

Affections virales des agrumes transmises par pucerons à l'île de la Réunion.

B. AUBERT, R. VOGEL, J.M. BOVÉ et Colette BOVÉ

AFFECTIONS VIRALES DES AGRUMES TRANSMISES
PAR PUCERONS A L'ILE DE LA REUNION

B. AUBERT, R. VOGEL, J.M. BOVE et Colette BOVE

Fruits, Jul.-aug. 1982, vol. 37, n° 7-8, p. 441-465.

RESUME - Cinq espèces de pucerons inféodés aux agrumes sont présents à l'île de la Réunion dont *Toxoptera citricidus* (KIRKALDY) espèce la plus fréquente qui transmet deux affections virales : la «Tristeza» et le «Vein enation woody gall» (VEWG). On ne connaît pas pour le moment d'ennemi naturel dans l'île capable de limiter véritablement les pullulations aphidiennes.

Dans la première partie de cet exposé, sont décrites les principales manifestations de la «Tristeza» et du «VEWG» observées en conditions naturelles. Une trentaine de lignées SRA introduites de Corse indemnes de maladies à virus puis acclimatées en vergers réunionnais ont fait l'objet de fréquents examens pendant plusieurs années. A cette liste s'ajoutaient quelques lignées locales de combavas, pamplemoussiers, limettiers et mandariniers vangassaye, ainsi qu'un «oranger Mozambique» originaire des Seychelles.

Des symptômes de «Vein clearing» ont pu être notés sur combavas, limettiers à fruits acides, pomelos, Ortanique SRA 110, tangelo Orlando, citrumelo 1452, citrumelo 4475, *Poncirus trifoliata* et diverses sélections SRA d'orangers. Par ailleurs le symptôme de «stem-pitting» s'est manifesté sur combava, limettiers à fruits acides

cédratiers Etrog 60-13, lime Rangpur, pomelos, citrumelo 1452, pamplemoussier, citrumelo 4475, *Citrus taiwanica*, Orlando SRA 21, citronniers Eureka SRA 4 et Lisbonne SRA 11, Ortanique SRA 110, Dancy SRA 20 et Page SRA 159. Plusieurs troncs de *Citrus volkameriana* et de Rough lemon ont présenté d'importants symptômes de «Woody gall» associés à du «Stem-pitting alvéolaire».

L'inoculation expérimentale par greffe d'écorce à trois séries de plantes indicatrices : la lime mexicaine, le bigaradier et *C. volkameriana*, a permis d'identifier une souche sévère de «Tristeza» hébergée par le clone de combava Ouaki B2 présentant le composant «Seedling yellow's» mais indemne de VEWG, une souche Ouaki A9 analogue par sa composition à la précédente, mais de faible virulence, ainsi qu'une association de «Tristeza» et «VEWG» sur le Rough lemon VEWG Re1 et le limettier de Tahiti/*C. volkameriana* VEWG Re2. Le clone Ouaki B2 donne une intense réaction au test ELISA contrairement au clone Ouaki A9 qui ne réagit que faiblement à ce test.

La souche Ouaki B2 très virulente induit un symptôme de type «Tristeza sensu stricto» sur une association mandarinier ou limettier/*P. trifoliata* inoculée expérimentalement par greffe d'écorce sous cage d'isolement.

Malgré la virulence de certaines souches réunionnaises de «Tristeza», l'expérience montre que la production agrumicole de l'île peut être maintenue à un bon niveau de compétitivité grâce à l'emploi de porte-greffe tolérants comme le citrange Carrizo, et à la généralisation en pépinière de la technique de prémunition.

INTRODUCTION

Les cinq espèces de pucerons rencontrées sur agrumes à l'île de la Réunion sont, par ordre de prédominance *Toxoptera citricidus* (KIRKALDY), puis *Toxoptera aurantii* (BOYER de FOSCOLOMBE), *Myzus persicae* (SULZER), *Aphis gossypii* GLOVER, et enfin *Macrosiphum euphorbiae* THOMAS, (ETIENNE et VILARDEBO, 1978).

* - B. AUBERT - IRFA - B.P. 180 - 97455 Saint Pierre Cedex (Réunion)
R. VOGEL - Station de Recherches agronomiques de Corse - San Giuliano - 20230 San Nicolao (Corse)
J.M. BOVE - Professeur à l'Université de Bordeaux II - Laboratoire de Biologie cellulaire et moléculaire - INRA - Domaine de la Grande Ferrade - 33140 Pont de la Maye
Colette BOVE - Laboratoire de Biologie cellulaire et moléculaire - INRA - Domaine de la Grande Ferrade - 33140 Pont de la Maye
Avec la collaboration technique de J. RABAUD.

T. citricidus est de loin le puceron le plus fréquemment observé. Il pullule dans tous les endroits de l'île où poussent des agrumes, c'est-à-dire jusque vers une altitude de 1300 m. Sa présence a été signalée dans plusieurs îles voisines notamment à Maurice (MAMET, 1943 - MAMET, 1967), aux Seychelles (SMITH, 1971) et à Nossi-bé (AUBERT, 1981). Cet aphide, connu aujourd'hui dans l'ensemble des régions agrumicoles de l'hémisphère Sud et de l'Asie du sud-est, joue un rôle économique important, puisqu'il transmet efficacement le virus de la Tristeza (COHEN et BOVE, 1975). Lorsque *T. citricidus* est présent dans un pays, tous les agrumes de la région peuvent être présumés porteurs de Tristeza. Ce qui n'est pas nécessairement le cas lorsqu'on a affaire à l'une ou plusieurs des autres espèces vectrices : *T. aurantii*, *M. persicae*, *A. gossypii* et *Aphis spiraecola* PATCH, puisque ce deuxième groupe de vecteurs n'assure en général qu'une dissémination beaucoup plus len-

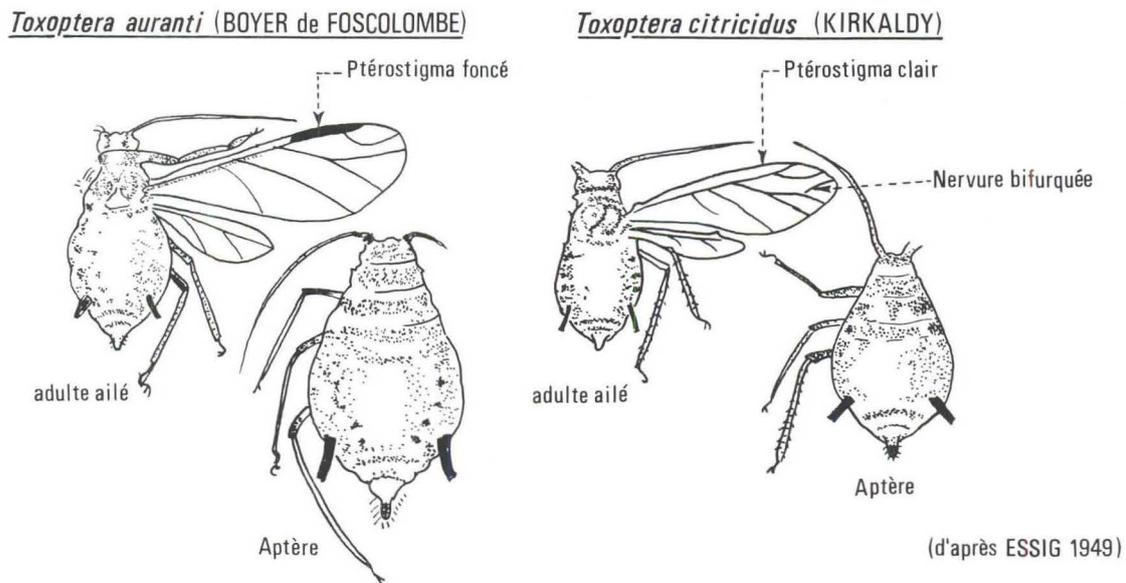


Fig. 1 • Aspect des deux pucerons de couleur foncée.

te de la maladie. *M. euphorbiae* n'a pas été reconnu jusqu'ici capable de jouer sur agrumes un rôle de vecteur, et *A. spiraeicola* ne figure pas dans l'entomofaune réunionnaise.

La plupart de ces homoptères présentent une couleur claire allant du vert-pâle au brun-jaunâtre, à l'exception toutefois de *T. citricidus* et de *T. aurantii* tous deux d'aspect brun très foncé. On arrive à distinguer *T. citricidus* de *T. aurantii* par un double caractère au niveau des ailes : le ptérostigma ne laisse pas apparaître de plage noire, et la nervure médiane bifurque au lieu d'être simple (figure 1).

Les pullulations de *T. citricidus* peuvent apparaître à toute époque de l'année. Elles sont rythmées sur les pousses végétatives et présentent une nette recrudescence en période printanière. Le nombre de générations qui se succèdent en une année atteint facilement la trentaine, en raison des cycles de multiplication agame qu'accomplissent les femelles parthénogénésiques vivipares. De véritables manchons d'insectes arrivent ainsi à se former en quelques jours autour des jeunes pousses ou des gourmands (photo 1). Les femelles parthénogénésiques sont normalement aptères. Leur durée de vie est d'environ 21 à 22 jours, période au cours de laquelle un individu donne naissance à une cinquantaine de nouveaux pucerons. Si la plante hôte ne réémet pas d'autres pousses végétatives, les colonies éprouvent peu à peu des difficultés à se nourrir sur les feuilles qui s'endurcissent en devenant adultes. Des femelles ailées migrantes apparaissent, qui iront alors fonder d'autres colonies.

Rares sont les ennemis naturels des pucerons recensés jusqu'ici à l'île de la Réunion. On peut citer un coccinellidae : *Exochomus laeviusculus* WEISE, (ETIENNE et VILARDEBO, 1978) et une ou plusieurs souches de champignons non encore déterminées. Mais l'incidence de ces ennemis sur la population aphidienne de la région est peu significative.

T. citricidus, au même titre d'ailleurs que *M. persicae* et *A. gossypii*, transmet une seconde maladie à virus des agrumes : le Vein enation woody gall VEWG (Mc CLEAN, 1954). Cette affection virale a été décrite pour la première fois en Californie par WALLACE et DRAKE (1953), puis signalée ultérieurement en Australie, en Afrique du Sud, au Japon et à l'île de la Réunion. Elle ne semble pas devoir être limitée d'ailleurs à ces territoires.

Dans les régions où la «Tristeza» et le «VEWG» sont transmis par un vecteur efficace comme *T. citricidus*, on peut s'attendre à trouver ces deux maladies à virus sur un même individu. La première est susceptible d'occasionner des troubles divers allant du dépérissement lent au dessèchement subit de la plante. Elle menace gravement l'agrumiculture de plusieurs pays du monde. L'incidence de la seconde sur la vigueur et la productivité est restée jusqu'ici assez mal définie, bien qu'elle soit quelquefois à l'origine de la formation d'importantes tumeurs sur l'écorce des organes ligneux. Les éventuels effets de synergie ou d'antagonisme pouvant s'exercer entre ces deux types d'affections sont encore très peu connus.

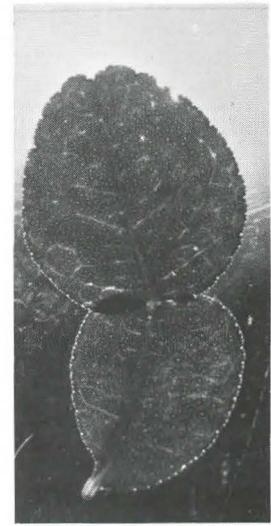
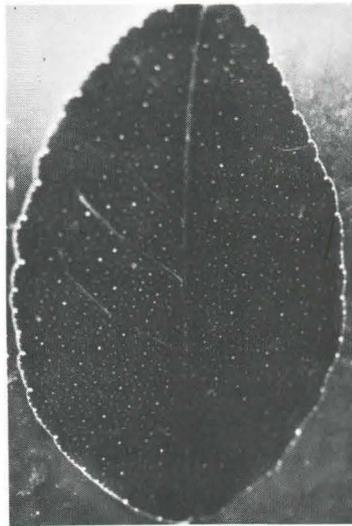
Sur le plan de l'étiologie, on a démontré que la Tristeza était causée par un virus flexueux mesurant 2 000 nm de long, 11 nm de large et appartenant au groupe des Closterovirus (KITAJIMA et al, 1964 - BAR-JOSEPH et al, 1972 - SHEPHERD et al, 1975). En ce qui concerne le Vein enation woody gall, des particules sphériques ont été observées au niveau des tumeurs, mais on ignore s'il s'agit bien de l'agent causal (WALLACE, 1975 A).

LES TROUBLES ANATOMIQUES CAUSES PAR LA «TRISTEZA» ET LE «VEWG»

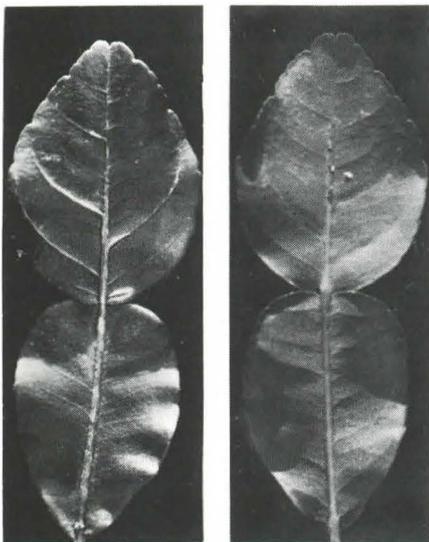
Les deux affections virales dont il est question ici occasionnent diverses anomalies du feuillage, ainsi que des



Photo 1. Jeune pousse d'agru-
me colonisée par *T. citricidus*



Photos 2 et 3. Symptômes d'éclaircissement des nervures sur feuilles de lime mexicaine (gauche) et de combava (droite) observées par transparence. La feuille de combava a été prélevée sur la lignée Ouaki B2.



