou des taches obtenues par chromatographie sur papier du pic.

La comparaison des chromatogrammes des figures

3 à 8 et du chromatogramme de la fig. 9, obtenu avec des acides connus, ainsi que l'examen du Tableau IV, montrent que les pics 3, 4, 5, 6, 7 et 8 correspondent respectivement aux acides fumarique, succinique + lactique, malonique, oxalique + glycolique(?), malique et citrique. Les pics 1 et 2 n'ont pas été identifiés ; ils sont dus à l'utilisation de résines à échange d'ions. Le tableau V indique le nombre de micro-équivalents des acides organiques identifiés par gramme d'écorce.

C'est sur l'acide malique et l'acide citrique que porte la différence la plus significative entre les deux types d'écorce : dans l'écorce malade on constate une diminution de l'acide malique (le n° 10 est la seule exception) et une augmentation de l'acide citrique, par rapport à l'écorce normale. En calculant le rapport micro-équivalents d'acide malique par gramme d'écorce/micro-équivalents d'acide citrique par gramme d'écorce, on obtient une grandeur qui reflète les variations de ces deux acides à la fois ; dans tous les cas ce rapport est plus petit pour l'écorce malade que pour l'écorce normale.

Pour les autres acides, les différences sont moins nettes. Il semblerait cependant que, dans l'écorce malade, l'acide fumarique manifestât une tendance à diminuer et l'acide malonique une tendance à augmenter.

Comme dans le cas des acides aminés on retrouve, pour les acides organiques, des différences entre le matériel venant du Brésil et celui originaire de Cali-

fornie. Le tableau III montre que la Lime Rangpur ainsi que le *Poncirus trifoliata* du Brésil sont beaucoup plus pauvres en acides que le matériel de Californie. Le tableau V ainsi que les figures 3 à 8 précisent que cette faible acidité est due aux quantités beaucoup plus petites d'acide malique et d'acide citrique, aussi bien dans l'écorce normale que dans l'écorce malade.

V. DISCUSSION

Les résultats précédents montrent qu'il existe des différences assez notables entre l'écorce normale et l'écorce malade, en ce qui concerne les acides aminés et les acides organiques. Les analyses ont porté sur six paires d'échantillons, représentant 4 espèces ou variétés distinctes et provenant de trois régions différentes. Dans pratiquement tous les cas, les mêmes différences ont été constatées. Il semblerait donc que ces différences — en particulier diminution de l'arginine et de l'acide malique, augmentation de l'acide citrique — fussent caractéristiques de l'écorce malade par rapport à l'écorce normale. Des travaux préliminaires sur l'écorce de Lime Rangpur de Corse viennent de confirmer la diminution de l'arginine dans l'écorce malade mais ils n'ont pas fortifié les résultats concernant les variations respectives de l'acide malique et de l'acide citrique. La quantité des divers acides organiques dans l'écorce

semble varier avec de nombreux facteurs : milieu, état végétatif des plantes, etc., dont les effets peuvent contrebalancer ou masquer ceux dus éventuellement au facteur virus. Par contre, les variations de la teneur de l'écorce en arginine semblent être en relation plus étroite avec la présence ou non des symptômes de l'exocortis.

TABLEAU IV.

R_f des taches obtenues en chromatographiant sur papier à deux dimensions certains des acides (pics!) séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice.

1^{re} dimension : solvant alcalin; 2^e dimension : solvant acide.

	R _f ALCALIN	R _f ACIDE
Pic 3 1 tache.....	0,32	0,75
ac. fumarique.....	0,35	0,75
Pic 4 1 ^{re} tache.....	0,35	0,65
ac. succinique.....	0,37	0,62
2 ^e tache.....	0,53	0,62
ac. lactique.....	0,52	0,62
Pic 5 1 tache.....	0,23	0,61
ac. malonique.....	0,21	0,60
ac. transaconitique.....	0,12	0,65

TABLEAU III.

*Acidité totale et acidité organique.
Micro-équivalents par gramme d'écorce.*

NUMÉROS	PRÉSENCE D'EXOCORTIS	ACIDITÉ TOTALE	ACIDITÉ ORGANIQUE
1	Non	293	205
2	Oui	299	202
3	Non	246	163
4	Oui	238	154
5	Non	299	179
6	Oui	243	158
7	Non	252	179
8	Oui	266	178
9	Non	88	47
10	Oui	100	56
11	Non	115	61
12	Oui	100	56

Bien qu'on admette à l'heure actuelle que les symptômes corticaux, sur Lime Rangpur, décrits par MOREIRA et par ROSSETTI, soient dus à l'exocortis, on ne peut en être absolument certain. Les symptômes pourraient être provoqués par un virus distinct de l'exocortis, présent en même temps que lui dans les écorces malades. Il semble cependant que les virus de la Xyloporose ou de la Psorose puissent être exclus (ROSSETTI, 1961). Quoi qu'il en soit, il n'est donc pas absolument

TABLEAU V.
Acides organiques de l'écorce.
 (micro-équivalents par gramme d'écorce fraîche).

