

**Le greening,
une maladie infectieuse des agrumes,
d'origine bactérienne,
transmise par des Homoptères psyllidés.**

Stratégie de lutte développée à l'île de la Réunion.
Circonstances épidémiologiques en Afrique/Asie
et modalités d'intervention.

B. AUBERT

AVANT-PROPOS

Connue seulement en Chine et en Afrique du Sud au début des années 1940, la maladie du *greening*, décrite à l'époque sous le nom de *Yellow shoot* ou *Yellow branch disease* est apparue en quelques décades dans de nombreux pays d'Afrique et d'Asie. Affectant à des degrés divers l'ensemble des espèces agrumicoles quelque soient les associations porte-greffe/greffons, elle inflige aujourd'hui d'importantes pertes économiques dans plus de cinquante pays, et va même, à certains moments, jusqu'à menacer l'existence d'un précieux patrimoine génétique.

Les toutes premières descriptions du *greening* remontent en fait au milieu du siècle dernier. Elles sont conservées dans les archives de l'Université de Chine du Sud à Canton, et permettent de situer, avec exactitude l'origine du premier foyer. Ce dernier s'est déclaré dans le comté de *Shantou* au Nord-est de la province de *Guangdong*, en face du détroit de Taiwan, et à la limite de la province du *Fujian*. Une longue tradition agrumicole caractérise cette région qui est le lieu d'origine de plusieurs cultivars de mandariniers. C'est également de cet endroit que sont partis bon nombre de Chinois de la diaspora.

Jusqu'à la fin des années 1930, il était couramment admis que le *Yellow shoot* était un simple désordre physiologique sans grande importance. Les paysans du Sud de la Chine lui avaient donné de nombreux sobriquets : *maladie du nez rouge* parce que les fruits restaient petits et ne se coloraient qu'au niveau de l'extrémité styloïde, *maladie des feuilles qui chutent*, *maladie du chevelu racinaire*, *maladie des petites feuilles de poivrier*, etc. mais le plus commun d'entre eux restant toutefois la *maladie des pousses jaunes* ou *Huang Lung Bing*.

C'est le professeur H.K. LIN de l'Université de Chine du Sud, qui, le premier a attiré l'attention sur le caractère infectieux du *greening*. Ses conclusions résultaient à la fois d'une transmission positive de la maladie par la greffe, ainsi que d'une étude épidémiologique qu'il avait effectuée entre 1947 et 1948 dans plusieurs régions agrumicoles du Guangdong et du Fujian. Elles devaient être à l'origine d'une longue controverse qui a duré près d'un quart de siècle. En effet un groupe de scientifiques influents tant à Canton qu'à Pékin, faisaient leurs, l'avis de plusieurs experts soviétiques estimant que le *greening* n'était qu'un simple désordre physiologique consécutif à un manque d'entretien des vergers. Engagés entre 1947 et 1957 dans les trois provinces du Sud (Fujian, Guangdong et Guangxi) sous l'impulsion de LIN, les premiers travaux sur le *greening* démontraient qu'une couverture insecticide régulière contre *Diaphorina citri* enrayerait la dispersion de la maladie dans les vergers, et que l'emploi de greffons traités à la vapeur à 49°C pendant 50 minutes évitait la transmission de la maladie par la greffe.

En 1958 la polémique reprenait aussi bien du côté des planteurs que de celui des scientifiques. Dans la province du Fujian un agrumiculteur prétendait avoir trouvé un remède efficace pour guérir les arbres atteints de *Huang Lung Bing*. Le traitement consistait à découvrir les racines, couper les branches atteintes de dépérissement, et appliquer une abondante fumure organique. Immédiatement les paysans du Shantou expérimentaient cette technique sur plusieurs dizaines de milliers d'arbres atteints de *Huang Lung Bing* mais sans résultat notable. Les rares cas de guérison venaient de quelques pieds uniquement atteints de *Phytophthora*. Cet épisode réconciliait donc les planteurs avec les positions prises par LIN. Mais vers la même époque plusieurs scientifiques faisaient prévaloir l'idée que le *greening* était une forme de *Tristeza*, et que la maladie pouvait être transmise par pucerons. Cet argument était défendu malgré le fait que dans certaines pépinières LIN avait identifié des semis de porte-greffe atteints de *greening* mais répondant négativement à l'indexation *Tristeza*.

La période allant de 1960 à 1970 fut marquée par le développement des recherches aux Philippines d'une part et en Afrique du Sud d'autre part. Le rôle respectif de *Diaphorina citri* en Asie et

de *Trioza erytrae* en Afrique dans la vection de la maladie devait ainsi être mis en évidence.

Ce n'est qu'entre 1970 et 1980 avec l'avènement de la microscopie électronique et l'emploi de certains antibiotiques, ou procédés de digestion enzymatique, que l'étiologie du greening pouvait être confirmée. La maladie était alors définitivement associée à la présence d'une bactérie intracellulaire dans les tubes criblés du phloème. Il revient à l'équipe du Professeur BOVE (INRA - Université de Bordeaux II), le mérite d'avoir étayé de façon probante, l'hypothèse d'une *phyto bactériose vasculaire*.

L'époque récente connaît de nouveaux développements avec l'obtention d'anticorps monoclonaux et les tentatives de purification et de culture de la bactérie sur substrat acellulaire synthétique. Ces nouvelles recherches laissent présager de rapides progrès dans la détection précoce et l'étude épidémiologique.

En raison de ses particularités climatiques floristiques et faunistiques, l'île de la Réunion offre un champ d'expérimentation exceptionnel pour l'étude du greening. Ce département d'Outre-Mer constitue en effet un des rares exemples de territoire hébergeant les deux psylles vecteurs à la fois.

Répondant au souci des autorités locales de réhabiliter l'agrumiculture réunionnaise, l'IRFA a pris en compte ce difficile problème en s'associant à plusieurs partenaires scientifiques nationaux (INRA-Bordeaux, IRAT-Réunion) ou étrangers (Afrique du Sud, Inde).

Le travail de recherche engagé à la Réunion au début des années 1970 a tout d'abord permis d'étudier différents aspects de la pathogénie sur des plantes hôtes infectées soit en conditions naturelles par vecteurs, soit expérimentalement par greffe d'inoculation sous cage d'isolement. Les travaux conduits en champ ont par ailleurs mis en évidence la portée et les limites des techniques de protection chimique (couverture insecticide, traitements curatifs par injection d'antibiotiques), et montré la nécessité d'aborder le problème du greening dans un contexte plus général en mettant l'accent sur le contrôle des vecteurs par lutte biologique d'une part, et sur l'emploi d'un matériel végétal indemne de maladie dès le stade de la pépinière, d'autre part.

L'introduction d'hyménoptères chalcidiens parasites de *T. erytrae* ou de *D. citri*, leur élevage de masse, suivi de lâchers en vergers d'agrumes, ont permis de ramener les pullulations de vecteurs à des seuils extrêmement bas. Cette action, combinée à un système de certification des pépinières agrumicoles et de gestion des parcs à bois a redressé de façon spectaculaire la production agrumicole de l'île. Des enquêtes de terrain effectuées avant et après le lancement du programme de *lutte intégrée* ont montré un changement complet du *profil épidémiologique* de la maladie en l'espace de quelques années.

Ce renversement de situation a pu être obtenu dans des conditions écologiques particulièrement difficiles en raison de la structure foncière très morcelée de l'île et de la présence de nombreuses plantes endémiques ou ornementales hébergeant l'un ou l'autre vecteur. Ces conditions rendaient aléatoire et en tout cas fort onéreuse toute tentative de lutte fondée sur l'éradication. Mais dorénavant cette dernière alternative apparaît envisageable du fait de la raréfaction des foyers infectieux. Le maintien d'un réseau de surveillance doit pouvoir maintenant conforter de façon durable le renouveau de l'agrumiculture locale.

Qu'il me soit permis ici de rendre hommage aux arboriculteurs réunionnais de Petite Ile, Entre Deux, La Montagne, qui, dès les années 1960 n'ont pas ménagé leurs efforts pour réhabiliter l'agrumiculture réunionnaise. Ils ne pouvaient pas savoir qu'ils avaient à faire à une redoutable maladie dévastant encore de nos jours de nombreux vergers d'Afrique et d'Asie.

Fait à Fuzhou Chine
Septembre 1987

INTRODUCTION
LE GREENING, UNE MALADIE DE DEGENERESCENCE
QUI MENACE LA PRODUCTION AGRUMICOLE
EN AFRIQUE, EN ASIE ET DANS CERTAINES ILES DE L'OCEAN INDIEN

DONNEES GENERALE CONCERNANT LA PRODUCTION AGRUMICOLE.....	13
Production d'agrumes à l'échelle mondiale.	13
Inégale répartition de la production agrumicole dans les pays en développement.....	14
Situation de l'agrumiculture à la Réunion et dans les îles voisines.	16
LE GREENING, UNE DES PLUS GRAVES MALADIES DE DEGENERESCENCE	
DES AGRUMES	16
Maladies de dégénérescence transmissibles par la greffe et par arthropodes.	19
Maladies des agrumes transmissibles à travers la graine.	22
LE GREENING, PRINCIPALE CAUSE DU DECLIN DE L'AGRUMICULTURE DANS	
LES PAYS RIVERAINS DE L'OCEAN INDIEN	23
Pays d'Afrique et d'Asie.	23
<i>Le greening en Asie.</i>	<i>24</i>
<i>Le greening en Afrique.</i>	<i>24</i>
<i>Le cas de certaines îles de l'Océan Indien.</i>	<i>25</i>
L'ENVIRONNEMENT REUNIONNAIS PAR RAPPORT A LA MALADIE DU	
GREENING ET A SES VECTEURS.	25
Situation géographique et climat.	25
Flore des Rutacées à la Réunion.	29
Historique des introductions d'agrumes dans l'île.	32
CONDITIONS D'EXPERIMENTATION ET PLAN DE TRAVAIL.	34
Première partie.	34
Deuxième partie.	36
Troisième partie.	36

PREMIERE PARTIE
ETUDES CONCERNANT LA PLANTE

CHAPITRE I
OBSERVATIONS DES SYMPTOMES EN CHAMP
ET REACTIONS PATHOGENIQUES OBTENUES PAR INOCULATION EXPERIMENTALE
DE PLANTS CULTIVES SOUS CAGE D'ISOLEMENT

SYMPTOMES OBSERVES EN VERGERS ET PRINCIPAUX DEGRES D'ATTAQUE	
DANS L'EVOLUTION DE LA MALADIE.	39
Population-cible étudiée.	39
Symptômes généraux observés <i>in situ</i>	40

Les différents types de symptômes observés selon l'étagement des vergers en altitude.	42
Méthode de notation des symptômes sur un individu.	42
Sommation des résultats et signification du système de notation.	43
OBTENTION DES SYMPTOMES DE GREENING PAR GREFFE D'INOCULATION. .	45
Transmission de Citrus à Citrus.	45
<i>Transmission de Citrus à Citrus par greffe de feuille.</i>	45
Matériel et méthode.	45
Apparition des symptômes et pourcentage de transmission	47
<i>Transmission de Citrus à Citrus par greffe de brindille verte infectée.</i>	51
Matériel et méthode.	51
OBTENTION DE SYMPTOMES PAR VECTION ANIMALE.	52
Symptômes obtenus sur jeunes plants d'orangers par infection massive.	52
Essai de transmission par psylles individuels.	53
Essai de transmission sur jeunes <i>Murraya paniculata</i>	54
SYMPTOMATOLOGIE DU GREENING COMPAREE A CELLE D'AUTRES	
MALADIES INFECTIEUSES.	54
Greening et tristeza/seedling yellows.	55
Greening et stubborn.	58
Greening et blight.	58
CONCLUSION.	61

CHAPITRE 2

RECHERCHE DE TROUBLES PHYSIOLOGIQUES ET/OU ANATOMIQUES ASSOCIES A LA MALADIE DU GREENING

COMPARAISON DES BILANS MINERAUX D'ORGANES SAINS OU MALADES.	63
Diagnostics foliaires.	65
Etudes effectuées sur le clémentinier SRA 83 dans plusieurs vergers de l'île.	65
Etudes effectuées sur oranger Valencia late (verger du Gol Etang-Salé).	65
Bilans totaux effectués sur des arbres adultes.	66
Matériel et méthode	66
Résultats du bilan de poids frais et de poids sec.	70
Résultats du bilan minéral total.	70
Etude effectuée sur de jeunes orangers Mme Vinous cultivés en serre et inoculés par greffe de feuille.	71
Immobilisations et exportations d'éléments minéraux dans le cas d'un oranger sain ou atteint de greening.	71
Discussion.	74
Comparaison des teneurs en éléments minéraux d'arbres atteints de greening ou d'arbres atteints de blight.	75
Matériel et méthode.	75
Résultats et discussion.	75
DESORDRES ANATOMIQUES AU NIVEAU DES FAISCEAUX CRIBRO-	
VASCULAIRES.	76
Matériel et méthode.	77
Résultats.	77
Types de subérification occasionés par la tristeza ou par la carence en bore.	82
DISCUSSION.	82

CHAPITRE 3
L'ANTIBIOTHERAPIE, UN MOYEN INDIRECT D'ETUDE ETIOLOGIQUE
ET UNE ALTERNATIVE DANS LA LUTTE CONTRE LA MALADIE DU GREENING
RESULTATS D'EXPERIMENTATION ET DISCUSSION

L'ANTIBIOTHERAPIE, UN MOYEN INDIRECT D'ETUDIER L'ETIOLOGIE DU GREENING.	85
TECHNIQUE D'INJECTION SOUS PRESSION DANS LE TRONC DES ARBRES.	86
Matériel et méthode.	86
Résultats obtenus sur les arbres atteints de greening.	86
 DOSAGE DE LA PENICILLINE DANS LES ARBRES TRAITES PAR INJECTION. ..	 86
Préparation de la Gamme étalon.	86
Méthode de dosage de la pénicilline dans les feuilles d'oranger.	87
Diffusion et persistance de la pénicilline dans l'arbre.	88
Doses et modes d'injection.	88
Résultats.	88
 ESSAIS D'ANTIBIOTHERAPIE EFFECTUES EN VERGER	 91
Protocole expérimental.	91
Résultats.	93
Evolution des symptômes.	93
Evolution des récoltes.	94
Comparaison entre Tétracycline HCl et PMT.	97
 DISCUSSION ET CONCLUSION.	 98

DEUXIEME PARTIE
ETUDES CONCERNANT LES VECTEURS ET LEURS PARASITES

CHAPITRE 4
LES DEUX PSYLLES VECTEURS DU GREENING
DIAPHORINA CITRI KUWAYAMA ET TRIOZA ERYTREAEE (DEL GUERCIO)

LES DEUX PSYLLES VECTEURS DU GREENING :	
POSITION TAXONOMIQUE ET CLEFS D'IDENTIFICATION PAR RAPPORT	
A D'AUTRES PSYLLES S'ALIMENTANT SUR AGRUMES.	103
Position taxonomique et description des adultes.	103
Autres psylles adultes s'alimentant sur agrumes.	106
Espèces du genre <i>Diaphorina</i>	106
Espèces des genres <i>Trioza</i> et <i>Mesohomotoma</i>	108
Espèces du genre <i>Psylla</i>	108
Dégâts caractéristiques provoqués sur agrumes par trois psyllidés.	108
Zones de répartition de <i>D. citri</i> et <i>T. erytreae</i>	110
<i>D. citri</i>	110
<i>T. erytreae</i>	110
 QUELQUES CARACTERES ECOLOGIQUES ET ETHOLOGIQUES DE QUATRE	
ESPECES DE PSYLLINEA OBSERVES SUR AGRUMES A L'ILE DE LA	
REUNION.	110
Le psylle asiatique : <i>D. citri</i> (synonyme <i>Euphalerus citri</i> KUW.).	110
Le psylle africain : <i>T. erytreae</i> (synonyme : <i>Trioza merwei</i> PETTEY = <i>Soanioza erytreae</i> D.G. <i>Trioza citri</i> LAING).	111
Le psylle de <i>Litsea</i> : <i>Trioza litseae</i> BORDAGE synonyme <i>Trioza eastopi</i> ORIAN.	112
Le psylle de l'Hibiscus.	112

ETUDES EXPERIMENTALES CONDUITES SUR LES PSYLLES VECTEURS DU GREENING.	114
Etude de la sensibilité de <i>T. erytrae</i> au degré de siccité de l'air.	114
Matériel et méthode.	114
Résultats.	114
Discussion.	114
Etudes concernant l'attractivité de différentes Rutacées vis-à-vis de <i>T. erytrae</i> et <i>D. citri</i>	117
Matériel et méthode.	117
Résultats.	117
Discussion.	119
OBSERVATIONS EFFECTUEES EN CONDITIONS NATURELLES	119
CONCLUSION.	119

CHAPITRE 5
NOUVEL EQUILIBRE BIOLOGIQUE OBSERVE A LA REUNION
SUR LES POPULATIONS DE PSYLLIDES
APRES L'INTRODUCTION ET L'ETABLISSEMENT D'HYMENOPTERES CHALCIDIENS

ROLE ECOLOGIQUE DES HYMENOPTERES CHALCIDIENS.	
TECHNIQUES DE COLLECTE ET D'OBSERVATION, POSITION TAXONOMIQUE	121
Techniques de collecte et d'observation.	122
Aspirateur à bouche.	122
Elevages en boîtes d'éclosion.	122
Elevage en gellule d'éclosion.	122
Montage des échantillons sur lame et lamelle.	123
Parasites primaires de <i>D. citri</i> et <i>T. erytrae</i>	124
<i>Eulophidae</i> : genre <i>Tetrastichus</i> (synonyme : <i>Tamarixia</i>).	125
<i>Encyrtidae</i> : genres <i>Diaphorencyrtus</i> , <i>Psyllaephagus</i>	125
Parasites secondaires et tertiaires des psylles vecteurs du greening.	128
<i>Encyrtidae</i>	128
<i>Aphelinidae</i>	128
Hyperparasites appartenant à d'autres familles de chalcidiens.	128
PARASITES PRIMAIRES DES PSYLLES VECTEURS DU GREENING INTRODUITS A L'ILE DE LA REUNION.	130
Matériel et méthode.	130
Parasites primaires de <i>T. erytrae</i>	130
Parasite primaire de <i>D. citri</i>	132
Résultats concernant l'implantation des Hyménoptères introduits.	132
OBSERVATIONS RELATIVES A LA BIOLOGIE DE <i>T. DRYI</i> ET <i>T. RADIATUS</i>.	132
Cycle de développement.	132
Spécificité hôte-parasite.	134
RESULTATS OBTENUS SUR LES POPULATIONS DE PSYLLES VECTEURS DU GREENING.	135
Méthodes utilisées pour le contrôle des populations de psylles.	135
Résultats.	136
Réduction des populations de <i>T. erytrae</i>	136
Réduction des populations de <i>Diaphorina citri</i>	138
<i>Observations effectuées en insectarium.</i>	138
Matériel et méthode.	138
<i>Evolution des populations de Diaphorina citri en vergers et sur les haies de Murraya paniculata.</i>	139

Réduction des populations de <i>Trioza litseae</i>	142
DISCUSSION ET CONCLUSION.	142

CHAPITRE 6
EPIDEMIOLOGIE DU GREENING
AVANT ET APRES LE PROGRAMME DE LUTTE BIOLOGIQUE ENGAGE
CONTRE LES PSYLLES VECTEURS

CONDITIONS DE REALISATION DE L'ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE	145
Contexte général	145
Choix des vergers et conditions de réalisation de l'enquête épidémiologique	146
Choix des vergers	146
Collecte des données	
RAPIDITE D'EVOLUTION DES SYMPTOMES DE GREENING OBSERVEE AVANT LE CONTROLE BIOLOGIQUE DES VECTEURS SUR UN ECHANTILLON DE DOUZE VERGERS	146
Choix des douze vergers	146
Résultats	148
Discussion	150
EXEMPLE DE VITESSE DE PROPAGATION DE LA MALADIE DU GREENING DANS UN VERGER POLYVARIETAL, AVANT LE CONTROLE BIOLOGIQUE DES VECTEURS : ANALYSE SPATIO-TEMPORELLE	150
Matériel et méthode	150
Résultats	151
Bilan épidémiologique en quatrième année de plantation	151
Bilan épidémiologique en huitième année de plantation	153
Discussion	153
ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE COMPARANT LA PROGRESSION DU GREENING AVANT ET APRES LE PROGRAMME DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LES VECTEURS	155
Choix des vergers	155
Technique d'enquête et mode d'interprétation des résultats	155
Enquête	155
Interprétation des résultats	155
DISCUSSION ET CONCLUSION	157

CHAPITRE 7
CIRCONSTANCES EPIDEMIOLOGIQUES ET RESEAUX DE SURVEILLANCE

PORTEE ET LIMITES DE L'EXPERIENCE REUNIONNAISE	159
DONNEES SOCIO-ECONOMIQUES REUNIONNAISES	160
Incidence sur les rendements et les coûts de production	160
CIRCONSTANCES EPIDEMIOLOGIQUES RENCONTREES EN AFRIQUE	163
CIRCONSTANCES EPIDEMIOLOGIQUES PREVALANT EN ASIE	165
Chine	167
Philippines	170
Thaïlande et Indonésie	172
Népal	172
Conclusion	173

CONCLUSION FINALE	174
BIBLIOGRAPHIE	175

INTRODUCTION

**Le greening, une maladie de dégénérescence
qui menace la production agrumicole
en Afrique, en Asie et dans certaines îles de l'Océan Indien**

DONNEES GENERALES CONCERNANT LA PRODUCTION AGRUMICOLE

Production d'agrumes à l'échelle mondiale.

Le terme «agrumes» désigne les arbres ou les fruits d'une sous-famille des Rutacées : les Auran-toïdées. Il regroupe trois genres : *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus*. Cette dénomination qui tire son origine du latin populaire «acrumen» de («acer» =aigre) est utilisée aujourd'hui dans certaines régions d'Europe occidentale. Mais la plupart des pays producteurs lui préfèrent le terme de *Citrus* employé dans un sens plus large que son acceptation botanique, *citriculture* étant alors synonyme d'agrumicul-ture.

De nos jours, les agrumes tiennent une place très importante dans l'éventail des productions frui-tières, puisqu'on estime à 2,5 millions d'hectares les superficies qui leur sont consacrées. Pour l'année 1985-1986 la récolte mondiale recensée a atteint 48,3 millions de tonnes réparties en :

- 30,5 millions de tonnes d'oranges
- 8,0 millions de tonnes de mandarines
- 4,2 millions de tonnes de citrons et limes
- 4,0 millions de tonnes de pomelos et pamplemousses
- 1,6 millions de tonnes d'agrumes divers (oranges amères, kumquats, cédrats, combavas et divers hybrides interspécifiques).

Cette production qui ne comptabilise que celle des vergers organisés, intervient environ pour moitié dans les pays en développement et pour moitié dans les pays développés.

Aujourd'hui, les agrumes totalisent 20 p. 100 de l'ensemble des productions fruitières mondiales. Ils ne sont devancés que par les raisins (62 millions de tonnes), mais se placent avant les bananes : (41 millions de tonnes) et les pommes (24 millions de tonnes).

Les agrumes sont cultivés sur toute la ceinture intertropicale du globe jusque vers les 40e degrés de latitude. Le continent américain fournit à lui seul plus de la moitié de la récolte mondiale (figure 1). Les régions de climat méditerranéen, situées entre les 30e et 40e degrés de latitude, produisent des oranges, des mandarines ou des citrons consommés principalement sous forme de fruits frais. Par contre, aux latitudes inférieures à 30 degrés, la peau des oranges ne se colore guère à maturité. Ces oranges dites «tropicales» sont destinées surtout à la transformation industrielle, notamment pour la fabrication de *jus concentré congelé*. Toutefois les limes et pomelos des pays chauds peuvent acquérir une présentation marchande les rendant aptes au marché du fruit frais, et les oranges ou mandarines restent souvent bien placées dans les transactions locales en régions chaudes.

La consommation des agrumes a connu depuis un demi-siècle une augmentation régulière, principa-lement dans les pays occidentaux ainsi qu'au Japon où elle arrive à dépasser 20 kg de fruits par habitant et par an. Ce chiffre ne prend d'ailleurs pas en compte l'équivalent «fruit-frais» consommé sous forme de jus, mode d'utilisation qui tend à se développer de plus en plus, avec l'apparition de nouveaux procédés d'emballage et de conditionnement.

L'accroissement de la demande sur le marché a entraîné la plantation de nouveaux vergers au cours des cinq dernières années.

Les agrumes ne sont pas consommés seulement pour l'agrément. Depuis les temps les plus reculés, les marins savaient que la consommation de citrons ou d'oranges évitait le scorbut. Au début de ce siècle, RANDOUIN et LECOQ (1927) puis SZENT GYORGY (1936) ont montré que les agrumes

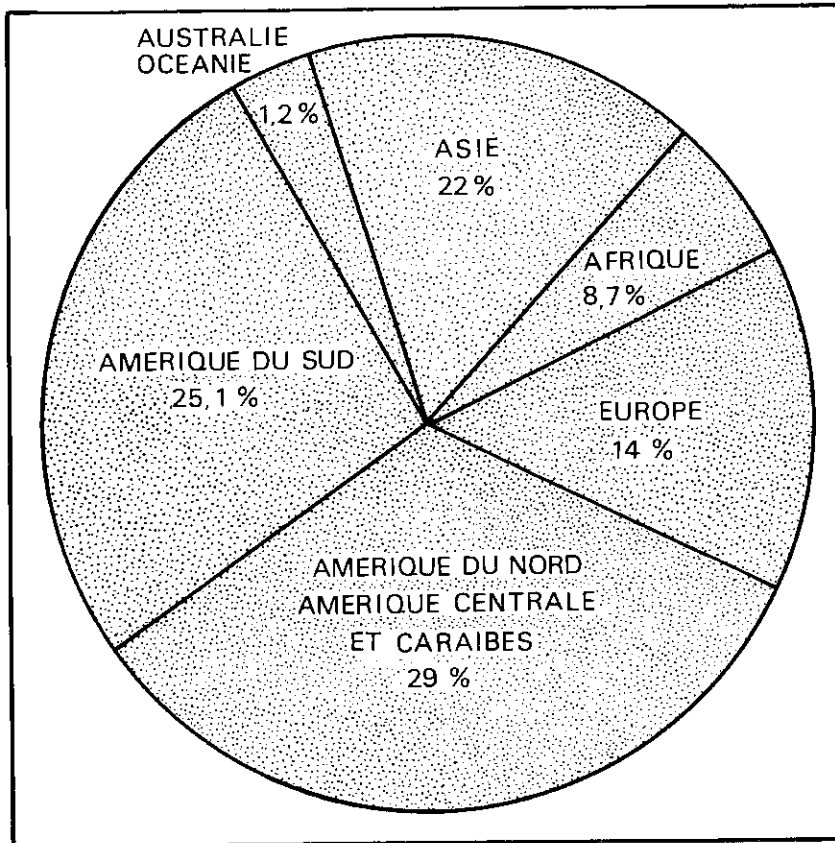


Figure 1 - Répartition de la production mondiale d'agrumes par continents.

contenaient un facteur antiscorbutique double. GAZAVE (1977) a identifié le facteur vitaminique C_2 présent dans le jus de citron privé d'acide ascorbique (facteur C_1). Il s'agit d'une *penta-hydroxyflavone* qui joue le rôle de régulateur du taux d'acide ascorbique dans les tissus de l'organisme. D'autres *citro-flavonoïdes*, notamment les *flavones méthoxylées*, possèdent des effets pharmacodynamiques auxquels on s'intéresse de plus en plus (BEZANGER, 1977). On a découvert aussi que les glucosides de flavone comme l'*hespéridine* de l'orange ou la *naringine* du pomelo étaient douées de propriétés germicides (HUET, 1982).

Les agrumes ont par ailleurs acquis une réputation méritée dans un autre domaine, celui des huiles essentielles. Obtenues après traitement des fruits ou des fleurs, ces huiles trouvent de nombreux débouchés dans l'industrie agro-alimentaire ou pharmaceutique, ainsi qu'en parfumerie.

C'est, on le voit, à bien des titres que les agrumes ont peu à peu occupé la place importante qu'ils tiennent aujourd'hui de par le monde.

Inégale répartition de la production agrumicole dans les pays en développement.

Selon les statistiques officielles (sources FAO, 1981), la production agrumicole des pays en développement atteint aujourd'hui 22 millions de tonnes. L'Amérique latine prise globalement arrive en tête de ces pays avec une récolte de 15 millions de tonnes, tous agrumes confondus, suivie de très loin par l'Asie tropicale : 5,2 millions de tonnes et le Moyen-Orient : 3,9 millions de tonnes

Actuellement l'Asie méridionale et l'Asie du Sud-Est, qui hébergent environ la moitié de la population du globe, ne fournissent que 6,6 p. 100 de la production mondiale d'agrumes officiellement recensée.

Dans cette région du monde, le niveau de consommation par habitant et par an n'atteint en moyen-

Tableau 1 - Production d'agrumes en Asie tropicale et subtropicale (en tonnes métriques).

		Population en 000	Oranges	Mandarines	Citrons et Limes	Pomelos et Pamplemousses	Total	Consommation apparente kg/an/hab.
Asie Méridionale	Inde	725 456	1 200 000	250 000	500 000	20 000	1 970 000	2,7
	Sri Lanka	15 754	7 000	3 000	38 000	-	48 000	3,0
	Pakistan	94 656	520 000	205 000	31 000	2 000	758 000	8,0
Asie du Sud-Est	Chine	1 033 699	1 203 000	269 000	99 000	157 000	1 728 000	1,7
	Indonésie	155 564	390 000	-	-	-	390 000	2,5
	Philippines	53 226	25 000	30 000	45 000	40 000	140 000	2,6
	Thaïlande	50 284	57 000	-	1 000	17 000	75 000	1,5
	Viet Nam	57 449	95 000	-	-	4 000	99 000	1,7
	Malaisie	15 119	9 000	-	1 000	2 000	12 000	0,8
	Kampuchea	7 185	30 000	-	1 000	2 000	33 000	4,6
	Laos	3 994	25 000	12 000	4 000	3 000	44 000	11,0
TOTAUX		2 212 386	3 561 000	769 000	720 000	247 000	5 297 000	2,39

Source : Statistiques FAO, 1983.

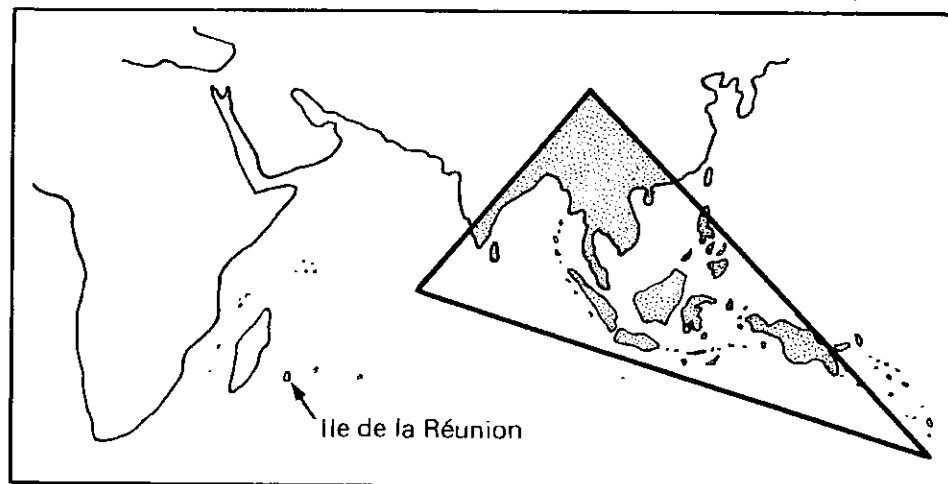
ne que 2,4 kg seulement (tableau 1), et les agrumes frais restent le plus souvent une véritable denrée de luxe.

Or les botanistes s'accordent à reconnaître comme aire d'origine des agrumes l'Asie tropicale et subtropicale de l'Est (SWINGLE, 1967). Le territoire dénommé *triangle des agrumes* est délimité au Nord-Est par la chaîne himalayenne, au Sud par l'Indonésie, à l'Est par les Philippines et la Nouvelle Calédonie (figure 2). Quelques rares espèces à fruits comestibles appartenant à la sous-famille des Aurantoïdées ont atteint le Moyen-Orient puis le Bassin méditerranéen dès l'Antiquité. C'est le cas par exemple du Cédrat. Mais dans leur grande majorité, les agrumes n'ont commencé à être dispersés à travers le monde qu'à la fin du XVe siècle avec l'ouverture de nouvelles routes maritimes reliant l'Orient et l'Occident.

Ni les techniques horticoles, ni les contraintes d'ordre socio-économiques ne peuvent expliquer le déficit actuel de la production agrumicole en Asie tropicale, région où, par ailleurs, des *cultures industrielles* comme le thé, l'hévéa, le palmier à huile ou le cocotier ont été menées de front avec les *cultures vivrières de subsistance*.

Les causes de ce sous-alimentation fruitier sont à rechercher plutôt dans les troubles pathologiques qui affectent sévèrement la productivité des agrumes. Cette situation transparaît à la simple

Figure 2 - Le triangle des agrumes (d'après SWINGLE, 1967).



lecture des statistiques de production. Ainsi, le verger agrumicole de l'archipel des Philippines qui s'étendait en 1970 sur 28 400 ha, fournissait à peine 150.000 tonnes de fruits, soit une productivité moyenne de 5,1 t/ha. Dans le même temps, les 13.220 ha d'agrumes de l'île de Formose produisaient 101 340 tonnes de fruits, soit un rendement de 7,6 t/ha (BLONDEL, 1970). En Indonésie, des estimations récentes font état d'un verger agrumicole de 20 millions d'arbres, produisant 400.000 tonnes de fruits, soit 20 kg/arbre/an ou l'équivalent de 5 t/ha (PRATIKAYO, 1984). On rappellera que le niveau de productivité à l'échelle mondiale, se maintient aux environs de 20 t/ha.

Les études poursuivies au cours des vingt dernières années ont montré que diverses maladies de dégénérescence occasionnées par des *virus* ou des *organismes procaryotes* étaient responsables de l'état de délabrement de nombreux vergers asiatiques. A elles seules ces maladies sont susceptibles de provoquer plus de dégâts que l'ensemble des autres organismes nuisibles des agrumes réunis. Elles ne sont pas d'ailleurs circonscrites uniquement à l'Asie puisque leur découverte est intervenue soit en Afrique australe, soit sur le continent américain, ou encore dans les pays du Bassin méditerranéen. Toutefois, c'est l'Asie tropicale qui se trouve aujourd'hui sévèrement touchée par ce type d'affection. Parmi ces dernières, le *greening*, maladie à *procaryote* transmissible par la greffe et par insectes, occasionne des pertes économiques considérables et va même jusqu'à menacer l'existence d'un précieux patrimoine génétique.

Situation de l'agrumiculture à la Réunion et dans les îles voisines.

En 1970, la situation de l'agrumiculture réunionnaise n'avait rien à envier à celle des pays du Sud-Est asiatique. Une enquête effectuée sur l'ensemble du département révélait que la longévité des arbres ne dépassait guère 6 à 7 ans et que leur productivité plafonnait à 10 kg/arbre/an en moyenne, soit l'équivalent de 2 à 3 t/ha.

L'apparition du *greening* et de ses vecteurs dans les décades précédentes avait entraîné un grave problème de dépérissement des vergers. L'île se voyait dans l'obligation d'importer 3.000 tonnes d'agrumes, alors qu'antérieurement la production de mandarines, oranges, citrons, limes et pomelos était satisfaisante. Toutes les tentatives de relance de la production agrumicole entre les années 1960 et 1970 avaient échoué. Le recours à la protection chimique dans la lutte contre ce fléau entraînait des coûts de production prohibitifs, pour des résultats agronomiques médiocres. Répandu à l'état *endémique* dans toute la zone de culture des agrumes, le *greening* constituait une sérieuse entrave à la production fruitière réunionnaise. Il convenait donc de rechercher des stratégies capables d'enrayer aussi efficacement que possible les méfaits de cette maladie.

Dans les îles voisines comme Maurice ou sur les Hauts Plateaux de Madagascar, la faible productivité des vergers d'agrumes était à mettre également en relation avec les dégâts occasionnés par le *greening* (MOREIRA, 1967, BOVE et CASSIN, 1968 b).

LE GREENING, UNE DES PLUS GRAVES MALADIES DE DEGENERESCENCE DES AGRUMES.

Les agents responsables des maladies de dégénérescence sont des *viroïdes*, des *virus*, ou des *procaryotes endocellulaires*. Ils se situent au bas de l'échelle des êtres vivants, et l'étiologie des affections qu'ils occasionnent n'a pu être élucidée que grâce aux techniques modernes de la biologie cellulaire et moléculaire.

Un *viroïde* est constitué d'un simple acide ribonucléique (ARN), de faible poids moléculaire. Sa structure relativement simple lui confère un important pouvoir pathogène. Non seulement il arrive à être *infectieux*, mais aussi *contagieux*, c'est-à-dire transmissible par contact direct ou indirect (greffe, outils de greffe et outils de taille).

Le *virus* se compose de deux parties : l'acide nucléique de type ARN ou ADN, et la *capside* ou membrane nucléoprotéinique.

Le *virus* comme le *viroïde* ne possèdent qu'un seul type d'acide nucléique. Ils sont incapables de se reproduire par eux-mêmes. Leur réplication est dépendante d'une cellule hôte dont ils détournent le métabolisme à leur profit.

L'organisme *procaryote* est, par contre, une cellule vivante à part entière protégée par une membrane. Il ne possède pas de noyau bien individualisé comme dans le cas des cellules *eucaryotes*. Sa division *amitotique* est très simplifiée. On peut en principe le cultiver sur substrat artificiel où il arrive à se reproduire de façon autonome en milieu synthétique acellulaire.

Les maladies provoquées par ces différents agents pathogènes ont un caractère infectieux. Elles sont transmissibles de plante à plante soit directement par la greffe, soit indirectement par des Arthropodes hôtes intermédiaires qui jouent le rôle de vecteurs. Chez les agrumes, rares sont les cas de maladies de dégénérescence susceptibles de passer à travers la graine au moment du semis.

C'est avec la généralisation de nouvelles techniques horticoles notamment celle de la greffe, que ces affections ont posé de sérieux problèmes économiques en agrumiculture comme d'ailleurs en d'autres domaines de l'arboriculture fruitière. L'abandon des arbres *franc-de-pied*, et leur remplacement par des individus composites formés d'un porte-greffe et d'un greffon devaient en effet considérablement augmenter les risques de prolifération de ces agents infectieux. L'homme s'est trouvé involontairement le principal responsable de leur dissémination à travers les continents lors des échanges de matériel végétal sous forme de greffons ou de plants greffés.

Le greffage permet d'obtenir une association de deux individus grâce à la mise en contact puis à la soudure des cambiums. Chez les agrumes, par exemple on utilise couramment la technique du greffage à l'écusson (figure 3). La maladie intéressera la totalité du nouveau plant si l'une des deux parties : le greffon ou le porte-greffe, est infectée. En règle générale il existe des différences de sensibilité selon les espèces ou les sous-espèces de *Citrus*. Pour certaines maladies de dégénérescence les cas de *porteurs sains* sont même assez fréquents. En conséquence, l'observation d'une différence de symptomatologie au-dessus et en-dessous de la ligne de greffe n'est pas chose rare, puisque le pépiniériste utilise le plus souvent deux espèces botaniques différentes l'une comme porte-greffe et l'autre comme greffon.

La transmission par la greffe d'une maladie, apporte la preuve de son caractère *infectieux* et *systémique*. La *greffe d'inoculation* (figure 4) est un test couramment pratiqué en pathologie végétale comme technique de dépistage.

Figure 3 - Greffe de multiplication à l'écusson.

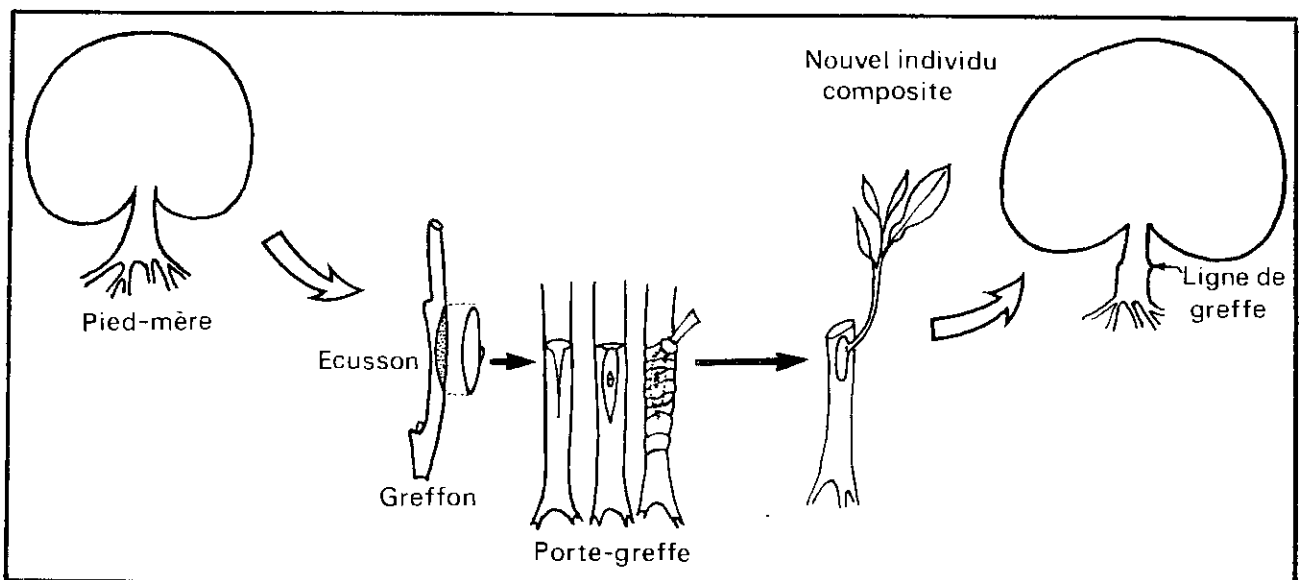
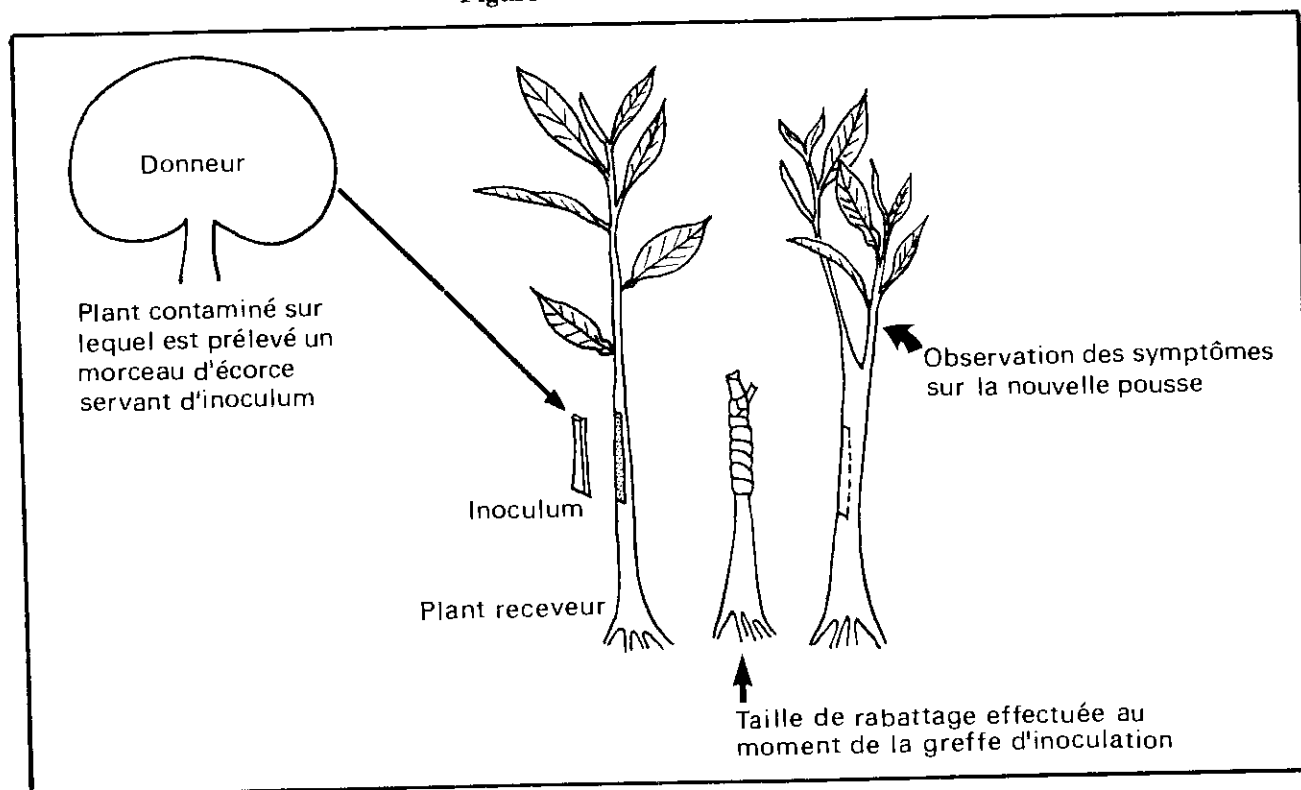


Figure 4 - Greffe d'inoculation.



C'est FAWCETT (1936) qui a identifié la première maladie de dégénérescence des agrumes, en reproduisant expérimentalement un symptôme d'écaillage d'écorce par greffe d'inoculation. Il s'agissait de la *psorose*, une affection transmissible aussi par la graine, quoique de façon occasionnelle.

La même année, une autre maladie faisait son apparition en Argentine puis quelque temps plus tard au Brésil, sur les orangers ayant comme porte-greffe le *bigaradier*. Venue d'Orient après avoir transité par l'Afrique australe, cette épiphytie provoquait en une décennie la mort de plus de 25 millions d'arbres ce qui lui a valu l'appellation de *tristeza*. La rapidité avec laquelle la *tristeza* s'était répandue venait du fait qu'elle pouvait être transmise efficacement par *Toxoptera citricidus* KIRKALDY, un puceron déjà présent en Amérique du Sud. L'importation de quelques plants contaminés avait suffi à créer les conditions d'une extension rapide de la maladie. C'est seulement 13 ans plus tard, en 1946, qu'un chercheur de l'Institut biologique de Sao Paulo : MENEGHINI devait réussir les premières transmissions par pucerons et que FAWCETT et WALLACE (1946) montraient que la *tristeza* était une affection virale écartant ainsi les hypothèses d'ordre physiologique ou fongique qui avaient prévalu jusque là.

L'importance économique prise par les maladies de dégénérescence des agrumes devenait considérable, et plusieurs autres affections du même type étaient progressivement mises à jour.

L'expérience désastreuse de la *tristeza*, suivie de la découverte d'autres maladies de dégénérescence, devait aboutir en 1957 à la création d'une association internationale des virologues des agrumes : l'IOCV. Cet organisme favorisa l'échange d'information entre les équipes scientifiques et conforta le travail des chercheurs notamment dans le domaine de l'étiologie. Actuellement 28 de ces maladies sont officiellement répertoriées : BOVE et VOGEL (1981), NAVARRO *et al.* (1984), USHIYAMA *et al.* (1984). Elles sont regroupées dans le tableau 2 et réparties en trois groupes principaux :

- celles qui ne se propagent que par la greffe ou éventuellement par voie mécanique
- celles transmissibles par la greffe et par des Arthropodes vecteurs
- enfin, celles transmissibles par la greffe mais qui peuvent occasionnellement passer à travers la

graine au moment du semis.

Le PREMIER GROUPE comprend 20 maladies de dégénérescence transmises uniquement par la greffe, exceptionnellement par voie mécanique. Leur propagation est dépendante dans une très large mesure, d'une intervention humaine, et a lieu le plus souvent au moment de la multiplication végétative. Il s'agit de maladies d'*affaiblissement* qui, la plupart du temps, ne mettent pas directement en cause la vie de l'arbre. Il existe des risques d'*addition* et de *potentialisation* de ces entités pathologiques. Beaucoup d'entre elles néanmoins ne sont préjudiciables qu'à un nombre restreint d'espèces ou cultivars d'agrumes.

Une proportion importante de *vieilles lignées*, très appréciées pour la qualité de leurs fruits, sont atteintes d'une ou plusieurs de ces maladies. Grâce à l'*embryonie nucellaire*, assez fréquente chez les agrumes, on peut régénérer ces *lignées* en les multipliant de semis (CASSIN, 1973). En effet, les chances de transmission d'organismes infectieux par la graine sont faibles, et le jeune semis issu d'un embryon nucellaire aura obligatoirement un patrimoine génétique identique à celui du pied-mère.

Toutefois, il existe des espèces monoembryonnées comme le clémentinier ou le bergamottier. De plus, certaines maladies de dégénérescence sont transmissibles à un faible pourcentage par la graine. Pour ces deux cas, une des techniques de régénération les plus récentes consiste à effectuer une microgreffe d'apex. L'apex, au sommet du point végétatif, est en effet une zone méristématique généralement indemne d'organismes infectieux. Une méthode mise au point par NAVARRO *et al.* (1975), permet de prélever en conditions stériles un apex pour le transférer sur un jeune semis de porte-greffe cultivé aseptiquement en tube. Il s'agit d'une technique couramment utilisée aujourd'hui sur agrumes pour la régénération sanitaire des lignées atteintes de maladies de dégénérescence. Elle a été appliquée par exemple en Corse sur plusieurs lignées de clémentiniers (NICOLI, 1984).

L'emploi d'un matériel végétal sain au départ, et le respect des filiations sanitaires lors du greffage ou du surgreffage éviteront toute contamination accidentelle par ce premier groupe de maladies. Toutefois en ce qui concerne l'*exocortis*, il est important d'assurer la désinfection des outils de taille ou de greffage puisque cette affection causée par un viroïde est transmissible par simple contact mécanique direct ou indirect. Pour les autres maladies du tableau 2 qui apparaissent avec une astérisque, la transmission mécanique ne peut être obtenue qu'après broyage des organes infectés dans un tampon physiologique et utilisation des jus de broyage pour l'inoculation mécanique.

Les lignées d'agrumes atteintes par une ou plusieurs de ces maladies de dégénérescence accusent des retards de croissance et leur productivité peut être de 30 à 60 p. 100 inférieure à celle des lignées saines (VOGEL et BOVE, 1982). C'est dire leur importance sur le plan économique.

Maladies de dégénérescence transmissibles par la greffe et par arthropodes.

Le DEUXIEME GROUPE qui figure au tableau 2, comprend une série de six affections transmissibles non seulement par la greffe, mais également par des Arthropodes vecteurs. Les maladies de ce deuxième groupe posent aujourd'hui de graves problèmes économiques.

Certaines d'entre elles sont extrêmement virulentes et peuvent entraîner la mort du plant. Selon les cas, il s'agira d'une sensibilité directe de l'arbre *franc-de-pied* ou simplement d'une *sensibilité d'association* c'est-à-dire n'affectant qu'une ou plusieurs espèces associées à un porte-greffe donné.

Une seule d'entre elles la *léprose*, est associée à la présence d'acariens présumés vecteurs d'un virion (CHAGAS, 1973 ; KITAJIMA *et al.*, 1972). Cette maladie qui sévit principalement en Amérique du Sud, a été trouvée également sur le caféier.

Trois affections virales sont transmissibles par pucerons. Il s'agit de la *tristeza*, du *vein enation woody gall* et du *seedling yellows*. La *tristeza* est causée par un virus flexueux mesurant 2.000 nanomètres de long, 11 nanomètres de large et qui appartient au groupe des *Closterovirus* (KITAJIMA *et al.*, 1964 ; BARJOSEPH *et al.*, 1972 ; SHEPHERD *et al.*, 1976). Pour le *vein enation woody gall*

Tableau 2 - Maladies de dégénérescence des agrumes transmissibles par la greffe.

1 - Maladies uniquement transmissibles par la greffe, exceptionnellement par voie mécanique :

- Anomalie de la ligne de greffe de l'oranger greffé sur Rough lemon
- Cachexie xyloporose
- Citrange stunt *
- Citrus leaf rugose *
- Citrus misaie *
- Citrus yellow mottle
- Cristacortis
- Exocortis *
- Frisolée panachure infectieuse *
- Gummy bark
- Gum pocket
- Impietratura
- Incompatibilité du Kumquat Nagami sur Citrange Troyer
- Leaf curl
- Multiple sprouting
- Ringspot *
- Satsuma dwarf *
- Tatter leaf bud union disorder
- Tobacco necrosis Citrus isolate *
- Yellow vein

* - transmission mécanique possible

2 - Maladies de dégénérescence des agrumes pouvant être transmises également par des arthropodes vecteurs :

● Maladies transmissibles par les insectes :

Affections	Vecteurs	Agents pathogènes
- Greening transmis par deux psylles	<i>Trioza erytrae</i> (DEL GUERCIO) <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA	Procaryote
- Stubborn transmis par cicadelles	<i>Eucelis plebejus</i> <i>Scaphytopius nitridus</i> <i>Circulifer tenellus</i> <i>Neolitturur haemotoceps</i>	Procaryote
- Seedling yellows transmis par pucerons	<i>Toxoptera citricidus</i> KIRKALDY et <i>Aphis gossypii</i> GLOVER	Virus présumé
- Tristeza transmise par pucerons	<i>Toxoptera citricidus</i> KIRKALDY <i>Aphis gossypii</i> GLOVER <i>Myzus persicae</i> SUZC <i>Aphis spiraecola</i> PATCH <i>Toxoptera aurantii</i> BOYER DE FOSCOLOMBE <i>Macrosiphum euphorbiae</i> THOMAS	Virus
- Vein Enation Woody Gall transmis par pucerons :	<i>Myzus persicae</i> SULZ <i>Toxoptera citricidus</i> KIRKALDY <i>Aphis gossypii</i> GLOVER	Virus présumé
● Maladie présumée être transmise par des acariens :		
- Léprose associée à la présence de :	<i>Brevipalpus obovatus</i> DONN <i>Brevipalpus phoenicis</i> GEIJSKES	Virus présumé

3 - Maladies de dégénérescence non transmissibles par arthropodes, mais susceptibles de passer à travers la graine au moment du semis :

- Psorose écailléeuse
- Frisolée panachure infectieuse

qui occasionne l'apparition de tumeurs sur les parties ligneuses et d'énations sur les feuilles, des particules sphériques ont été observées dans les tissus malades, mais on ignore s'il s'agit bien de l'agent causal (WALLACE, 1975). Enfin, l'étiologie du *seedling yellows* reste encore imprécise. Ces trois maladies peuvent être conjurées grâce à l'emploi de cultivars ou d'associations de cultivars tolérants. Il existe aussi des possibilités de « prémunition » par des souches faibles de virus, contre les effets induits par des souches sévères. C'est en utilisant ces diverses techniques qu'on est parvenu aujourd'hui, non seulement à éviter le dépérissement des arbres, mais aussi à maintenir une agrumiculture compétitive. Beaucoup de grands pays agrumicoles actuels comme le Brésil, la Floride, le Japon, l'Argentine, l'Australie, l'Afrique du Sud ... hébergent la *tristeza* et divers pucerons vecteurs.

Deux maladies à procaryote : le *stubborn* et le *greening*, constituent aujourd'hui une sérieuse menace pour l'agrumiculture de plusieurs pays du monde. Elles affectent l'ensemble des Citrus, avec quelquefois des différences de sensibilité variétale. Aucun phénomène de *prémunition* n'a pu être jusqu'ici mis en évidence comme dans le cas des maladies à virus ci-dessus. *Stubborn* et *greening* sont des maladies du phloème.

Le *stubborn* transmis par plusieurs types de cicadelles, semble pour le moment limité aux régions de climat méditerranéen : Bassin méditerranéen, (Sud de l'Europe, Afrique du Nord, Proche-Orient), Moyen-Orient, Californie, Arizona, Mexique ... Cette maladie provoque tout à la fois un rabougrissement et une ramification excessive. La frondaison prend un aspect buissonnant et porte des feuilles décolorées à port érigé. Les sujets produisent des fruits difformes imparfaitement colorés et dont les graines sont avortées. Le *stubborn* est occasionné par un microorganisme du groupe des Mollicutes : *Spiroplasma citri*, pour lequel on a pu réaliser successivement l'ensemble des postulats de KOCH (IGWEBE et CALAVAN, 1970 ; LAFLECHE et BOVE, 1970 a ; SAGLIO *et al.* 1971 ; FUDL ALLAH *et al.*, 1972 ; puis MARKHAM *et al.*, 1974). Les dégâts occasionnés par le *stubborn* sont surtout à craindre en régions chaudes, car le développement du microorganisme présente un optimum de croissance à 32°C (BOVE, 1979). Dans les régions plus septentrionales comme la Corse, l'expression des symptômes de *stubborn* est très atténuée (VOGEL et BOVE, 1974). Cette sensibilité de la plante hôte aux conditions de température a pu être confirmée expérimentalement sur des plants infectés placés en phytotron (BOVE *et al.*, 1974).

Le *greening* est transmis par deux psylles vecteurs : l'un originaire d'Asie : *Diaphorina citri* KUWAYAMA, l'autre d'Afrique : *Trioza erythrae* (DEL GUERCIO). Cette maladie a été signalée sous différentes appellations depuis plus d'un demi-siècle, en Chine continentale et en Afrique du Sud. Aujourd'hui, elle est répandue dans une grande partie de l'Asie et en Afrique orientale ou australe. Elle vient récemment d'être signalée dans la Péninsule arabique (BOVE et GARNIER, 1984). Les études de microscopie électronique effectuées par LAFLECHE et BOVE (1970 b) ont mis en évidence, pour la première fois chez les agrumes atteints de *greening*, la présence d'organismes procaryotes endocellulaires dans les tubes criblés différenciés du phloème. On trouvera sur les figures 5 A et 5 B deux exemples de prolifération de ces organismes dans une cellule hôte. Très rapidement, des caractères différenciant les microorganismes associés soit au *stubborn* soit au *greening* étaient décrits (LAFLECHE et BOVE, 1970 a). Alors que pour *Spiroplasma citri* la cellule présentait une simple membrane unitaire de 10 nanomètres d'épaisseur, dans le cas du *greening*, l'existence d'une enveloppe triple atteignant une épaisseur de 25 nanomètres, faisait penser à un organisme bactérien (SAGLIO *et al.*, 1971 ; BOVE et SAGLIO, 1974). Les travaux de GARNIER et BOVE (1977) puis GARNIER *et al.* (1984) ont confirmé l'exactitude de cette hypothèse : l'enveloppe qui entoure l'organisme associé à la maladie du *greening* est constituée de deux membranes à structure trilamellaire elles-mêmes séparées par une couche de peptidoglycane. Il s'agit donc bien d'une vraie bactérie qu'il est maintenant possible d'apparenter au groupe Gram-négatif.

La forme africaine du *greening* est *température sensible*. Elle n'entraîne l'apparition de symptômes que pour des températures peu élevées. Les plants contaminés reprennent une croissance normale lorsque la température dépasse 32°C (BOVE *et al.*, 1974). Pour cette raison, le *greening* se rencontre sur le continent africain en climat frais d'altitude. Le psylle africain *T. erythrae* ne peut d'ailleurs réaliser son cycle de reproduction que dans ce type de conditions ambiantes. Par contre, la forme asiatique du *greening*, plus virulente est *température tolérante* (BOVE *et al.*, 1974). Elle affecte indis-



Figure 5 A - Tube criblé de l'axe central d'une mandarine (côté extrémité pédonculaire). Le fruit a été prélevé sur un arbre atteint de *greening*, à Saint Pierre, île de la Réunion. L'échantillon de tissus a été fixé par le glutaraldéhyde 4 p. 100 dans un tampon phosphate pH 7,4, puis post fixé dans le tetroxyde d'osmium 1 p. 100, déshydraté dans l'alcool, et inclus dans l'épon. Les coupes ultrafines observées au microscope électronique ont fait apparaître de nombreux microorganismes associés à la maladie du *greening* à l'intérieur de la cellule végétale infectée. L'axe central du fruit qui est un tissu riche en phloème constitue un matériel de choix pour la détection de ces microorganismes endocellulaires.

tinctement les vergers situés en climats frais d'altitude ou en climats chauds de plaine et menace la production agrumicole de l'Asie du Sud-Est, du Moyen-Orient ou de certaines îles de l'Océan Indien. Le psylle asiatique est adapté aux climats chauds de faible ou moyenne altitude.

Maladies des agrumes transmissibles à travers la graine.

Le TROISIEME GROUPE de maladies, comprend deux cas d'affections susceptibles de passer par la graine. Les pourcentages de transmission pourraient atteindre 10 p. 100 de la descendance dans le



Figure 5 B - Autre aspect des microorganismes associés au *greening*. Il s'agit ici d'une coupe du phloème foliaire au niveau d'un criblé. L'échantillon a été préparé dans des conditions identiques à celles données pour la figure 5 A, et provient d'une nervure de feuille d'un mandarinier *Kepprock* (Dadi 1000 m, Indonésie).

Clichés effectués au Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire (INRA Bordeaux) par M. GARNIER.

x 12.000

cas de la *psorose écaillée* (BRIDGES *et al.*, 1965 ; PUJOL, 1966). L'extension de la *frisolée panachure infectieuse* par ce mode de propagation reste exceptionnelle. D'autres affections virales, ou supposées telles, pourraient être transmissibles par la graine. En tout état de cause, ce mode de transmission n'a pas été jusqu'ici démontré dans le cas des procaryotes pathogènes des *Citrus*. Les observations de ZHAO-XUE-YUAN (1981) en Chine et de TIRTAWIDJAJA (1981) en Indonésie, concernant le *greening*, demandent confirmation.

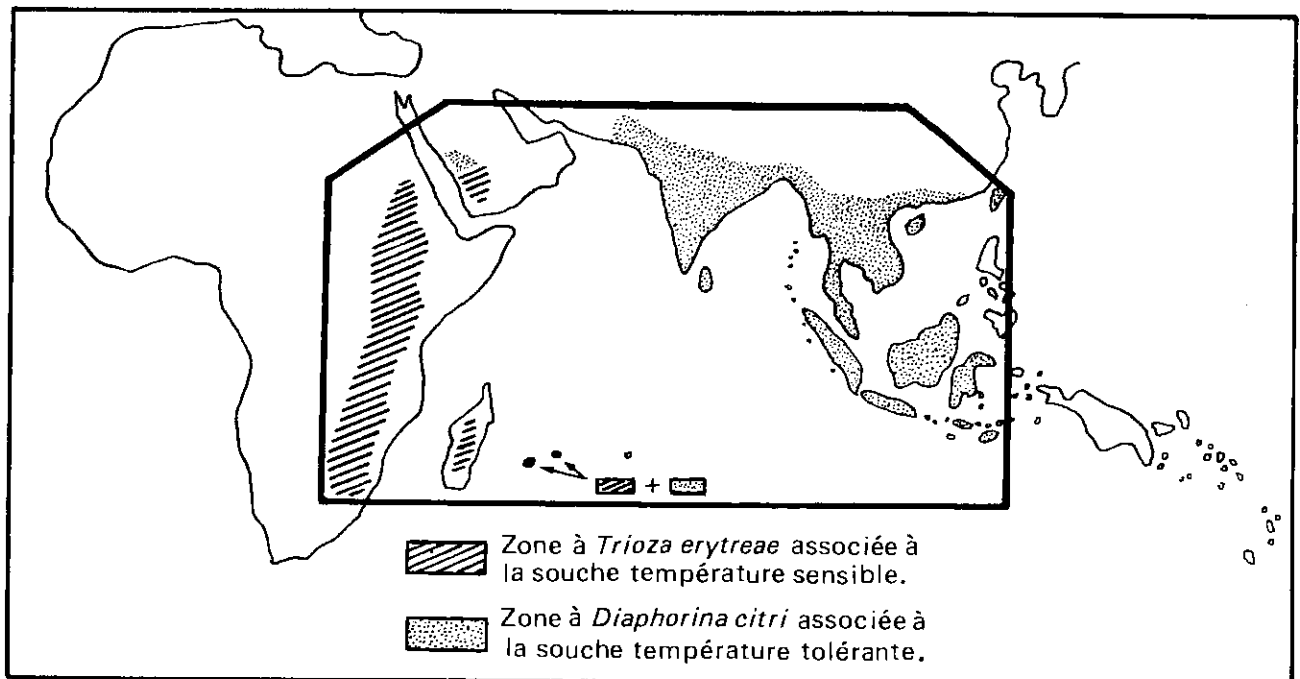
La dissémination des agrumes en dehors de leur zone d'origine a probablement débuté par le transport de graines ou de fruits entiers, à l'occasion des déplacements de caravanes ou des liaisons maritimes. Les maladies infectieuses ont traversé les continents lorsque s'intensifia le transport de plants entiers sur de longues distances. Des zones jusque là indemnes, ont pu alors être contaminées par des organismes infectieux, quelquefois aussi par des Arthropodes vecteurs ce qui a entraîné l'apparition de graves épiphyties. Aujourd'hui, l'importance prise par les échanges commerciaux augmente considérablement les risques de propagation de ces maladies. En revanche, les techniques récentes de *culture in vitro* offrent depuis peu de nouvelles garanties sanitaires.

LE GREENING, PRINCIPALE CAUSE DU DECLIN DE L'AGRUMICULTURE DANS LES PAYS RIVERAINS DE L'OCEAN INDIEN

Pays d'Afrique et d'Asie.

Le *greening* est une maladie des agrumes probablement originaire de Chine. Il a été décrit dès 1925 dans ce pays sous le nom de *yellow shoot disease* (LIN, 1956). Il est répandu aujourd'hui dans la plupart des pays riverains de l'Océan Indien et de la Mer de Chine. Ces régions hébergent également la *tristeza*, si bien que les deux affections ont été quelquefois confondues lorsque l'observation des symptômes était faite sur des espèces non tolérantes à la *tristeza* (MATSUMOTO *et al.*, 1961 ; LIN et LIN, 1964 ; MATSUMOTO et SU, 1966 ; TIRTAWIDJADJA, 1977). Il semble pour le moment qu'une seule région : l'Arabie Saoudite, héberge le *greening* sans la *tristeza* (BOVE et GARNIER, 1984).

Figure 6 - Zone d'extension de la maladie du *greening*.



Le greening en Asie.

La forme asiatique du *greening* a été décrite dans de nombreux pays sous des appellations diverses. LAFLECHE et BOVE (1970 b), ont établi la similitude étiologique reliant ces types de dépérissement qui ne différaient que par le nom, et étaient associés à une bactérie endocellulaire du phloème. A Taïwan, la maladie est connue sous le nom de *likubin* (MATSUMOTO *et al.*, 1961 ; CHEN *et al.*, 1971 et TANAKA et DOI, 1973), en Chine continentale sous le nom de *huanglung bin* (CHEN *et al.*, 1979a et b ; CHUNG KE, 1983). Elle freine considérablement la production agrumicole de cette région du Monde. En Inde, CAPOOR (1960) puis ultérieurement FRASER *et al.* (1966) l'ont dénommée *Citrus decline*, nom sous lequel elle est également connue au Bangladesh (KNORR, 1970) et au Népal (KNORR, 1971). Son apparition a été signalée en Thaïlande par THROWER (1968) puis ultérieurement par SCHWARZ *et al.* (1973). Dans tous ces territoires, elle est responsable du déclin prématuré d'un grand nombre d'arbres. Aux Philippines SALIBE et CORTEZ (1966) l'on décrite sous le nom de *leaf mottling*. D'après MARTINEZ et WALLACE (1967) dans cet archipel la maladie a occasionné la mort de plusieurs millions d'arbres. En Indonésie THROWER (1959) l'a dénommée *Citrus decline* et TIRTAWIDJADJA (1964) l'a décrite plus tard sous le nom de *citrus vein phloem degeneration* (CVPD). Dans l'Ouest de Java elle a détruit 3 millions d'arbres, éliminant jusqu'aux collections variétales. Elle est présente à Sumatra et dans le Sud de Bornéo (TIRTAWIDJADJA, 1977). Récemment, elle a atteint l'Ouest de la Péninsule arabique (BOVE et GARNIER, 1984).

Tous ces territoires contaminés hébergent *Diaphorina citri* KUWAYAMA, un psylle dont le rôle de vecteur du *greening* a été successivement démontré par CELINO *et al.* (1966), CAPOOR *et al.* (1967) et CHEN *et al.* (1971). Quelques régions d'altitude situées en Inde Nord-Orientale sont restées à l'abri de la maladie. Il s'agit des hauts plateaux de l'Assam où l'on cultive des mandariniers de semis. D'après GHOSH *et al.* (1978), *D. citri* serait absent de ces régions. En Chine les enquêtes effectuées par CHAO *et al.* (1979) ont révélé que *D. citri* était absent des zones septentrionales du Guangxi et que dans cette province l'Homoptère ne se développait pas au-delà de 1300 mètres d'altitude. En Indonésie *D. citri* a été observé dans l'île de Java à 1000 m d'altitude sur des arbres dépérissants et dont le phloème foliaire hébergeait des bactéries endocellulaires (AUBERT *et al.*, 1985).

Des expériences récentes conduites en insectarium ont montré que *D. citri* était capable de transmettre la souche africaine de *greening* (LALLEMAND, 1986).

Au sein du genre *Diaphorina*, plusieurs espèces assez voisines morphologiquement de *D. citri* sont capables d'accomplir leur cycle de développement sur *Citrus* et diverses Rutacées, mais on ignore si elles peuvent ou non transmettre le *greening*.

Le greening en Afrique.

La forme africaine du *greening* s'étend sur toutes les régions de l'Afrique de l'Est situées au-dessus de 500 ou 900 m (selon la latitude). CHAPOT (1970) et plus tard SCHWARZ (1976) ont signalé la maladie en Ethiopie, BAR-JOSEPH (1972) et SCHWARZ (1976) au Kenya. Elle est également présente au Zimbabwe sur les Hauts Plateaux du Manicaland (AUBERT, 1982) au Swaziland dans le Middleveld où elle a entraîné la disparition de nombreux vergers (AUBERT, 1983) au Malawi, en Ethiopie et dans le Sud du Cameroun (AUBERT *et al.*, 1987). C'est en Afrique du Sud qu'elle a pris le nom de *greening* par suite d'un défaut de coloration des fruits à maturité (OBERHOLZER *et al.*, 1965). La forme africaine du *greening* est très probablement présente aussi sur les Hauts Plateaux du Yemen du Nord et dans certaines régions du Sud-Ouest de l'Arabie Saoudite (BOVE et GARNIER, 1984 ; BOVE et AUBERT, 1984).

Toutes ces zones hébergent *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO), un psyllidé africain signalé également au Malawi, en Tanzanie, en Angola, au Ruanda, en Ouganda, au Zaïre, au Cameroun, à Sao Tomé et à Sainte Hélène (HOLLIS, 1984). Mc CLEAN et OBERHOLZER (1965), puis MOLL et MARTIN (1973), ont montré que *T. erytrae* était capable de transmettre la forme africaine du *greening*. Plus tard, MASSONIE *et al.* (1976), ont réussi à inoculer expérimentalement la souche asiatique de *greening*

par l'intermédiaire de *T. erytrae*.

Le cas de certaines îles de l'Océan Indien.

Les organismes procaryotes associés à la maladie du *greening* ont été signalés pour la première fois par LAFLECHE et BOVE (1970 b), dans les tubes criblés différenciés d'une feuille d'oranger Hamlin. Cet oranger avait été lui-même inoculé par greffe de feuille, l'inoculum provenait d'un plant d'oranger Washington Navel situé dans un verger contaminé de *La Possession*, une localité de la zone littorale Ouest de l'île de la Réunion.

Cette île, au même titre d'ailleurs que ses voisines Maurice et Rodrigue, présente la particularité d'héberger à la fois *D. citri* et *T. erytrae* (BOVE et CASSIN, 1968 a et AUBERT, 1984 a). Les territoires faunistiques des deux psylles se sont modelés en fonction des micro-climats régionaux, la présence des deux vecteurs exposant tous les vergers à la maladie du *greening*, aussi bien ceux plantés en région côtière chaude, que ceux établis en zone d'altitude. Sur les figures 7 à 10, apparaissent les dégâts occasionnés par la maladie à l'île de la Réunion, ainsi que les deux vecteurs présents dans cette île.

BOVE et CASSIN (1968 b), ont fait état de la présence de *T. erytrae* sur les hauts plateaux de Madagascar où le *greening* est responsable du déclin des agrumes. Mais comme la «Grande Ile» n'héberge pas *D. citri*, la production agrumicole malgache arrive à se maintenir dans les régions littorales chaudes.

Les agrumes de l'archipel des Comores hébergent un psylle dont l'aspect est assez voisin de celui de *D. citri* (AUBERT, 1984 b). Il s'agit d'une espèce nouvelle appartenant au groupe *Diaphorina amoena* et récemment décrite par HOLLIS (1987). Dans ces îles, pas plus qu'aux Seychelles d'ailleurs, ni *D. citri*, ni *T. erytrae* n'ont pu être jusqu'ici observés.

L'ENVIRONNEMENT REUNIONNAIS PAR RAPPORT A LA MALADIE DU GREENING ET A SES VECTEURS

Situation géographique et climat.

La Réunion est une île de l'archipel des Mascareignes située par 21°5 de latitude Sud à 720 km de la côte Est de Madagascar. Son pourtour atteint 208 km et elle couvre une superficie de 2512 km². Les deux autres îles de l'archipel : Maurice et Rodrigue se situent respectivement à 180 km et 800 km à l'Est de la Réunion (figure 11).

L'île de la Réunion possède un relief très important d'origine volcanique réparti en deux massifs : le Piton des Neiges (3069 m) et le Piton de la Fournaise (2630 m). Les pentes extérieures des massifs s'étalent en larges *planèzes* assez régulières jusqu'à la mer. Par contre, vers l'intérieur, l'effet cumulé des empilements de laves, puis de l'érosion et des effondrements, a fait apparaître des parois ou *remparts* pouvant atteindre une hauteur de 1800 m en amont. Ces parois délimitent trois grands Cirques : Cilaos, Mafate et Salazie. Le relief très tourmenté entraîne l'apparition de nombreux microclimats.

Sur le plan de sa situation générale, l'île est placée en bordure Nord-Ouest de l'anticyclone de l'Océan Indien qui entretient sur elle un courant d'alizé Est Sud-Est pendant la plus grande partie de l'année.

En raison du relief, l'effet de *foehn* donne naissance à deux sous-climats : celui de la *côte au vent* humide, et celui de la *côte sous le vent* de tendance aride. Du côté *au vent*, les alizés chargés d'humidité prennent un courant ascendant au contact de la montagne et se refroidissent d'environ 10°C en s'élevant de 1000 m d'altitude. Il s'agit du *refroidissement adiabatique humide* entraînant l'apparition d'un niveau de condensation qui délimite la *zone A* (figure 12). Au-delà de ce niveau le refroidissement

LE GREENING ET SES DEUX VECTEURS A L'ILE DE LA REUNION

Figure 7 - Verger du Gol (Sud de l'île), atteint de *greening*. Le cliché a été pris en 1977, sept ans après la plantation. A ce moment 80 p. 100 des arbres étaient devenus improductifs et moribonds.