Photos 4 et 5. Symptôme de «vein-corking» sur la face supérieure d'une feuille de combava (à gauche). A droite la même feuille observée du côté de la face inférieure. Dans le cas présent le «vein corking» est induit par la Tristeza.



Photo 6. Comparaison entre deux bigaradiers de même âge, l'un montrant des symptômes de «Seedling yellow's», après inoculation en conditions naturelles par pucerons, l'autre cultivé sous cage d'isolement. Au moment de la manifestation des premiers symptômes de jaunissement sur le sujet malade, les deux bigaradiers ont été rabattus à la même hauteur:

Le cliché a été pris 8 mois après cette taille de rabattage.

(Photos B. AUBERT).

troubles de fonctionnement du cambium. La nature et l'intensité de ces symptômes foliaires ou corticaux varient selon le groupe botanique d'agrumes auquel on a affaire.

La Tristeza.

Les symptômes foliaires de Tristeza se manifestent par l'apparition de tirets clairs sur les segments de nervures des limettiers à fruits acides (lime mexicaine : *Citrus aurantifolia* TAN., lime de Tahiti : *Citrus latifolia* HORT. ex TAN.), et du combava : *Citrus hytrix* DC. Il s'agit du symptôme de «Vein clearing» spécifique de la Tristeza. Les jeunes feuilles observées par transparence laissent apercevoir, sur les nervures secondaires, des secteurs ne diffusant pas la lumière, secteurs qui correspondent à des segments de nervures anormalement gonflés d'eau. Ces segments sont transparents au même titre que les points marquant l'emplacement des glandes à huile essentielle (Photos 2 et 3). D'autres espèces comme le pomelo : *Citrus paradisi* MACF., la lime douce : *Citrus limettoïdes* TAN. ou encore *Citrus macrophylla* WESTER, présentent occasionnellement des symptômes de «Vein clearing» induits par la Tristeza.

Sur les feuilles des limettiers acides et du combava cette même affection virale peut provoquer un phénomène de subérification des nervures. La réaction connue sous le nom de «Vein corking» dans la littérature anglo-saxonne n'est pas spécifique de la Tristeza. Elle apparaît en effet également sur les agrumes sévèrement atteints de «Greening» ou souffrant d'une carence en bore. La subérification des nervures n'intéresse que la face supérieure du limbe (Photos 4 et 5).

Un troisième syndrome foliaire lié à la Tristeza est le jaunissement momentané des jeunes semis, appelé «Seedling yellow's». Il s'accompagne d'un intense rabougrissement du sujet (Photo 6). Ce symptôme transmissible par pucerons (WALLACE, 1975 B) peut apparaître sur les espèces botaniques suivantes : le bigaradier : *Citrus aurantium* L., le citronnier : *Citrus lemon* L. BURM. ou encore le pomelo : *Citrus paradisi* MACF. Le «Seedling yellow's» s'apparente à un phénomène d'hypersensibilité passagère. Après avoir manifesté un accident de végétation à la suite d'une première inoculation, les plants arrivent à reprendre une vigueur normale et devenir alors définitivement prémunis. On ne peut donc réellement observer ce syndrome en zone contaminée, que sur de jeunes plantules exposées pour la première fois à des attaques de pucerons. L'étiologie du «Seedling yellow's» n'est pas encore connue avec précision. On pense que l'agent causal est constitué d'un complexe viral dans lequel figure la Tristeza.

Les symptômes corticaux de Tristeza apparaissent sur plusieurs espèces ou cultivars d'agrumes. Ils sont le résultat d'une destruction d'îlots du cambium, qui se manifeste par deux troubles anatomiques facilement observables à l'oeil nu sur les organes ligneux : le «Stem-pitting» et l'«Inverse stem-pitting». Le Stem-pitting désigne des projections d'écorce dans le bois, avec formation de «creux» en négatif

à la surface de l'aubier. Les limettiers à fruits acides et le combava sont particulièrement sujets à ce type de désordre, lequel peut se manifester également sur d'autres *Citrus*. Il n'affecte cependant pas toutes les espèces du genre. Le bigaradier par exemple est tolérant au «Stem-pitting» induit par la Tristeza. Mais dans le cas d'une association avec l'oranger, le bigaradier est par contre sujet à l'«Inverse stem-pitting», un autre syndrome cortical, occasionné également par la Tristeza, et qui prend la forme d'une projection de pointes de rayons médullaires dans l'écorce ; celle-ci laisse apparaître en négatif des «trous d'épingle» (Photo 17).

La manifestation des troubles corticaux fait suite à une désorganisation des tissus du phloème qui peut être mise en évidence par observation microscopique (SCHNEIDER, 1954).

On connaît une forme foudroyante de Tristeza : le «Quick decline», affectant plusieurs associations greffées sur bigaradier (notamment l'oranger sur bigaradier). Les arbres meurent en quelques mois par suite d'une destruction des tubes criblés, avant même que des symptômes corticaux aient eu le temps de se manifester. C'est en raison de cette soudaineté, et de l'extension rapide de la maladie, que le nom de «Tristeza» a été donné à cette épiphytie au début du siècle en Amérique du Sud. On a affaire dans ce dernier cas au symptôme de «Tristeza sensu stricto» qui revêt la forme d'une maladie d'association. Certaines combinaisons avec le bigaradier sont considérées comme tolérantes à la «Tristeza sensu stricto», par exemple le citronnier greffé sur bigaradier, et peut-être aussi le bergamotier sur bigaradier.

Le Vein enation woody gall (VEWG).

Comme son nom l'indique, le VEWG peut prendre deux aspects différents. Sur bigaradier (*Citrus aurantium* L.), et lime mexicaine (*Citrus aurantifolia* TAN.), il se traduit par l'apparition de petites protubérances des nervures faisant saillie du côté de la face inférieure du limbe et appelées «énations». Sur *Citrus volkameriana* TEN. et PASQ., et Rough lemon (*Citrus jambhiri* LUSH.) la même maladie se manifeste par le développement de galles («Woody gall»), en forme de chou-fleur sur les organes ligneux. Ces galles apparaissent au niveau du tronc, des branches et quelquefois même des racines, en raison d'un dérèglement de l'activité cambiale, lequel fait suite généralement à une blessure. Par transmission croisée à ces différents cultivars d'agrumes en utilisant la technique de la greffe d'inoculation, WALLACE et DRAKE (1960), ont montré que les deux types de symptômes provenaient d'une même maladie.

GREFFE D'INOCULATION ET PLANTES INDICATRICES REAGISSANT A LA TRISTEZA ET AU VEWG

L'étude symptomatologique du complexe viral transmis par puceron, fait appel à la méthode classique de l'inoculation par plaquage d'écorce sur des plantes indicatrices

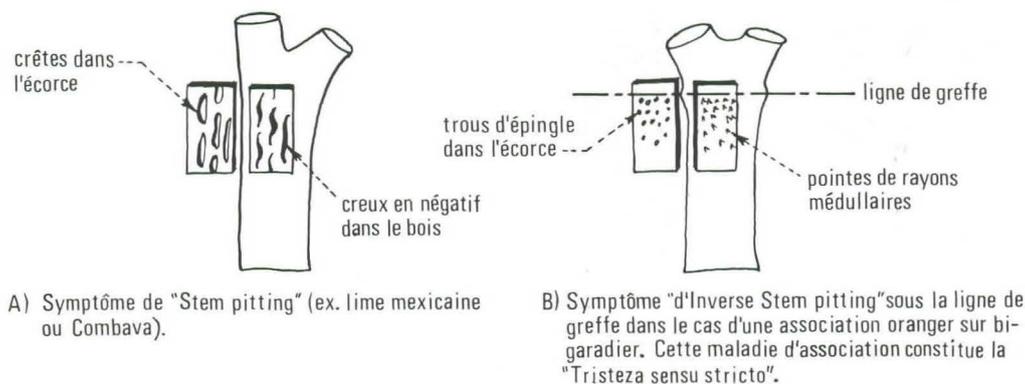


Fig. 2 • Symptômes corticaux de "Tristeza".

cultivées sous cage d'isolement. La greffe d'inoculation consiste à mettre en contact un morceau d'écorce fraîche du plant à tester, avec le cambium du plant receveur. Ce dernier pourra être constitué directement de la plante indicatrice : technique A (figure 3) ou servira simplement de support à l'inoculum d'une part et à la plante indicatrice d'autre part. Il y aura dans le second cas deux types de greffe, une greffe d'inoculation et une greffe de multiplication : technique B (figure 4). En utilisant les techniques A ou B, il est possible d'obtenir expérimentalement l'apparition des symptômes foliaires et des symptômes corticaux sur la plante indicatrice.

On notera au passage, qu'une simple greffe de multiplication (figure 5) (par exemple à l'écusson) réalise une soudure des cambiums, et qu'elle constitue de ce fait une inoculation pour le porte-greffe, si l'écusson est contaminé. Comme dans un tel cas le porte-greffe est en général sectionné au-dessus de l'écusson, il ne pourra laisser apparaître que des symptômes corticaux. A moins que des gourmands ne repartent sous la ligne de greffe comme c'est quelquefois le cas.

La greffe d'inoculation permet de transférer l'ensemble d'un complexe viral hébergé par une plante. Dans le cas d'une transmission par pucerons, on verra plus loin que cette condition n'est pas nécessairement réalisée.

Le virus de la Tristeza étant constitué d'une particule longue et fragile, il est très difficile de transmettre cette maladie mécaniquement (GARNSEY et al, 1977). Pour le VEWG, on ne connaît pas non plus de mode de transmission mécanique. Ces deux affections virales peuvent néanmoins être inoculées par l'intermédiaire de ponts de cuscute, mais aucune d'elle ne passe à travers la graine.

Les plantes indicatrices utilisées pour rechercher la présence de «Tristeza» et de «VEWG» appartiennent uniquement au genre Citrus. Contrairement à d'autres maladies à virus des agrumes on ne peut employer ici des plantes hôtes herbacées.

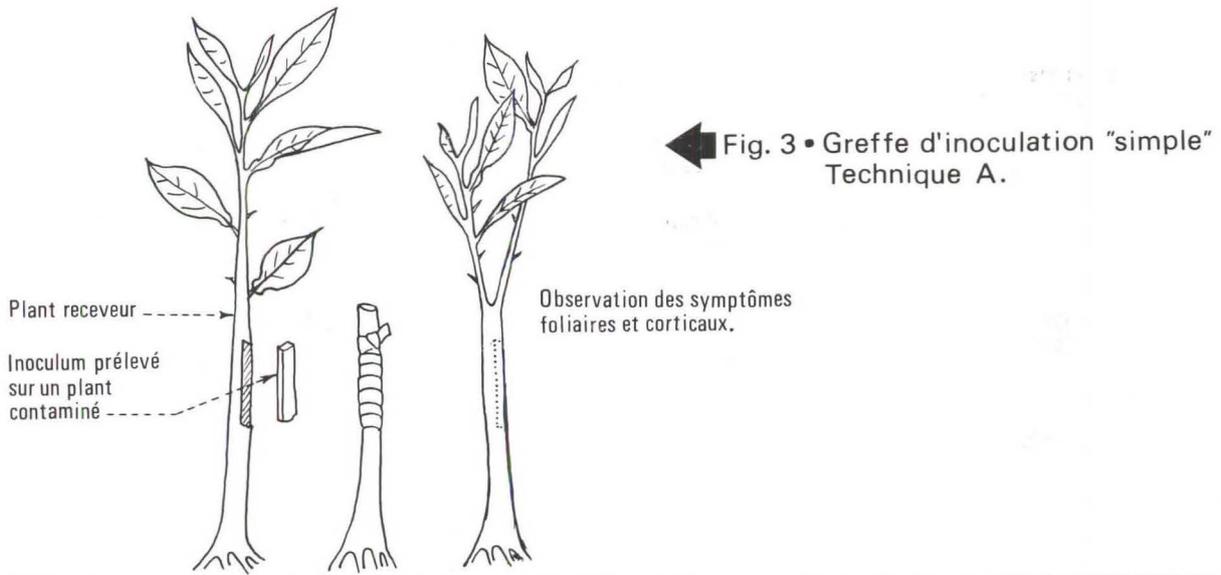
Les six espèces botaniques les plus couramment retenues

présentent différents types de sensibilité à la «Tristeza» et au «VEWG», mais peu d'entre elles donnent des réactions exclusives d'un seul symptôme. Ainsi pour mettre en évidence les symptômes foliaires du «VEWG» on ne dispose pas de plantes indicatrices répondant spécifiquement à l'«énation» puisque les deux espèces capables d'exprimer ce symptôme, le limettier et le bigradier, réagissent également soit au «Vein clearing» pour la première ou au «Seedling yellow's» pour la seconde (tableau 1).

En ce qui concerne les troubles corticaux par contre, il existe des plantes indicatrices exprimant séparément soit le symptôme de «Stem-pitting», d'«Inverse stem-pitting» ou celui de «Woody gall». Il est à remarquer que les espèces sensibles au «Vein-clearing» sont, dans le cas présent, également sensibles au «Stem-pitting», et que la lime mexicaine comme le bigradier, peuvent manifester deux symptômes foliaires et un symptôme cortical (tableau 1).