NOS	PRÉSENCE D'EXOCORTIS	FUMARIQUE	SUCCINIQUE LACTIQUE	MALONIQUE	OXALIQUE GLYCO- LIQUE	MALIQUE	CITRIQUE	MALIQUE CITRIQUE
1	Non	2,2	2,6	1,5	6,3	139,7	50,1	2,8
2	Oui	0,5	1,8	2,0	4,2	125,5	65,9	1,9
3	Non	1,5	2,3	1,5	3,7	110,6	41,3	2,7
4	Oui	0,9	1,4	2,5	6,0	77,7	63,9	1,2
5	Non	1,1	0,5	2,5	2,4	131,7	40,6	3,2
6	Oui	0,4	0,3	2,6	4,9	104,0	44,4	2,3
7	Non	0,7	0,7	0,9	3,0	131,0	39,1	3,4
8	Oui	0,7	0,6	0,9	3,0	126,0	44,3	2,8
9	Non	0,6	0,5	2,3	8,6	23,2	7,4	3,1
10	Oui	0,6	1,0	2,5	10,0	25,9	14,1	1,8
11	Non	1,7	1,2	4,4	7,8	22,3	19,9	1,1
12	Oui	0,7	1,0	7,7	7,9	14,9	22,7	0,7

prouvé que les différences biochimiques mises en évidence au cours de cette étude, entre l'écorce normale et l'écorce malade, soient dues à coup sûr à l'exocortis. Parmi le matériel étudié, celui du Brésil était très vraisemblablement atteint de trizteza en plus d'exocortis; les Redling mung nos 7 et 8 avaient certainement la tristeza. La Lime Rangpur n° 2 était atteinte de vein enation. Il ne semble pas, d'après nos résultats, que la présence de la tristeza ou du vein enation affecte les

résultats concernant les modifications biochimiques dues à l'exocortis.

V. ROSSETTI a préconisé l'utilisation de la Lime Rangpur plutôt que celle du *Poncirus trifoliata*, car les symptômes attribués à l'exocortis apparaissent plus rapidement. D'après nos résultats, l'écorce de *Poncirus trifoliata* manifeste les différences biochimiques aussi bien que la Lime Rangpur. Le Redling mung semble moins bien convenir pour ce type d'études.

VI. CONCLUSION

Parmi les différences biochimiques mises en évidence entre l'écorce normale et l'écorce malade, la plus significative semble être la plus faible teneur en arginine de l'écorce malade. Existe-t-il une corrélation certaine entre l'apparition des symptômes corticaux attribués à l'exocortis et la diminution de l'arginine dans l'écorce ? Des travaux sont en cours pour apporter une réponse à cette question.

Nous tenons à exprimer nos remerciements chaleureux à M. G. Morel pour ses nombreux conseils et ses encouragements.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BOVÉ (J.) et RAVEUX (R.). — La séparation et la détermination des acides carboxyliques de C₁ à C₆ par chromatographie de partage sur colonne de silice. II : Nouvelle technique proposée. *Bull. Soc. Chim. de France*, 1957, 376-381.
- (2) CHEFTEL (R. J.), MUNIER (R.) et MACHEBEUF (M.). — Microchromatographie sur papier des acides aliphatiques hydrosolubles et non volatils. II : Utilisation d'une phase solvante alcaline puis d'une phase solvante acide pour la microchromatographie à deux dimensions. *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 34 (1952), 380-387.
- (3) MÉNORET (Y.). — Action de l'acide 2.4. dichlorophénoxyacétique sur le métabolisme azoté des tissus de carotte cultivés *in vitro*. Thèse de Doctorat, Université de Paris, 1960.
- (4) MOORE (S.), SPACKMAN (D. H.) and STEIN (W. H.). — An improved system for the chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. *Anal. Chem.*, 30, 1958, 1185.
- (5) MOREIRA (S.). — A quick field test for Exocortis. Proc. 2nd Conf. Intern. Organization Citrus Virol. 1961, p. 40-42.
- (6) ROSSETTI (Victoria). — Testing for exocortis. Proc. 2nd Conf. Intern. Organization Citrus Virol. 1961, p. 43-49.