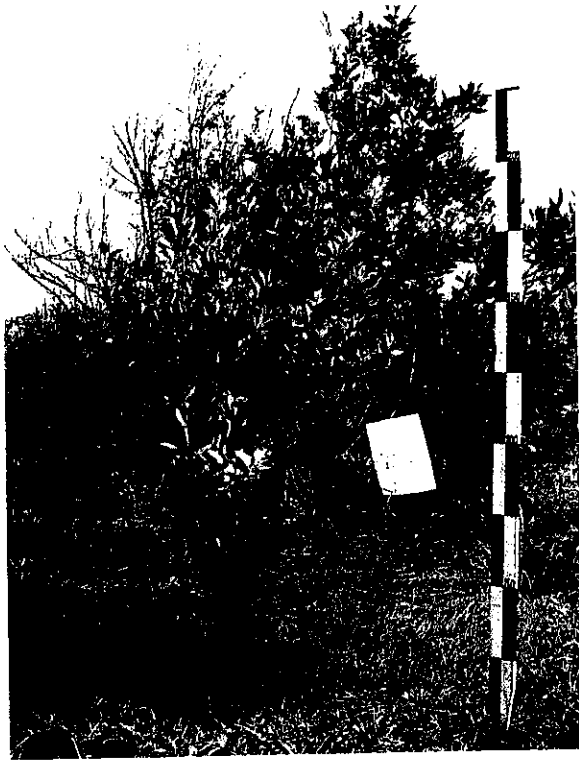


Figure 8 - Oranger *Pineapple SRA 141* (arbre B2) présentant des symptômes aigus de *greening* : jaunissement des limbes, dessèchement progressif et irréversible des rameaux. Verger du Gol en septième année de production.

Figure 9 - Les deux psylles vecteurs du *greening*.



9 A - *Triozia erytraea*.

Figure 10 - A l'époque de maturité, les fruits portés par des rameaux atteints de *greening*, restent verts. Ces deux Tangors Ortanique proviennent du même arbre. Celui de gauche s'est développé sur un rameau malade.



9 B - *Diaphorina citri*.

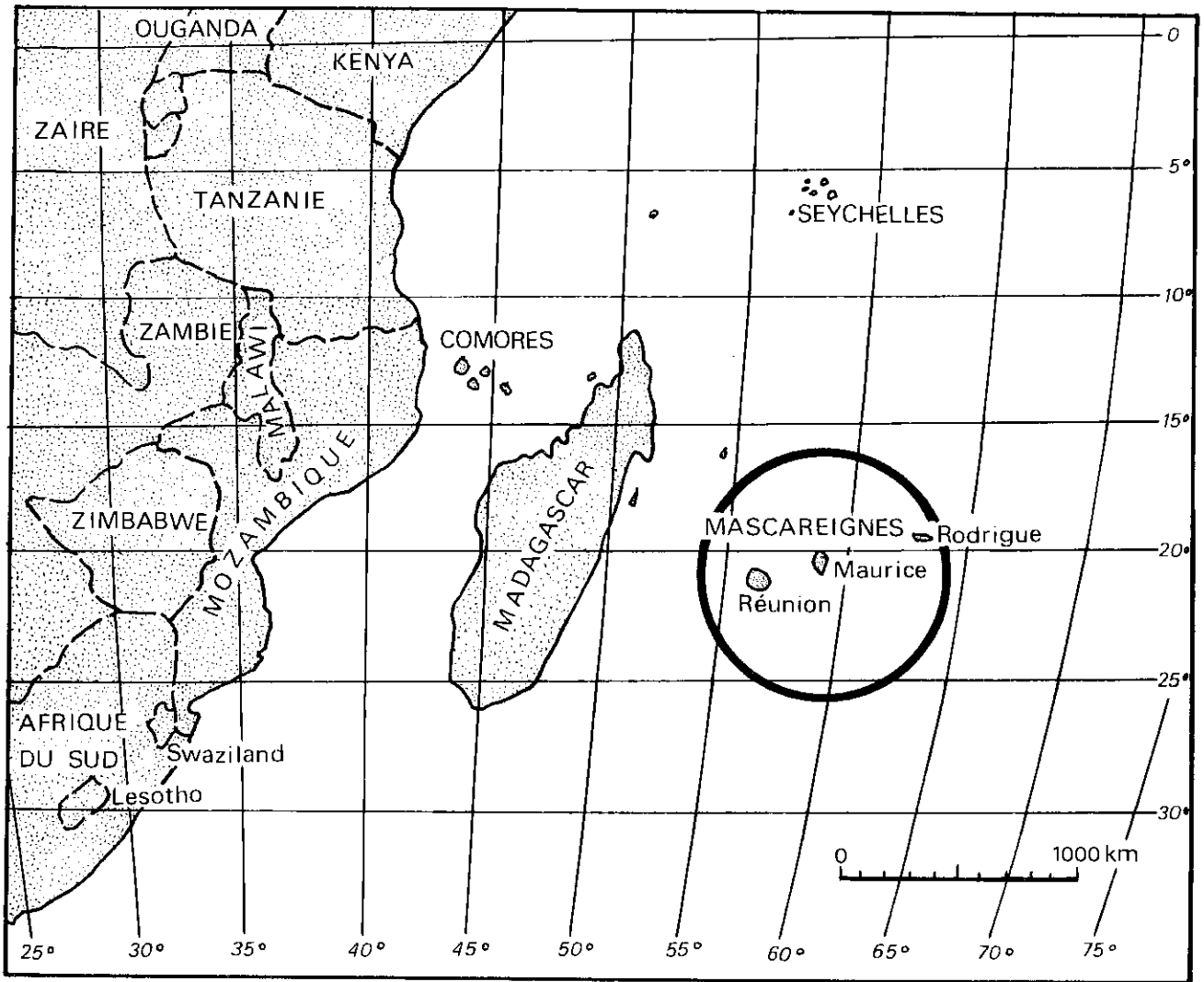
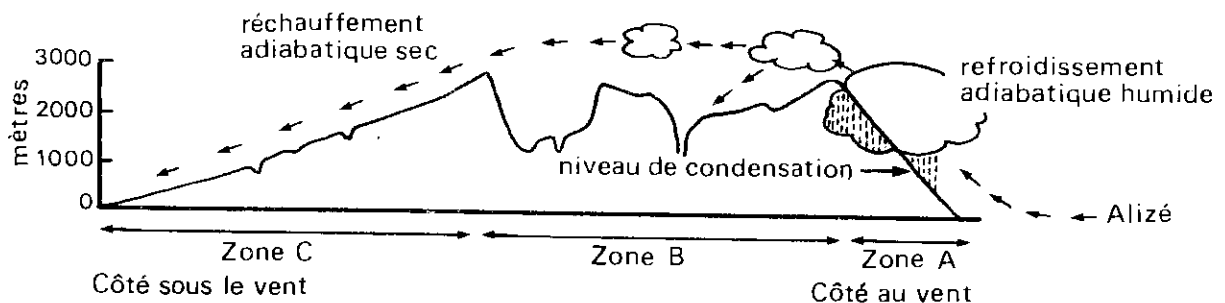


Figure 11 - Carte de situation de l'archipel des Mascareignes.

se poursuit moins brutalement ; il y a formation de masses nuageuses moins denses (*zone B*). Arrivé de l'autre côté de la crête, l'air n'est plus saturé ; il redescend en se réchauffant : *réchauffement adiabatique sec* (*zone C*). A altitude égale les températures de la *zone sous le vent* sont supérieures à celles de la zone opposée *au vent*. Dans cette dernière on assiste à la formation de micro-climats frais et humides entre 600 et 1000 m d'altitude où les conditions sont très favorables aux pullulations de *Trioxa erytrae* (DEL GUERCIO). A l'opposé, toute la zone C, située en-dessous de 600-700 m d'altitude offre des conditions d'aridité favorables aux pullulations de *Diaphorina citri* KUWAYAMA. Les

Figure 12 - L'effet de foehn à l'île de la Réunion



différences de pluviométrie occasionnées par l'effet de foehn apparaissent sur la figure 13 où sont reportées les courbes isohyètes. Le relief entraîne également des modifications de la température. Avec l'altitude le climat tropical disparaît progressivement pour être remplacé par un climat frais (figure 14). Du fait de la baisse de température, les agrumes ne se développent pas au-delà de 1000 m d'altitude. Sur la figure 15 sont reportées les zones de pullulation préférentielle de chacun des deux

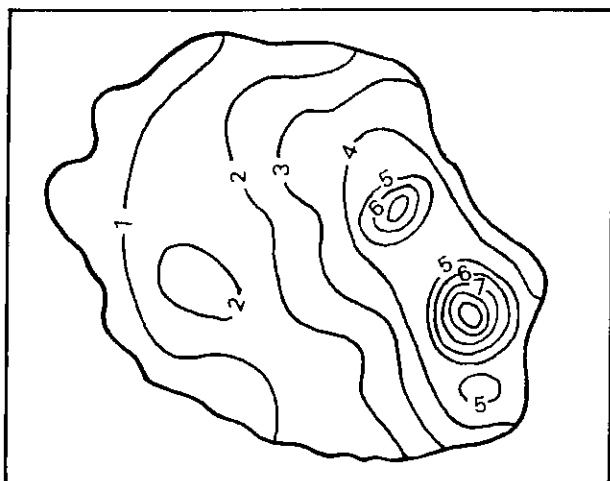


Figure 13 - Courbes isohyètes annuelles en mètres, d'après les moyennes pluviométriques de 35 postes (période de 1951 à 1980)

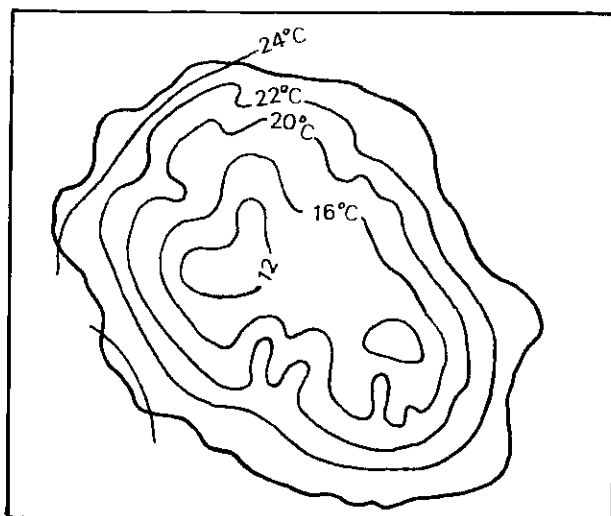
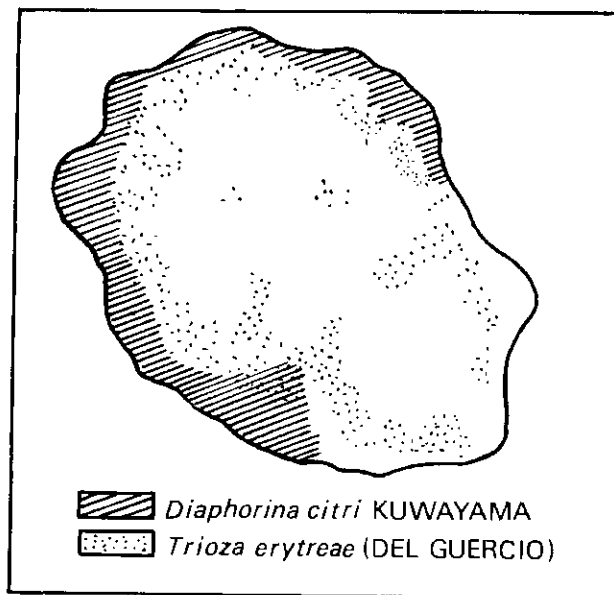


Figure 14 - Courbes isothermes de la moyenne annuelle de températures, tracé effectué d'après les données de température enregistrées sur 28 postes (moyennes de 1951 à 1969).



Sources : Direction de la Météorologie service de la Réunion.

Figure 15 - Zones de pullulations des psylles vecteurs de la maladie du *greening*

psylles. Elles se répartissent en fonction des conditions pluviométriques. L'étagement des vergers en fonction de l'altitude, rend possible l'expression des symptômes de la souche *température sensible* de *greening*, entre 200 et 1.000 mètres. Au-dessous de cette altitude, c'est la souche *température tolérante* qui peut seule prédominer. Mais en raison d'un recoupement partiel des territoires faunistiques des deux psylles, et par suite aussi des transports de plants du littoral vers les hauts de l'île, la souche *température tolérante* a pu atteindre les vergers d'altitude pour y être disséminés par *T. erytrae*. La faible superficie de l'île, conjuguée aux pratiques horticoles ont donc conduit à une situation confuse où prédomine la forme *température tolérante*.

Flore des Rutacées à la Réunion.

Les Rutacées de l'île de la Réunion autres que celles appartenant au groupe Citrus peuvent constituer des zones refuges pour les vecteurs ou éventuellement des réservoirs de microorganismes infectieux. L'étude du *greening* passait donc obligatoirement par un inventaire de la flore des Rutacées.

L'île de la Réunion compte 9 espèces de Rutacées endémiques ou indigènes et une vingtaine d'espèces introduites (tableau 3). Compte-tenu de la jeunesse de l'île, (deux millions d'années seulement) l'endémisme se situe au niveau du genre (CADET, 1977), et non de la tribu ou de la sous-famille. Il concerne notamment deux genres de Rutacées : *Xanthoxylum* et *Evodia* qui rassemblent des taxons dont on ne connaît plus les souches originelles. Pour *Xanthoxylum*, il existe une espèce endémique à l'île de la Réunion : *Xanthoxylum heterophyllum* LAM.) SMITH et une autre à l'île Rodrigue : *Xanthoxylum paniculatum* BALF. Par ailleurs, six espèces d'*Evodia* (tableau 3) sont endémiques à la Réunion (COODE, 1979). En Afrique le genre *Fagara* qui appartient comme les deux précédents à la sous-tribu des Evodiinées, comprend une espèce hôte de *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO), il s'agit de *Fagara capensis* (THUNB) (*Fagara* n'est plus retenu comme nom spécifique, il a peut être été recombinaisonné en *Xanthoxylum capense* (THUNB., HARVEY). Les observations faites à la Réunion n'ont pas révélé jusqu'ici la présence de vecteurs ou traces de vecteurs du *greening* sur *X. heterophyllum*, ou *Evodia* sp.

La sous-tribu des Toddaliinées est représentée à l'île de la Réunion par deux espèces indigènes *Toddalia asiatica* (L.) LAM., et *Vepris lanceolata* (LAM.) G. DON, ainsi que par une espèce introduite *Casimiroa edulis* LA LLAVE. *T. asiatica* est présente aussi à Maurice, Rodrigue ainsi qu'au Mozambique. *V. lanceolata* est une Rutacée absente de Madagascar, présente à Maurice et Rodrigue, et répandue dans le Sud et l'Est de l'Afrique (COODE, 1979). Cette dernière Rutacée qui pousse dans les fourrés et les régions basses, a été signalée en Afrique australe comme plante hôte préférentielle de *Trioza erytrae* (MORAN, 1968). On la trouve à la Réunion dans les vallées ou remparts de la zone sèche sous le vent.

Parmi les espèces introduites à l'île de la Réunion, il convient de mentionner le genre *Murraya*. *Murraya koenigii* (L.) SPRENG. est une espèce originaire d'Asie tropicale, aujourd'hui communément cultivée aux Mascareignes. Cette plante est quelquefois fréquentée par *Diaphorina citri* KUWAYAMA. *Murraya paniculata* (L.) JACK est également une Rutacée originaire de l'Asie tropicale où elle porte souvent le nom d'*Orange Jessamine* (SWINGLE, 1967). Elle est surtout cultivée comme haie ornementale. Ses feuilles sont appréciées de *D. citri*, qui peut s'y développer en colonies très denses. A la Réunion, il n'est pas rare de trouver des plants de cette espèce atteints de dépérissement. Contrairement à *M. koenigii*, *M. paniculata* est capable de persister sans toutefois se naturaliser dans des endroits anciennement habités (Grande Ravine à l'île de la Réunion, Baie du Cap à Maurice). En Afrique de l'Est et en Afrique australe où cette plante a été introduite, il est possible de trouver des populations de *T. erytrae* sur jeunes rameaux (haies ornementales de Mazoe au Zumbabwé). Toutefois nous n'avons pas observé de symptômes de dépérissement sur *M. paniculata* dans cette région. Dans la sous-tribu des Clauseninées, *Clausena anisata* qui est une Rutacée africaine assez répandue en Afrique de l'Est où elle se développe en altitude (SWINGLE, 1967), a été décrite comme plante hôte de *T. erytrae*. *C. anisata* n'a pas été signalée à la Réunion.

Il existe une compatibilité de greffe entre *Murraya paniculata* (L.) JACK et les espèces du genre

Tableau 3 - Classification botanique des Rutacées et des 29 espèces présentes à l'île de la Réunion (adapté de SWINGLE, 1967 et COODE, 1979).

SOUS-FAMILLE DES RUTOIDEES	ENDEMIQUES A LA REUNION OU INDIGENES	INTRODUITES A LA REUNION
TRIBU DES XANTHOXYLEES		
Sous-tribu des Evodiinées : zones tropicales et subtropicales de l'Ancien et du Nouveau Monde		
<i>Xanthoxylum</i> _____	<i>Xanthoxylum heterophyllum</i>	
<i>Fagara</i> _____	(LAM) SMITH	
<i>Evodia</i> _____	<i>Evodia obscura</i> CORDEM	
	<i>Evodia simplex</i> FRAPPIER ex CORDEM	
	<i>Evodia segregis</i> CORDEM	
	<i>Evodia irifida</i> COODE	
	<i>Evodia borbonica</i> (BORY) ENGLER	
	<i>Evodia obtusifolia</i> DC	
Sous-tribu des Lunasiinées : régions de mousson		
Sous-tribu des Decatropidinées : Amérique cent.		
Sous-tribu des Choisyinées : Amérique centrale, Australie		
Sous-tribu des Pitaviinées : Chili		
TRIBU DES RUTEES :		
Région subtropicale et tempérée de l'Ancien et du Nouveau Monde		
TRIBU DES BORONIEES :		
Australie et Nouvelle Calédonie		
TRIBU DES CUSPARIEES :		
Amérique du Sud		
TRIBU DES DIOSMEES :		
Afrique de l'Est et Afrique centrale		
Sous-famille des Flindersioidées		
Australie, Nouvelle Calédonie, Asie du Sud-Est		
Sous-famille des Spathelioidées		
Antilles		
Sous-famille des Toddalioidées		
TRIBU DES TODDALIEES		
Sous-tribu des Phellodendrinées : Asie et Afrique subtropicale		
Sous-tribu des Sohnreylidées : Vallée de l'Amazone		
Sous-tribu des Pteleinées : Amérique tempérée et tropicale		
Sous-tribu des Toddaliinées : Ancien et Nouveau Monde		
Genres	<i>Toddalia</i> _____	<i>Toddalia asiatica</i> (LAM.)
	<i>Vepris</i> _____	<i>Vepris lanceolata</i> (LAM.) G DON
	<i>Casimiroa</i> _____	<i>Casimiroa edulis</i> LA LLAVE
Sous-tribu des Amyridinées : Amérique du Sud, Antilles		
Sous-famille des Aurantioidées		
TRIBU DES AURANTOIDEES		
Sous-tribu des Micromelinées : Région de Mousson		
Sous-tribu des Clauseninées : Asie S.C. Afrique tropicale		
Genres	<i>Clausenia</i> _____	<i>Clausenia lansium</i> (LAM.) (LOUR.) SKEELS

SOUS-FAMILLE DES RUTOIDEES		ENDEMIQUES A LA REUNION OU INDIGENES	INTRODUITES A LA REUNION
	<i>Glycomia</i> <i>Murraya</i>		<i>Murraya koenigii</i> (LAM.) SPRENG. <i>Murraya paniculata</i> (LAM.) JACK
Sous-tribu des Merrillinées			
TRIBU DES CITREES			
Sous-tribu des Triphosiinées			
Genres	<i>Wenzelia</i> <i>Monanthocitrus</i> <i>Oxanthera</i> <i>Merope</i> <i>Triphasia</i>		<i>Triphasia trifolia</i> (BURM. f.) P. WILSON
Sous-tribu des Citrinées			
Genres	<i>Severinia</i> <i>Pleiospermium</i> <i>Burkillanthus</i> <i>Limnocitrus</i> <i>Hesperethuss</i> <i>Citropsis</i> <i>Atalantia</i> <i>Clymenia</i> <i>Fortunella</i>		<i>Fortunella japonica</i> (THUNB.) SWINGLE <i>Fortunella margarita</i> (LOUR.) SWINGLE
	<i>Eromocitrus</i> <i>Poncirus</i> <i>Microcitrus</i>		<i>Poncirus trifoliata</i> <i>Microcitrus australisiaca</i> (F. MUELL)
	<i>Citrus</i>		<i>Citrus medica</i> L. <i>Citrus limon</i> BURM. F. <i>Citrus reticulata</i> BLANCO (L.) OSBECK. <i>Citrus grandis</i> (L.) OSBECK <i>Citrus paradisi</i> MACFAD <i>Citrus aurantifolia</i> (CHRISTM.) SWINGLE <i>Citrus sinensis</i> (L.) OSBECK. <i>Citrus aurantium</i> L. <i>Citrus hystrix</i> DC.
Sous-tribu des Balsamocitrinées			
	<i>Swinglea</i> <i>Aegle</i>		<i>Aegle marmelos</i> (L.) CORRES
Genres	<i>Afraegle</i> <i>Aeglopsis</i> <i>Balsamocitrus</i> <i>Feronia</i> <i>Feroniella</i>		<i>Feronia limonis</i> (L.) SWINGLE

Citrus, ce qui rend possible les études de transmission expérimentale de maladies de dégénérescence par greffe d'inoculation.

Le genre *Citrus* est représenté à la Réunion par au moins 9 des 17 espèces décrites par SWINGLE dans sa classification de 1914. Ces neuf espèces sont des plantes hôtes des deux psylles vecteurs *D. citri* et *T. erytrae*. Elles peuvent toutes être atteintes de *greening*.

Dans la tribu des *Citrées* on compte également 5 autres espèces appartenant à 4 genres : *Triphasia*,

Fortunella, *Poncirus*, et *Microcitrus*. Plusieurs de ces plantes ont fait l'objet d'expérimentation en vue de déterminer leur attractivité vis-à-vis de *D. citri* comme on le verra plus loin. Certaines d'entre elles ne figurent à la Réunion qu'à l'état de rares spécimens (*Triphasia*, *Microcitrus*), les autres sont cultivées.

Historique des introductions d'agrumes dans l'île.

L'oranger doux semble avoir pénétré pour la première fois en Occident par la route du Cap de Bonne Espérance, comme l'attestent les écrits du naturaliste VALMONT DE BOMARE (1764).

L'archipel des Mascareignes (du nom du navigateur portugais Pedro de MASCAREIGNAS), devait offrir dès le début du XVII^e siècle une escale appréciée sur la route des «Indes orientales». Les Hollandais y réalisèrent les premières introductions d'agrumes en provenance de l'Insulinde (cf. carnet de Voyage du navigateur MATLIEF de JONGO).

Des trois îles qui composent cet archipel, Rodrigue, Réunion et Maurice, c'est la dernière qui a enregistré les introductions les plus fréquentes de matériel végétal.

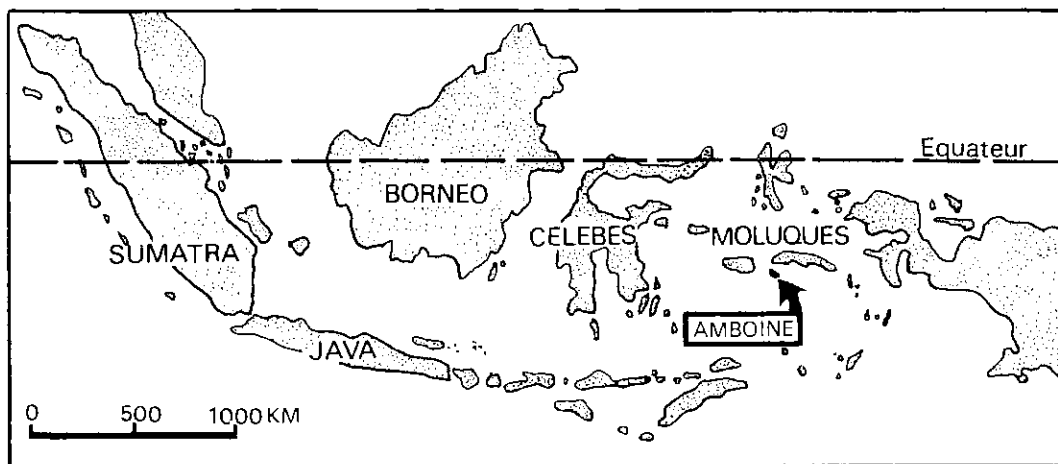
A l'origine les provenances étaient asiatiques et avaient lieu sous forme de fruits ou de graines. Il semble que ce soit l'île d'Amboine aux Moluques qui ait fourni les premiers spécimens. Les Hollandais disposaient dans cette île d'une solide implantation dès la fin du XVI^e siècle.

On doit au naturaliste FUSEE-AUBLET, qui séjourna à l'Isle de France de 1751 à 1762 la description des premiers agrumes importés dans la région. Ce botaniste et apothicaire-compositeur de la Compagnie des Indes avait repris, conformément aux directives laissées par le gouverneur MAHE DE LA BOURDONNAIS, la tâche de rassembler au jardin des Pamplemousses, les plantes avantageuses comme aliments pour les hommes.

Ancien disciple de Bernard de JUSSIEU, FUSEE-AUBLET (1775), nous a laissé le premier catalogue des plantes se trouvant à l'Isle de France, tant naturelles à cette île que naturalisées ou apportées de diverses régions, et dans lequel figurent *Limo nipis* (le limettier), *Limo curamas* ou *Limo ventricosus* (le pamplemoussier), *Limonellus madurensis* ou citron galé, *Limo papeda* (le combava) ainsi que *Aurantium acidum* (le bigaradier), *Aurantium dulcis* (l'oranger doux), et enfin *Aurantium sinense* (le mandarinier).

Dans ses descriptions botaniques FUSEE-AUBLET se réfère à la flore de l'île Amboine éditée par RUMPHIUS à Amsterdam en 1750 (*Herbarii amboinense*).

Figure 16 - L'île d'Amboine aux Moluques d'où pouvaient être originaires les premiers agrumes importés par les Hollandais aux Mascareignes.



En 1804, BORY de SAINT VINCENT signalait que la vangassaye (une mandarine voisine de *Citrus resnii* HORT ex TAN), prospérait à l'île de la Réunion, et qu'elle était même naturalisée au *Brûlé Saint-Denis*, ainsi que dans d'autres forêts de l'île. Cette observation a été faite également dans la Grande Ile, le terme *vangassaye* étant d'ailleurs dérivé du malgache *voangasahy*.

Près d'un demi-siècle plus tard, BREON (1835) dans son *Catalogue des plantes cultivées au jardin botanique et de naturalisation de l'Isle Bourbon*, faisait mention de diverses espèces d'agrumes qui de Maurice avaient atteint la Réunion.

C'est en 1868, époque de l'introduction à la Réunion de *Papilio demodocus* L., que sont relatés les premiers symptômes de dépérissement sur oranger et mandarinier caractérisés par des jaunissements de feuilles et des dessèchements de rameaux. Les propriétaires de vergers incriminèrent ce Lépidoptère et reprochèrent au médecin Auguste VINSON d'avoir réalisé cette introduction. VINSON (1868) prit la peine d'observer de près des pousses d'orangers et affirma que la cause du dépérissement des agrumes à la Réunion n'était pas due à *P. demodocus* mais à une *galle insecte*. Il s'agissait très probablement de larves de *Trioza erytrae*. Ces dernières, qui, après une courte phase de mobilité, se fixent à la face inférieure du limbe, provoquent en effet l'apparition de petites cloques en forme de galles.

Quelques années plus tard BORDAGE (1898), alors Directeur du Muséum d'Histoire Naturelle de Saint-Denis, signalait l'apparition sur vanillier d'un autre psylle qu'il appela tout d'abord *Trioza vanillae*. Mais ayant constaté que cet Homoptère se reproduisait préférentiellement sur une Lauracée : *Litsea glutinosa* (LOUR.) C.B. ROBINSON, il lui donna le nom de *Trioza litseae*. Ce psylle redéterminé par ORIAN (1972) sous le nom de *Trioza eastopi* devait jouer 80 ans plus tard un rôle important dans le complexe *psylles - Rutacées - greening* en tant qu'hôte intermédiaire d'Hyménoptères parasites de larves de *T. erytrae*.

L'apparition de la *tristeza*, qui semble remonter à 1935 avec l'introduction de plants de pomelos en provenance d'Afrique du Sud (cf. RIVALS, 1960), ne fit qu'aggraver la situation phytosanitaire de l'agrumiculture réunionnaise.

Mais c'est le *greening* qui devait en définitive être le principal responsable de l'état de délabrement des vergers de l'île, la présence conjuguée des deux vecteurs ne laissant aucune zone à l'abri des contaminations.

EN RESUME, le *greening* constitue actuellement la plus grave menace pour la production agrumicole des pays riverains de l'Océan Indien, et à terme, peut-être, de celle des pays d'Afrique centrale ou occidentale. Il n'est pas exclu qu'elle pénètre un jour dans le Bassin méditerranéen. Etant transmissible par insectes vecteurs, cette affection met en jeu tout un réseau de dépendances entre plusieurs catégories d'êtres vivants, au premier rang desquels se situe l'organisme *procaryote* associé à la maladie, et capable de proliférer aussi bien dans le phloème des plantes hôtes, que dans l'hémolymphe des psylles vecteurs. L'épiphytie peut se déclarer à la suite d'interventions humaines, comme par exemple la greffe de plants avec du matériel végétal contaminé, ou en conditions naturelles par les piqûres. La prolifération des psylles est elle-même dépendante de facteurs biotiques (par exemple l'attractivité de certaines plantes en tant que sites de reproduction des vecteurs, la présence ou l'absence d'Hyménoptères parasites primaires de larves, ou éventuellement d'Hyménoptères parasites secondaires ou tertiaires). Pour un territoire donné, la composition de la flore des Rutacées sauvages ornementales et cultivées, déterminera les *niveaux de nuisibilité* c'est-à-dire l'importance prise par les *réservoirs* d'organismes infectieux et (ou) de vecteurs.

Puisqu'actuellement il n'existe pas chez les *Citrus* de cas de tolérance variétale agronomiquement exploitable, le contrôle de la maladie passe obligatoirement par la maîtrise d'une ou plusieurs composantes de cette *biocénose*.

En raison de ses particularités climatiques, floristiques et faunistiques, l'île de la Réunion offrait un champ d'expérimentation tout à fait exceptionnel pour l'étude de cette maladie.

CONDITIONS D'EXPERIMENTATION ET PLAN DE TRAVAIL

Jusqu'en 1970, la situation de l'agrumiculture réunionnaise était la suivante. En zone côtière «au vent», principalement entre Saint-Philippe et Bois Blanc, trois espèces étaient naturalisées dans le sous-bois de la forêt humide, qui leur assurait une protection relative contre les psylles. Il s'agissait du mandarinier *vangassaye*, du citron rugueux (ou *citron doux*) et du bigaradier. Par ailleurs dans la plupart des zones habitées de l'île, les différentes espèces de *Citrus* (limettiers, citronniers, bigaradiers, pamplemoussiers, combavas, mandariniers et orangers), figuraient dans les *vergers créoles*, souvent en association avec d'autres essences fruitières, sans faire l'objet de soins réguliers. Elles se trouvaient exposées aux attaques de *D. citri* ou *T. erytrae* selon les endroits, et affichaient pour la plupart de sévères symptômes de *greening*. Les quelques tentatives de *vergers de plein rapport* amorcées en 1960 avec du matériel introduit d'Afrique du Nord avaient été rapidement compromises par suite d'attaques répétées de *greening*.

On exposera ici les résultats d'un programme de travail qui s'est échelonné sur une période de 10 ans (de 1974 à 1984). La dissémination du *greening* pouvant s'effectuer soit par la greffe, soit par des insectes vecteurs, il convenait d'importer du matériel végétal nouveau, indemne de maladie, et de le multiplier à l'abri des contaminations de vecteurs. Les arbres *pièdes-mères* ont donc été protégés par une *couverture chimique* efficace. Tout le matériel végétal réintroduit en vergers de collection était constitué d'espèces ou cultivars appartenant aux genres *Citrus*, *Poncirus* et *Fortunella*. Les greffons provenaient de clones indexés à la Station de Recherches agronomiques de Corse, selon les techniques décrites par VOGEL (1973), et étaient au départ indemnes de toute maladie connue à virus ou à procaryote. Les porte-greffe ont été introduits sous forme de graines à partir d'établissements spécialisés garantissant à la fois l'authenticité variétale et l'état sanitaire. Tous les clones provenant de la Station de Corse apparaissent sur le tableau 4 sous le label SRA avec leurs numéros de série. C'est donc un matériel végétal connu et fiable qui a pu être mis en expérimentation.

Le travail entrepris a comporté trois parties bien distinctes. D'une part, il a eu pour but d'étudier les réactions pathogènes de plantes hôtes infectées soit en conditions naturelles par psylles, soit expérimentalement par greffe, et de tester sur ces plantes l'efficacité d'une chimiothérapie. D'autre part, il a porté sur les problèmes relatifs aux populations de vecteurs, et leur contrôle à l'aide d'insectes entomophages. Enfin, il a été orienté vers une recherche épidémiologique susceptible de dégager une stratégie de lutte rationnelle.

● PREMIERE PARTIE.

Il importait tout d'abord d'étudier la symptomatologie du *greening* sur une *population-cible* d'individus infectés en conditions naturelles, de définir une échelle de notation des symptômes, et de confronter ces données avec les états pathologiques observés sur des plants infectés expérimentalement par greffe d'inoculation ou par vecteurs. Il convenait aussi d'obtenir une confirmation de diagnostic par observation du phloème infecté en microscopie électronique. Enfin les symptômes du *greening* étaient à comparer à ceux d'autres maladies comme la *tristeza*, le *stubborn* ou le *blight* pour éviter les confusions de diagnostic en champs. Cette étude fait l'objet du chapitre 1.

Par ailleurs, le *greening* prenant généralement l'aspect de carences physiologiques (notamment la carence en zinc, en manganèse ou en bore), il apparaissait nécessaire d'étudier la nature des troubles physiologiques et anatomiques occasionnés par cette maladie. Pour cela, devaient être comparés des sujets homologues sains ou infectés, ou des lots homogènes de sujets infectés, les uns ayant subi un traitement curatif par antibiothérapie les autres servant de témoins infectés. Cette étude fait l'objet du chapitre 2.

Les travaux de microscopie électronique ayant permis non seulement de vérifier le premier postulat de KOCH, mais aussi d'apporter des précisions sur l'ultrastructure des microorganismes associés à la maladie du *greening* (GARNIER et BOVE, 1977), il paraissait opportun de vérifier l'efficacité de certains antibiotiques sur des arbres infectés en conditions naturelles. Cette démarche constituait

TABLEAU 4 - Clones de variétés et de porte-greffe d'agrumes étudiés à l'île de la Réunion.

CLONES DE VARIETES INTRODUITS DE CORSE				
ORANGER : <i>Citrus sinensis</i> L. OSB			MANDARINIERS	
Hamlin	SRA 41	<i>Citrus nobilis</i>	King	SRA 273
Pineapple	SRA 141	<i>Citrus deliciosa</i>	Commune	SRA 118
Valencia late	SRA 17 et 18	<i>C. clementina</i>	Clémentine	SRA 63
Sweet Seedling	SRA 50	<i>C. tangerina</i>	Dancy	SRA 136
Washington navel	SRA 141	<i>Citrus reticulata</i>	Beauty	
Cadenara	SRA 233		Ponkan	SRA 146
Parson Brown	SRA 42			SRA 148
	SRA 144	Mandarine Pixie	SRA 174	
Maltaise 1/2	SRA 238			
Tarocco		<i>Citrus unshiu</i> :		
Atwood Navel	SRA 157		Wase	SRA 230
Washington navel	SRA 141		Saigon	SRA 229
Gillette Navel	SRA 55		Owari	SRA 145
New Hall N.	SRA 182		Miho Wase	De Lange
Robertson	SRA 211		Immamura	De Lange
			Kuno	De Lange
			Ellendale	
HYBRIDES DE MANDARINIERS				
Lignées	Carvalho	SRA 111		
Fortu	Fortune	SRA 31		
	Fremont	SRA 147		
	Fairchild	SRA 30		
	Kara	SRA 165		
	Lee	SRA 136		
	Malvasio	SRA 169		
	Murcott	SRA 181		
	Page	SRA 159		
	Robinson	SRA 47		
	Orlando	SRA 21		
	Ortanique	SRA 110		
	Nova	SRA 158		
	Osceola	SRA 48		
			KUMQUAT	CEDRATIER
			Nagami	SRA 169
			Maruni	SRA 123
			POMELO	LIMETTIER
			Red Blush	SRA 8
			Shambar	SRA 22
			CITRONNIER	Lime de Tahiti SRA 58
			Eureka	SRA 4
			Lisbonne	SRA 16
				Lime mexicaine sans épine
				CITRON MEYER
CLONES DE VARIETES REUNIONNAISES				
COMBAVA : <i>Citrus hystrix</i>	PAMPLEMOUSSIERS : <i>Citrus grandis</i>		CITRON GALET : <i>Citrus aurantifolia</i>	
Lignées	Ouaki B2			
	Ouaki A9			
ORANGER MOZAMBIQUE . hybride de combava				
PORTE-GREFFE IMPORTEES				
Bigaradier	<i>Citrus aurantium</i>	<i>Citrus taiwanica</i>	Californie	
Lime Rangpur	<i>Citrus limona</i>	<i>Citrus volkameriana</i>	Californie	
Mandarinier Cléopâtre	<i>Citrus reshni</i>	Citrange Troyer	Californie	
Rough lemon	<i>Citrus jambhiri</i>	Citrange Carrizo	Californie	
Tangelo Orlando		Citrange Troyer Riverside	SRA Corse	
Tangelo Sampson		Citrange Troyer Lindcove	SRA Corse	
Citrumelo 1452		Bigaradier x Poncirus B81 C99	SRA Corse	
Citrumelo 4475		Sunki x Poncirus English 30 581	FAO	
Citrumelo Sscatòn		Sunki x Poncirus Swingle 30 591	FAO	
Citrumelo Winter Haven				

une approche étiologique intéressante, l'organisme infectieux n'ayant pu être obtenu en culture pure. Appliquée en champs, la technique du traitement curatif permettait d'étudier expérimentalement l'incidence de la maladie sur les rendements, et de situer la portée agronomique de l'antibiothérapie dans le cadre d'une stratégie de lutte. Ce type d'expérimentation fait l'objet du chapitre 3.

● DEUXIEME PARTIE.

Le chapitre 4 passe en revue les psylles présents à l'île de la Réunion ou dans différents pays riverains de l'Océan Indien et fait part d'expériences originales conduites sur la biologie de ces Homoptères, notamment leur sensibilité aux facteurs abiotiques, et l'attractivité qu'exercent sur eux diverses plantes hôtes appartenant à la famille des Rutacées.

Dans le chapitre 5, les insectes entomophages parasites primaires ou secondaires de *T. erythrae* et *D. citri* sont présentés. L'association parasitaire résultant de l'introduction à la Réunion de deux ectoparasites chalcidiens inféodés à l'un ou l'autre psylle est étudiée. On décrit la régression très sensible des populations de vecteurs, obtenue en conditions naturelles grâce aux lâchers de ces entomophages, et en l'absence de leurs propres parasites (ou hyperparasites).

● TROISIEME PARTIE.

Le chapitre 6 comporte une étude rétrospective de l'épidémiologie du *greening* avant et après la régression des populations de vecteurs, sur plusieurs vergers représentatifs de l'île. L'importance des psylles vecteurs dans la dissémination de la maladie est ainsi mise en relief.

Le programme mis en oeuvre dans une île océanique très isolée où la faune chalcidienne inféodée aux psylles vecteurs était pratiquement inexistante, n'est pas forcément transposable à d'autres territoires. C'est pourquoi une étude comparative des circonstances épidémiologiques prévalant à la Réunion d'une part, puis en Afrique et en Asie d'autre part, fait l'objet du chapitre 7. Elle tente d'apporter une réflexion générale sur les stratégies à mettre en oeuvre dans la lutte contre le *greening*, en fonction de plusieurs types de scénario.

PREMIÈRE PARTIE

Etudes concernant la plante

CHAPITRE I

OBSERVATION DES SYMPTOMES EN CHAMP, ET REACTIONS PATHOGENIQUES OBTENUES PAR INOCULATION EXPERIMENTALE DE PLANTS CULTIVES SOUS CAGE D'ISOLEMENT

Le *greening* entraîne une séquence d'états pathologiques qui, pris individuellement ne présentent pas un caractère véritablement spécifique. Le diagnostic de la maladie oblige à prendre en compte toute une série de syndromes et à suivre leur évolution dans le temps. Il devra être confirmé en dernier ressort par l'observation des micro-organismes endocellulaires du phloème associés à la maladie.

Les études entreprises sur la symptomatologie du *greening* à l'île de la Réunion ont revêtu deux aspects principaux.

Tout d'abord, on a procédé à un inventaire des différentes manifestations de cette maladie, et recherché les principales étapes dans l'apparition des symptômes en observant de nombreux cas *in situ*. Cette démarche a conduit à définir cinq degrés d'attaques pouvant être appliqués dans un système de notation à l'échelle de l'individu ou du verger.

Par ailleurs, il était important d'analyser les troubles pathologiques survenus à des séries de plantes indicatrices cultivées en pot, sous cage d'isolement et inoculées expérimentalement par greffe. Les inoculums devaient être choisis dans des vergers représentatifs pour confirmer ou infirmer le diagnostic effectué *in situ* par simple observation visuelle. Un complément d'information pouvait être obtenu sur coupes ultra-fines de phloème infecté, observées en microscopie électronique. Enfin des essais de transmission expérimentale par vecteurs étaient à entreprendre.

SYMPTOMES OBSERVES EN VERGERS ET PRINCIPAUX DEGRES D'ATTAQUE DANS L'EVOLUTION DE LA MALADIE

Population-cible étudiée.

L'observation des symptômes n'a été poursuivie de façon systématique que sur des arbres dont on connaissait l'origine. Il s'agissait exclusivement de lignées SRA, indemnes au départ de maladies à virus ou à procaryotes. Ces clones de cultivars étaient greffés sur des porte-greffe réputés donner des associations tolérantes à la *tristeza*. Les observations ont porté uniquement sur l'oranger et le mandarinier, car ces deux espèces laissent apparaître des symptômes de *greening* généralement plus prononcés que les pomelos, limettiers, citronniers ou combavas. Ce second groupe d'agrumes étant par ailleurs directement sensible à la *tristeza*, il pouvait en résulter des confusions de symptômes, d'autant plus que la Réunion héberge des souches très virulentes de ce virus.

Les sujets observés ne présentaient pas d'attaques fongiques graves occasionnées par des pourridiés ou des chancre à *Phytophthora*, ni de dégâts notables de ravageurs tels que nématodes, cochenilles, vers blancs ou termites.

Symptômes généraux observés *in situ*.

La liste des anomalies qui affectent les arbres atteints de *greening* comporte à la fois différents types de chloroses foliaires, des perturbations de la phénologie, et des déformations de fruits. Certaines de ces anomalies peuvent être observées sur les figures 17 et 18.

Chloroses foliaires : L'une des chloroses foliaires les plus fréquentes est celle du symptôme *taches vertes sur fond jaune* qui peut être considérée, dans les conditions pédo-climatiques de l'île de la Réunion, comme assez caractéristique de la maladie du *greening*.

CHAPMAN (1968) a signalé un type de symptôme identique dans le cas d'arbres fortement carencés en zinc ou en fer. D'après cet auteur un tel état de carence physiologique ne peut se manifester que sur des sols très calcaires à pH élevé. Les sols de la Réunion, d'origine volcanique sont généralement pauvres en calcium et présentent un pH acide voire très acide ; ce qui rend improbables les cas de carence physiologique aiguë.

Le second symptôme foliaire fréquemment observé dans les vergers réunionnais est celui des *petites feuilles jaunes pâles en forme de cuillère*, lequel se confond avec la *carence en zinc* classique telle qu'elle est décrite par CHAPMAN (1968). Seules quelques traces chlorophylliennes subsistent autour de la nervure principale et des nervures secondaires. Ces feuilles prennent, sur le rameau, un port érigé.

Le troisième type d'anomalie associé à la maladie du *greening* concerne des **marbrures du limbe**, analogues à celles provoquées par la *carence en manganèse*. Toutefois, sur les plages décolorées n'apparaissent pas les petits points bruns à la face inférieure du limbe, caractéristiques de la *carence aiguë en manganèse* telle que l'ont définie (CHAPMAN *et al.*, 1939).

Enfin certaines feuilles prennent avec l'âge une consistance épaisse et coriace et montrent sur leur face supérieure des nervures protubérantes avec quelquefois des traces de subérification analogues à celles provoquées par la *carence en bore*. Le *greening* cependant n'occasionne pas de déformations de feuilles, ni de taches noires en dépression sur l'albédo, deux caractères qui sont propres à la véritable carence physiologique en bore.

Les chloroses foliaires occasionnées par le *greening* s'apparentent à de véritables carences minérales. Toutefois ces dernières sont en général réparties uniformément sur l'ensemble des arbres d'un verger, et tout autour de la frondaison. CHAPMAN (1981) signale néanmoins que la carence physiologique en manganèse peut être quelquefois plus accentuée du côté le moins ensoleillé de la couronne de l'arbre, contrairement à la carence en zinc qui tend à prédominer du côté ensoleillé. Le *greening* lui, se caractérise par d'intenses décolorations sectorielles du feuillage qui sont irréversibles. Elles affectent, au hasard des contaminations, certains individus seulement, lesquels peuvent côtoyer des sujets d'aspect tout à fait normal.

Phénologie : Les rameaux atteints de chloroses et de marbrures foliaires subissent des chutes de feuilles, entrecoupées de fréquentes poussées végétatives, qui sont quelquefois associées à des floraisons de contre-saison. Les rameaux très atteints sont porteurs de rares feuilles décolorées à port érigé. Ils finissent à la longue par se dessécher totalement. Il est possible d'observer d'importantes chutes de fruits 3 à 4 mois après la fin de l'anthèse. Pour les vergers d'altitude l'époque de cette chute se situe en avril-mai, alors qu'en zone littorale elle apparaît principalement en janvier-février. Certains fruits portés par des rameaux en voie de dessèchement, au lieu de chuter subissent une modification et restent attachés à l'arbre.

Anomalies du fruit : Les arbres malades sont porteurs de fruits qui peuvent présenter un aspect asymétrique (figure 17-6), très rarement une forme allongée en gland. L'albédo gonflé d'air laisse apparaître quelquefois une auréole grisâtre autour de la zone comprimée par le doigt. Vers l'époque de maturité les fruits ne se colorent pas. Ouverts transversalement dans un plan polaire, les fruits asymétriques montrent une columelle déformée et des graines avortées (figure 18). Les teneurs en jus et sucres restent faibles ce qui constitue un sérieux handicap pour la commercialisation.

En Asie, les mandariniers atteints de *greening* portent souvent des fruits qui se colorent prématurément vers la zone pédonculaire. Cette anomalie connue sous le nom de « *red-nose* » a été assez rarement observée à la Réunion. Elle peut d'ailleurs être induite également par des attaques de *Phytophthora*.

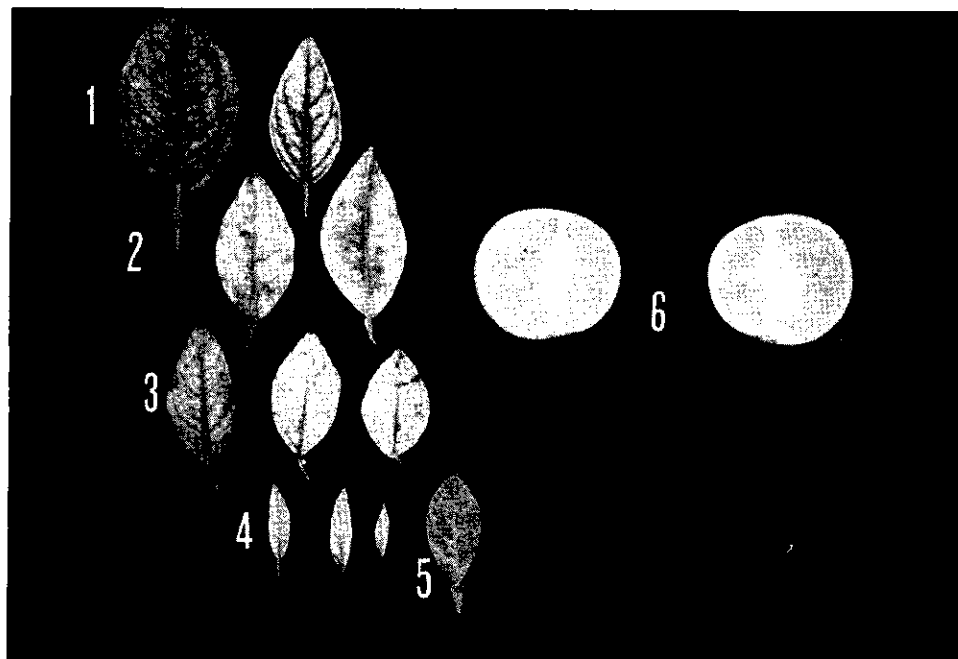


Figure 17 - Symptômes de «Greening» sur feuilles et fruits d'oranger.

1. Marbrure laissant des traces chlorophylliennes le long des nervures (type carence en manganèse).
- 2 et 3. Chlorose généralisée du limbe ne laissant que de petits flots verts (symptôme «taches vertes sur fond jaune»).
4. Petites feuilles décolorées et recourbées caractéristiques de la carence en zinc.
5. Feuille d'aspect grisâtre coriace au toucher avec épaissement des nervures (type carence en bore).
6. Fruit asymétrique à columelle incurvée porteur de graines avortées.

Figure 18 - Graines avortées extraites de fruits portés par un rameau atteint de *greening* (gauche), comparées à celles de fruits portés par un rameau sain (droite).



Les différents types de symptômes observés à la Réunion selon l'étagement des vergers en altitude.

En règle générale, les vergers situés entre 600 et 1 000 mètres d'altitude ont fait apparaître des symptômes moins sévères que ceux installés en zone côtière. Les chloroses foliaires s'apparentaient plus à la *carence en manganèse* qu'à celle en *zinc*. Le faciès *tache verte sur fond jaune* y était exceptionnel et la maladie évoluait moins rapidement jusqu'au stade de dessèchement des rameaux. Par contre les chutes prématurées de fruits étaient souvent abondantes.

Dans le cas des vergers implantés entre 300 et 600 mètres d'altitude, le phénomène dominant était celui de la *carence en zinc* qui pouvait s'étendre à la totalité des branches maîtresses. Il s'accompagnait alors d'un dessèchement des rameaux. Certaines interventions agronomiques comme la taille et la fumure foliaire pratiquées en fin de saison hivernale pouvaient masquer temporairement pendant 6 à 8 mois la gravité de ces symptômes.

C'est toutefois dans la région côtière Ouest, la plus chaude de l'île, où la température moyenne annuelle est de 24°C (figure 14), que l'évolution de la maladie a été la plus rapide. Dans cette zone qui offre des conditions très favorables aux pullulations de *D. citri*, les symptômes foliaires de *greening* débutaient par le faciès *taches vertes sur fond jaune*. Les dessèchements de rameaux ou de branches aboutissaient en 3 ou 4 ans à la mort de l'arbre, les variétés de mandariniers Lee, Osceola ainsi que le tangelo Minneola montrant une sensibilité toute particulière.

Méthode de notation des symptômes sur un individu.

La multiplicité des symptômes, leur apparition sectorielle, et, quelquefois même saisonnière, ont conduit à définir une méthodologie de l'observation. On a retenu dans ce but cinq degrés d'attaque utilisés comme *stades repères* ainsi qu'une période fixe de notation. C'est la fin de la poussée végétative printanière qui a été choisie (courant octobre à la Réunion), car elle permettait de dresser un bilan des attaques, à la fois sur l'ancienne et sur la nouvelle feuillaison (la durée de vie de la feuille chez les agrumes est de l'ordre de trois ans).

Nous nous placerons ici dans l'hypothèse de plants d'agrumes maintenus en bon état sanitaire pendant les premières années de plantation et inoculés ultérieurement en condition naturelle par des psylles infectés. Les différents niveaux d'attaques décrits ci-dessus ne s'appliquent pas à des plants inoculés très précocément soit par greffons contaminés ou à la suite d'attaques de psylles en pépinière ; dans ce cas en effet la croissance de l'arbre est inhibée très tôt, et les symptômes de *greening* se généralisent rapidement à l'ensemble du jeune plant.

Les cinq degrés d'attaques qu'il est possible de distinguer sur des arbres adultes, correspondent à la progression de la maladie au niveau des cinq principales composantes de la ramure (figure 19). Chez les espèces cultivées du genre *Citrus*, le feuillage est généralement porté par les *brindilles vertes* (jeunes pousses lignifiées à écorce lisse et chlorophyllienne), sur lesquelles également sont formées les fruits. Les *branchettes* sont des tiges ligneuses cylindriques de 10 à 20 mm de diamètre, dont l'écorce est subérifiée, et qui, supportant plusieurs *brindilles vertes*, prennent naissance sur les *branches sous-maîtresses*. Une *branche-maîtresse* peut supporter le tiers ou le quart de la couronne de l'arbre.

- **Premier niveau d'attaque** : le premier niveau d'attaque se manifeste par des chloroses foliaires ponctuelles qui apparaissent sur quelques *brindilles vertes* isolées. Les pousses malades forment de petites plages décolorées bien circonscrites sur la couronne de l'arbre. Elles peuvent se confondre aisément avec des carences physiologiques en zinc ou en manganèse.

- **Deuxième niveau d'attaque** : la masse foliaire décolorée intéresse toutes les *brindilles vertes* d'une branchette. Elle subit des troubles de la phénologie se traduisant par des floraisons anarchiques, des chutes prématurées de feuilles, et une coulure des fruits 3 à 4 mois après la nouaison.

- **Troisième niveau d'attaque** : la chlorose foliaire se trouve généralisée à toute une *branche sous-maîtresse*. Le secteur décoloré peut couvrir environ un huitième de la surface de frondaison. Il est soumis à une aggravation des troubles de la phénologie décrits précédemment.

● **Quatrième niveau d'attaque** : la maladie ayant gagné de larges secteurs de la frondaison qui se sont dégarnis de leurs feuilles, aboutit au dessèchement des *brindilles vertes*. Les quelques fruits encore attachés aux rameaux subissent un processus de momification, et de fréquentes poussées végétatives porteuses de petites feuilles à port érigé, sont émises sur la partie inférieure de la charpente, principalement au niveau des *branchettes*.

● **Cinquième niveau d'attaque** : ce stade correspond au dessèchement complet d'une branche sous-maîtresse, dessèchement qui peut affecter un quart de la surface de frondaison.

EN RESUME, sur un arbre adulte inoculé par piqûres de psylles, le *greening* débute par des chloroses foliaires très localisées qui s'étendent peu à peu à de larges zones de la couronne, puis aboutissent à des dessèchements sectoriels de rameaux. Il s'agit d'une évolution irréversible de la maladie qui peut être observée séparément sur les différentes faces Est, Sud, Ouest au Nord de l'arbre, chacune d'elles évoluant de façon plus ou moins indépendante de l'autre (figure 21). Les cinq niveaux d'attaque définis précédemment constituent une *échelle* de symptômes *proportionnelle*, avec un zéro vrai (absence de symptômes). Elle peut donc être utilisée pour des estimations additives (par exemple le total de points observés sur la couronne d'un arbre), ou des calculs de ratios (moyenne d'attaque d'un verger). La condition à respecter est d'effectuer ces observations sur des populations homogènes d'individus, pour éviter notamment la confusion avec des symptômes d'autres maladies.

Sommation des résultats et signification du système de notation.

Pour noter les symptômes de *greening*, on observe la couronne de l'arbre sur les quatre points cardinaux en la subdivisant par un plan horizontal passant en son milieu, ce qui conduit à distinguer huit sous-secteurs de frondaison (figure 20).

Chaque huitième de frondaison est alors affecté d'un chiffre allant de 0 à 5 : zéro en absence totale de symptômes, 1 à 5 selon les niveaux d'attaques définis ci-dessus. La somme des notations relevées sur les huit sous-secteurs conduit à attribuer à l'arbre une note allant de 0 à 40.

Un arbre noté de 0 à 5 ne montre en général que des symptômes de premier niveau. Il ne présente pas de baisse significative de rendement par rapport à un témoin sain.

Pour un arbre noté de 5 à 15, le jaunissement devient important et s'accompagne d'accidents phénologiques et physiologiques. Les sous-secteurs de couronne peuvent montrer des attaques

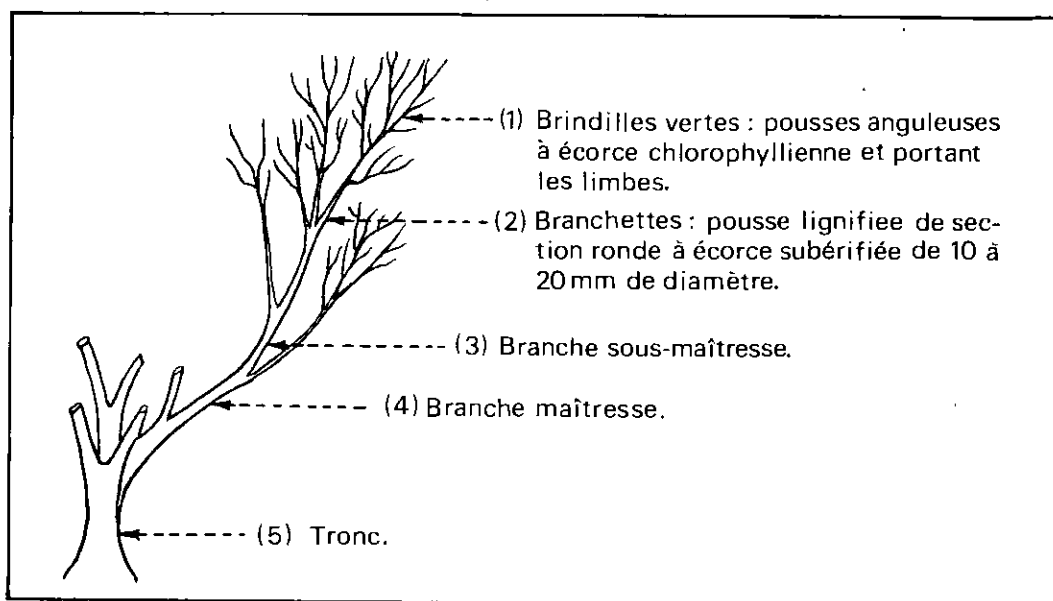


Figure 19 - Principales composantes de la charpente d'un plant d'agrumes.

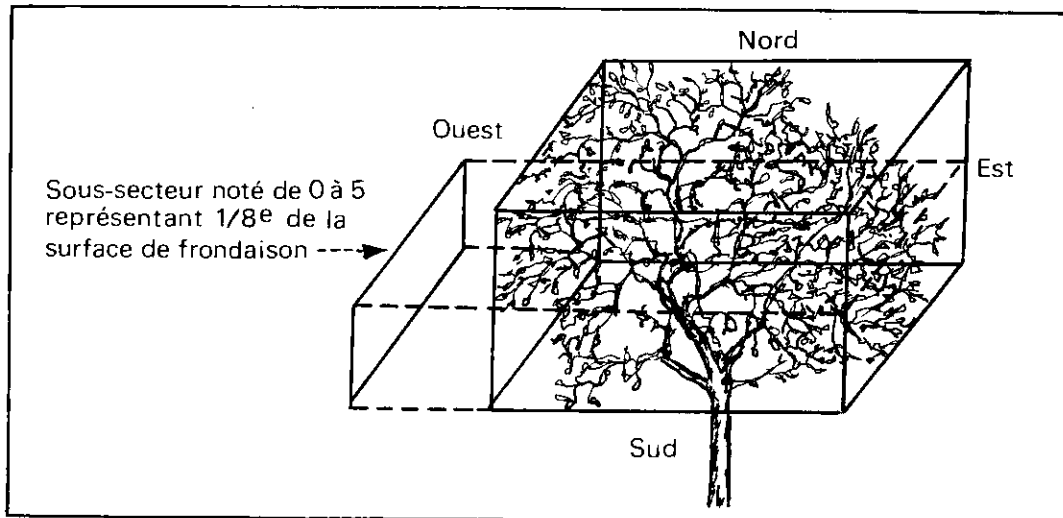


Figure 20 - Division de la couronne d'un pied d'agrume pour la rotation des symptômes de *greening* de 0 à 40.

de deuxième ou troisième niveau. Par rapport à un plant témoin sain, la baisse de production peut atteindre 50 à 60 p. 100.

Lorsque la note *greening* varie de 15 à 25, on assiste à un jaunissement généralisé de la couronne de l'arbre et à des dessèchements complets d'un ou de plusieurs sous-secteurs de frondaison. La baisse de rendement par rapport à un plant sain témoin est de 80 p. 100 au moins.

Enfin, au delà de la note 25, l'arbre devient improductif, sa ramure est très sévèrement dégarnie. Il réémet de courtes poussées végétatives sur les branches maîtresses à partir de bourgeons latents, et donne des floraisons anarchiques qui évoluent rarement à fruits. Ce stade précède de 1 à 3 ans celui du dessèchement complet de l'individu.

La méthode d'observation ci-dessus a été utilisée pour évaluer l'efficacité de traitements antibiotiques appliqués par injection sous pression dans le tronc d'arbres atteints de *greening*. Elle a permis d'établir une relation entre note *greening* et poids de récolte correspondante (voir chapitre 3). Par ailleurs l'épidémiologie de la maladie a pu être étudiée avec une meilleure précision en retenant comme *stade repère* dans l'évolution de la maladie la note 25/40 (voir plus loin chapitre 6).



Figure 21 - Exemple d'attaque sectorielle de *greening* sur un arbre de 7 ans : un des sous-secteurs de frondaison est atteint au quatrième degré.

OBTENTION DES SYMPTOMES DE GREENING PAR GREFFE D'INOCULATION

Le *greening* étant une maladie transmissible par la greffe, il importait de vérifier le processus d'apparition des symptômes sur des plantes indicatrices cultivées à l'abri des psylles et infectées expérimentalement par greffe d'inoculation.

Les échantillons de tissus servant d'inoculum ont été prélevés sur des arbres de plein champ infectés en conditions naturelles par vecteurs.

Transmission de Citrus à Citrus.

Transmission de Citrus à Citrus par greffe de feuille.

● Matériel et méthode.

Des graines d'oranger Mme Vinous (oranger utilisé comme plante indicatrice) provenant des Ets WILLITS et NEWCOMB (Californie), ont été semées sous cage d'isolement, la protection contre les attaques de pucerons et de psylles étant assurée par un grillage de type *screenglas* dont la maille était de 0,3 mm. Après germination en bac, les jeunes plants ont été repiqués d'abord dans des pots de 0,7 litre puis ultérieurement dans des sacs plastiques perforés de 5 litres de contenance. Le substrat d'enracinement était constitué de un tiers de sable de rivière, un tiers de billes de polystyrène et un tiers de tourbe.

Les plants ont reçu régulièrement deux applications hebdomadaires de solution nutritive l'une consistant en 0,1 à 0,5 litre de solution de SMITH suivant l'âge des plants, et l'autre en une quantité équivalente d'une solution de sulfate d'ammoniaque à 0,2 p. 100. La solution de SMITH contient en proportion équilibrée les cinq métalloïdes essentiels : azote, phosphore, soufre, bore, chlore et les dix métaux indispensables à une croissance régulière de la plante : potassium, magnésium, calcium, sodium, fer, manganèse, zinc, cuivre, molybdène (tableau 5).

Dans ces conditions de culture, les plants d'orangers peuvent se développer normalement dans un volume restreint de sol pendant plusieurs années, sans présenter de symptômes de carence.

Le régime de température auquel ont été soumis les plants à partir de la date d'inoculation est donné dans le tableau 6. Il s'agit de températures ambiantes relevées sous abri normalisé. La lecture de ce tableau montre qu'à la Réunion il existe deux saisons principales : une saison chaude, de novembre à avril, et une saison fraîche, de mai à octobre.

Pendant la saison chaude, les maximums dépassent très rarement 30°C. La somme des degrés-heures supérieure à 30°C (DH/30) a été calculée par dépouillement des bandes de thermographe. Les valeurs enregistrées n'ont pas dépassé 50 DH/30. D'après SCHWARZ et GREEN (1972) cette somme doit atteindre 800 à 1500 DH/30 pour entraîner une atténuation voire même une suppression des symptômes de *greening* sur les plants atteints avec la souche africaine *température sensible*.

Cette observation rejoint d'ailleurs les études de BOVE *et al.* (1974) ayant montré qu'un régime de

Tableau 5 - Composition de la solution de SMITH.

Nitrate de potasse	0,02 g/litre	Sulfate de cuivre	4.10^{-6} g/litre
Nitrate de calcium	0,08 g/litre	Sulfate de zinc	4.10^{-5} g/litre
Nitrate de magnésium	0,04 g/litre	Chlorure de manganèse	0,1 g/litre
Sulfate d'ammoniaque	0,02 g/litre	Acide borique	3.10^{-4} g/litre
Phosphate monosodique	$3,3.10^{-3}$ g/litre	Molybdate d'ammonium	$1,6.10^{-5}$ g/litre
		Sulfate de fer	$0,4.10^{-3}$ g/litre

Tableau 6 - Températures moyennes mensuelles enregistrées sous abri (Ligne Paradis-Bassin Plat, 150 m).

Séquence des événements	Températures					Moyennes thermiques par saison
	Année	Mois	Température max.	Température min.	Maxi + Mini	
Inoculation	1979	Mai	26,0	17,7	21,8	températures moyennes de la saison fraîche 1979
	1979	Juin	24,6	16,5	20,5	
	1979	Juillet	24,1	15,7	19,9	
	1979	Août	24,1	15,9	20,0	
	1979	Septembre	25,1	16,3	20,7	
Début d'apparition des premiers symptômes	1979	Octobre	26,2	16,9	21,5	maxi mini moy. 25,0 16,4 20,7
Symptômes généralisés à tout le feuillage	1979	Novembre	28,0	19,4	23,7	températures moyennes de la saison chaude 1979-1980
	1979	Décembre	28,8	21,1	24,9	
	1980	Janvier	29,1	21,8	25,4	
	1980	Février	28,7	20,5	24,6	
	1980	Mars	29,3	22,3	25,8	
	1980	Avril	28,4	20,5	24,4	
Symptômes généralisés à tout le feuillage	1980	Mai	26,4	18,6	22,5	températures moyennes de la saison fraîche 1980
	1980	Juin	24,7	16,1	20,4	
	1980	Juillet	23,5	15,2	19,3	
	1980	Août	22,6	14,4	18,5	
	1980	Septembre	24,5	15,7	20,1	
	1980	Octobre	26,8	17,6	22,2	
Symptômes généralisés à tout le feuillage	1980	Novembre	28,4	18,6	23,5	températures moyennes de la saison chaude 1980-1981
	1980	Décembre	30,4	20,6	25,5	
	1981	Janvier	30,3	21,1	25,7	
	1981	Février	30,2	21,5	25,8	
	1981	Mars	29,4	21,2	25,3	
	1981	Avril	28,0	21,2	24,6	

température de 27°C la nuit et 32°C le jour entraîne une rémission des symptômes pour le cas de plants contaminés par la souche africaine de *greening*.

Dans nos conditions expérimentales, il était donc possible que la forme africaine *température sensible du greening* puisse se manifester, et a fortiori la forme asiatique *température tolérante*.

Nous avons choisi le début de la période hivernale pour effectuer les greffes d'inoculation, puisque des travaux antérieurs de SCHWARZ (1968 a) avaient montré qu'à cette époque les pourcentages d'infection obtenus étaient généralement plus élevés qu'en période estivale.

Inoculation : les orangers Mme Vinous, étant parvenus à l'âge de 14 mois, et possédant à ce stade un diamètre du tronc de 7 à 8 mm, ont subi le test de la greffe d'inoculation. La technique retenue a été celle de la greffe de feuille (figure 22), utilisée par CALAVAN *et al.* (1972) pour le *stubborn*. Elle consiste à placer un morceau de feuille de la plante malade sous l'écorce de la plante indicatrice. Pour transmettre le *greening*, on a choisi sur la plante source des *feuilles nouvellement formées ayant atteint leur taille définitive*, et présentant soit des symptômes de marbrures soit des symptômes de type *taches vertes sur fond jaune*. Les morceaux de feuilles étaient placés sous l'écorce de la plante indicatrice dans le sens indiqué sur la figure 22b. Quarante jours après la greffe, les plants étaient déligaturés et rabattus. Deux greffes d'inoculation étaient pratiquées sur chaque plante indicatrice. Les plants témoins étaient autgreffés selon la même technique.

Pour chaque arbre faisant l'objet d'une recherche de *greening* on inoculait quatre orangers Mme Vinous, en ayant soin d'ajouter un plant témoin, autgreffé.

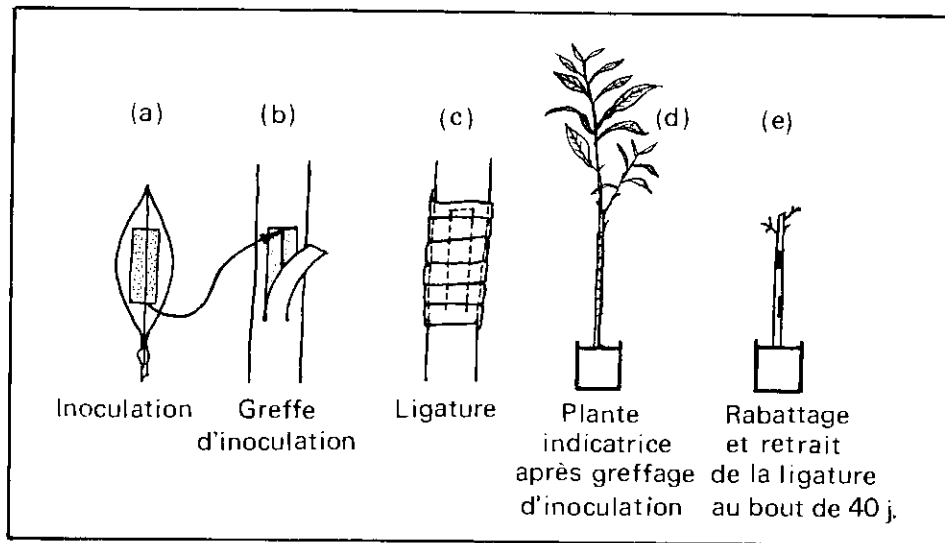


Figure 22 - Greffe de feuille utilisée pour la transmission expérimentale du greening.

Plantes-sources : six orangers, provenant du verger du Gol situé à l'Etang-Salé dans la zone à *Diaphorina citri*, et plantés en 1970, ont été utilisés comme *plantes-sources*. Quatre d'entre eux présentaient de sévères symptômes de greening, leur notation sur 40 s'échelonnant de 19 à 35. Les deux autres arbres avaient été soumis quelques mois auparavant à des traitements antibiotiques, mais après une courte période de rémission, présentaient de nouvelles chloroses foliaires. L'ensemble de ces six orangers a donné des réactions positives sur l'indicateur oranger Mme Vinous par greffe d'inoculation.

Huit autres *plantes-sources* sélectionnées dans différents vergers de l'île, ont également donné des réactions positives sur oranger Mme Vinous. Il s'agissait d'arbres présentant des symptômes typiques de greening, et dont on trouvera la liste sur le tableau 7 A. Certains d'entre eux avaient reçu plusieurs injections d'antibiotique ; l'incidence de ce traitement sera discutée à la rubrique «Discussion-Conclusion», p. 98.

Enfin un groupe de six arbres n'a donné aucune réaction positive (tableau 7 B). Cinq d'entre eux avaient subi un traitement à la tétracycline et le sixième provenait d'un verger situé à 1.000 m d'altitude.

- Apparition des symptômes et pourcentage de transmission.

Les inoculations qui ont eu lieu au cours de la deuxième quinzaine de mai 1979, c'est-à-dire en début d'hiver austral, ont donné les premières réactions positives quatre mois plus tard. Toutefois, certaines plantes indicatrices n'ont commencé à manifester les premiers symptômes de chlorose foliaire qu'au bout de 6 mois.

Dans la majorité des cas, il a fallu attendre un an pour voir apparaître une décoloration généralisée de tout le feuillage, accompagnée d'une réduction notable, voire même d'un arrêt total de la poussée végétative.

Sur un ensemble de 80 plants inoculés, 24 seulement ont manifesté des symptômes de greening, ce qui représente un pourcentage de transmission de 30 p. 100.

Les symptômes sont apparus à l'occasion d'une poussée végétative donnant de petites feuilles chlorosées rappelant l'aspect d'une carence en zinc ou quelquefois aussi celui d'une carence en manganèse (figure 23 B 2). Le faciès taches vertes sur fond jaune ne s'est manifesté que deux à trois mois plus tard, principalement sur les sujets ayant reçu un inoculum provenant d'orangers infectés du verger du Gol.

Tableau 7 - Pourcentage de transmission du *greening* par greffe de feuille, 12 mois après inoculation.
A - Réactions positives.

Verger	Origine de la plante source			Proportion d'orangers Mme Vinous ayant réagi positivement
	Variété et porte-greffe	N° de l'arbre dans le verger	Remarques concernant les « plantes-sources »	
Le Gol Etang-Salé	Pineapple sur C. troyer	B 14	arbres témoins très atteints de «greening» et n'ayant pas reçu de traitement antibiotique	3/4
		K 4		2/4
		A 16		1/4
	OV 11 sur C. troyer Hamlin sur C.troyer	D 9	injection de 6 g de tétracycline 10 mois avant le prélèvement d'inoculum	2/4
		I 6		2/4
	Hamlin sur C. troyer	E 16	injection de 6 g de pénicilline 3 mois avant le prélèvement d'inoculum	2/4
Rossolin Entre-Deux	Clémentinier sur C. troyer Dancy sur C. troyer	A 1	arbre de 3 ans de plantation en début d'attaque arbre soumis à un traitement tétracycline deux ans auparavant	1/4
		A 2		2/4
Turbot Petite Ile	Hamlin Hamlin	B 2	arbres de 3 ans de plantation très atteints de «greening»	1/4
		C 4		2/4
IRFA Bassin-Martin Essai P-C	Tangelo Orlando Hamlin	D 8		2/4
		M 4		3/4
Tampon 17e km 900 m	Oranger de semis	A 1	orangers de semis inoculés par <i>Trioza erythrae</i>	1/4
		A 2		3/4
Total :				24/56

B - Absence de réaction après 23 mois de greffe d'inoculation.

Le Gol Etang-Salé	O.V.L. sur C. troyer	E 9	arbres peu atteints de greening et soumis à une injection de 6 g de tétracycline 10 mois avant le prélèvement d'inoculum	0/4
		F 10		0/4
	O.S. Seedling C. troyer	B 12 B 15		0/4 0/4
IRFA Petite Plaine	O. Hamlin <i>P. trifoliata</i>		arbre présentant des marbrures sur jeunes feuilles	0/4

Les deux orangers de semis du Tampon PK. 17 (900 mètres d'altitude) et utilisés comme plante source, ont très probablement été inoculés par le vecteur africain *Trioza erythrae* puisque *Diaphorina citri* n'a pas été signalé à cette altitude. Les feuilles de ces plants, ont provoqué sur Oranger Vinous inoculé par greffe, l'apparition de marbrures sans changement notable de la taille des feuilles.

En aucun cas, il n'a été constaté sur les séries d'orangers Vinous inoculés, l'apparition d'un rétrécissement apical des jeunes feuilles, analogue à celui provoqué par la maladie du *stubborn* (voir figure 26 A).