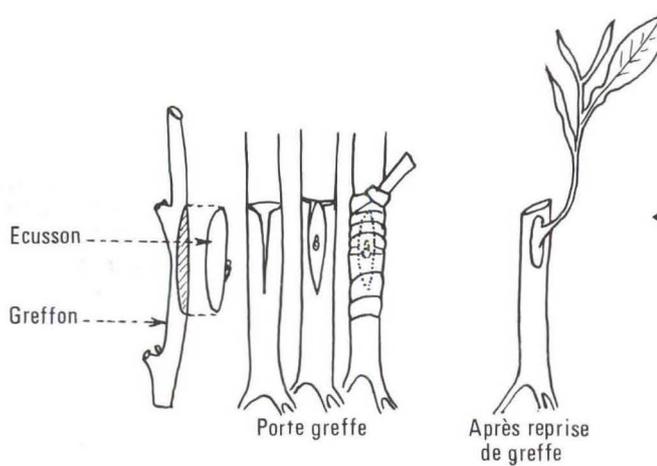
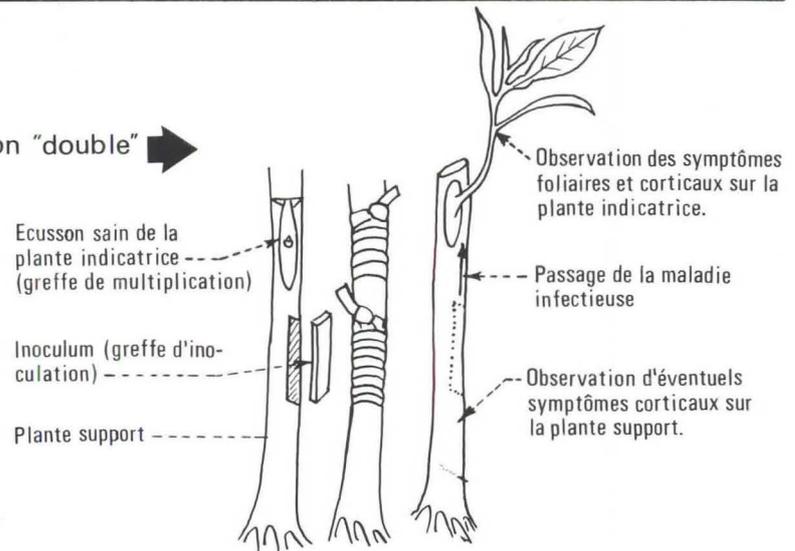
NOTION DE SOUCHES FAIBLES ET DE SOUCHES VIRULENTES

Pour la «Tristeza», la relation «virus-vecteur» est de type semi-persistante. Elle se caractérise par le fait qu'un puceron infectieux peut perdre son pouvoir de transmission après une durée d'alimentation de 24 heures sur une plante saine (COSTA et GRANT, 1951), le jeûne n'augmentant pas le pouvoir infectieux (BENNETT et COSTA, 1949). Vis-à-vis d'un complexe viral de Tristeza incluant différentes souches, les pucerons peuvent jouer un rôle de «filtre», et ne transmettre que certaines composantes de ce complexe (BAR-JOSEPH et al, 1977). On voit que la notion de degré de virulence des souches, repose à l'origine sur le mode de transmission par l'insecte. GRANT et COSTA (1951) lors d'études effectuées au Brésil, ont les premiers, mis en évidence l'existence de souches faibles et de souches virulentes de «Tristeza». Une des conséquences de cette découverte, a été de rechercher des effets de prémunition contre les souches virulentes par l'emploi de souches faibles



← Fig. 3 • Greffe d'inoculation "simple" Technique A.

Fig. 4 • Greffe d'inoculation "double" Technique B. →



← Fig. 5 • Greffe de multiplication "simple".

TABLEAU 1 - Plantes indicatrices réagissant au VEWG, à la Tristeza ou au Seedling yellow's
+ réaction possible après inoculation, - pas de réaction après inoculation).

Maladies	Symptômes foliaires				Symptômes corticaux			
	Indicateurs → Symptômes ↓	Limettier Combava	Bigaradier Citronnier	<i>C. volkameriana</i> et Rough lemon	Limettier Combava	Bigaradier Citronnier	<i>C. volkameriana</i> et Rough lemon	Indicateurs ← Symptômes ↓
Tristeza	V. clearing	+	-	-	+	- *	-	Stem-pitting Inverse stem-pitting
VEWG	V. enation	+ *	+ **	-	-	-	+	Woody gall
Seedling yellow's	Jaunisse et rabou- grissement	-	+	-				
* - lime mexicaine seulement ** - bigaradier seulement					* on peut observer très exceptionnellement du Stem-pitting sur citronnier.			

(COSTA et al, 1954 - OLSON, 1956 - STUBBS, 1964). Le fait, pour une plante hôte sensible, de recevoir au départ une souche faible de «Tristeza», peut atténuer considérablement l'expression des symptômes de la maladie, même en cas de surinoculation ultérieure de souches virulentes par les pucerons. MULLER et COSTA, 1972, ont largement fait appel à cette technique de «prémunition», au point de relancer la culture de variétés d'agrumes considérées jusque là comme condamnées.

Dans le cas du «Vein enation woody gall», on connaît l'existence de souches qui induisent de nombreuses énaitions sur feuille, alors que d'autres n'expriment que très faiblement ce symptôme (KOIZUMI et SASAKI, 1980). Selon ces mêmes auteurs, il existerait des interactions entre Tristeza et VEWG, lorsque ces deux maladies à virus sont hébergées par une même plante hôte.

Effet de la température sur la virulence.

Les conditions ambiantes de températures peuvent revêtir une grande importance dans la manifestation des affections virales. Au-delà de 30°C par exemple, le mécanisme de réplication du virus de la «Tristeza» dans la plante hôte se trouve altéré ou freiné, et des changements de comportement ou de dynamique des populations interviennent au niveau des vecteurs (BAR-JOSEPH et LOBENSTEN, 1973 - ROISTACHER et al, 1974).

Ces particularités obligent à tenir compte dans la mesure du possible des conditions climatiques subies par les plantes qui font l'objet d'un examen.

*

Pour ces deux maladies à virus transmises par pucerons que sont la «Tristeza» et le «VEWG», l'ensemble «virus, vecteur, plante hôte» se trouve donc sous la dépendance de très nombreux facteurs. Dans chaque territoire un réseau de relations très spécifiques arrive à se créer entre ces trois composantes. Il en résulte une grande diversité dans la virulence des souches, d'un pays à l'autre.

Nous nous proposons de décrire ici les principales manifestations de la «Tristeza» et du «VEWG» observées dans les conditions naturelles de l'île de la Réunion. On exposera en second lieu les méthodes ayant permis d'obtenir expérimentalement par greffe d'inoculation plusieurs types de symptômes à partir de plantes hébergeant un complexe viral contracté à l'origine par le biais des pucerons.

Deux objectifs prioritaires ont été fixés à ces travaux : la recherche de porte-greffe tolérants d'une part, et l'emploi de la technique de prémunition d'autre part. En pays contaminés, l'expérience a montré que ces deux méthodes permettaient de maintenir la production agrumicole à un bon niveau de compétitivité.

L'étude entreprise sur la «Tristeza» et le «VEWG» vient s'ajouter à celle effectuée antérieurement sur le «Greening» (AUBERT et al, 1981). Les plants qui ont fait l'objet de la présente étude appartenaient à des lignées d'agrumes indemnes de cette dernière maladie. Contrairement à la «Tristeza» et au «VEWG», le «Greening» n'est pas d'origine virale, mais d'origine bactérienne. Il est transmis par psylles et non par pucerons.

Première partie

OBSERVATIONS DES SYMPTOMES DE TRISTEZA
ET DE VEWG «*IN SITU*»

Matériel végétal examiné et conditions d'observation.

La liste du matériel végétal sur lequel ont été recherchés les symptômes de Tristeza et de VEWG sera tout d'abord donnée. Puis on analysera les conditions de température prévalant dans les différentes zones agrumicoles prospectées. Enfin quelques techniques d'observations seront précisées, avant de décrire en détail la nature et l'intensité des symptômes occasionnés par l'une et l'autre maladie dans les conditions de l'île de la Réunion.

Matériel végétal examiné.

De nombreux agrumes ont été observés pendant plusieurs années, soit en station d'essai, en vergers pilotes ou encore dans les jardins privés. Des prospections ont également été entreprises en zone forestière sur trois lignées d'agrumes devenues spontanées dans le sud-est de l'île : le Rough lemon localement connu sous le nom de «Citron doux de St Philippe», la vangassaye (une mandarine s'apparentant à *Citrus reshni* HORT. ex TAN.), et le bigaradier.

Trente lignées d'agrumes indexées par VOGEL (1966) et reconnues indemnes de maladies à virus ont été introduites de Corse. Au bout de quelques années d'acclimatation à la Réunion ces lignées ont fait l'objet d'examen fréquents. L'étude s'est étendue également à une dizaine d'espèces ou variétés de porte-greffe. La liste de ce matériel végétal figure au tableau 2.

A l'origine, les graines de porte-greffe ont été obtenues d'établissements spécialisés offrant des garanties d'authenticité variétale : Ets WILLITS et NEWCOMB de Californie, Station de Recherches agronomiques de Corse.

Après germination, les jeunes plantules ont été repiquées en pleine terre, les sujets hors norme tels que cols de cygne, albinos ou ceux dont la taille s'écartait de la moyenne étant éliminés, en vue du maintien de la pureté variétale. Cette dernière précaution garantissait une bonne uniformité génétique des porte-greffe en raison du taux élevé de polyembryonie des espèces retenues.

Le programme de traitements insecticides effectués en pépinière sur ces plants aussi bien avant qu'après greffage éliminait les risques de contamination par psylles, mais n'excluait pas une possibilité de fréquentation des jeunes pousses par les pucerons.

N'ont été retenus pour les observations en vergers ou carrés d'essai, que les arbres ayant reçu des soins agronomiques réguliers, cultivés à l'abri des contaminations de psylles vecteurs du «Greening» et ne montrant pas de symptômes typiques de cette maladie.

Conditions climatiques.

Les principaux sites de référence retenus s'étagaient dans une gamme d'altitude allant du niveau de la mer à 1 100 mètres (figure 6 et tableau 3).

L'île de la Réunion située à 21°6 de latitude Sud possède un climat à deux saisons : une saison fraîche de mai à octobre, et une saison chaude de novembre à avril.

Au-delà de 1 000 mètres d'altitude, les conditions de température deviennent peu favorables au développement des agrumes. En effet la moyenne mensuelle des minimums est inférieure à 12,8°C, température qui correspond au zéro physiologique des agrumes, et celle des maximums est inférieure à 20°C (figure 7).

Dans ces conditions les arbres présentent une activité cambiale très réduite, et les symptômes corticaux qui apparaissent normalement à la faveur de la croissance diamétrale des organes ligneux sont considérablement atténués.

Par contre en-dessous de 300 mètres d'altitude la moyenne mensuelle des maxima est presque toujours proche de 30°C. Celle des minima se situe bien au-dessus du zéro physiologique des agrumes. Les arbres soumis à ce régime thermique présentent une croissance vigoureuse. Sur le tableau 3 on peut constater qu'il existe cependant une importante différence de température entre saison chaude et saison fraîche. Au cours de cette seconde période, la croissance marque un net ralentissement. On a observé à plusieurs reprises que les symptômes foliaires et corticaux apparaissaient plus vite et étaient plus marqués sur les organes ayant accompli leur développement en saison chaude. Ce qui a conduit à choisir de préférence l'époque de fin de saison fraîche pour les greffes d'inoculation.

Techniques particulières d'observation.

Pour la détection du «Vein clearing», le limbe a été placé entre l'observateur et une source lumineuse. Tous les clichés numérotés de 7 à 12 ont été effectués à contre-jour, comme l'atteste le liseré blanc entourant les feuilles. On a soigneusement vérifié l'absence de chancre citrique sur les limbes soumis à examen puisque les tissus du mésophylle envahis par *Xanthomonas citri* sont légèrement transparents en début d'attaque.

L'évaluation des dégâts de l'écorce a fait intervenir diverses techniques d'observation. Tout d'abord la mise à nu de l'assise génératrice libéro-ligneuse a été précédée d'un étuvage des morceaux de branches, de racines ou de tronc. Le décollement d'écorce est ainsi rendu plus facile, ce qui permet d'évaluer avec plus de précision l'importance du «Stem-pitting» ou de l'«Inverse stem-pitting». On a quelquefois procédé sur les arbres à un grattage superficiel de l'écorce jusqu'au phloème suivi d'un badigeon à la solution iodo-iodurée. Cette seconde technique utilisée par

TABLEAU 2 - Liste des clones de variétés et de porte-greffe examinés.

CLONES DE VARIETES INTRODUITS DE CORSE			
ORANGER : <i>Citrus sinensis</i> L. OSB.		MANDARINIERS :	
Lignées :		Lignées :	
Hamlin	SRA 41	<i>Citrus nobilis</i> LOUR : King	SRA . 273
Pineapple	SRA 42	<i>Citrus deliciosa</i> TAN. : Commune	SRA 118
Valencia late	SRA 17 et 18	<i>Citrus clementina</i> HORT. ex TAN. : Clémentine	SRA 63
Sweet Seedling	SRA 50	<i>Citrus tangerina</i> HORT. ex TAN. : Dancy	SRA 20
Washington navel	SRA 141	<i>Citrus reticulata</i> : Beauty	SRA 13B7
Cadenera	SRA 233	Ponkan	SRA 28 B7
HYBRIDES DE MANDARINIERS		KUMQUAT	CEDRATIER <i>Citrus medica</i>
Lignées :		Nagami	SRA 169
Carvalhal	SRA 111	Marumi	SRA 123
Fortune	SRA 31	POMELOS <i>Citrus paradisi</i> MACF	
Fremont	SRA 147	Lignées :	LIMETTIER :
Fairchild	SRA 30	Red Blush	SRA 56
Kara	SRA 4B7	Marsh	SRA 8
Lee	SRA 49	Shambar	SRA 22
Malvasio	SRA C91	CITRONNIERS : <i>Citrus limon</i> (L.) BURM.	
Murcott	SRA 32	Lignées :	Eureka
Page	SRA 159		SRA 4
Robinson	SRA 47		Lisbonne
Orlando	SRA 21		SRA 16
Ortanique	SRA 110		
Nova	SRA 158		
CLONES DE VARIETES REUNIONNAISES			
COMBAVA : <i>Citrus hystrix</i> DC		PAMPLEMOUSSIERS : <i>Citrus grandis</i> L.O.	
Lignées :		CITRON GALET : <i>Citrus aurantifolia</i>	
Ouaki B2		TAN : diverses lignées	
Ouaki A9		ORANGE MOZAMBIQUE : hybride de combava	
PORTE-GREFFE IMPORTES			
Bigaradier	<i>Citrus aurantium</i> L.	<i>Citrus taiwanica</i> TAN. et SH.	
Lime Rangpur	<i>Citrus limonia</i> HORT. ex. TAN.	<i>Citrus volkameriana</i> TEN. et PASQ.	
Mandarine Cléopâtre	<i>Citrus reshni</i> HORT. ex. TAN.	Citrange Troyer	
Rough lemon	<i>Citrus jambhiri</i> LUSH	Citrange Carrizo	
		Citrumelo 1452	
		Citrumelo 4475	

TABLEAU 3 - Données climatiques observées sur les principaux sites de référence choisis.

	Altitude (m)	Pluviométrie annuelle (mm)	Températures (°C)			
			Saison chaude		Saison fraîche	
			maxi	mini	maxi	mini
Plaine des Palmistes	1 100	4 000	21,2	11,8	19,7	9,8
Cilaos	1 070	1 429	24,6	15,7	20,1	11,2
Tampon PK 13	737	1 608	24,4	16,6	21,4	11,5
Bassin Martin	300	2 743	28,1	19,3	24,0	15,1
Bassin Plat	120	2 130	28,2	20,8	24,8	15,3
Etang-Salé	5	966	30,9	19,6	26,2	15,7
Saint-Benoît	10	3 615	29,6	21,3	25,6	17,5

BITANCOURT (1944) au Brésil peut mettre en évidence un éventuel blocage de la migration descendante d'amidon au-dessous de la ligne de greffe, et apporter la preuve d'un arrêt de l'activité cambiale à ce niveau.

Enfin des tests sérologiques ont été effectués sur limet-

tiers et combavas en utilisant la technique ELISA. Le sérum anti-Tristeza a été obtenu avec du virus isolé et purifié à partir de jeunes pousses de combavas collectées à la Station de Bassin-Martin.

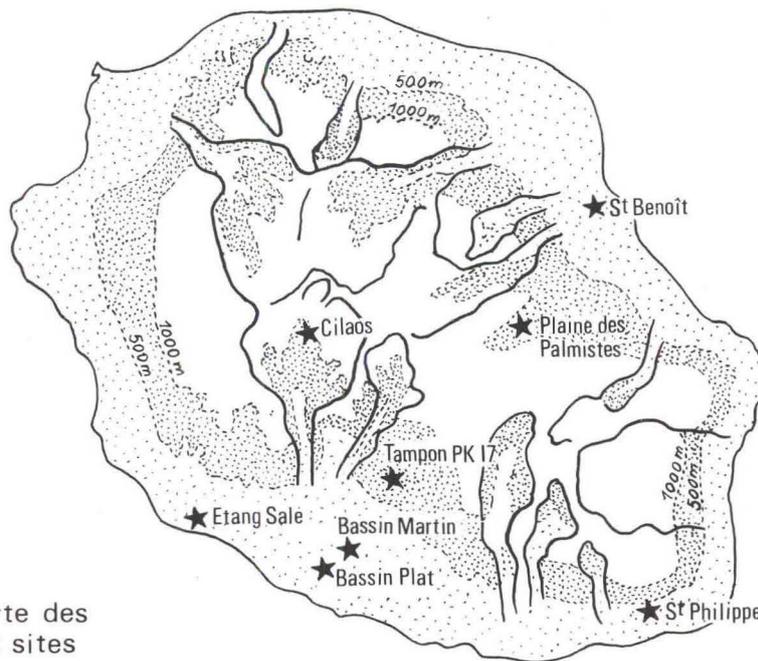


Fig. 6 • Carte des principaux sites de référence.

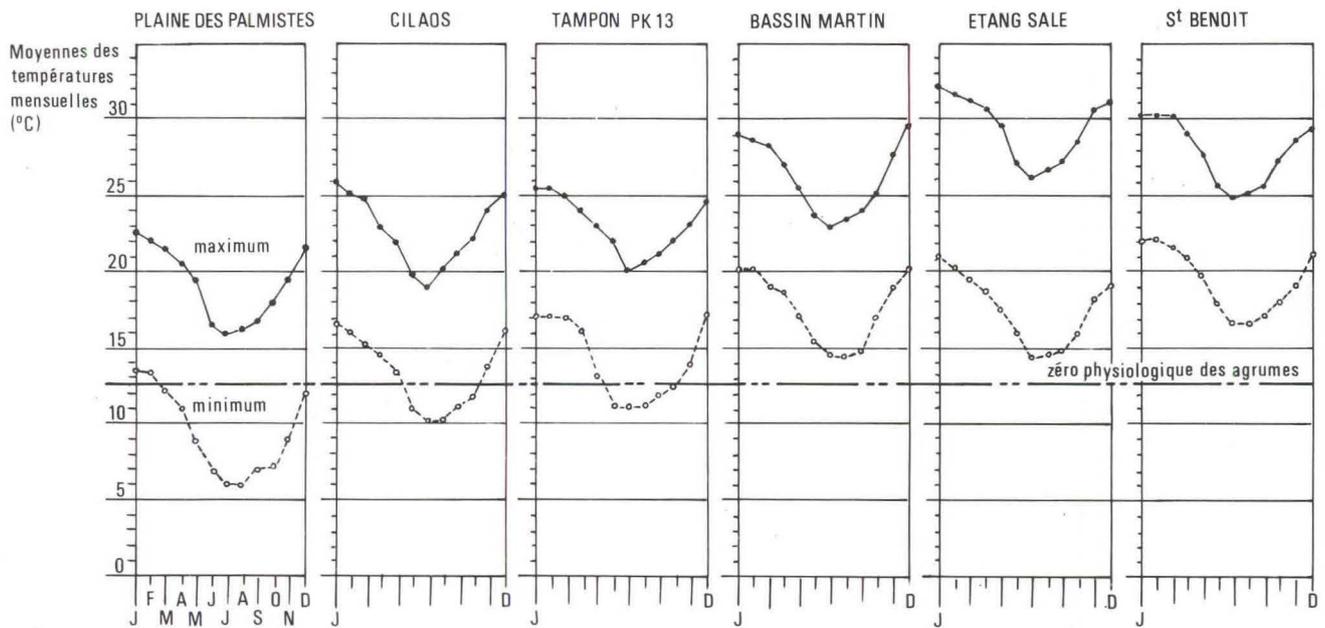


Fig. 7 • Moyennes mensuelles des minimums et des maximums relevés sous abri dans six régions agrumicoles de la Réunion.

Description des symptômes foliaires et corticaux.

Symptômes foliaires.

On passera successivement en revue les symptômes de «Vein clearing», de «Vein corking» et «Seedling yellow's» pour la Tristeza, ainsi que celui de l'énation pour le VEWG.

● L'éclaircissement des nervures ou «Vein clearing».

A l'île de la Réunion, les symptômes de «Vein clearing» apparaissent couramment sur combava, lime mexicaine, ou lime de Tahiti.

Lorsqu'on observe par transparence les feuilles de ces

Exemples de symptômes de «Vein clearing» observés sur des plants inoculés en conditions naturelles par pucerons.

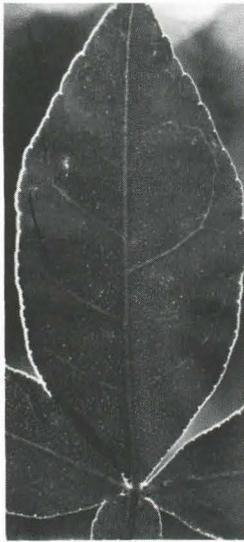


Photo 7.
Citrumelo 4475.



Photo 8. *Poncirus trifoliata*.



Photo 9. Tangor
Ortanique.

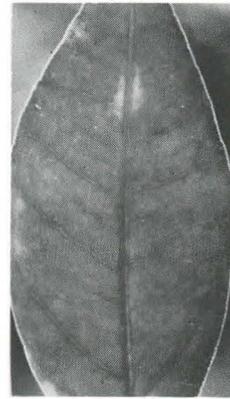


Photo 10.
Tangelo Orlando.

Par comparaison :
feuilles de plants témoins issus de
semis et cultivés sous cage d'isole-
ment à l'abri des pucerons.



Photo 11. Citrumelo.

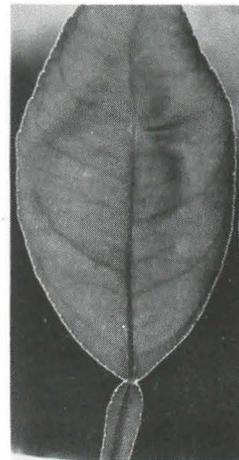


Photo 12. Tangelo
Orlando.

(Photos B. AUBERT).

différentes espèces, on constate en suivant les nervures que le nombre de segments ne diffusant pas la lumière est très variable. Il diminue en général avec l'âge de la feuille. C'est pourquoi on a retenu pour diagnostiquer ce symptôme des limbes venant juste d'atteindre leur maturité fonctionnelle. Par ailleurs dans une même espèce, on constate que certains clones montrent des symptômes de «Vein clearing» plus prononcés que d'autres.

C'est le cas notamment du combava Ouaki B2. Multiplié par greffe à plusieurs dizaines d'exemplaires, ce clone a systématiquement fourni des arbres rabougris, peu productifs et atteints d'un sévère «Stem pitting». Les feuilles de cette lignée montrent de nombreux segments de nervure éclaircis comme on peut le constater sur la Photo 3. Dès que les rameaux atteignent l'âge de 9 à 10 mois, beaucoup de limbes laissent apparaître un «Vein corking» très proéminent (Photo 4). La lignée Ouaki B2 qui héberge une souche sévère de Tristeza donne une intense réaction au test ELISA.

Pour d'autres lignées de combava, par exemple pour le clone Ouaki A9, le symptôme de «Vein clearing» reste très discret. Il faut souvent passer en revue plusieurs dizaines de feuilles avant de trouver quelques segments de nervure éclaircis. Le clone A9 donne des arbres vigoureux et beaucoup plus productifs que le clone B2. Il réagit faiblement au test ELISA.

On verra plus loin que ces deux souches de Tristeza apparues spontanément dans le sud de l'île ont été utilisées pour différents essais de transmission expérimentale par greffe d'inoculation.

L'examen récent de la collection botanique installée à la station de Bassin-Martin, a révélé la présence de «Vein clearing» sur plusieurs espèces ou variétés d'agrumes. On mentionnera tout d'abord deux hybrides de pomelos, tous deux issus d'un croisement entre *Citrus paradisi* MACF et *Poncirus trifoliata* L. RAF, le Citrumelo 1452 et le Citrumelo 4475. Cette observation a été faite sur des feuilles de plants semenciers âgés de 4 ans. Par ailleurs un autre plant semencier de *Poncirus trifoliata* âgé de 10 ans a également montré des symptômes bien caractérisés de «Vein clearing» (Photos 7 et 8 comparées aux photos 11 et 12).

En ce qui concerne les variétés introduites de Corse, on a noté sur des arbres dont l'âge variait de 4 à 10 ans de nombreux cas d'éclaircissement des nervures. Par ordre décroissant d'intensité, on mentionnera le tangor Ortanique SRA 110 (photo 9), le tangelo Orlando (photo 10), les orangers Hamlin SRA 41, Pineapple SRA 42, Valencia late SRA 17 et 18 ainsi que divers pomelos.

- Symptôme de subérification des nervures.

Ce symptôme foliaire a été constaté en condition naturelle principalement sur combava et lime mexicaine. Il apparaît beaucoup plus rarement sur lime de Tahiti. Comme pour le «Vein clearing», l'intensité du phénomène de subérification des nervures apparaît être liée à la virulence des souches.

Cette réaction n'est visible que sur des feuilles matures dont l'âge a atteint au moins une dizaine de mois.

- Symptôme de «Seedling yellow's» typique.

La jaunisse et le rabougrissement des jeunes semis de bigaradier exposés aux attaques de pucerons ont été constatés à plusieurs reprises en pépinière. Selon les cas, l'arrêt de végétation ne dure que 2 à 3 mois, mais il peut aussi se prolonger sur plus d'un an. En général les jeunes bigaradiers ne commencent à manifester le symptôme de «Seedling yellow's» qu'après 8 à 9 mois d'exposition aux attaques de pucerons.

- Symptôme de «Seedling yellow's» atypique.

On a affaire ici à un phénomène de rabougrissement et de décoloration du feuillage qui concerne non plus des plants de semis, mais des plants greffés. L'un des cas les plus significatifs observé à l'île de la Réunion est l'association constituée par le clémentinier sur le Citrumelo 1452. Une centaine de clémentiniers SRA 63 greffés en plein air à la station de Bassin-Martin ont tous présenté des symptômes foliaires rappelant le «Greening» lorsqu'ils étaient associés au Citrumelo 1452. Les feuilles de ces plants présentaient des taches vertes sur fond jaune, ou un faciès rappelant la carence en zinc. Ces clémentiniers étaient pourtant issus d'un matériel végétal indemne de «Greening» et avaient reçu une fumure minérale équilibrée. La même lignée SRA 63 greffée sur citrange Carrizo dans des conditions identiques, ne manifestait pas ce type de désordre. En outre aucune rémission des symptômes de décoloration n'a été obtenue après un traitement antibiotique consistant à immerger les racines dans une solution de tétracycline à 1 g/litre pendant 24 heures. En l'absence d'autre cause de nature physiologique ou infectieuse, on a attribué ces troubles à un effet de la Tristeza.

Au bout de plusieurs années de plantation en vergers ces clémentiniers greffés sur Citrumelo 1452 ont persisté à montrer des décolorations du feuillage et à rester rachitiques, sans présenter de phénomène de récupération.

- Le symptôme d'énation.

Les nombreuses inspections de plants de bigaradiers et de limettiers effectuées dans les jardins privés, ou en sous-bois, n'ont pas abouti à la découverte de ce type de symptôme foliaire.