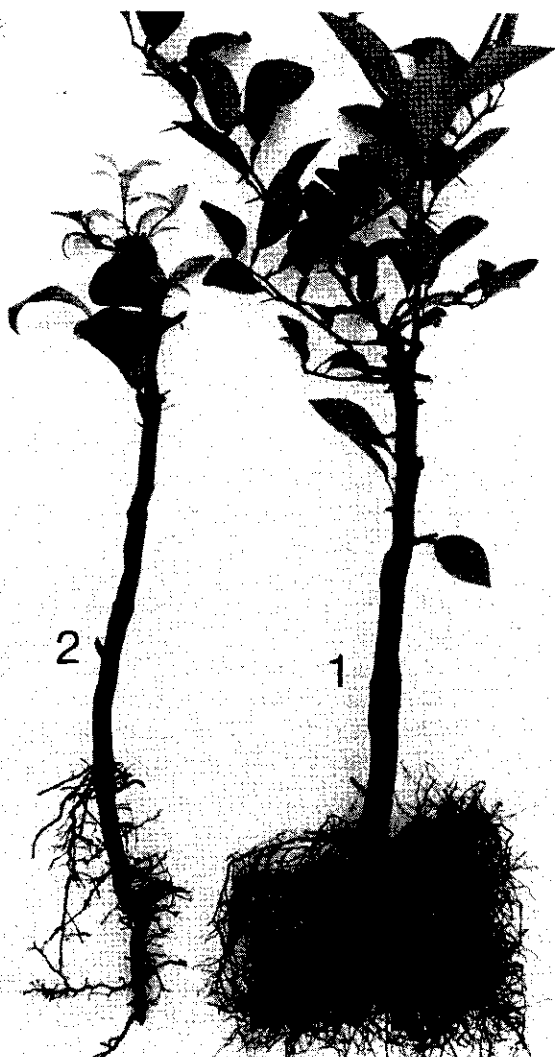
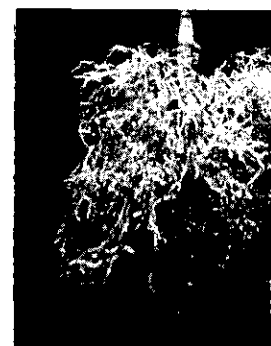
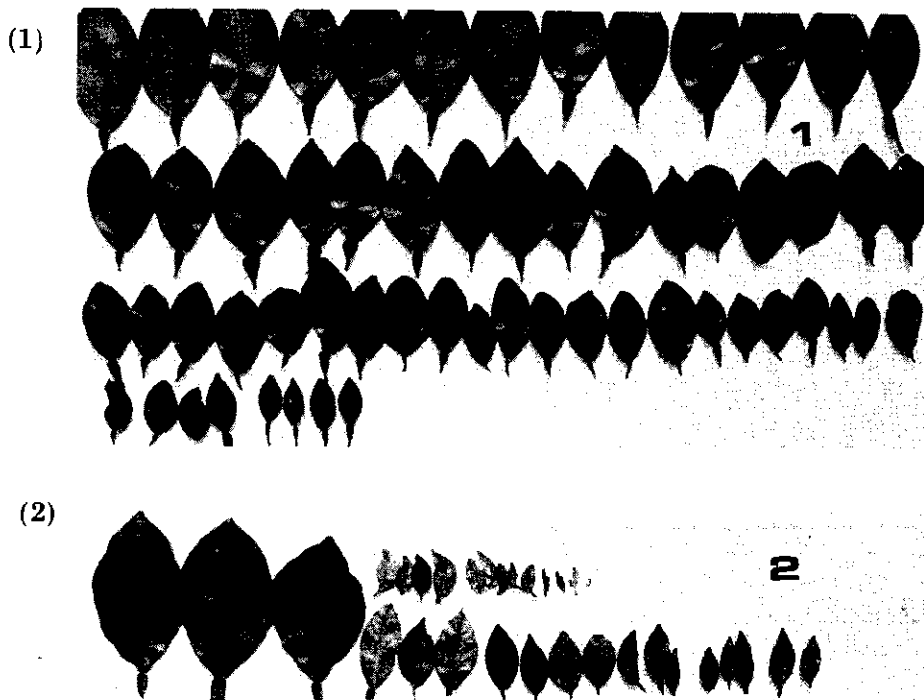


Figure 23 A - Aspect de deux plants d'orangers Mme Vinous âgés de 22 mois. Le plant témoin 1 s'est développé normalement. Le plant 2 a contracté la maladie du *greening* après avoir subi à l'âge de 14 mois une greffe de feuille infectée.

Figure 23 B - Détail des feuilles et des racines d'un plant d'oranger Mme Vinous sain (1) ou atteint de *greening* (2).



Douze mois après la date d'inoculation, les plants avaient perdu une partie de leur feuillage. Seules subsistaient de petites feuilles fortement décolorées, ou d'anciens limbes devenus épais et coriaces montrant des traces de subérification des nervures.

Sur la figure 23 A, apparaît un plant d'oranger Mme Vinous hébergeant la souche *Le Gol B 14*, 14 mois après la date d'inoculation, comparé à son homologue non inoculé. Le plant témoin sain, a émis des feuilles de couleur et de taille normale. A l'inverse, le plant inoculé a montré un ralentissement brutal de la poussée végétative avec apparition de petites feuilles chlorosées ne dépassant pas bien souvent 15 à 20 mm de long (figure 23 A). Il a subi une atrophie du système d'enracinement (figure 23 B). Pour dresser un bilan général des troubles obtenus par greffe d'inoculation, on a sacrifié six plants d'orangers Vinous âgés de 32 mois. Trois de ces plants avaient été inoculés avec la souche de *greening Le Gol B 14*, les trois autres étaient des plants témoins autogreffés.

On trouvera sur les tableaux 8 A et 8 B les résultats des pesées de poids frais ou de poids sec par groupe d'organes. La lecture de ces tableaux montre que l'inoculum apporté à l'origine au niveau du tronc, a entraîné de graves perturbations vers les extrémités actives de la plante à savoir les organes chlorophylliens d'une part et les racines d'autre part.

Les transmissions expérimentales décrites précédemment ont été obtenues de *plantes-sources* qui, à l'origine étaient indemnes de toute maladie de dégénérescence connue puisqu'il s'agissait de lignées SRA. Les seules affections contractées par ces plantes à la Réunion étaient celles transmises par pucerons et par psylles. Les pucerons transmettent dans les conditions de cette île, un complexe *tristeza, seedling yellows, vein-ation - woody gall* pour lequel l'oranger cultivé de semis ne montre pas de symptômes de dépérissement (AUBERT *et al.*, 1982). Par ailleurs aucune cicadelle capable de transmettre le *stubborn* n'a été signalée jusqu'ici à l'île de la Réunion.

Les syndromes obtenus par greffe d'inoculation ne peuvent donc être imputables à d'autres troubles que ceux occasionnés par la maladie du *greening*.

Tableau 8 - Echantillonnage total de plants d'orangers Mme Vinous de semis. Comparaison entre plants sains et plants inoculés expérimentalement avec une souche de *greening*.

A										B								
Plants témoins sains (poids en g)										Plants inoculés avec la souche de <i>greening</i> Le Gol B14 (poids en g).								
Organes	Plant N° 1		Plant N° 2		Plant N° 3		Moyennes			Plant N° 4		Plant N° 5		Plant N° 6		Moyennes		
	PF	PS	PF	PS	PF	PS	PF	PS	%MS	PF	PS	PF	PS	PF	PS	PF	PS	%MS
feuilles	20,7	5,4	15,2	3,4	19,0	5,5	18,3	4,8	28,2	4,8	1,9	3,6	1,7	3,4	1,4	3,9	1,6	42,8
brindille																		
verte	13,2	3,5	6,6	1,8	13,6	4,6	11,1	3,3	29,7	2,7	1	2,3	1,1	1,8	0,8	2,2	0,9	42,7
tronc	30,4	15	43,2	21,5	48,1	18,5	40,5	18,3	45,2	37,5	22,4	29,2	18,9	25	15,3	30,5	18,8	61,8
pivot	22,7	11,9	20,7	9,1	28,3	13,7	25,5	11,5	45,1	17	8,3	17,5	11	17,9	14,1	17,4	11,1	63,7
chevelu	28,9	7,6	21,4	5,7	17,1	4,1	22,4	5,8	25,8	2,2	0,8	5,9	1,5	3,2	0,9	3,7	1,0	28,9

N.B. : PF : poids frais PS : poids sec MS : teneur en matière sèche
Différences en % observées sur les plants inoculés par rapport aux plants témoins

	PF	PS
feuilles	- 78	- 66
brindilles vertes	- 79	- 72
tronc	- 24	+ 2,7
pivot	- 31	- 3
chevelu	- 83	- 81

Transmission de Citrus à Citrus par greffe de brindille verte infectée.

● Matériel et méthode.

Les techniques de préparation et de culture des plantes indicatrices sont identiques à celles décrites au paragraphe «Transmission de Citrus à Citrus par greffe de feuille», mais cette fois, l'inoculum est constitué d'une brindille porteuse de petites feuilles très décolorées présentant l'aspect de la *carence en zinc*. L'insertion de cette pousse sur la plante indicatrice est réalisée par une greffe de côté (figure 24). Les plants ont été gardés en atmosphère saturée d'humidité sous gaine de polyéthylène pendant les 10 jours qui ont suivi la greffe, afin d'éviter la chute des feuilles de la brindille contaminée.

La plante source utilisée était un clémentinier, choisi dans un verger de la région de Saint-Pierre, et qui avait atteint une note *greening* de 28/40. Sur cet arbre qui n'avait jamais subi d'injection d'antibiotique, des fragments de columelle de fruit ont été préparés pour l'observation des cellules du phloème en microscopie électronique. Les tubes criblés qui apparaissent sur la figure 5 A, ont montré de nombreux micro-organismes endocellulaires.

De jeunes orangers témoins ont été placés dans les mêmes conditions après avoir reçu des brindilles saines selon la même technique de greffe en fente.

Résultats : trois orangers Vinous sur les vingt inoculés, soit 15 p. 100 ont montré des symptômes de jaunissement environ 100 jours après la date d'inoculation. Ces plants ont accusé une décoloration progressive de l'ensemble du feuillage. Les nouvelles feuilles émises sur la partie oranger ont présenté des symptômes de *marbrure* et de *carence en zinc*. Maintenus en observation sous cage d'isolement pendant 20 mois, les plants inoculés selon cette technique n'ont manifesté aucune reprise de végétation, alors que leurs homologues sains se développaient normalement.

Discussion . Une technique de greffe analogue a été utilisée par TIRTAWIDJADJA *et al.* (1964) avec un pourcentage de transmission qui aurait atteint 70 p. 100. Mais dans ce cas les plantes indicatrices étaient constituées par de très jeunes semis âgés de 2 mois. De son côté, Mc CLEAN (1970) a obtenu 64 p. 100 de transmission en décapitant des semis d'orangers de 10 mois et en insérant par greffe en tête, une pousse verte infectée. Par contre, il n'a obtenu que 4 p. 100 de plants infectés par placage d'écorce. Ces résultats rejoignent les observations de DANIEL (1982) concernant la distribution des organismes bactériens associés à la maladie du *greening*, dans des plants d'orangers infectés. Le pourcentage de tubes criblés présentant des microorganismes infectieux est plus élevé dans les jeunes feuilles souples montrant un début de *marbrure* (28 p. 100) que dans les petites feuilles décolorées (10,3 p. 100) ou les feuilles âgées de consistance rigide (4 p. 100). L'écorce de tige ou de grosse racine, ainsi que le chevelu radiculaire ne présentent qu'un pourcentage faible ou nul de tubes criblés hébergeant des microorganismes associés à la maladie du *greening*.

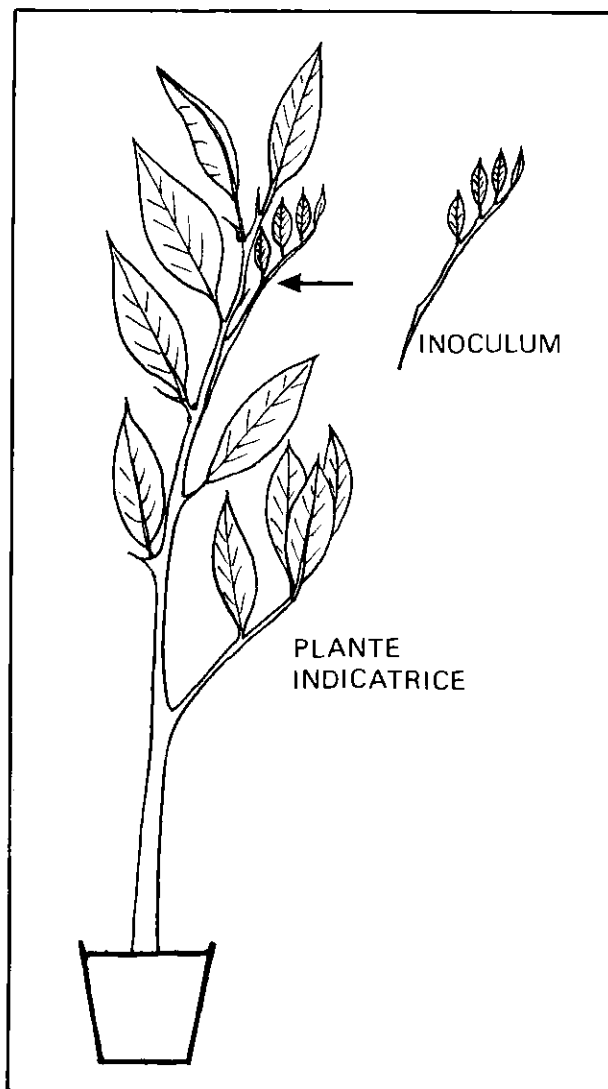


Figure 24 - Inoculation expérimentale par greffe en fente de côté.

Ces observations peuvent expliquer les taux d'infection très variables selon le type d'inoculum utilisé. Il convient de mentionner que MARAIS et REA (1984) ont transmis une souche sud-africaine de *greening* par placage d'écorce ou écussonnage avec un pourcentage de réussite dépassant 30 p. 100. Sur la base d'expérimentations conduites avec quatre souches différentes, SCHWARZ (1972) estimait que la transmissibilité et la systémicité pouvaient varier considérablement selon l'origine des souches.

EN RESUME, la transmission expérimentale du *greening* par greffe d'inoculation requiert une bonne maîtrise de la culture des agrumes en pot sous cage d'isolement. Les délais d'apparition des symptômes avec les souches réunionnaises testées ont été de 4 à 8 mois et les chances de réussite sont apparues meilleures lorsqu'était réalisée une soudure entre feuille infectée et écorce de la plante indicatrice. Toutefois les tentatives de transmission par soudure de brindilles vertes ont également donné des résultats positifs.

La gamme de plantes susceptibles d'héberger le microorganisme du *greening*, ne se limite pas au genre *Citrus*, puisque nous avons obtenu une infection expérimentalement sur *Murraya paniculata* avec *Diaphorina citri* (voir plus loin). D'autres auteurs (GHOSH *et al.*, 1977) ont d'ailleurs montré que les bactéries endocellulaires associées à la maladie du *greening* étaient capables de proliférer dans la cuscute. De leur côté, GARNIER *et al.* (1984) ont réussi la transmission de *Citrus* à *Vinca rosea* par pont de cuscute. Cette expérience a été récemment renouvelée par KE *et al.* (1987).

OBTENTION DE SYMPTOMES PAR VECTION ANIMALE

Symptômes obtenus sur jeunes plants d'orangers par infection massive.

Deux lots homogènes de 25 orangers Mme Vinous cultivés dans des conditions identiques à celles décrites précédemment ont été placés à l'intérieur de deux enceintes hermétiques au passage d'insectes. Les conditions de température et d'hygrométrie dans ces enceintes étaient de 33°C et 65 p. 100 d'humidité relative le jour, et 22°C et 85 p. 100 d'humidité relative la nuit.

Les semis d'orangers étaient âgés de six mois. Peu avant leur transfert dans les enceintes climatisées, ils ont été rabattus pour forcer l'émission de jeunes pousses.

Dans l'une des enceintes, on a introduit 200 psylles adultes appartenant à l'espèce *Diaphorina citri* KUWAYAMA, soit une moyenne de huit individus par plant. Les Homoptères avaient été prélevés sur des orangers atteints de *greening* dans un verger abandonné de la zone d'Etang-Salé.

L'introduction de psylles dans la deuxième enceinte s'est faite différemment. On a placé sur les jeunes pousses d'orangers plusieurs centaines d'oeufs de *D. citri*. Cette opération a été effectuée sous loupe binoculaire à l'aide d'un pinceau très fin, dont les poils avaient été rendus rigides grâce à une légère application de vernis.

Pendant 150 jours, les deux séries d'orangers Vinous cultivées dans des conditions en tous points identiques, ont vu se succéder plusieurs générations de psylles.

La première enceinte était présumée contenir une certaine proportion de *psylles infectés*. Par contre, la seconde était présumée ne contenir que des *psylles sains* puisqu'il n'existe pas en principe de transmission transovarienne du *greening* (CAPOOR *et al.*, 1974).

Dans l'enceinte *contaminée*, les premiers symptômes de décoloration de feuilles sont apparus vers le 60e jour qui a suivi l'installation des colonies de psylles. Quelques plants ont donné des petites feuilles avec un faciès de *carence en zinc* et subi un ralentissement de croissance. Les plants de l'enceinte *témoin* ont montré aussi des signes d'affaiblissement.

Au 80e jour tous les psylles adultes ont été retirés des deux enceintes à l'aide d'un aspirateur à bouche, et les larves tuées par un traitement au diméthoate. Les plants ont été ensuite mis en observa-

tion pendant 70 jours. Au bout de cette période (soit environ 150 jours après l'inoculation), 4 jeunes semis provenant de l'enceinte contaminée continuaient à montrer des signes de jaunissement. La recherche du virus de la *tristeza* sur ces plants par la technique ELISA a donné des résultats négatifs montrant l'incapacité de *D. citri* à transmettre cette maladie. Par contre, douze feuilles prélevées au hasard sur ces plants ont servi à inoculer un autre lot de six orangers Mme Vinous selon la technique décrite précédemment. Trois de ces derniers ont montré des symptômes typiques de *greening*.

Discussion : le pourcentage de transmission obtenu à partir d'adultes de *D. citri* prélevés en vergers infectés n'a été que de 16 p. 100, probablement en raison du faible nombre de psylles virulifères dans la population d'origine.

TIRTAWIDJADJA (1981) en Indonésie et ZAO XUE YUAN (1981) en Chine ont enregistré des résultats inférieurs en utilisant des conditions expérimentales assez voisines. Le premier a observé 9,4 p. 100 de transmission sur un total de 500 jeunes semis hébergeant en moyenne 3 adultes par pied, et le second 8 p. 100 seulement sur 398 jeunes semis hébergeant en moyenne de 50 à 200 adultes par pied.

Essai de transmission par psylles individuels.

Un lot de 50 *Diaphorina citri* adultes «sains», obtenus de l'élevage réalisé précédemment, est placé pendant 17 jours sur un oranger Vinous. Ce plant inoculé antérieurement par greffe de feuille, manifestait des symptômes de *greening* très caractéristiques.

Au bout du 17^e jour d'alimentation sur cette plante hôte infectée, les psylles ont été placés individuellement en présence d'autres jeunes semis d'oranger Vinous cultivés à l'abri de toute contamination. Selon les études de CAPOOR *et al.* (1974), la *période de latence* qui correspond au laps de temps s'écoulant entre l'*acquisition* et la possibilité pour l'animal d'être infectieux, serait de 6 à 12 jours dans le cas de *D. citri*. On a donc admis qu'une période de 17 jours offrait de bonnes chances d'obtenir des psylles virulifères.

● Essai d'inoculation.

Un psylle a été prélevé au hasard à l'aide d'un aspirateur à bouche pour le placer sur un jeune oranger Vinous sain pendant dix minutes. Ce même psylle a été transféré une seconde fois sur un autre oranger Vinous sain pendant 20 minutes, et transféré à nouveau sur un troisième oranger Vinous sain pendant 40 minutes. Cette opération a été renouvelée avec 16 autres psylles, ce qui a donné un total de $(16 + 1) \times 3 = 51$ plants ayant hébergé pour un court instant un adulte de *D. citri*. Chaque essai d'inoculation a été observé séparément, et le chronomètre n'était déclenché que lorsque l'insecte venait de se fixer sur une nervure de feuille pour s'alimenter.

Par ailleurs, une autre série d'orangers Vinous sains a été mise en présence de 3 psylles à la fois pendant 40 minutes. L'opération a été répétée sur 6 plants ce qui a entraîné un nouveau prélèvement de 18 psylles adultes supposés virulifères.

Les psylles utilisés pour les essais d'inoculation soit au total 35 sur 50, n'ont pas été réintégrés dans la population d'origine.

● Résultats.

Tous les plants ayant hébergé des adultes de *D. citri* ont été cultivés pendant deux ans sous cage d'isolement. Aucun d'eux n'a manifesté de symptômes de *greening*.

● Discussion.

Selon CAPOOR *et al.* (1974) un psylle virulifère est capable de transmettre le *greening* pendant une période minimum d'alimentation de 15 minutes. Toutefois les chances de vection de la maladie

augmentent considérablement au-delà de ce délai jusqu'à 100 p. 100 pour une période d'alimentation de 60 minutes. L'échec complet enregistré dans notre expérience peut venir du fait que la *plante-source* inoculée expérimentalement par greffe de feuille ne contenait qu'une faible quantité d'organismes pathogènes. Les chances d'obtenir des psylles virulifères auraient alors été très faibles (de l'ordre de quelques pour 100), pour un *temps d'acquisition* de 17 jours. Les essais exposés à la rubrique «Symptômes obtenus sur jeunes plants d'orangers par infection massive», laissent d'ailleurs supposer qu'en conditions naturelles le pourcentage d'insectes virulifères peut être faible. Cependant de récentes études conduites par XU *et al.* (1987) en Chine, ont montré que les larves de 5e stade peuvent acquérir l'organisme du greening. La bactérie serait même conservée lors de la mue imaginale ce qui donnerait des éclosions d'adultes directement virulifères.

Essai de transmission sur jeunes *Murraya paniculata*.

Trois plants de *Murraya paniculata* (L.) JACK. cultivés à partir de graines sous cage d'isolement et parvenus à l'âge de 24 mois, ont été introduits dans un insectarium pour être exposés à d'importantes colonies de *D. citri* (environ 150 à 200 adultes par plant). Les Homoptères provenaient exclusivement de haies de *M. paniculata* présentant des symptômes de dépérissement, dans la localité de l'Etang-Salé.

● Résultats.

Pendant 11 mois les trois plants de *Murraya* ont vu se succéder plusieurs générations de psylles. La présence de ces Homoptères a été marquée par quelques dessèchements de très jeunes brindilles, probablement en raison de l'action spoliatrice des fortes colonies de nymphes (voir plus loin chapitre 5). Cependant on a remarqué aussi au bout de deux à trois mois l'apparition d'organes foliaires de petite taille fortement décolorés. L'observation du phloème de ces feuilles a révélé la présence de bactéries endocellulaires infectieuses dans les tubes criblés, en très faible quantité. Le greffage de ces organes sur oranger Madame Vinous n'a pas permis de faire repasser la maladie de *Murraya* à Citrus.

● Discussion.

En Indonésie, TIRTAWIDJADJA (1981) a fait état de symptômes de *greening* sur des plants de *M. paniculata* exposés pendant plusieurs semaines à des adultes de *D. citri* virulifères. KOIZUMI (1983) a échantillonné des haies de *M. paniculata* au Bangla Desh montrant des symptômes de dépérissement, et observé dans le phloème des nervures de feuilles malades, des bactéries endocellulaires. MIYAKAWA et MATSUI (1984) ont de leur côté inoculé expérimentalement des plants de *M. paniculata* à l'aide de psylles asiatiques infectés et observé, eux aussi, dans le phloème foliaire, la présence de bactéries endocellulaires.

D. citri, est capable de s'alimenter et de se reproduire sur *M. paniculata* une Rutacée qui figure parmi les plantes hôtes préférentielles de ce psylle (voir chapitre 4). *M. paniculata* peut de ce fait jouer à la fois le rôle de réservoir de psylles et celui d'organismes infectieux.

SYMPTOMATOLOGIE DU GREENING COMPAREE A CELLE D'AUTRES MALADIES INFECTIEUSES

Le *Greening* est la plus grave maladie des agrumes connue à ce jour. On ne peut lui opposer la solution d'une tolérance variétale ou spécifique agronomiquement exploitable. A l'île de la Réunion, cette maladie a entraîné la mort de nombreux orangers, mandariniers ou de certains hybrides comme les tangelos. Toutefois la gravité des symptômes n'est pas identique pour l'ensemble des espèces appartenant au genre *Citrus*. Dans les vergers réunionnais, comme d'ailleurs dans ceux d'autres territoires contaminés, les symptômes de *greening* sont plus lents à se manifester sur les limettiers ou les combavas que sur les orangers ou les mandariniers. La première catégorie d'individus présente une frondaison de couleur vert-pâle avec des panachures de limbes relativement discrètes, toutefois les arbres restent très peu productifs. Il est alors difficile de définir la part des symptômes revenant soit au *greening* soit à la *tristeza*. L'Arabie Saoudite fait exception à cette règle, puisque la *tristeza* n'y a pas été signalée. C'est actuellement la seule région au monde où il est possible d'observer à l'état pur des symptômes de *greening* sur limettiers (BOVE et GARNIER, 1984).

Parallèlement, d'autres affections comme le *stubborn* ou le *blight* peuvent entraîner sur oranger ou mandarinier des symptômes s'apparentant de près ou de loin à ceux du *greening*.

Nous nous proposons dans ce qui suit de présenter quelques caractères distinctifs de l'une ou l'autre de ces maladies.

Greening et tristeza/seedling yellows.

Certains auteurs asiatiques, notamment, MATSUMOTO *et al.* (1961), FAN et LIU (1965) ou TIRTAWIDJADJA *et al.* (1977) avaient, soit confondu *greening* et *tristeza*, soit émis l'hypothèse d'une association obligatoire des deux maladies dans l'expression des symptômes du *likubin*, du *huanglungbin* ou du *citrus vein phloem degeneration*. Cette théorie devait être infirmée pour les raisons suivantes :

1. Des souches de *tristeza* même sévères n'induisent pas en général de symptômes graves chez le mandarinier ou l'oranger se développant sur leurs propres racines ou sur une association de porte-greffe tolérante. S'il y a exception à cette règle comme par exemple pour l'oranger Pera au Brésil, le sujet réagit par un trouble du cambium donnant le symptôme de *stem-pitting*, toutefois la frondaison reste verte même s'il s'agit d'une souche relativement sévère de *tristeza*.
2. Les orangers sévèrement atteints de *greening* ne présentent pas de perturbation de l'activité cambiale au niveau des organes ligneux : les branches ou le tronc n'affichent pas de symptômes de *stem-pitting*.
3. Les plants de semis que nous avons inoculés expérimentalement sous cage d'isolement à l'aide d'adultes de *D. citri* infectés ont donné des réactions ELISA négatives lors de la recherche du virus de la *tristeza*. Le *greening* provoque bien à lui seul des symptômes de dépérissement.
4. En Arabie Saoudite, des tests ELISA effectués en vue de la détection de la *tristeza* sur des arbres sévèrement atteints de *greening* ont eux aussi été négatifs (BOVE et GARNIER, 1984) ; il s'agissait de sujets uniquement atteints de *greening*.

Greening et *tristeza* sont bien deux maladies distinctes, l'une d'origine bactérienne, l'autre d'origine virale ayant leurs propres vecteurs et leurs propres symptômes. Le *greening* ne provoque pas les réactions d'éclaircissement des nervures (*vein clearing*) d'invaginations d'écorce dans le bois (*stem-pitting*) ou de trous d'épingle dans l'écorce (*inverse stem-pitting*) caractéristiques des espèces ou associations d'espèces sensibles à la *tristeza* (figures 25 A et 25 B). Il existe toutefois deux types de syndromes partiellement communs aux deux groupes d'affections : le jaunissement des jeunes semis (*seedling yellows*) et la subérification des nervures (*vein corking*).

5. Les souches de *tristeza* ayant le composant *seedling yellows* peuvent provoquer le jaunissement momentané des jeunes semis de bigaradier, de citronnier ou de pomelo. Cette anomalie se manifeste dans le cas d'une première inoculation et disparaît souvent au bout de quelques mois. S'il s'agit de *greening*, aucune rémission n'est observée à moins que le sujet contaminé ne subisse un traitement antibiotique, ou éventuellement un traitement thermique dans le cas d'une souche africaine de *greening* par exemple.
6. La *tristeza* entraîne la subérification des nervures principalement sur limettiers et combavas, alors que le *greening* ne provoque ce type de syndrome que sur orangers, mandariniers ou hybrides d'orangers et mandariniers.

Les deux maladies peuvent être présentes sur un même sujet. C'est d'ailleurs la règle générale dans tous les pays où le *greening* est endémique à l'exception de certaines régions de l'Arabie. Lorsqu'on a affaire à des espèces très sensibles à la *tristeza*, comme le limettier ou le combava, ce sont les symptômes de cette maladie qui prédomineront. Inversement, les espèces ou associations d'espèces

Figure 25 - SYMPTÔMES DE TRISTEZA.

Figure 25 A - Symptômes de *stem-pitting* sur des espèces directement sensibles à la *tristeza* : exemple limettier ou combava.

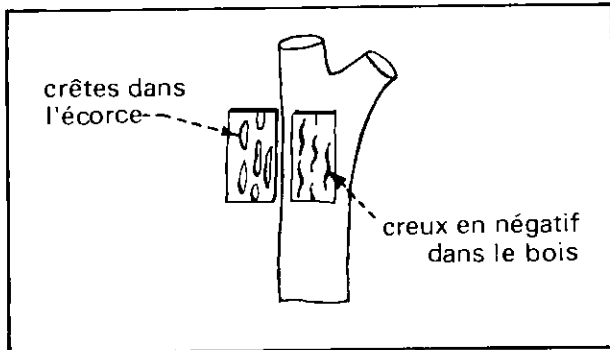


Figure 25 B - Symptômes d'*inverse-stem-pitting* sous la ligne de greffe : forme maladie d'association de la *tristeza* : exemple oranger greffé sur bigaradier.

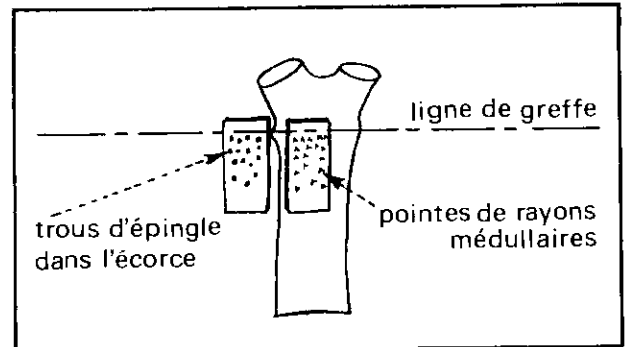


Figure 25 C - Forme *quick decline* de la *tristeza*, ou dessèchement foudroyant de l'arbre. Oranger greffé sur bigaradier photographié en septembre, cet arbre était encore vert en mars de la même année, époque de formation des fruits restés attachés aux branches.



qui réagissent en *porteurs sains* vis-à-vis de la *tristeza* comme le mandarinier ou l'oranger greffés sur un porte-greffe autre que le bigaradier, ont tendance à afficher les symptômes de *greening* les plus graves.

La *tristeza* présente une forme *maladie d'association* lorsque le bigaradier est utilisé comme porte-greffe de l'oranger ou du mandarinier. Il s'agit d'un dépérissement à évolution plus ou moins rapide qui peut être quelquefois foudroyant (symptôme de *Quick decline*, figure 25 C). Cette forme connue sous le terme de *tristeza sensu stricto* a occasionné d'importants ravages au Brésil, en Argentine ou plus récemment en Espagne. Elle se traduit par une anomalie de fonctionnement du cambium sous la ligne de greffe, donnant le symptôme d'*inverse stem-pitting* (c'est-à-dire des projections d'aiguilles de bois dans l'écorce). Le flux de sève élaborée en direction des racines est bloqué, il y a atrophie du

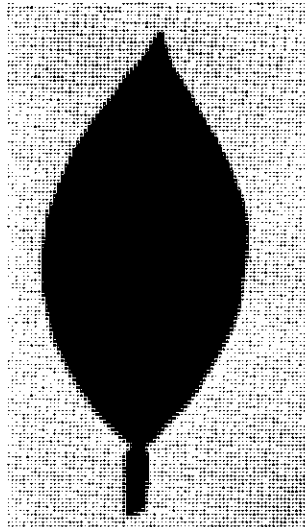


Figure 26 A - Rétrécissement et décoloration de l'extrémité apicale du limbe chez un oranger atteint de *stubborn*.

Aspect général de la frondaison d'un oranger atteint de *stubborn* (aspect rabougré Figure 26 B), et d'un individu homologue sain (Figure 26 C).



26 B

26 C

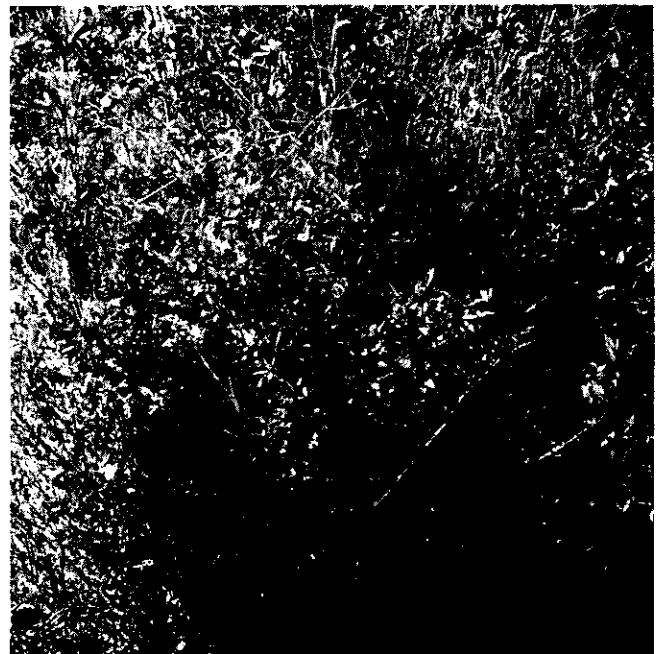


Figure 26 D - Par comparaison, jaunissement du feuillage et dessèchement des branchettes, caractéristiques du *greening*.

système d'enracinement et absence d'amidon dans les racines. Un badigeonnage d'eau iodo-iodurée sur les sections de racines n'entraîne pas de coloration.

Sur les arbres sévèrement atteints de *greening* l'amidon s'accumule dans les chloroplastes par suite d'un défaut de fonctionnement du phloème foliaire (voir chapitre 2). Les sections de racines restent pâles après application d'eau iodo-iodurée alors que sur les sujets sains elles se colorent en bleu foncé. On notera que sur les arbres atteints de *blight* les racines contiennent de l'amidon (figure 27 C).

A la Réunion comme dans la plupart des pays atteints de *tristeza* le bigaradier n'est pas utilisé comme porte-greffe. Seuls sont retenus des porte-greffe donnant des associations réputées tolérantes à la forme *tristeza sensu-stricto*.

Greening et stubborn.

Greening et *stubborn* sont deux maladies du phloème qui se ressemblent sur bien des points. Elles sont à redouter plus particulièrement sur oranger et mandarinier, *L'une et l'autre affections* peuvent entraîner des décolorations du feuillage rappelant la carence en zinc ou en manganèse. Elles occasionnent des baisses de récolte considérables. Les rares fruits produits sont asymétriques, imparfaitement colorés, à faible teneur en sucre et à graines avortées. Dans les deux cas il y a atrophie du système d'enracinement.

Il existe toutefois quelques caractères distinctifs des deux maladies, notamment en ce qui concerne les symptômes foliaires ou corticaux, et l'aspect général de la frondaison. Le *stubborn* induit en conditions chaudes et arides un rétrécissement et une décoloration de l'extrémité apicale des limbes (figure 26 A). Sur des arbres anciennement contaminés, il est possible d'observer la formation de trous d'épingle dans l'écorce, sous la ligne de greffe. Les entrenœuds anormalement courts et la ramification excessive donnent à l'arbre un port général *buissonnant* (figure 26 B). Le *greening* se caractérise par une intense décoloration des limbes et un dessèchement des rameaux qui se manifestent sur quelques secteurs de la couronne, puis s'étendent assez rapidement à l'ensemble de l'arbre. Aucune anomalie particulière n'a été relevée en ce qui concerne l'architecture de la ramification, ou le fonctionnement du cambium sur les organes ligneux. Le *stubborn* est transmis par des cicadelles notamment *Neoliturus haematoceps*, *Neoliturus tenellus* et *Scaphytopius nitridus*, alors que le *greening* est transmis par psylles.

Dans le cadre des enquêtes de symptomatologie effectuées à la Réunion sur les lignées d'agrumes provenant des sélections SRA, aucun symptôme de *stubborn* n'a été observé. Les cicadelles qui transmettent le *stubborn* n'ont pas été signalées jusqu'ici dans ce département. La seule espèce rencontrée épisodiquement sur les agrumes à la Réunion est *Penthimia bella* STALL. Le *stubborn* a été introduit vers les années 1960 dans l'île avec des plants d'orangers *Thompson Navel* originaires d'Afrique du Nord puis accidentellement avec la lignée *Washington Navel* SRA 9, laquelle a été immédiatement détruite (VOGEL, 1975). Les arbres issus de la lignée de *Thompson Navel* ont pour leur très grande majorité contracté le *greening* et péri dans les quelques années qui ont suivi leur plantation.

Greening et blight.

Le *blight* sévit principalement dans les régions du Sud-Est des Etats-Unis des Caraïbes et de l'Amérique du Sud. Il affecte plus généralement les mandariniers, orangers ou pomelos greffés sur des porte-greffe autres que le bigaradier ou l'oranger doux. Les premières manifestations de la maladie n'apparaissent que sur des arbres adultes ayant atteint au moins l'âge de 5 à 7 ans. Les symptômes du *blight* débutent par la présence de feuilles décolorées rappelant la carence en zinc ou en manganèse, sur un ou plusieurs secteurs de la couronne. Le feuillage se dégarnit, l'arbre devient improductif puis se maintient en vie ralentie sans jamais montrer de signes de récupération. Il peut réémettre quelques rares poussées végétatives. Ces dernières montrent souvent un flétrissement caractéristique dans le milieu de la journée (figure 27 B).



Figure 27 A - Aspect général d'un oranger greffé sur *rough lemon* atteint de *blight*.

Figure 27 B - Flétrissement caractéristique des jeunes pousses d'un oranger atteint de *blight*. Cliché pris vers 15 heures (Fort Pierce, Floride).



Figure 27 C - Dans le verger qui correspond à la figure 27 A, certains orangers greffés sur bigaradier étaient atteints de *tristeza*, et d'autres de *blight*. L'application d'un badigeon d'eau iodo-iodurée sur les racines des premiers ne donne aucune coloration (racine de droite), alors que pour les seconds la coloration bleue traduit la présence d'amidon (racine de gauche).

Tableau 9 - Comparaison des symptômes de *greening* à ceux de trois autres affections des agrumes.

	<i>Greening</i>	<i>Tristeza/</i> <i>Seedling yellows</i>	<i>Stubborn</i>	<i>Blight</i>
Agent causal	Bactérie intracellulaire	Virus	Mycoplasme	Inconnu
Vecteur	Psylles	Pucerons	Cicadelles	Inconnu
Symptômes				
Sensibilité spécifique d'association porte-greffe/greffe	Inconnue	Oui : exemple dépérissement de l'oranger ou mandarinier greffés sur bigaradier (<i>Tristeza sensu stricto</i>) : <i>inverse stem-pitting</i> sous la ligne de greffe	Inconnue	Partielle : plus grande sensibilité de l'oranger du mandarinier ou du pomelo greffés sur des espèces autres que le bigaradier ou l'oranger
Symptômes foliaires ou corticaux spécifiques	Pas de symptômes foliaires véritablement spécifiques (Analogie avec carences minérales)	<i>Vein clearing</i> et <i>stem pitting</i> sur limettier et combava notamment, jaunissement momentané des jeunes semis de bigaradier, citronnier ou pomelo.	Extrémité apicale de la feuille rétrécie et décolorée. Eventuels trous d'épingle dans l'écorce au voisinage de la ligne de greffe	Flétrissement des jeunes limbes dans le milieu de la journée.
Subérisation des nervures	Sur oranger et mandarinier	Sur limettier et combava principalement		
Transmission par greffe d'inoculation	oui	oui	oui	très difficile
Symptômes sur fruits	Asymétrie des fruits avec columelle incurvée. Avortement des graines. Absence de coloration à maturité	Fruits de petit calibre	Fruit en gland. Coloration dite inverse. Albedo bleu. Avortement des graines	
Aspect général de la frondaison des arbres adultes	Fronaison intensément décolorée avec sévères dessèchements de rameaux en répartition sectorielle	Dessèchement pouvant être rapide et total (symptôme de <i>quick decline</i>) ou quelquefois plus lent, mais réparti uniformément sur la frondaison	Entrenoeuds anormalement courts, ramification excessive, port général buissonnant	Dégarnissement de la frondaison survenant sur des sujets adultes ayant dépassé l'âge de 5-7 ans
Amidon	Peu d'amidon dans les racines. Accumulation d'amidon dans le mésophylle	Absence d'amidon sous la ligne de greffe ou dans les racines (cas de la forme maladie d'association)		Présence d'amidon dans les racines

Le *blight* est une maladie du xylème qui occasionne un ralentissement du flux de sève brute dans les vaisseaux du bois (COHEN, 1974). Jusqu'à présent aucune preuve ne permet d'affirmer que le *blight* est associé à la présence d'une bactérie pathogène du xylème. La transmission expérimentale du *blight* reste problématique. C'est la raison pour laquelle le *blight* n'apparaît pas dans le tableau 2. Le diagnostic du *blight* repose sur la détection de troubles physiologiques comme l'accumulation du zinc dans l'aubier (WUTSCHER *et al.*, 1982), ou le blocage du flux de sève brute, et sur l'observation de coupes anatomiques des vaisseaux du bois ces derniers pouvant être totalement obstrués par des occlusions de structure amorphe (COHEN *et al.*, 1983).

Les observations effectuées dans les vergers réunionnais depuis 1973 n'ont pu mettre en évidence la présence du *blight* dans l'île. Par ailleurs aucune réaction physiologique, caractéristique du *blight* n'a été jusqu'ici observée à la Réunion (voir chapitre 2). Il n'est pas exclu que la présence du *greening* à la Réunion ait masqué jusqu'ici celle du *blight*, la première affection évoluant beaucoup plus rapidement que la seconde. Toutefois le recul spectaculaire du *greening* dans les vergers réunionnais depuis 1978 (voir chapitre 6) pourrait à présent favoriser les conditions d'apparitions du *blight*, dans l'hypothèse où cette maladie serait présente dans l'île.

Un récapitulatif des symptômes occasionnés par la *tristeza*, le *greening*, le *stubborn* ou le *blight* est donné dans le tableau 9.

CONCLUSION

De par l'importance et la rapidité des symptômes qu'il occasionne, le *greening* est capable d'éclipser la présence d'autres maladies des *Citrus* comme le *stubborn*, le *blight*, ou même la *tristeza* à l'exception toutefois de la forme *quick decline* pour cette dernière affection. Alors que dans leur majorité, les maladies de dégénérescence des agrumes entraînent soit une diminution de vigueur, soit un rabougrissement plus ou moins prononcé, le *greening* est capable de provoquer une intense décoloration de la frondaison, puis le dessèchement de la ramure, et à terme, la mort de l'arbre.

Les études de symptomatologie conduites en vergers réunionnais, ont porté sur une catégorie bien définie de sujets (orangers ou mandariniers des lignées SRA). L'identification des symptômes a été confrontée dans la mesure du possible avec le test de la transmission par greffe d'inoculation ou celui de l'observation des bactéries endocellulaires dans le phloème présumé infecté. En dépit de ces précautions, des difficultés de diagnostic sont quelquefois apparues, notamment avec les mandariniers *Fairchild* ou *Malvasio* très sensibles à la carence physiologique en zinc et en manganèse.

Les essais de transmission par greffe d'inoculation, ont montré que l'organisme bactérien associé à la maladie du *greening* était capable de migrer dans l'écorce des branchettes en direction des organes foliaires. Le *pouvoir envahissant* des souches testées à la Réunion semble limité principalement au phloème de la columelle des fruits, puis dans une moindre mesure au phloème foliaire, plus rarement au phloème des organes lignifiés. En revanche le *degré de virulence* apparaît élevé, et pourrait être lié à la synthèse de toxines affectant le métabolisme de la plante hôte.

Les psylles semblent être des *vecteurs facultatifs*, puisque la maladie se transmet directement par la greffe, sans nécessité apparente pour l'agent infectieux de réaliser un cycle dans l'insecte. Ils possèdent des pièces buccales aptes à ponctionner la sève dans le phloème foliaire (voir chapitre 4), et peuvent ainsi devenir infectieux lors d'un repas d'acquisition. La vection de la maladie à d'autres plantes est dépendante de nombreux facteurs, encore mal élucidés, et qui conditionnent le taux de transmission.

Du point de vue de la stratégie de lutte antiparasitaire, il conviendra donc d'assurer une surveillance étroite du matériel végétal multiplié en pépinière puisque les risques de contamination par la greffe sont loin d'être négligeables. Par ailleurs, la détection des *foyers de psylles* revêt un aspect essentiel notamment au niveau des *plantes hôtes préférentielles* comme les limettiers, les citronniers ou *Murraya paniculata*, capables d'héberger à la fois les vecteurs et l'organisme bactérien associé à la maladie. Il faut noter cependant que des études plus complètes sont nécessaires pour expliciter le rôle de *Murraya paniculata* en tant qu'hôte de l'organisme du *greening*, puisque la concentration de la bactérie dans les tubes criblés de cette plante semble très faible.

CHAPITRE 2

RECHERCHE DE TROUBLES PHYSIOLOGIQUES ET/OU ANATOMIQUES ASSOCIES A LA MALADIE DU GREENING

Le *greening* entraîne un défaut de fonctionnement de l'appareil conducteur dans son rôle de distribution de la sève élaborée. La maladie qui affecte le phloème, provoque un ralentissement de la migration des assimilats vers les autres parties de la plante. Le développement des organes de reproduction est perturbé et le système d'enracinement s'atrophie. Des symptômes de carence en zinc ou en manganèse apparaissent sur les feuilles. Les limbes prennent une consistance épaisse et coriace, l'amidon s'accumule dans le parenchyme assimilateur au niveau de chloroplastes exagérément distendus. Le faisceau cribro-vasculaire de la feuille réagit par une intense activité cambiale qui aboutit à la formation d'un phloème secondaire de remplacement. Cette réaction est à l'origine du symptôme de subérification des nervures du côté de la face ventrale.

Dans ce qui suit, nous nous proposons d'analyser les états pathologiques associés au *greening* en retenant plus particulièrement deux aspects : les anomalies de la répartition des macro et micro-éléments d'une part, et les modifications anatomiques survenues au niveau du faisceau cribro-vasculaire d'autre part.

La technique d'échantillonnage retenue sera celle du doublet comparant des sujets sains ou malades placés dans des conditions en tous points identiques de sol, de climat de fumure, de variétés ou porte-greffe. Cette méthode sera appliquée à d'autres troubles de caractère infectieux ou simplement physiologique afin de comparer leurs effets à ceux induits par le greening. La démarche poursuivie sera celle de la recherche d'une spécificité éventuelle des troubles physiologiques et/ou anatomiques occasionnés par le greening.

COMPARAISON DES BILANS MINERAUX D'ORGANES SAINS OU MALADES

Les études de symptomatologie ont mis en évidence que les manifestations les plus courantes du *greening* prenaient l'aspect de carences minérales. Afin de vérifier si les types de symptômes observés correspondaient effectivement à des déficiences en éléments majeurs ou en oligo-éléments, plusieurs séries de diagnostics foliaires ont été conduites sur des échantillons prélevés en verger. Le but était de comparer les teneurs minérales de limbes échantillonnés sur des rameaux sains ou des rameaux malades d'un même arbre. Différents vergers de l'île, représentatifs d'un degré d'attaque de *greening*, ont été choisis.

En second lieu, il convenait d'échantillonner des plantes entières saines ou malades, organe par organe, en soumettant des parties aliquotes à un bilan minéral identique à celui pratiqué sur les feuilles. Les sujets observés devaient appartenir à des lignées SRA indemnes au départ de toute maladie de dégénérescence.

Les organes retenus pour l'échantillonnage étaient d'abord pesés à l'état frais, puis lavés à l'eau du robinet et desséchés dans une étuve à 60°C. Une fois le poids sec mesuré, l'échantillon était réduit en

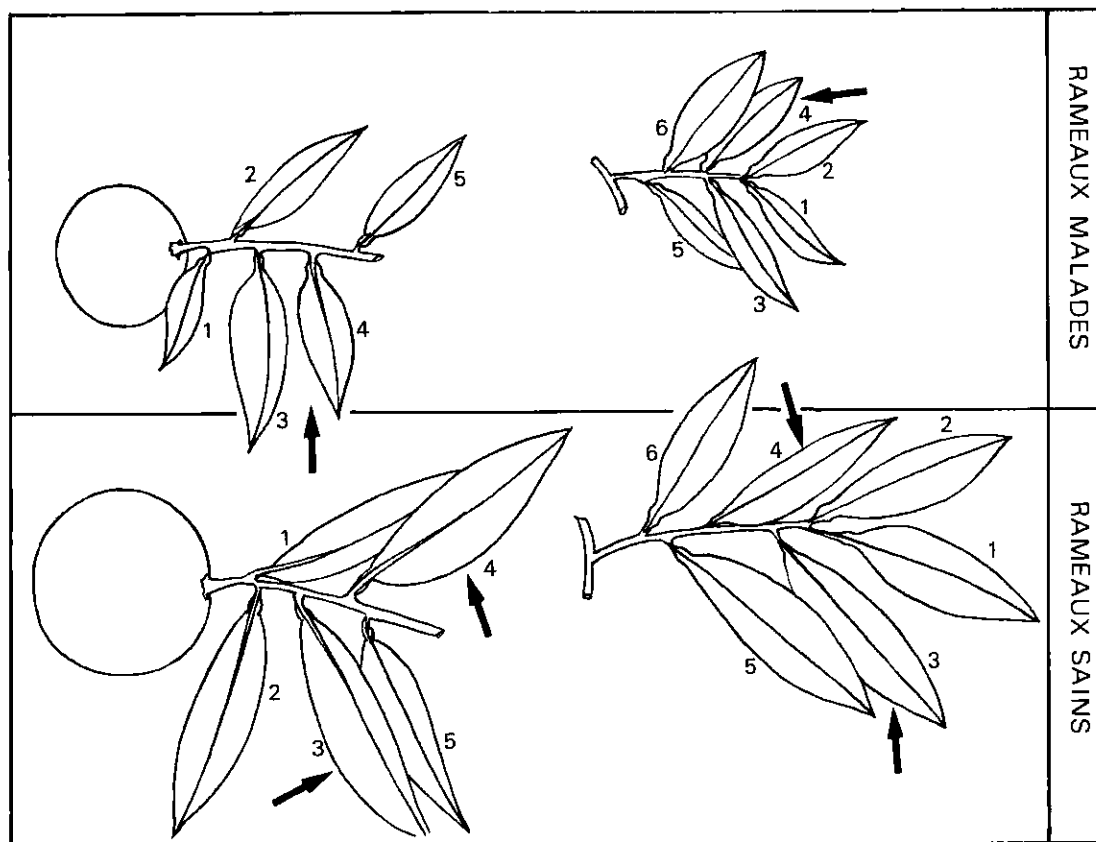


Figure 28 - Le diagnostic foliaire est effectué en retenant des rameaux fructifères ou non fructifères, sains ou malades, d'un même arbre. L'analyse minérale a porté sur les feuilles de rang 3 ou de rang 4 →

poudre par minéralisation sèche à 520°C sauf pour l'azote, le bore et le chlore qui ont fait l'objet d'une préparation spéciale des échantillons (digestion Kjeldahl ou colorimétrie).

Les analyses minérales ont porté sur les teneurs en cinq éléments majeurs : N, P, K, Ca, Mg, et sur les teneurs en sept oligo-éléments Na, Cl, Fe, Mn, Zn, Cu, B, Al.

TABLEAU 10 - Comparaison des teneurs en trois éléments minéraux sur feuilles apparemment saines ou feuilles atteintes de *greening* (Clémentiniers SRA 63 greffés sur citrange Troyer).

Verger	Nombre d'arbres échantillonnés	Note «greening» atteinte selon les arbres	Type de pousse échantillonnée	Etat sanitaire	en % de Pds sec		en ppm de Pds sec	
					Ca	Mn		
VITRY Petite-Ile 300 m	3	de 5 à 8 sur 40	fructifère	sain	3,35	52	34	
				malade	0,94	34	16	
AMPLIS Saint-Benoit 150 m	2	de 12 à 18 sur 40	fructifère	sain	3,13	28	31	
				malade	1,46	15	24	
BADRE Tampon 400 m	4	de 20 à 25 sur 40	fructifère	sain	4,70	36	29	
				malade	2,94	22	16	
Moyennes				sain	3,72	38	31	
				malade	1,70	23	16	
Pourcentage de baisse par rapport au témoin sain						-52	-39	-48

Diagnostics foliaires.

Des lots de 30 feuilles ont été prélevés séparément sur des parties saines et des parties malades d'un même arbre, trois mois environ après la nouaison, c'est-à-dire en décembre-janvier *dans les conditions climatiques de la Réunion. Le même type de prélèvement a été effectué aussi sur des arbres homologues sains ou malades.*

Lorsqu'il s'agissait d'arbres faiblement atteints de *greening*, la collecte des feuilles a eu lieu sur des rameaux fructifères. Dans le cas contraire, l'insuffisance de fruits nous a conduit à effectuer les prélèvements sur des rameaux non fructifères. Pour l'échantillonnage des feuilles nouvellement matures, l'âge des limbes était repéré, soit par l'ordre d'apparition derrière un fruit, soit par la position sur le rameau (fig. 28).

● Etudes effectuées sur le clémentinier SRA 83 dans plusieurs vergers de l'île.

Dans trois vergers différents de l'île, des groupes de clémentiniers SRA 83 greffés sur citrange Troyer et arrivés sensiblement au même degré d'attaque de *greening* ont été retenus. Les prélèvements de feuilles sur ces arbres ont été effectués en doublets. Les échantillons, d'aspect sain ou malade, ont été regroupés et analysés séparément, en cumulant les collectes d'arbres d'une même série.

Sur le tableau 10 ne sont reportés que les éléments minéraux ayant montré des différences importantes et systématiques entre pousses saines et pousses malades. On constate dans le cas de ces clémentiniers, que les secteurs de frondaison atteints de *greening*, portent des feuilles carencées en zinc, en manganèse et en calcium. Les baisses de teneurs enregistrées sont de l'ordre de 40 à 50 p. 100, et les niveaux foliaires sont inférieurs aux seuils de déficience définis par CHAPMAN (1960) ou SMITH (1966).

● Etudes effectuées sur oranger Valencia late (verger du Gol Etang Salé).

Un groupe de 9 orangers Valencia late de la lignée SRA 18, âgés de sept ans, et greffés sur citrange Troyer, a été choisi dans le verger du Gol qui a fait l'objet d'un essai d'antibiothérapie.

Les neuf orangers ont été regroupés en trois triplets de façon à pouvoir disposer de trois plants présentant un même degré d'attaque de *greening*. Dans chacun de ces triplets, un arbre a reçu une injection de 18 g de pénicilline, le second une injection de 6 g de Tétracycline, alors que le troisième, conservé comme témoin, a été injecté dans les mêmes conditions avec de l'eau (voir plus loin).

Un an après ce traitement, les arbres avaient favorablement réagi à l'application d'antibiotique, de telle sorte que pour les sujets G20, E9, F10, H9 et J9, les symptômes de *greening* avaient très fortement régressé. On trouvera dans le tableau 11 l'évolution des notations individuelles des symptômes de *greening* de septembre 1977 à septembre 1978.

A la fin du mois de décembre 1978, un échantillonnage foliaire a été effectué sur ces arbres. Le principe du prélèvement en *doublet* comparant rameaux sains et rameaux malades n'a pu être maintenu que sur les arbres témoins et sur l'arbre G19. En effet, pour les autres sujets, l'insuffisance de rameaux présentant des symptômes de *greening* a obligé à limiter les prélèvements de limbes aux rameaux apparemment sains.

L'analyse des feuilles présentant des symptômes de chlorose a systématiquement révélé une baisse notable des teneurs en calcium et en zinc (tableau 11). L'écart par rapport aux feuilles d'aspect sain allait souvent du simple au double.

Contrairement à ce qui avait été observé dans le précédent verger sur clémentinier, les niveaux de

Tableau 11 - Comparaison des teneurs en calcium et en zinc de feuilles d'orangers Valencia late SRA 18 atteintes ou non de symptômes de *greening*.

Traitements effectués sur les arbres	N° d'arbre	Note «greening» sur 40		Type de rameau échantillonné	Aspect des feuilles	Ca en % de M.S.	Zn ppm de M.S.
		sept. 77	sept. 78				
Témoin	H16	31	32	non fructifère	malade sain	1,70 2,10	25 32
Pénicilline	G20	27	4	fructifère	sain	3,11	34
Tétracycline	E9	27	9	fructifère	sain	3,20	37
Témoin	E15	9	16	fructifère	malade sain	1,85 3,27	14 44
Pénicilline	G19	12	10	fructifère	malade sain	2,70 3,22	26 43
Tétracycline	F10	15	2	fructifère	sain	4,02	50
Témoin	J7	20	32	non fructifère	malade sain	1,41 3,64	22 40
Pénicilline	H9	26	3	fructifère	sain	4,04	47
Tétracycline	J9	19	3	fructifère	sain	3,89	42

manganèse sont restés voisins du seuil de déficience (20 ppm) quels que soient les arbres ou le type de pousse. La teneur des feuilles a pu être ramenée ultérieurement à 60 ppm en combinant les traitements antibiotiques avec des pulvérisations foliaires d'une solution contenant 250 ppm de manganèse sous forme de sulfate.

Bilans totaux effectués sur des arbres adultes.

● Matériel et méthode.

Dans le verger ayant servi à l'essai d'antibiothérapie, deux orangers de la variété Pineapple appartenant à la sélection clonale SRA 141 greffés sur citrange Troyer, ont été retenus. Ces deux arbres âgés de 7 ans présentaient au moment de leur sélection le même degré d'attaque de *greening* avec une note voisine de 20/40.

Avant d'être arrachés pour un échantillonnage total, ces arbres ont été préparés pendant deux ans et demi. Ils ont tout d'abord subi une taille d'élagage éliminant les parties malades et reçu une application de 2 kg d'engrais complet 15-12-24.

L'un de ces orangers (D 4) a été soumis à une injection annuelle de 6 g de tétracycline pendant que l'autre (I 4) recevait 18 g de pénicilline, selon la procédure décrite précédemment. On trouvera dans le tableau 12, un descriptif chronologique des différentes interventions agronomiques ainsi que l'évolution des symptômes de *greening*, entre septembre 1977 et février 1980. Ici également les symptômes de *greening* sont évalués en notation allant de 0 à 40.

En 1977, les deux arbres I 4 et D 4, dont la circonférence du tronc était de 40 cm, présentaient des frondaisons de volume identique laissant supposer qu'ils avaient une masse globale assez voisine.

En septembre 1978, un an après le début des traitements, une reprise de végétation était enregis-

Tableau 12 - Descriptif chronologique des deux arbres retenus pour un bilan minéral total.

Chronologie	Arbre I 4 (témoin)	Arbre D 4 (Tétracycline)
Septembre 1977	Note greening 22/40	Note greening 18/40
Octobre 1977	Taille d'élagage + fumure minérale complète	Taille d'élagage + fumure minérale complète
Décembre 1977	Injection de Pénicilline	Injection de Tétracycline
Avril 1978	Récolte de 18 kg d'oranges	Récolte de 24 kg d'oranges
Septembre 1978	Note greening 10/40	Note greening 3/40
Octobre 1978	Injection Pénicilline + fumure minérale complète	Injection de Tétracycline + fumure minérale complète
Avril 1979	Récolte de 33 kg d'oranges	Récolte de 130 kg d'oranges
Septembre 1979	Note greening 31/40	Note greening 6/40
Octobre 1979	Injection Pénicilline + fumure minérale complète	Injection Tétracycline + fumure minérale complète
Février 1980	Récolte de 4 kg d'oranges Echantillonnage total	Récolte de 78 kg d'oranges Echantillonnage total

trée sur les deux arbres. Toutefois, c'est sur l'oranger D 4 ayant subi le traitement à la tétracycline qu'à été obtenue la rémission des symptômes la plus durable.

En septembre 1979, l'arbre «témoin» I 4 manifestait une brusque aggravation des symptômes de *greening*, avec une note passant de 10 à 31/40. L'effet curatif de la tétracycline était comparativement plus marqué puisque la note *greening* ne passait que de 3 à 6/40 sur l'arbre D 4.

Les figures 29 A et 29 B montrent l'aspect des deux arbres au moment de l'échantillonnage, juste après la récolte de 1980. La frondaison de l'arbre témoin I 4 très clairsemée laisse apparaître de nombreuses brindilles desséchées sur la partie gauche. Les limbes qui subsistent montrent un port érigé. Cet arbre n'a donné que 33 kg de fruits en 1979 et 4 kg en 1980. L'arbre D 4 qui au départ présentait un degré d'attaque de *greening* identique à celui de I 4, a reconstitué sa frondaison et fourni 130 kg de fruits en 1979 et 78 kg en 1980.

Au terme de cette préparation, on disposait donc pour l'échantillonnage de deux arbres homologues, l'un très atteint de *greening*, l'autre faiblement atteint. La figure 30 montre les deux arbres juste après l'arrachage. L'intégralité des différents organes a été regroupée en lots séparés. Les poids frais des feuilles, fruits, brindilles vertes, branchettes, branches sous-maîtresses, branches maîtresses, tronc, souche, grosses racines, petites racines, et chevelu ont été mesurés. Dans le cas de l'arbre I 4 très atteint, on a divisé en outre les branches en trois sous-groupes selon qu'elles étaient apparemment saines, atteintes ou très atteintes de *greening*.

Le poids *brut* de ces différentes parties étant connu, une fraction de 2 à 3 kg a été prélevée dans chaque lot pour procéder à des sous-échantillonnages : peau-pulpe-pépin pour les fruits, limbes-nervures pour les feuilles, et écorce-bois pour les parties ligneuses. Les poids frais de ces sous-échantillons ont été mesurés, avant de procéder à la dessiccation dans une étuve de 60°C jusqu'à poids constant.

On a ainsi obtenu les poids frais de chacun des arbres, organe par organe, et calculé les poids secs correspondants. Les échantillons de poids secs ont été ensuite réduits en poudre comme précédemment pour l'analyse minérale. Chaque organe ou partie d'organe a été analysé dans une répartition identique à celle utilisée pour le bilan pondéral. Les teneurs en cinq éléments majeurs et sept oligo-éléments ont été mesurées.

MARCHAL et LACOEUILHE (1969) ont appliqué ce type de bilan minéral à des mandariniers Wilking, pour étudier l'influence de l'état végétatif de l'arbre sur sa composition minérale. WUTSCHER et HARDESTY (1979), ont également utilisé cette méthode pour vérifier la répartition verticale des éléments minéraux dans l'oranger et identifier des *blocages* éventuels, à un niveau donné du végétal, en comparant arbres sains et arbres atteints de *blight*.

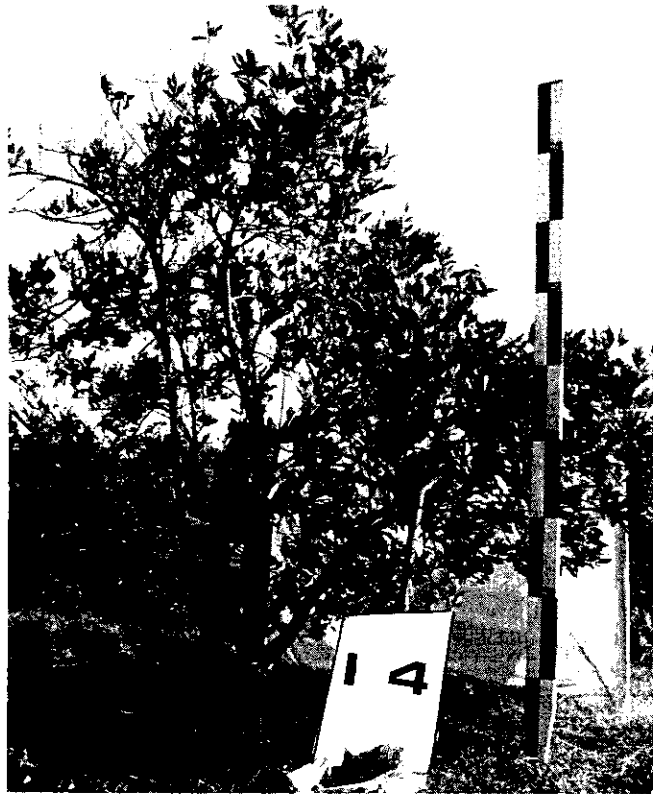


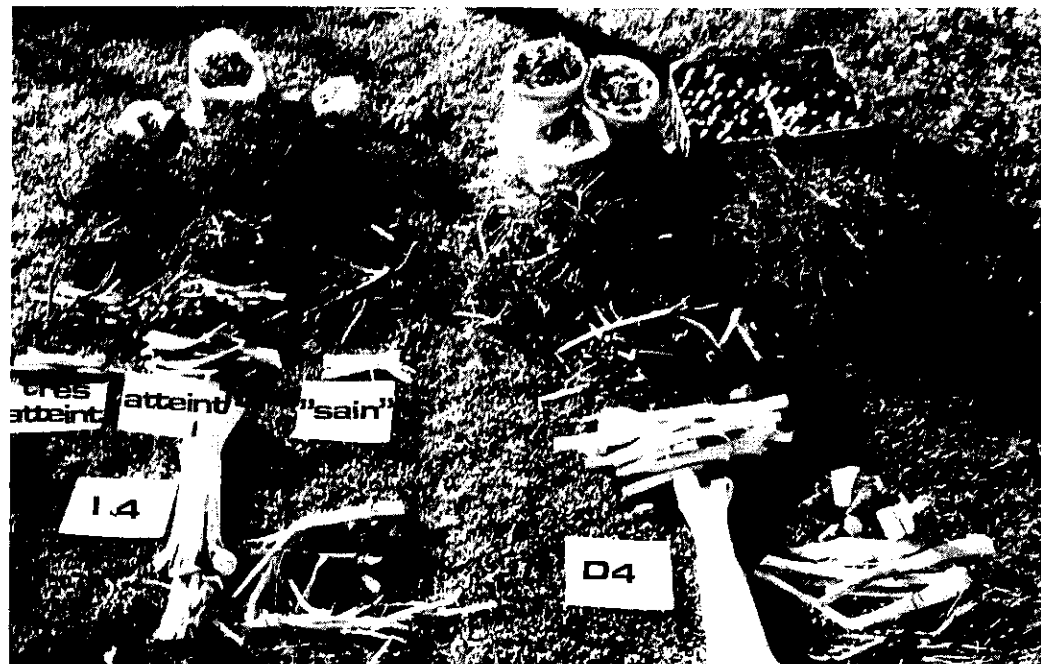
Figure 29 A - Arbre I4 fortement atteint de *greening* (noté 31/40) remarquer l'absence de production.



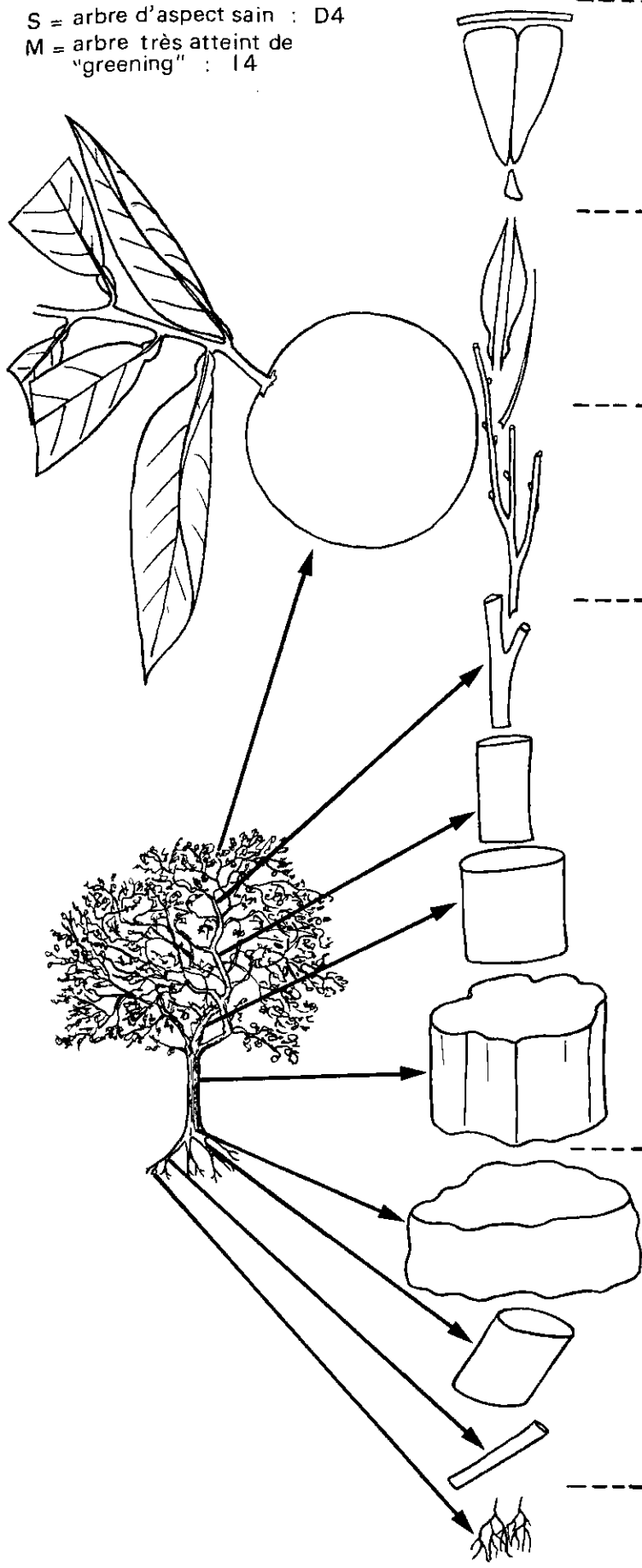
Figure 29 B - Arbre D4 homologue de I4 et maintenu en bon état sanitaire grâce à des injections de tétracycline.

(N.B.- Les clichés 29 et 30 ont été pris juste après la récolte de 1980).

Figure 30.- Les deux arbres I4 et D4 au moment de l'échantillonnage pour l'étude du bilan minéral.



S = arbre d'aspect sain : D4
M = arbre très atteint de "greening" : I4



POIDS (en kg) →				FRAIS	SEC	% MS
FRUITS		Peau	S M	28,20 1,80	7,11 0,54	25 30
		Pulpe	S M	43,10 2,50	6,40 0,67	15 33
		Pépins	S M	7,20 0,20	1,12 0,06	15 30
FEUILLES		Limbes	S M	15,40 3,38	5,40 1,31	35 40
		Nervures	S M	6,60 1,42	2,60 0,56	40 44
	Total	Feuilles	S M	22,00 4,78	8,00 1,87	37 42
BRINDILLES VERTES		Ecorce	S M	4,40 0,84	2,20 1,20	50 62
		Bois	S M	5,10 3,04	3,30 1,45	65 69
RAMURE ET TRONC	Branchettes	Ecorce	S M	3,60 1,81	1,90 0,91	55 52
		Bois	S M	8,40 3,19	4,90 2,07	59 65
	Branches s/maîtresses	Ecorce	S M	3,70 2,22	2,10 1,25	58 56
		Bois	S M	9,50 5,08	6,80 3,22	72 63
	Branches maîtresses	Ecorce	S M	8,60 1,70	0,91 0,85	57 50
		Bois	S M	11,20 6,00	7,39 3,70	66 62
Tronc	Ecorce	S M	1,50 0,60	0,70 0,31	47 52	
	Bois	S M	14,60 9,20	10,20 6,90	70 76	
SOUCHES ET RACINES	Souche	Ecorce	S M	0,20 0,20	0,08 0,08	40 40
		Bois	S M	4,00 2,00	3,12 1,48	78 74
	Grosses racines	Ecorce	S M	0,60 0,38	0,30 0,19	50 50
		Bois	S M	4,40 3,62	3,00 2,47	69 68
	Petites racines	Ecorce	S M	0,20 0,15	0,09 0,07	48 47
		Bois	S M	0,80 0,95	0,46 0,57	58 61
CHEVELU		S M	0,47 0,30	0,23 0,15	48 50	
	TOTAL GENERAL →			S M	174,77 51,73	70,01 30,51

● Résultats du bilan de poids frais et de poids sec.

Les poids frais totaux enregistrés ont été de 174 kg pour l'arbre D 4, dont 78 kg de fruits, et 51 kg pour l'arbre I 4 dont 4 kg de fruits seulement.

Le calcul des poids secs totaux a donné respectivement 70 kg pour le sujet sain, soit une teneur en matière sèche globale de 41 p. 100, et 30 kg pour le sujet très atteint soit une teneur en matière sèche globale de 58 p. 100.

Les résultats complets des échantillonnages regroupés dans le tableau 13 font apparaître que cette différence de matière sèche entre les deux arbres n'est pas du même ordre selon les catégories d'organes. Ainsi, pour les fruits, l'analyse de la pulpe donne une valeur de 15 p. 100 pour l'arbre D 4 contre 33 p. 100 pour l'arbre I 4, ce qui représente une teneur en jus bien supérieure dans le premier cas.

En ce qui concerne le feuillage, la teneur en matière sèche de l'oranger D 4 est de 37 p. 100 contre 42 p. 100 dans le cas de l'arbre I 4. Le poids total du feuillage est environ 5 fois plus élevé pour l'oranger D 4.

L'état de dessèchement de l'arbre malade par rapport à l'arbre sain se confirme au niveau des brindilles vertes, mais s'atténue dès que l'on atteint la ramure et le tronc.

L'arbre I 4 au moment de son échantillonnage présentait quelques branches peu atteintes de *greening* G⁺, d'autres moyennement atteintes G⁺⁺ ou très atteintes G⁺⁺⁺. La teneur en matière sèche de l'écorce des branchettes et des brindilles vertes augmente considérablement avec l'aggravation des symptômes, (tableau 14) alors qu'elle reste stable au niveau des branches maîtresses.

Une des raisons pour laquelle les teneurs en matière sèche des trois types d'organes G⁺, G⁺⁺ et G⁺⁺⁺ ont été mesurée séparément, vient du fait que SCHWARZ (1968 B) avait signalé la présence d'un *marqueur fluorescent* dans l'écorce des branchettes atteintes de *greening*. Ce *marqueur* aurait pu se présenter en plus forte concentration dans les rameaux de type G⁺⁺⁺ que dans ceux de type G⁺. Toutefois, en ce qui concerne l'arbre I 4, la recherche du *marqueur* dans les écorces de brindilles ou de branchettes n'a pas toujours donné des résultats conformes à la gravité des symptômes observés.

Les résultats obtenus dans les vergers réunionnais avec la technique de SCHWARZ seront discutés plus loin.

● Résultats du bilan minéral total.

Pour ce qui concerne l'arbre malade, seules les valeurs moyennes collectées sur les différentes

Tableau 14 - Teneurs en matière sèche de l'écorce de rameaux d'orangers. Comparaisons entre rameaux peu atteints ou très atteints de *greening*.