Symptômes corticaux.

On va successivement présenter ici les différents symptômes corticaux de «Tristeza» et de «VEWG» apparus en conditions naturelles à l'île de la Réunion.

● Le «Stem pitting».

Le «Stem-pitting» observé sur les organes ligneux après décollement de l'écorce n'est pas un symptôme spécifique du virus de la Tristeza. En effet, d'autres affections virales comme la Cachexie-Xyloporose, ou le Cristacortis produisent des formes assez voisines d'invagination de l'écorce dans le bois (CHILDS, 1975 - VOGEL, 1975), aucune de ces dernières maladies ne pouvant toutefois être disséminée par des insectes vecteurs. De leur côté WALLACE et DRAKE, 1968, ont obtenu expérimentalement un symptôme de «Stem-pitting» avec le Citrange-Stunt une maladie à virus présente sur le citron Meyer et pour laquelle on ne connaît pas non plus d'insecte vecteur. Tous les sujets observés ici étaient ou des arbres de semis ou des associations portant des lignées indexées indemnes au départ de maladies à virus. Il n'est donc pas possible de retenir l'hypothèse d'une affection virale autre que celles transmissibles naturellement par pucerons.

On peut enfin signaler quelques cas de «Stem-pitting» transmissibles par la greffe et dont on ignore encore l'étiologie (FELDMAN et HANKS, 1977).

En l'absence de réponse au test de la transmission par greffe d'inoculation, le «Stem-pitting» peut être simplement d'origine génétique. Il s'agit là cependant d'une manifestation assez exceptionnelle.

L'observation de plusieurs centaines d'arbres en vergers réunionnais a révélé la présence de «Stem-pitting» sur les seize espèces ou cultivars figurant au tableau 4. L'ordre d'apparition est donné selon la sensibilité au «Stem-pitting» supposé induit par des souches locales de «Tristeza». Cette classification provisoire ne prétend pas être exhaustive, et encore moins définitive.

TABLEAU 4 - Classification provisoire des espèces ou variétés d'agrumes par ordre de sensibilité au «Stem-pitting» supposé induit par des souches réunionnaises de «Tristeza».

1. Combava
2. Lime mexicaine
3. Lime de Tahiti SRA 58
4. Cédratier 60-13
5. Lime Rangpur
6. Pomelos
7. Citrumelo 1452
8. Pamplemoussiers
9. Orange Mozambique
10. Citrumelo 4475
11. *Citrus taiwanica*
12. Tangelo Orlando SRA 21 et divers semis
13. Citronniers Eureka SRA 4 Lisbonne SRA 11
14. Tangor Ortanique SRA 110
15. Dancy SRA 20
16. Page SRA 159

On trouvera sur les photos 13 à 16 quelques exemples de «Stem-pitting» attribués à un effet de la «Tristeza». La

sévérité des symptômes observés sur lime Rangpur (photo 14), montre que certaines souches réunionnaises de Tristeza peuvent être aussi virulentes que celles rencontrées en Extrême-Orient ou au Brésil par exemple.

En outre, la présence sur citronniers Eureka SRA 4 et Lisbonne SRA 11 de cannelures de «Stem-pitting», associées à des projections d'aiguilles de bois dans l'écorce (photo 16) traduit une forme particulière de virulence. Sur cette espèce fruitière, considérée habituellement comme tolérante aux symptômes corticaux de la Tristeza, une telle réaction n'avait été décrite jusque là qu'en Afrique équatoriale au Cameroun (REY, 1981). A l'île de la Réunion, on l'a observée uniquement en région côtière. En effet de nombreux citronniers examinés en verger d'altitude (vers 900-1.100 mètres) ont tous montré après soulèvement de l'écorce une surface cambiale parfaitement lisse.

Dans plusieurs plantations de l'île, on a remarqué que le faciès du «Stem-pitting» varie selon le type de porte-greffe et quelquefois pour un même porte-greffe, selon le type d'association. Par exemple, le Citrumelo 1452 non greffé ou associé à divers cultivars présente après deux ou trois ans de plantation un «Stem-pitting pigmenté par imprégnation de gomme et peu saillant» associé à du «Stem-pitting» classique dont le relief peut atteindre 0,7 à 10 mm d'épaisseur pour des longueurs de crête de 3 à 5 cm (photo 13).

De son côté *Citrus taiwanica* TAN. et SH. cultivé à 300 mètres d'altitude, développe de fines projections d'écorce dans le bois (photo 15) lorsqu'il est associé au clémentinier SRA 63 ou à l'oranger. Le même porte-greffe cultivé dans des conditions en tous points identiques mais supportant cette fois du tangelo Orlando ou de la lime de Tahiti n'a montré en septième année de plantation aucun symptôme de «Stem-pitting». L'observation n'a porté cependant que sur des séries homogènes de treize arbres.

On a également cherché à savoir si des espèces sensibles au «Stem-pitting», comme le limettier, pouvaient être plus ou moins gravement atteintes au niveau du scion, selon la nature du porte-greffe qui les supportait. Ainsi dans un essai de lime de Tahiti planté à la Station de Bassin-Martin on a comparé cinq porte-greffe, chacun d'eux figurant par lots de 13 arbres : le citrange Troyer, le citrange Carrizo, le mandarinier Cléopâtre, *Citrus taiwanica* et *Poncirus trifoliata*. En septième année de plantation on a observé 9 limettiers sévèrement atteints de Tristeza sur un total de 65 sujets. La répartition de ces neuf limettiers semble être indépendante de la nature du porte-greffe (tableau 5).

En ce qui concerne *Poncirus trifoliata* L. RAF, quelques crêtes d'écorce très fines d'un ou deux millimètres de relief, et sans imprégnation de gomme, ont été notées sous la ligne de greffe sur des troncs de sept ans portant de la lime de Tahiti, de l'oranger ou du mandarinier. Mais il n'est pas sûr que ce symptôme soit occasionné par la Tristeza, puisqu'il a été observé en Corse sur des arbres indemnes de cette maladie.

Par ailleurs, de nombreuses observations de troncs de

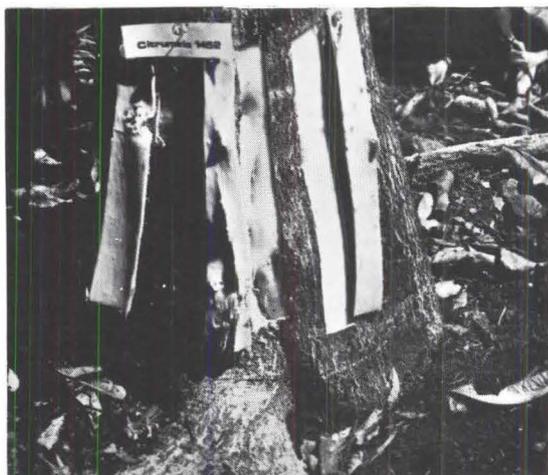


Photo 13. Stem-pitting sur Citrumelo 1452 : au centre, crêtes d'écorce dans le bois très accentuées. A droite et à gauche, stem-pitting de forme arrondie avec jaunissement d'écorce. Tronc de quatre ans supportant une Lime de Tahiti.

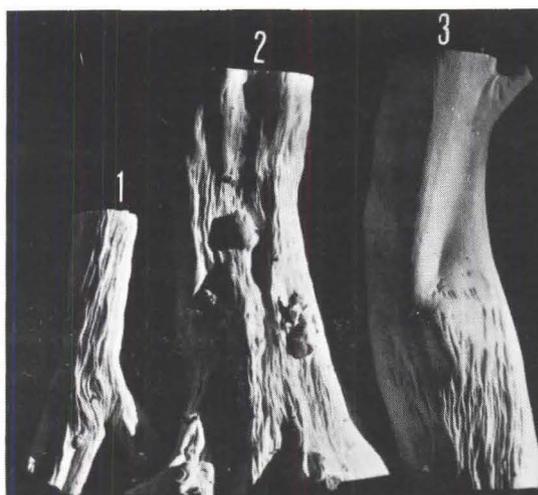


Photo 14. Oranger greffé sur Lime Rangpur.
1. Stem-pitting sur racine principale.
2. Stem-pitting sur la lime Rangpur porte-greffe.
3. Section de tronc au niveau de la ligne de greffe : absence de stem-pitting sur oranger.

Photo 15 a. Ecorce de *C. taiwanica*. Plant de 7 ans supportant une lignée de clémentine SRA 63.



Photo 15 b. Stem pitting sur rameau d'Ortanique SRA 110.



Photo 16. Aiguilles de bois sur citronnier apparaissant après enlèvement de l'écorce. La partie bigaradier située sous la ligne de greffe est moins atteinte. Les aiguilles sont concentrées dans des cannelures du bois induites par du stem-pitting.



Citronnier
Ligne de greffe
Bigaradier



Photo 17. Symptômes de trous d'épingle dans l'écorce du Citronnier.

TABLEAU 5 - Limettiers de Tahiti greffés sur différents porte-greffe et présentant des symptômes sévères de Tristeza au-dessus de la ligne de greffe.

Porte-greffe	Plants sévèrement atteints en septième année de plantation
citrange Troyer	2/13
citrange Carrizo	2/13
mandarine Cléopâtre	4/13
<i>Citrus taiwanica</i>	1/13
<i>Poncirus trifoliata</i>	0/13

citrange Troyer et de citrange Carrizo, n'ont révélé aucune forme bien caractérisée de projection d'écorce dans le bois. On a cependant remarqué vers la septième année, l'apparition de petites plages jaunes au niveau du cambium. En douzième année de plantation ces plages sont restées très discrètes et ont évolué quelquefois en une très légère rugosité de l'écorce. Tous les orangers ou mandariniers greffés sur ces deux porte-greffe présentent jusqu'ici un développement satisfaisant.

Quelques-uns des seize cas de «Stem-pitting» décrits plus haut, ont fait l'objet d'essais de transmission expérimentale par greffe sur des plants de semis cultivés sous cage d'isolement.

● «L'inverse-stem-pitting».

Ce symptôme, tel qu'il est décrit dans le cas de la «Tristeza sensu stricto», ne se rencontre pas à la Réunion puisque dans cette île le bigaradier n'est pas utilisé comme porte-greffe de l'oranger.

Par contre, une autre forme «d'inverse-stem-pitting» a été trouvée sur une vingtaine de citronniers âgés de 5 à 8 ans et plantés dans la zone littorale chaude. Il s'agissait de citronniers greffés sur bigaradier. L'ouverture de l'écorce a montré de très fines aspérités du bois d'une longueur de 2 mm environ, au-dessus de la ligne de greffe jusqu'à une hauteur variable du tronc. Ces aiguilles de bois étaient principalement concentrées dans des cannelures induites par le «Stem-pitting» (photo 16). Au niveau de l'écorce, on retrouve en négatif toutes ces projections des rayons médullaires du bois qui donnent le symptôme de trous d'épingle (photo 17).

Plusieurs essais de badigeonnage du phloème avec une solution iodo-iodurée ont donné des colorations bleu-pâle sur l'écorce du citronnier et bleu très pâle sur l'écorce du bigaradier. Ce qui traduit un ralentissement de la migration d'amidon.

L'«inverse-stem-pitting» ne constitue pas un symptôme spécifique du virus de la Tristeza. On connaît par exemple des symptômes «d'inverse-xyloporose». Par ailleurs un stress physiologique ou certaines anomalies génétiques peuvent également être à l'origine d'une forme «d'inverse-

stem-pitting». Il convient donc d'être prudent dans l'interprétation de ce type de symptôme.

Dans le cas présent, il s'agissait de citronniers appartenant aux lignées Eureka SRA 4 ou Lisbonne SRA 11, et qui avaient reçu des soins agronomiques réguliers.

● Le «Woody-gall».

Des symptômes de galles ont été observés «in situ» à l'île de la Réunion sur Rough lemon, et *Citrus volkameriana* TEN. et PASQ.

Complétant les observations effectuées par BOVE et CASSIN (1968) sur des associations d'oranger et de Rough lemon, nous avons noté dans divers endroits de l'île plusieurs exemples de galles sur «*Citrus jambhiri*» LUSH. Dans certains cas il s'agissait de plants de semis non greffés et n'ayant pas subi de tentative de greffage (verger LES-PORT). L'un de ces arbres a servi de plante source pour fournir la souche VEWG Re 1.

Par ailleurs, près de 500 arbres greffés sur *C. volkameriana* ont été observés dans différents vergers de l'île. Les greffons utilisés étaient issus des lignées SRA de Corse indemnes de maladies à virus. Ces plants ont été inoculés à l'origine par des pucerons qui leur ont transmis un complexe «Tristeza» ou un complexe «Tristeza + VEWG». Les différents cas de «Woody-gall» recensés sur ce lot de 500 plants figurent au tableau 6.

Ces chiffres montrent que la formation de galles est un phénomène assez fréquent sur *C. volkameriana*, l'anomalie pouvant se rencontrer aussi bien en zone d'altitude que sur le littoral.

Toutefois c'est dans la région côtière où la température moyenne annuelle ne descend pas en dessous de 22,5°C que les symptômes de galles les plus accusés ont été observés. Ces derniers étaient en général plus discrets à 1.000 m. En région de faible altitude, les galles provoquées à l'origine par des blessures d'outil arrivent à être très volumineuses (photo 18).

Dans le cas des limettiers de Tahiti du verger du Gol les repousses de porte-greffe n'avaient pas été émondées, et des gourmands de *C. volkameriana* très épineux de 1 à 2 m de haut avaient été laissés pendant plusieurs mois sur les arbres, ce qui a entraîné de nombreuses piqûres du tronc. Des galles se sont alors formées au niveau de ces piqûres et ont progressivement conflué, ce qui a donné aux troncs un aspect tuméfié (photos 19 et 20). L'épluchage d'écorce au niveau des galles montre toujours de fines projections d'écorce dans le bois, en forme de crêtes alvéolaires qui épousent la surface tourmentée de la zone cambiale (photo 21). Des coupes transversales dans le tronc à l'emplacement des galles ont révélé la présence d'un abondant réseau de rayons médullaires qui, partant d'un point

TABLEAU 6 - Nombre de cas de «Woody-gall» observés sur des agrumes greffés sur *C. volkameriana* (observation effectuée en juin 1981).

Lieu de plantation	Altitude (m)	Date de plantation	Nature du greffon	Nombre d'arbres observés	Nombre de plants avec Woody-gall	Pourcentage de plants atteints
P. Palmistes Verger IRFA	1.100	10.76	Eureka et Lisbonne origine SRA 4 et SRA 16 orangers lignées origine SRA	30	0	0
		6.79		10	4	40
Cilaos Verger TURPIN	1.070	12.76	Eureka et Lisbonne	35	0	0
Bassin-Martin Verger IRFA	300	2.78	Lime de Tahiti SRA 58	8	3	37,5
Etang-Salé Verger LESPORT	15	1.77	Lime de Tahiti SRA 58	134	12	9
Etang-Salé Verger du Gol	15	1.78	Lime de Tahiti SRA 58	10	5	50
Saint-Benoît Verger PAYET	150	3.78	Lime de Tahiti SRA 58	200	80	40

situé sur un cerne, s'irradient en éventail vers la surface du tronc au niveau de la zone occupée par la galle (photo 22). L'un de ces limettiers a été utilisé comme plante source VEWG Re 2. Il présentait au-dessus de la ligne de greffe des symptômes de Stem-pitting attribués à une manifestation du virus de la Tristeza (photo 20).

On ignore encore l'incidence exacte des symptômes de VEWG sur les rendements. Toutefois, les limettiers les plus atteints de cette anomalie sont restés rachitiques et n'ont porté que très peu de fruits, comparés à des arbres voisins indemnes ou peu atteints.

Aux Seychelles, notamment sur les îles Mahé, Praslin et La Digue, il est courant d'observer des excroissances boisées sur le tronc d'un oranger local connu sous le nom d'«Orange Mozambique». Il s'agit d'un hybride de combava. Le faciès des galles est dans ce cas différent de celui constaté à La Réunion : on observe des concrétions ligneuses en forme de cône se développant autour des épines (photo 23).

Le soulèvement d'écorce à ce niveau, fait apparaître une zone cambiale lisse indemne de Stem-pitting alvéolaire. L'un de ces orangers seychellois a servi de plante source pour des essais d'inoculation par greffe.

Discussion.

Plusieurs symptômes observés dans les vergers d'agrumes

réunionnais, s'écartent des normes habituellement décrites jusqu'ici pour la «Tristeza» et le «Vein enation woody gall».

Ainsi, le «Vein-clearing» n'avait apparemment pas encore été signalé sur Ortanique. Cet hybride originaire de la Jamaïque et dont la parenté botanique n'est pas très bien établie a présenté également un léger «Stem-pitting». Pour ce cultivar, et dans les conditions de la Réunion, l'intensité du symptôme cortical n'est pas proportionnée à celle du «Vein-clearing» laquelle est comparativement très marquée. Sur lime mexicaine ou combava par exemple des symptômes de «Vein-clearing» aussi importants seraient très certainement associés à un «Stem-pitting» sévère.

Plusieurs sélections d'orangers, notamment Hamlin 41, Pineapple 42, Valencia late 17 et 18 ont montré des symptômes discrets de «Vein-clearing». Mais la recherche de troubles corticaux sur les parties ligneuses de ces mêmes arbres, n'a pas donné de résultat positif. Une constatation analogue a été faite dans le cas de *Poncirus trifoliata*.

Inversement le citronnier a présenté des symptômes corticaux sans manifester de «Vein-clearing» sur feuilles. La même remarque est à faire pour la lime Rangpur, malgré la présence sur cette espèce d'un «Stem-pitting» quelquefois très accusé ; ici le diagnostic a été effectué à plusieurs reprises sur des gourmands repartant à la base des troncs d'arbres greffés.

Les Citrumelos, et tout particulièrement le Citrumelo



Photo 18. Tronc de *C. volkameriana* atteint de woody-gall à la suite d'une blessure d'outil (verger de l'Etang-Salé).

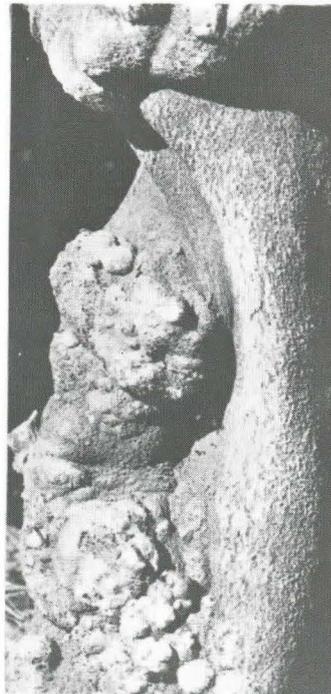


Photo 19. Galles sur *C. volkameriana* formées à la suite de piqûres occasionnées par des gourmands non émondés (verger du Gol).

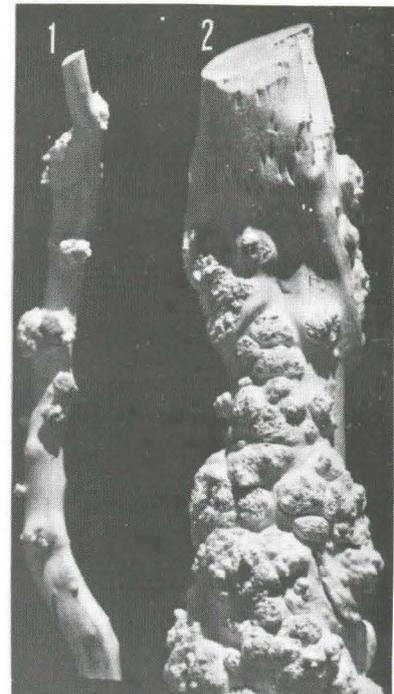


Photo 20. Aspect des galles sur *C. volkameriana* après épluchage d'écorce.
1. arbre de 1 an (Petite Plaine 1.000 m).
2. Arbre de 3 ans (Etang-Salé 15 m). On aperçoit au-dessus de la ligne de greffe du stem-pitting sur Lime de Tahiti.

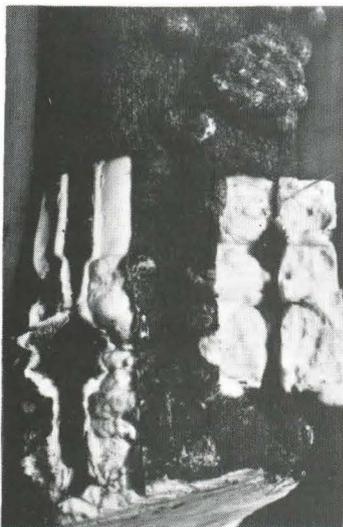


Photo 21. Stem-pitting alvéolaire sur les galles, l'écorce reste lisse sur la partie non atteinte. Tronc de *C. volkameriana* (verger LE GOL)

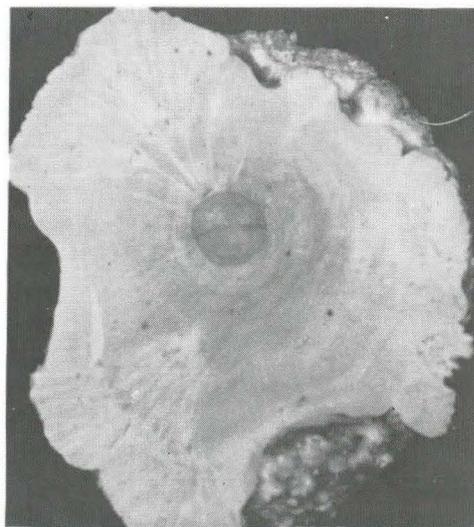


Photo 22. Coupe transversale au niveau d'une galle faisant apparaître des rayons médullaires qui prennent naissance sur un cerne et s'irradient vers la galle (verger LE GOL).

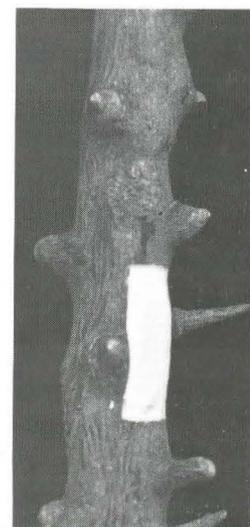


Photo 23. Pseudo-galles formées d'une galle faisant apparaître des rayons médullaires qui prennent naissance sur un cerne et s'irradient vers la galle (verger LE GOL).
Photo 23. Pseudo-galles formées autour des épines sur *O. Mozambique* (Seychelles, Ile de Praslin).

1452 ont manifesté diverses anomalies de croissance imputables à la «Tristeza». Le «Stem-pitting» avec ou sans imprégnation de gomme, est, pour ces hybrides de pomelo, associé au «Vein-clearing». On ne peut guère les recommander comme porte-greffe dans les pays hébergeant des souches sévères de Tristeza.

Enfin l'apparition d'un «Stem-pitting alvéolaire» sur les galles de *C. volkameriana* est une particularité qui ne semble pas avoir été signalée jusqu'ici dans d'autres régions agrumicoles du monde.

Les observations effectuées au cours des dix dernières années, indiquent que les porte-greffe présentant le meilleur comportement vis-à-vis des souches locales de «Tristeza» et de «VEWG», sont pour le moment les citranges Troyer et Carrizo.

Deuxième partie

TRANSMISSION EXPERIMENTALE DE LA TRISTEZA ET DU «VEIN ENATION WOODY GALL» PAR GREFFE D'INOCULATION

C'est en inoculant expérimentalement plusieurs séries de plantes indicatrices qu'on a cherché à mieux connaître le complexe viral hébergé par les quelques sujets retenus lors de l'étude de symptomatologie «*in situ*». Dans ce cas, on a choisi d'utiliser la technique de la greffe d'inoculation «simple».

Par ailleurs le comportement de différentes associations de porte-greffe vis-à-vis de la souche locale Ouaki B2 très virulente a été testé en employant la technique de l'inoculation «double».

Transmission expérimentale des symptômes par greffe d'inoculation simple.

Matériel et méthode. Trois séries de plantes indicatrices ont été semées et cultivées sous cage d'isolement à l'abri des pucerons : le bigaradier (cultivar *brasilian sour orange*), la lime mexicaine et *Citrus volkameriana*. Les graines provenaient des Ets WILLITS et NEWCOMB.

A leur sortie de bac de semis les plantules ont été repiquées dans des pots de 8 litres contenant 1/3 de tourbe, 1/3 de sable et 1/3 de billes de polystyrène expansé. Elles ont reçu une fumure liquide hebdomadaire sous forme de solution de Smith. La cage d'isolement non climatisée était soumise aux conditions thermiques ambiantes : de mai à octobre 6 mois de saison fraîche avec une moyenne des maxima et des minima de 24,8°C le jour et 15,3°C la nuit, de novembre à avril 6 mois de saison chaude avec une moyenne des maxima et des minima de 28,2°C le jour et 20,8°C la nuit.

Lorsque les plants ont atteint la taille de 1,20 m de haut ils ont été inoculés par greffe sur la base du tronc en utilisant un morceau d'écorce d'environ 3 cm de long sur 1/2 cm de large. Les différents traitements effectués ont été les

suivants :

- 1 - témoin autogreffé,
- 2 - morceau d'écorce provenant du clone de combava Ouaki B2 atteint d'une souche virulente de Tristeza,
- 3 - morceau d'écorce provenant du clone de combava Ouaki A9 atteint d'une souche faible de Tristeza,
- 4 - morceau d'écorce d'un Rough lemon de semis non greffé et présentant de nombreuses galles sur le tronc et les branches (verger Lesport : souche VEWG Re 1),
- 5 - morceau d'écorce d'un limettier de Tahiti greffé sur *C. volkameriana* et montrant des symptômes de Stem-pitting au-dessus de la ligne de greffe (souche VEWG Re 2).
- 6 - morceau d'écorce d'orange Mozambique de semis originaire des Seychelles.

On a utilisé cinq plantes indicatrices pour chaque traitement, ce qui a donné pour l'ensemble de l'essai, un total de 3x5x6 = 90 plants. La cage d'isolement protégeant ces jeunes arbres de semis était équipée d'un grillage de type «screeglas» dont la maille de 0,8 mm évitait le passage des homoptères piqueurs-suceurs.

L'époque retenue pour la greffe d'inoculation se situait en milieu de saison fraîche. Les plants une fois inoculés ont été rabattus de façon à observer les symptômes foliaires sur les nouvelles pousses formées. Pour les symptômes corticaux l'observation a porté sur la base du tronc. Les plants de *C. volkameriana* ont été blessés par piqûre juste au-dessus de la greffe d'inoculation, pour initier la formation de galles. Les pointes utilisées ont été préalablement flambées afin d'éviter une éventuelle atteinte de Crown-gall. SMITH (1912) a signalé sur Citrus un effet pathogène de cette bactériose.

L'étude du complexe viral hébergé par les clones de combava B2 et A9 et par l'oranger «Mozambique» seychellois a commencé en 1979. Celle relative aux souches VEWG Re 1 et VEWG Re 2 n'a commencé qu'en 1981.

Résultats. Les différents symptômes obtenus avec les trois séries de plantes indicatrices ont été regroupés sur le tableau 7 où figurent également les délais d'apparition et la proportion de plants ayant donné des réactions.