Types d'organes échantillonnés	Oranger «sain» D 4	Oranger malade I 4		
		Partie G ⁺	Partie G ⁺⁺	Partie G ⁺⁺⁺
Branches maîtresses	47	50	50	50
Branches sous-maîtresses	57	49	57	63
Branchettes	55	47	56	63
Brindilles	50	59	77	

Les teneurs en matière sèche sont exprimées en p. 100.

G⁺ : branches apparemment saines

G⁺⁺ : branches atteintes de «greening»

G⁺⁺⁺ : branches très atteintes de «greening».

parties de la charpente et réparties en G^+ , G^{++} et G^{+++} ont été données. En effet la similitude des résultats d'analyse, selon ces différentes catégories, ne justifiait pas une présentation détaillée.

Les premières différences qui apparaissent entre les deux classes d'organes sains (S) et malades (M), concernent les limbes. Sur l'arbre très atteint I 4, on enregistre des teneurs en calcium, fer, manganèse et zinc très nettement inférieures aux seuils de déficiences définis par CHAPMAN (1960) ou SMITH (1966). A l'inverse, la quantité de sodium qui s'est accumulée dans les feuilles de l'arbre malade est proche de la phytotoxicité, alors que cet élément affiche des valeurs normales dans les limbes de l'arbre apparemment sain.

Par ailleurs l'arbre malade accumule d'importantes quantités d'oligo-éléments à certains niveaux de la charpente ou de l'appareil souterrain. Il en est ainsi du manganèse dans le bois des brindilles vertes, dans l'écorce des branches sous-maîtresses et de la souche (tableau 15).

En ce qui concerne le fer et l'aluminium, des accumulations apparaissent sur les écorces de la souche et des racines du plant atteint de *greening*.

Par contre on ne constate pas d'accumulation de zinc dans le tronc.

Etude effectuée sur de jeunes orangers Mme Vinous cultivés en serre et inoculés par greffe de feuille.

Des orangers Mme Vinous cultivés dans les conditions décrites précédemment ont fait l'objet d'analyses minérales du même type que celles effectuées sur les arbres adultes.

Les poudres des six orangers dont les poids frais et poids secs sont présentés dans les tableaux 8 et 9 ont été analysées, en regroupant séparément l'échantillon constitué de six plants sains et celui constitué de six plants infectés par greffe d'inoculation.

On rappellera que les organes infectés proviennent de plants cultivés dans des conditions identiques à celles de leurs homologues sains, jusqu'à ce qu'ils aient atteint une hauteur de 50 cm. Ils ont alors été inoculés et leur échantillonnage est intervenu 22 mois après l'inoculation, ou 10 mois seulement après que les symptômes foliaires se soient généralisés à l'ensemble des limbes. Ce court laps de temps explique peut-être les faibles différences enregistrées entre plants sains et plants malades. Sur le tableau 16, ne figurent que les teneurs en éléments minéraux ayant montré les différences les plus importantes entre plants sains et plants malades. La totalité des autres macro ou micro-éléments affichait des valeurs sensiblement identiques dans les deux cas.

Si l'on excepte le calcium, on ne constate pas d'importantes différences entre feuilles saines et feuilles malades. Autrement dit, les symptômes foliaires typiques de la carence en zinc (figure 17-2) ne se sont pas traduits ici par une baisse de teneur en cet élément. Il est vrai qu'il s'agissait d'une nouvelle pousse émise peu de temps après l'inoculation par greffe de feuille. Le fer et l'aluminium montrent par contre des signes d'accumulation dans les feuilles.

Pour les autres organes, les écarts entre plants sains et plants malades sont très variables et le faible nombre de répétitions ne permet pas d'interpréter correctement les résultats.

Immobilisations et exportations d'éléments minéraux dans le cas d'un oranger sain ou atteint de *greening*.

Les études qui précèdent ont fait intervenir l'analyse des teneurs en éléments minéraux Tm (tableau 15) et le calcul des poids secs Ps des différentes composantes de l'arbre (tableau 13). Ces données permettent de calculer le produit $Tm \times Ps = C$

Tableau 15 - Teneurs en éléments minéraux de deux orangers Pineapple SRA 141 greffés sur citrange Troyer.

	Eléments majeurs en p. 100 de poids sec					Oligo-éléments en ppm de poids sec									
		N	P	K	Ca	Mg	Na	Cl	Fe	Mn	Zn	Cu	B	Al	
Fruits	Peau	S	1,093	0,117	1,114	0,696	0,125	250	236	77	6	11	15	19	46
		M	1,578	0,134	1,398	0,626	0,136	580	167	52	6	9	5	21	54
	Pulpe	S	1,149	0,162	1,237	0,417	0,136	230	620	177	5	20	5	14	86
		M	1,744	0,216	1,696	0,707	0,200	410	700	270	14	9	4	18	230
	Pépin	S	2,320	0,362	2,111	0,469	0,247	390	600	260	16	54	14	22	202
		M	2,498	0,370	2,050	0,518	0,306	300	520	102	11	17	9	21	93
Feuilles	Limbes	S	2,782	0,169	1,265	3,485	0,516	1 210	2 020	119	16	17	7	56	34
		M	2,611	0,197	1,488	1,421	0,384	1 420	3 330	31	9	6	14	44	26
	Nervures	S	1,891	0,180	1,587	2,761	0,495	700	2 500	63	10	18	10	28	39
		M	2,596	0,222	1,848	1,404	0,356	1 970	4 320	19	19	7	12	30	54
Brindilles vertes	Brindilles vertes écorce	S	1,395	0,158	1,247	2,232	0,374	330	2 890	254	13	25	34	25	169
		M	1,942	0,124	0,735	2,093	0,332	680	3 170	221	10	20	21	24	254
	Brindilles vertes bois	S	0,689	0,158	0,553	0,925	0,103	310	1 150	249	8	12	12	9	195
		M	0,758	0,084	0,207	1'038	0,171	480	1 160	9	76	8	10	10	61
Ramure et Tronc	Branchettes écorces	S	1,216	0,076	0,759	2,131	0,259	310	1 380	163	9	20	24	31	87
		M	1,715	0,115	0,562	2,715	0,335	390	2 030	226	10	24	38	27	170
	Branchettes Bois	S	0,361	0,151	0,294	0,331	0,041	330	470	49	4	7	5	5	43
		M	0,543	0,113	0,267	0,646	0,075	290	590	132	3	9	9	8	110
	Branches/ Maftresse écorce	S	1,226	0,070	0,730	2'919	0,235	330	1 220	221	13	12	24	30	149
		M	1,534	0,078	0,591	2,162	0,339	280	1 940	132	160	10	19	49	103
	Branches/ Maftresse bois	S	0,544	0,224	0,442	0,572	0,066	270	410	55	3	3	8	6	49
		M	0,568	0,101	0,214	0,314	0,041	270	350	132	6	1	11	6	96
	Branches Maftresse écorce	S	1,228	0,061	0,707	3,569	0,158	340	960	149	10	14	36	31	105
		M	1,239	0,049	0,521	3,739	0,367	380	216	152	10	16	38	28	104
	Branches Maftresse Bois	S	0,403	0,114	0,281	0,503	0,061	420	810	224	5	7	9	6	101
		M	0,387	0,152	0,224	0,595	0,068	260	580	177	4	5	3	5	55
	Tronc écorce	S	1,806	0,062	0,701	4,099	0,149	450	910	1 240	35	4	1	30	724
		M	1,228	0,061	0,707	3,569	0,158	320	150	77	4	13	4	5	54
	Tronc Bois	S	0,467	0,060	0,278	0,534	0,090	350	730	354	6	2	2	6	200
		M	0,403	0,114	0,281	0,503	0,061	320	150	77	4	3	4	5	54
Racines	Souche écorce	S	1,894	0,074	0,831	3,367	0,160	590	1 510	1 776	79	19	9	45	2 413
		M	1,839	0,062	0,735	3,404	0,289	730	1 190	11 280	185	32	20	97	7 625
	Souche bois	S	0,329	0,043	0,191	0,344	0,032	260	420	673	3	42	68	8	309
		M	0,554	0,048	0,238	0,534	0,090	350	730	354	6	42	2	6	200
	Grosses racines écorces	S	2,168	0,090	0,759	3,839	0,136	480	850	1 639	65	18	68	36	1 501
		M	1,809	0,070	0,842	3,098	0,232	630	1 400	3 842	139	30	64	48	3 620
	Grosses racines bois	S	0,434	0,053	0,219	0,330	0,054	350	700	1 080	20	53	7	7	515
		M	0,329	0,045	0,175	0,187	0,033	240	280	265	9	14	7	6	218
	Petites racines écorce	S	1,511	0,078	1,176	1,888	0,176	730	4 140	2 190	100	35	9	38	2 395
		M	1,873	0,067	1,064	2,140	0,236	750	2 410	4 669	54	35	10	45	3 783
Petites racines bois	S	0,687	0,088	0,391	0,334	0,046	320	1 400	287	4	14	5	9	257	
	M	0,572	0,121	0,264	0,562	0,067	280	610	110	6	17	6	8	139	
Chevelu	S	1,574	0,211	1,985	1,175	0,568	1 090	9 590	18 717	61	82	12	59	7 829	
	M	1,054	0,154	0 911	0,642	1,040	1 240	3 070	26 154	52	125	9	2	7 577	

S : arbre d'aspect sain : D 4 M : arbre très atteint de greening : I 4

C représente pour chaque catégorie d'organe le contenu d'un élément minéral donné. La somme des contenus des différents organes pour un élément donné, constitue la masse de cet élément, immobilisée par l'arbre et/ou accumulée dans la récolte. Elle correspond à la quantité d'engrais que

Tableau 16 - Teneurs en éléments minéraux de jeunes orangers Mme Vinous sains ou inoculés avec une souche de greening.

		En p. 100 de matière sèche		En ppm de matière sèche			
		Ca		Fe	Zn	Mn	Al
Feuilles	Pl. sains	2,260		216	61	21	109
	Pl. malades	1,27		281	76	19	231
Brindilles vertes	Pl. sains	1,00		309	42	14	85
	Pl. malades	0,60		153	37	11	92
Tronc	Pl. sains	1,31		223	77	12	137
	Pl. malades	1,23		140		32	109
Pivot	Pl. sains	0,93		805	59	27	406
	Pl. malades	0,59		512	95	24	242
Chevelu	Pl. sains	0,81		7 735	643	432	695
	Pl. malades	0,74		9 335	1 090	464	934

l'agriculteur doit apporter dans le verger pour éviter une diminution des réserves minérales du sol.

Les valeurs de C ont été calculées dans le cas des arbres D 4 et I 4 étudiés à la rubrique «Bilans totaux effectués sur des arbres adultes», D 4 est un oranger entré en production d'aspect sain, I 4 son homologue atteint de *greening*. Les valeurs obtenues pour les cinq éléments majeurs et les huit micro-éléments apparaissent dans le tableau 17. Les quantités exportées par les fruits correspondent aux récoltes de 1978, 1979 et 1980 qui apparaissent dans le tableau 12.

Par rapport à l'arbre D 4, l'arbre malade I 4 utilise 2,6 fois moins d'équivalent sulfate d'ammoniac, 3,5 fois moins d'équivalent phosphate tricalcique, 2,8 fois moins d'équivalent sulfate de potasse ou chaux éteinte, et 2,9 fois moins d'équivalent magnésie.

Tableau 17 - Eléments minéraux immobilisés par l'arbre et/ou exportés par les récoltes (trois années successives de production). Comparaison entre un arbre apparemment sain et un arbre sévèrement atteint de *greening*.

	Total immobilisé		Quantités exportées en g d'éléments purs (récoltes)						Quantités immobilisées et exportées par les récoltes		Equivalent engrais des quantités immobilisées et exportées (en g)			
			1978		1979		1980							
	Arbre sain D 4	Arbre malade I 4	Arbre sain D 4	Arbre malade I 4	Arbre sain D 4	Arbre malade I 4	Arbre sain D 4	Arbre malade I 4	Arbre sain D 4	Arbre malade I 4	Sous forme de		Arbre sain D 4	Arbre malade I 4
N	498	226	53	40	286	95	176	22	1013	383	Sulfate d'ammoniacque 20 p. 100		5060	1900
P	66	30	16	12	84	10	22	2	188	54	Phosphate tricalcique 46 p. 100 P ₂ O ₅		940	270
K	310	113	54	40	291	84	181	20	836	257	Sulfate de potasse 48 p. 100 K ₂ O		1530	470
Ca	682	260	24	18	128	36	81	8	915	322	Chaux éteinte CO ₃ Ca		1700	600
Mg	87	36	6	4	32	8	20	4	176	53	Magnésie MgO		290	88
Na	24,2	13,1	1,0	0,7	5,8	2,9	3,7	0,7	34,7	17,4				
Cl	59,9	25,3	1,8	1,3	10,4	2,4	6,3	0,6	78,4	29,6				
Fe	18,1	6,7	0,5	0,3	3,0	0,8	1,9	0,3	23,5	8,1	Sulfate de fer 7H ₂ O		109	38
Mn	0,6	0,7	-	-	0,2	-	0,1	-	0,9	0,7	Sulfate de Mn 4H ₂ O		3,6	2,8
Zn	0,8	0,3	-	-	0,4	-	0,2	-	1,4	0,3	Sulfate de Zn 7H ₂ O		6,4	1,4
Cu	0,7	0,2	-	-	0,2	-	0,1	-	1,0	0,2	Sulfate de cuivre 7H ₂ O		4,0	0,8
Bo	1,1	0,4	-	-	0,3	-	0,2	-	1,6	0,4	Borax 11 p. 100 B		14	3,5
Al	12	5,5	-	-	1,8	0,7	1,1	0,1	14,9	6,3				

Le *greening* occasionne non seulement une baisse de productivité, mais il réduit aussi la capacité de mobilisation des éléments minéraux mis à la disposition de l'arbre. La présence de sujets malades dans un verger constitue donc un véritable fardeau pour le producteur : les sujets atteints ne peuvent aucunement rentabiliser les frais d'entretien.

Discussion.

Sur les secteurs de couronne infectés, le *greening* entraîne une élévation de la teneur en matière sèche des feuilles, des fruits ou de l'écorce des brindilles. La méthode du diagnostic foliaire a par ailleurs mis en évidence l'*effet sectoriel* des troubles de la nutrition minérale, recoupant celui de la symptomatologie.

Avant que la frondaison ne parvienne au stade avancé de la chute des feuilles, les teneurs dans le limbe accusent une baisse notable du taux de calcium, de zinc, et, dans une moindre mesure de manganèse, alors que le taux de potassium ou de phosphore a tendance à augmenter. Sur les jeunes semis infectés par greffe d'inoculation seule une baisse du taux de calcium a pu être constatée dans les limbes. TIRTAWIDJADJA *et al.* (1964) en Indonésie, puis plus tard KOEN et LANGENNEGER (1978) en Afrique du Sud, ont eux aussi observé une augmentation de la teneur en potassium dans les limbes, accompagnées d'une baisse de calcium, sur des arbres adultes atteints de *greening* par rapport à des sujets sains. Toutefois ces auteurs n'ont pas enregistré une baisse du taux de calcium aussi accusée.

A l'île de la Réunion, nous avons noté que le *greening* peut également entraîner une élévation de la teneur en sodium dans les feuilles et les brindilles vertes. Cette anomalie traduit un manque d'absorption sélective des ions par suite des dégâts occasionnés au niveau du chevelu radiculaire. ANDERSON et CALVERT (1970) puis BURNETT *et al.* (1982) ont fait état d'un phénomène identique sur des orangers atteints d'*asphyxie* ou de *blight*.

Mais en définitive tous ces désordres physiologiques semblent résulter d'effets secondaires. Ils ne sont en tout cas pas spécifiques de la maladie du *greening* au point de pouvoir servir d'éléments de diagnostic.

Le seul trouble utilisé comme tel par SCHWARZ (1968 a) et SCHWARZ (1978) est l'accumulation d'une substance fluorescente dans l'écorce des branches et l'albédo des fruits atteints de *greening*. Ce *marqueur* a été identifié ultérieurement par FELDMAN et HANKS (1969), il s'agit du *gentysoyl-glucose* lequel ne s'est pas trouvé être spécifiquement associé au *greening* puisqu'on peut l'isoler également sur les arbres atteints d'autres affections comme l'*exocortis* SCHWARZ (1968 b) ou même la *Tristeza* FELDMAN et HANKS (1969), FERREIRA DE MELLO *et al.* (1974). A l'île de la Réunion, plus de 250 tests ont été effectués en utilisant la technique de SCHWARZ, dont environ 180 sur les arbres du verger du Gol. Dans l'essai d'antibiothérapie, nous avons systématiquement comparé des arbres témoins atteints de *greening* et des arbres traités soit à la pénicilline ou à la tétracycline. L'opération a été renouvelée à différentes époques de l'année : (période de poussée végétative printanière, période de nouaison, période de repos physiologique), et les prélèvements ont été effectués sur des brindilles vertes, ou des branchettes d'âge différent (1 an, 2 ans, 3 ans). Les résultats de ces tests ont été bien souvent en contradiction avec les symptômes observés, puisque des branchettes classées G⁺⁺⁺ ont donné des résultats négatifs, et que d'autres branchettes apparemment saines ont réagi positivement. Le test du *gentysoyl-glucose* ne nous est pas apparu, dans nos conditions, suffisamment conforme à la symptomatologie pour être retenu comme moyen de dépistage du *greening*. Il n'en reste pas moins que la technique de SCHWARZ a été utilisée fréquemment pour la surveillance des pépinières sud-africaines. Cette technique a d'ailleurs été modifiée par BURGER *et al.* (1984) qui ont choisi comme *marqueur*, l'*acide gentisique* ou fraction aglycone du *gentysoyl-glucose*, obtenu par hydrolyse des échantillons d'écorce dans l'acide chlorhydrique. Cette modification semblerait donner des résultats plus fiables.

EN DEFINITIVE, les seuls troubles physiologiques quantifiables et associés de façon régulière mais non exclusive, à la maladie du *greening*, sont la baisse de teneur en calcium, en zinc, éventuel-

lement en manganèse, dans les feuilles d'orangers ou de mandariniers contaminées. Ces troubles de la nutrition minérale ne sont très probablement que des manifestations secondaires de la maladie. En effet ils peuvent être également occasionnés, bien qu'à un moindre degré, par d'autres affections comme le *stubborn* ou le *blight*.

Comparaison des teneurs en éléments minéraux d'arbres atteints de *greening* ou d'arbres atteints de *blight*.

La symptomatologie du *blight* présente en début de manifestation quelques analogies avec celle du *greening*. Pour ce qui concerne les troubles de la nutrition minérale l'une et l'autre maladies sont à l'origine de carences en zinc ou en manganèse pouvant affecter tout ou partie de la frondaison. Cependant une caractéristique considérée comme propre au *blight* est l'accumulation de zinc dans l'aubier du tronc. Cette particularité a été tout d'abord signalée en Floride par SMITH (1974) puis ultérieurement en Argentine, au Brésil, en Uruguay et à Cuba par WUTSCHER *et al.* (1977) et WUTSCHER *et al.* (1983), enfin en Afrique du Sud, et au Swaziland par GRACA et VAN VUUREN (1979) puis LEE *et al.* (1984). Ces deux derniers pays sont les premiers à avoir été reconnus atteints de *greening* et de *blight* à la fois.

Plus récemment, WILLIAMS et ALBRIGO (1984) ont montré que l'accumulation de zinc dans l'aubier des arbres atteints de *blight* était généralement accompagnée d'une légère augmentation de l'azote, du potassium et du manganèse alors que la teneur en bore avait tendance à diminuer.

A l'île de la Réunion, aucun symptôme de *blight* n'a pu être identifié jusqu'ici. Il a paru néanmoins opportun de vérifier les teneurs minérales de l'aubier sur deux séries d'arbres d'âge différent.

● Matériel et méthode.

Plusieurs groupes d'arbres atteints de *greening* à des degrés divers, ont été retenus en vue d'effectuer des analyses de teneur en éléments minéraux dans l'aubier. Parallèlement des sujets homologues d'aspect sain ont été échantillonnés dans les mêmes conditions. A la Réunion quatre groupes de plantes ont été choisis : des tangors Ortanique SRA 18 entrant dans leur quatrième année de plantation, des orangers Valencia late âgés de 10 ans puis des clémentiniers et orangers Thompson Navel (originaires d'Afrique du Nord) âgés de 18 ans. En outre des orangers de semis ont également été échantillonnés dans l'Est de Java (tableau 18).

Pour prélever l'aubier on a retiré une fenêtre d'écorce, puis collecté des copeaux sur 1 cm de profondeur à l'aide d'une tarière de fabrication identique à celle utilisée en Floride. Les copeaux ont été prélevés à environ 8 cm au-dessus de la ligne de greffe sur deux ou trois plages autour du tronc de façon à obtenir 8 à 10 grammes de copeaux frais. Les teneurs en K, Zn et Mn ont été ensuite mesurées par absorption atomique sur les cendres obtenues après passage des copeaux au four à 550°C. L'azote a été analysé après digestion au Kjeldahl, et le bore par la méthode colorimétrique azométhine - H.

● Résultats et discussion.

Même dans le cas d'arbres très atteints de *greening*, aucune accumulation anormale de zinc n'a pu être observée dans l'aubier, et les teneurs en manganèse n'ont pas été plus élevées que celles de l'aubier d'arbres témoins sains du même âge et cultivés dans les mêmes conditions (tableau 18). Le niveau de bore s'est maintenu le plus souvent au-dessus de 15 ppm. Par comparaison les résultats d'analyses de deux arbres atteints de *blight* en Floride et de trois autres sujets en Afrique du Sud montrent des concentrations en zinc 7 à 8 fois plus élevées. On note également dans le cas de ces arbres une augmentation de la teneur en azote et en manganèse, alors que le bore dépasse à peine 10 ppm. Contrairement au *blight*, le *greening* n'entraîne pas de modifications sensibles des teneurs

Tableau 18 - Teneur en zinc de l'aubier au niveau du tronc d'arbres sains et d'arbres atteints de *greening* ou de *blight*.

	N° arbre	Note greening	Zinc µg/g	N p.100	K p. 100	Mn µg/g	B µg/g
GREENING REUNION							
1. Tangors Ortanique SRA 110 greffés sur Citrange Carrizo âgés de 4 ans	R6A5	0/40	4,3	0,4	0,13	1,8	23
	R2A5	0/40	3,1	0,4	0,13	2,5	20
	R2A7	0/40	2,3	0,4	0,10	1,8	15
	R1A3	30/40	1,4	0,4	0,28	1,2	19
	R1A6	28/40	2,1	0,4	0,18	1,2	19
	R1A9	32/40	1,2	0,4	0,13	0,6	15
2. Orangers Valencia late greffés sur Citrange SRA18 Carrizo âgés de 10 ans	A1	0/40	1,0	0,3	0,10	2,0	17
	D11	25/40	2,4	0,4	0,28	1,2	18
	B14	25/40	2,7	0,4	0,21	2,5	17
	J13	32/40	2,2	0,4	0,12	-	-
	N21	28/40	2,3	-	-	-	-
3. Clémentiniers/Rough lemon âgés de 18 ans	R11A8	0/40	4,0	0,35	0,13	6,0	-
	R8A7	0/40	4,0	0,38	0,13	4,0	-
	R12A8	35/40	3,0	0,41	0,14	2,0	-
	R6A9	20/40	5,0	0,35	0,17	2,0	-
	R11A8	20/40	8,0	0,41	0,14	6,0	-
4. Thompson/Rough lemon âgés de 18 ans	R2A3	0/40	2,0	0,35	0,11	2,0	-
	R1A3	20/40	6,0	0,33	0,10	3,0	-
	R1A2	25/40	7,0	0,35	0,10	7,0	-
	R1A1	30/40	5,0	-	0,12	6,0	-
GREENING INDONESIE Orangers de 8 ans	1	0/40	1,2	-	0,10	-	-
	2	15/40	2,2	-	0,16	-	-
	3	20/40	1,7	-	0,14	-	-
	4	30/40	4,7	-	0,24	-	-
BLIGHT AFRIQUE DU SUD (LEE <i>et al.</i> , 1984 Valencia late/Rough lemon Nord Transval		Note blight					
	1	1,8/4	16,3	-	-	-	-
	2	1,6/4	20,1	-	-	-	-
3	2,2/4	17,0	-	-	-	-	
BLIGHT FLORIDE (WUTSCHER)	1	3/4	25,0	0,54	0,27	6,2	12
	2	3/4	17,0	0,47	0,21	5,0	11

en N, K, Zn, Mn et B dans l'aubier. Il ne peut donc être confondu, sur ce plan au moins, avec le *blight*. Dans les pays contaminés par le *greening*, la présence éventuelle du *blight* doit pouvoir être détectée par l'analyse de certains éléments minéraux dans l'aubier, (principalement le zinc) et par l'apparition de symptômes foliaires spécifiques (figure 27 B).

DESORDRES ANATOMIQUES AU NIVEAU DES FAISCEAUX CRIBRO-VASCULAIRES

TIRTAWIDJADJA *et al.* (1964) en Indonésie puis SCHNEIDER (1968) en Afrique du Sud, ont les premiers fait état d'une désorganisation du phloème dans les nervures de feuilles d'orangers atteints de *greening*. En Indonésie le *greening* a d'ailleurs été désigné sous le terme de *Citrus vein phloem degeneration* : *CVPD disease*. Plusieurs auteurs avaient pensé diagnostiquer le *greening* par observation des faisceaux cribro vasculaires en microscopie photonique (TIRTAWIDJADJA *et al.*, 1963, SCHWARZ *et al.*, 1973).

Cependant d'autres causes de nature physiologique ou infectieuse peuvent entraîner également des perturbations du phloème. Les plus importantes sont par exemple la *tristeza* ou la *carence en bore*.

Nous avons effectué une étude comparative des syndromes induits sur feuilles d'oranger soit par

le *greening* soit par la carence physiologique en bore. L'observation a en outre été menée sur les feuilles d'un limettier de Tahiti contaminé par une souche sévère de *tristeza*.

Matériel et méthode.

Pour l'étude du *greening* nous avons échantillonné deux orangers Mme Vinous cultivés sous cage d'isolement selon la technique décrite précédemment. L'un de ces orangers inoculé par greffe de feuille était atteint de *greening*, l'autre servait de témoin sain. Sur ces deux plants, une feuille adulte âgée de 4 mois a été prélevée. Celle issue du plant sain avait un aspect normal vert-foncé, l'autre décolorée, présentait un symptôme de *taches vertes sur fond jaune* (figure 17.1). Une troisième feuille âgée de 12 mois et montrant un symptôme de subérification des nervures a été observée.

Enfin pour l'étude de la carence en bore, nous avons utilisé une feuille d'oranger Hamlin issue d'un plant cultivé en vase de végétation et carencé en bore. Cette feuille nous a été fournie par WUTSCHER (USDA, Orlando). L'analyse minérale effectuée sur des feuilles de ce même plant avait révélé une teneur en bore totale de 9 ppm ce qui est nettement inférieur au seuil de déficience défini par CHAPMAN (1968).

Le prélèvement des tissus foliaires a été effectué sur la nervure centrale ou sur une nervure latérale (figure 31).

Deux séries de coupes ont été effectuées :

- Tout d'abord des coupes transversales extemporanées ont été exécutées dans la moelle de sureau à l'aide d'une lame de rasoir ; ces coupes ont été vidées de leur contenu par trempage dans l'eau de Javel 6° chlorés pendant 5 minutes, puis lavées à l'eau du robinet et colorées au carmino-vert (mélange de carmin aluné et de vert d'iode). La coloration différentielle ainsi obtenue permet de distinguer clairement les tissus lignifiés ou subérifiés, colorés en vert, des tissus non lignifiés colorés en rose (figure 32 A et B).

- Par ailleurs, d'autres segments de nervure ont été fixés dans le glutaraldéhyde postosmié, déshydratés progressivement jusqu'à l'alcool absolu puis inclus dans l'araldite. Ces échantillons ont été ensuite débités en coupes semi-fines transversales à l'aide d'un ultra-microtome, puis colorés au paragon et observés en microscopie optique. La procédure suivie pour la préparation de ces échantillons est celle décrite par SALLE (1981) pour l'étude de *Viscum album* L.

Résultats.

Dans le cas de feuilles provenant d'arbres sains, le faisceau cribro-vasculaire de la nervure principale des feuilles d'agrumes se présente sous l'aspect d'un anneau presque continu, dans lequel le xylème est interne et le phloème périphérique. Les tissus conducteurs des nervures les plus âgées sont primaires, mais on observe un cambium fonctionnel donnant du xylème et du phloème secondaires. L'épiderme ventral est formé d'une assise de cellules épidermiques recouvertes d'une cuticule. Sous cette assise, le parenchyme palissadique est dense. La nervure principale forme une crête saillante sur la face inférieure (ou dorsale) du limbe. Le faisceau cribro-vasculaire est protégé par un sclérenchyme qui coiffe le phloème, et s'étend plus largement du côté dorsal que du côté ventral. Lorsque la feuille est prélevée sur un oranger atteint de *greening*, il est possible d'observer une prolifération du tissu phloémien. La figure 32 B illustre l'aspect général d'une nervure centrale ayant atteint le stade de la subérification. Le phloème est totalement désorganisé, sa prolifération a rejeté le xylème du côté de la face ventrale. Les cellules du parenchyme mises à nu se sont différenciées pour donner un phellogène produisant du suber. Ce dernier assure un rôle protecteur en remplacement de l'épiderme déchiré.

L'agencement général du limbe, subit une profonde modification. Les figures 33 A, B et C mon-

Figure 31 - Feuilles montrant des symptômes de subérification des nervures.

- A - feuille d'un oranger Hamlin atteint d'une carence physiologique en bore.
 B - feuille d'un limettier de Tahiti inoculé avec une souche sévère de *tristeza*.
 C - feuille d'un oranger Mme Vinous atteint de *greening*.

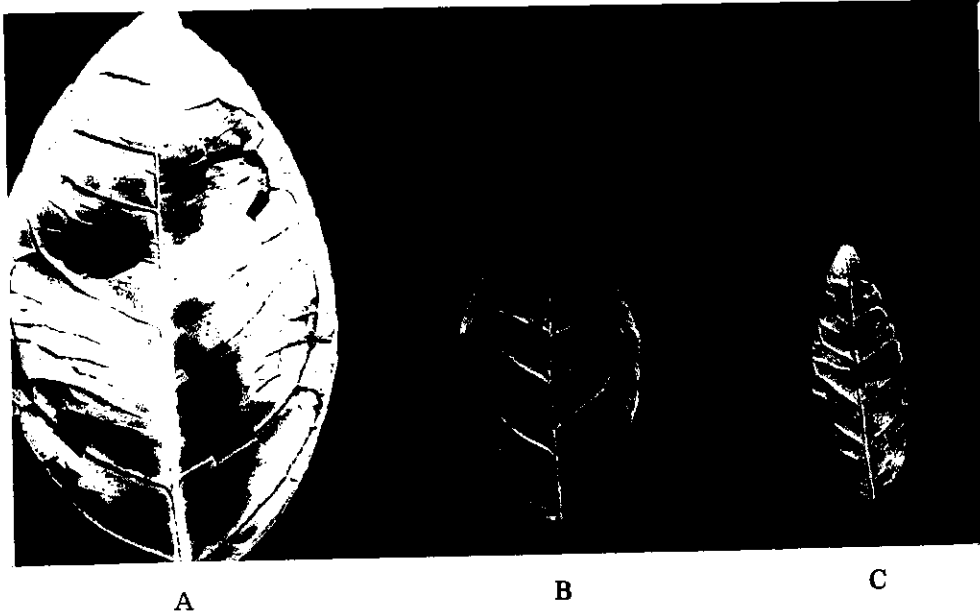


Figure 32 - Coupes transversales extemporanées dans la nervure centrale.
 A - oranger Mme Vinous sain montrant un phloème normalement constitué.
 B - oranger Mme Vinous atteint de *greening* : la nervure est subérifiée, on observe également un flot de xylème rejeté du côté ventral, par suite d'une hypertrophie du phloème.

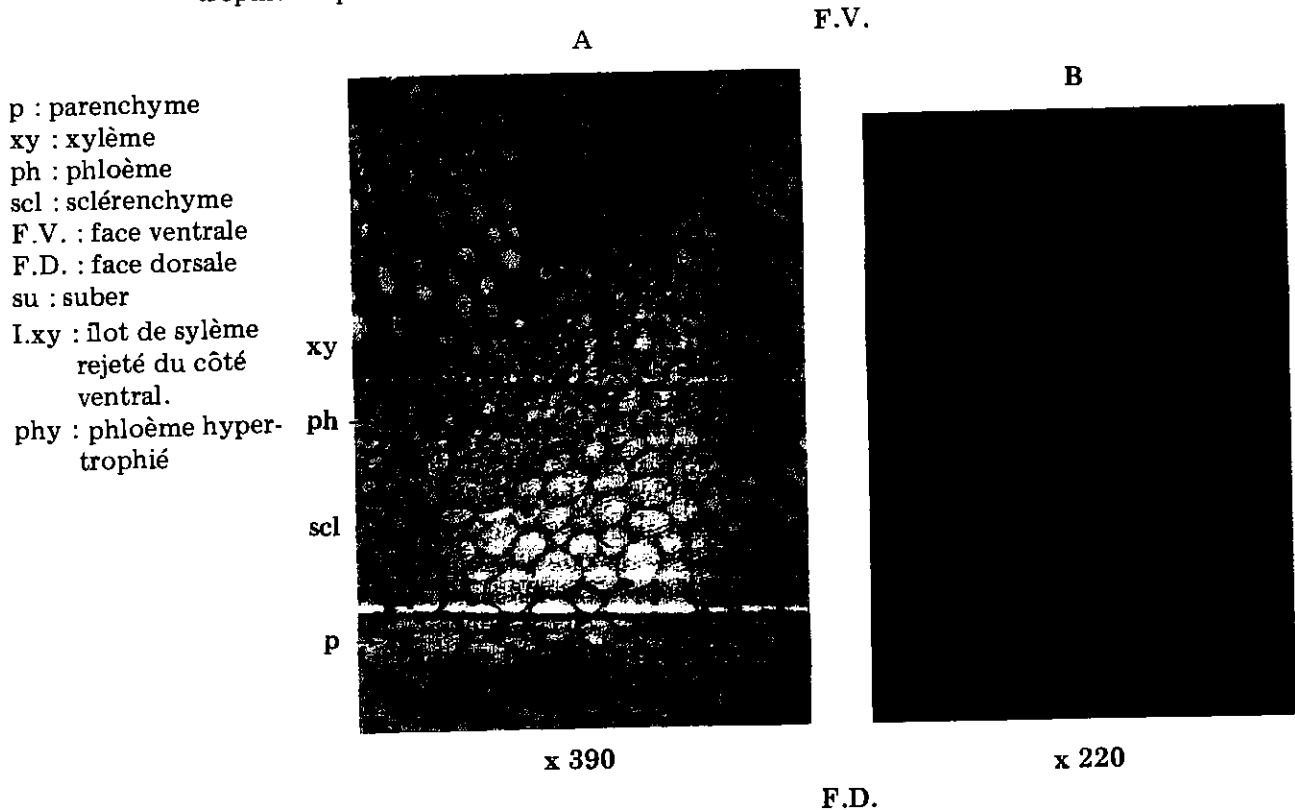
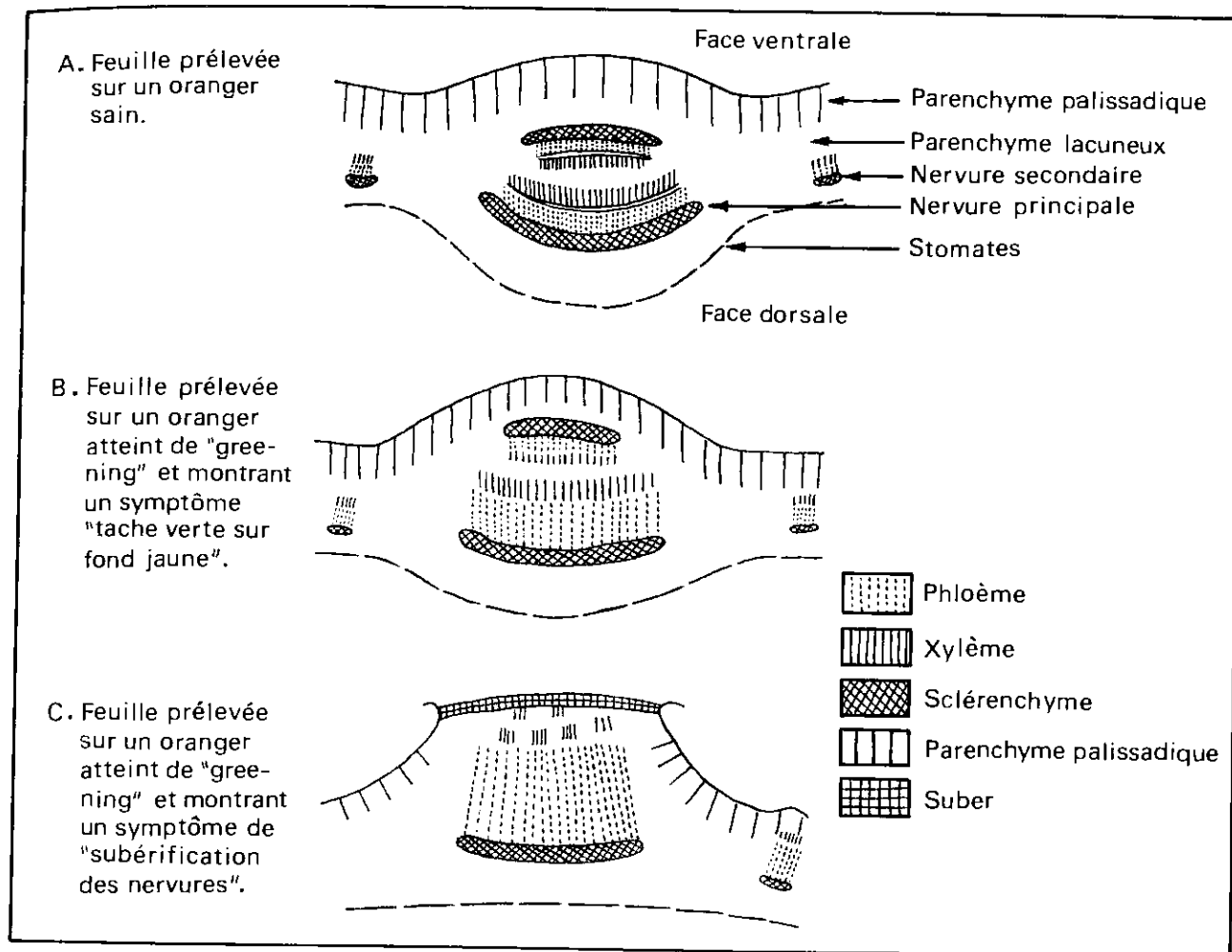


Figure 33 - Coupes transversales de nervures prises à différents stades d'évolution de la maladie du *greening*.



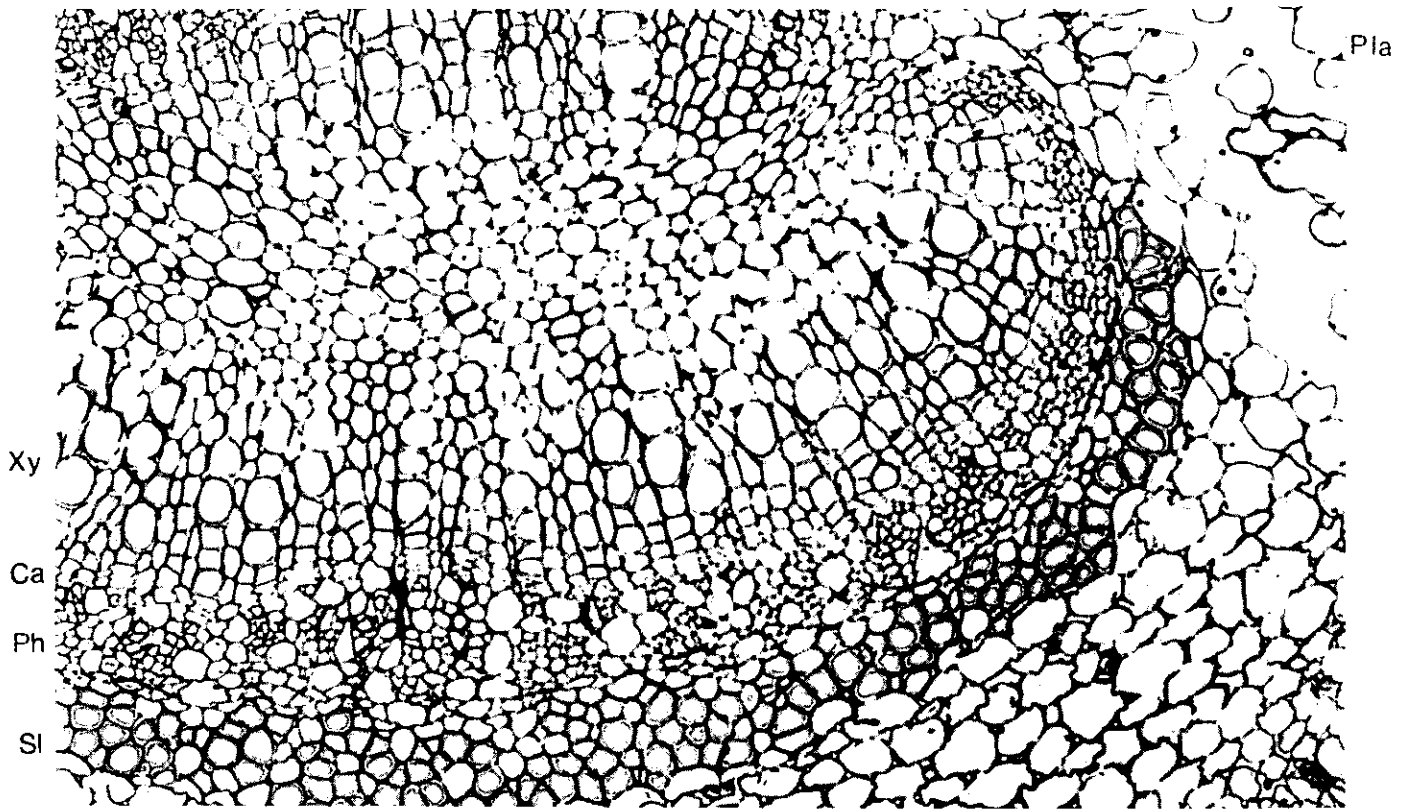
trent les différents stades conduisant à la subérification des nervures. La feuille tend à s'enrouler en se repliant du côté de la face dorsale. La crête formée normalement sur cette face par la nervure, s'estompe alors qu'à l'opposé apparaît une nouvelle crête ventrale subérifiée.

Le processus intéresse non seulement la nervure principale, mais aussi les nervures secondaires.

Des photographies de coupes semi-fines grossies 700 fois ont permis de saisir le début de ces modifications du tissu phloémien. La figure 34 A provient d'une feuille d'oranger Mme Vinous saine. La coupe transversale dans la nervure centrale montre un agencement régulier du faisceau cribro-vasculaire comprenant le xylème (*Xy*), l'assise cambial (*Ca*), le phloème (*Ph*), le sclérenchyme (*Si*) et le parenchyme lacunaux (*Pla*). La figure 34 B correspond à une feuille de même âge prélevée sur un oranger atteint de *greening* et montrant des symptômes du type *taches vertes sur fond jaune*. On note tout d'abord l'importance du dépôt de lignine dans le sclérenchyme. L'assise cambiale prolifère à certains endroits privilégiés \rightarrow en formant du phloème secondaire qui commence à repousser les vaisseaux du bois. Les cellules du phloème primaire et secondaire subissent un épaissement de leur paroi. Ce processus comporte une phase de prolifération des cellules et d'épaississement de leur paroi (*E et P*). Une autre caractéristique est l'apparition de nombreux grains osmiophiles, \rightarrow dans le parenchyme phloémien. En outre les cellules du parenchyme lacuneux sont chargées de grains d'amidon. A ce stade, il n'y a pas encore de subérification apparente du limbe.

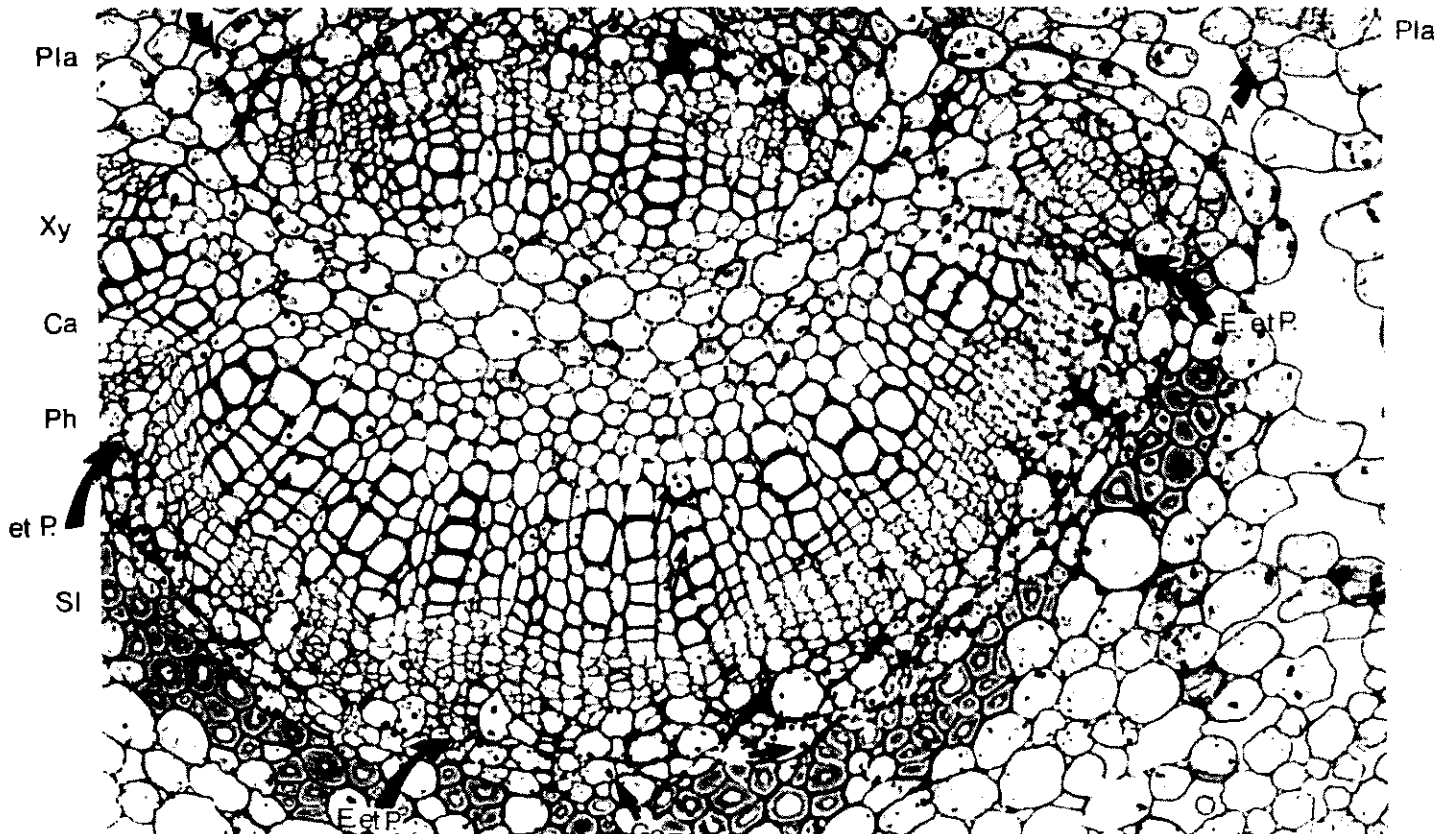
La figure 35 A montre le tissu foliaire à un stade avancé de la subérification des nervures. Le

a Oranger sain



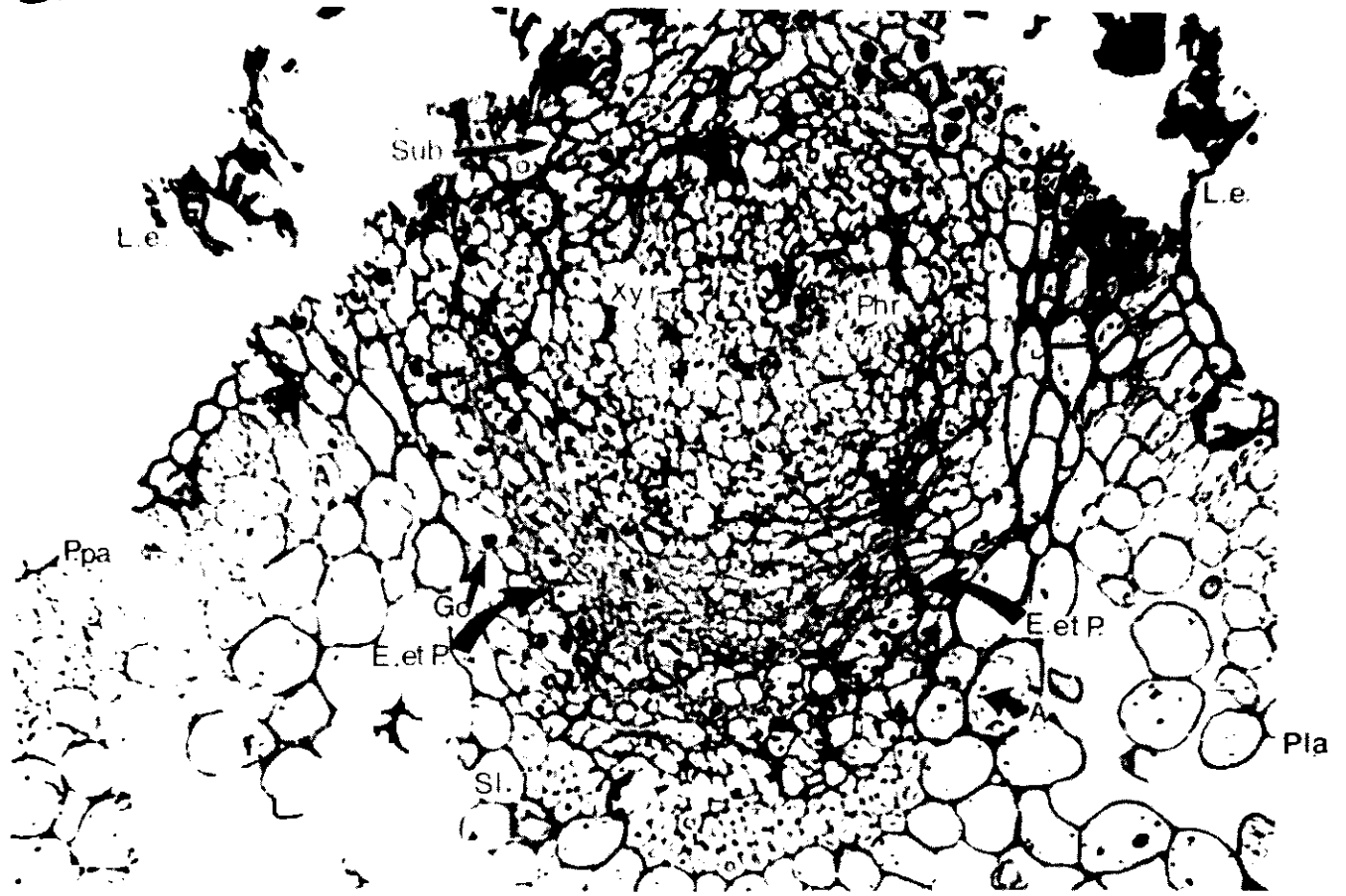
10 μ

b Oranger atteint de *greening* après inoculation par greffe de feuille.



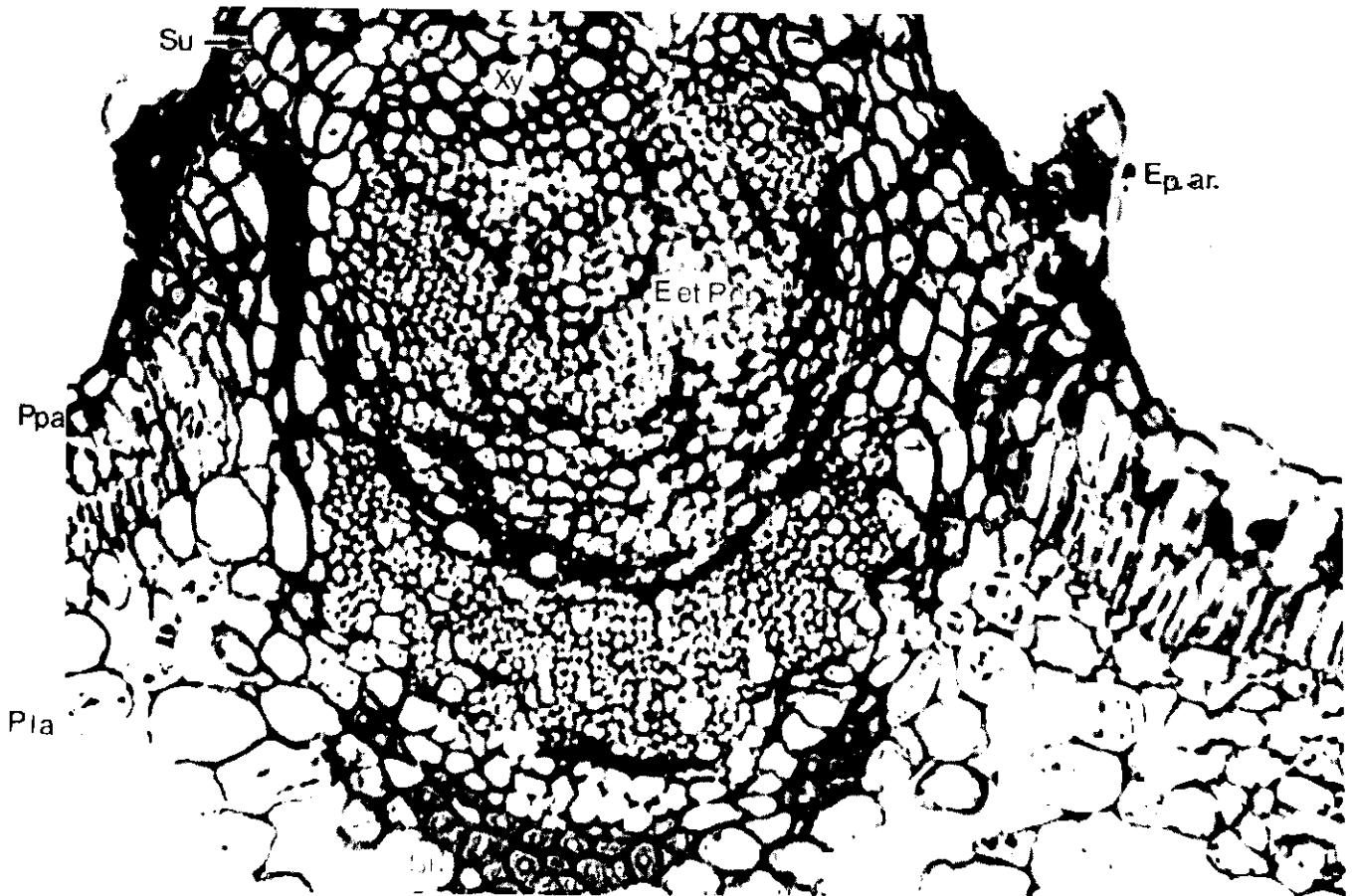
10 μ

a des nervures.



100 μ

b Feuille d'un limettier de Tahiti atteint de *tristeza*, sur laquelle sont apparus des symptômes de subérification des nervures.



sclérenchyme (SI) apparaît vers le bas, côté dorsal, bordant un phloème de structure anarchique, aux parois cellulaires très épaissies et dont la prolifération (épaississement E et prolifération P) a rejeté le xylème et une partie du phloème vers la face ventrale. On retrouve des lambeaux d'épiderme arraché (*L.e.*) ainsi qu'une assise de cellules subérifiées (*Sub.*). Les grains osmiophiles *Go* ➤ présentent, en général, une taille plus importante qu'au stade précédent.

Types de subérification occasionnés par la tristeza ou par la carence en bore.

La subérification des nervures occasionnée par la *tristeza* sur le limettier de Tahiti SRA 58 est illustrée par la figure 35 B. On observe une prolifération anarchique du phloème mais cette fois en couches successives, entrecoupées de zones où les parois cellulaires sont très épaissies. Entre ces couches, le tissu phloémien a proliféré sans épaississement notable des parois cellulaires. Ici également l'épiderme est arraché (*Ep. ar.*), mais on ne constate pas la présence de grains osmiophiles. Les nervures de la feuille d'oranger Hamlin fortement carencée en bore, ont montré un processus de prolifération analogue à celui présenté sur la figure 35 B avec cependant un intense épaississement cellulosique des parois dans tout le tissu phloémien.

DISCUSSION

Chez les *Citrus*, la prolifération du tissu phloémien semble avoir au moins trois origines : le *greening*, la *tristeza* et la *carence en bore*. Les feuilles d'oranger ou de mandarinier montrant ce type de traumatisme, peuvent constituer un indice intéressant de présence du *greening*, dans la mesure où l'hypothèse de la carence en bore est peu probable.

La détection d'une anomalie de fonctionnement du cambium foliaire a été mise en évidence par observation de coupes semi-fines de nervures après inclusion dans l'araldite. Cette technique demande une préparation aussi longue que celle utilisée pour la recherche de bactéries endocellulaires du phloème. Par contre l'exécution de coupes extemporanées présente l'avantage d'être rapide, mais elle nécessite néanmoins un certain entraînement, et a le mérite de pouvoir mettre en évidence une prolifération du tissu phloémien, bien avant que n'apparaissent les premiers symptômes de subérification des nervures à la face supérieure du limbe. Elle peut être complétée par un test d'infiltration à l'eau iodo-iodurée dans le limbe, pour révéler la présence d'amidon dans le mésophylle. Les feuilles destinées à ce test doivent être obscurcies pendant 48 heures par recouvrement de la pousse à l'aide d'un papier opaque. Elles sont ensuite détachées de la tige en vue du test. Sur les rameaux sains, l'absence d'amidon n'entraîne aucune coloration bleue. Par contre en ce qui concerne les rameaux atteints de *greening*, l'accumulation d'amidon qui résulte d'un blocage de la migration des assimilats, se traduit par une forte coloration bleue. Ce test a été utilisé par TIRTAWIDJADJA *et al.* (1984) pour la surveillance de quelques pépinières en Indonésie. Malgré sa simplicité il n'est guère applicable à grande échelle.

En bloquant la migration des assimilats, le *greening* affecte directement l'appareil conducteur foliaire dans sa fonction de nutrition. La partie atteinte, le phloème, n'est pas un tissu homogène, mais un complexe tissulaire, composé des tubes criblés, du parenchyme libérien et des fibres. Dans ce complexe, le parenchyme libérien et/ou les tubes criblés semblent être le lieu d'enregistrement de certains facteurs exogènes d'origine physiologique ou infectieuse. Ces facteurs pourraient perturber le fonctionnement des cellules criblées, puis engendrer une réaction de prolifération des cellules du liber.

Les troubles de la nutrition minérale induits dans les différentes parties du végétal sous forme de carence (ou d'accumulation) de certains éléments minéraux ne seraient que des manifestations secondaires de la maladie. Plusieurs coupes extemporanées effectuées dans les nervures de feuilles de clémentiniers atteints d'une sévère *carence physiologique en zinc*, ou sur des feuilles d'orangers présentant des symptômes de *blight* n'ont montré aucun signe de prolifération du tissu phloémien. En fait, la carence en zinc suit un autre processus biologique. Cet oligo-élément est nécessaire à la

synthèse du tryptophane, un acide aminé précurseur de l'acide indole acétique (AIA). L'AIA est la principale hormone végétale naturelle ; sa raréfaction dans les tissus du végétal entraîne des insuffisances auxiniques. Dans le cas des *Citrus*, il s'ensuit un défaut de croissance donnant temporairement des limbes de petite taille très décolorés et portés sur des entrenoeuds courts.

L'expérience acquise en matière de *greening*, montre que les perturbations engendrées au niveau du phloème foliaire sont particulièrement traumatisantes pour la plante, puisqu'il y a atrophie des organes reproducteurs, du système d'enracinement et, à terme dessèchement des rameaux, puis mort de l'arbre.

CHAPITRE 3

L'ANTIBIOTHERAPIE, UN MOYEN INDIRECT D'ETUDE ETIOLOGIQUE ET UNE ALTERNATIVE DANS LA LUTTE CONTRE LA MALADIE DU GREENING

L'ANTIBIOTHERAPIE, UN MOYEN INDIRECT D'ETUDIER L'ETIOLOGIE DU GREENING

L'idée d'utiliser l'antibiothérapie pour traiter le *greening*, a pour origine la découverte de LAFLECHE et BOVE (1970 b), d'organismes procaryotes dans le phloème des feuilles d'orangers atteints de cette maladie. Jusque là en effet, on pensait que le *greening* était une affection de nature virale.

DOI *et al.* (1967) ont les premiers attribué à des micro-organismes procaryotes le rôle d'agent causal dans certaines maladies des plantes, considérées à tort comme des viroses. La même année ISHIL *et al.* (1967) ont démontré qu'une rémission de la maladie du *nanisme du mûrier* était obtenue par traitement à la tétracycline.

Dans le cas du *greening*, l'antibiothérapie a tout d'abord été envisagée pour son intérêt agronomique. SCHWARZ et VUUREN en 1971 ont obtenu les premiers cas de rémission des symptômes sur des orangers sévèrement atteints, en injectant dans le tronc d'arbres adultes une quantité de 1,5 litre de solution de tétracycline à 750 ppm.

Le micro-organisme associé à la maladie du *greening*, n'ayant pu être obtenu en culture pure, l'antibiothérapie offrait, en outre, un moyen indirect de préciser la nature de l'agent infectieux mis en cause. L'information recueillie grâce à la microscopie électronique, avait indiqué dans le cas du *greening*, la présence d'une enveloppe de 25 nanomètres d'épaisseur apparaissant comme un triple feuillet : deux feuillets denses aux électrons, séparés par un feuillet médian clair. Cette caractéristique avait pu être vérifiée aussi bien pour les souches africaines que pour les souches asiatiques de *greening* (SAGLIO *et al.* 1971 ; BOVE et SAGLIO, 1974 ; GARNIER *et al.*, 1976). En 1977 GARNIER et BOVE constataient que le feuillet externe et le feuillet interne se réduisaient eux-mêmes en une structure trilamellaire, l'un constituant la membrane cytoplasmique, et l'autre la paroi cellulaire pour laquelle MOLL et MARTIN (1974) avaient déjà eu quelque évidence. Enfin, GARNIER et BOVE (1977), avaient attiré l'attention sur la couche interne de la membrane externe parfois plus épaisse, et qui n'était pas sans rappeler la couche à peptidoglycane de certaines bactéries Gram négatif.

Des indications indirectes de la présence de peptidoglycane pouvaient être fournies en étudiant l'action de la pénicilline sur des agrumes atteints de *greening*. En effet, le seul mode d'action connu de cet antibiotique, est l'inhibition de la synthèse de peptidoglycane (GHUYSEN et SHOCKMAN, 1973).

BOVE *et al.* (1980) ayant observé un effet curatif de la pénicilline par trempage des racines de plants d'orangers Mme Vinous inoculés par greffe de feuille, il semblait intéressant de confirmer ce résultat sur des arbres infectés en conditions naturelles.

Pour cela, un procédé d'injection sous pression dans le tronc de l'arbre devait être mis au point afin d'introduire l'antibiotique dans la sève. Par ailleurs, il importait d'ajuster correctement la quan-

tité de matière active à injecter et d'effectuer des dosages pour vérifier la diffusion et la rémanence du produit dans le sujet traité. Enfin, l'incidence du traitement devait être évaluée au plan agronomique.

TECHNIQUE D'INJECTION SOUS PRESSION DANS LE TRONC DES ARBRES

L'injection sous pression de produits liquides dans le tronc des arbres a été une voie utilisée pour traiter diverses maladies à procaryotes : *pear decline* du Poirier, *peach X disease* et *leaf-roll* du Pêcher (NYLANDS et SACHS, 1974). Elle a été également employée pour combattre le *leaf scorch* de l'aman-dier ou la *maladie du Pierce* de la vigne (HELBURG *et al.*, 1973). SCHWARZ et VAN VUUREN (1971) ont les premiers utilisé cette technique sur des agrumes atteints de *greening*.

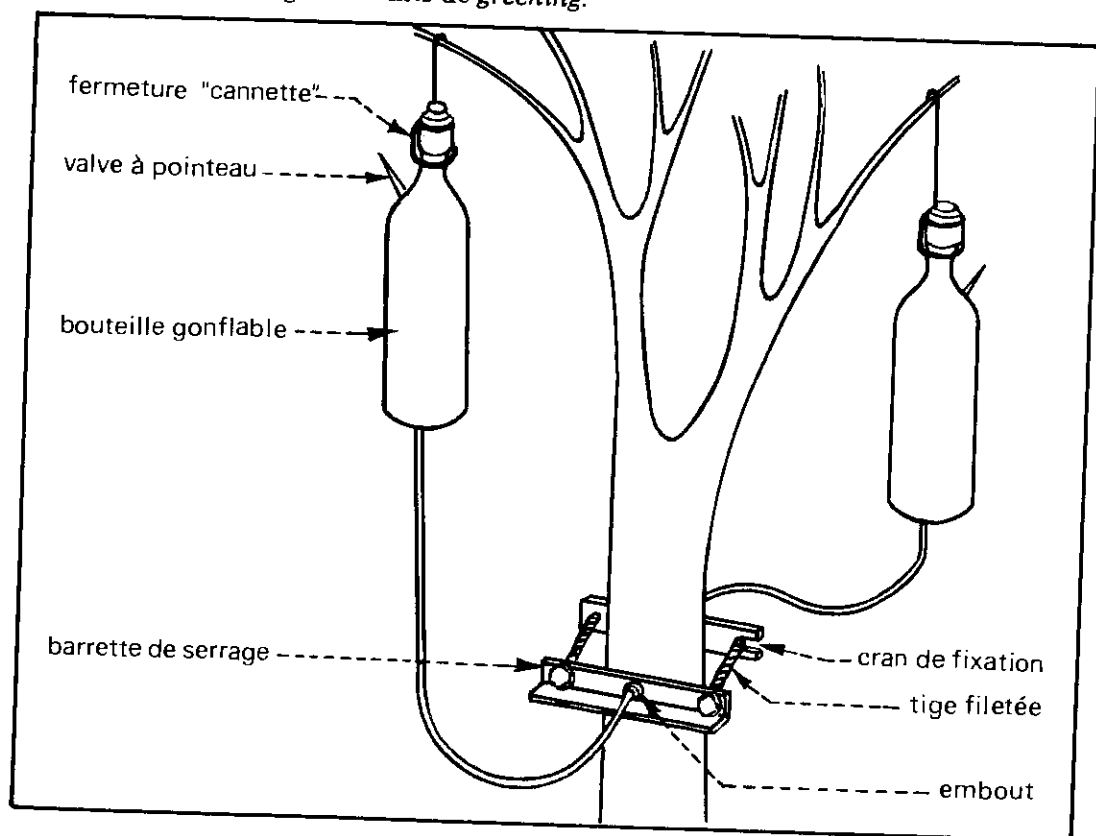
Plusieurs méthodes d'injection ont été proposées pour traiter ces diverses maladies du système vasculaire. Elles vont de la simple perfusion (SCHWARZ *et al.*, 1973) à l'injection sous forte pression (15 kg/cm²) (WILBUR et BEUTEL, 1976). Des techniques à faible ou moyenne pression (de 0,5 à 5 kg/cm²) ont également été utilisées (FILER, 1973), ainsi que la micro-injection pour les jeunes plants de serre (STERRET et CREAGER, 1974), (HELBURG *et al.*, 1973).

Dans le cadre des études menées sur la maladie du *greening* des *Citrus*, nous avons été amenés à mettre au point une technique originale consistant à faire pénétrer dans l'arbre deux litres de solution sous une pression de 5 kg/cm² à l'aide de deux bouteilles gonflables (figure 36).

Matériel et méthode.

On utilise des bouteilles de camping d'une capacité de 1,5 litres munies d'une fermeture can-

Figure 36 - Système d'injection utilisé pour faire pénétrer des solutions antibiotiques dans le tronc d'orangers atteints de *greening*.



nette. Ces flacons en polyéthylène peuvent supporter une pression de 5 kg/cm² et offrent une légère transparence, ce qui permet de vérifier le niveau du liquide introduit.

On équipe la partie supérieure de la bouteille d'une valve à pointeau fixée par un écrou et des joints toriques. Dans sa partie inférieure, la bouteille est reliée à un tube en polyamide blindé transparent. Ce tube de sortie est muni d'un système de fermeture et se termine par un embout. La bouteille est remplie d'un litre de solution puis portée à 5 kg de pression.

Au niveau du tronc de l'arbre, le système se prolonge par une barrette de serrage équipée d'un ajutage mixte recevant l'embout de la bouteille. L'ajutage communique avec un trou pratiqué dans une partie convexe du tronc (cas de troncs cannelés). La perforation se fait dans l'aubier sur une profondeur de 3 cm, à l'aide d'une tarière à bois.

La barrette de serrage peut recevoir deux bouteilles à la fois (figure 36). Une description détaillée de cet équipement a été faite par ailleurs (AUBERT, 1979).

Résultats obtenus sur les arbres atteints de greening.

Lors des essais poursuivis en vergers pendant quatre ans et portant sur quelques 200 sujets injectés ou réinjectés atteints de greening, on n'a pas constaté d'exemples de blocages analogues à ceux décrits par TIMMER *et al.*, 1982 en Floride sur des orangers atteints de blight. Pour faire pénétrer deux litres de solution par arbre, nous avons enregistré un temps moyen de 1 h 45 mn. L'adjonction d'azocarmine, à la concentration de 3 g/l a permis d'étudier la diffusion du liquide injecté dans le tronc, les branches, les feuilles et l'axe central des fruits.

DOSAGE DE LA PENICILLINE DANS LES ARBRES TRAITES PAR INJECTION

Préparation de la Gamme étalon.

Une solution mère de départ contenant 10 mg de pénicilline dans 100 cc d'eau stérile est préparée. Cette solution équivaut à 100 µg/ml et contient :

$$\frac{100}{0,607} = 164,7 \text{ U.I./ml} \quad \text{U.I. : Unité Internationale}$$

puisque 1 U.I. = 0,607 µg.

A partir de cette solution mère on prépare des dilutions à 20 fois, 26 fois, 40 fois, 80 fois et 160 fois. Pour chacune d'elles on a reporté sur le tableau 19 les concentrations correspondantes de pénicilline en U.I. par ml et en U.I. pour 20 µl. Au cours des dosages on a toujours utilisé une quantité de 20 µl de solution parce que ce volume correspondait à la capacité de saturation des disques Schleicher-Schull N° Ref. 2668. Ces derniers qui se présentent sous la forme de pastilles de buvard de 6 mm de diamètre, étaient placés sur un milieu GROVE et RANDALL, préalablementensemencé avec une souche ATCC 9341 de *Sarcina lutea*. La bactérie était mélangée au milieu encore liquide juste avant de la couler en boîtes de Pétri.

Les diamètres d'inhibition observés sur trois séries d'étalonnage sont donnés dans le tableau 20.

Les valeurs ainsi obtenues ont été reportées en coordonnées semi-logarithmiques. On a calculé l'ajustement des cinq paires de points avec une fonction exponentielle par la méthode des moindres carrés, ce qui a donné l'équation suivante :

$$\text{Log } y = 0,04 x + 1$$

(1) où y représente les diamètres d'inhibition
et x les concentrations de pénicilline en U.I./20 µl

Tableau 19 - Gammes de dilution effectuées à partir de la solution mère de Pénicilline à 164 7 U.I./ml.

Dilution	Concentrations finales		
			en U.I./20 μ l
20 fois	8,24	8,2	0,16
26 fois	6,33	6,3	0,13
40 fois	4,12	4,1	0,08
80 fois	2,06	2,1	0,04
160 fois	1,03	1,0	0,02

Méthode de dosage de la pénicilline dans les feuilles d'oranger.

Six à sept feuilles nouvellement matures sont choisies à hauteur d'homme tout autour de la couronne de l'arbre à tester. Les deux demi limbes sont éliminés afin de ne conserver que la nervure centrale.

Des sections de chacune des nervures centrales sont regroupées pour obtenir un échantillon de 200 mg. Cette opération est effectuée à l'aide de doigts protecteurs qui sont renouvelés à chaque échantillonnage.

Une fois pesées, les nervures sont broyées dans un mortier préalablement autoclavé. On ajoute 1 ml de tampon phosphate pH 7,4 0,1 M avant le broyage dans le but d'obtenir suffisamment de jus de nervure. Après macération pendant 3 minutes à température ambiante, on prélève 20 μ l de jus de nervure qui sont déposés sur un disque Schleicher Schull, lui-même mis en contact avec un milieu nutritif gélosé (GROVE et RANDALL)ensemencé avec la même souche de Sarcine que celle ayant servi à la constitution de la Gamme étalon.

Au bout de 24 heures d'incubation à 28°C, il est possible de mesurer le disque d'inhibition de croissance de la bactérie provoqué par la diffusion de la pénicilline dans le milieu gélosé.

Ce diamètre est fonction de la quantité de Pénicilline contenue dans les 20 μ l de jus de nervure. Comme à l'origine le broyage des 200 mg de nervures a été effectué dans 1 ml de tampon, cette fraction de 20 μ l correspond bien à $\frac{200 \times 20}{1000} = 4$ mg de nervure fraîche en admettant que l'antibiotique diffuse dans le broyat.

On obtient la concentration finale de pénicilline rapportée à 1 mg de nervure fraîche en divisant par 4 le nombre d'U.I. obtenu par application de la formule (1).

Cette technique a permis de suivre la durée de rémanence de la pénicilline dans les nervures de feuilles à partir des 60 minutes qui ont suivi le début de l'injection de l'antibiotique dans le tronc de l'arbre.

Tableau 20 - Inhibition de croissance de *Sarcina lutea* sur milieu gélosé.

U.I 10^{-2} pour 20 μ l	Diamètres d'inhibition observés en cm			Moyennes des diamètres d'inhibition en cm	
				Moyenne	Log.
16	5,3	5,4	5,2	5,30	1,66
13	5,1	4,9	5,0	5,00	1,60
8	4,0	4,2	4,1	4,10	1,41
4	3,2	3,1	3,2	3,17	1,15
2	2,9	3,0	.	2,95	1,08

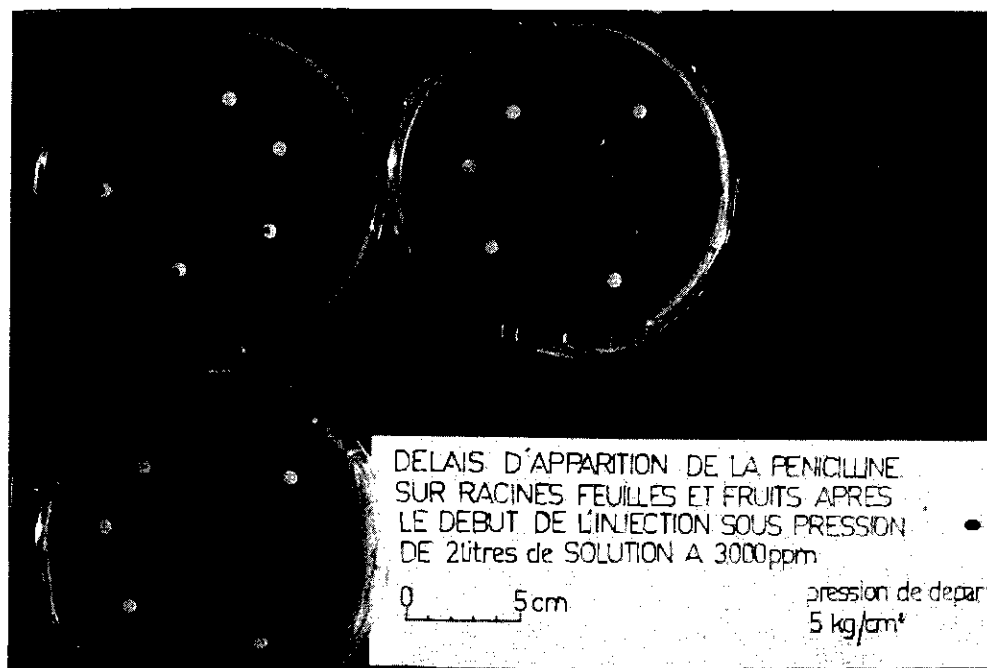


Figure 37 - Dosage de la pénicilline dans les feuilles et les fruits d'un oranger traité par injection sous pression.