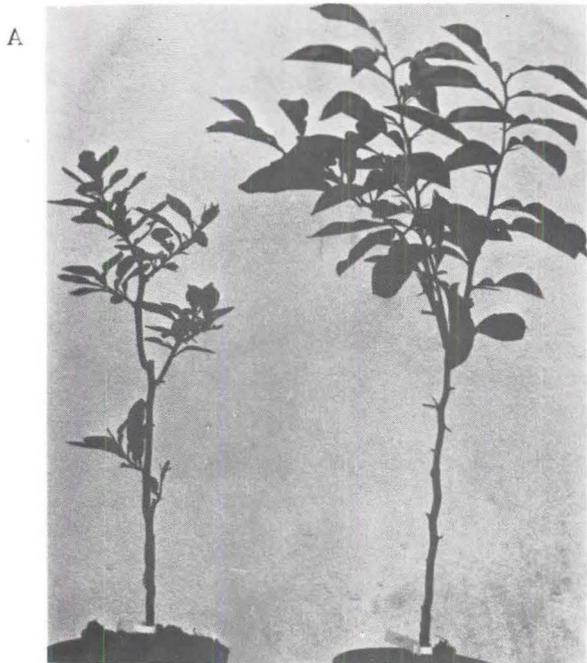
1 - Réactions observées sur la lime mexicaine.

La double réaction «Vein clearing» et «Stem-pitting» caractéristique d'un effet de la «Tristeza», a été constatée sur les plants inoculés avec des écorces de combavas B2 et A9 ainsi qu'avec celles de l'oranger Mozambique, dans un délai de 6 mois pour le symptôme foliaire et de 8 mois pour le symptôme cortical. L'observation des feuilles et des écorces des limettiers inoculés avec les souches VEWG Re 1 et VEWG Re 2 n'a fait apparaître aucun de ces symptômes dix mois après la transmission par greffe. Dans le même temps l'examen minutieux des feuilles de limettier inoculées avec des écorces d'arbres atteints de «Woody-gall» n'a révélé aucun symptôme d'énation.

TABLEAU 7 - Types de symptômes obtenus sur différentes plantes indicatrices par greffe d'inoculation et délais d'apparition.

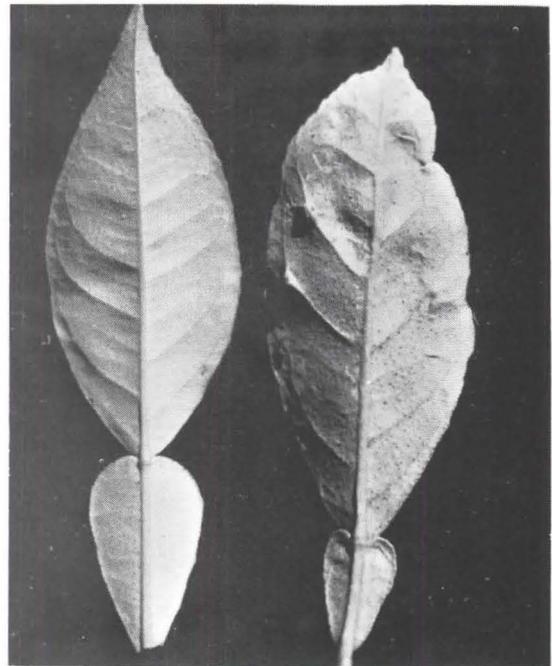
Plantes indicatrices → Plantes sources →	Lime Mexicaine			Bigaradier			<i>C. volkameriana</i>		
	symptômes	délais d'apparition	nombre de plants avec symptômes	symptômes foliaires	délais d'apparition	nombre de plants avec symptômes	symptômes	délais d'apparition	nombre de plants avec symptômes
témoin 1 autogreffé	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Combava A9	Vein-clearing	6 mois	5/5	Seedling yellow's	3 à 4 mois	5/5	pas de symptôme de galles au bout de deux années d'observation		
	Stem-pitting	8 à 10 mois	5/5	pas de symptôme d'énation					
Combava B2	Vein-clearing	6 mois	5/5	Seedling yellow's	3 à 4 mois	5/5	pas de symptôme de galles au bout de deux années d'observation		
	Stem-pitting	8 mois	5/5	pas de symptôme d'énation					
Souche VEWG Re 1	Aucun symptôme foliaire ou cortical observé au bout de 10 mois : en cours d'observation			rabougrissement	3 mois	5/5	Woody-gall	6 mois	5/5
				Vein-enation	8 mois	2/5			
Souche VEWG Re 2	Pas de symptôme foliaire ou cortical observé au bout de 10 mois : en cours d'observation			rabougrissement	2 mois	5/5	Woody-gall	5 mois	5/5
				Vein-enation	6 mois	2/5			
Orange Mozambique Seychelles	Vein-clearing	6 mois	5/5	Seedling yellow's	2 mois	5/5	pas de symptôme de Woody-gall observé au bout de 2 ans		
	Stem-pitting	8 à 10 mois	5/5	pas de symptôme d'énation					

Photos 24 A et B. Transmission des symptômes de «Vein-énation» par greffe d'inoculation sur bigaradier élevé sous cage d'isolement à l'abri des pucerons (souche VEWG Re2).



Plant inoculé par greffe avec la souche VEWG Re2

Plant témoin autogreffé.



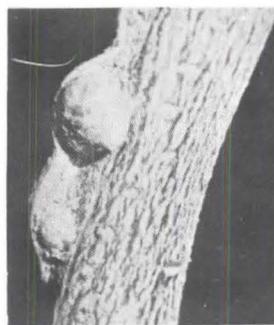
Feuille saine

Feuille prélevée sur un plant hébergeant la souche VEWG Re2. Noter, les énaions sur les nervures secondaires de la partie gauche.



A

Début de processus tumoral au niveau des piqûres effectuées au-dessus de la greffe d'inoculation à l'aide d'une pointe préalablement flambée. (6 mois après la greffe d'inoculation).



B

Galles formées au niveau de la greffe d'inoculation.



C

Le même tronc de *C. volkameriana* photographié 14 mois après la greffe d'inoculation.

Photo 25 A-B-C. Transmission du symptôme de Woody-gall par greffe d'inoculation sur *C. volkameriana* élevé sous cage d'isolement à l'abri des pucerons (souche VEWG Re2).

Photos B. AUBERT

2 - Réactions observées sur le bigaradier.

Les clones de combavas A9 et B2 ainsi que l'oranger Mozambique, ont induit sur bigaradier 2 à 3 mois après la greffe d'inoculation, l'apparition d'une décoloration des limbes, suivie d'une émission de petites feuilles. A l'aisselle de ces feuilles, les épines étaient soit très courtes soit inexistantes. Cette anomalie de morphogénèse a été suivie d'un arrêt de végétation qui a duré 3 à 5 mois pour les plants greffés avec les écorces de combava, mais s'est prolongé 12 mois pour ceux ayant reçu de l'écorce d'oranger Mozambique. Les bigaradiers, dont on a poursuivi la culture pendant 2 ans sous cage d'isolement, ont, après récupération, redonné une végétation normale. Un tel comportement est caractéristique du «Seedling yellow's».

Le second groupe de bigaradier qui a reçu les souches VEWG Re 1 et Re 2 a produit de petites feuilles gaufrées très déformées dès la reprise de végétation qui a suivi le greffage et le rabattage. Quelques rares étiations très prononcées ont pu être observées sur une ou deux feuilles dont la taille était restée assez proche de la normale. On trouvera sur les photos 24 A et 24 B un aspect de ce type de réaction. Le développement des épines est resté très limité sur l'ensemble de ces plants. Près de dix mois après la greffe d'inoculation on a observé un redémarrage de végétation sur la plupart de ces bigaradiers.

3 - Symptômes observés sur *C. volkameriana*.

Les plants de *C. volkameriana* ayant reçu des écorces de combava B2 et A9 ou d'oranger Mozambique n'ont donné aucun symptôme de galle dans les deux années qui ont suivi leur inoculation. Par contre ceux hébergeant les souches VEWG Re 1 et VEWG Re 2 ont développé un symptôme de «Woody-gall» très caractéristique dans un délai de 5 à 6 mois. Le processus tumoral est apparu à l'emplacement de la greffe d'écorce ainsi qu'au niveau des piqûres d'épingle (photos 25 A, 25 B et 25 C). L'observation de la zone cambiale au niveau de ces nouvelles tumeurs a montré un début de formation de «Stem-pitting alvéolaire».

Discussions. Le complexe viral hébergé par l'oranger Mozambique échantillonné aux Seychelles comprend la Tristeza et une forme sévère de «Seedling yellow's» mais semble être indemne de «Vein enation woody gall». Les concrétions boisées qui se forment autour des épines ne sont probablement pas dues à un effet du virus du VEWG. Elles pourraient être simplement d'origine génétique.

Par contre les résultats obtenus avec les souches VEWG Re 1 et VEWG Re 2 sur *C. volkameriana*, apportent la preuve que cette affection virale est bien présente à l'île de la Réunion puisqu'il a été possible d'en reproduire expérimentalement à la fois les symptômes foliaires et les symptômes corticaux. Il n'est pas possible de savoir, dans l'état actuel des recherches, si l'intense déformation des feuilles de bigaradier occasionnée par ces deux souches est à mettre à l'actif du VEWG, du «Seedling yellow's» ou d'un

effet combiné de ces deux affections. De même la cause exacte du «Stem-pitting alvéolaire» observé au niveau des galles reste à préciser. La poursuite de ces recherches suppose que l'on puisse disposer de plants hébergeant le VEWG sans la Tristeza.

Les deux souches de Tristeza Ouaki A9 et Ouaki B 2 très différentes quant à leur pathogénicité sur combava, comportent toutes les deux le composant «Seedling yellow's». Mais elles semblent être indemnes de VEWG puisqu'aucune réaction n'a pu être constatée sur *C. volkameriana* au bout de deux ans. Ce qui tend à montrer que la souche A9 est une souche pure du virus de la Tristeza et qu'on ne puisse invoquer à son sujet un effet d'atténuation induit par le VEWG du type de celui signalé par KOIZUMI et SASAKI (1980).

L'absence de réaction «Vein clearing» et «Seedling yellow's» au bout de 10 mois sur lime mexicaine, avec les souches VEWG Re 1 et VEWG Re 2 pourrait traduire un effet antagoniste du VEWG vis-à-vis de la Tristeza.

Transmission expérimentale par la méthode de la double greffe.

Pour tester la virulence de la souche Ouaki B2 sous l'angle «Tristeza sensu stricto», on a utilisé la technique de la double greffe (figure 4).

Les pathologistes ont en effet décrit cette forme de maladie d'association avec l'oranger ou le mandarinier greffés sur bigaradier.

Le but de cet essai était de vérifier si le même dépérissement pouvait affecter des associations constituées avec *Poncirus trifoliata*.

Matériel et méthode. Des semis de bigaradier (C.V. Brazilian Sour Orange) et de *Poncirus trifoliata*, ont été effectués sous cage d'isolement, dans les mêmes conditions que les plantes indicatrices utilisées précédemment. Le greffage de multiplication s'est déroulé également sous cage d'isolement avec des greffes de lime de Tahiti SRA 58 et de mandarinier Beauty SRA 13 B7 reçus de Corse indemnes de maladies à virus. Immédiatement après la soudure de l'écusson, les sujets ont été inoculés avec un morceau d'écorce du clone de combava Ouaki B2, à l'exception de quelques plants conservés comme témoins. L'essai a porté sur un ensemble de 14 plants greffés sur bigaradier et autant sur *P. trifoliata*.

Résultats. Six mois après la greffe d'inoculation, on enregistrait une importante mortalité dans le lot de plants qui, ayant le bigaradier comme support, avaient reçu un inoculum de la souche Ouaki B2. Pour le lot greffé sur *P. trifoliata*, des différences très importantes de taille du scion étaient constatées entre plants inoculés et plants non inoculés. L'ensemble de ces résultats a été regroupé sur le tableau 8.

TABLEAU 8 - Etat des scions de limettiers ou mandariniers six mois après la greffe d'inoculation.

nature du porte-greffe	nature du scion		nombre de plants	état du scion			
				desséché	très rabougri	normal	très vigoureux
Bigaradier	lime de Tahiti	inoculé	5	4	1	-	-
		non inoculé	2	-	-	-	2
	M. Beauty	inoculé	5	3	2	-	-
		non inoculé	2	-	-	-	2
<i>P. trifoliata</i>	lime de Tahiti	inoculé	5	2	3	-	-
		non inoculé	2	-	-	2	-
	M. Beauty	inoculé	5	-	5	-	-
		non inoculé	2	-	-	2	-

Les limettiers greffés sur *P. trifoliata* hébergeant la souche virulente de Tristeza qui avaient survécu, montraient une sévère épinastie des très jeunes feuilles (photo 26). Les limbes plus âgés formés immédiatement après la greffe d'inoculation, présentaient une taille à peu près normale, mais étaient atteints de «Vein-clearing» et de «Vein-corking».

A l'aide d'un greffoir, on a mis à nu la zone cambiale de part et d'autre de la ligne de greffe, et on a déposé quelques gouttes d'une solution iodo-iodurée. La photo 26 montre deux plants de lime de Tahiti SRA 58 greffés sur *P. trifoliata*. Le témoin sain, dont on voit plus en détail la zone cambiale sur la photo 27, a donné une coloration bleuâtre sous la ligne de greffe, indiquant un passage du flux de sève élaborée en direction des racines, le cambium du scion n'a pas changé sensiblement de teinte. Sur le sujet inoculé avec la souche Ouaki B2, le cambium du scion s'est au contraire intensément coloré en bleu jusqu'à la ligne de greffe, alors que celui du porte-greffe n'a montré aucun signe de coloration sous l'effet de la solution iodo-iodurée (photo 28). Ce résultat indique clairement un blocage du flux de sève élaborée en direction du porte-greffe. Le même type de réaction a été obtenu avec les quelques plants de limettiers ou mandariniers greffés sur bigaradiers.

La photo 29 représente un limettier de Tahiti témoin greffé sur bigaradier et dont l'écorce mise à nu a reçu une application de solution iodo-odorée. Seul le porte-greffe montre des plages colorées en bleu foncé. Ce limettier indemne de Tristeza, toutes autres conditions étant par ailleurs identiques, avait une taille supérieure à celle de son homologue greffé sur *P. trifoliata* et non inoculé, cette différence n'étant imputable qu'à un effet de porte-greffe. On notera que la taille du scion avait rattrapé en six mois celle du porte-greffe.