Diffusion et persistance de la pénicilline dans l'arbre.

• Doses et modes d'injection.

Six orangers adultes de la variété Navel, greffés sur Lime Rangpur, et présentant une circonférence de tronc comprise entre 55,0 et 60,0 cm ont été retenus. Leur poids frais a été estimé à 250 kg d'après les observations faites dans un autre verger sur des arbres venant d'être arrachés et pesés.

Quatre d'entre eux ont reçu des doses croissantes de pénicilline par application de 2 litres de solution sous une pression de 5 kg/cm^2 respectivement :

- 2 litres à raison de 1,5 g/l de pénicilline soit un total de 3 g de pénicilline
- 2 litres à raison de 3 g/l de pénicilline soit un total de 6 g de pénicilline
- 2 litres à raison de 4,5 g/l de pénicilline soit un total de 9 g de pénicilline
- 2 litres à raison de 6 g/l de pénicilline soit un total de 12 g de pénicilline

L'injection a eu lieu sous la ligne de greffe. Les arbres venaient de recevoir une irrigation de 60 mm. Ils ont été traités en début de matinée. Le temps de pénétration des deux litres de solution a varié de 15 à 120 minutes. Un cinquième arbre a reçu, répartis en 6 trous aménagés dans le tronc, 15 g de pénicilline G sous forme de pommade (Vaseline + pénicilline G en poudre). Enfin un sixième arbre témoin a reçu une injection de 2 litres d'eau pure.

Ces arbres ont fait l'objet de 12 antibiogrammes dans un temps allant de 1 heure à 170 heures après le début de l'injection.

• Résultats.

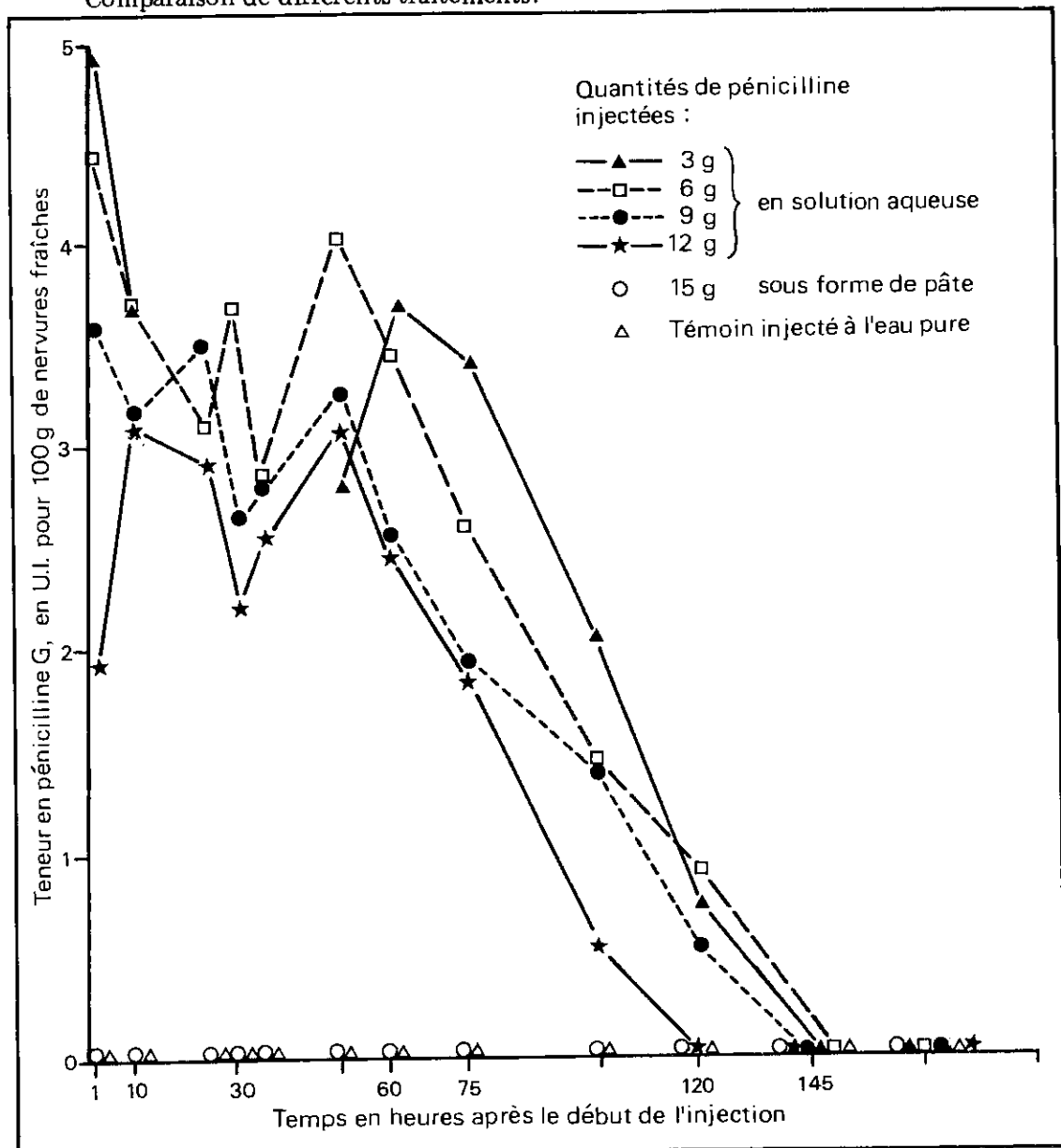
Les résultats sont regroupés sur la figure 38, et un exemple d'antibiogramme apparaît sur la fi-

gure 37.

1. L'arbre témoin traité à l'eau n'a montré aucune zone d'inhibition sur les 12 antibiogrammes dont il a fait l'objet. Ceci indique qu'il n'y a pas dans les feuilles d'orange de facteur d'inhibition susceptible d'intervenir sur la croissance de *Sarcina lutea* tout au moins selon la technique employée.
2. L'arbre ayant reçu 15 g de pénicilline sous forme de pommade n'a montré aucune trace d'antibiotique sur les 12 antibiogrammes dont il a fait l'objet. Le produit appliqué de cette façon n'a donc pu être solubilisé dans la sève en quantité décelable.
3. Tous les arbres recevant de la pénicilline en solution aqueuse injectée sous pression ont donné des antibiogrammes positifs.

Les doses mesurées dans les nervures semblent indiquer que l'antibiotique se répartit de façon sensiblement uniforme dans l'arbre. En effet si on multiplie la concentration/mg obtenue, par le poids total estimé de l'arbre, nous arrivons à un chiffre légèrement inférieur à la dose d'apport initial.

Figure 38 - Evolution des teneurs en pénicilline C dans les nervures de feuilles.
Comparaison de différents traitements.



Par exemple une heure après le début de l'injection nous obtenons :

- pour l'arbre ayant reçu 12 g

4,8 10^{-2} U.I./mg de poids frais
 soit 2,91 10^{-2} g/mg de poids frais, ou encore pour l'ensemble de l'arbre
 $2.91 \cdot 10^{-2} \times 250 \cdot 10^6 = 728 \cdot 10^4$ μ g de pénicilline, soit 7,2 g

- les mêmes résultats s'appliquent aux arbres ayant reçu des doses respectives de 9, 6 ou 3 g.

4. La durée de rémanence de la pénicilline G en quantités décelables dans les nervures a été de 145 heures, soit environ une semaine.
5. Des dosages ont également été effectués dans les fruits les fleurs et les racines. Les concentrations d'antibiotique dans les fleurs ont été du même ordre que celles enregistrées dans les nervures. Par contre on a obtenu des teneurs 20 p. 100 plus faibles dans les fruits. Quelques traces de pénicilline ont également été trouvées dans les racines.

La durée de rémanence de la pénicilline G, en quantité décelable, dans la nervure des feuilles d'orangers est apparue supérieure à celle obtenue pour la tétracycline par BUITENDAG et BRONKHORST (1982). Ces auteurs ont en effet observé que l'inhibition de la croissance de *Bacillus brevis* par des extraits de nervures d'orangers traités à raison de 5 g de tétracycline HCl par arbre, ne durait que 72 heures. Par contre le bois de ces mêmes arbres conservait une activité inhibitrice pendant 6 à 8 semaines. TIMMER *et al.* (1982) ont également montré que la tétracycline appliquée en injection dans le tronc des agrumes pouvait conserver une persistance d'action de plusieurs mois au niveau des branches.

ESSAIS D'ANTIBIOTHERAPIE EFFECTUES EN VERGER

Protocole expérimental.

Le mode d'action de deux antibiotiques : la *pénicilline G* et la *tétracycline HCl*, a été étudié *in situ* dans un verger de la zone de l'Etang-Salé où la présence de *D. citri*, avait été notée. Ce verger de 200 arbres, planté en 1971, comportait différentes lignées SRA d'orangers ayant comme porte-greffe le Citrange Troyer. Cinq ans plus tard la plupart des arbres étaient atteints de *greening* dont certains très gravement.

Un bail a été conclu avec le propriétaire du verger pour quatre ans de façon à pouvoir prendre totalement en charge la parcelle. Avant de commencer l'essai d'antibiothérapie un programme de traitements insecticides a été appliqué de façon régulière pendant deux ans. Ultérieurement, les populations de *D. citri* ont été contrôlées efficacement grâce à l'introduction d'un entomoparasite du psylle asiatique. Ce verger de un hectare installé dans un terrain homogène a reçu par ailleurs une fumure NPK annuelle de une tonne d'engrais 15-12-24 complétée d'une pulvérisation foliaire d'oligo-éléments. Il a bénéficié d'irrigations régulières en saison sèche.

L'analyse physico-chimique du sol a fait apparaître l'importance de la fraction sableuse (environ 80 p. 100), une bonne humification, et un complexe absorbant correctement saturé (tableau 21), toutes conditions favorables à la culture des agrumes.

Dans ce verger, on a choisi 11 triplets d'orangers. Les trois arbres d'un même triplet appartenaient au même clone de cultivar, présentaient la même longueur de circonférence du tronc juste au-dessus de la ligne de greffe, avaient donné un poids de récolte très voisin l'année de leur sélection, et affichaient un même degré d'attaque *greening* en notation sur 40.

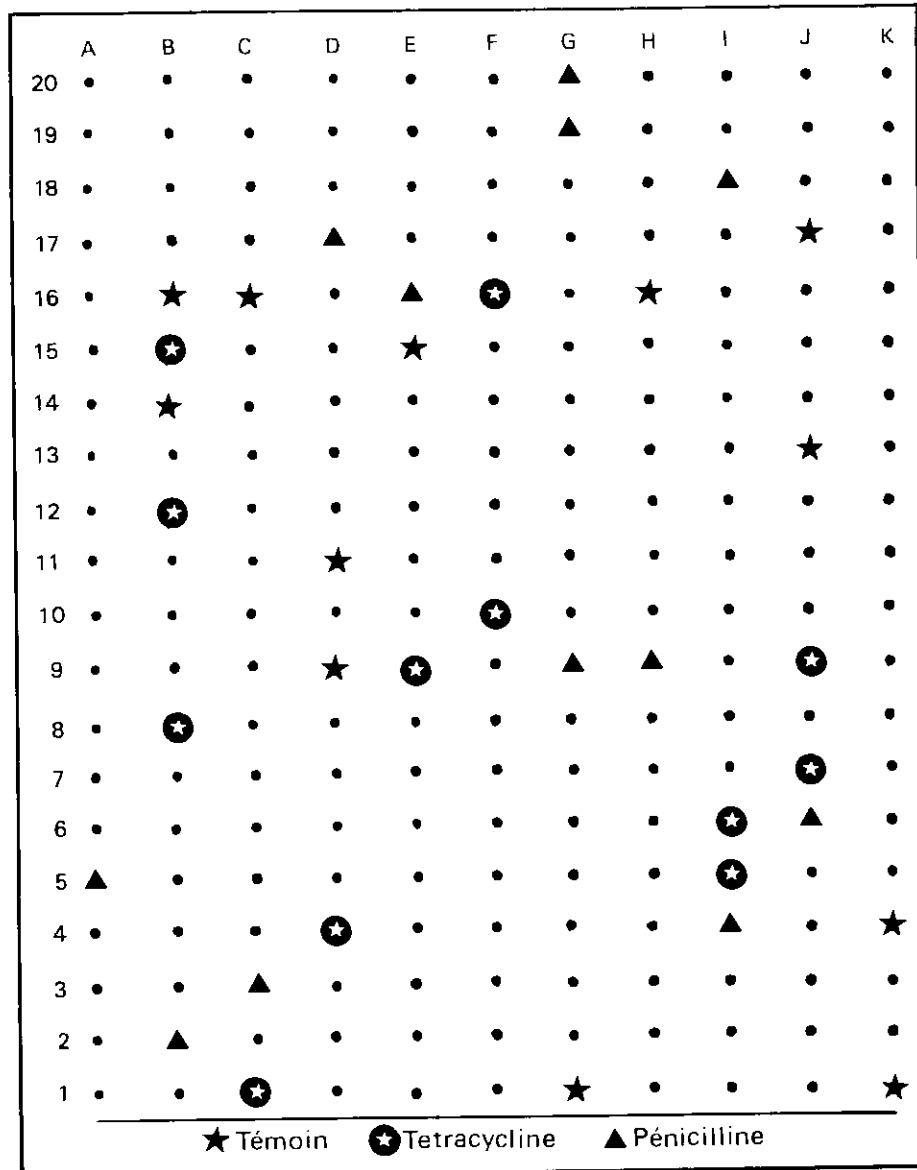


Figure 39 - Plan de l'essai d'antibiothérapie effectué en 12 triplets d'orangers.

Tableau 21 - Analyses de sol (Verger Le Gol Etang-Salé).
Sol établi sur sable basaltique

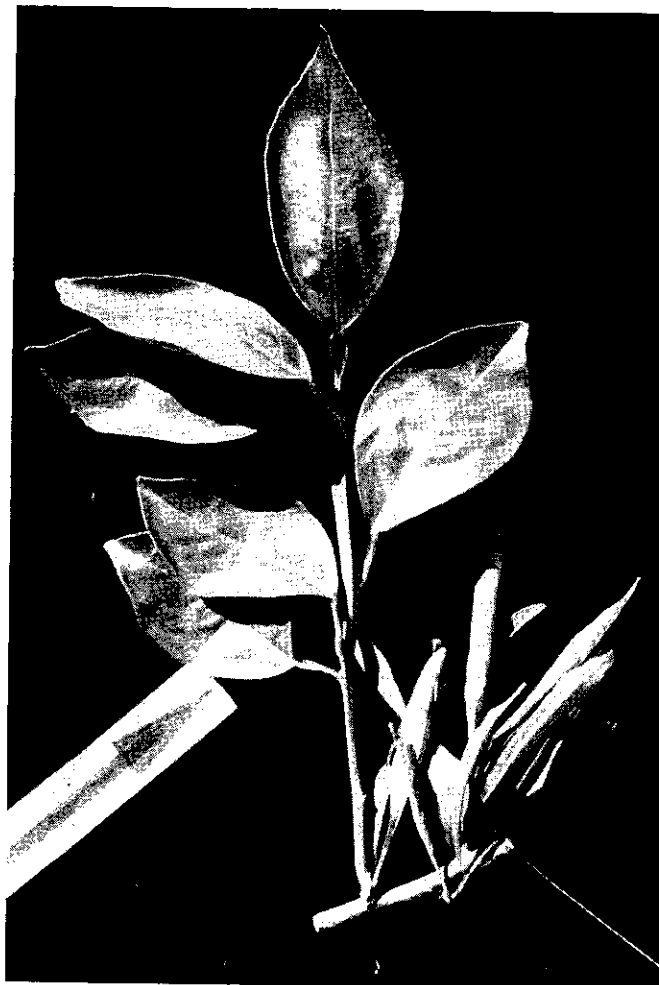
Horizons (cm)	Granulométrie				Matière organique - N				P assimilable Olsen ppm	Complexe absorbant					pH eau	Oligo-éléments ppm			
	Argile	Limons	Sables fins	Sables grossiers	Matière organique	C	N total	C/N		Ca	Mg	K	Na	CEC		Zn	Mn	Mo	SO ₄ soluble
0-10	5,70	13,8	23,9	56,7	2,02	1,17	1,02	1,1	109	7,7	4,9	1,02	0,46	17,7	6,5	14	124	14	164
10-30	5,7	12,3	24,2	57,6	1,72	1,00	0,91	1,1	94	6,1	5,3	0,84	0,49	12,3	7,2	17	95	21	194
30-60	6,8	15,1	29,3	48,6	1,22	0,71	0,59	1,2	51	5,4	5,5	0,60	0,43	11,8	7,4	20	94	18	162

(moyennes de 8 prélèvements par horizon)

Figure 40 : Effets obtenus sur un oranger par traitement à la Tétracycline.

à droite : émission d'une première pousse feuillée montrant une phytotoxicité passagère.

à gauche : seconde pousse vigoureuse résultant de l'action bénéfique de l'antibiotique (marquée par une flèche).



Sur la figure 39 est présenté un plan de l'essai.

Pour chaque triplet d'arbre, un sujet a été conservé comme témoin et a reçu de l'eau pure en injection. L'autre a subi une application annuelle de 18 g de pénicilline G, dilués dans 6 litres d'eau et appliqués en trois injections de 2 litres. Le troisième a reçu une injection annuelle de 6 g de tétracycline HCl dilués dans 2 litres d'eau.

L'expérience s'est poursuivie sur une période de quatre années, les traitements par injection étant effectués en période de poussée printanière c'est-à-dire fin septembre début octobre. Chacun des 33 arbres a été noté annuellement pour son degré d'attaque de *greening*, selon la procédure décrite précédemment.

La première série d'injections a débuté en octobre 1977. Les triplets d'arbres ont été sélectionnés et observés trois semaines auparavant, lors de la reprise en main du verger.

Résultats.

L'effet des traitements s'est fait sentir plus rapidement avec la pénicilline G qu'avec la tétracycline HCl. Dans les deux mois qui ont suivi le traitement par injection, les arbres ayant reçu de la pénicilline ont émis une vigoureuse poussée végétative. Les plus atteints sont repartis en végétation au niveau des bourgeons latents situés sur les grosses branches charpentières. Avec la dose de tétracycline utilisée on a observé un effet phytotoxique pendant environ trois mois. Cette phytotoxicité s'est traduite par l'apparition d'une coloration vert-grisâtre des feuilles de la couronne, et l'émission de jeunes pousses à limbes très étroits (figure 40). Passé ce délai, l'arbre a donné une vigoureuse poussée végétative.

A l'inverse, aucune phytotoxicité ne s'est manifestée sur les arbres traités à la pénicilline G.

● Evolution des symptômes.

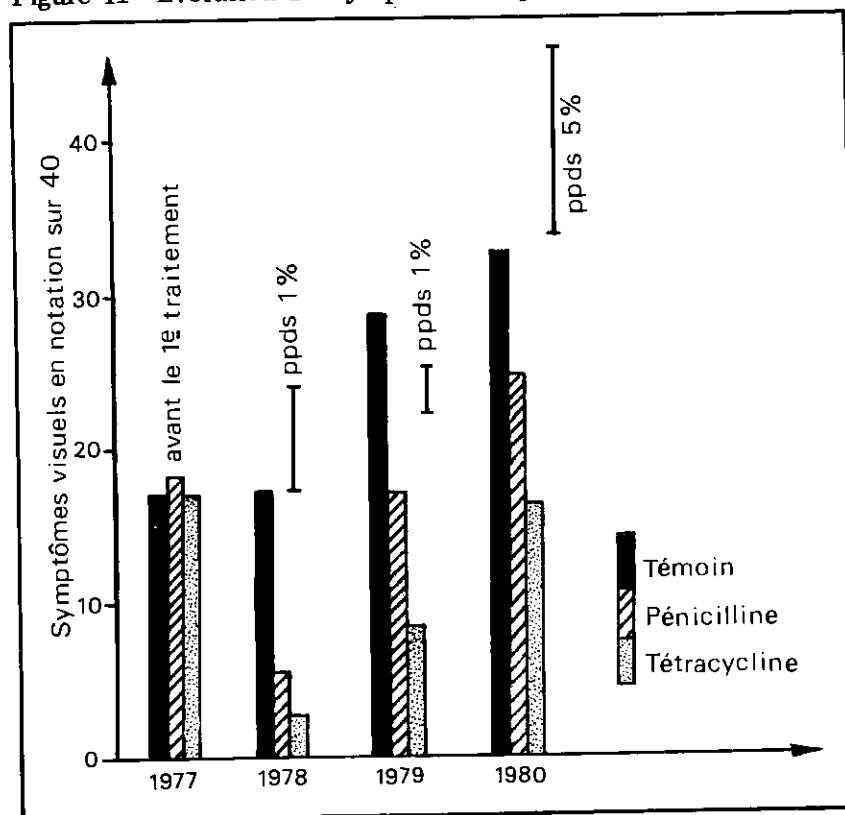
L'évolution des symptômes au cours des quatre années d'observation (en notation *greening* sur 40) a été regroupée dans le tableau 22 pour chacun des 33 arbres. Les moyennes sont reportées sur la figure 41.

Les triplets I, II, V et X présentaient au départ des symptômes de *greening* plus accusés que les

autres, leur note étant comprise entre 25 et 30 en septembre 1977. Neuf mois après le début des traitements, les arbres ayant reçu de la pénicilline ou de la tétracycline affichaient une nette rémission des symptômes. Même pour les arbres des triplets très atteints, la note *greening* tombait au voisinage de 5, ce qui signifiait que les frondaisons avaient repris un aspect normal. Par contre, les sujets injectés avec de l'eau pure montraient soit un état stationnaire, soit une aggravation de la maladie.

L'analyse de la variance en répétitions simples a montré des différences très significatives par rapport au témoin (figure 41).

Figure 41 - Evolution des symptômes de *greening*.



Malgré le renouvellement des injections, l'année 1979 a été marquée par une brusque remontée des symptômes pour les arbres des séries pénicilline, dont les notes triplaient ou quadruplaient. Cette évolution a été irréversible si bien qu'en septembre 1980 la plupart de ces arbres avaient rattrapé les témoins, à l'exception des triplets II, III et XI. Une lente aggravation des symptômes était également enregistrée sur les arbres traités à la tétracycline mais en septembre 1980 les sujets ayant reçu cet antibiotique montraient encore des différences significatives par rapport aux témoins.

● Evolution des récoltes.

Les pesées de récolte ont eu lieu en mars 1978, mars 1979, mars 1980 et mars 1981, c'est-à-dire environ un mois et demi avant la date de maturité. On trouve le détail des récoltes par triplet sur le tableau 22. L'évolution des récoltes exprimées en moyennes par traitement apparaît sur la figure 42.

En mars 1978, soit trois mois après le traitement, aucune amélioration des rendements n'a été notée.

Par contre en mars 1979, la reprise de production a été spectaculaire pour les arbres ayant subi un traitement antibiotique. Les arbres traités à la pénicilline des triplets II, III, VII et XI ont

Tableau 22 - Effets curatifs obtenus par injection de tétracycline ou de pénicilline sur des orangers atteints de *greening*.
Résultats cumulés de quatre années.

Variété	Répétition	Traitement	N° arbre	Note Greening (de 0 à 40)				Récolte en kg				
				sept. 77	sept. 78	sept. 79	sept. 80	mars 78	mars 79	fév. 80	mars 81	Total récolte
Valencia late	I	Te	H16	31	32	40	40	0	0	0	0	0
		Pe	C20	22	4	11	12	0	21	25	4	50
		Tr	E9	27	9	11	15	4	126	48	35	213
	II	Te	D9	25	23	29	32	0	7	4	0	11
		Pe	C9	32	10	21	12	4	35	36	0	62
		Tr	B8	32	3	8	23	0	10	52	0	62
	III	Te	E15	9	16	30	29	44	50	8	0	102
		Pe	C19	12	10	25	20	0	90	69	16	175
		Tr	F10	15	2	12	11	8	40	92	38	178
	IV	Te	D11	15	21	23	22	33	70	17	12	132
		Pe	D17	16	5	26	33	0	80	65	0	145
		Tr	F16	10	2	9	8	16	135	98	20	269
	V	Te	J17	20	32	30	34	10	35	20	0	65
		Pe	H9	26	3	7	26	26	112	50	35	223
		Tr	J9	19	3	5	13	30	130	48	40	248
Hamlin	VI	Te	C16	9	9	31	34	6	58	15	0	79
		Pe	A5	9	4	15	29	51	97	28	15	191
		Tr	J7	13	4	7	16	23	115	122	24	284
	VII	Te	B16	10	10	30	38	51	20	5	0	76
		Pe	E16	14	4	11	32	62	138	75	3	278
		Tr	I6	14	0	6	22	34	113	84	15	246
Sweet seedling	VIII	Te	B14	9	9	15	24	40	92	17	18	167
		Pe	J6	12	9	23	35	38	84	32	0	154
		Tr	B12	13	3	7	6	14	81	67	13	175
	IX	Te	J13	9	3	6	16	84	22	112	6	224
		Pe	I18	9	6	19	29	27	83	45	11	166
		Tr	B15	15	1	4	12	7	114	85	20	226
Pineapple	X	Te	K1	25	27	30	40	0	0	0	0	0
		Pe	B2	31	1	30	32	0	44	15	0	59
		Tr	I5	25	2	12	26	20	104	110	3	237
Navel	XI	Te	G1	16	12	23	27	0	12	4	4	20
		Pe	C3	10	0	8	10	6	45	32	42	113
		Tr	C1	9	1	6	10	0	23	48	35	106

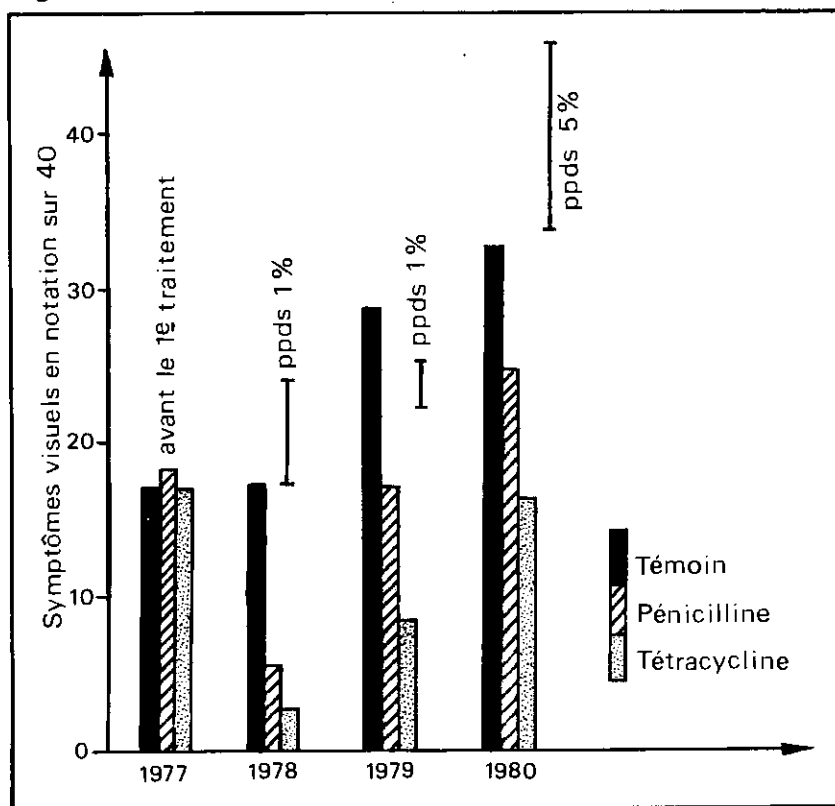
Te : Témoin Pe : Pénicilline Tr : Tétracycline

donné des rendements supérieurs non seulement à ceux des témoins mais aussi à ceux du groupe tétracycline. En production cumulée sur quatre ans les onze arbres témoins ont fourni 876 kg de fruits, soit l'équivalent de 17,5 T/ha, les 11 arbres traités à la pénicilline 1 629 kg (équivalent de 32,6 T/ha), et les 11 arbres traités à la tétracycline 2 244 kg (équivalent de 44,8 T/ha). Le groupement des arbres en triplets homogènes, et les taux de récupération variables (meilleurs dans le cas de la tétracycline, que dans celui de la pénicilline, ont permis d'établir la courbe reliant les symptômes (en notation *greening* sur 40), et la productivité en kg/arbre (figure 43). On constate une relation de type exponentiel dans l'intervalle de notation *greening* situé entre 5 et 15. C'est dans cette *fourchette* que l'effet de l'antibiothérapie sur les rendements a été le plus remarquable.

autres, leur note étant comprise entre 25 et 30 en septembre 1977. Neuf mois après le début des traitements, les arbres ayant reçu de la pénicilline ou de la tétracycline affichaient une nette rémission des symptômes. Même pour les arbres des triplets très atteints, la note *greening* tombait au voisinage de 5, ce qui signifiait que les frondaisons avaient repris un aspect normal. Par contre, les sujets injectés avec de l'eau pure montraient soit un état stationnaire, soit une aggravation de la maladie.

L'analyse de la variance en répétitions simples a montré des différences très significatives par rapport au témoin (figure 41).

Figure 41 - Evolution des symptômes de *greening*.



Malgré le renouvellement des injections, l'année 1979 a été marquée par une brusque remontée des symptômes pour les arbres des séries pénicilline, dont les notes triplaient ou quadruplaient. Cette évolution a été irréversible si bien qu'en septembre 1980 la plupart de ces arbres avaient rattrapé les témoins, à l'exception des triplets II, III et XI. Une lente aggravation des symptômes était également enregistrée sur les arbres traités à la tétracycline mais en septembre 1980 les sujets ayant reçu cet antibiotique montraient encore des différences significatives par rapport aux témoins.

● Evolution des récoltes.

Les pesées de récolte ont eu lieu en mars 1978, mars 1979, mars 1980 et mars 1981, c'est-à-dire environ un mois et demi avant la date de maturité. On trouve le détail des récoltes par triplet sur le tableau 22. L'évolution des récoltes exprimées en moyennes par traitement apparaît sur la figure 42.

En mars 1978, soit trois mois après le traitement, aucune amélioration des rendements n'a été notée.

Par contre en mars 1979, la reprise de production a été spectaculaire pour les arbres ayant subi un traitement antibiothérapique. Les arbres traités à la pénicilline des triplets II, III, VII et XI ont

Tableau 22 - Effets curatifs obtenus par injection de tétracycline ou de pénicilline sur des orangers atteints de *greening*.
Résultats cumulés de quatre années.

Variété	Répétition	Traitement	N° arbre	Note Greening (de 0 à 40)				Récolte en kg				
				sept. 77	sept. 78	sept. 79	sept. 80	mars 78	mars 79	fév. 80	mars 81	Total récolte
Valencia late	I	Te	H16	31	32	40	40	0	0	0	0	0
		Pe	C20	22	4	11	12	0	21	25	4	50
		Tr	E9	27	9	11	15	4	126	48	35	213
	II	Te	D9	25	23	29	32	0	7	4	0	11
		Pe	C9	32	10	21	12	4	35	36	0	62
		Tr	B8	32	3	8	23	0	10	52	0	62
	III	Te	E15	9	16	30	29	44	50	8	0	102
		Pe	C19	12	10	25	20	0	90	69	16	175
		Tr	F10	15	2	12	11	8	40	92	38	178
	IV	Te	D11	15	21	23	22	33	70	17	12	132
		Pe	D17	16	5	26	33	0	80	65	0	145
		Tr	F16	10	2	9	8	16	135	98	20	269
	V	Te	J17	20	32	30	34	10	35	20	0	65
		Pe	H9	26	3	7	26	26	112	50	35	223
		Tr	J9	19	3	5	13	30	130	48	40	248
Hamlin	VI	Te	C16	9	9	31	34	6	58	15	0	79
		Pe	A5	9	4	15	29	51	97	28	15	191
		Tr	J7	13	4	7	16	23	115	122	24	284
	VII	Te	B16	10	10	30	38	51	20	5	0	76
		Pe	E16	14	4	11	32	62	138	75	3	278
		Tr	I6	14	0	6	22	34	113	84	15	246
Sweet seedling	VIII	Te	B14	9	9	15	24	40	92	17	18	167
		Pe	J6	12	9	23	35	38	84	32	0	154
		Tr	B12	13	3	7	6	14	81	67	13	175
	IX	Te	J13	9	3	6	16	84	22	112	6	224
		Pe	I18	9	6	19	29	27	83	45	11	166
		Tr	B15	15	1	4	12	7	114	85	20	226
Pineapple	X	Te	K1	25	27	30	40	0	0	0	0	0
		Pe	B2	31	1	30	32	0	44	15	0	59
		Tr	I5	25	2	12	26	20	104	110	3	237
Navel	XI	Te	G1	16	12	23	27	0	12	4	4	20
		Pe	C3	10	0	8	10	6	45	32	42	113
		Tr	C1	9	1	6	10	0	23	48	35	106

Te : Témoin Pe : Pénicilline Tr : Tétracycline

donné des rendements supérieurs non seulement à ceux des témoins mais aussi à ceux du groupe tétracycline. En production cumulée sur quatre ans les onze arbres témoins ont fourni 876 kg de fruits, soit l'équivalent de 17,5 T/ha, les 11 arbres traités à la pénicilline 1 629 kg (équivalent de 32,6 T/ha), et les 11 arbres traités à la tétracycline 2 244 kg (équivalent de 44,8 T/ha). Le groupement des arbres en triplets homogènes, et les taux de récupération variables (meilleurs dans le cas de la tétracycline, que dans celui de la pénicilline, ont permis d'établir la courbe reliant les symptômes (en notation *greening* sur 40), et la productivité en kg/arbre (figure 43). On constate une relation de type exponentiel dans l'intervalle de notation *greening* situé entre 5 et 15. C'est dans cette *fourchette* que l'effet de l'antibiothérapie sur les rendements a été le plus remarquable.

Figure 42 - Evolution du poids des récoltes en kg par arbre.

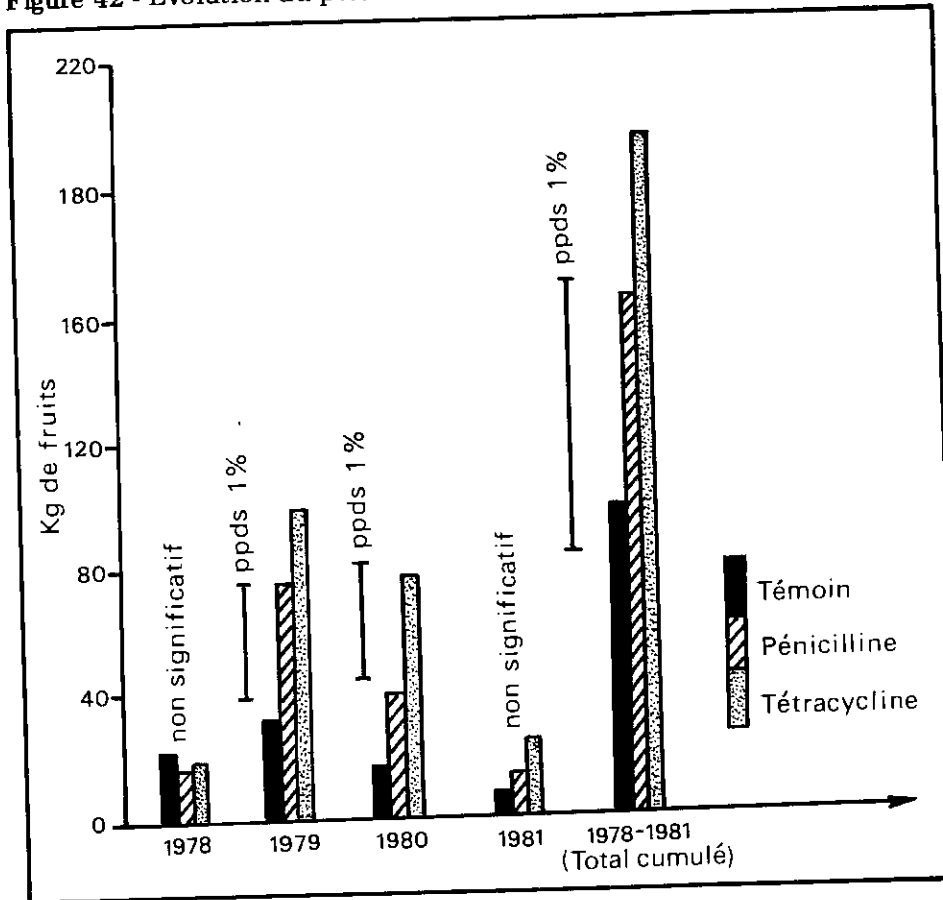
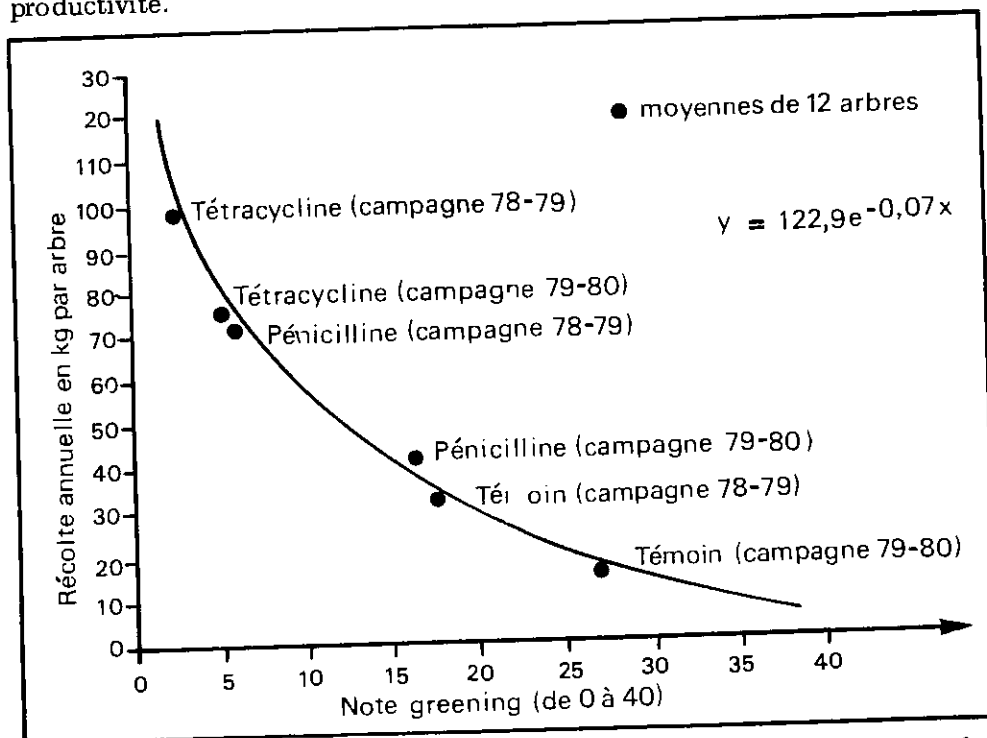


Figure 43 - Relation entre symptômes de *greening* en notation sur 40 et productivité.



La technique d'injection utilisée a permis d'obtenir rapidement des concentrations d'antibiotique de 3.10^{-5} par mg de nervure fraîche.

Elle était relativement fiable, et assurait une répartition correcte du produit dans l'arbre. La dose atteinte dans les nervures était légèrement inférieure à celle obtenue par DANIEL (1982), sur des plantes en pots recevant l'antibiotique dans l'eau d'irrigation.

Au cours des quatre années qu'ont duré les observations et les traitements, le verger n'a subi que de très faibles infestations de psylles. Il convient donc d'attribuer le développement des symptômes entre 1979 et 1980, beaucoup plus à une reprise d'activité des microorganismes pathogènes dans les tissus de l'hôte, qu'à leur réinoculation par vecteurs.

L'emploi de la pénicilline s'est traduit par une rémission spectaculaire des symptômes au cours des douze premiers mois du traitement. Toutefois l'effet bénéfique de cet antibiotique ne s'est guère prolongé au-delà d'une année malgré le renouvellement des injections.

Pour la tétracycline, on a enregistré une première réaction phytotoxique, à la dose employée, suivie d'un effet curatif beaucoup plus durable.

En Afrique du Sud, ce dernier antibiotique a été utilisé en injection dans le tronc avec quelque succès (SCHWARZ *et al.*, 1974 ; MOLL et VAN VUUREN, 1977). Récemment SMITH (1984) a montré que l'adjonction d'enzymes protéolytiques et/ou de nitrate de zinc dans la solution de tétracycline renforçait l'efficacité de l'antibiotique, grâce à une meilleure pénétration du produit jusqu'aux feuilles. Cet auteur recommande d'injecter 4 litres de solution de tétracycline, à raison de 3 g/l, pour des arbres de 20 ans. La diffusion de l'antibiotique est sensiblement améliorée si on ajoute 20 g de nitrate de zinc dans la solution (soit 5 g/l), à pH 3. La combinaison tétracycline + hyaluronidase (1 ampoule de 1 000 unités Berger par arbre), augmente aussi le taux de pénétration de l'antibiotique dans l'arbre. Une taille sévère effectuée quelques jours après le traitement antibiothérapeutique, favorise l'apparition de nouvelles pousses saines. Il est important de diluer la tétracycline HCl dans une quantité d'eau suffisante, pour éviter la formation d'un précipité dans la solution ce qui diminue l'efficacité du traitement.

Comparaison entre Tétracycline HCl et PMT.

Récemment BUITENDAG et BRONKHORST (1984), ont obtenu un excellent effet curatif avec une autre forme de tétracycline : la N pyrrolidinométhyl tétracycline ou PMT. Ce produit présente l'intérêt de pouvoir être injecté à très forte concentration : 1,5 g de PMT pour 24 ml d'eau. Dans les vergers de Rustenburg (Afrique du Sud), des orangers Valencia late atteints de *greening* ont favorablement réagi à cette thérapie appliquée sous forme de micro-injections à la seringue.

Nous avons comparé l'efficacité de la Tétracycline HCl et celle du PMT selon un protocole analogue à celui décrit précédemment. Neuf triplets de mandariniers Beauty greffés sur Citrange Troyer ont été sélectionnés dans un verger entré en sixième année de plantation. Chaque triplet était composé de trois arbres montrant le même degré d'attaque de *greening*. Les arbres traités à la Tétracycline ont reçu une injection de 1 litre à la concentration de 3 g/l. Les arbres traités au PMT ont reçu deux micro-injections à la seringue de 0,5 g de PMT chacune dans 8 ml d'eau. L'essai a été conduit sur trois ans, les injections étant renouvelées chaque année en novembre. Les résultats apparaissent dans le tableau 23.

Les résultats obtenus montrent un très net recul des symptômes en 1986 sur les arbres ayant reçu une injection d'antibiotique, suivi d'une réapparition des symptômes en 1987. Dans le cas des arbres témoins on observe une aggravation lente mais continue du *greening*. En ce qui concerne la récolte, on a enregistré un léger avantage de la tétracycline par rapport au PMT. Les notations de sous-secteurs de couronnes ont montré que la micro injection à la seringue n'entraînait pas une diffusion aussi efficace du produit dans l'arbre. Toutefois les normes d'utilisation du PMT se font sur la base de 1 PMT pour 2 tétracycline HCl. Les sujets soumis à ce dernier traitement ont donc reçu une quantité d'antibiotique supérieure à celle de leurs homologues PMT. Il semble aussi que les orangers réagissent mieux au traitement antibiotique que les mandariniers. Cette constatation faite à la Réunion a pu être confirmée récemment dans une plantation privée des Philippines.

La technique d'injection utilisée a permis d'obtenir rapidement des concentrations d'antibiotique de 3.10^{-5} par mg de nervure fraîche.

Elle était relativement fiable, et assurait une répartition correcte du produit dans l'arbre. La dose atteinte dans les nervures était légèrement inférieure à celle obtenue par DANIEL (1982), sur des plantes en pots recevant l'antibiotique dans l'eau d'irrigation.

Au cours des quatre années qu'ont duré les observations et les traitements, le verger n'a subi que de très faibles infestations de psylles. Il convient donc d'attribuer le développement des symptômes entre 1979 et 1980, beaucoup plus à une reprise d'activité des microorganismes pathogènes dans les tissus de l'hôte, qu'à leur réinoculation par vecteurs.

L'emploi de la pénicilline s'est traduit par une rémission spectaculaire des symptômes au cours des douze premiers mois du traitement. Toutefois l'effet bénéfique de cet antibiotique ne s'est guère prolongé au-delà d'une année malgré le renouvellement des injections.

Pour la tétracycline, on a enregistré une première réaction phytotoxique, à la dose employée, suivie d'un effet curatif beaucoup plus durable.

En Afrique du Sud, ce dernier antibiotique a été utilisé en injection dans le tronc avec quelque succès (SCHWARZ *et al.*, 1974 ; MOLL et VAN VUUREN, 1977). Récemment SMITH (1984) a montré que l'adjonction d'enzymes protéolytiques et/ou de nitrate de zinc dans la solution de tétracycline renforçait l'efficacité de l'antibiotique, grâce à une meilleure pénétration du produit jusqu'aux feuilles. Cet auteur recommande d'injecter 4 litres de solution de tétracycline, à raison de 3 g/l, pour des arbres de 20 ans. La diffusion de l'antibiotique est sensiblement améliorée si on ajoute 20 g de nitrate de zinc dans la solution (soit 5 g/l), à pH 3. La combinaison tétracycline + hyaluronidase (1 ampoule de 1 000 unités Berger par arbre), augmente aussi le taux de pénétration de l'antibiotique dans l'arbre. Une taille sévère effectuée quelques jours après le traitement antibiothérapeutique, favorise l'apparition de nouvelles pousses saines. Il est important de diluer la tétracycline HCl dans une quantité d'eau suffisante, pour éviter la formation d'un précipité dans la solution ce qui diminue l'efficacité du traitement.

Comparaison entre Tétracycline HCl et PMT.

Récemment BUITENDAG et BRONKHORST (1984), ont obtenu un excellent effet curatif avec une autre forme de tétracycline : la N pyrrolidinométhyl tétracycline ou PMT. Ce produit présente l'intérêt de pouvoir être injecté à très forte concentration : 1,5 g de PMT pour 24 ml d'eau. Dans les vergers de Rustenburg (Afrique du Sud), des orangers Valencia late atteints de *greening* ont favorablement réagi à cette thérapie appliquée sous forme de micro-injections à la seringue.

Nous avons comparé l'efficacité de la Tétracycline HCl et celle du PMT selon un protocole analogue à celui décrit précédemment. Neuf triplets de mandariniers Beauty greffés sur Citrange Troyer ont été sélectionnés dans un verger entré en sixième année de plantation. Chaque triplet était composé de trois arbres montrant le même degré d'attaque de *greening*. Les arbres traités à la Tétracycline ont reçu une injection de 1 litre à la concentration de 3 g/l. Les arbres traités au PMT ont reçu deux micro-injections à la seringue de 0,5 g de PMT chacune dans 8 ml d'eau. L'essai a été conduit sur trois ans, les injections étant renouvelées chaque année en novembre. Les résultats apparaissent dans le tableau 23.

Les résultats obtenus montrent un très net recul des symptômes en 1986 sur les arbres ayant reçu une injection d'antibiotique, suivi d'une réapparition des symptômes en 1987. Dans le cas des arbres témoins on observe une aggravation lente mais continue du *greening*. En ce qui concerne la récolte, on a enregistré un léger avantage de la tétracycline par rapport au PMT. Les notations de sous-secteurs de couronnes ont montré que la micro-injection à la seringue n'entraînait pas une diffusion aussi efficace du produit dans l'arbre. Toutefois les normes d'utilisation du PMT se font sur la base de 1 PMT pour 2 tétracycline HCl. Les sujets soumis à ce dernier traitement ont donc reçu une quantité d'antibiotique supérieure à celle de leurs homologues PMT. Il semble aussi que les orangers réagissent mieux au traitement antibiotique que les mandariniers. Cette constatation faite à la Réunion a pu être confirmée récemment dans une plantation privée des Philippines.

Tableau 23 - Notations de la frondaison entre 1985 et 1987 et récoltes 1987 sur 9 triplets de mandariniers (comparaison de traitements PMT et Tétracycline voir explication p. 97).

	TEMOIN					PMT					TETRACYCLINE HCl				
	N° d'arbre	Notes greening/40			Récolte 1987 kg	N° d'arbre	Notes greening/40			Récolte 1987 kg	N° d'arbre	Notes greening/40			Récolte 1987 kg
		1985	1986	1987			1985	1986	1987			1985	1986	1987	
Triplet I	L7	20	18	12	0	I12	23	4	12	58	L8	23	2	5	125
Triplet II	I1	12	10	15	40	J9	14	7	15	66	K11	15	10	6	52
Triplet III	H4	9	18	22	75	G8	10	9	4	121	I4	10	5	5	152
Triplet IV	J11	9	14	20	31	I10	12	6	18	35	K12	16	2	4	73
Triplet V	G2	8	10	19	80		6	0	18	30	K9	6	4	5	30
Triplet VI	H5	5	7	20	40	K2	5	3	8	28	L2	7	2	12	86
Triplet VII	E10	24	18	16	7	L11	24	0	10	40	B9	24	4	18	69
Triplet VIII	K4	12	8	18	0	J5	25	8	12	34	I11	6	11	8	34
Triplet IX	G5	7	15	12	33	F6	6	0	4	106	F5	5	0	5	127
Moyennes		11,7	13,1	17,1	34,0		13,8	4,1	11,2	57,5		12,4	4,4	7,5	83,1

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les substances antibiotiques interviennent généralement par simple action bactériostatique, ce qui pourrait expliquer la réapparition de la maladie sur la couronne de l'arbre, même en l'absence de vécation animale ultérieure. Nous avons d'ailleurs réussi à transmettre à plusieurs reprises la maladie du *greening* par greffe d'inoculation en prélevant l'inoculum sur des arbres ayant subi au préalable un traitement soit à la pénicilline, soit à la tétracycline, ce qui illustre bien les limites de l'antibiothérapie par traitement des arbres en injection dans le tronc.

La courte rémission obtenue avec la pénicilline, confirme les résultats d'essais conduits parallèlement sur des plants cultivés en serre (BOVE *et al.*, 1980). Elle n'est pas en contradiction avec les observations de l'ultrastructure des microorganismes associés à la maladie du *greening*. Il est reconnu en effet que la pénicilline agit de façon sélective sur les bactéries en phase de développement. Elle reste sans effet lorsque leur croissance est terminée. La lyse est occasionnée par des inhibitions de la réticulation des chaînes peptidiques de la paroi cellulaire. Les bactéries Gram négatif sont en général plus résistantes à la benzylpénicilline (pénicilline G) et aux béta-lactamines que les bactéries Gram⁺. Tous ces faits pourraient expliquer la courte durée d'action de la pénicilline.

Quoiqu'il en soit les résultats que nous avons obtenus avec la pénicilline, accréditent l'idée que la maladie du *greening* est associée à une bactérie de type Gracillicute (ou bactérie Gram négatif selon la division des procaryotes proposée par GIBBONS et MURRAY, 1979). Ils excluent en tout cas l'hypothèse d'un agent causal de type *mycoplasme*, cette dernière catégorie d'organisme étant dépourvue de paroi cellulaire, reste insensible à la pénicilline.

Une confirmation de la présence de peptidoglycane dans l'enveloppe des microorganismes associés à la maladie du *greening* a été apportée récemment par GARNIER *et al.* (1984). Sur des plants de pervenche infectés à l'aide d'un pont de cuscute, d'abondantes colonies de ce procaryote ont été obtenues dans le phloème des nervures de feuilles. En traitant par de la papaïne ces nervures de pervenche infectées, il a été possible de visualiser un feuillet ressemblant à du peptidoglycane. Ce feuillet a disparu après traitement par du lysozyme.

EN DEFINITIVE, il nous importait de vérifier *in situ*, c'est-à-dire en conditions d'inoculation naturelle, l'efficacité de la pénicilline. Cette démarche était destinée à conforter les thèses avancées sur l'étiologie des traumatismes constatés dans les vergers d'agrumes réunionnais. La réponse obtenue s'est avérée cohérente avec les observations de l'ultrastructure des microorganismes endocellulaires

associés à la maladie du *greening*. Les travaux de GARNIER *et al.* (1976), et GARNIER et BOVE (1977) concernant les bactéries endocellulaires associées au likubin de Taïwan, ou au Citrus decline de l'Inde, se trouvent ainsi confirmés dans le cas de l'île de la Réunion.

En ce qui concerne la stratégie de lutte antiparasitaire, l'injection de tétracycline dans le tronc des arbres malades constitue une intervention momentanément efficace puisqu'elle permet de doubler la production, mais elle est difficilement exploitable à long terme. En effet même en l'absence de recontamination par les vecteurs, la maladie réapparaît assez rapidement en deuxième et surtout troisième année. L'action bactériostatique ne vient pas aider un système de défense immunitaire comme chez l'animal et les risques de résistance ne sont pas à exclure. C'est d'ailleurs pour cette dernière raison que la législation française n'autorise pas l'emploi des antibiotiques pour lutter contre les phytobactérioses (COLENO, 1979). Signalons néanmoins qu'un mode d'emploi intéressant de la tétracycline HCl consiste à tremper les greffons dans une solution à 1.500 à 2.000 ppm pendant 2 heures, ce qui constitue d'après KE *et al.* (1987), un moyen efficace d'empêcher la propagation de la maladie par la greffe.

DEUXIÈME PARTIE

Études concernant les vecteurs et leurs parasites

CHAPITRE 4

LES DEUX PSYLLES VECTEURS DU GREENING *DIAPHORINA CITRI* KUWAYAMA ET *TRIOZA ERYTREA* (DEL GUERCIO)

LES DEUX PSYLLES VECTEURS DU GREENING : POSITION TAXONOMIQUE ET CLEFS D'IDENTIFICATION PAR RAPPORT A D'AUTRES PSYLLES S'ALIMENTANT SUR AGRUMES

Les psylles totalisent environ 1.500 espèces à répartition mondiale et s'attaquent à l'ensemble des végétaux hormis les Cryptogames.

Les espèces appartenant au genre *Trioza* se rencontrent dans la plupart des régions du globe (HOLLIS, 1984). Par contre le genre *Diaphorina* est limité à trois grandes zones biogéographiques ou empires : l'empire holarctique ou boréal, l'empire oriental ou indo-malais, et l'empire éthiopien ou africano-malgache (HODKINSON, 1980). Dans l'empire néotropical qui s'étend de l'Amérique centrale et des Caraïbes à la Patagonie, il convient de mentionner l'introduction récente au Brésil du psylle asiatique des agrumes *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HODKINSON et WHITE, 1981).

Position taxonomique et description des adultes.

Les psylles se classent dans l'ordre des Homoptères sternorhynches et sont caractérisés par un allongement ventral et postérieur du *gnatocéphalon* qui reporte l'insertion du *labium* en arrière des pattes antérieures (figure 44 A, 44 B et 45).

Les deux vecteurs du *greening* : *Diaphorina citri* KYWAYAMA et *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO) appartiennent au sous-ordre des *Psyllinea*. Le premier se classe dans la famille des *Diaphoridae* et le second dans celle des *Triozidae*.

Les *Psyllinea* se singularisent par leurs pattes postérieures aptes au saut, leurs ailes bien développées à nervation complète disposées en toit au repos, et leurs tarse de deux articles terminés par deux ongles avec *pulvillus*. L'extrémité des ailes antérieures est pointue chez le genre *Trioza* et de forme arrondie chez *Diaphorina*. Une des principales caractéristiques de la famille des *Psyllinea* réside dans les pièces buccales placées en position ventrale. Le *labium* qui a subi une courbure près de sa base oblige le stylet à travailler perpendiculairement au substrat. L'imbrication des trois soies qui peuvent coulisser l'une sur l'autre par mouvement saccadé, assure à la fois le rôle vulnérant et celui de ponction de la sève. L'insecte en piquant le limbe secrète une salive qui se fige à la surface des soies et forme la *gaine sétale* (figures 46 A et 46 B). Le stylet dont le diamètre ne dépasse guère 3μ peut se déployer sur une longueur de 0,25 mm. Il est doté de papilles sensorielles facilitant une prise de nourriture sélective dans le phloème.

L'aspect de *D. citri* et *T. erytrae* diffère non seulement par la forme des ailes mais également par l'allure de la tête. Dans le cas de *D. citri*, les *cônes jugaux* viennent prolonger la ligne du *vertex* (figure 44 B). *T. erytrae* présente des yeux très proéminents lui assurant un champ visuel étendu. Le

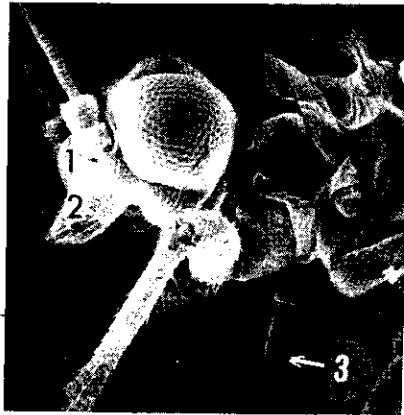
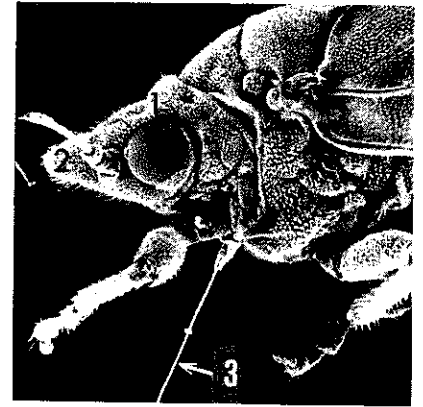
A - *Trioza erytreae*B - *Diaphorina citri*

Figure 44 - Vues latérales en microscopie électronique à balayage de la tête et du thorax de *Trioza erytreae* et de *Diaphorina citri* (préparation et observation du sujet selon la technique de GUILLAUMIN, 1980).



- 1) Labium.
- 2) Apec du labium.
- 3) Stylet.
- 4) Clypeus.
- 5) Cône jugal.
- 6) Coxa.

(x 270)

Figure 45 - Tête observée du côté de la face ventrale (*Diaphorina citri*). (Technique de GUILLAUMIN, 1980).

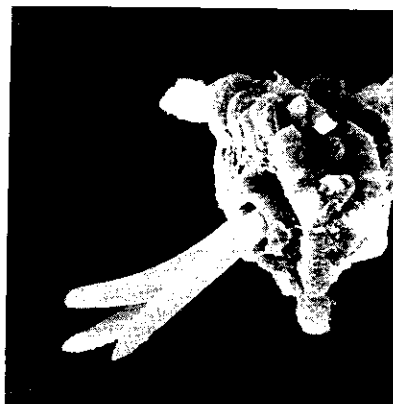
départ des antennes est perpendiculaire au sommet du *vertex* et leur longueur correspond à celle du thorax et de la tête réunis. Les *cônes jugaux* sont légèrement retroussés (figures 44 A et 47).

Le *thorax* assez volumineux chez les deux espèces est divisé en trois segments thoraciques. Le premier d'entre eux forme, du côté dorsal, le *pronotum* qui constitue une large voûte protectrice des zones d'insertion des ailes.

L'*abdomen* chez *D. citri* et *T. erytreae* est constitué de 6 tergites différenciés (côté dorsal) et 6 sternites (côté ventral). Avec l'âge les sternites de *T. erytreae* deviennent très foncés alors que les tergites restent verdâtres. Dans le cas de *D. citri*, les sternites se colorent en rose chez les femelles ma-

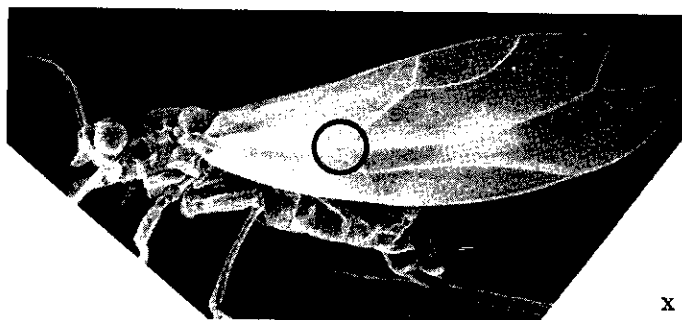


A - Stylet perforant l'épiderme inférieur d'une feuille d'oranger au niveau d'un stomate, et montrant une accumulation de salive au contact de l'épiderme.



B - Extrémité du stylet en rétraction avec sa gaine sétale : les trois soies apparaissent clairement.

Figure 46 - Détail du stylet, des soies et de la gaine sétale. (selon la technique de GUILLAUMIN, 1980).



○ = point trifurqué

x 30

Figure 47 - Aspect général d'un imago de *Trioza erytreae* femelle (selon la technique de GUILLAUMIN, 1980).

tures mais prennent souvent une teinte bleuâtre chez les jeunes adultes.

Les ailes antérieures de *D. citri* sont recouvertes de *spinules* très abondantes et réparties par plages, celles de *T. erytreae* sont translucides et montrent sur le bord postérieur de fins *microtriches* disposés en triangle (voir figure 52).

Les trois nervures principales de *T. erytreae* convergent en un même point trifurqué (figure 47). Chez les *Psyllinea*, la nervation comprend trois parties : la nervure radiale divisée en *radiale principale R* et *radiale secondaire r*, la nervure médiane divisée en *médiane principale M* et *médiane secondaire m*, enfin la nervure cubitale divisée en *cubitale principale Cu* et *cubitale secondaire cu*. Cet ensemble détermine à la surface de l'aile des espaces plus ou moins importants appelés *cellules*. Une partie de la *cellule rs* située entre les nervures radiale et médiane est utilisée comme zone de référence par les taxonomistes pour le classement des espèces appartenant au genre *Diaphorina* (BURCKHARDT 1984) (figure 48).

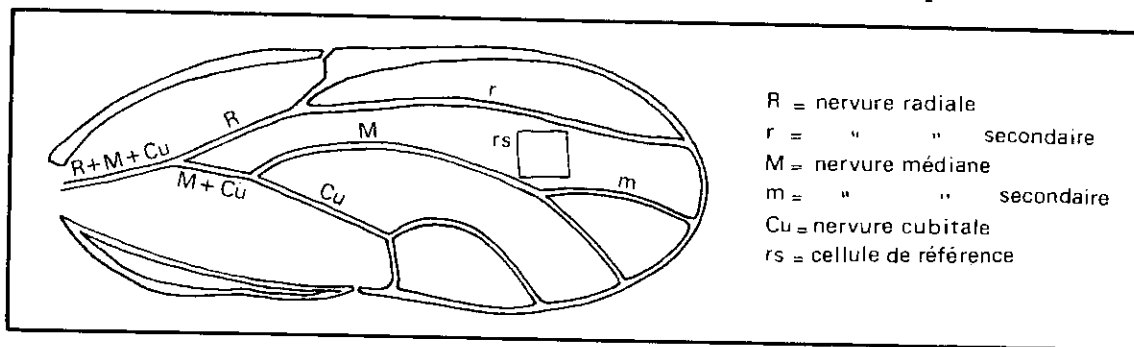
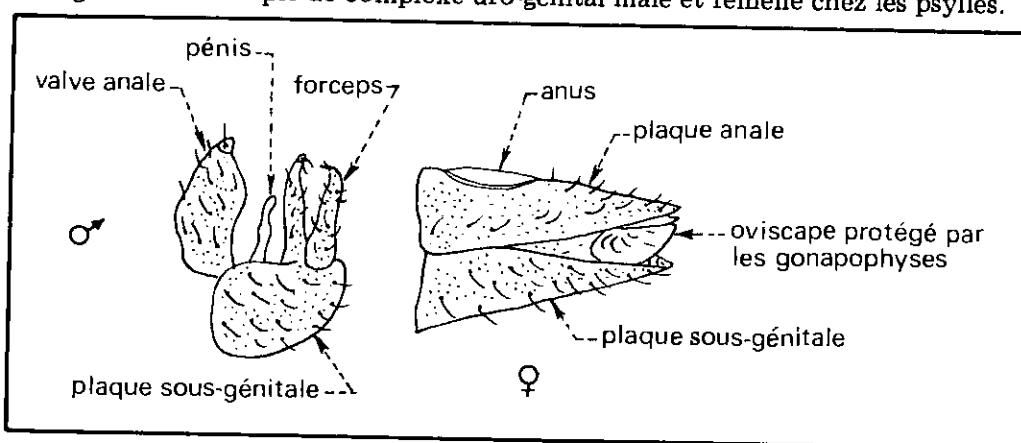
Figure 48 - Aile antérieure des espèces appartenant au genre *Diaphorina*.

Figure 49 - Exemple de complexe uro-génital mâle et femelle chez les psylles.



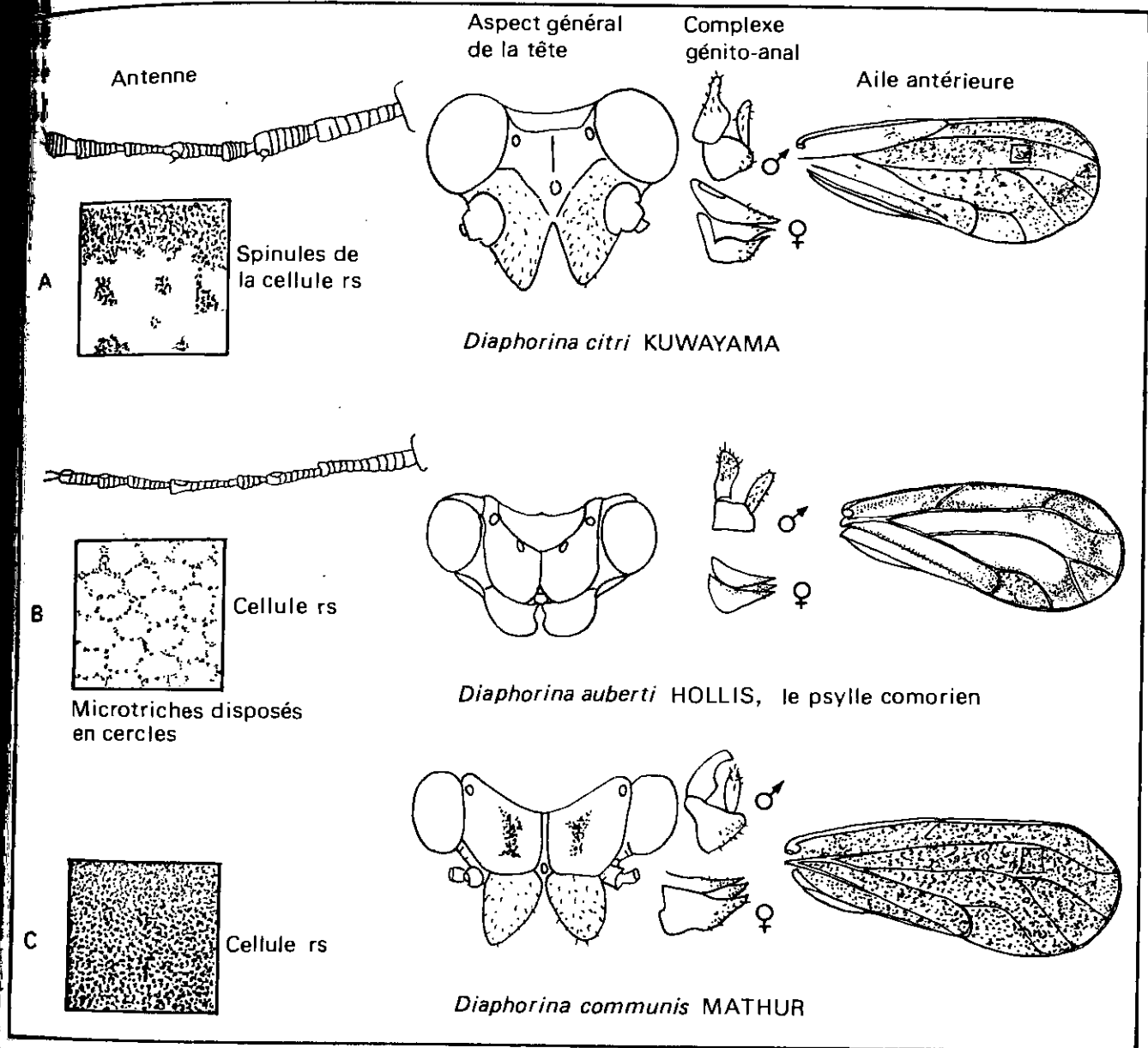
Le complexe uro-génital des psylles comprend une plaque sous-génitale sur laquelle viennent s'articuler les organes mâles ou femelles. Les organes mâles se composent d'une paire de *forceps*, du *pénis*, et de la *valve anale* (figure 49). La morphologie et la disposition de ces pièces constituent des critères utilisés par les taxonomistes. Il en va de même des organes femelles comprenant la *plaque anale* qui s'articule sur la *plaque sous-génitale* ; ces deux pièces renferment l'*oviscape* lequel est protégé par trois paires de *gonapophyses*. Tous ces organes sont recouverts de soies sensorielles (figure 49).

Autres psylles adultes s'alimentant sur agrumes.

En plus des deux espèces décrites précédemment, sept autres psylles ont été signalés par divers auteurs en position d'alimentation sur les agrumes, mais on ignore s'ils peuvent ou non transmettre le *greening*. Certains d'entre eux montrent une grande ressemblance soit avec *D. citri* soit avec *T. erytrae*. C'est la raison pour laquelle divers caractères distinctifs sont donnés sur la figure 50. L'observation de ces psylles a été effectuée sur des adultes disséqués et montés selon la technique décrite par MARTIN (1982). Cette technique comprend trois phases : la *macération* à chaud dans plusieurs liquides successifs portés à ébullition dans un bain marie (l'éthanol 95 p. 100, la potasse 10 p. 100, puis à nouveau l'éthanol 95 p. 100 et le chloralphénol), la *dissection* et enfin le *montage* sur lame et lamelle dans le baume du Canada.

• Espèces du genre *Diaphorina*.

En Afrique australe CATLING, 1970 a mentionné dans les vergers d'agrumes de Malkerns au Swaziland la présence de *Diaphorina punctulata* PETTEY et *Diaphorina zebrana* CAPENER, mais n'a

Figure 50 - Détails morphologiques de trois *Diaphorina* inféodés aux agrumes.

pu obtenir de transmission du *greening* par l'intermédiaire de ces Homoptères. Dans l'archipel des Comores une nouvelle espèce apparentée à *Diaphorina amoena* CAPENER et identifiée récemment par HOLLIS (1987) comme *Diaphorina auberti*, a été trouvée sur citronnier *maraba* ou sur oranger de semis à Njoungue (Grande Comore) et Mutsamoudou, Mrémani (Anjouan) : (AUBERT, 1984 B). Par ailleurs MATHUR (1975) a signalé en Inde la présence sur agrumes de *Diaphorina communis* MATHUR synonyme de *Diaphorina mathuri* LOGINOVA. Plusieurs caractères taxonomiques apparaissent sur la figure 50 pour les trois espèces, *D. citri*, *D. auberti* et *D. communis*. De nombreuses différences apparaissent au niveau de la tête (notamment en ce qui concerne la longueur des cônes juvau), du complexe des spinules sur les ailes, ou même des sensoria de l'antenne. L'espèce trouvée aux Comores se caractérise notamment par des ailes antérieures très peu chargées de spinules, mais l'ensemble de la surface de l'aide y compris la cellule rs possède des microtriches disposés en cercles plus ou moins réguliers. *D. citri* montre une plage indemne de spinules assez caractéristique, qui s'étend jusqu'à l'extrémité de l'aile, et dont le détail apparaît sur la figure 51. Par contre l'aile de *D. communis* est entièrement recouverte de spinules (figure 50 C).

Plage indemne
de spinules

Figure 51 - Détail de l'aile antérieure de *Diaphorina citri*.

x 35

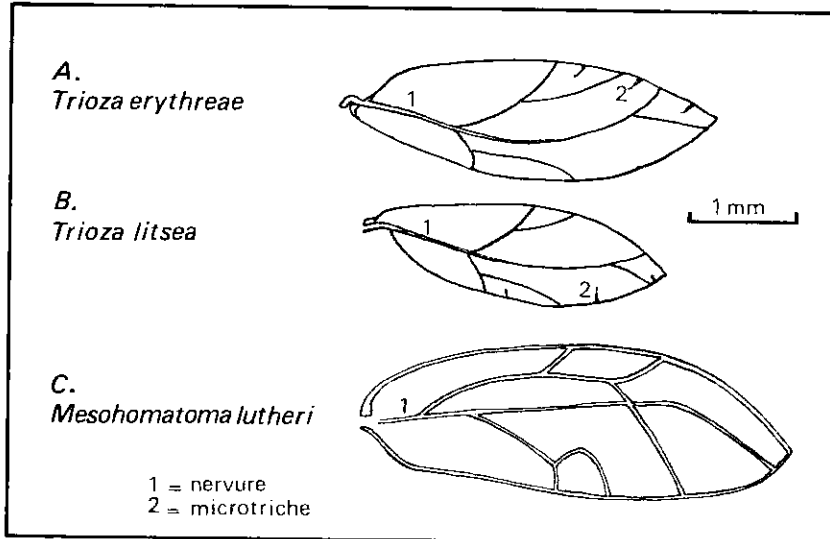


Figure 52 - Aspect de l'aile antérieure de trois psylles rencontrés régulièrement ou occasionnellement sur agrumes.

● Espèces des genres *Trioza* et *Mesohomatoma*.

A l'île de la Réunion deux autres psylles ont été trouvés en position d'alimentation sur agrumes. Il s'agit de *Trioza litseae* BORDAGE, synonyme de *Trioza eastopi* ORIAN, un psylle dont l'allure générale est assez voisine de *T. erythrae*, mais de taille plus petite, et *Mesohomatoma lutheri* (ENDERLEIN) un Homoptère de grande dimension dont l'aile antérieure présente une zone quadrifurquée au niveau de la nervure médiane (figure 52 C). En Afrique du Sud, en Tanzanie, et au Kenya, l'espèce *Trioza catlingi* inféodée à *Cissampelos* et *Stephania* est morphologiquement très voisine de *T. erythrae* à tel point qu'il est quelquefois impossible de distinguer les deux espèces (HOLLIS *in litt.*, 1984). De même l'espèce *Trioza menispermicola* inféodée à diverses Menispermacées du Ghana et du Nigéria présente des adultes identiques à *T. erythrae*. D'après HOLLIS (1984), il existe également 8 autres espèces afro-tropicales de *Trioza* extrêmement voisines morphologiquement de *T. erythrae*.

En Chine, dans la province du Yunnan, une nouvelle espèce de *Trioza* a été découverte en 1984 sur mandarinier par YANG CHI-KUN et LI FA CHENG. Il s'agit de *Trioza citroimpura* sp. n., espèce assez proche taxonomiquement de *T. erythrae* et dont on s'interroge sur les aptitudes à transmettre le greening. Les larves de *T. citroimpura* occasionnent la formation de galles analogues à celle de *T. erythrae*.

● Espèces du genre *Psylla*.

Toujours dans la province du Yunnan en Chine, deux nouvelles espèces s'attaquant aux agrumes ont été découvertes par YANG CHI-KUN et LI FA CHANG (1984). *Psylla citrisuga* sp. n. est une espèce qui provoque des dégâts sur les jeunes bourgeons : l'adulte est de couleur verte, ses oeufs sont noirs. *Psylla citricola* sp. n. est un psylle marron clair qui se développe surtout sur *Citrus grandis*.

Dégâts caractéristiques provoqués sur agrumes par trois psyllidés.

Les larves de plusieurs espèces de *Psylloinea* occasionnent des déformations caractéristiques sur les feuilles de nombreuses plantes et les agrumes n'échappent pas à cette règle. Ces traumatismes persistent en général toute la durée de vie de la feuille, et peuvent constituer une véritable signature. Dans le cas d'arbres à feuilles persistantes comme les agrumes, ils offrent un grand intérêt pour le dépistage de colonies ou d'anciennes colonies de larves. Trois exemples apparaissent sur la figure 53. *Trioza erythrae* dont les larves sont gallicoles provoquent l'apparition de petites boursoufflures typiques sur le limbe (figure 53 A). En cas de surexploitation des pousses, les larves de *D. citri* peuvent entraîner

Figure 53 - Déformations de feuilles occasionnées par trois espèces de psyllides sur agrumes.



A - Galls sur feuilles d'orangers occasionnées par des larves de *Trioza erytrae*.

B - Pousse de lime mexicaine dont les jeunes feuilles ont hébergé d'abondantes colonies de larves de *Diaphorina citri* (Turabah Arabie Saoudite).



C - Jeunes pousses de lime Rangpur. Celle de gauche est colonisée par des larves de *D. auberti*, le psylle comorien. Les larves de ce psylle s'installent sur la nervure centrale de la face supérieure des jeunes feuilles qui se replient sur elles-mêmes du côté ventral. La pousse de droite prélevée sur le même arbre n'héberge aucune larve : (Njougue Grande Comore).

ner un recroquevillement du limbe (cas du limettier : figure 53 B) ou le dessèchement de la pousse (cas de *Murraya paniculata*). Enfin l'espèce *Diaphorina auberti* occasionne le repliement du limbe sur lui-même du côté de la face ventrale (figure 53 C).

On ne connaît pour le moment que deux espèces capables de transmettre le *greening* : *D. citri* et *T. erytrae*.

Zones de répartition de *D. citri* et *T. erytrae*.

● *D. citri*.

D. citri a été reconnu il y a près de trois quart de siècle comme étant un important ravageur des agrumes en Asie (CRAWFORD, 1919). HUSAIN et NATH (1927) ont signalé la présence de cet Homoptère en Inde au Pakistan et à Taiwan, HOFFMAN (1936) l'a trouvé dans le Sud de la Chine, EBELING (1959) en Birmanie, en Malaisie, en Indonésie et aux Philippines, WYNIGER (1962) à Ceylan, SO (1967) à Hong-Kong, MOREIRA (1967) à Maurice, BOVE et CASSIN (1968 a) à la Réunion, LIMA (1942) au Brésil et WOOLER *et al.* (1974) en Arabie Saoudite. *D. citri* a été également trouvé à Rodrigue (AUBERT, 1984 a).

● *T. erytrae*.

Les premières descriptions de *T. erytrae* ont été faites par LOUNSBURY (1897) en Afrique du Sud. L'insecte était décrit ultérieurement par DEL GUERCIO (1918) en Erythrée et au Kenya; GHESQUIERE le signalait au Congo et au Ruanda, WILSON et GOLDSMID (1962) en Rhodésie, WALLACE (1960) à Saint Héléne, ANGUS (1962) en Zambie, BRENIERE et DUBOIS (1965) à Madagascar. BOVE et CASSIN (1968) à la Réunion, BOVE et GARNIER (1984) au Yemen du Nord, LE PELLEY en Ouganda et GENTRY au Soudan, BOVE et AUBERT (1984) dans le Sud-Ouest de l'Arabie Saoudite. Des galles très semblables à celles laissées par les larves de *T. erytrae* ont été observées sur feuilles d'oranger à Rodrigue, AUBERT (1984).

T. erytrae est également présent à Sao Tomé, au Swaziland, au Malawi, en Angola, au Cameroun (HOLLIS, 1984), ainsi qu'au Gabon (AUBERT, 1986), et en Guinée équatoriale.

QUELQUES CARACTERES ECOLOGIQUES ET ETHOLOGIQUES DE QUATRE ESPECES DE PSYLLINEA OBSERVES SUR AGRUMES A L'ILE DE LA REUNION

Quatre espèces de *Psyllinea* se reproduisant et/ou s'alimentant sur agrumes à la Réunion vont être passées successivement en revue : *Diaphorina citri* KUWAYAMA, *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO), *Trioza litseae* BORDAGE et *Mesohomotoma lutheri* (ENDERLEIN). Il s'agit d'espèces *holométaboles*, c'est-à-dire pour lesquelles les larves néonates éclosent d'oeufs, et ne ressemblent pas du tout à l'imago. Le développement larvaire comporte 5 mues, la dernière d'entre elles donnant l'adulte ailé ou *imago*.

Le psylle asiatique : *D. citri* (synonyme *Euphalerus citri* KUW.).

A l'île de la Réunion les régions chaudes et sèches de la côte *sous-le-vent* ont constitué la zone de prédilection de *D. citri*, ce psylle étant beaucoup plus rarement observé sur la côte est, lorsque la pluviométrie annuelle dépasse 2 500 à 3 000 mm (figures 13 et 15). Les colonies les plus prospères ont été trouvées sur les Rutacées de la frange côtière située en-deçà de l'isohyète 1 000 mm notamment dans la région de St-Gilles, La Saline et Etang-Salé. Cette constatation rejoint d'ailleurs les études faites par CATLING (1968) aux Philippines et SCHWARZ *et al.* (1973) en Thaïlande quant aux exigences climatiques de ce psylle. *D. citri* est un insecte préférant les climats chauds et secs, et dont les larves ne sont pas gallicoles comme celles de *T. erytrae*. Elles se trouvent donc beaucoup plus exposées aux intempéries, particulièrement à la pluie. Les plantes hôtes les plus activement fréquentées par cet Homoptère à la Réunion sont par ordre d'importance *Murraya paniculata* (LAM.) JACK.,

ainsi que les limettiers : *Citrus aurantifolia* (CHRISTM.) SWINGLE, et *Citrus latifolia* (TAN.). *D. citri* peut aussi s'attaquer aux autres espèces du genre *Citrus*, et fréquenter diverses Rutacées comme on le verra plus loin.

Sur les élevages conduits en insectarium, nous avons pu constater que les individus de *D. citri* conservent une activité ambulatoire au cours des différents stades larvaires. Ils éclosent sur de très jeunes bourgeons et migrent vers les pétioles, les pédoncules floraux ou les brindilles vertes au moment de la quatrième mue, pour s'installer en colonies denses qui exercent une sévère action spoliatrice. Les larves excrètent un miellat cireux blanchâtre qui, en tombant sur les feuilles de la plante hôte, donne à celle-ci un aspect poussiéreux. Les adultes s'alimentent la plupart du temps à la face inférieure des feuilles le long de la nervure centrale. Ils délaissent en général la face supérieure des limbes, mais se placent quelquefois en position d'alimentation sur les rameaux lignifiés.

La durée de vie d'un adulte de *D. citri* est de l'ordre de 90 jours en période hivernale, mais ne dépasse guère 20 jours au cours des étés particulièrement chauds (HUSSAIN et NATH, 1927). Nous avons constaté dans les élevages que les femelles matures présentent au moment de la ponte un abdomen gonflé de couleur rose. Selon PANDE (1971), la ponte atteint 180 à 520 oeufs par individu, et les femelles ont une durée de vie supérieure à celle des mâles : le *sex ratio* est de 1 mâle pour 1,3 ou 2,5 femelles selon les saisons.

D. citri ne s'implante pas sous des climats aussi frais que *T. erytrae*. A l'île de la Réunion par exemple, l'*Homoptère asiatique* reste cantonné entre le niveau de la mer et 600 mètres d'altitude. Dans cette île, la moyenne thermique annuelle est, à 600 m, de 15,0°C pour les minimums, et 24,3°C pour les maximums, mais à cette altitude la moyenne pluviométrique annuelle se situe entre 1 500 et 2 000 mm.

Le psylle africain : *T. erytrae* (synonyme : *Trioza merwei* PETTEY = *Spanioza erytrae* D.G. *Trioza citri* LAING).

Les études entreprises par GREEN et CATLING (1971) sur la biologie de *T. erytrae* ont montré la grande sensibilité des oeufs et des larves de premier stade au degré de siccité de l'air. Pour exprimer la puissance de dessèchement de l'air, ces auteurs ont retenu une donnée climatique qui intègre à la fois la température et l'humidité relative : il s'agit du *déficit de saturation*, *DS*. *DS* représente la quantité de vapeur d'eau qu'il faudrait ajouter à l'air pour obtenir les conditions de vapeur saturante à la température du moment. On calcule le maximum de déficit de saturation de la journée *DSm*, en utilisant la température maximum et l'humidité relative minimum relevées au milieu de la journée, selon la formule suivante :

$$(1) \text{ DSm} = \text{PV tm} \times \frac{100 - \text{rh}}{100}$$

où *DSm* = déficit de saturation maximum

PV tm = pression de vapeur saturante correspondant à la température maximum enregistrée dans la journée (lue dans des tables psychrométriques)

rh = humidité relative observée m 13 h.

GREEN et CATLING (1971) ont montré que, dans les vergers d'agrumes sud-africains, la mortalité par dessiccation des oeufs et des premiers stades larvaires atteint 80 à 90 p. 100 chez *T. erytrae* lorsque le *déficit de saturation* de l'air dépasse 40 millibars. Cette mortalité n'est que de 30 p. 100 pour un *déficit de saturation* de 20 millibars, et pratiquement nulle en-dessous de 10 millibars.

Des valeurs de 40 millibars ou supérieures à 40 millibars sont couramment enregistrées en Afrique pour des altitudes inférieures à 500 mètres.

A l'île de la Réunion, le *déficit de saturation* ne dépasse pas 20 millibars dans la zone littorale la plus sèche, du fait de l'influence océanique très marquée alors que dans les régions hautes de la Réunion, il se maintient tout au long de l'année en-dessous de 10 millibars (AUBERT, 1977).

Avant l'introduction d'Hyménoptères parasites, le cycle de développement de *T. erytrae* pouvait donc se trouver uniquement tributaire des poussées végétatives sur la majeure partie du territoire réunionnais, les colonies les plus abondantes étant observées entre 800 et 1 000 mètres d'altitude au niveau de l'isohyète 4 000 mm principalement dans la région de Salazie et de la Plaine des Palmistes. Nous avons observé sur nos élevages que la femelle de *T. erytrae* dépose ses oeufs sur le pourtour des jeunes feuilles et non dans les primordiums comme celle de *D. citri*. L'éclosion de l'oeuf donne une larve de premier stade mobile qui vient se placer à la face inférieure du limbe. Mais lorsque le second stade larvaire est atteint, la larve se fixe définitivement en un point du limbe qui réagira par la formation d'une galle. Le corps aplati de la larve subit encore 3 autres mues au cours desquelles il se garnit de poils ciriers très serrés formant une lamelle qui maintient l'insecte à son support. Les limbes colonisés prennent un aspect bosselé qu'ils conservent définitivement (figure 53 A).

Le psylle de *Litsea* : *Trioza litseae* BORDAGE synonyme *Trioza eastopi* ORIAN.

Avant la mise en oeuvre du programme de lutte biologique, il était possible d'observer sur agrumes d'abondantes colonies de *Trioza litseae* BORDAGE. Colonisant aussi l'avocatier, le papayer ou le vanillier, les adultes de *T. litseae* choisissaient toutefois comme plante hôte préférentielle pour la ponte et la reproduction *Litsea glutinosa* (LOUR) C.B. Cette Lauracée, introduite par l'homme est devenue rapidement très commune dans l'île, du fait de sa dissémination par les oiseaux (CADET, 1977). Au cours du printemps austral de 1974 et de celui de 1975, nous avons observé des pontes de *Trioza litseae* sur orangers et mandariniers, conduisant à l'apparition de petites colonies de larves. Ces attaques ont été surtout notées dans les vergers de la région de l'Entre-Deux et de Saint-Pierre.

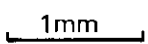
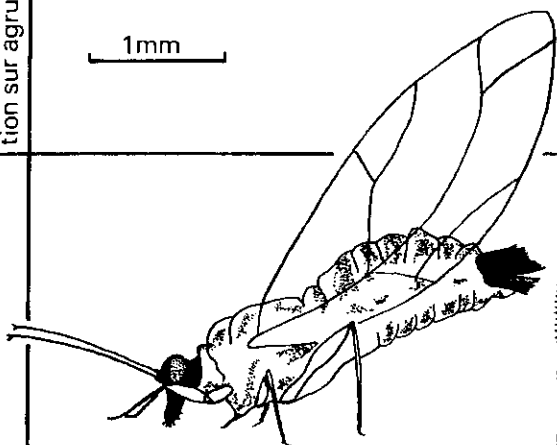
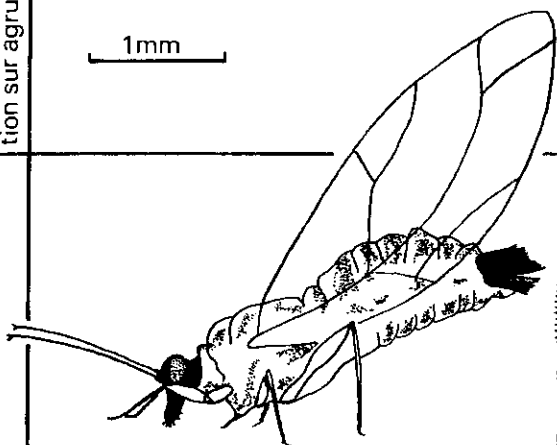
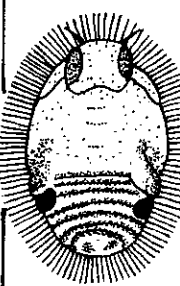





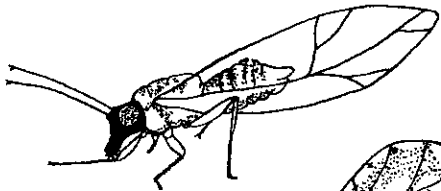
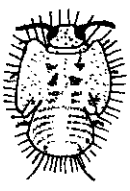





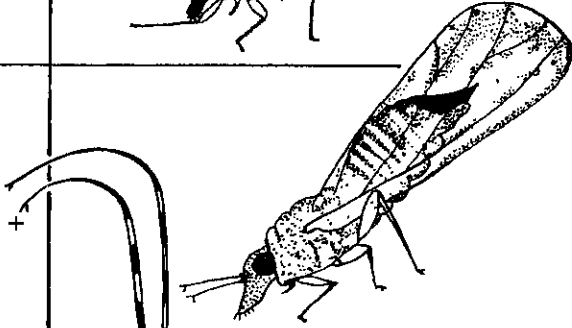
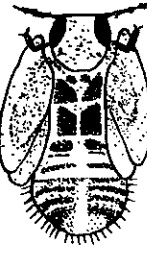





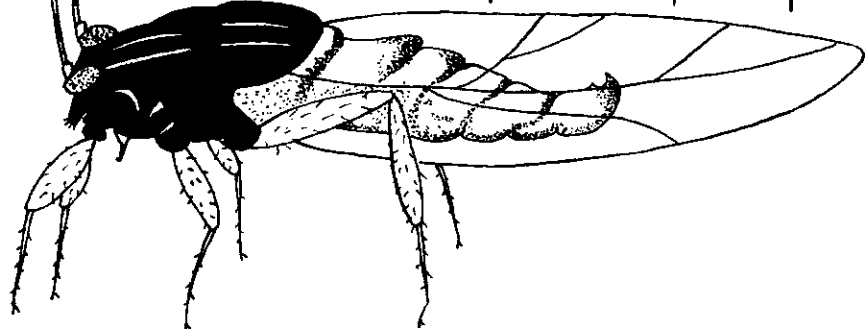
T. litsea est un psylle polyphage dont les caractères biologiques présentent des analogies à la fois avec *T. erytrae* et *D. citri*. Les oeufs de couleur noire donnent, après éclosion, des larves de premier stade, mobiles. A partir du second stade larvaire, les individus se maintiennent à la face inférieure du limbe et s'installent dans de petites galles dont la profondeur est moindre que celle occasionnée par *T. erytrae*. La larve est couverte de soies non cirières, deux d'entre elles se distinguent par leur plus grande longueur à l'extrémité de l'abdomen. Après l'émergence des adultes, les feuilles d'agrumes ou de *Litsea* ayant servi de support aux stades larvaires restent légèrement gaufrées. Une enquête, effectuée en 1975, a montré que *T. litseae* était répandu sur l'ensemble de l'île depuis les régions côtières jusque vers une altitude de 1 000 à 1 200 m (AUBERT, 1977). Signalé pour la première fois à la Réunion en 1898 par BORDAGE sur vanillier et *Litsea*, cet Homoptère a été réidentifié ultérieurement par ORIAN à Maurice. D'après HOLLIS (comm. pers.) *T. litseae* n'a pas encore été trouvé en dehors de l'archipel des Mascareignes. Connu jusqu'ici à la Réunion et Maurice, nous l'avons trouvé récemment aussi à l'île Rodrigue sur *Litsea glutinosa* (LOUR.) C.B. (AUBERT, 1984 A). L'espèce *Trioza xylopi* HOLLIS décrite au Kenya et en Tanzanie, ne se distingue de *T. litseae* que par la forme des larves de cinquième stade (HOLLIS, 1984), les autres stades larvaires ainsi que l'imago étant par ailleurs en tous points identiques.

Le psylle de l'Hibiscus.

Les adultes d'une quatrième espèce de psyllidé *Mesohomotoma lutheri* (ENDERLEIN) ont été observés exceptionnellement sur agrumes pendant de courtes périodes d'alimentation. Nous avons noté dans nos élevages que, placés en captivité sur des plants d'oranger comme seule source de nourriture, ils ne survivent guère plus de 10 jours. La femelle de ce psylle n'utilise pas les jeunes pousses d'agrumes comme site de ponte, la plante hôte préférentielle étant l'Hibiscus. Les larves de *M. lutheri* sécrètent une abondante cire floconneuse et laineuse, ce qui les distingue très nettement des larves de *Trioza*. La taille des imagos est sensiblement plus grande que celle des trois autres psylles. Il s'agit d'une espèce qui a été décrite à Ceylan et dans certaines îles du Pacifique Sud (ORIAN, 1972).

Sur la figure 54 apparaissent les quatre Homoptères psyllidés dont il vient d'être question plus haut. Les différents stades larvaires de *M. lutheri* n'ont pas été représentés puisque ce psylle n'accom-

Figure 54 - Psylles s'alimentant et/ou se reproduisant sur *Citrus* à la Réunion.

	Prise de nourriture sur agrumes	Cycle de reproduction sur agrumes	Adultes ou imagos		Stades larvaires					Oeufs
					5 ^e	4 ^e	3 ^e	2 ^e	1 ^e	
<i>Trioza erytraea</i>	+	+								
<i>Trioza litsea</i>	+	(+)								
<i>Diaphorina citri</i>	+	+								
<i>Mesohomatoma lutheri</i>	(+)	-								

+ couramment (+) occasionnellement - non constaté

plit pas son cycle de développement sur *Citrus*. *M. lutheri* n'apparaît à la Réunion sur Hibiscus qu'entre mai et octobre et semble être la seule des quatre espèces décrites à présenter une *diapause*.

Les trois autres espèces peuvent effectuer leur cycle de développement à toute époque de l'année dès l'instant qu'elles disposent de nouvelles poussées végétatives sur leurs plantes hôtes respectives et que les conditions d'hygrométrie et de température ne leur sont pas trop défavorables.

En ce qui concerne *T. erytraea*, URBAN (1976) a montré que la couleur jaune réfléchissant dans la longueur d'onde 550 nanomètres et présentant une faible réflectance dans le bleu pouvait être très attractive vis-à-vis des adultes. Sur la base de ces observations SAMWAYS (1984) a sélectionné parmi

7 types de jaunes dont le *Jaune Saturne* n° 3485 pour confectionner des pièges. Ces derniers utilisés dans différentes régions de l'île de la Réunion se sont montrés également très attractifs pour *D. citri*, *T. litseae* et, à moindre degré *M. lutheri*.

ETUDES EXPERIMENTALES CONDUITES SUR LES PSYLLES VECTEURS DU GREENING

Nous avons entrepris des élevages de *T. erytrae* et *D. citri* en chambre climatisée afin d'étudier quelques caractères biologiques de ces deux vecteurs de la maladie du *greening*. Le but recherché était tout d'abord de préciser la sensibilité des oeufs et des premiers stades larvaires de *Trioza erytrae* au degré de siccité de l'air. Par ailleurs, il nous paraissait utile d'étudier expérimentalement l'aptitude de l'un et l'autre psylles à se développer sur diverses Rutacées, certaines d'entre elles étant soit endémiques à la Réunion soit couramment utilisées comme plantes ornementales, voire même comme brise-vent en bordure des vergers d'agrumes.

Etude de la sensibilité de *T. erytrae* au degré de siccité de l'air.

● Matériel et méthode.

Deux lots d'agrumes, composés chacun de dix plants de *Rough lemon* cultivés en pots sont utilisés comme support d'élevage. Les jeunes sujets ayant atteint l'âge de 1 an sont préalablement rabattus pour provoquer l'émission d'une poussée végétative. Chacun de ces lots est placé dans une enceinte thermostatée éclairée à l'aide d'une batterie de tubes fluorescents «Daylight OSRAM 40 W» à raison de 12 heures par jour.

Dans la première enceinte on a reproduit les conditions d'un climat chaud et sec : pendant la période d'éclairage, la température est maintenue à 30°C et l'humidité relative à 40 p. 100. En phase d'obscurité, les conditions de température et d'humidité relative sont respectivement de 24°C et 95 p. 100. La seconde enceinte thermostatée reconstitue un climat subtropical d'altitude. Pendant la période d'éclairage, la température est de 23°C et l'humidité relative de 80 p. 100 ; en phase d'obscurité on maintient la température à 16 °C et l'humidité relative à 98-100 p. 100.

L'application de la formule (1) montre que nous avons dans la première enceinte un déficit de saturation de 25,1 millibars le jour et 1,5 millibars la nuit. Dans la seconde enceinte, le déficit de saturation est de 5,5 millibars le jour, alors qu'il est voisin de zéro la nuit.

Une dizaine d'adultes de *Trioza erytrae* capturés sur citronnier ont été introduits dans chacune des enceintes afin d'obtenir des pontes sur les jeunes pousses de *Rough lemon*. Les feuilles ayant servi de support à l'oviposition ont été repérées de façon à comptabiliser deux cents oeufs dans chaque enceinte dont on a surveillé le devenir.

● Résultats.

Au bout d'une période d'incubation de 10 jours, on a observé 98,5 p. 100 d'éclosions dans l'enceinte fraîche : tous les individus de premier stade larvaire sont venus se placer à la face inférieure des limbes et se sont développés normalement. Dans l'autre enceinte il y a eu 18 p. 100 d'éclosion au bout du huitième jour ; toutefois dans les 120 heures qui ont suivi l'éclosion la moitié des larves de premier stade ont péri par dessiccation. En définitive, seules 19 larves sur 200 se sont développées ce qui correspond à un taux de mortalité de 90,5 p. 100.

● Discussion.

Le choix des déficits de saturation que nous nous sommes fixés en phase d'éclairage, soit respectivement 24 millibars et 5,5 millibars, tenait compte de résultats antérieurs publiés par MORAN et

BLOWERS en 1967. Ces deux auteurs avaient en effet conduit, en Afrique du Sud sur *Trioza erytrae*, des expériences du même type en chambre climatisée, avec un éclairage artificiel de 12 heures par jour, mais en retenant les trois types d'ambiance climatique suivants :

1. Une température de 21°C et une humidité relative de 35 p. 100 le jour soit un déficit de saturation de 15,9 millibars, et des conditions d'humidité saturante la nuit à 12°C.
2. Une température de 27°C et une humidité relative de 35 p. 100 le jour, soit un déficit de saturation de 22,9 millibars, et des conditions d'humidité saturante la nuit à 12°C.
3. Une température de 32°C et une humidité relative de 35 p. 100 le jour, soit un déficit de saturation de 30,5 millibars, et des conditions d'humidité saturante la nuit à 17°C.

MORAN et BLOWERS (1967) ont enregistré 10 p. 100 de mortalité des oeufs et des larves de premier stade dans l'ambiance climatique 1. Les taux de mortalité passaient respectivement à 52 p. 100 et 100 p. 100 dans les ambiances climatiques 2 et 3.

Les résultats de MORAN et BLOWERS (1967) ainsi que nos propres observations ont été utilisés pour dresser la courbe A de la figure 55.

On retiendra qu'en conditions artificielles le pourcentage de mortalité est de 100 p. 100 lorsque le déficit de saturation atteint 30 millibars durant 12 heures par jour, même si au cours de la phase nocturne, l'humidité est maintenue au voisinage de la saturation.

Il est théoriquement possible d'utiliser cette courbe pour dépouiller les bandes d'enregistrement d'un thermohydrographe. On peut ainsi calculer le nombre d'heures pour lesquelles le déficit de saturation dépasse un certain seuil, et en déduire les chances de survie de *Trioza erytrae* dans un climat donné. Ce mode d'interprétation nécessiterait toutefois au préalable des observations plus poussées en ce qui concerne les temps d'exposition à différents déficits de saturation.

Une autre méthode d'estimation des chances de survie des oeufs et des premiers stades larvaires de *T. erytrae* a été proposée par GREEN et CATLING (1971). Ces auteurs ont exprimé le pourcentage de mortalité observé *in situ* dans plusieurs vergers d'Afrique australe en fonction du déficit de saturation maximum Dsm de la mi-journée, Dsm étant calculé d'après les relevés de température et d'hygrométrie effectués à 13 heures sous abri météorologique STEVENSON. Les résultats de GREEN et CATLING ont été reportés sur la courbe B de la figure 55. On voit que pour une valeur de 30 millibars le taux de mortalité n'est que de 50 p. 100, il atteint 70 p. 100 à 35 millibars et 100 p. 100 à 48 millibars. Il existe donc d'importantes différences par rapport aux observations effectuées en enceinte climatisée. En fait, le déficit de saturation ne se maintient que quelques heures à son maximum puisque l'humidité relative est plus élevée le matin et le soir, et que parallèlement la température n'atteint son maximum que dans le milieu de la journée.

GREEN et CATLING ont utilisé les moyennes décennales ou mensuelles du déficit de saturation de la mi-journée pour caractériser le climat d'une région. Nous avons appliqué cette méthode à différents territoires d'Afrique et d'Asie où la présence de *T. erytrae* a été signalée, la valeur de Dsm étant calculée à partir des moyennes mensuelles de température et d'hygrométrie relevées à 13 h par les services météorologiques officiels. HUMAN and BEDFORD (1985), ont d'ailleurs montré qu'il existe un coefficient de corrélation de 0,99 entre le mode de calcul basé sur les moyennes mensuelles, et celui basé sur les moyennes décennales.

L'interprétation des résultats exprimés en moyennes décennales permet de distinguer trois grandes catégories de climat (figure 56).

Dans la première catégorie (climat de type A). Dsm se maintient tout au long de l'année à des valeurs très inférieures à 35 millibars, seuil qui correspond à un taux de mortalité de 70 p. 100. Ce type de climat est observé à l'île de la Réunion où les risques de mortalité des oeufs et des larves de premiers stades de *T. erytrae* sont tout à fait négligeables en altitude, et très faibles au niveau de la mer. En Afrique de l'Ouest, notamment dans la zone forestière humide camerounaise et gabonaise des constantes climatiques du même type sont observées au-delà de 450 à 500 mètres d'altitude. Par contre dans le Nord Est de l'Afrique, en Ethiopie, ce n'est qu'à partir de 2 200 m d'altitude que de faibles valeurs de Dsm sont observées tout au long de l'année.

Figure 55 - Relations entre le déficit de saturation et le taux de mortalité par dessiccation des oeufs et des larves de premier stade de *Trioza erytreae*.

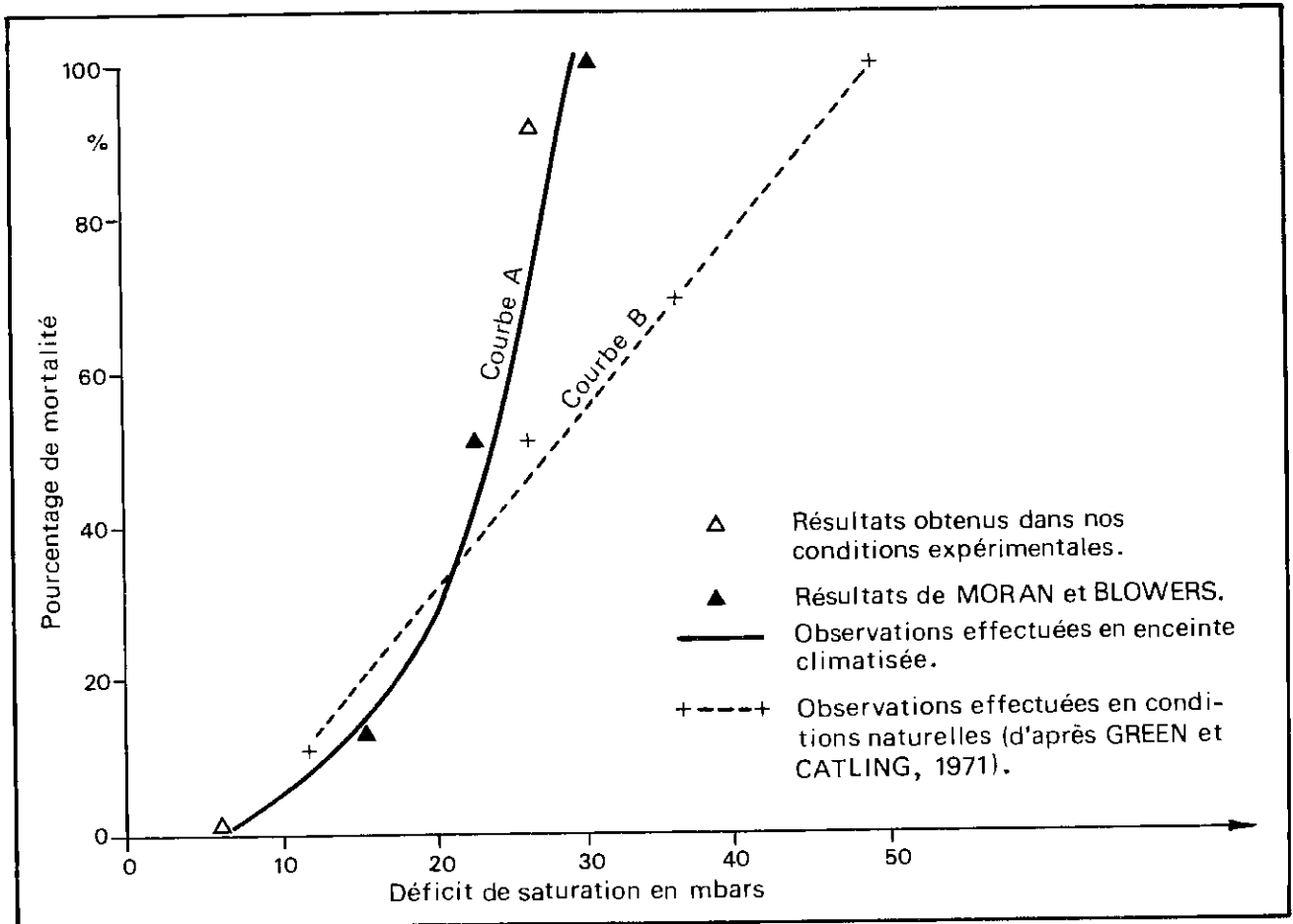
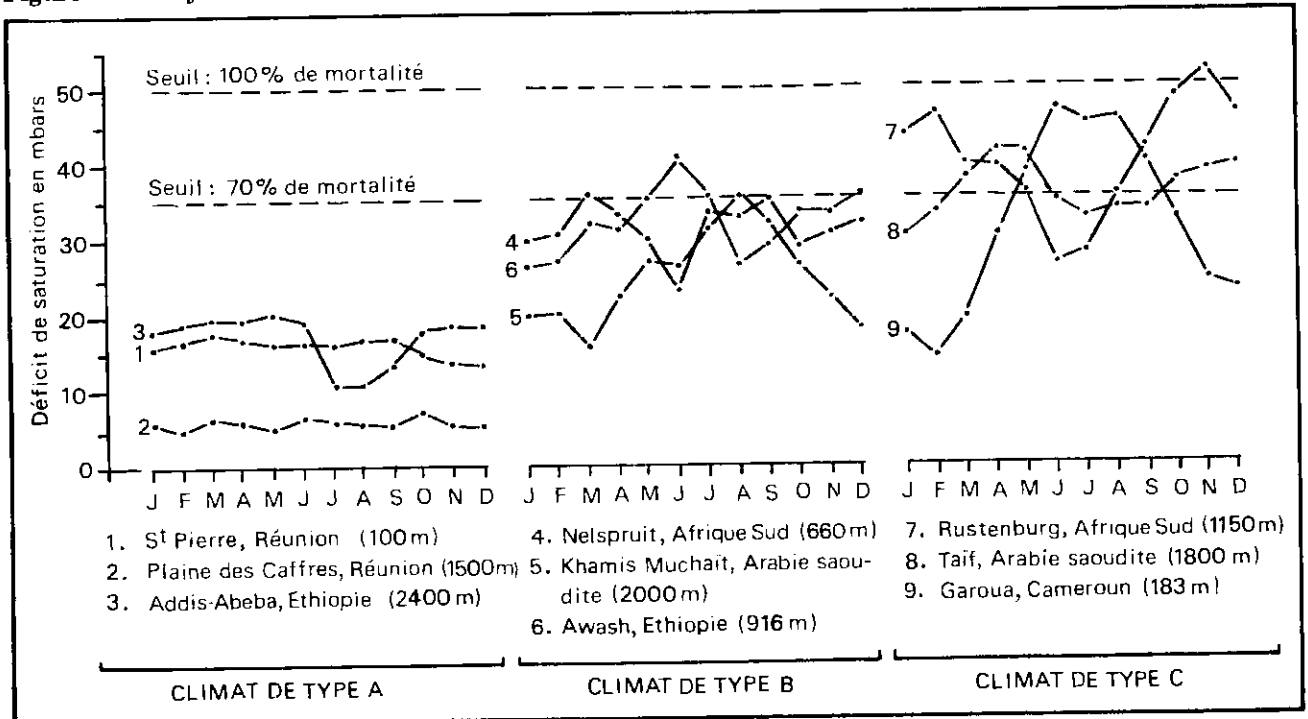


Figure 56 - Moyennes mensuelles du déficit de saturation relevé dans le milieu de la journée à 13 heures.



Pour les climats classés dans la catégorie B, Dsm atteint des moyennes mensuelles de 35 millibars pendant un ou plusieurs mois de l'année. Dans ce cas, les populations de *T. erytrae* sont soumises à d'importantes fluctuations saisonnières, mais elles peuvent se développer au cours de l'époque printanière (avril dans l'hémisphère Nord, octobre dans l'hémisphère Sud) par suite d'une valeur de Dsm peu élevée à cette période de l'année, et de la disponibilité en jeunes feuilles.

Enfin, pour ce qui concerne les climats classés en catégorie C, on enregistre des valeurs de Dsm qui se situent au-delà de 35 millibars ce qui élimine les chances de survie du psylle africain.

EN DEFINITIVE, plusieurs micro-climats de la Réunion entrent dans la catégorie de ceux offrant le maximum de chances de survie des oeufs et des larves de premier stade du psylle africain des agrumes. C'est dans ce contexte climatique qu'a été entrepris le programme de lutte biologique décrit plus loin au chapitre 5. A l'inverse, dans les régions littorales du Sud Ouest de l'île, au même titre que dans la Péninsule arabique ou en Afrique de l'Est, l'effet de dessiccation empêche l'installation de *T. erytrae*. Mais ces mêmes conditions arides sont par contre très favorables aux pullulations de *D. citri*.

Etudes concernant l'attractivité de différentes Rutacées vis-à-vis de *T. erytrae* et *D. citri*.

● Matériel et méthode.

Plusieurs Rutacées appartenant à sept espèces différentes : *Citrus*, *Fortunella*, *Poncirus*, *Triphasia*, *Murraya*, *Vepris*, *Toddalia* et *Microcitrus*, ont été cultivées en pots à partir de graines, selon la technique décrite précédemment. Ayant atteint l'âge de 14 à 15 mois, ces Rutacées ont été placées en mélange avec des plants de lime mexicaine : *Citrus aurantifolium* (CHRISTM.) SWINGLE. Trois semaines auparavant, on avait exposé les plants de lime à des adultes de psylles pour obtenir de jeunes pousses colonisées, soit par des larves de *D. citri*, soit par des larves de *T. erytrae*. Le dispositif comportait une proportion de 3 plants de Rutacées pour un plant de Lime mexicaine porteur de larves. Les plants de Rutacées avaient été préalablement rabattus pour forcer l'émission de jeunes pousses.

Deux lots de plants ont ainsi été constitués. Le premier lot a été cultivé sous lumière du jour tamisée à une température de 34°C et une humidité relative de 50 p. 100 le jour puis 22°C et 85 p. 100 d'humidité relative la nuit. Il a été mis en présence de plants de limettiers hébergeant des larves de *D. citri*.

Le second lot a été placé dans une enceinte climatisée éclairée par des tubes Daylight OSRAN 40 W à raison de 12 heures par jour ; la température était de 23°C et l'humidité relative de 80 p. 100 le jour, contre 16°C et 100 p. 100 la nuit. Ce second lot a été mis en présence de plants de limettiers hébergeant des larves de *T. erytrae*.

Dans l'un et l'autre cas on a obtenu l'éclosion de plusieurs dizaines d'imagos. Dès leur apparition ces jeunes adultes ont quitté les vieilles feuilles de limettier qui leur avaient servi de support, et ont eu le choix entre plusieurs espèces de Rutacées pour s'alimenter et se reproduire.

On a observé l'évolution des populations de psylles sur chacun de ces lots pendant une durée minimum de 45 jours et renouvelé l'ensemble de l'opération deux fois. Des observations qualitatives et quelques comptages ont pu être effectués.

● Résultats.

L'ensemble des résultats a été regroupé dans le tableau 24. En ce qui concerne la prise de nourriture, le signe moins indique qu'à aucun moment il n'a pu être observé d'adultes en station prolongée sur un point du limbe dans la position d'alimentation (pattes avant repliées, et labium appliqué contre la nervure). La présence éventuelle d'adultes sur ces espèces semblait donc fortuite. Le signe + indique que des adultes ont été observés en position d'alimentation, mais en faible quantité (moins de 5 in-

TABLEAU 24 - Comportement de *T. erytrae* et *D. citri* sur différentes espèces de Rutacées.

A - <i>Trioza erytrae</i>		Prise de nourriture par les imagos	Oviposition	Développement larvaire
Plantes hôtes préférées	<i>Clausena anisata</i> *	+++	+++	+++
	<i>Vepris lanceolata</i>	+++	+++	+++
	<i>Citrus limon</i>	+++	+++	+++
	<i>Citrus medica</i>	+++	+++	+++
	<i>Citrus aurantifolia</i>	++	++	++
Plantes hôtes communes	<i>Citrus sinensis</i>	++	++	++
	<i>Citrus nobilis</i>	++	++	++
	<i>Citrus reticulata</i>	++	++	++
	<i>Citrus deliciosa</i>	++	++	++
	<i>Citrus paradisi</i>	++	++	++
	<i>Citrus grandis</i>	+	+	+
	<i>Murraya paniculata</i>	+	+	+
	<i>Fagara capense</i> *	+	+	+
	Plantes hôtes occasionnelles	<i>Toddalia asiatica</i>	+	+
<i>Fortunella</i> sp.		+	+	-
<i>Poncirus trifoliata</i>		+	-	-
<i>Calodendron capense</i> *		+	-	-
<i>Microcitrus australisiaca</i>		+	-	-
* - comportement décrit par MORAN, 1968 B				
B - <i>Diaphorina citri</i>				
Plantes hôtes préférées	<i>Murraya paniculata</i>	+++	+++	+++
	<i>Citrus aurantifolia</i>	+++	+++	+++
Plantes hôtes communes	<i>Citrus lemon</i>	++	++	++
	<i>Citrus sinensis</i>	++	++	++
	<i>Citrus medica</i>	++	++	++
	<i>Citrus nobilis</i>	++	++	++
	<i>Citrus reticulata</i>	++	++	++
	<i>Citrus deliciosa</i>	++	++	++
	<i>Microcitrus australisiaca</i>	++	++	++
	<i>Citrus paradisi</i>	++	++	++
Plantes hôtes occasionnelles	<i>Citrus hystrix</i>	+	+	+
	<i>Citrus grandis</i>	+	+	+
	<i>Triphasia trifoliata</i>	+	+	+
	<i>Fortunella</i> sp.	+	+	+
	<i>Poncirus trifoliata</i>	+	+	-
	<i>Murraya koenigii</i>	+	-	(-)
	<i>Toddalia asiatica</i>	+	-	-
	<i>Vepris lanceolata</i>	+	-	-
	<i>Coriea</i> sp. *	+	inconnu	inconnu
	<i>Atalantia</i> dp.*	+		
	<i>Clausena lansium</i>	+		

* - comportement décrit par ZHAO (in BARKLEY *et al.*, 1979).

dividus par pousse colonisée). Le signe ++ indique une fréquentation assidue, avec des populations pouvant dépasser 20 individus par pousse.

Pour ce qui est de l'oviposition, on a constaté un phénomène de tout ou rien. Lorsque le stimulus de ponte est déclenché, la femelle dépose plusieurs centaines d'oeufs ; en général elle a au préalable visité activement les jeunes pousses avant la ponte. Pour cette raison ne figurent que les signes + ou - dans la case «oviposition». En ce qui concerne le développement larvaire, nous avons retenu le même type de notation que pour la ponte, à savoir l'emploi d'un signe + ou -. Toutefois, sur *Murraya koeni-*

gii (LAM.) SPRENG, on a effectué un test supplémentaire consistant à déposer des larves de deuxième et troisième stade à l'aide d'un pinceau sur de nouvelles feuilles récemment écloses. Dans ce cas le signe (-) a été utilisé pour signifier que ces larves n'ont pas pu se développer normalement sur les jeunes pousses de la plante, et ont péri.

● Discussion.

Il existe des plantes pour lesquelles le processus de ponte a été déclenché mais n'a pas abouti au développement des différents stades larvaires. Ce phénomène a été observé avec le psylle africain *T. erytrae* se développant sur *V. lanceolata* et *T. asiatica*. Il y a bien eu éclosion des oeufs mais les larves néonates ont péri avant de pouvoir effectuer leur première mue. Dans les deux cas on avait toutefois enregistré une sévère concurrence de l'acarien tarsonème *Polyphagotarsonemus latus* BANKS.

CHAKRABORTHY *et al.* (1975) ont classé *Murraya koenigii* (L.) SPRENG. comme plante hôte préférentielle de *D. citri*, ce qui ne correspond pas à nos propres observations. L'explication pourrait venir d'une confusion faite par ces auteurs entre *D. citri* et l'espèce voisine *Diaphorina communis* MATHUR. On peut aussi émettre l'hypothèse de races de *D. citri* présentant différents types de comportement.

EN RESUME, l'étude que nous avons conduite a permis d'identifier plusieurs plantes hôtes préférentielles de *T. erytrae* ou *D. citri*. Ces plantes hôtes ont été observées avec une particulière attention lors des dénombrements de populations de vecteurs dans les différentes régions de l'île de la Réunion. Les observations poursuivies en insectarium ont par ailleurs permis de choisir les plantes-supports susceptibles d'être utilisées pour les élevages de masse des deux psylles vecteurs du *greening*. Ainsi, *Murraya paniculata* est une Rutacée à croissance rapide qu'il est préférable de retenir pour les élevages de *Diaphorina citri*. Ses feuilles ont, de plus, la particularité d'être moins sensibles que celles du citronnier ou du limettier aux dégâts de *Polyphagotarsonemus latus* un acarien phytophage dont il est quelquefois très difficile d'empêcher l'apparition en insectarium. En ce qui concerne *Trioza erytrae*, ce sont le cédrat et le bigaradier qui ont donné les élevages les plus prospères. Le Rough lemon, le limettier et le citronnier présentent certes une grande attractivité pour le psylle africain, mais leur sensibilité aux attaques de *P. latus* empêche souvent l'installation des colonies de cet Homoptère.

OBSERVATIONS EFFECTUEES EN CONDITIONS NATURELLES

La flore réunionnaise comprend différentes espèces de Rutacées indigènes. Parmi celles-ci on compte deux types de *Zanthoxylées* : *Zanthoxylum heterophyllum* (LAM.) SMITH et des *Evodia*, ainsi que deux *Toddaliées* : *Toddalia asiatica* (LAM.) et *Vepris lanceolata* (LAM.) G. DON (cf. tableau 3). En dépit des prospections régulières effectuées depuis janvier 1976, il n'a pas été possible de trouver de colonies ou traces de colonies de psylles sur ces différentes Rutacées endémiques à la Réunion. Par contre, dans les Rutacées introduites, l'espèce *M. paniculata* a été trouvée très souvent porteuse d'abondantes colonies de *D. citri* dans le sud de l'île principalement à 600 m d'altitude.

Un autre *Murraya* : *M. koenigii*, assez répandu dans les régions côtières où on le connaît sous le nom de *carry poulet* ou *calou pilé*, a été trouvé porteur de petites colonies d'adultes de *D. citri*. A la Réunion, cette Rutacée n'héberge ni larves de *D. citri* ni colonies de *Diaphorina communis* MATHUR, ce dernier Homoptère étant inconnu dans l'île.

CONCLUSION

Deux psylles au moins transmettent le *greening* en conditions naturelles : *D. citri* et *T. erytrae*. Les exigences écologiques propres à l'une ou l'autre espèce, délimitent des territoires faunistiques qui sont fonction des conditions pluviométriques ambiantes, et s'étagent le plus souvent par tranches

altitudinales dans les pays hébergeant ces deux espèces (Réunion, Maurice, Arabie Saoudite). Entre ces tranches altitudinales peuvent exister des *zones de recoupement* plus ou moins étendues selon les pays : 0 à 600 m d'altitude dans le cas de l'île de la Réunion, de 900 à 1 100 mètres dans le cas du Sud-Ouest de la Péninsule arabique (BOVE et AUBERT, 1984).

Ni l'un ni l'autre Homoptère ne présente de *diapause*. Le cycle de développement peut donc avoir lieu à toute époque de l'année. Il suffit que les femelles disposent pour pondre de plantes hôtes en phase de poussée végétative, et que les conditions de températures et d'humidité relative n'atteignent pas certaines valeurs extrêmes. L'obtention de nombreuses générations successives est donc possible en insectarium par utilisation de *plantes hôtes préférentielles* préalablement taillées pour forcer l'émission de nouvelles pousses.

D. citri et *T. erytrae* sont des espèces *oligophages* inféodées aux Rutacées. Il est exceptionnel d'observer la présence d'adultes sur des plantes n'appartenant pas à cette famille. On ignore dans ce cas s'il y a réellement prise de nourriture ou simples piqûres probatoires.

La dissémination de la maladie du *greening* est directement liée à la présence de ces vecteurs dans les pays contaminés. En conséquence, il est primordial de pouvoir localiser avec exactitude leurs zones de reproduction et d'évaluer l'importance des populations dans les régions productrices d'agrumes. A cet égard la connaissance des plantes *hôtes préférentielles* permettra d'identifier d'éventuelles *niches écologiques* susceptibles de se constituer à proximité des vergers. Le dépistage et la surveillance de ces *niches* constituent aujourd'hui une préoccupation majeure pour les agrumiculteurs d'Afrique australe (BEGEMAN, 1984). A l'île de la Réunion elles sont aussi régulièrement observées depuis plusieurs années afin de suivre les nouveaux équilibres apparus après l'introduction de deux Hyménoptères chalcidiens (voir chapitre 5). Par contre dans de nombreux pays contaminés d'Afrique et d'Asie ce type de démarche est encore trop souvent ignoré.

En ce qui concerne les espèces cultivées, *D. citri* et *T. erytrae* manifestent une plus grande préférence pour les limettiers et les citronniers. Par ailleurs à l'échelon de la flore spontanée ou subspontanée le psylle asiatique devra être surveillé principalement sur *Murraya paniculata*, et le psylle africain sur *Clausena anisata* et *Vespris undulata*. L'étude de cette flore doit d'ailleurs être poursuivie afin de préciser son rôle non seulement en tant que site de reproduction des vecteurs mais également en tant qu'hôte de l'agent bactérien associé à la maladie.

Enfin l'hypothèse de la transmission du *greening* par des psylles autres que *D. citri* et *T. erytrae* ne doit pas être écartée *a priori*.

CHAPITRE 5

NOUVEL EQUILIBRE BIOLOGIQUE OBSERVE A LA REUNION SUR LES POPULATIONS DE PSYLLIDES APRES L'INTRODUCTION ET L'ETABLISSEMENT D'HYMENOPTERES CHALCIDIENS

Jusqu'à une date récente, d'importantes pullulations des deux psylles vecteurs du *greening* : *Diaphorina citri* KUWAYAMA et *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO), étaient enregistrées dans le département de la Réunion. L'inventaire de l'entomofaune auxiliaire avait révélé l'absence de parasites des différents stades larvaires (CATLING, 1973), à l'exception toutefois d'un Hyménoptère *Encyrtidae* (ETIENNE et AUBERT, 1980). Par ailleurs, la présence de quelques prédateurs (syrphes, coccinelles ou chrysopes) avait bien été signalée (ETIENNE, 1978), mais leur faible incidence n'arrivait pas à contrebalancer l'extrême fécondité de ces deux ravageurs.

Les conditions prévalant à l'île de la Réunion compromettaient donc sérieusement les chances de relance de la production agrumicole locale, le *greening* se trouvant largement disséminé par vection animale.

C'est grâce à l'introduction d'Hyménoptères Chalcidiens, notamment d'*Eulophidae* en provenance d'Afrique et d'Asie, que les niveaux de pullulation de *T. erytrae* et *D. citri* ont pu être ramenés à des seuils extrêmement bas. Certaines de ces introductions remontent aujourd'hui à près d'une dizaine d'années. L'implantation de nouveaux Hyménoptères parasites dans l'environnement réunionnais s'est d'ailleurs traduite par des répercussions inattendues sur les populations d'un autre psylle : *Trioza litseae* BORDAGE.

Les principales étapes ayant marqué la baisse des populations de *T. erytrae* et *D. citri*, après le rééquilibrage des antagonismes naturels, seront décrites ci-après.

ROLE ECOLOGIQUE DES HYMENOPTERES CHALCIDIENS TECHNIQUES DE COLLECTE ET D'OBSERVATION, POSITION TAXONOMIQUE.

Les insectes dont il est question ici, font partie des Hyménoptères chalcidiens, un groupe érigé en super-famille, et qui englobe de très nombreux parasites, capables de s'attaquer à une gamme étendue d'Arthropodes. En dépit de leur petite taille (de 0,25 à 5 mm de long), ces Hyménoptères présentent un grand intérêt sur le plan agronomique. En effet, ils contribuent à freiner les pullulations de nombreux ravageurs, pour les contenir, bien souvent, en-dessous des seuils de nuisance. Dans le domaine de la production agrumicole, leur présence au sein de l'entomofaune du verger est un important facteur de réussite en agrumiculture.

Les Hyménoptères chalcidiens sont divisés en 19 familles comportant 1 300 genres et de très nombreuses espèces. Leur systématique et leur biologie bien que complexes doivent être connues avec précision si l'on veut mettre à profit le rôle bénéfique d'un ou plusieurs parasites d'insectes phytophages. L'entomophage ne peut accomplir son cycle de développement qu'aux dépens d'un hôte dont il épargne dans un premier temps les organes essentiels, mais qu'il aura dévoré au terme de sa nymphose. Toutefois la relation hôte-parasite présente bien des variantes. Ainsi, le développement

larvaire se déroulera soit à l'intérieur de l'hôte (cas des *endoparasites*), ou à l'extérieur de ce dernier (cas des *ectoparasites*). Par ailleurs certaines espèces se comporteront en *parasites primaires*, d'autres en *parasites secondaires* (ou *hyperparasites*), et d'autres encore en *parasites tertiaires* (ou *parasites d'hyperparasites*), ces derniers intervenant donc au *troisième niveau* du complexe parasitaire. En outre il n'est pas rare au sein d'une même espèce d'assister à des cycles de développement de type et de niveau différents selon le sexe. Chez certains *Coccophagus* par exemple les mâles se comportent en *ectoparasites secondaires* vis-à-vis d'un hôte donné et les femelles en *endo-parasites primaires* vis-à-vis de ce même hôte. Enfin la spécificité hôte-parasite peut être très étroite et se limiter à un seul binôme. Il n'est pas rare toutefois qu'un même parasite soit capable de s'attaquer à plusieurs types d'hôtes.

Tous ces facteurs obligent à retenir des techniques de collectes appropriées. Les captures devront ensuite faire l'objet d'une étude rigoureuse, pour situer leur position taxonomique.

Techniques de collecte et d'observation.

Lors des prospections en verger nous avons utilisé trois techniques de collecte : la capture à l'aide d'aspirateurs à bouche, l'élevage en boîte d'éclosion et l'élevage en gellule d'éclosion.

- Aspirateur à bouche.

Compte tenu de la faible dimension des insectes concernés c'est l'aspirateur à tubulure simple qui a été le plus souvent employé (figure 57 A). Les adultes ailés peuvent ainsi être capturés individuellement *in situ* au moment où ils visitent les larves de leurs hôtes ou lorsqu'ils sont au repos sur les feuilles.

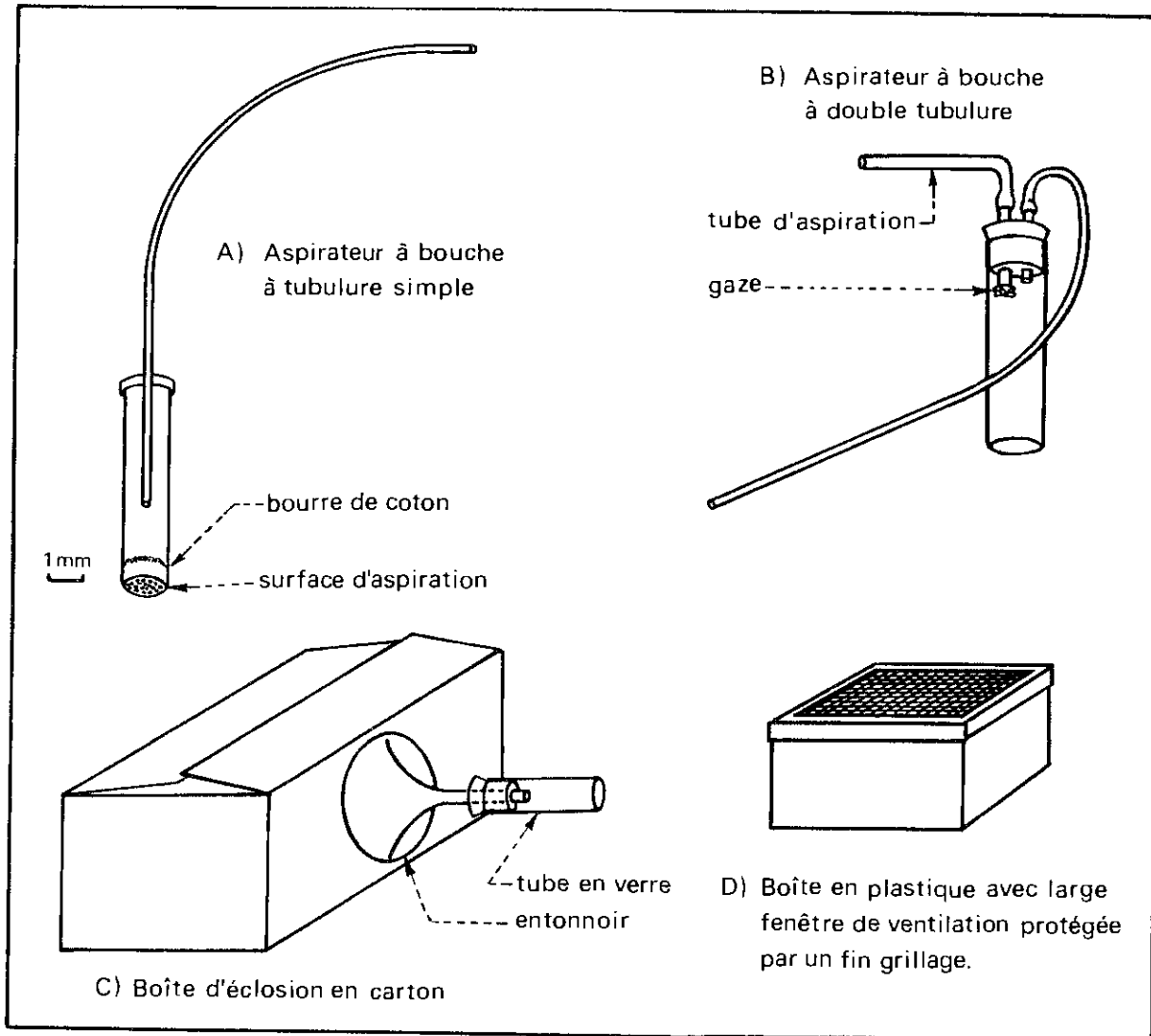
- Elevages en boîtes d'éclosion.

Des feuilles ou des rameaux hébergeant des larves de ravageurs parasites sont détachées de l'arbre et placées dans des boîtes en carton hermétiquement fermées et équipées d'un entonnoir de sortie qui se termine par un tube en verre. Au bout de quelques jours les Hyménoptères parvenus au stade d'imagos, et attirés par la lumière, viendront dans le tube. Ce dernier pourra être renouvelé selon les besoins (figure 57 C). Afin d'éviter les moisissures ou la condensation il convient de placer une faible quantité de feuilles dans un volume d'air suffisant par exemple 20 à 30 feuilles adultes pour 20 litres d'air. Ces boîtes encombrantes ne peuvent être utilisées qu'en laboratoire. Dans le cas de prospections en régions chaudes et humides, nous nous sommes servis de boîte en plastique transparentes de forme carrée et d'une dimension de 10 x 10 cm avec une profondeur de 6 cm. Sur le couvercle de ces boîtes était aménagé un large trou de ventilation recouvert d'un morceau de gaze ou d'un grillage très fin. Ces boîtes de dimensions réduites sont directement utilisables *in situ*. Très souvent les échantillons de végétaux placés dans les boîtes d'éclosion hébergent plusieurs types de ravageurs, ce qui aboutit à la capture de différentes espèces d'Hyménoptères dont il sera quelquefois difficile d'identifier les hôtes respectifs.

- Elevage en gellule d'éclosion.

Les larves d'Homoptères parasitées et notamment celles de psylles sont reconnaissables à leur couleur plus foncée que la normale. De telles larves prélevées convenablement et placées individuellement dans des gellules peuvent donner lieu à l'éclosion du parasite concerné. L'origine de ce dernier sera alors connue avec certitude. Des collectes de ce type peuvent être effectuées directement en verger à l'aide d'une loupe de terrain et d'une paire de pinces. L'observation détaillée de la larve parasitée, puis de la momie de l'hôte permettra d'identifier le type et le niveau du parasitisme.

Figure 57 - Matériel utilisé pour la collecte des Hyménoptères parasites de psylles.



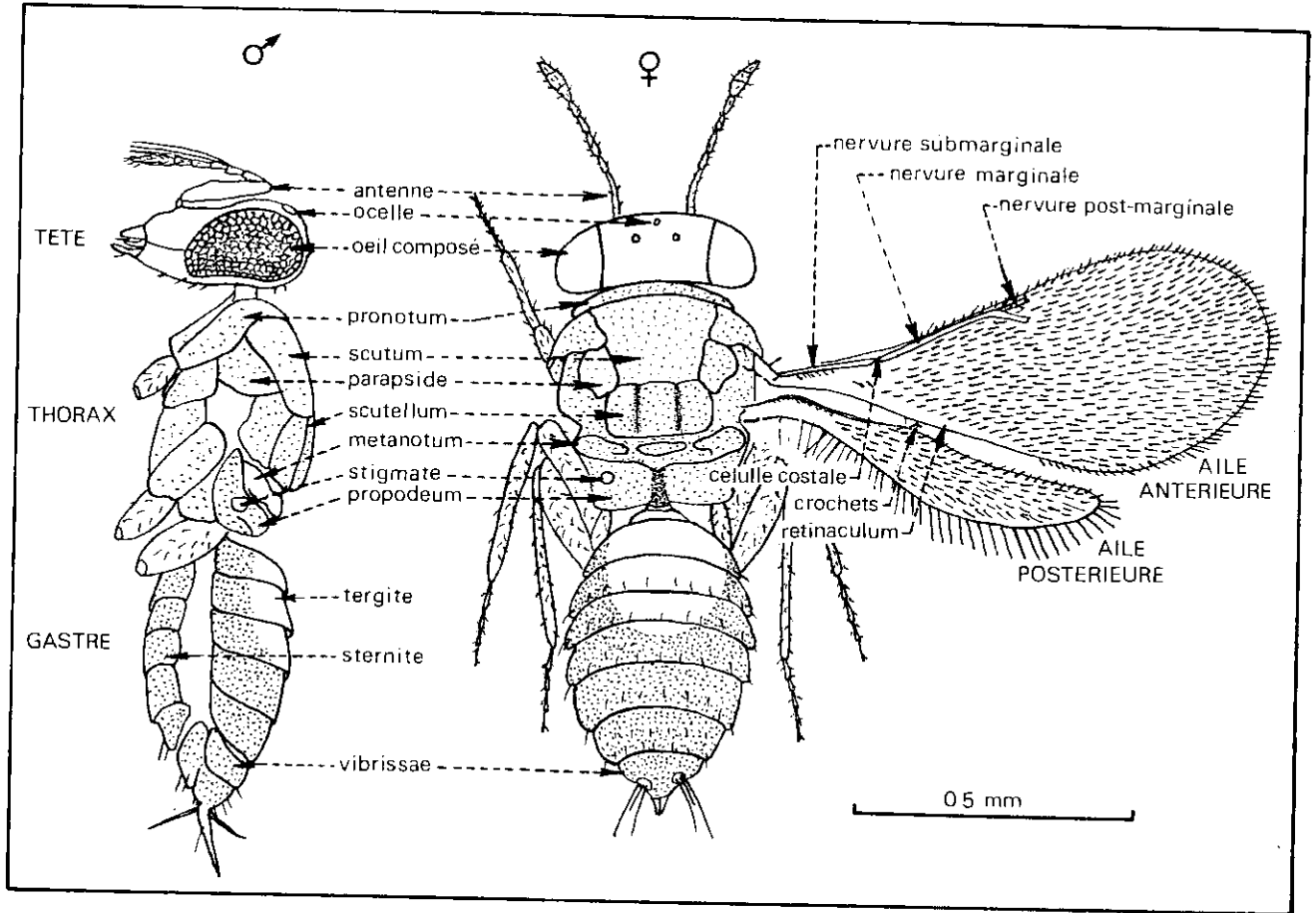
● Montage des échantillons sur lame et lamelle.

La très faible dimension des Hyménoptères parasites nécessite leur montage sur lame et lamelle pour les observer sous microscope. Dans le cas de préparations extemporanées en vue du rapide examen d'un organe (antennes, pattes) nous avons directement étalé ces pièces dans une goutte de liquide de Faure déposée sur une lame, puis recouvert la préparation d'une lamelle.

Les montages destinés à la constitution d'une collection de référence demandent une préparation plus longue. Les ailes doivent être détachées du thorax et montées directement dans le baume du Canada. Le corps de l'insecte peut être préparé selon la méthode décrite par PRINSLOO (1980). L'insecte est trempé dans différents bains successifs à température ambiante : tout d'abord un bain de NaOH à 10 p. 100 pendant 48 heures, puis un lavage de 15 minutes dans l'acide acétique suivi de la déshydratation dans différents bains d'alcool. L'échantillon est ensuite immergé dans le terpeneol pendant 20 minutes puis séché et monté dans une goutte de baume du Canada.

Des observations de larves ou d'adultes ont été également effectuées au microscope électronique à balayage en utilisant la même technique que celle employée pour les psylles.

Figure 58 - Aspect général d'un *Tetrastichus*



Parasites primaires de *D. citri* et *T. erytrae*.

Les parasites primaires de *D. citri* et *T. erytrae* appartiennent à deux familles de chalcidiens : les *Eulophidae* et les *Encyrtidae*.

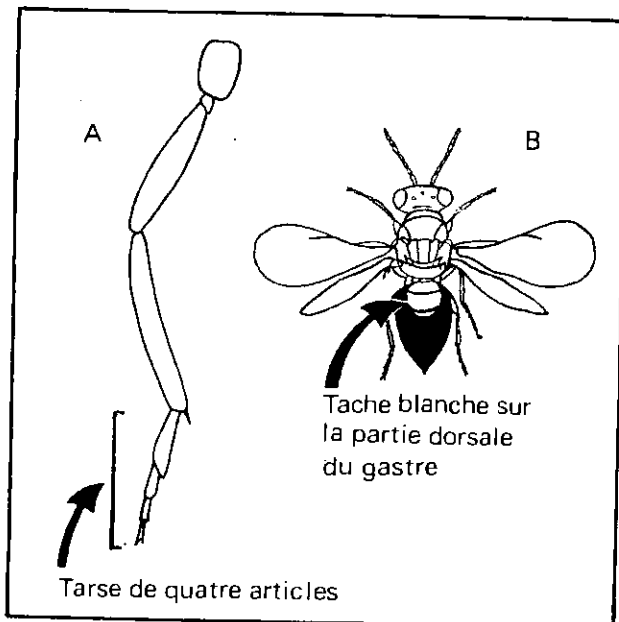


Figure 59 - Deux caractères distinctifs de *Tetrastichus radiatus* et de *Tetrastichus dryi*.

● *Eulophidae* : genre *Tetrastichus* (Synonyme : *Tamarixia*).

Les espèces appartenant à cette famille se distinguent des autres Hyménoptères chalcidiens par la présence de 4 tarsi à l'extrémité des pattes. Le genre *Tetrastichus* renferme des espèces de petite taille ne dépassant pas 2 mm, d'aspect noir foncé avec des reflets métalliques. Le dimorphisme sexuel concerne principalement les antennes. Le *scutellum* assez développé est parcouru de deux sillons longitudinaux. La zone d'insertion du *gastre* sur le *propodeum* présente une constriction très marquée (figure 59). La description du genre *Tetrastichus* a été donnée par divers auteurs dont NIKOLSKAYA (1952).

Les ravageurs inféodés aux agrumes sont exposés aux attaques de quatre espèces connues de *Tetrastichus*. Deux d'entre elles sont des parasites de cochenilles ; il s'agit de *Tetrastichus* prob. *sicarius* d'une part, parasite de *Coccus hesperidum* L., et de *Tetrastichus ceroplastae* GIRAULT d'autre part, parasite de *Gascardia brevicaudata* HALL. (PRINSLOO, 1984) ou encore de *Ceroplastes rusci* L. (DOMENECHINI, 1965). Les deux autres espèces de *Tetrastichus* parasitent les psylles : *Tetrastichus radiatus* WATERSTON qui se développe aux dépens de *D. citri* et *Tetrastichus dryi* WATERSTON qui se développe aux dépens de *T. erytrae*. *T. dryi* et *T. radiatus* sont morphologiquement très semblables et présentent tous deux une tache blanche sur la partie dorsale du *gastre* (figure 59 B). Leur longueur atteint environ 1 mm. Mâles et femelles sont identiques sauf en ce qui concerne les antennes. Ils présentent des yeux composés rouges très proéminents. *T. radiatus* a été décrit pour la première fois par WATERSTON en 1922 à partir d'échantillons issus de larves de *D. citri* et collectés à Lyallpur dans le Punjab en Inde. *T. dryi* a été également décrit en 1922 par WATERSTON à partir d'échantillons issus de larves de *T. erytrae* et collectés à Kabete au Kenya.

Seules de légères différences de morphologie antennaire permettent de distinguer *T. dryi* l'espèce africaine, de *T. radiatus* l'espèce asiatique. WATERSTON (1922) a mis en évidence que les mâles de *T. radiatus* ont sur le *scape* un sensorium plus proche de la base de l'antenne que ceux de *T. dryi* (figures 60 A et B). Récemment PRINSLOO (1980) a signalé chez la femelle de *T. dryi* l'existence d'un funicule plus étroit que chez la femelle de *T. radiatus* ; dans le premier cas les articles sont de longueur identique contrairement à ce qui est observé pour l'espèce homologue (voir encadré de la figure 60 A).

● *Encyrtidae* : genres *Diaphorencyrtus*, *Psyllaephagus*.

Les *Encyrtidae* représentent le groupe le plus important de chalcidiens. Ils se distinguent des *Eulophidae* par leurs tarsi de 5 segments, un fort éperon dont ils se servent pour sauter, et une large attache du *gastre* sur le *propodeum* (figure 61).

Près d'une quarantaine d'espèces sont connues comme parasites des ravageurs des *Citrus*.

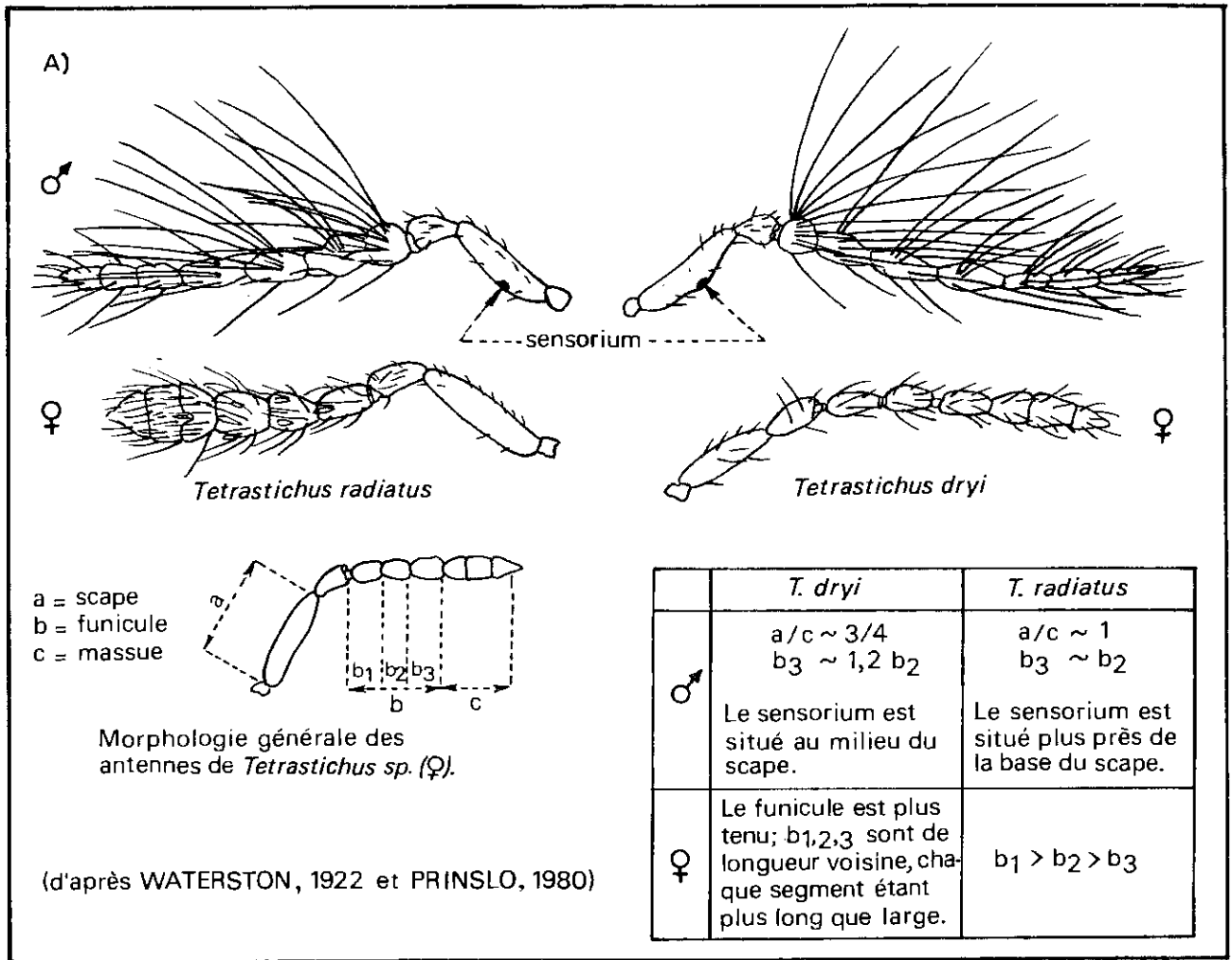
La famille des *Encyrtidae* a été étudiée notamment par TRYAPITZYN (1967) en Europe, ANNECKE et INSLEY (1971) en Afrique, et AGARWAL (1965) en Inde. PRINSLOO (1981) a décrit plus d'une trentaine d'espèces parasitant différents psylles africains et HAYAT (1981) 34 espèces inféodées à divers Homoptères indiens.

Les *Encyrtidae* parasites primaires des deux psylles vecteurs du *greening* sont deux endoparasites : respectivement, *Diaphorencyrtus aligarhensis* SHAFFEE *et al.* (1975) et *Psyllaephagus pulvinatus* (WATERSTON). Leur efficacité en tant que régulateurs des pullulations de psylles est moindre que celle des ectoparasites du genre *Tetrastichus*.

Diaphorencyrtus aligarhensis SHAFFEE *et al.* (1975) [synonymes : *Psyllaephagus diaphorinae* LIN *et al.* (1972), *Aphidencyrtus aligarhensis* (SH.), *Aphidencyrtus diaphorinae* MYARTZEVA *et* TRYAPITZYN (1978)].

D. aligarhensis se caractérise par la présence d'une bande jaune sur le *gastre*. Cette espèce a été

Figure 60 - Aspect des antennes de *T. radiatus* et *T. dryi*, chez le mâle et la femelle.