Discussion. Le combava Ouaki est à l'origine une lignée «locale» de *C. hystrix*. Elle a donné, au hasard des attaques de pucerons, plusieurs clones maintenus par propagation végétative dont le Ouaki B2 et le Ouaki A9, qui hébergent deux complexes différents de Tristeza. Ces deux clones ont été indexés sur cédrat Etrog 60-13 pour la

recherche du viroïde de l'Exocortis. On a utilisé la technique de la transmission par blessures de greffoir humecté de sève, puisque contrairement à la Tristeza, l'Exocortis se transmet facilement par voie mécanique. Une dizaine de cédrats Etrog ayant reçu chacun 50 blessures n'ont montré aucun symptôme d'Exocortis au bout de deux ans d'observation. De même la recherche du «Greening» par indexation sur orange Madame Vinous en utilisant la technique de la greffe de feuille n'a révélé aucun symptôme de cette maladie.

Ces résultats ajoutés à ceux de l'intense réaction obtenue avec la souche B2 par la technique ELISA amènent à penser que le nanisme observé sur l'association limettiers ou mandariniers/*P. trifoliata* est bien occasionné par une souche sévère de Tristeza.

CONCLUSION

On a présenté dans cette étude quelques cas de «Tristeza» et de «Vein enation woody gall» assez significatifs. L'enquête poursuivie pendant plusieurs années a permis de passer en revue un éventail assez représentatif des productions agrumicoles réunionnaises.

Les essais de transmission expérimentale par greffe d'inoculation conduite en cage d'isolement, ont contribué à préciser l'étiologie de certaines anomalies de croissance observée tant en pépinière qu'en verger.

L'ensemble des symptômes foliaires et corticaux induits par ces deux maladies à virus est assez complexe puisque son étude nécessite plusieurs plantes ou associations de plantes indicatrices.

En condition naturelle, le complexe viral «Tristeza» + «VEWG» est transmis de façon aléatoire par les pucerons. L'équilibre atteint par les trois composantes du système «plante-hôte, agent pathogène, vecteur» ne peut être atteint une fois pour toute dans un territoire donné. Il sera obligatoirement susceptible d'évoluer au gré des interrelations qui s'établissent à l'intérieur de cette biocénose.



Plant 27. Détail du plant témoin : coloration sous la ligne de greffe absence de coloration sur le scion.



Photo 26. Limettiers de Tahiti SRA 58 greffé sur *Poncirus trifoliata*. La zone cambiale a été mise à nu de part et d'autre de la ligne de greffe, puis badigeonnée avec une solution iodo-iodurée.
1) plant non inoculé,
2) plant inoculé avec la souche virulente Ouaki B2.

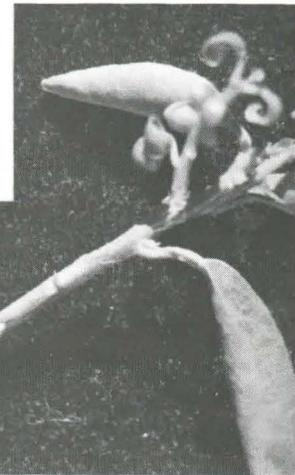


Photo 28. Détail du plant inoculé: Le scion est intensément coloré, la coloration s'arrête à la ligne de greffe, le cambium du porte-greffe ne donne aucune réaction avec la solution iodo-iodurée.

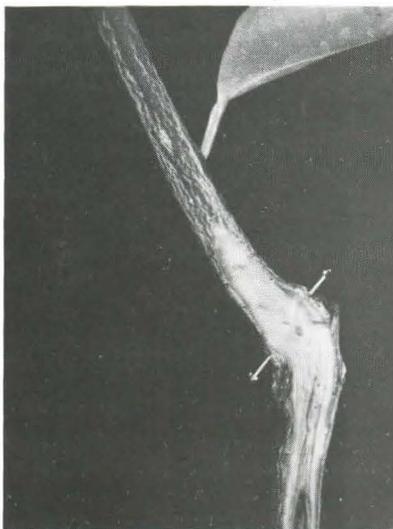


Photo 29. Aspect d'un limettier de Tahiti témoin SRA 58 non inoculé et greffé sur bigaradier. Le cambium du scion ne donne pas de coloration avec la solution iodo-iodurée, seul le porte-greffe réagit. La flèche indique la ligne de greffe. Sur ce plant sain le scion a rattrapé en six mois la taille du porte-greffe.

Photos B. AUBERT

Les modes de conduite à développer au sein des systèmes de culture consisteront, dans toute la mesure du possible, à soustraire les plantes à ces contraintes biologiques. C'est en fait dans le cadre général d'une lutte aménagée qu'il importe d'adapter les techniques horticoles. Comme les souches virulentes agressent une très large gamme d'espèces, variétés, ou associations considérées quelquefois à tort comme tolérantes, il importe de les détecter et de les éliminer des parcs à bois. En territoire contaminé, le prélèvement de greffons doit être scrupuleusement effectué sur des sujets qui, acclimatés depuis plusieurs années, persistent à présenter le minimum de symptômes foliaires ou corticaux, et le maximum de vigueur. On aura ainsi toutes les chances de propager du matériel végétal hébergeant des souches faibles de virus, et ainsi de «prémunir» la descendance contre

l'agression de souches virulentes résultant d'une surinoculation ultérieure par les pucerons. On comprend que pour obtenir un pourcentage élevé de prémunition il faille éviter les attaques de vecteurs en pépinière avant le greffage.

L'inoculation expérimentale de souches virulentes de Tristeza par greffe d'écorce, peut rendre plus efficaces et plus rapides les screenings de résistance variétale. En zone contaminée cette pratique devrait être adoptée systématiquement dans les essais destinés à étudier le comportement des associations de porte-greffe et de variétés.

Tout le travail engagé au cours des dix dernières années en station d'essai et en pépinière, à l'île de la Réunion, apporte la démonstration que ces méthodes de lutte intégrée ont contribué à maintenir une production agrumicole compétitive, dans un environnement au départ très défavorable.

BIBLIOGRAPHIE

- AUBERT (B.), BOVE (J.M.) et ETIENNE (J.). 1981.
La lutte contre le Greening des agrumes à l'île de la Réunion. Résultats et perspectives.
Fruits, vol. 36, n° 10, p. 605-624.
- AUBERT (B.). 1981.
Présence de la Tristeza sur l'île de Nossi-Bé (République de Madagascar)
Rapport de visite, Doc. IRFA-Réunion.
- AUBERT (B.) et VOGEL (R.). 1981.
Premiers résultats de prémunition contre la Tristeza sur combava.
Fruits, vol. 36, n° 6, p. 351-359.
- BAR-JOSEPH (M.), LOEBENSTEIN (G.) et COHEN (J.). 1972.
Further purification and characterization of threadlike particles associated with the citrus tristeza disease.
Virology, 50 : 821-828.
- BAR-JOSEPH (M.) et LOEBENSTEIN (G.). 1973.
Effect of temperature on peroxidase activity isosyme patterns and concentration of thread particules in Tristeza infected citrus plants.
Phytoparasitica, 1, p. 3-12.
- BAR-JOSEPH (M.), RACCAN (B.) et LOEBENSTEIN (G.). 1977.
Evaluation of the main variables that affect citrus tristeza virus transmission by aphids.
Proc. Int. Soc. Citriculture, 3, p. 958-961.
- BENNETT (C.W.) et COSTA (A.S.). 1949.
Tristeza disease of Citrus.
Ag. Res., 78, 207-237.
- BITANCOURT (A.). 1944.
Un teste para a identificação precoce da tristeza dos citrus.
O'Biológico, São Paulo, 10, 169-175.
- BOVE (J.M.) et CASSIN (J.C.). 1968.
Problèmes de l'agrumiculture réunionnaise.
C.R. de mission, IFAC, Paris.
- CHILDS (J.F.L.). 1975.
Cachexie xyloporose.
in : Description and illustration of virus and virus-like diseases of Citrus. J.M. BOVE et R. VOGEL.
Ed. Setco-IFAC.
- COHEN (M.) et BOVE (J.M.). 1975.
Tristeza.
in : Description and illustration of virus and virus-like diseases of Citrus.
Ed. SETCO-IFAC, vol. III.
- COSTA (A.S.) et GRANT (J.J.). 1951.
Studies on the transmission of tristeza vector *Aphis citricidus* KIRK.
Phytopathology, 41, 105-113.
- COSTA (A.S.), GRANT (J.J.) et MOREIRA (S.). 1954.
Behaviour of various citrus root stock-scion combinations following inoculation with mild and severe strains of Tristeza virus.
Proc. Florida Hort. Soc., 67, 26-30.
- ESSIG (E.O.). 1949.
Aphids in relation to quick decline and Tristeza of Citrus.
Pan-Pacific Ent., vol. 25, p. 13-23.
- ETIENNE (J.) et VILARDEBO (A.). 1978.
Notes sur les principaux ravageurs des agrumes de l'île de la Réunion.
Fruits, vol. 33, n° 12, p. 873-876.
- FELDMAN (A.W.) et HANKS (R.W.). 1977.
Some recent observations on stem-pitting of Citrus in Florida.
- GARNSEY (S.M.), GONSALVEZ (D.) et PURCIFULL (D.E.). 1977.
Mechanical transmission of Tristeza virus.
Phytopathology, vol. 67, n° 8, p. 965-968.
- KITAJIMA (E.W.), SILVA (D.M.), OLIVEIRA (A.R.), MULLER (G.W.) et COSTA (A.S.). 1964.
Thread-like particles associated with tristeza disease of citrus.
Nature, 201, 1011-1012.
- KOIZUMI (M.) et SASAKI (A.). 1980.
Protection against Tristeza in trees preinoculated with Vein enation virus.
in : E.C. CALAVAN, S.M. GARNSEY et L.W. TIMMER (ed.).
Proc. 8th Conf. Intern. Organ. Citrus Virol., p. 48-50
University of California Ca.
- Mc CLEAN (A.P.D.). 1954.
Citrus vein-enation virus.
So African J. Sci., 50, 147-151.
- MAMET (J.R.). 1943.
The Aphididae.
Bull. Maurit. Inst., 2, 171-176.
- MAMET (J.R.). 1967.
A few species of Aphididae (Homoptera) new to the fauna of the islands of Reunion and Mauritius.
Bull. Maurit. Inst., 6-63.
- MOREIRA (S.). 1967.
Enquête sur les maladies des agrumes, îles Maurice et de la Réunion.
Bull. Phytos. FAO, 15, p. 59-60.
- MULLER (G.W.) et COSTA (A.S.). 1972.
Reduction in the yield of Galego lime avoided by preimmunization with mild strain of the Tristeza virus, p. 171
in : W.C. PRICE ed. *Proc. 5th Conf. int. Org. Citrus Virol. Univ. Florida Press, Gainesville*.
- OLSON (G.O.). 1956.
Mild and severe strain of tristeza virus in Texas citrus.
Phytopathology, 46, 336-341.
- REY (J.Y.). 1981.
Principaux résultats obtenus dans la première série d'essais porte-greffe à Nyombé, Cameroun.
Fruits, vol. 36, n° 7-8, p. 421-435.

- ROISTACHER (C.N.), BLUE (R.L.), MAUER (E.M.) et CALAVAN (E.C.). 1974.
Suppression of Tristeza virus symptoms in mexican lime seedlings grown at warm temperature.
Plant Dis. Rep., 58, 757-760.
- SCHNEIDER (H.). 1954.
Anatomy of bark of bud-union, trunk, and roots of quick decline-affected sweet orange trees on sour rootstock.
Hilgardia, 22, 567-601.
- SCHWARTZ (R.). 1980.
Comment on Tristeza in Japan and the Philippines. 3 p.
- SMITH (C.O.). 1912.
Further proof of the cause and infectiousness of crown gall.
Calif. Agric. Exp. Sta. Bull. 235, 531-557.
- SMITH (B.G.G.). 1971.
Grande Anse Experimental Station.
Annual Report for the year 1970. Research Division Department of Seychelles, 46 p.
- SHEPHERD (R.J.), FRANCKI (R.I.B.), HIRTH (L.), HOLLINGS (M.), INOUE (T.), MACLEOD (R.), PURCIFULL (D.E.), SINHA (R.C.), TREMAINE (J.H.), VALENTA (V.) et WETTER (C.). 1976.
New groups of plant viruses approved by the International Committee on Taxonomy of Viruses, September 1975.
Intervirology, 6, 181-184.
- STUBBS (L.L.). 1956.
Transmission and protective inoculation studies with viruses of citrus tristeza complexe.
Inst. I. Agr. Res., 15, 752-770.
- VOGEL (R.). 1966.
L'indexation des agrumes en Corse.
Commission agrotechnique du C.A.Z.F., p. 75-80.
- VOGEL (R.). 1975.
Cristacortis. in : Description and illustration of virus and virus-like diseases of citrus,
Ed. SETCO-IFAC.
- WALLACE (J.M.) et DRAKE (R.J.). 1960.
Woody gall on citrus associated with vein-enation virus infection.
Plant Dis. Rep., 44, 580-584.
- WALLACE (J.M.). 1975 A.
Vein enation - Woody gall.
in : Description and illustration of virus and virus-like diseases of Citrus.
ed. : SETCO-IFAC.
- WALLACE (J.M.). 1975 B.
Seedling yellow's.
in : Description and illustration of virus and virus-like diseases of Citrus.
ed. : SETCO-IFAC.
- WALLACE (J.M.) et DRAKE (D.J.). 1968.
Citrange Stunt and ringspot, two previously undescribed virus diseases of Citrus.
in : Childs J. FL. (ed.)
Proc. 4th Conf. intern. Org. Citrus Virol. p. 177-183,
Univ. Fla. Gainesville Fla.