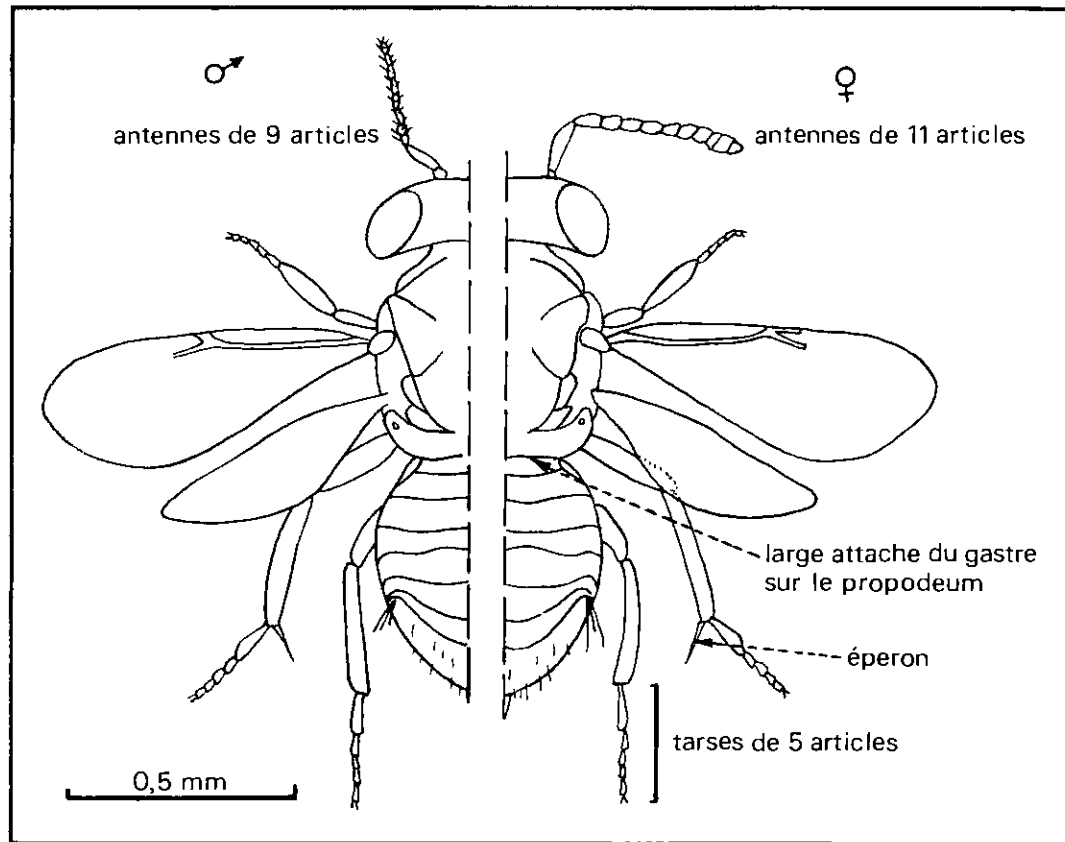
T. radiatus

B) Scape des antennes du mâle de *T. radiatus* et *T. dryi* (microphotographies de préparations montées dans le liquide de Faure).



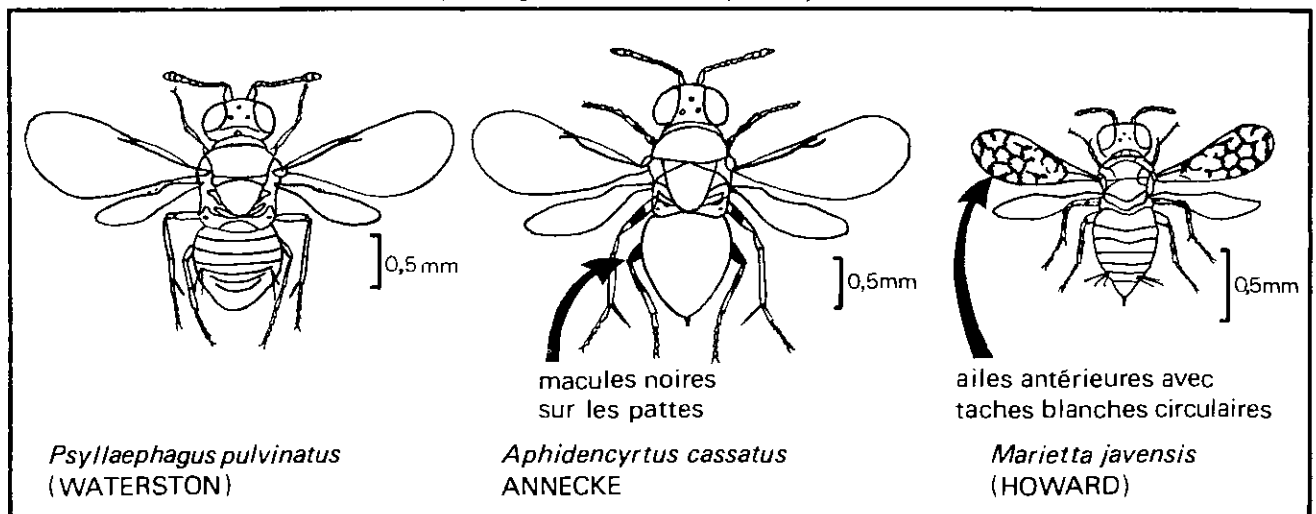
T. dryi

x 210

Figure 61 - Quelques caractères anatomiques des *Encyrtidae*.

obtenue en Inde à partir de larves de *Diaphorina citri* dans la région de Bhatinda (Punjab) (HAYAT 1981), ainsi qu'au Viet-Nam (MYARTZEVA et TRYAPITZYN, 1978) à Taiwan (LIN *et al.*, 1972) et en Indonésie (AUBERT, 1984 C). Aux Comores, elle a été observée sur les larves d'un psylle proche de *Diaphorina amoena* (AUBERT, 1984 b). En Inde, elle parasite *Diaphorina cardiae* un psylle inféodé à *Cardia ruyxa* (HAYAT, 1981).

D. aligarhensis a été signalé à l'île de la Réunion sur *D. citri* bien avant l'introduction de *Tetrastichus radiatus*. Compte tenu de sa très grande ressemblance avec *Psyllaephagus harrisoni* (ROBINSON)

Figure 62 - Caractères distinctifs de quelques *Encyrtidae* impliqués dans le complexe parasitaire des psylles vecteurs du greening. (d'après PRINSLOO, 1984).

un *Encyrtidae* africain, il y avait eu confusion entre les deux espèces, jusqu'à ce que HAYAT (1981), mette en évidence leurs différences taxonomiques.

Psyllaephagus pulvinatus (WATERSTON) [synonyme : *Encyrtus pulvinatus* WATERSTON, *Aphidencyrtus pulvinatus* (WATERSTON) ROBINSON, *Aphidencyrtus coccidicola* GAHAN.].

Cette espèce a été obtenue de *Trioza erytrae* en Ethiopie, au Kenya, au Zimbabwe, en Angola et en Afrique du Sud. Elle a été également obtenue de *Trioza catlingi* dans le Nord-Est du Transval (PRINSLOO, 1984).

Parasites secondaires et tertiaires des psylles vecteurs du greening.

En Afrique, Mc DANIEL et MORAN (1972) ont décrit une douzaine d'espèces qui se développent aux dépens des parasites primaires de *T. erytrae*. Il s'agit selon les cas de parasites secondaires ou tertiaires. Un complexe analogue d'Hyménoptères inféodés aux parasites primaires de *D. citri* semble exister en différentes régions d'Asie et il a récemment fait l'objet d'un premier inventaire à Taïwan (SHUI-CHEN-CHIU *et al.*, 1987).

Les espèces les plus couramment rencontrées au sein du complexe parasitaire de *T. erytrae* appartiennent à trois familles : les *Encyrtidae*, les *Aphelinidae* et les *Ceraphronidae*.

● *Encyrtidae*.

Un des hyperparasites le plus communément rencontré sur *T. erytrae* en Afrique australe est *Aphidencyrtus cassatus* ANNECKE, décrit par ANNECKE et CILLIERS en 1963. Cet Hyménoptère se développe aux dépens de *T. dryi* et *P. pulvinatus*. Il présente une grande ressemblance avec *P. pulvinatus* dont il se distingue uniquement par la présence de macules sur les trois paires de pattes (figure 62). A partir d'éclosions obtenues de *T. erytrae* PRINSLOO (1981) a pu identifier *A. cassatus* dans les pays suivants : Afrique du Sud (Transval et Province du Cap), Zimbabwe, Swaziland, Angola, Kenya.

Cheiloneurus cyanonotus WATERSTON, est un autre hyperparasite encyrtide obtenu de *T. erytrae* par Mc DANIEL et MORAN au Zimbabwe. Cet insecte a été capturé récemment en Arabie Saoudite à partir des larves de *D. citri* (BOVE et AUBERT, 1984).

● *Aphelinidae*.

Il s'agit d'une famille qui occupe une place très importante dans le groupe des Hyménoptères chalcidiens. Elle est bien représentée en Afrique, et plusieurs espèces figurent dans le complexe parasitaire de *T. erytrae* : Mc DANIEL et MORAN (1972) ont trouvé notamment *Marietta javensis*, trois *Coccophagus*, un *Physcus* et un *Euxanthellus* (tableau 24).

● Hyperparasites appartenant à d'autres familles de chalcidiens.

En Afrique, PRINSLOO (*in litt.*) a signalé la présence de deux *Ceraphronidae* appartenant au genre *Aphonogmus*. Ces espèces ont été trouvées aux Comores dans le complexe parasitaire de *Diaphorina auberti* (AUBERT, 1984 b). Enfin une espèce appartenant à la famille des *Pteromalidae* a été signalée en Afrique.

Tableau 25 - Complexe parasitaire de *Diaphorina citri* et *Trioza erytreae*.

RAVAGEURS	PARASITES PRIMAIRES	PARASITES SECONDAIRES OU TERTIAIRES	
TRIOZA ERYTREAЕ	Ectoparasite (Eulophidae) <i>Tetrastichus dryi</i> (WATERSTON) * Endoparasite (Encyrtidae) <i>Psyllaephagus pulvinatus</i> WATERSTON *	<i>Eulophidae</i>	Zone de répartition
		<i>Tetrastichus</i> sp. non déterminé	Afrique
		<i>Encyrtidae</i>	
		<i>Aphidencyrtus cassatus</i> ANNECKE	Afrique
		<i>Cheiloneurus cyanonotus</i> WATERSTON	Afrique et Moyen Orient
		<i>Aphelinidae</i>	
		<i>Marietta javensis</i> (HOWARD)	Afrique Moyen Orient et Extrême Orient
		<i>Physcus</i> sp.	Afrique
		<i>Coccophagus pulvinariae</i> COMPERE	
		<i>Coccophagus eleaphilus</i> SILVESTRI	Afrique
		<i>Coccophagus</i> sp.	
		<i>Euxanthellus philippiae</i>	
		<i>Ceraphronidae</i>	
		<i>Aphonogmus triozae</i> DESSART <i>Aphonogmus incredibilis</i> DESSART	Afrique et Comores
<i>Pteromalidae</i>			
<i>Pachyneuron</i> sp.	Afrique		
DIAPHORINA CITRI	Ectoparasite (Eulophidae) <i>Tetrastichus radiatus</i> WATERSTON ** Endoparasite (Encyrtidae) <i>Diaphorencyrtus</i> <i>aligarhensis</i> SHAFTEE <i>et al.</i> ***	<i>Marietta javensis</i> (HOWARD)	Asie
		plus autres espèces non identifiées	
		<i>Pachyneuron</i>	Taiwan
		<i>Signiphora</i>	

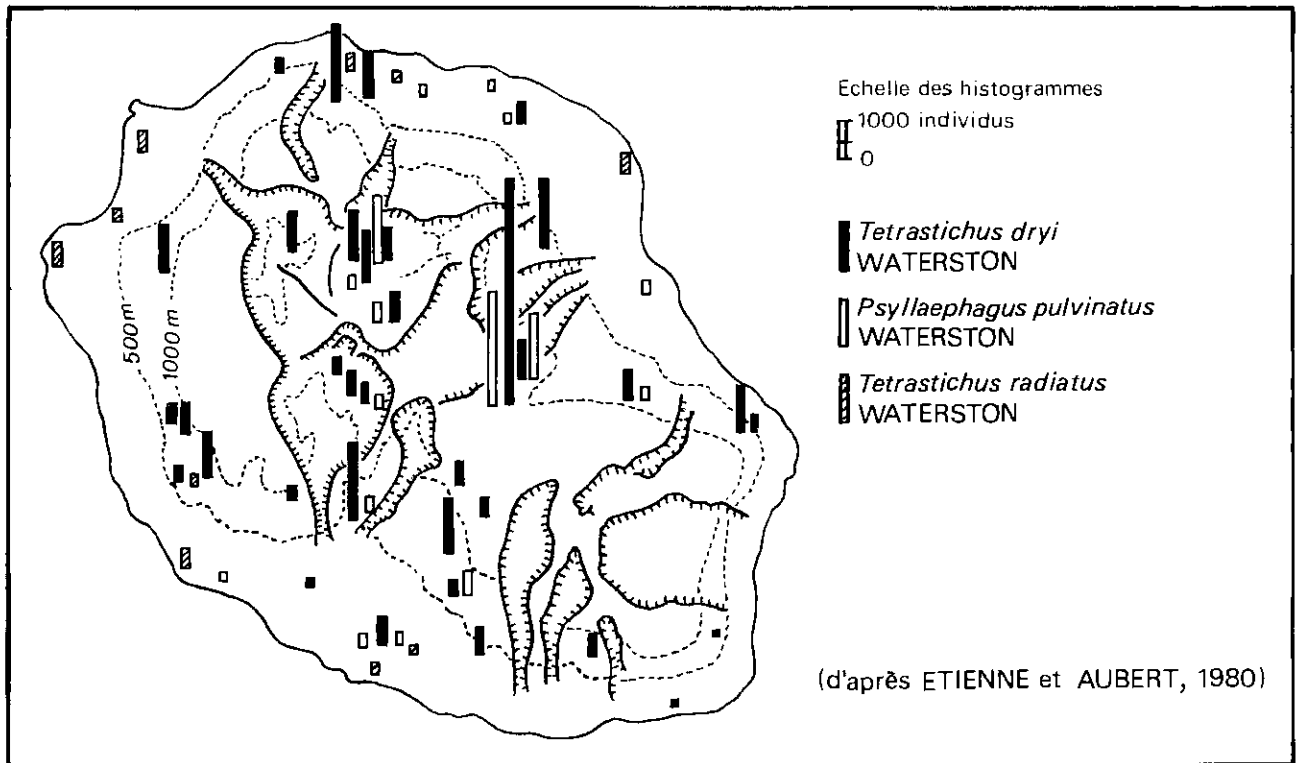
* - introduit en 1974 ** - introduit en 1978 *** - introduction non identifiée

N.B. - Fin 1986, aucun des parasites secondaires ou tertiaires de la liste ci-dessus n'avait été trouvé à l'île de la Réunion.

EN RESUME les parasites secondaires et tertiaires décrits ci-dessus, peuvent entraver considérablement l'action bénéfique des parasites primaires. Ils sont inféodés non seulement au complexe parasitaire des psylles mais aussi à celui d'autres Homoptères. Par exemple, les espèces appartenant aux genres *Euxanthellus* ou *Coccophagus* font partie du complexe parasitaire de diverses cochenilles diaspiques ou lécanines.

L'ensemble de la faune chalcidienne connue, inféodée à *T. erytreae* ou *D. citri* a été regroupée dans le tableau 24. Une espèce seulement était présente à l'île de la Réunion avant le lancement d'un programme de lutte biologique, il s'agissait de l'endoparasite primaire *Diaphorencyrtus aligarhensis*. Aucun hyperparasite n'avait été observé. Ces conditions, on le voit, étaient particulièrement favorables à des essais d'introduction de nouvelles espèces entomophages exotiques.

Figure 63 - Lachers d'hyménoptères chalcidiens parasites primaires des psylles des agrumes effectués à la Réunion.



PARASITES PRIMAIRES DES PSYLLES VECTEURS DU GREENING INTRODUCIS A L'ILE DE LA REUNION

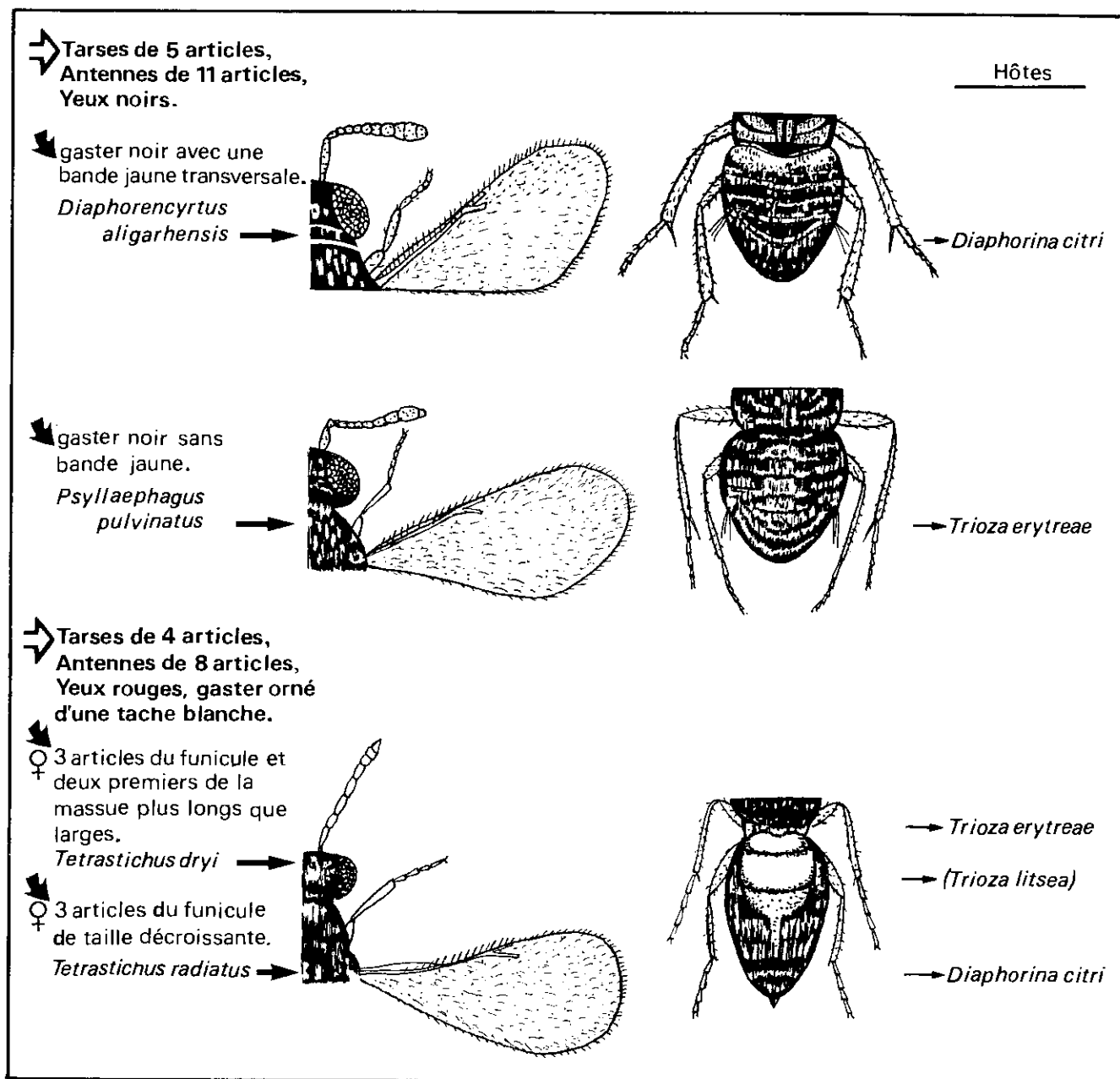
Dans le but de limiter les pullulations des deux psylles vecteurs du *greening* plusieurs parasites primaires furent introduits à la Réunion : tout d'abord un ectoparasite et un endoparasite de *T. erythrae* puis quelques années plus tard un ectoparasite de *D. citri*.

Matériel et méthode.

● Parasites primaires de *T. erythrae*.

Une prospection effectuée en décembre 1974 en Afrique du Sud dans la région de Nelspruit au Transval a permis de rapporter *Tetrastichus radiatus* WATERSTON et *Psyllaephagus pulvinatus* WATERSTON (AUBERT, 1975). Les captures ont eu lieu sur des vergers d'agrumes hébergeant des populations de *T. erythrae* parasitées. Une première série de 150 imagos a été prélevée *in situ* à l'aide d'un aspirateur à bouche. Seuls ont été choisis les insectes présentant une tache blanche bien visible sur le *gastre*. Lors de la même collecte des feuilles d'orangers hébergeant des larves de *T. erythrae* parasitées ont été placées dans des boîtes en carton scellées avec une bande adhésive. Les deux lots ont été transportés par avion en cabine. Les Hyménoptères prélevés à l'aspirateur ont été vérifiés un à un sous loupe binoculaire puis lâchés dans un verger de la région du Tampon. Le lot de larves placé dans la boîte en carton a été ouvert dans un caisson étanche aux insectes, et des éclosions d'adultes des trois espèces suivantes ont été obtenues : *Tetrastichus dryi* WATERSTON, *Psyllaephagus pulvinatus* WATERSTON et *Aphidencyrthus cassatus* ANNECKE. Le tri de ces trois espèces a été réalisé par ETIENNE (1975). Les hyperparasites ont été systématiquement éliminés et les deux autres espèces ont été élevées en insectarium avant d'être lâchées dans la nature.

Figure 64 - Clef simplifiée de détermination des Hyménoptères parasites de psylles introduits à la Réunion.



Les élevages en insectarium ont été conduits à partir de larves de *Trioza erytreae* obtenues sur des plants de citronniers. Les citronniers préalablement rabattus pour forcer l'émission de jeunes pousses étaient cultivés en salle climatisée avec un éclairage de 15 heures par jour. La température atteignait 25°C et l'humidité relative 60 p. 100 le jour puis respectivement 15°C et 80 p. 100 la nuit. Dans ces conditions la durée du cycle de développement de *T. erytreae* était de 30 à 36 jours. Elle atteignait 10 à 14 jours pour *T. dryi* et 20 à 24 jours en ce qui concerne *P. pulvinatus*. En l'espace de 24 mois, un total de 33.000 *T. dryi* a été obtenu en utilisant comme plantes support, 157 plants de citronniers, et en 16 mois 12.000 *P. psyllaephagus* se sont développés à partir d'une centaine de plants de citronniers (ETIENNE et AUBERT, 1980). Les deux types d'Hyménoptères ont été lâchés dans différents vergers de l'île où la présence de *Trioza erytreae* avait été signalée. Sur la figure 63 apparaissent les différents points de lâchers de *T. dryi* et *P. pulvinatus* soit respectivement 34 points de lâchers pour le premier et 14 points pour le second. Le nombre d'individus lâchés dans un site donné est représenté sous forme d'un histogramme. Ramenée à la surface agrumicole concernée, le nombre d'Hyménoptères

res introduits pour une espèce donnée atteignait 30 à 50 adultes par km².

● Parasite primaire de *D. citri*.

Une prospection effectuée en Inde dans la région de Bathinda au Punjab en avril 1978 a permis de rapporter *Tetrastichus radiatus* WATERSTON (AUBERT, 1978). Les conditions de transport ont été les suivantes : de jeunes bourgeons nouvellement éclos porteurs de larves de *D. citri* parasitées ont été détachés de l'arbre et placés dans un bac de polystyrène expansé à l'intérieur duquel régnait une température de 8 à 15°C. Après un transport de 72 heures, les larves ont été mises en présence de jeunes plants d'agrumes dans une salle de quarantaine. Sur un total de 300 larves introduites, 25 étaient parasitées par *T. radiatus* et 32 par divers *Encyrtidae*. Cette deuxième catégorie d'Hyménoptères a été entièrement détruite et n'ont été gardés que les imagos de *T. radiatus*. La production de masse de l'eulophide asiatique a été conduite dans des conditions identiques à celles de l'homologue africain, mais en retenant des conditions ambiantes de températures et d'hygrométrie, sans appoint de climatisation (température moyenne de 28°C le jour et 21°C la nuit et hygrométrie variant de 60 à 95 p. 100). La durée de développement de *D. citri* a été de 22 à 25 jours et celle de *T. radiatus* de 9 à 12 jours (ETIENNE et AUBERT, 1980).

Un total de 4 600 adultes de *Tetrastichus radiatus* a été lâché dans la région Ouest de l'île, principale zone de pullulation de *D. citri* (figure 63).

Résultats concernant l'implantation des Hyménoptères introduits.

Des trois parasites primaires introduits sur le territoire de l'île de la Réunion seules les deux espèces appartenant à la famille des *Eulophidae* se sont rapidement implantées. L'*Encyrtidae Psyllaephagus pulvinatus* probablement désavantagé n'a pas été retrouvé dans l'île, la durée de son cycle de développement étant près de deux fois plus longue que celle de *T. dryi*. Sur la figure 64 apparaît une clef de détermination permettant de distinguer les quatre parasites primaires de psylles introduits sur le sol réunionnais. La distinction entre *T. dryi* et *T. radiatus* ne tient compte que des différences de morphologie antennaire des femelles. Elles peuvent être plus facilement observées que celles des mâles dont le *funicule* et la *massue*, souvent repliés, masquent la base du *scape*.

OBSERVATIONS RELATIVES A LA BIOLOGIE DE *T. DRYI* ET *T. RADIATUS*

En définitive l'introduction des deux *Eulophidae* a été déterminante pour le rétablissement des antagonismes naturels capables de limiter les pullulations des deux psylles vecteurs du *greening*. C'est la raison pour laquelle diverses observations ont été effectuées sur le comportement de ces ectoparasites.

Cycle de développement.

Très tôt après leur éclosion les adultes s'accouplent. Les femelles parvenues à maturité prospectent les feuilles de Rutacées en parcourant la face inférieure et supérieure du limbe ainsi que les pétioles ou les très jeunes tiges. L'éthologie de *T. dryi* et *T. radiatus* n'a pas été étudiée en détail ; on peut penser qu'elle s'apparente à celle de *Tetrastichus upis* WALK décrite par ONILLON (1967). En présence d'une larve de psylle parvenue au troisième stade larvaire, la femelle de *Tetrastichus* tapote sa proie avec ses antennes puis engage son oviposition sous la larve. Dans le cas de *T. dryi* ou *T. radiatus* on ignore s'il y a une piqûre anesthésiante avant le dépôt de l'oeuf sous la larve de psylle.

Les observations que nous avons eu l'occasion d'effectuer sur environ 150 larves ont montré que l'oeuf est déposé à proximité des *coxas* des pattes médianes ou postérieures de l'hôte (figure 65 A). La jeune larve de *Tetrastichus* sort après éclatement du *chorion*. Elle se fixe à la surface du corps de sa

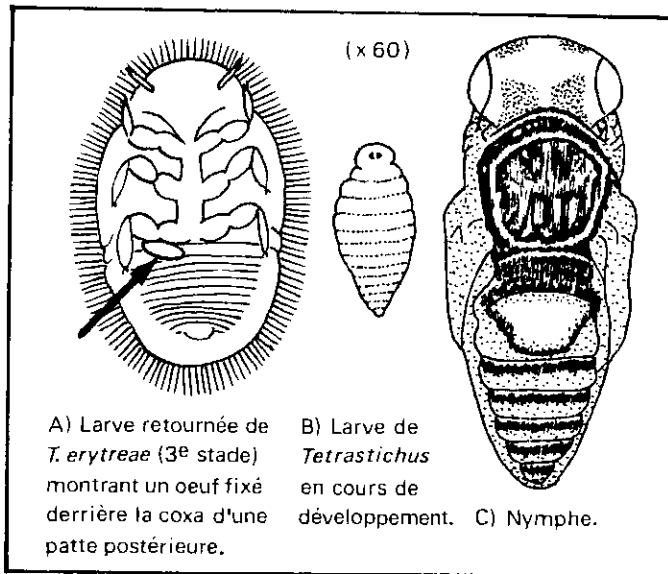


Figure 65 - Quelques étapes du cycle de développement de *Tetrastichus*.

B - *Trioza erytreae* parasité par *Tetrastichus dryi*.

Figure 66 - Photographies de microscopie électronique à balayage montrant des momies de larves de psylles après éclosion de *Tetrastichus* ; le trou de sortie se situe au milieu du thorax.



A - *Diaphorina citri* parasité par *Tetrastichus radiatus*.

C - *Trioza litseae* parasité par *Tetrastichus ? dryi*.



x 40

proie à l'aide de deux crochets acérés pour se nourrir d'hémolymphe. Pendant le troisième stade larvaire de l'hôte, l'activité de ce dernier ne semble pas perturbée. Vers le quatrième stade larvaire, l'augmentation de volume du parasite rend plus difficile la prise de nourriture pour l'hôte en raison de la pression exercée au niveau du *labium*. Arrivé au stade nymphal le parasite aura entièrement absorbé le contenu de la cavité de l'hôte. Les adultes de *T. radiatus* ou *T. dryi* émergent en découpant un trou de sortie au milieu du thorax de l'hôte (figure 66 A, B et C). Par comparaison les momies de larves de *D. citri* parasitées par *D. aligarhensis* sont convexes et le trou de sortie se situe au niveau de l'abdomen (figure 67).

Spécificité hôte-parasite.

Lorsque furent effectuées les premières introductions de *Tetrastichus dryi* en provenance d'Afrique du Sud, on espérait pouvoir faire parasiter non seulement *T. erytreae* mais également *D. citri* (ETIENNE et AUBERT, 1980). Toutefois seul le psylle africain s'est avéré être attaqué par *T. dryi*. C'est la raison pour laquelle une seconde expédition fut entreprise en Inde pour rechercher *Tetrastichus radiatus*.

Inversement, des populations de larves de *Trioza erytreae* de deuxième et troisième stades furent mises en présence de *T. radiatus* et *D. aligarhensis* en chambre de quarantaine à 23°C le jour et 12°C la nuit pendant trois semaines. Mais aucun parasitisme ne fut observé sur *Trioza erytreae* (VAN DEN BERG et AUBERT, non publié).

Ces deux essais ont donc montré la spécificité de *T. radiatus* et *D. aligarhensis* pour *D. citri*.

Bien qu'incapable de parasiter *D. citri*, *T. dryi* fut retrouvé quelques années après son introduction dans l'île de la Réunion sur *Trioza litseae* BORDAGE. Actuellement il n'est pas certain que *T. dryi* ex. *T. litseae* et *T. dryi* ex. *T. erytreae* appartiennent à la même espèce. Les arguments qui supportent la thèse d'une espèce unique sont les suivants :

- Aucun parasitisme n'a été signalé sur *Trioza litseae* avant l'introduction de *Tetrastichus dryi* d'Afrique du Sud.
- Les études de taxonomie n'ont montré aucune différence morphologique chez le mâle ou la femelle entre les deux origines de *Tetrastichus dryi*. Il en a été de même des observations d'adultes effectuées à plus fort grossissement au microscope électronique à balayage.

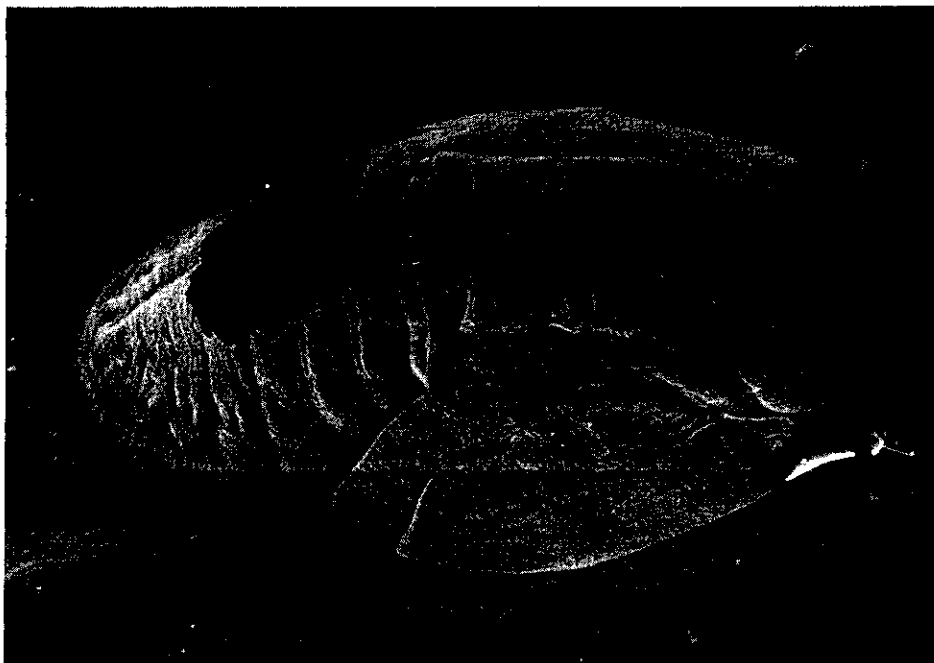


Figure 67 - Momie de larve de *D. citri* montrant un trou de sortie de *D. aligarhensis*.

Il reste cependant à étudier la biologie de ces deux origines et vérifier si après plusieurs années d'accoutumance à un seul hôte, il n'y a pas *dérive de l'espèce*. Ce dernier point ne peut être établi qu'en vérifiant le comportement de l'insecte et son mode de reproduction (accouplements entre individus de différentes origines, aptitude à parasiter).

RESULTATS OBTENUS SUR LES POPULATIONS DE PSYLLES VECTEURS DU GREENING

Méthodes utilisées pour le contrôle des populations de psylles.

Les contrôles effectués en vergers d'agrumes ont débuté sur une quinzaine d'hectares en 1974. Toutefois en raison de l'extension des surfaces nouvellement plantées (40 à 50 hectares chaque année), on devait atteindre un total de 200 hectares sous observation en 1982.

Six techniciens spécialement formés ont participé aux enquêtes de vergers. Les dégâts caractéristiques des psylles des agrumes ont également été présentés à plusieurs agrumiculteurs dont les observations purent être recueillies.

Entre janvier 1974 et janvier 1978, la collecte des données eut lieu à deux périodes de l'année : en début d'été et en début d'hiver. A partir de janvier 1978, et du fait de la baisse des populations de psylles, les observations furent seulement effectuées en début d'été. Cette période est apparue plus représentative car elle se situe juste après la poussée végétative printanière. Les méthodes d'évaluation des peuplements de psylles ont été les suivantes :

Pour le psylle africain qui laisse des traces de galles sur les feuilles, une infestation a été jugée forte lorsque 50 p. 100 des pousses émises étaient cloquées par les galles. Les citronniers et limettiers ont été plus spécialement surveillés du fait de leur grande attractivité pour *T. erytrae*. L'infestation était jugée faible lorsque moins de 10 feuilles cloquées étaient observées sur un ensemble de 25 arbres.

En ce qui concerne le psylle asiatique l'importance des populations d'adultes a été estimée en classes d'abondance, une attaque étant jugée *forte* lorsqu'une récolte de 5 minutes à l'aspirateur à bouche permettait de capturer 150 adultes ou plus, *moyenne*, lorsque la capture se situait aux environs de 50 adultes, et *faible* lorsque la capture ne dépassait pas 10 adultes. Lors des prospections, le classement final attribué à un verger ou une zone était celui constaté sur les arbres présentant la plus forte infestation de psylles.

Enfin des dénombrements de larves par unité de surface foliaire ont également été effectués.

Du fait de l'action exercée par les parasites primaires, les populations de l'un et l'autre psylles se trouvèrent limitées, dès 1980, à quelques poches résiduelles sur des plantes hôtes préférentielles. Les techniques d'observation décrites précédemment devenaient dès lors moins performantes. En effet la raréfaction des colonies de ces deux ravageurs rendait aléatoire les observations visuelles, aussi bien que les captures à l'aide d'un aspirateur à bouche.

Pour remédier à cet inconvénient les techniques d'observation s'orientèrent vers l'emploi de pièges colorés recouverts de glu. Le type de piège utilisé s'est inspiré du modèle proposé par SAMWAYS 1984. Il consiste en un rectangle métallique de 24 cm de long et 14 cm de large monté sur une tige de 1,8 m de haut. Ce rectangle est recouvert d'une bande adhésive jaune (type Saturn Yellow n° 3485). Comme nous l'avons vu précédemment, cette couleur est très attractive pour les psylles. La pancarte est recouverte d'un rhodoïd sur lequel est appliqué une couche de glu de type *Tanglefoot*. Le rhodoïd fixé par une pince est renouvelé chaque semaine. Il est directement observé sous loupe binoculaire au-dessus d'une trame de 2 x 2 cm pour le dénombrement des psylles capturés. Ces pièges ont été installés à proximité de plantes hôtes préférentielles où des populations résiduelles de *T. erytrae* ou *D. citri* avaient été signalées (figures 68 et 69).

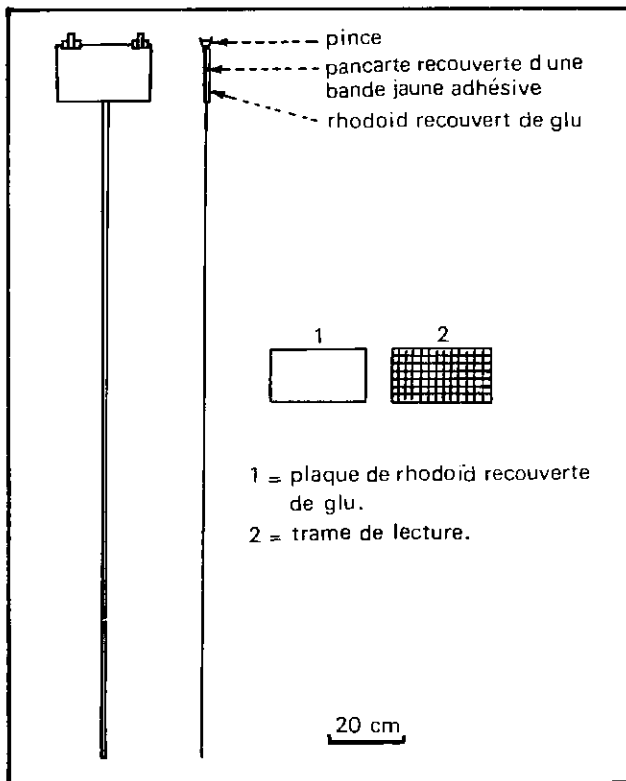


Figure 68 - Dispositif utilisé pour piéger les psylles adultes.

Figure 69 - Pièges situés à proximité de plantes hôtes préférentielles pour l'estimation des populations résiduelles de *Trioza erythrae* (A.) ou de *Diaphorina citri* (B).



Résultats.

- Réduction des populations de *T. erythrae*.

La figure 70 présente les résultats de onze années d'observations. En janvier 1974 de très fortes colonies de *T. erythrae* étaient observées dans 9 foyers situés au-dessus de 500 m d'altitude. Après une baisse notable en juillet 1974, les populations de ce ravageur augmentaient de façon spectaculaire en janvier 1976 époque où 20 foyers à forte infestation étaient enregistrés ; quelques attaques de faible

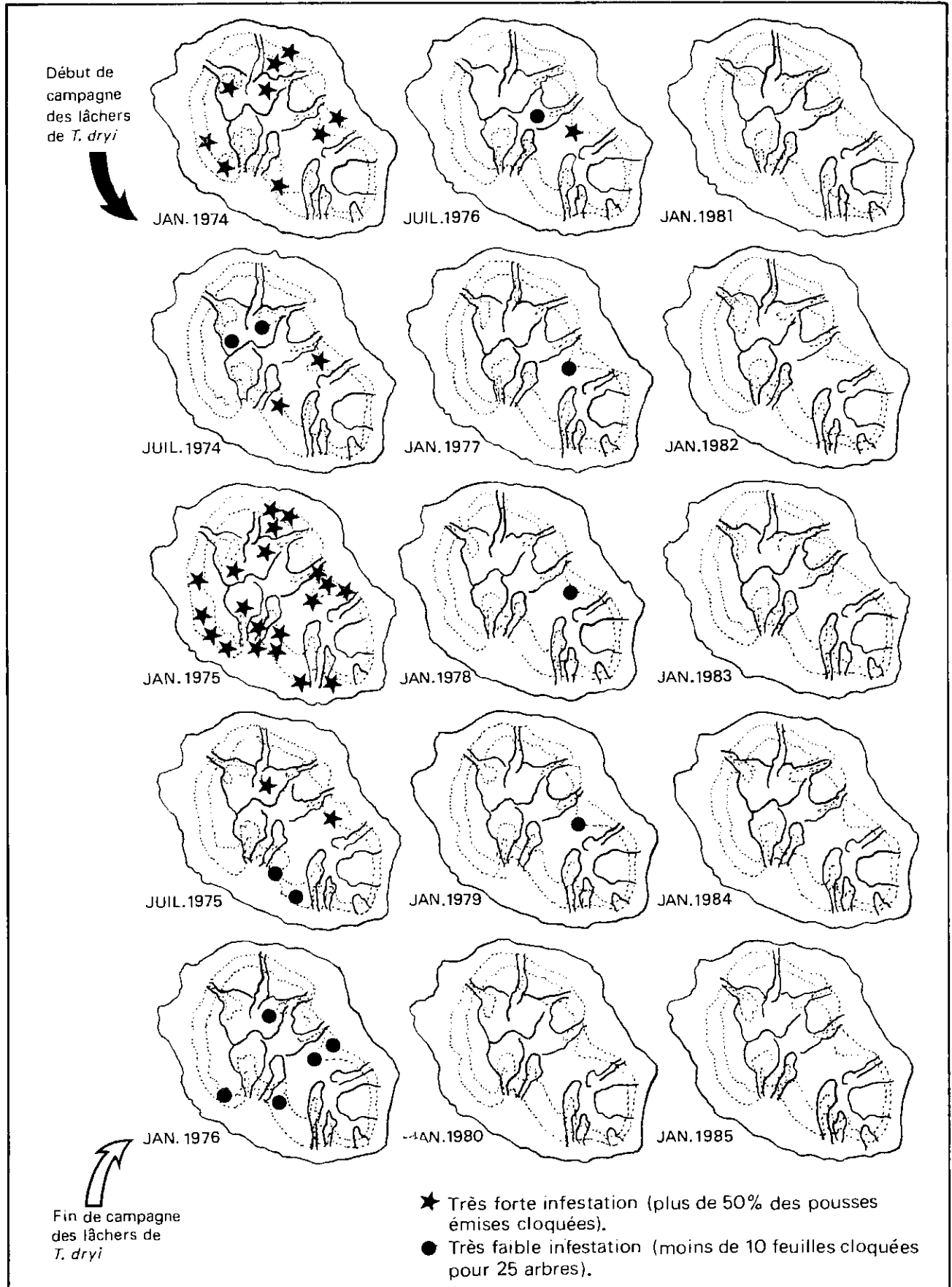


Figure 70 - Résultats de 11 années d'observation concernant les populations de *Trioza erythrae* dans les vergers d'agrumes réunionnais.

importance pouvaient également être signalées à des altitudes comprises entre 300 et 500 m. En janvier 1976, soit deux ans après les premiers lâchers de *Tetrastichus dryi*, les populations de *T. erytreae* avaient considérablement régressé et l'Hyménoptère eulophide était retrouvé systématiquement à chaque réapparition du psylle africain. Cinq endroits seulement restaient faiblement contaminés : Tévelave, Tampon 17e, Grand Ilet, Plaine des Palmistes et Cambourg. Au cours des trois années qui suivirent, *Trioza erytreae* avait totalement disparu de l'île sauf à la station IRFA de la Petite Plaine située dans la commune de la Plaine des Palmistes. Sur cette station expérimentale localisée à 1.000 m d'altitude dans une zone très humide, un lot de 250 citronniers Eureka ne recevant aucun traitement insecticide, avait été utilisé comme *plantes pièges*. De faibles populations de *Trioza erytreae* fortement parasitées par *T. dryi* furent observées dans cette parcelle en janvier 1977, janvier 1978 et janvier 1979.

Entre janvier 1980 et janvier 1982, aucun adulte ni aucune larve de *Trioza erytreae* n'avait pu être observé sur l'ensemble des inventaires effectués dans toute l'île. Seules quelques très rares feuilles cloquées (moins de cinq au total) avaient été relevées sur d'anciennes pousses. Entre janvier 1983 et janvier 1985, pas une seule trace de *Trioza erytreae* ne subsistait dans l'île qu'il soit en verger commercial, sur des arbres de jardin non traités, ou sur les populations de Rutacées endémiques.

Le foyer résiduel de *T. erytreae* vu pour la dernière fois étant celui de la parcelle de citronniers de Petite Plaine, il fut décidé de placer à cet endroit quatre pièges du type de ceux présentés sur la figure 68. Les relevés de ces pièges effectués entre décembre 1984 et janvier 1987 ne permirent de capturer aucun *Trioza erytreae* alors que des individus appartenant au groupe *M. lutheri* ou *T. litseae* étaient régulièrement piégés. La même constatation a pu être faite en 12 autres endroits de l'île (voir plus loin le détail des résultats sur le tableau 26).

L'absence totale de *Trioza erytreae* sur ces pièges très attractifs, placés dans un environnement particulièrement favorable tant sur le plan du climat que de la disponibilité en plantes hôtes préférentielles, suggère une complète disparition de cet Homoptère dans l'île.

● Réduction des populations de *Diaphorina citri*.

La baisse des populations de *D. citri* sous l'effet du parasitisme exercé par *Tetrastichus radiatus* a été étudiée d'une part en insectarium et d'autre part en conditions naturelles dans des parcelles d'agrumes ou sur des haies de *Murraya paniculata*.

Observations effectuées en insectarium.

Matériel et méthode.

Un lot d'environ 200 *Murraya paniculata* cultivés en pots selon les conditions décrites précédemment a été placé dans un insectarium lequel comportait un sas donnant accès à une pièce équipée de panneaux en grillage fin de type *screenglass* sur ses quatre faces, et recouverte d'un toit translucide peint en blanc. Les plantes protégées de la pluie étaient soumises à un régime de température et d'hygrométrie voisin des conditions naturelles, à savoir une saison chaude et humide de novembre à avril et une saison fraîche de mai à octobre. Chaque quinze jours, une taille de rabattage était pratiquée sur un quart des plants environ, dans le but de forcer l'émission de nouvelles pousses.

Une trentaine de femelles de *Diaphorina citri* prêtes à pondre ont été introduites dans l'insectarium en janvier 1983. L'évolution des populations de *D. citri* a été suivie par des dénombrements de larves de cinquième stade effectués sur des folioles colonisées venant de terminer leur croissance. Dans ce but dix folioles supportant les plus fortes densités de colonies ont été choisies au début de chaque mois. Cette technique a permis de suivre l'évolution des populations de *D. citri* pendant quatre mois en absence de parasitisme. Au cours de la première semaine de juin 1983, les adultes de *Tetrastichus*

radiatus ont été introduits dans l'insectarium, et les comptages se sont poursuivis pendant 18 mois sur l'association parasitaire *D. citri*+ *T. radiatus*.

Les dénombrements de larves apparaissent sur la figure 71. Avant l'introduction de *Tetrastichus radiatus* le nombre de larves de cinquième stade observé par foliole se situait entre 20 et 25, seuil représentant la *charge biotique maximale*. En effet au-delà de cette densité de peuplement l'action spoliatrice des larves devenait telle qu'elle entraînait un dessèchement progressif puis une chute des folioles, obligeant les larves à refluer sur les pétioles et les tiges (figure 72). A partir du quatrième mois qui a suivi l'introduction de *T. radiatus*, le nombre maximum de larves observé par foliole, n'a pas dépassé 5, et 90 à 95 p. 100 de ces larves étaient parasitées. La figure 72 présente un aspect des folioles sur lesquelles apparaissent des momies perforées de larves de *D. citri*. En janvier 1984 et janvier 1985 le parasitisme larvaire conjugué à l'apparition de mycoses devait entraîner la disparition des colonies de psylles. Il a été nécessaire de réintroduire plusieurs femelles matures capturées dans la nature sur des haies de *M. paniculata* pour maintenir les élevages.

Evolution des populations de Diaphorina citri en vergers et sur les haies de Murraya paniculata.

L'inventaire des populations d'adultes de *Diaphorina citri* s'est poursuivi pendant une période de huit ans. La technique des captures à l'aspirateur à bouche et leur division en trois classes d'abondance a été appliquée. Les observations ont eu lieu dans plusieurs secteurs de l'île en janvier, c'est-à-dire deux mois après la fin de la principale poussée végétative printanière. La figure 74 illustre les résultats enregistrés entre janvier 1977 et janvier 1985.

En janvier 1977, *D. citri* était observé principalement dans les vergers d'agrumes de la zone *sous le vent* à des altitudes inférieures à 500 m. Il n'était pas vu au-delà de cette altitude, et devenait très rare dans la zone littorale *au vent*, à partir de l'isohyète 3.000 mm. Les foyers les plus importants se situaient à Cambaie et la Saline. La gravité des attaques de *greening* dans ces zones avait entraîné une désaffectation des planteurs pour l'agrumiculture. La plupart des arbres étaient improductifs, leur note *greening* dépassant 25/40. Ils reémettaient de fréquentes poussées végétatives qui étaient systématiquement colonisées par *D. citri*. D'autres foyers moins importants pouvaient être signalés également à Ste-Suzanne, Etang-Salé et St-Pierre. C'est à partir de 1980, soit deux ans après les premiers lâchers de *Tetrastichus radiatus*, que les populations de *D. citri* commencèrent à décliner. Les colonies de psylle asiatique se raréfièrent même dans les secteurs de Cambaie et la Saline où subsistaient des vergers abandonnés ne recevant aucun traitement insecticide. Des comptages effectués à plusieurs époques de l'année sur de jeunes pousses d'agrumes montraient que le taux de parasitisme larvaire était rarement inférieur à 90 p. 100, et qu'il était dû, pour la plus grande part à *T. radiatus*. En 1982, l'action de cet entomophage avait entraîné la disparition de *D. citri* sur agrumes dans des zones antérieurement colonisées. Par contre, l'Homoptère asiatique était retrouvé sur des haies de *Murraya paniculata* principalement en deux endroits : d'une part dans le secteur de l'Etang-Salé en zone littorale sèche, et d'autre part au Tampon en région subhumide à 600 m d'altitude. Dans le premier cas il s'agissait d'une *faible* infestation. Dans le second cas, l'infestation subissait des fluctuations saisonnières. Elle était classée *faible* en 1982, mais devenait *moyenne* en 1983. La présence de ces deux foyers persistait en janvier 1984 et janvier 1985. Plusieurs pièges ont été installés en différents endroits de l'île selon un gradient altitudinal s'étageant du niveau de la mer à 1.000 m. Les relevés de ces pièges entre novembre 1984 et février 1987 sont présentés dans le tableau 26. Aucun adulte de *D. citri* n'a pu être capturé dans les vergers d'agrumes quelle que soit l'altitude. Seul les pièges situés à proximité immédiate de haies de *Murraya paniculata* ont fourni des adultes de *D. citri*. Les inventaires effectués entre 1983 et 1987 ont révélé que *M. paniculata* restait apparemment la seule Rutacée porteuse de colonies de *D. citri*. Les effectifs de psylles asiatiques étaient plus importants sur les haies régulièrement taillées que sur les haies non taillées. Toutes les colonies répertoriées se sont avérées être parasitées par *Tetrastichus radiatus*. Le pourcentage de larves parasitées était en moyenne de 92 p. 100 sur les larves prélevées dans la zone de l'Etang-Salé, alors qu'il variait de 74 à 87 p. 100 sur les larves prélevées au Tampon à 600 m. Entre janvier 1982 et janvier 1985 l'encyrtide *Diaphorencyrtus*

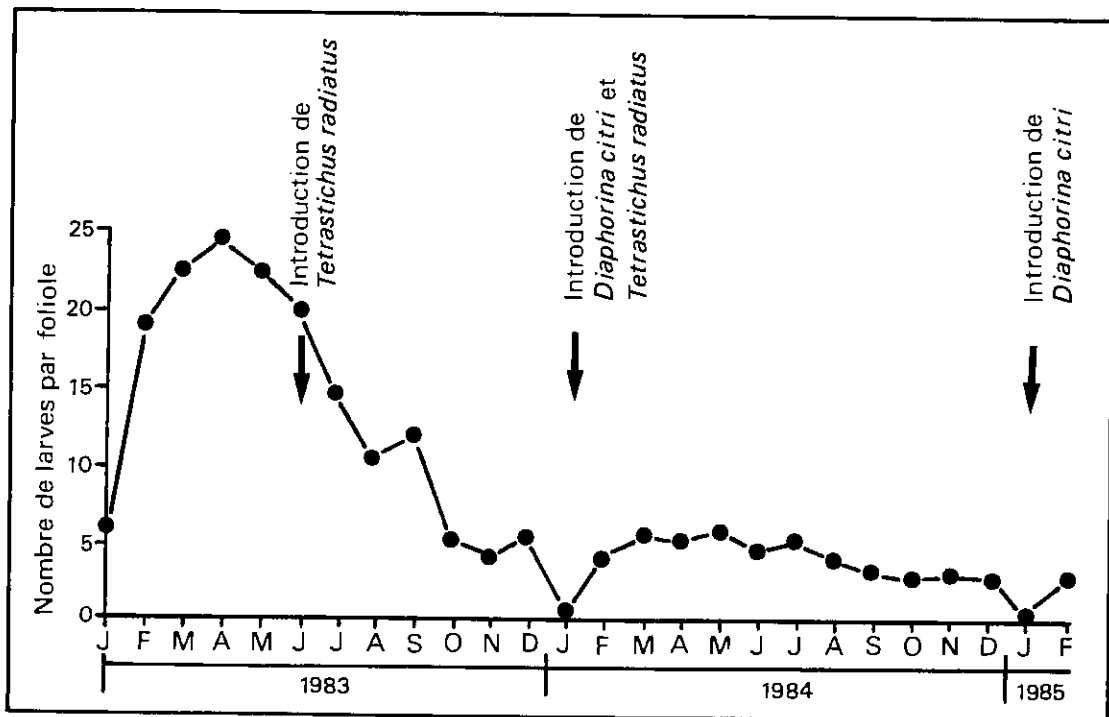


Figure 71 - Effectifs de larves de cinquième stade dénombrés sur des élevages conduits en insectarium en utilisant comme plante support *Murraya paniculata* : avant ou après introduction de *Tetrastichus radiatus*.



Figure 72 - Colonies de larves de *Diaphorina citri* sur *Murraya paniculata* ayant dépassé la charge biotique maximale, ce qui a provoqué la chute des folioles. Elevage conduit en absence de parasitisme.

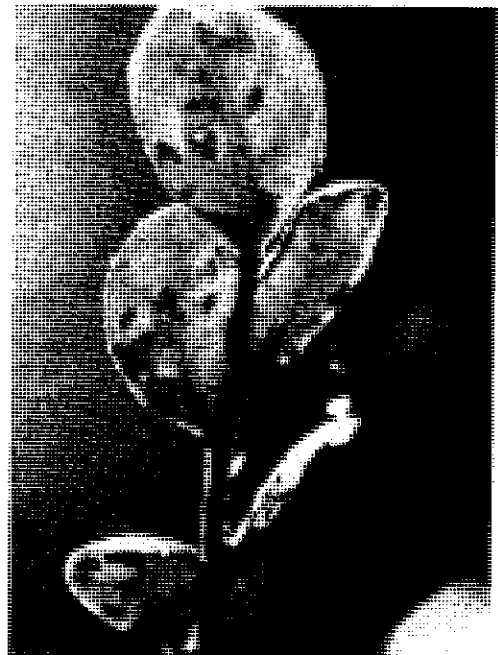


Figure 73 - Densité de peuplement maximale observée après l'établissement du parasitisme larvaire : 90 à 95 p. 100 des larves de cinquième stade sont perforées, suite à l'éclosion de *Tetrastichus radiatus*.

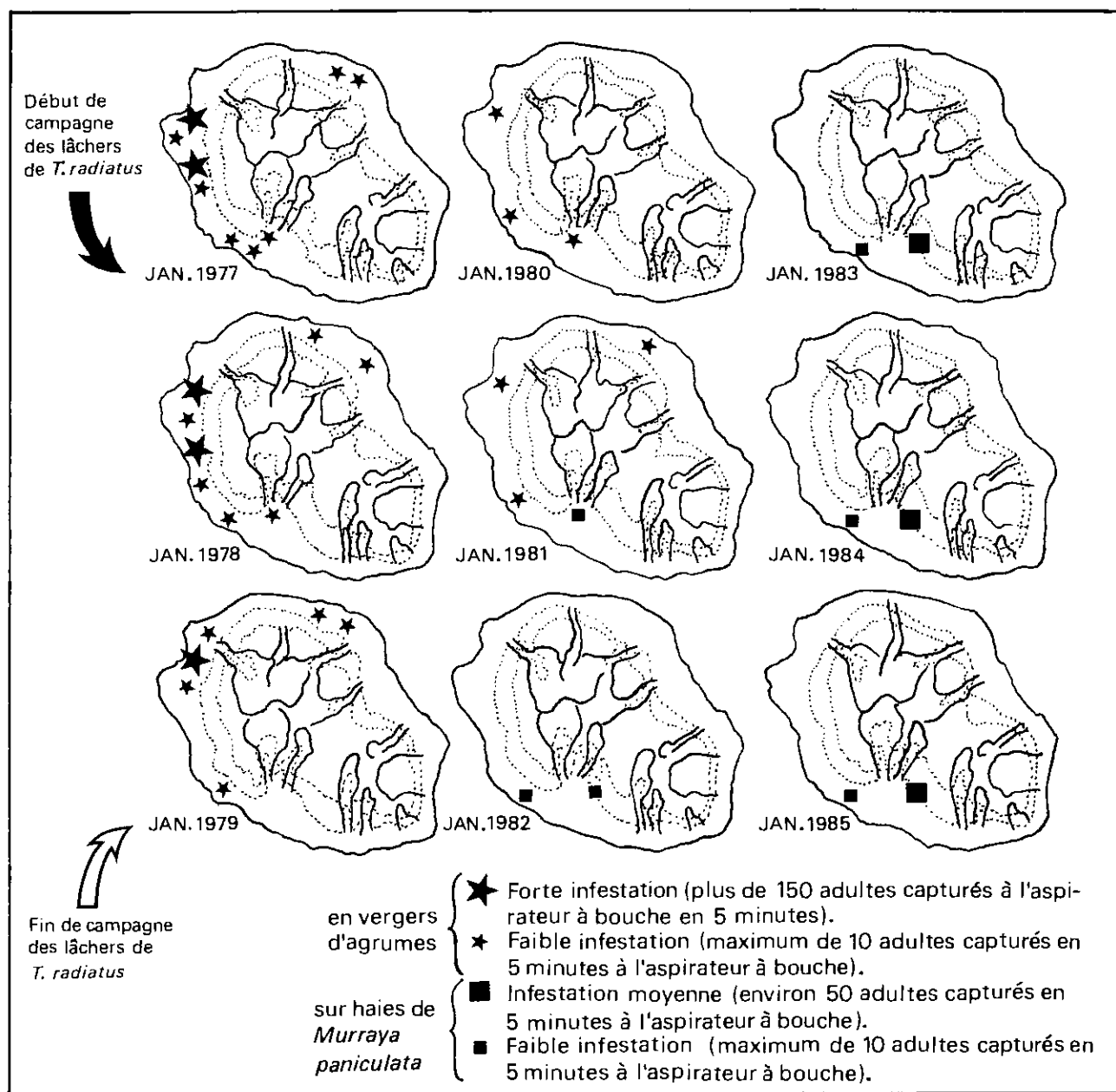


Figure 74 - Abondance des effectifs de *Diaphorina citri* à l'île de la Réunion. Observations poursuivies sur une période de 8 ans avant ou après l'introduction de *Tetrastichus radiatus*.

aligarhensis s'est raréfié. Cet endoparasite dont le cycle de développement est probablement du même ordre que celui de *Psyllaephagus pulvinatus* (soit environ 20 jours), semble avoir été déplacé à la suite de la forte compétition exercée principalement en période sèche par *T. radiatus*.

EN RESUME cinq ans après l'introduction de *T. radiatus* les populations de *D. citri* sont parvenues à un seuil extrêmement bas en verger d'agrumes. Elles ont toutefois réussi à se maintenir sur *Murraya paniculata* où, malgré un fort pourcentage de parasitisme, leur déclin évolue plus lentement.

- Réduction des populations de *Trioza litsee*.

Des observations effectuées en 1974 et 1975 avaient permis de constater la présence de fortes

Tableau 26 - Nombre total de psylles adultes capturés sur pièges jaunes fluorescents de novembre 1984 à février 1987 (AUBERT et QUILICI, 1987).

Localité	Altitude (m)	<i>T. erytrae</i>	<i>T. litseae</i> + <i>Paraupsylla</i>	<i>D. citri</i>	<i>M. lutheri</i>
Zone sous le vent					
Etang Salé *	5	0	32	17	5
Le Gol ●	12	0	38	0	1
Bassin-Plat *	100	0	248	0	2
Bassin-Martin *	300	0	412	0	3
Tampon *	400	0	352	0	9
Tampon ●	600	0	45	1 002	18
Petite Plaine *	1 000	0	52	0	7
Total		0	1 179	1 019	45
Zone au vent					
Ste-Anne *	130	0	259	0	-
Ste-Anne *	130	0	205	0	-
Ste Marie *	140	0	132	0	-
Ste Suzanne *	100	0	75	2	-
Bois de Nèfles St Denis *	390	0	153	0	-
St François *	600	0	421	0	-
Total		0	1 245	2	-

* - pièges installés en vergers d'agrumes

● - pièges installés à proximité des haies de *M. paniculata*.

pullulations de *Trioza litseae*. Ce psylle était répandu sur un vaste territoire allant du niveau de la mer jusqu'à 1 000 mètres d'altitude. Il se développait en colonies très denses sur *Litsea glutinosa* mais était également observé très fréquemment dans les populations d'agrumes, d'avocatiers, de vanilliers et de papayers. L'installation d'un parasitisme sur ce psylle à partir de 1980 devait faire refluer les populations de *T. litseae* sur sa plante hôte préférentielle : *L. glutinosa*. Toutefois le taux de parasitisme très variable selon les saisons, n'a pas entraîné la disparition de *Trioza litseae* toujours présent en 1987 sur les plants de *L. glutinosa*. Cet Homoptère a été régulièrement capturé entre novembre 1984 et mars 1987 sur pièges jaunes (voir tableau 26).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le programme de lutte biologique mis en oeuvre dans les conditions décrites ci-dessus a été rapidement suivi d'effets. Les niveaux de pullulation des deux psylles vecteurs du *greening* ont subi une baisse considérable, à tel point qu'aucun d'eux ne s'est maintenu dans les vergers d'agrumes. Le psylle africain *Trioza erytrae* a même totalement disparu depuis près de cinq années. Après une phase d'éclipse *D. citri* continue à se reproduire sur *Murraya paniculata* et il conviendra de vérifier si les populations de cet Homoptère ont atteint une phase d'équilibre.

Dans une île océanique où la faune chalcidienne inféodée aux ravageurs des agrumes était au départ assez pauvre, l'importation de deux ectoparasites eulophides, sans leur cortège de parasites secondaires ou tertiaires, s'est montrée particulièrement efficace. Il ne peut s'agir d'un phénomène fortuit et temporaire ayant pour origine des causes d'ordre climatique ou chimique. En effet, d'une part les micro-climats régionaux offraient aux deux psylles vecteurs des conditions constamment favorables à leur développement, et d'autre part la régression des populations a bien été constatée dans des sites ne recevant aucun traitement insecticide. La raréfaction de deux Homoptères cibles résulte donc d'une dépendance étroite dans la relation *Hôte parasite*. *L'organisme exploiteur*, parfaitement adapté à repérer l'hôte qui lui permet de réaliser son cycle de développement entraîne d'autant plus vite la nécessaire disparition de *l'organisme exploité* qu'aucun frein ne lui est imposé. Toutefois

même en l'absence d'hyperparasites, il existe dans la nature des *mécanismes régulateurs* assurant la survie des espèces. Un de ces mécanismes est la *castration parasitaire* en cas de surabondance de l'organisme exploiteur comme l'ont montré les études faites par ONILLON (1967) sur *Tetrastichus upis* WALK un parasite de *Trioza urticae* L. A cet égard la disparition complète de *Trioza erytrae* enregistrée au cours de ces dernières années à l'île de la Réunion, se trouve en contradiction avec les règles habituelles de l'équilibre biologique. Un tel résultat pourrait s'expliquer par l'aptitude de *T. dryi* à se maintenir sur *Trioza litseae*.

L'étude détaillée de l'association parasitaire *D. citri* - *T. radiatus* et *T. erytrae* - *T. dryi* n'a pas été entreprise car elle sortait des limites de notre travail. Nous nous sommes contentés de présenter les résultats enregistrés *in fine* sur les populations de vecteurs, aussi bien en insectarium que dans les principales régions agrumicoles de l'île. Pour cela, il convenait d'évaluer l'importance des effectifs de ravageurs et de suivre leurs fluctuations dans le temps. Il fallait également connaître leur répartition spatiale en *zones d'occupations* plus ou moins fortes. Le dénombrement complet des insectes étant techniquement impossible, l'étude a été conduite par *estimations relatives d'abondance*. Dans le cas de *Trioza erytrae* l'intensité des dégâts occasionnés au feuillage (figure 53 A), a servi de base de référence. Dans certaines régions de la Péninsule arabique, les dégâts de *D. citri* peuvent entraîner une sévère distorsion des feuilles (figure 53 B). Cette constatation a été faite également avec *Diaphorina* sp. proche de *Diaphorina amoena* aux Comores (figure 53 C). A l'île de la Réunion, au même titre qu'en Indonésie par exemple, les colonies de *D. citri* n'atteignent pas, sur agrumes, des niveaux de pullulations suffisants pour occasionner de graves désordres mécaniques sur les feuilles. C'est la raison pour laquelle la méthode d'évaluation retenue a été celle de la *prise d'échantillons* d'adultes en un temps donné. Enfin, l'emploi de pièges attractifs est venu compléter les informations recueillies par observation directe des colonies sur les plantes hôtes.

L'application de ces différentes méthodes dans les principales régions agrumicoles de l'île a permis d'identifier les principaux *foyers* de psylles. Tous les résultats ont montré que la distribution des deux psylles vecteurs du *greening* se faisait par *agrégats*. Plusieurs raisons expliquent cette concentration des effectifs : le comportement des femelles tout d'abord qui favorise la concentration des oeufs en groupements extrêmement denses sur les jeunes feuilles. L'étroite dépendance des psylles pour leurs *plantes hôtes* et principalement leurs *plantes hôtes préférentielles* joue indiscutablement aussi un rôle sur la *distribution spatiale* de ces Homoptères. Au niveau du verger enfin, l'action de l'homme intervient lors du transport de plants et peut compenser ainsi le faible pouvoir de dispersion des adultes. Cette remarque vaut d'ailleurs beaucoup plus pour *D. citri* que pour *T. erytrae* dont la colonisation du milieu naturel est généralement assez étendue. Ce phénomène de grégarisme lié à un faible pouvoir de dispersion caractérise les populations de *D. citri*. Il a pu être confirmé expérimentalement en insectarium (WANG, 1981). On comprend donc que l'identification et la surveillance des *foyers* ou des *niches* puissent revêtir une grande importance dans le cadre d'une stratégie de lutte.

L'expérience a montré qu'avec des moyens relativement simples, il était possible d'arriver à des pourcentages de parasitisme larvaire se maintenant au-delà de 90 p. 100. Dans le cas de *Diaphorina citri* ces pourcentages ne sont pas exceptionnels puisque HUSSAIN et NATH avaient fait état dès 1924 de 95 p. 100 de larves parasitées par *T. radiatus* en absence d'hyperparasites. Pour *Trioza erytrae* par contre les chiffres publiés font état de pourcentages de parasitisme atteignant 22 p. 100 à peine (VAN DEN BERG, 1984). Il est vrai que pour le psylle africain, hormis l'exemple de la Réunion, aucun chiffre n'a été publié en zone indemne de parasites secondaires ou tertiaires. Il semble bien que la présence d'hyperparasites empêche le pourcentage de parasitisme primaire de dépasser le seuil de 30 p. 100. Des observations du même ordre ont été faites dans le cas du psylle du pommier. LAL (1934) a dénombré un taux de parasitisme larvaire qui oscillait entre 20 et 30 p. 100 sur *Psylla mali* SCHMIDBERGER parasité par *Prionomitus mitratus* (DALM.), ce dernier hébergeant trois hyperparasites.

Dans nos conditions expérimentales, la baisse très significative des populations de vecteurs s'est directement traduite par un changement du profil épidémiologique de la maladie du *greening*, ce qui était en définitive le but recherché.

CHAPITRE 6

EPIDEMIOLOGIE DU GREENING AVANT ET APRES LE PROGRAMME DE LUTTE BIOLOGIQUE ENGAGE CONTRE LES PSYLLES VECTEURS

La technique de notation des symptômes de *greening* présentée au Chapitre 2 (pages 43 et 44), porte sur une *population-cible* d'individus, constituée d'orangers ou mandariniers de lignées SRA greffés sur citranges. Au sein de cette population il est possible d'identifier les sujets ayant une probabilité élevée d'être atteints de *greening*, en évitant les risques de confusion avec d'autres maladies intercurrentes.

Cette méthode de *dépistage*, qui permet de suivre le *cours* de la maladie (ou son épidémiologie) en vergers, a été utilisée à la Réunion sur une période de plusieurs années, dans le but d'évaluer l'efficacité du programme d'assainissement mis en place avec la technique de lutte biologique contre les deux psylles vecteurs.

CONDITIONS DE REALISATION DE L'ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

Contexte général.

Lorsque nous avons entrepris nos travaux, le *greening* était répandu à l'état *endémique* dans toutes les zones agrumicoles de l'île de la Réunion, et constituait une sérieuse entrave à la production fruitière locale. En l'absence de complexe parasitaire régulateur, les deux insectes vecteurs *D. citri* et *T. erytrae* pouvaient librement proliférer en disséminant la maladie.

C'est à partir de 1969 qu'une pépinière recevant exclusivement des greffons indexés originaires de Corse était créée à Bassin-Martin dans le Sud de l'île. Un régime de deux pulvérisations mensuelles de *diméthoate* à 0,01 p. 100 en alternance avec le *vamidothion* 0,05 p. 100 ou le *monocrotophos* 0,03 p. 100 assurait la *couverture chimique* de cette pépinière, ainsi que celle du verger de pieds-mères attendant constitué avec du matériel végétal de même origine.

Les agrumiculteurs réunionnais ont eu ainsi l'occasion de se procurer en quelques années plusieurs dizaines de milliers de plants sains, notamment des orangers et mandariniers greffés sur citrange *Troyer* ou *Carrizo*.

Une fois installé en vergers privés, ce matériel végétal a pu faire l'objet d'*enquêtes épidémiologiques*. L'occasion nous a ainsi été donnée d'évaluer sur des lots de plants livrés sains au départ la rapidité de progression du *greening* et sa répartition spatiale. Ces enquêtes ont été conduites avant ou après le lancement du programme de lutte biologique dirigé contre les psylles vecteurs.

Choix des vergers et conditions de réalisation de l'enquête épidémiologique.

● Choix des vergers.

Si le *dépistage* n'a pas pour objet immédiat le *diagnostic*, il doit néanmoins avoir une bonne valeur de prédiction. Aussi importait-il de sélectionner pour notre enquête des vergers représentatifs en différents points de l'île, et totalisant un nombre d'arbres suffisamment élevé.

N'ont été choisis que des parcelles plantées avec du matériel végétal d'origine SRA provenant de la même pépinière. Des techniciens de vulgarisation ont par ailleurs supervisé la plantation et l'entretien de ces vergers, et conseillé les planteurs en matière de fumure, de taille, d'irrigation et de traitements pesticides. La couverture chimique appliquée à ces vergers était dirigée non seulement contre les psylles, mais aussi contre divers ravageurs : cochenilles, thrips, teignes, mouches des fruits et acariens. L'expérience a montré, dans le cas de la Réunion, que le contrôle des arthropodes non infectieux nécessitait au minimum 7 à 8 traitements par an en zone côtière et 3 à 4 traitements au-delà de 600 m d'altitude.

En définitive, un ensemble de 19 vergers regroupant 3 740 arbres et répondant aux normes ci-dessus a été retenu pour l'enquête. Douze de ces vergers, totalisaient un millier d'arbres et avaient été plantés entre 1970 et 1971. Ils n'avaient donc pas bénéficié au départ des mesures d'assainissement résultant de la lutte biologique contre les psylles. Les sept autres, soit (2 740 arbres) ont été plantés en 1977-1978, à une époque où le programme de lutte biologique était en voie de se terminer.

● Collecte des données.

Les données ont été collectées sur des *fiches de terrain* dont un modèle apparaît sur la figure 75. Cette fiche comporte l'identité du verger, celle de l'arbre, ainsi qu'un rappel des cinq degrés d'attaque tels qu'ils ont été définis précédemment. La notation d'un arbre s'est faite en inspectant tout le tour de la couronne sur les quatre points cardinaux et en repérant le degré d'attaque (de 0 à 5), observé sur chacun des 8 sous-secteurs de la frondaison. Au moment de passer d'un sous-secteur à l'autre, l'observateur inscrivait sa notation dans la case correspondante de la fiche de terrain. Tous les vergers ont été inspectés à la même époque de l'année : nous avons choisi la sortie de la période hivernale qui se situe au mois d'octobre dans l'Hémisphère Sud.

Les enquêtes ont été poursuivies avec la collaboration de techniciens de vulgarisation. L'observation de 1 000 arbres a nécessité environ 300 heures d'enquête sur le terrain et 120 heures de dépouillement et d'interprétation.

Le fichier d'enquête qui a été constitué permettait de connaître avec précision le degré d'attaque d'un individu par sous-secteur à un moment donné, et de suivre ultérieurement l'évolution de la maladie sur les différentes parties de la couronne.

RAPIDITE D'EVOLUTION DES SYMPTOMES DE GREENING OBSERVEE AVANT LE CONTROLE BIOLOGIQUE DES VECTEURS SUR UN ECHANTILLON DE DOUZE VERGERS

Choix des douze vergers.

Douze vergers d'orangers ou de mandariniers greffés sur citrange et plantés entre 1970 et 1971 ont été choisis pour ce premier type d'enquête. Les lieux d'implantation de ces parcelles sont indiqués sur le tableau 27, ainsi que les effectifs d'arbres concernés. L'ensemble totalisait 995 sujets. Les vergers 1, 2 et 10 étaient situés dans une région où prédominait *Diaphorina citri*, les vergers 5, 6, 8, 9, 11 et 12 se trouvaient dans la zone de chevauchement des deux territoires respectifs de *D. citri* et *T. ery-*

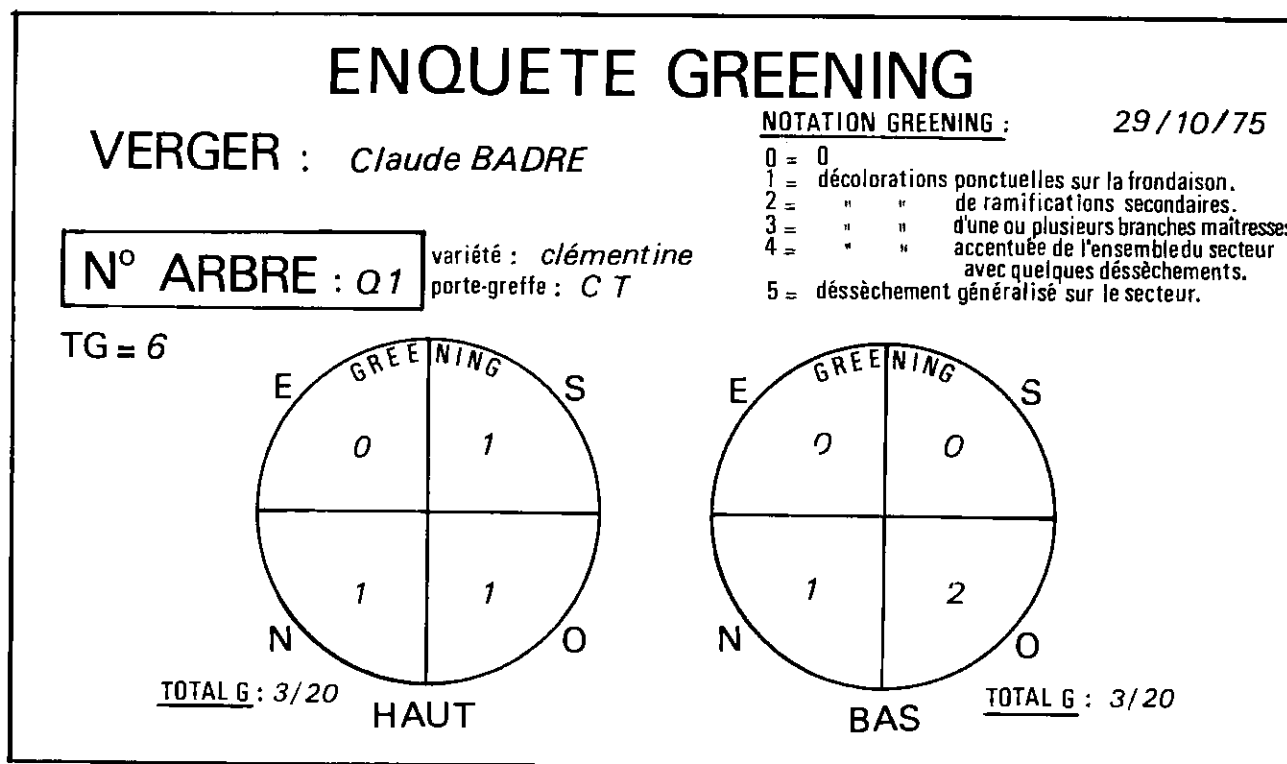


Figure 75 - Fiche de terrain utilisée pour l'enquête épidémiologique (exemple de notation).

Tableau 27 - Les douze vergers totalisant 995 orangers ou mandariniers choisis pour l'enquête épidémiologique.

N° de Verger	Lieu	Altitude (m)	Nombre d'arbres observés	Date de plantation
1	Ste-Suzanne	50	125	1970
2	Cambaie	10	30	1970
3	Le Guillaume A	610	60	1970
4	Le Guillaume B	650	25	1971
5	Bras Panon	25	100	1971
6	Ste-Rose	45	80	1971
7	Bras de Pontho	800	40	1971
8	Ligne des Bambous	450	180	1970
9	Le Gol	10	200	1971
10	Etang-Salé	10	20	1971
11	Bassin-Martin	300	80	1971
12	Vincendo	30	55	1970
Total			995	

træe, enfin les vergers 3, 4 et 7 étaient installés au-delà de 600 m d'altitude dans la zone de pullulation de *T. erytræe*.

Les soins prodigués à ces arbres ont évité les attaques précoces de psylles mais ces dernières n'ont pu être totalement enrayerées compte tenu des niveaux très élevés de populations enregistrées à l'époque. Il était courant d'observer des apparitions soudaines de vecteurs en période de poussés printanière. Dès la deuxième année de plantation une proportion non négligeable d'individus manifestait leurs premiers symptômes de *greening*. L'enquête épidémiologique conduite dans ces vergers a eu lieu une première fois quatre ans après la date de plantation, puis une seconde fois dans les mêmes conditions huit ans après la date de plantation. C'est donc à deux reprises qu'un total de 995 x 8, soit 7 960 sous-secteurs de frondaison ont été observés et notés.

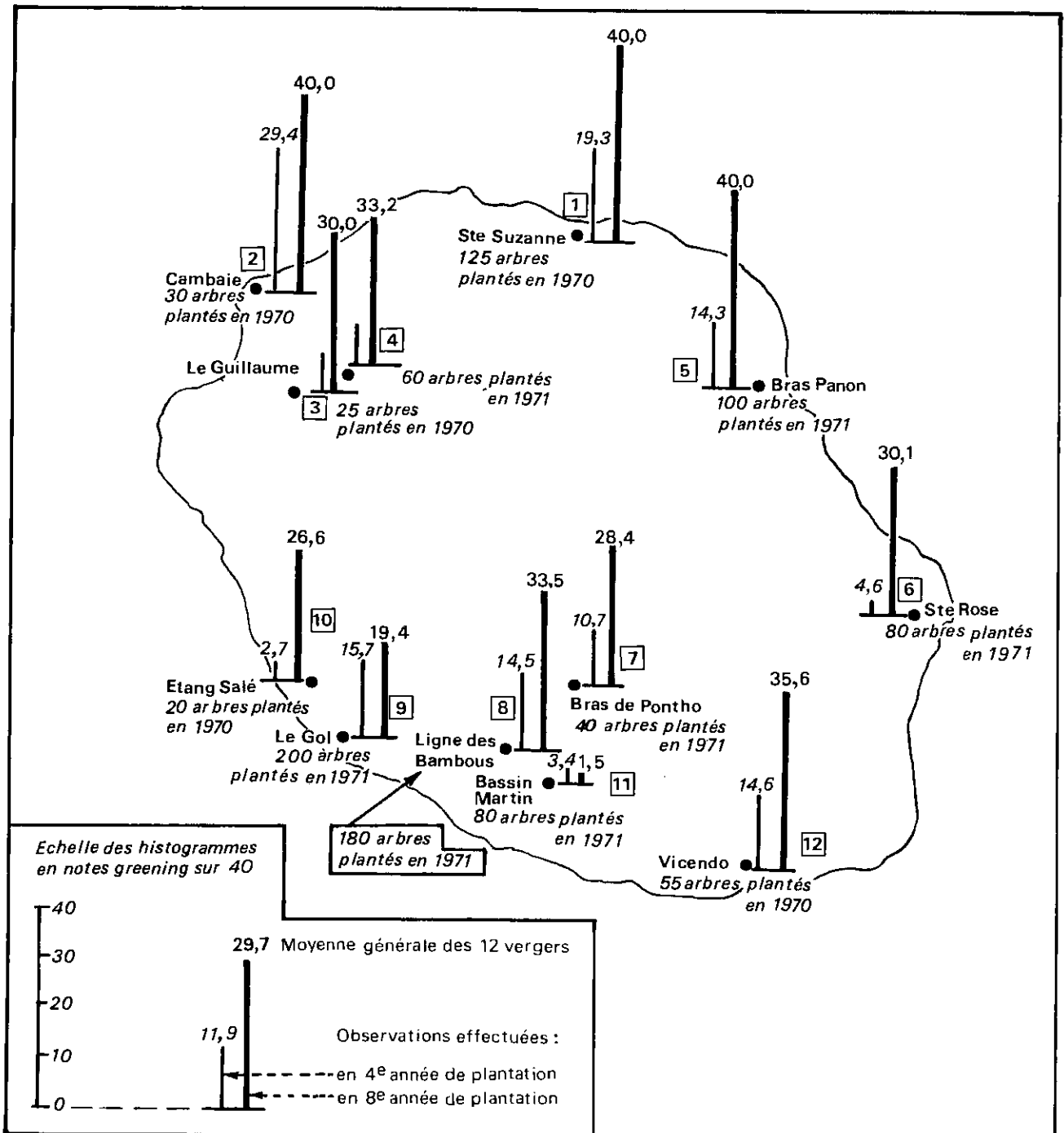


Figure 76 - Indicateurs épidémiologiques de 12 vergers soumis à une enquête en quatrième et en huitième année de plantation.

Résultats.

La propagation de la maladie du *greening* dans ces douze vergers apparaît sur la figure 76 sous forme d'indicateurs épidémiologiques. Ces derniers représentent les notes moyennes obtenues par verger (total général du décompte de points enregistrés sur tous les arbres du verger, divisé par le nombre de sujets observés). Le report par verger apparaît sous forme d'histogramme et permet d'évaluer la situation générale selon l'échelle de notation définie pages 43 et 44.

- de 0 à 5/40 : chloroses foliaires ponctuelles, mais absence de baisse de rendement
- de 5 à 15/40 : chloroses foliaires affectant de larges secteurs de la couronne, baisse de rendement atteignant 50 à 60 p. 100
- de 15 à 25/40 : chlorose foliaires généralisées à toute la couronne et dessèchement de branches, baisse de rendement atteignant 80 p. 100
- de 25 à 35/40 : arbre moribond et improductif dont la frondaison est très dégarnie
- 40/40 : arbre mort.

Les vergers 1, 2, 5 et 9 situés dans la zone à *Diaphorina citri* atteignaient dès leur quatrième année de plantation une note moyenne dépassant 15/40. C'est dire qu'à peine arrivés au stade de production, leurs récoltes étaient déjà sérieusement compromises. Trois de ces vergers : Cambai, St-Suzanne et Bras Panon étaient d'ailleurs totalement anéantis dès leur huitième année de plantation (leur moyenne générale ayant atteint 40/40).

Tous les autres vergers, à l'exception de ceux du Gol et de Bassin-Martin ont enregistré une progression rapide et inexorable de la maladie entre la quatrième et la huitième année de plantation. Ceux de St-Rose et Etang-Salé correctement soignés dans leur jeune âge, ont montré la plus forte augmentation des symptômes entre la quatrième et la huitième année. Arrivés en huitième année ces vergers avaient cessé toute production commerciale leur note moyenne dépassant en effet largement la valeur de 25/40.

Le cas particulier de Bassin-Martin et du Gol résulte de la mise en oeuvre d'une politique phytosanitaire différente. Le premier de ces deux vergers, soigneusement protégé des attaques de psylles par une *couverture chimique* comprenant 18 à 20 traitements annuels a de plus reçu deux applications préventives de tétracycline en quatrième et cinquième année. Ces applications ont consisté à injecter dans le tronc 2 litres d'une solution de tétracycline HCL contenant 3 g/litre d'antibiotique. Pour le verger du Gol, 30 p. 100 des arbres ont reçu une injection de tétracycline en sixième année de plantation et selon la même technique, par contre les traitements insecticides n'ont pas dépassé le nombre de 7 pulvérisations par an.

En définitive les douze vergers choisis à l'origine ont pu être regroupés en trois catégories :

- une catégorie A ayant reçu un traitement insecticide standard mais non traitée par antibiotique (715 arbres)
- une catégorie B ayant reçu un traitement insecticide standard mais dont 30 p. 100 des sujets ont été injectés avec une solution de tétracycline HCL (groupe de 200 arbres)
- une catégorie C ayant été protégée des attaques de psylles par une couverture chimique continue et injectée à deux reprises avec une solution de tétracycline (80 arbres).

L'indicateur épidémiologique obtenu en huitième année de plantation pour chacune de ces catégories apparaît sur le tableau 28.

Tableau 28 - Indicateur épidémiologique (ou moyenne générale de la note *greening* obtenue en huitième année de plantation) sur trois catégories d'arbres.

Catégories	Nombre d'arbres observés	Indicateur épidémiologique	Récolte moyenne estimée	
			en kg/arbre	en T/ha
Verger A	715	33,5	5	1
Verger B	200	19,4	28	6
Verger C	80	1,5	125	28

Discussion.

Exception faite des vergers du Gol ou de Bassin-Martin, le *greening* a entraîné en moins de 8 ans l'anéantissement de presque toutes les parcelles observées. La maladie a certes évolué un peu plus rapidement dans les zones côtières de l'Ouest, les plus chaudes de l'île ; mais en région d'altitude plus de 90 p. 100 des arbres avaient atteint une note supérieure à 25/40 dès la huitième année de plantation. Cette note coïncide avec l'arrêt définitif de toute production commerciale.

La rapidité d'évolution des symptômes de *greening*, ainsi que leur gravité n'est pas exceptionnelle. En Arabie Saoudite par exemple, la présence de *D. citri* a été signalée pour la première fois dans certaines régions du Hedjaz par WOOLER *et al.*, en 1974. Dix ans plus tard tous les vergers d'orangers ou de mandariniers ayant hébergé *D. citri* étaient anéantis (BOVE et AUBERT, 1984).

A l'île de la Réunion, certaines plantations comme celles de St-Rose ou de l'Etang-Salé ont pu être maintenues en excellent état sanitaire pendant les quatre premières années. Cependant une brusque aggravation des symptômes a été enregistrée au moment où les arbres entraient en pleine production.

L'expérience enregistrée sur le verger de Bassin-Martin montre que dans un environnement particulièrement contaminé, il est malgré tout possible de protéger les arbres, à condition de respecter un programme très strict de protection phytosanitaire. Mais ce dernier est le plus souvent hors de la portée technique et financière des petits producteurs.

La rapidité de progression du *greening*, enregistrée dans les vergers plantés avec du matériel sain au départ, illustre l'efficacité de la vection par insectes en condition naturelle.

EXEMPLE DE VITESSE DE PROPAGATION DE LA MALADIE DU GREENING DANS UN VERGER POLYVARIETAL, AVANT LE CONTROLE BIOLOGIQUE DES VECTEURS: ANALYSE SPATIO-TEMPORELLE

Dans ce qui précède, nous avons présenté l'évolution de la maladie du *greening* en données globales sous forme d'indicateurs épidémiologiques. Il convenait cependant de présenter une analyse spatio-temporelle détaillée de l'une de ces parcelles. Le verger 8 situé à la Ligne des Bambous et comprenant 180 arbres a été choisi comme représentatif du type d'attaque enregistré au cours de la première moitié des années 1970. Il s'agissait d'un verger polyvariétal comprenant sept variétés de mandariniers, deux hybrides d'orangers ou de mandariniers et cinq variétés d'orangers.

Matériel et méthode.

Comme indiqué précédemment, les arbres plantés provenaient de la pépinière de Bassin-Martin et étaient issus de lignées SRA. La plantation a été réalisée au cours de la première semaine d'août 1971 à la trouaison individuelle. La distance de plantation retenue a été de 8 x 6 m et la parcelle a été protégée par une haie de brise-vent en *Casuarina* et clôturée. Du point de vue de sa localisation, le verger était situé dans la zone de recoupement des territoires de *D. citri* et *T. erytrae*. Le programme de traitement insecticide comportait 7 à 8 pulvérisations annuelles de *diméthoate*, en alternance avec le *vamidothion*. On trouvera sur la figure 77 un plan de ce verger.

En octobre 1975, puis en octobre 1979, tous les arbres ont été observés et notés individuellement selon la technique décrite précédemment.

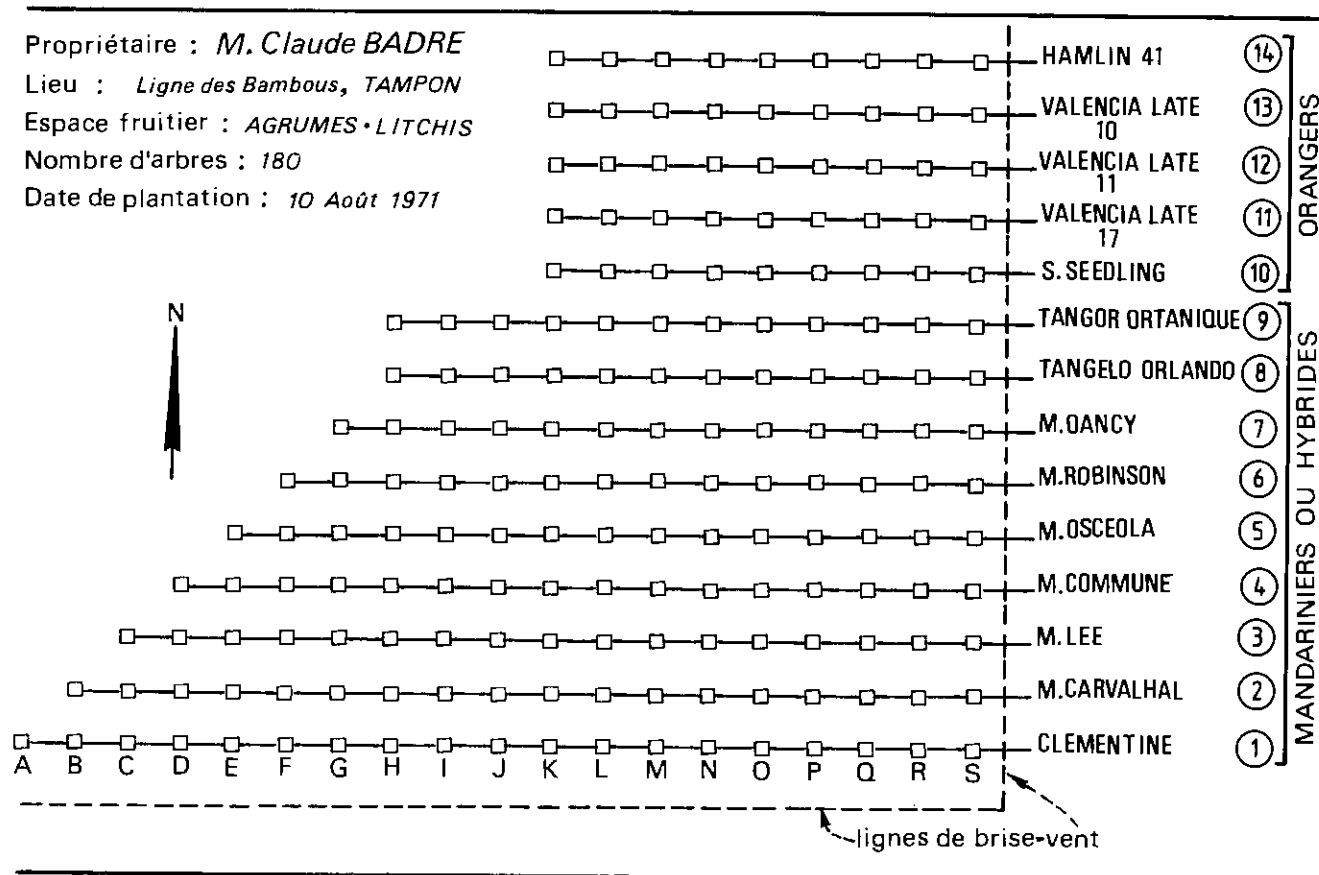


Figure 77 - Exemple de verger polyvariétal ayant fait l'objet d'une enquête épidémiologique.

Résultats.

L'intégralité des résultats a été reportée sur le tableau 29 où apparaissent le numéro d'identification de l'arbre, les notes observées en quatrième et huitième année, ainsi que la notation moyenne par espèce ou variété.

• Bilan épidémiologique en quatrième année de plantation.

Dès la quatrième année de plantation, le *greening* affecte la totalité du verger puisqu'aucun arbre n'est noté zéro, c'est-à-dire indemne de symptômes. La maladie apparaît avec un degré d'intensité variable selon les individus mais 25 sujets seulement présentent une note inférieure à 10/20. Les notes moyennes les plus faibles sont obtenues pour les séries orangers SWEET SEEDLING et CLEMENTINE et les plus élevées pour les séries mandariniers LEE et COMMUNE.

Au sein d'une même série, les variations individuelles, souvent prononcées, font penser que certains groupes de plants ont été visités et inoculés précocement par des psylles. Les arbres les plus atteints devraient dans ce cas être regroupés par *agrégats*. Pour vérifier la validité de cette hypothèse, les données obtenues en quatrième année ont été soumises au test de randomisation spatiale proposé par MADDEN *et al.* (1982) pour les maladies infectieuses. Ce test consiste à compter le nombre de *suites ordinaires* (ordinary runs) en parcourant les lignes de plantation. A cet effet, les plants sont affectés d'un des deux symboles 0 et 1 (0 pour sain et 1 pour malade par exemple). On appelle *suite ordinaire* un ou plusieurs individus successifs affectés du même symbole. Par exemple dans la série 0 I 0 III 000 I 0 II 000 on compte 9 suites : 0 ; I ; 0 ; III ; 000 ; I ; 0 ; II ; 000. En suivant les lignes de plantation, on peut s'attendre à trouver des agrégats de plants sains et de plants infectés si la maladie

Tableau 29 - Notations individuelles des symptômes de *greening* en quatrième et huitième année, effectuées sur le verger polyvariétal présenté figure 78.

Tangor Ortanique			Tangelo Orlando			M. Dancy			M. Robins																																			
N°	4e année	8e année	N°	4e année	8e année	N°	4e année	8e année	N°	4e année	8e année																																	
H9	12	32	HB	12	36	G7	26	38	F6	26	40																																	
I9	4	29	I8	4	28	H7	10	39	G6	10	29																																	
J9	11	32	J8	14	35	I7	4	40	H6	4	22																																	
K9	12	34	K8	15	36	J7	11	40	I6	11	30																																	
L9	15	36	L8	17	36	K7	16	38	J6	16	40																																	
M9	11	33	M8	10	40	L7	14	38	K6	15	40																																	
N9	15	35	N8	18	35	M7	17	34	L6	12	40																																	
O9	13	33	O8	18	37	N7	18	40	M6	20	27																																	
P9	15	40	P8	14	28	O7	14	40	N6	8	24																																	
Q9	15	22	Q8	17	38	P7	18	38	O6	18	31																																	
R9	15	40	R8	18	35	Q7	19	36	P6	21	22																																	
S9	16	40	S8	18	35	R7	19	36	Q6	18	31																																	
						S7	20	34	R6	13	21																																	
									S6	18	40																																	
Moy.	12,9	33,8		14,5	34,9		15,8	37,7		15,2	32,2																																	
Osceola			M. Commune			M. Lee			A Carvalhal			Clémentine																																
N°	4e année	8e année	N°	4e année	8e année	N°	4e année	8e année	N°	4e année	8e année	N°	4e année	8e année																														
E5	19	40	D4	13	30	C3	27	40	B2	14	40	A1	24	29																														
F5	14	28	E4	13	25	D3	11	40	C2	12	19	B1	4	40																														
G5	16	19	F4	29	38	E3	10	40	D2	11	40	C1	5	40																														
H5	12	33	G4	24	32	F3	25	40	E2	8	40	D1	13	40																														
I5	8	24	H4	15	29	G3	18	40	F2	16	40	E1	18	40																														
J5	13	28	I4	23	36	H3	12	40	G2	20	40	F1	11	40																														
K5	15	40	J4	20	36	I3	28	36	H2	18	40	G1	15	32																														
L5	19	29	K4	20	38	J3	25	40	I2	17	40	H1	14	36																														
M5	16	16	L4	17	36	K3	16	40	J2	21	40	I1	13	38																														
N5	11	25	M4	28	40	L3	6	40	K2	17	40	J1	7	36																														
O5	11	22	N4	21	40	M3	9	33	L2	19	40	K1	23	36																														
P5	14	30	O4	22	40	N3	18	32	M2	11	40	L1	6	21																														
Q5	13	29	P4	19	36	O3	23	36	N2	24	40	M1	8	35																														
R5	13	25	Q4	15	28	P3	22	37	O2	9	40	N1	4	30																														
S5	18	40	R4	13	32	Q3	18	40	P2	21	40	O1	6	32																														
			S4	9	34	R3	12	34	Q2	13	40	P1	8	25																														
						S3	14	37	R2	28	40	Q1	6	37																														
									S2	26	40	R1	19	40																														
												S1	14	40																														
Moy.	14,1	28,5		18,1	34,3		17,2	37,9		16,9	38,8		11,4	35,1																														
Hamlin			OVL 18			OVL 11			OVL 17			Sweet Seedling																																
K14	L14	M14	N14	O14	P14	Q14	R14	S14	K13	L13	M13	N13	O13	P13	Q13	R13	S13	K12	L12	M12	N12	J12	P12	Q12	R12	S12	K11	L11	M11	N11	O11	P11	Q11	R11	S11	K10	L10	M10	N10	O10	P10	Q10	R10	S10
15	16	17	9	8	11	8	11	12	16	14	17	15	17	15	12	13	15	16	14	15	21	19	12	16	16	15	16	11	11	16	16	16	6	13	13	10	6	8	8	7	8			
40	40	40	10	30	40	32	40	34	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	25	27	40	40	40	40	40	40	28	11	13	40	40	13	10	6	8	8	9	33			
Moy.	11,8	37,4							14,8	34,3									16,1	28,2								16,2	27,7						8,7	27,2								

se propage de plante à plante au sein de la parcelle. Dans le cas d'une hypothèse nulle (absence d'aggrégats) le nombre de *suites ordinaires* attendues EU est donné par :

$$EU = 1 + 2 m (N - m)N \quad \text{où } N = \text{Le nombre total de plants de la parcelle}$$

$$m = \text{le nombre de plants malades}$$

S'il y a répartition par aggrégats, le nombre de suites réellement observées U, sera inférieur à celui du nombre de suites attendues EU. La déviation standard de U est donnée par :

$$SU = \{2 m (N - m) [2 m (N - m) - N] / [N^2 (N - 1)]\}^{1/2}$$

et la valeur standard de U est donnée par :

$$ZU = [U + 0,5 - EU] / SU$$

Une série de plantes malades pourra être considérée comme non randomisée si la valeur de ZU est négative (de l'ordre de - 1,60) pour une probabilité de 5 p. 100.

Dans le cas de notre verger arrivé en quatrième année de plantation, nous avons choisi de considérer comme *malades* tous les arbres présentant une note *greening* supérieure ou égale à 15/20 et comme *sains* les arbres présentant une note inférieure à 15/20. Le plan de la parcelle apparaît sur la figure 78 A. Le test de MADDEN a été calculé séparément pour la parcelle d'orangers ou celle de mandariniers et d'hybrides. Le nombre de suites a été obtenu en parcourant toutes les lignes, la lecture débutant par l'arbre de la première ligne en haut à gauche. Dans le cas des orangers la valeur négative de ZU confirme une forte tendance à la répartition par aggrégats des arbres notés malades. Cette tendance apparaît également dans le cas des mandariniers.

● Bilan épidémiologique en huitième année de plantation.

En utilisant le même type d'analyse que précédemment, nous avons essayé d'interpréter la répartition spatiale des arbres morts au moment où le verger arrivait en huitième année de plantation (voir figure 78 B).

Le test est non significatif pour les orangers. Mais dans le cas des mandariniers la valeur de ZU indique une répartition significative par aggrégats au seuil de 5 p. 100. Ces aggrégats d'arbres morts ont tendance à s'accumuler dans la partie sud du verger notamment dans les lignes de CARVALHAL et LEE, alors que pour la notation 15/40 en quatrième année.

Les arbres ayant atteint une note égale ou supérieure 25/40 en huitième année de plantation représentent plus de 90 p. 100 des individus (voir figure 78 C). Dans ce cas il est impossible de faire ressortir une répartition par aggrégats, le test de MADDEN s'appliquant principalement sur des parcelles dont 50 p. 100 au plus des sujets, sont *malades*.

Discussion.

Les observations qui précèdent, montrent, à l'échelon d'un verger normalement entretenu, la progression inexorable du *greening* sur toutes les variétés mises en comportement, la vitesse de propagation de la maladie anihilant tout espoir de récupération du verger.

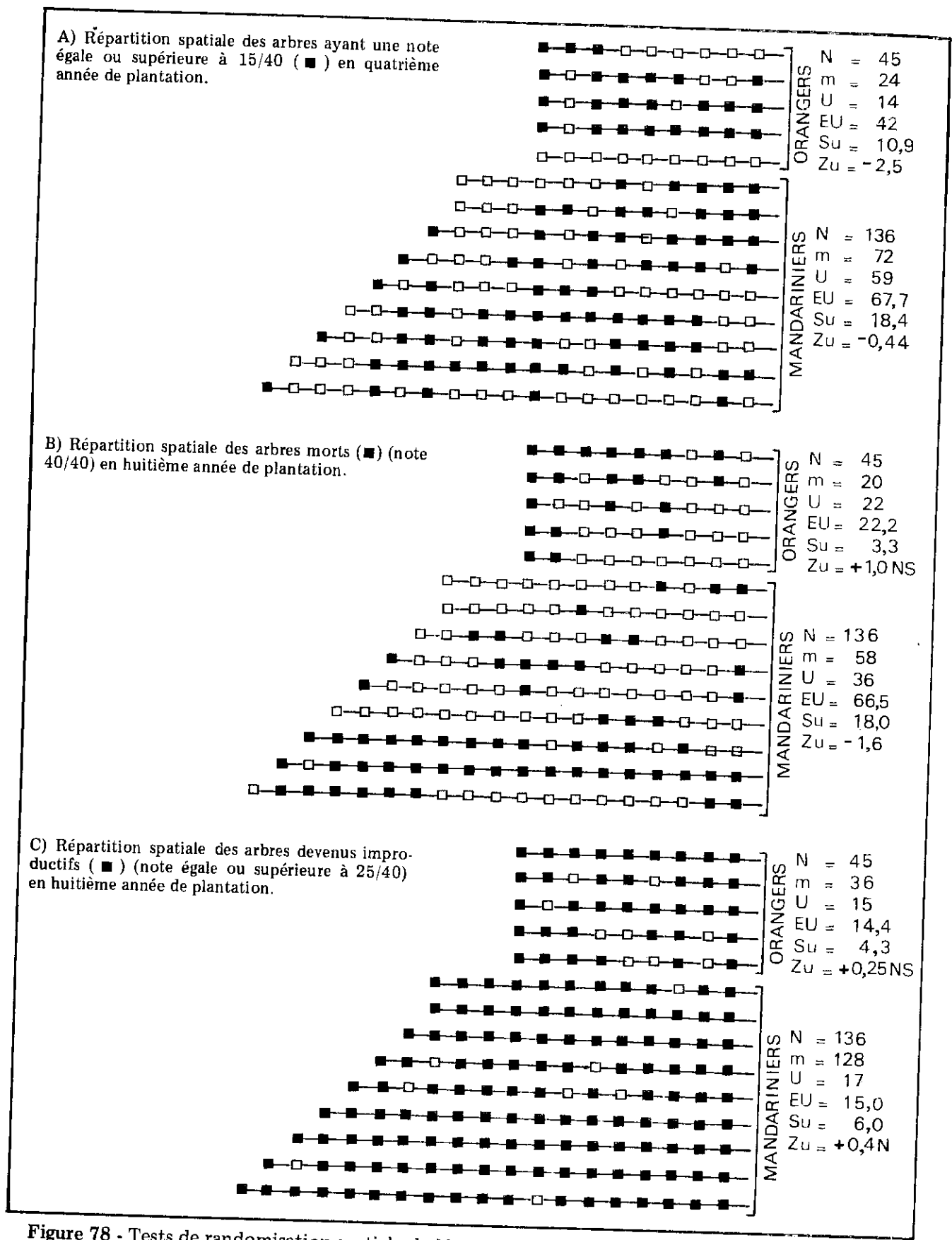


Figure 78 - Tests de randomisation spatiale de MADDEN *et al.* (1972) effectués à différents stades d'évolution de la maladie.

ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE COMPARANT LA PROGRESSION DU GREENING AVANT ET APRES LE PROGRAMME DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LES VECTEURS

Choix des vergers.

Pour comparer l'évolution du *greening* avant et après le lancement du programme de lutte biologique contre les psylles vecteurs, il importait d'effectuer une étude épidémiologique sur deux lots de vergers parvenus à un âge identique. Nous avons retenu un premier lot de 12 vergers présentés sur le tableau 27 (ou lot A plantés en 1970-1971) puis un deuxième lot B planté en 1977-1978 au moment où s'achevait le programme de lutte biologique. Comme pour les vergers A ce deuxième lot a été choisi dans différentes régions de l'île. Il regroupait un effectif de 2 740 arbres répartis en 7 vergers (tableau 28). Dans les deux cas la plantation des arbres a été effectuée sous la surveillance d'un technicien de vulgarisation, lequel a ultérieurement conseillé le producteur pour l'entretien du verger. Les programmes de fumure annuelle, de taille et de traitements pesticides ont été les mêmes pour les vergers A et les vergers B.

Technique d'enquête et mode d'interprétation des résultats.

● Enquête.

Pour comparer les deux lots de vergers, nous nous sommes fixés deux paramètres : le *temps épidémiologique* d'une part, et un *stade dans l'évolution de la maladie* d'autre part.

Les échéances de 4 ans, 6 ans et 8 ans après la plantation nous sont apparues intéressantes. En effet, elles s'échelonnent entre l'époque d'entrée en récolte du verger, et le moment où les arbres sont supposés atteindre leur phase de complète productivité. Ces trois repères chronologiques ont été retenus dans le cas des vergers A. Pour les vergers B nous nous sommes contentés des deux échéances 4 ans et 8 ans. On notera que du point de vue épidémiologique, la date de plantation constitue un repère important, puisqu'à ce moment aucun arbre n'est sensé être atteint de *greening*.

Le stade précis d'évolution de la maladie qui a été choisi est la note 25/40, qui traduit une décoloration généralisée de la frondaison et l'arrêt de la production commerciale.

L'enquête comparative a donc eu pour objectif de dénombrer les sujets ayant, soit atteint, soit dépassé la note 25/40 à un temps donné.

● Interprétation des résultats.

Les études épidémiologiques conduites précédemment suggéraient une progression de type exponentielle de la maladie du *greening*. Nous nous sommes basés sur l'hypothèse que cette affection, au même titre que de nombreuses maladies des plantes, suit la loi des *intérêts composés* et que sa représentation directe se traduit par une courbe sigmoïde. La transformation logarithmique proposée par VAN DER PLANCK (1963), permet de linéariser la courbe et de faciliter les comparaisons entre catégories de plantes. On peut ainsi exprimer le *taux de prévalence* en fonction du temps. Le *taux de prévalence* r est donné par la formule ci-dessous.

$$r = \text{Log}_e \frac{X}{1 - X}$$

X = proportion de plants malades au temps considéré, c'est-à-dire le rapport du nombre de plants malades sur le nombre total de plants observés.

La *prévalence* représente le nombre total de cas dans une population déterminée sans distinction entre les cas nouveaux et les cas anciens. Lorsqu'on se réfère aux cas nouveaux, il convient de parler d'*incidence* (JENICEK et CLEROUX, 1983).

Tableau 30 - Effectif d'arbres plantés en 1979 répartis en 7 vergers, et retenu pour l'étude épidémiologique.

N°	Lieu	Altitude (m)	Mandariniers	Orangers	Total	Nombre d'arbres notés 25/40	
						4e année	8e année
1	Cambourg	400	266	84	350	2/350	3/350
2	Bras Madeleine	150	344	102	446	4/446	5/446
3	St Anne	200	530	530	530	4/530	9/530
4	Petite Ile	275	376	417	793	2/793	3/793
5	Carosse	180	200	96	296	4/296	4/296
6	Ligne des Bambous	460	200	70	270	2/270	3/270
7	Tévelave	750	25	30	55	0/55	1/55
	Totaux		1 411	1 329	2 740	17/2740	28/2740

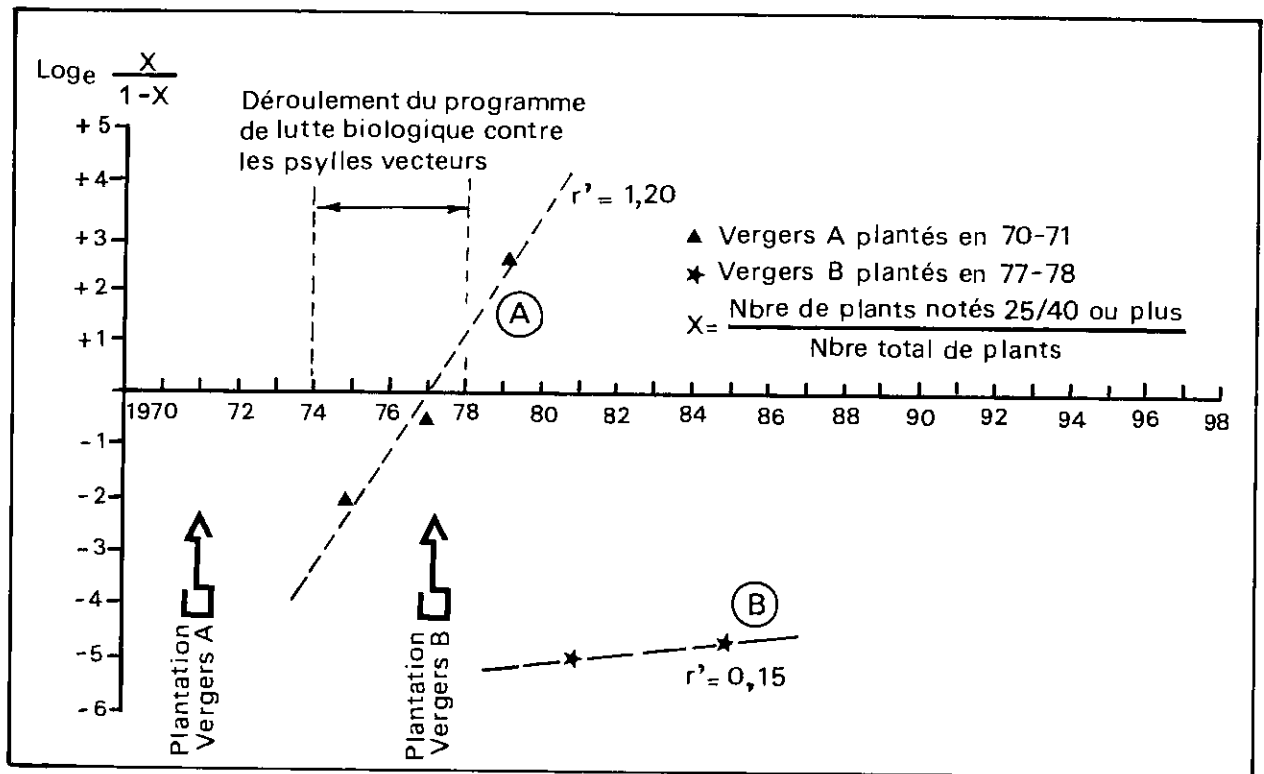


Figure 79 - Taux de prévalence obtenus à différents repères chronologiques pour deux groupes de vergers A et B plantés et entretenus dans des conditions identiques. Les vergers A ont été mis en terre trois ans avant le lancement du programme de lutte biologique contre les psylles vecteurs, et les vergers B au moment où se terminait ce programme.

Dans notre enquête, X représente le nombre d'arbres ayant atteint ou dépassé le seuil de 25/40 (en notation greening), divisé par le nombre total de plants observés.

Lorsque l'effectif de plants contaminés est inférieur à 50 p. 100 de la population, r prend une valeur négative ; r s'annule lorsque 50 p. 100 des plants sont contaminés, et devient positif au-delà de ce seuil.

Les taux de prévalence obtenus pour les vergers A et les vergers B aux repères chronologiques choisis ont été les suivants :

	Vergers A : total observés 995 arbres		Vergers B : total observé 2 740 arbres	
	Nombre de plants notés $\geq 25/40$	$\text{Loge} \frac{X}{1-X}$	Nombre de plants notés $\geq 25/40$	$\text{Loge} \frac{X}{1-X}$
4e année de plantation	103	- 2,1	19	- 4,9
6e année de plantation	450	- 0,35	-	-
8e année de plantation	934	+ 2,7	28	- 4,5

Ces valeurs ont permis de tracer les droites de régression présentées sur la figure 79. La pente de ces droites, r' , exprime le *taux annuel de l'incidence*, c'est-à-dire le taux d'apparition de cas nouveaux par an. r' est 8 fois plus faible pour les vergers B que pour les vergers A (0,15 contre 1,20). Cette différence traduit l'efficacité de la protection phytosanitaire obtenue grâce à la lutte biologique contre les vecteurs, puisque les deux groupes de vergers ont été plantés et entretenus dans des conditions identiques. L'intersection de la droite B avec l'abscisse donne une coïncidence chronologique qui dépasse sensiblement la durée de vie économique du verger, en effet la proportion de 50 p. 100 des arbres parvenus à un degré d'attaque de 25/40 aurait lieu théoriquement aux alentours des années 2040, en admettant que l'équilibre biologique atteint ne soit pas modifié.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Il est incontestable que le programme de lutte biologique engagé contre les psylles vecteurs a permis d'enrayer un phénomène de contamination de masse. Au début des années 1970, la progression du *greening* entraînait un arrêt complet de production pour 65 p. 100 des arbres en sixième année de plantation, et pour 94 p. 100 en huitième année.

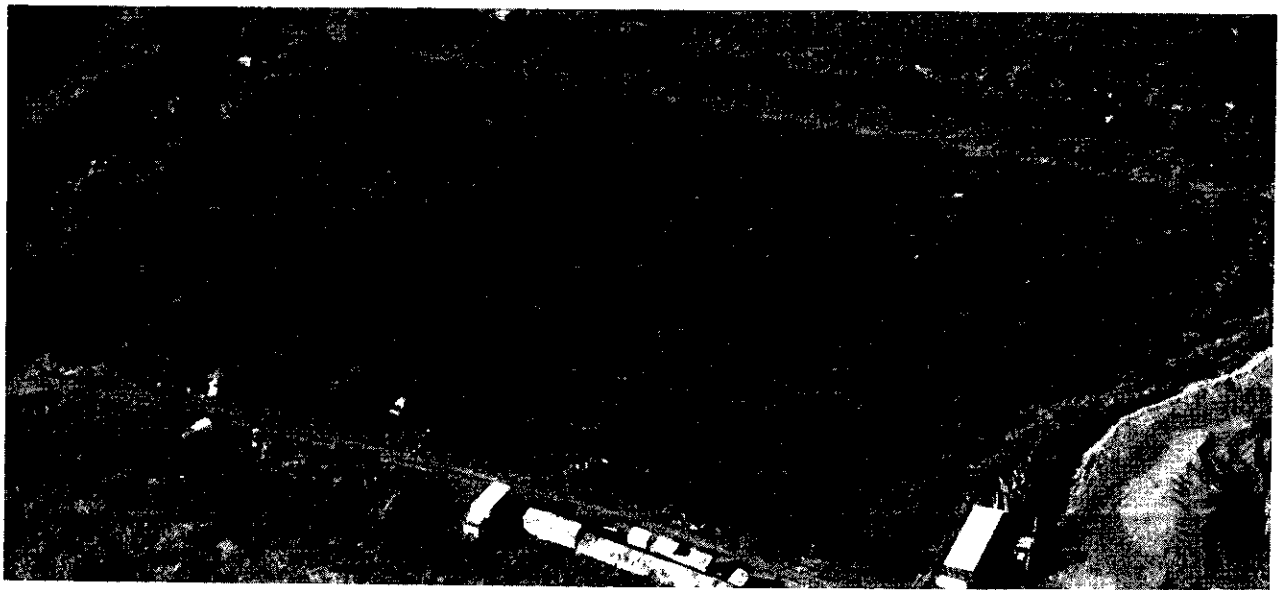
Un changement radical s'est opéré entre 1978 et 1980, période correspondant à la phase de déclin des populations de vecteurs. L'introduction, puis l'implantation de *T. dryi* et de *T. radiatus* dans l'île s'est traduite par un net recul du profil épidémiologique du *greening*. La technique d'enquête retenue pour l'étude présentée précédemment (sujets ayant atteint une note supérieure ou égale à 25/40), ne reflète d'ailleurs pas l'état sanitaire exact des vergers B en huitième année de plantation. En effet, les rares cas de *greening* observés ont évolué sur des sujets précocement contaminés, mais ne se sont pas étendus aux arbres voisins. Sur l'ensemble des 2 740 arbres observés, la note moyenne (ou *indicateur épidémiologique*) était de 0,65/40 fin 1984. Il n'y a donc pas eu de progression insidieuse du *greening* au cours des sept premières années de plantation. La figure 81 donne un exemple d'homogénéité des vergers B par rapport aux vergers A au moment de leur entrée en pleine production.

PHOTOGRAPHIES AERIENNES REPRESENTANT DEUX VERGERS DE UN HECTARE
ARRIVES EN SEPTIEME ANNEE DE PLANTATION

Figure 80.



A) Verger planté en 1970 avant le programme de lutte biologique contre les psylles vecteurs du greening, et photographié en 1977. Soixante dix pour cent des arbres sont devenus improductifs. La récolte n'atteint que 6 tonnes/ha. (Verger polyvariétal).



B) Verger planté en 1977 et photographié en 1984. Aucun cas de greening n'est signalé. Les rendements se situent au-dessus de 40 tonnes/ha. (Verger polyvariétal).

CHAPITRE 7

CIRCONSTANCES EPIDEMIOLOGIQUES ET RESEAUX DE SURVEILLANCE

L'exemple du programme de lutte biologique engagé dans le Département de la Réunion contre la maladie du *greening* n'est pas forcément transposable à d'autres territoires contaminés. En effet, ce programme a été mis en oeuvre dans une île océanique très isolée, où la faune chalcidienne inféodée aux psylles vecteurs était pratiquement inexistante. De telles conditions pouvaient justifier le lancement d'un plan de lutte basé sur l'introduction d'entomophages exotiques.

Mais la règle générale veut que les *circonstances épidémiologiques* varient considérablement d'un territoire à l'autre, ce qui oblige à rechercher des stratégies originales fondées sur une analyse aussi complète que possible des composantes de la biocénose *plantes hôtes - organismes pathogènes - insectes vecteurs et associés*.

Dans ce but il convient de prendre en compte toute une série de facteurs qu'il faudra hiérarchiser, ou relativiser en fonction des spécificités locales ou régionales, notamment :

- le taux de prévalence de la maladie, et son type de répartition spatiale,
- l'importance des populations de vecteurs, elles-mêmes dépendantes des peuplements de plantes hôtes ainsi que de la présence ou non de parasites et prédateurs,
- l'environnement humain et les pratiques culturelles qui peuvent avoir des conséquences déterminantes sur le taux de propagation de la maladie et de ses vecteurs
- enfin les conditions climatiques susceptibles d'influer sur la prolifération de l'agent pathogène d'une part, et sur celle des vecteurs d'autre part.

La prise en compte de ces différents éléments et l'évaluation de leurs niveaux d'interaction doivent orienter le choix de la stratégie. Celle-ci ne sera pas forcément arrêtée une fois pour toute, car elle doit pouvoir être réajustée en fonction des données recueillies par un réseau de surveillance lequel sera mis en place pour évaluer la pertinence des principales options stratégiques.

Avant d'analyser quelques situations particulières propres à divers pays africains ou asiatiques, nous reviendrons sur la portée et les limites de l'expérience réunionnaise.

PORTEE ET LIMITES DE L'EXPERIENCE REUNIONNAISE

Il convient tout d'abord de rappeler le contexte général ayant servi de cadre aux travaux entrepris sur la maladie du *greening* à la Réunion. Les contraintes se situaient sur plusieurs plans :

- nécessité d'engager la lutte biologique contre deux vecteurs à la fois : *D. citri* et *T. erytraeae*.
- impossibilité de retenir une zone altitudinale indemne de contamination puisque les territoires respectifs des deux psylles couvraient l'ensemble de la zone de culture des agrumes,

- présence de Rutacées endémiques et ornementales pouvant constituer des réservoirs de vecteurs et/ou d'agents infectieux,
- forte densité d'occupation rurale atteignant 200 habitants/km² en moyenne, et structure foncière très morcelée (deux facteurs intervenant sur la multiplicité des foyers infectieux),
- assujettissement aux normes françaises de protection phytosanitaire, interdisant l'utilisation des antibiotiques ou de molécules de type *tryazophos* ou *aldicarbe*, sur les vergers en production.

L'expérience poursuivie entre 1970 et 1978, consistant à installer du matériel végétal garanti indemne de maladie puis à le protéger dès son installation en verger par une couverture chimique, n'a pu donner de résultats satisfaisants en raison d'une pression d'inoculum particulièrement élevée (voir Chapitre 3 et 6).

Le renversement de situation qui s'est amorcé à partir de 1975, a résulté, comme nous l'avons vu au chapitre 5, du nouvel équilibre biologique observé sur les populations de psylles après les lâchers d'hyménoptères chalcidiens. Peu à peu, l'amélioration des récoltes, aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif a suscité un nouvel engouement pour l'agrumiculture et provoqué une importante demande de plants de pépinières. Dans ce nouveau contexte, les facteurs socio-économiques ont pris une importance grandissante.

DONNEES SOCIO-ECONOMIQUES REUNIONNAISES

Le retour à une activité agrumicole rentable s'est échelonné sur une période de plusieurs années, période au cours de laquelle les producteurs ont tenu à garder leurs anciens vergers, même peu productifs, à côté des parcelles nouvellement installées. On décrira dans ce qui suit les diverses étapes de cette évolution.

Incidence sur les rendements et les coûts de production.

Sur la figure 81, apparaissent les rendements moyens enregistrés dans les vergers A, comparés à ceux des vergers B. Comme nous l'avons vu au chapitre précédent les premiers ont été installés avant le programme de lutte biologique contre les psylles, et les seconds après ce programme.

Dans le cas des vergers B on a distingué deux sous-groupes de parcelles : les unes conduites selon un haut degré de technicité garantissant une parfaite maîtrise des organismes nuisibles tels qu'arthropodes, champignons pathogènes, chancre citrique ... les autres classées «standard», parce que moyennement entretenus.

L'analyse des récoltes commercialisables en tonnes/hectare, révèle pour les vergers A un début de montée en production vers la quatrième année, suivi d'un fléchissement en sixième année, époque qui coïncide avec une phase de déclin irréversible.

Les bonnes performances enregistrées dans les vergers B se sont traduites par une baisse des coûts de production. Nous avons comparé ces derniers, à la fois dans le cas des vergers A et dans celui des vergers B en actualisant les prix au premier semestre 1985.

Pour les vergers B, les prix ont été calculés de la façon suivante : le total des frais d'entretien et de récolte, ainsi que les frais financiers et les frais d'amortissement a été rapporté au nombre de kg produits par hectare de *verger standard* dans l'année considérée. Les frais financiers et d'amortissement sont calculés avec un taux de 7,5 p. 100 sur 12 ans dont 4 ans de différé. Ils permettent d'amortir les dépenses d'installation et d'entretien du verger pendant les trois premières années pour un montant global de 75.000 F/ha. Dans le cas des vergers A, les coûts de production n'ont pris en compte que 30 p. 100 des frais d'installation et d'entretien pendant les trois premières années (*). L'amortisse-

* - les 70 p. 100 restant étant couverts par des subventions octroyées par le Département.

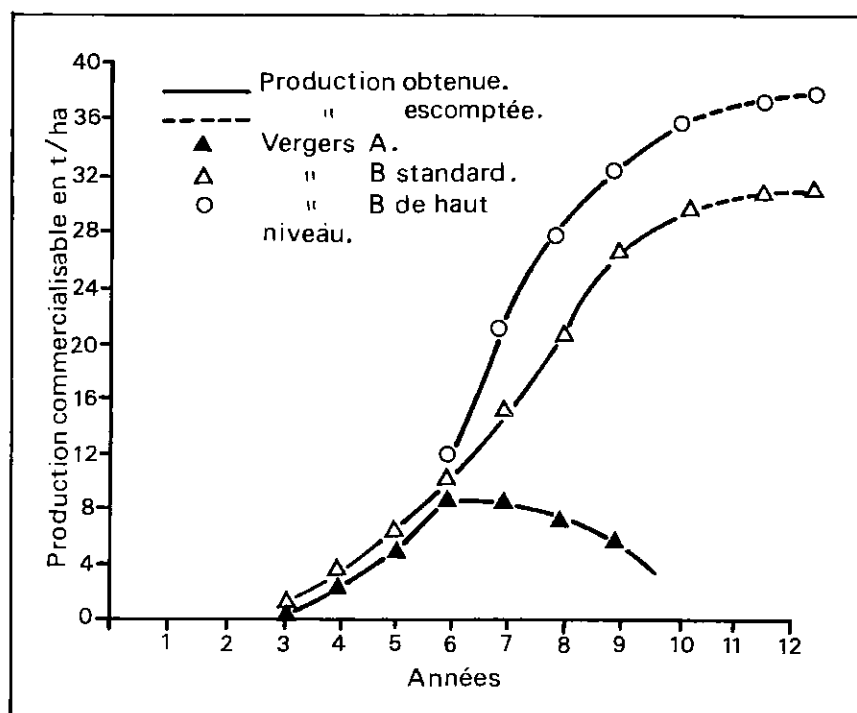
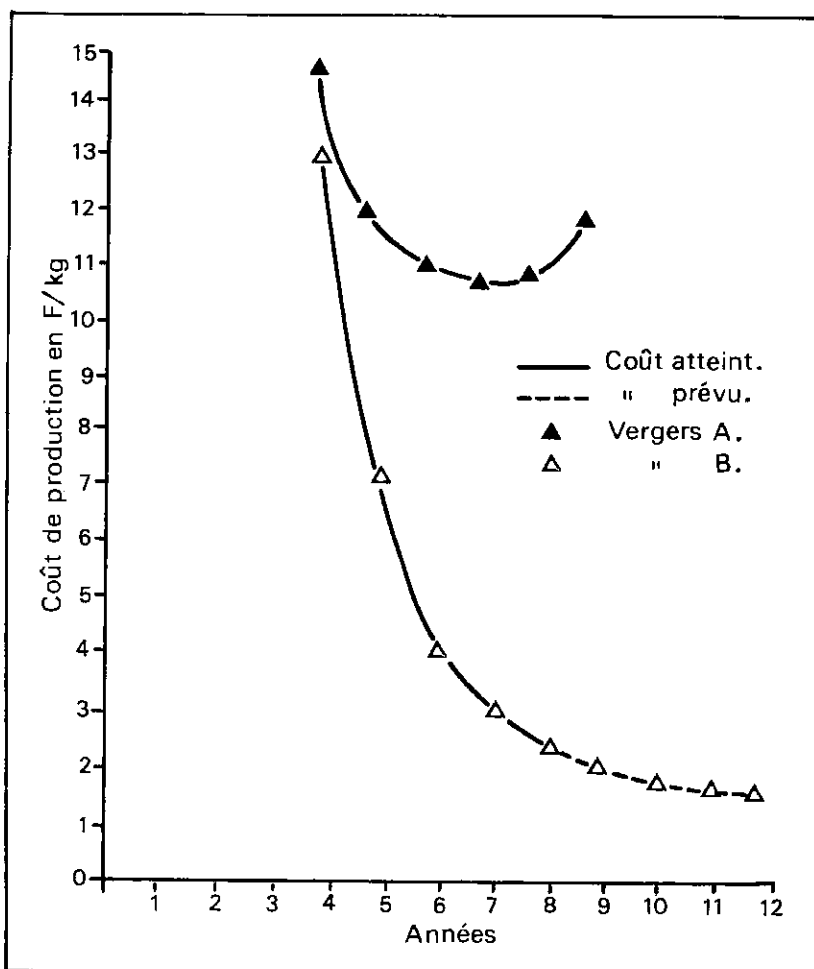


Figure 81 - Récoltes commercialisables en t/ha des vergers A exposés aux attaques de pectores, et des vergers B non contaminés.

Figure 82 - Coût de production du kg d'oranges ou mandarines dans les vergers A atteints de *greening* et les vergers B non contaminés. (voir explication dans le texte)

ment de ces charges a été calculé sur 6 ans dont 3 de différé. Il s'agissait de petits vergers expérimentaux subventionnés par le Département. Le prix du kg de fruit a été calculé sur l'ensemble des frais d'entretien et de récolte pour l'année considérée, additionné des amortissements.

La lecture de la figure 82 montre que pour les vergers A atteints de *greening*, les coûts de production du kg d'oranges ou de mandarines n'ont pu descendre en dessous de 10 F, malgré les aides fournies par la collectivité. Il s'agissait d'un seuil bien supérieur au prix de vente des fruits d'importation. En revanche, pour les vergers B, le prix se stabilise dès la sixième année de plantation aux alentours de 2 F le kg.



Le redressement de la trésorerie des agrumiculteurs à partir de 1981-1982 a entraîné une brusque demande de plants. Pour éviter la prolifération anarchique des pépinières, un système d'agrément a été instauré. Dans ce but nous avons établi un cahier des charges qui a été remis à la Direction départementale de l'Agriculture et au Service de la Protection des Végétaux pour exécution.

Afin de décourager toute tentative de création de pépinières non conformes aux règles phytosanitaires, les aides publiques consenties aux agrumiculteurs ont exclusivement concerné des vergers plantés avec du matériel végétal contrôlé. Entre 1978 et 1984 un total d'environ 150.000 plants est sorti des pépinières agréées. Près de la moitié de cet effectif a été plantée dans les jardins privés pour les besoins domestiques. L'autre partie a permis la constitution de 250 ha de *vergers organisés* dont on compte obtenir 2.000 tonnes d'oranges et de mandarines avant 1990.

Grâce à la lutte biologique engagée contre les vecteurs du *greening* les arboriculteurs réunionnais sont progressivement passés du stade de *micro-vergers* à celui d'une agrumiculture mieux structurée. Les planteurs ont peu à peu étendu leur surface à partir d'anciennes parcelles contaminées mais dont ils tenaient malgré tout à récolter les médiocres productions. L'absence de vecteurs a permis de laisser se cotoyer vergers A et vergers B sans nécessité d'engager une coûteuse campagne d'éradication.



Figure 83 - Exemple d'un verger d'orangers et de mandariniers établi dans le Sud de l'île par étapes successives (cliché pris en 1986).

1. reliquat d'une vieille plantation d'orangers plantée en 1968 et largement atteinte de *greening* : cette parcelle est en cours d'arrachage.
 2. parcelle de mandariniers Beauty plantée en 1974 : quelques rares cas de *greening* y ont été observés (3 cas sur 60).
 3. parcelle saine de clémentiniers installée en 1977 : les arbres de plus petite taille situés en haut et à gauche du cliché sont greffés sur *Poncirus trifoliata*, dans l'autre moitié vers la pointe (bas de la photo) le porte-greffe utilisé est la mandarine Cléopâtre. Aucun symptôme de *greening* n'a été observé sur cette parcelle.
 4. parcelle d'orangers saine installée en 1980.
- L'extension progressive des cultures d'agrumes dans ce périmètre sucrier, correspond à la capacité de financement des propriétaires, laquelle a été tirée exclusivement du revenu «agrumes». Une telle évolution n'a évidemment été rendue possible que grâce à un contrôle efficace des psylles vecteurs.

La figure 83 donne un exemple assez représentatif de l'évolution des vergers d'agrumes réunionnais au cours des quinze dernières années. L'élimination des arbres atteints de greening ne s'est poursuivie que lentement, sur la base d'un volontariat, celui-ci dépendant de la disponibilité en main d'oeuvre et en capitaux de l'exploitant.

Bien entendu, la maîtrise des vecteurs n'a pas constitué à elle seule la raison du redressement de l'agrumiculture réunionnaise. En effet le maintien d'un système très centralisé de certification de plants dans les pépinières a eu, lui aussi, une influence déterminante. Sans cet outil, le pourcentage de plants contaminés par la greffe aurait été beaucoup plus élevé, ce qui aurait d'ailleurs masqué les résultats enregistrés au niveau de la lutte biologique.

Sur l'ensemble du Département de la Réunion, la surveillance des populations de psylles a été suivie régulièrement entre 1974 et 1977 par des inspections en vergers de référence et sur certaines Rutacées comme *Murraya paniculata*. A partir de décembre 1984, l'emploi de pièges jaunes a permis d'obtenir une plus grande précision des relevés. Les échantillons recueillis à l'aide d'un aspirateur mécanique de type D-VAC ont par ailleurs constitué un moyen d'étalonnage des techniques d'observation classiques telles que les captures à l'aspirateur à bouche en un temps donné, ou les relevés de pièges jaunes. Le résultat de ces observations a mis en évidence la disparition de *Trioza erytrae* et le maintien des populations de *D. citri* sur *Murraya paniculata* (AUBERT et QUILICI, 1987). Il a également permis de suivre avec plus d'attention les populations d'un autre psylle *Trioza litseae* assez fréquemment capturé dans les parcelles d'agrumes. Ce réseau de surveillance continue de fonctionner afin de pouvoir déclencher une nouvelle opération contre les populations de vecteurs en cas de nécessité.

CIRCONSTANCES EPIDEMIOLOGIQUES RENCONTREES EN AFRIQUE

En Afrique, la maladie du greening se rencontre au Sud du Sahara où elle est transmise naturellement par *Trioza erytrae*. La moitié Sud-orientale du Continent a été appelée par certains géographes l'Afrique haute, par opposition à l'Afrique basse nord occidentale. En effet au sud d'un axe qui va de Lagos au Nigéria à Asmara en Ethiopie, la majeure partie du Continent est située à une altitude égale ou supérieure à 700 m, Bassin du Congo excepté (figure 84).

Ni le vecteur africain *T. erytrae*, ni la souche africaine de greening ne supportent les conditions chaudes de basse altitude. Par contre ils peuvent parfaitement proliférer en climat frais et humide de montagne. Ceci entraîne comme conséquence, une large répartition du greening dans l'ensemble de l'Afrique haute, à l'exception toutefois de certaines zones désertiques, où le degré de siccité de l'air empêche le développement larvaire de *T. erytrae*.

Le seuil minimum altitudinal pour *T. erytrae* se situe entre 500 et 1.200 m selon la latitude du lieu considéré, et le régime d'humidité relative.

On a vu précédemment que le cortège d'hyménoptères liés à *T. erytrae* en Afrique ne comporte pas moins de 11 espèces de parasites secondaires ou tertiaires (voir tableau 25, p. 115). Ces entomophages entravent considérablement l'action des deux parasites primaires *Psyllaephagus pulvinatus* et *Tetrastichus dryi*. Toutefois certaines régions comme Madagascar ou les Hauts Plateaux du Cameroun font exception à cette règle. La faune chalcidienne gravitant autour de *T. erytrae* y est particulièrement pauvre, ce qui donne quelque crédibilité à un programme de lutte biologique.

Pour les autres régions d'Afrique, notamment pour la partie australe du Continent (Transval, Swaziland, Zimbabwe) la stratégie retenue consiste à protéger les pépinières et les vergers par une couverture chimique appropriée sans nuire si possible à l'entomofaune auxiliaire. A cet effet l'application de triazophos en pulvérisations correctives ou d'aldicarbe en épandage au sol, est utilisée pour minimiser les risques de contamination par vecteurs. Ces molécules, récemment choisies, ont été testées parmi une quinzaine d'autres (BEDFORD *et al.*, 1985). Leur action de choc sur les insectes intervient par inhibition de la cholinestérase. Le mode et la cadence des traitements sont ajustés pour éviter de contrecarrer l'action bénéfique des entomophages.

Par ailleurs, dans le but de maintenir en production les arbres adultes contaminés, des injections de tétracycline HCl ou de PMT sont pratiquées périodiquement en vergers intensifs.

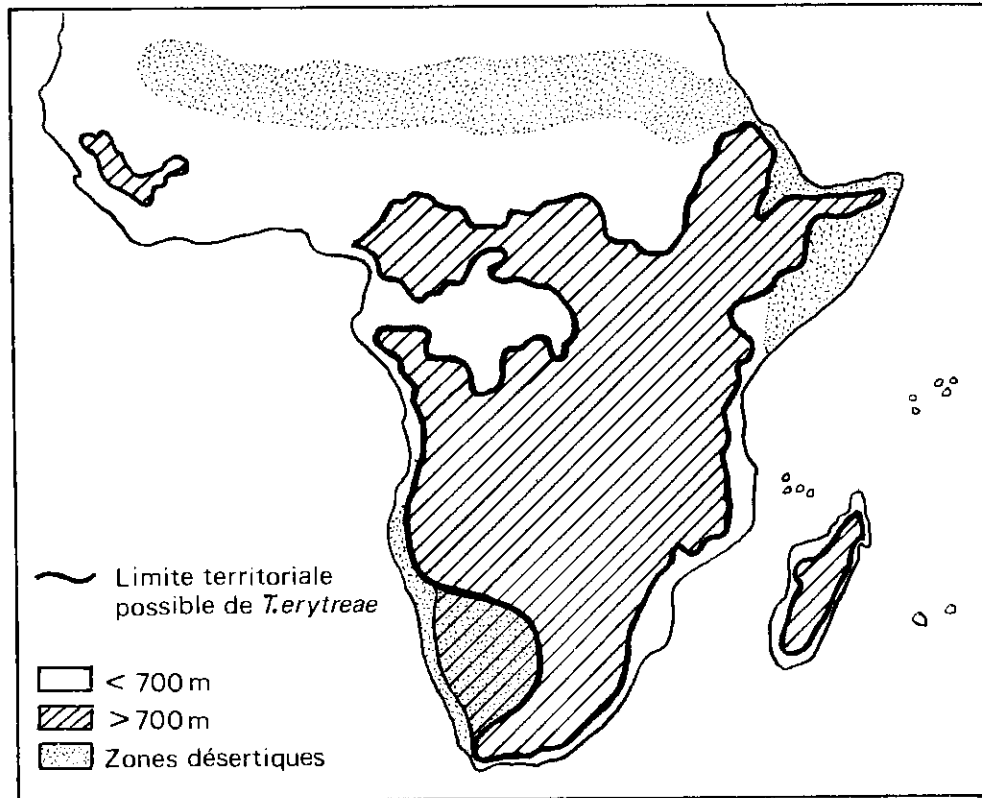


Figure 84 - Limite territoriale de *T. erytreae* en Afrique haute et à Madagascar.

Compte tenu des risques inhérents à cette couverture chimique, et de son coût relativement élevé, la tendance récente des producteurs consiste à réinstaller de nouvelles plantations dans des sites éloignés de l'habitat naturel de *Tryoza erytreae* (BEGEMAN, 1984). Des systèmes de piégeages permettent de surveiller les effectifs de psylles dans les vergers, ou à proximité de ces derniers (SAMWAYS, 1984). Seules quelques grandes plantations ont pu amorcer ce type de reconversion. Par contre de nombreux petits producteurs ont dû abandonner la culture des agrumes dans les zones les plus exposées, du fait de la progression inexorable du *greening* et en raison d'un manque de technicité ou de trésorerie. Il n'en reste pas moins que la production agrumicole de l'Afrique du Sud, du Swaziland et du Zimbabwe réunis se maintient aux environs de 750.000 tonnes, dont 400.000 tonnes sont exportées en frais et 124.000 tonnes transformées en jus concentré.

Au total, les chances de pouvoir relancer l'agrumiculture en petit paysannat africain restent limitées, du moins dans l'état actuel des connaissances. La seule issue possible est de regrouper la production dans des zones écologiques adéquates. On a vu que le choix de l'altitude reste déterminant, et qu'il peut être responsable de la réussite ou de l'échec des projets de plantations. Parmi les exemples de réussite on peut citer le projet de NURA ERA - MERTI JEJJU en Ethiopie situé dans la vallée de l'Awash à 1.200 m d'altitude, c'est-à-dire juste en deçà de la limite altitudinale du territoire de *T. erytreae*. L'Ethiopie il est vrai dispose d'une gamme d'altitudes bien contrastée comme on peut le voir sur la figure 85. Il en résulte des écarts de températures et de déficit de saturation très importants. A titre d'exemple, on trouvera dans le tableau 32 les relevés de température moyenne annuelle des maximums ainsi que le déficit de saturation de la mi-journée. L'étude porte sur huit zones agrumicoles s'échelonnant le long d'un gradient altitudinal qui va de 730 m à 2 400 m. Comme le laisse apparaître les résultats de l'enquête entomologique conduite dans cette zone, les populations de *T. erytreae* ne peuvent descendre dans cette région d'Ethiopie en dessous de 1 400 m (Tibila) par suite du degré de siccité de l'air lui-même lié aux conditions thermiques.

Des pays comme le Malawi, le Rwanda, ou le Burundi n'ont pas la chance de pouvoir exploiter des gradients altitudinaux aussi variés puisque la quasi totalité de leur surface agricole est située en zone fraîche et humide, favorable à *T. erytreae*. Comme les hyperparasites de *Trioza erytreae* sont aussi présents dans ces pays, le renouveau de l'agrumiculture ne pourra guère être envisagé qu'avec l'apparition de nouvelles lignées d'agrumes tolérantes à la forme africaine du *greening*.

Figure 85 - Carte de relief du territoire éthiopien. La zone agrumicole de Merti Jeju et Nura Era située à 1.200 m en bordure du désert des Afar est indemne de *T. erytrae*. Au delà de cette altitude, les conditions de température et d'humidité sont favorables à *T. erytrae* (voir données météo au tableau 32).

1. Melka Werer
2. Awash
3. Metahara
4. Nura Era
5. Tibila
6. Awasa Koka
7. Dehm Zeit
8. Addis Abeba

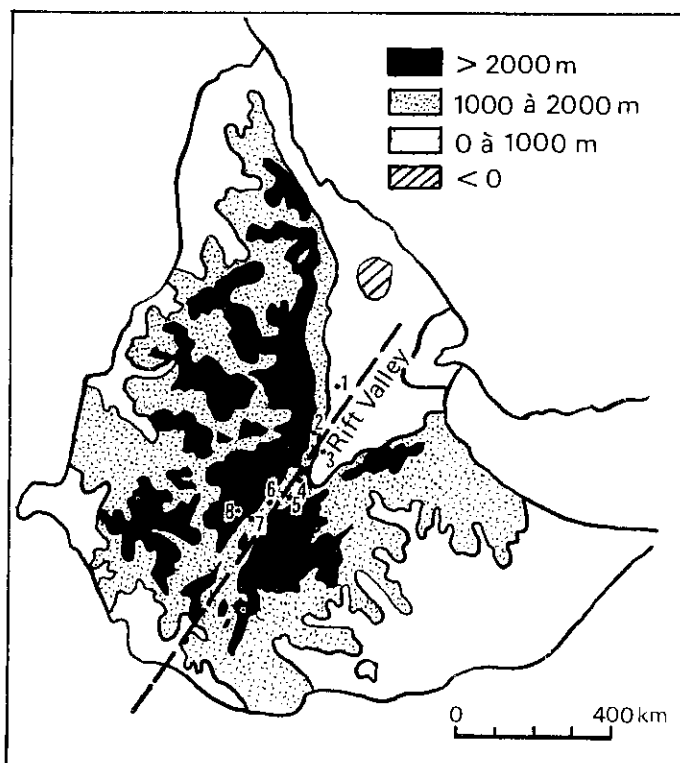


Tableau 32 - Données climatiques et territoires de *T. erytrae* à proximité d'Addis Abeba en Ethiopie.

Site	Altitude (m)	Température maximale annuelle (°C)	TD/25*	Déficit de saturation (mmb)**			<i>Trioza erytrae</i>	Symptômes de greening
				moyenne	maximum	minimum		
Melka Werer	730	34,3	0	32			-	-
Awash	916	33,4	0	30	39	24	-	-
Metahara	950	32,3	0	25	31	19	-	-
Nura Era	1200	30,8	0	25	30	12	-	-
Tibila	1400	-	-	-	-	-	+	+
Awasa Koka	1600	24,3	100	16	24	8	+	+
Dehm Zeit	1850	26,1	120	13	16	6	+	+
Addis Abeba	2400	22,8	337	14	13	7	+	+

* - TD/25 : nombre de jours de l'année ayant une température maximum inférieure à 25°C.

** - mmb : millibars

CIRCONSTANCES EPIDEMIOLOGIQUES PREVALANT EN ASIE

Pour la plupart des pays de l'Asie tropicale, la production fruitière tient aujourd'hui, une place importante dans la liste des revenus agricoles d'origine végétale. Exprimée en valeur, elle se situe en deuxième position juste après le riz (cas de la Thaïlande, des Philippines et de l'Indonésie). Cette tendance, assez récente, va même en s'accroissant depuis les années 1982/1983, avec la stagnation des cours de certaines cultures industrielles comme l'hévéa, le palmier à huile, ou le cocotier. De nombreux agriculteurs essaient de se tourner vers d'autres spéculations susceptibles de leur offrir des débouchés plus rémunérateurs. Les fruits, et notamment les agrumes, constituent, avec les productions aquatiques, deux nouveaux pôles d'attraction.

Le choix des agrumes s'explique pour au moins deux raisons. L'augmentation régulière de la demande sur les marchés régionaux d'une part, et le déficit chronique de l'offre, engendré par la courte durée de vie des vergers, d'autre part. Ce dernier handicap est directement lié à la présence de la ma-

ladie du greening, laquelle s'est répandue lentement mais inexorablement à partir de la fin de la Deuxième Guerre Mondiale, dans l'ensemble des pays de l'Asie tropicale. L'époque des mandariniers centenaires aux récoltes généreuses est maintenant révolue et de nouvelles techniques de production ont dû être mises en place.

Jusqu'au début des années 1970, on a en général sous-estimé l'importance du greening, et pensé qu'un programme accéléré de replantation compenserait les pertes d'arbres productifs. Il n'en a rien été, et, le plus souvent, cette attitude n'a fait qu'aggraver une situation phytosanitaire déjà médiocre. La maladie s'est propagée à partir de foyers principaux dont on peut d'ailleurs parfaitement retracer l'historique. En Chine par exemple, c'est depuis SWATOW (SHANTOU), au Nord-Est de la province de Guangdong, que le greening a progressé d'une part vers le Nord en direction du Fujian et du Zhejiang, et d'autre part vers l'Ouest en direction du Guangxi puis le sud vers la péninsule du Zhanjiang et l'île de Hainan. En Thaïlande, RANGSIT dans la plaine centrale a constitué l'un des premiers foyers, de même que PASAR MINGGU en Indonésie, et LIPA-BATANGAS aux Philippines. On pense d'ailleurs que la maladie est apparue dans ces derniers pays à la faveur des transports de marcottes de mandariniers et pamplemoussiers venant de Chine.

Dans l'ensemble, les circonstances épidémiologiques, et les contraintes socio-économiques rencontrées en Asie sont très différentes de celles qu'il est possible de trouver en Afrique. En premier lieu, le greening asiatique et son vecteur *Diaphorina citri*, sont présents dans toute la zone de culture des agrumes, jusqu'à 1 200 m, et même quelquefois 1 400 m d'altitude (régions de Kathmandu au Népal ou des Cameron Highlands en Malaisie). La Chine fait toutefois exception à cette règle puisque le front de progression du greening semble être stabilisé aux environs du 27^e degré de latitude Nord, alors que la culture des agrumes dans ce pays arrive jusqu'au 31^e degré de latitude. Ce sont les températures hivernales qui limitent la progression de *D. citri* vers le Nord, puisque l'insecte arrive difficilement à s'établir dans les zones soumises régulièrement au gel et à la neige.

Au plan socio-économique, il convient de noter que les grandes plantations fruitières sont rares en Asie. Il s'agit en effet dans la majorité des cas de petites exploitations privées ou de fermes collectives dépassant assez rarement la centaine d'hectares en un seul tenant. L'essentiel de la production agrumicole provient de petits vergers jardinés, souvent plantés à très haute densité (600 à 800 arbres/ha), et nécessitant de nombreuses interventions manuelles : tailles, éclaircissages, fumures organiques, entretiens de cultures intercalaires, traitements pesticides. En Asie, plusieurs lignées d'agrumes cultivées de très longue date, principalement des mandariniers et pamplemoussiers, sont intimement liées aux traditions calendaires, voire religieuses. Elles font par conséquent l'objet d'un commerce très actif. Cela explique que la circulation des plants, généralement propagés sous forme de marcottes, a toujours existé, non seulement en vue de la production fruitière, mais également à des fins ornementales. Il est incontestable que ces transactions ont favorisé la dissémination du greening et de son vecteur.

Le psylle asiatique *D. citri* est invariablement observé sur *Murraya paniculata* (LAM.) JACK. un arbuste ornemental très populaire en Chine, en Thaïlande et en Indonésie. Dans les pays de tradition bouddhiste, *M. paniculata* est considéré comme une plante sacrée, et figure de ce fait en bonne place à proximité des temples. En Chine, cette même plante est couramment utilisée à la fois pour les haies ornementales et pour les bonsaïs. Elle constitue donc un très important réservoir de *D. citri* et, en règle générale, toute tentative de culture des agrumes à proximité des zones habitées se heurte rapidement au problème des invasions de vecteurs. Par contre les endroits retirés situés en bordure des massifs forestiers sont, le plus souvent, indemnes de *D. citri*. Il s'agit presque toujours de forêts secondaires établies par l'homme après destruction de la végétation d'origine, et dans lesquelles *D. citri* ne trouve pas de conditions propices à son installation. Cette particularité a été mise à profit, notamment en Chine pour la création des parcs à bois de pieds-mères, et le lancement d'une nouvelle génération de vergers pilotes. Contrairement à ce qui est constaté en Afrique pour *T. erytrae*, la forêt asiatique ne semble pas offrir un biotope favorable à *D. citri*. Nous nous proposons d'analyser plus en détail dans ce qui suit, la situation de différents pays.

Chine.

Le verger de la Chine continentale a subi de profondes modifications entre les années 1965 et 1975. Au cours de cette période en effet, la destruction de nombreuses parcelles a fait chuter la production d'agrumes à moins de 400.000 tonnes. Or les estimations, les plus sérieuses la situent à hauteur de 2,5 millions de tonnes pour la campagne 1987-1988 : un inventaire par province est donné dans la figure 86.

Ce redressement est le résultat d'un vigoureux programme de sélection sanitaire accompagné d'une promotion systématique des pépinières certifiées indemnes de maladie. L'action a surtout porté sur les provinces du Sichuan, du Guangdong, du Fujian et du Zhejiang et du Guangxi.

Comme on peut le constater sur la figure 87, trois de ces provinces se situent au sud ou à la limite

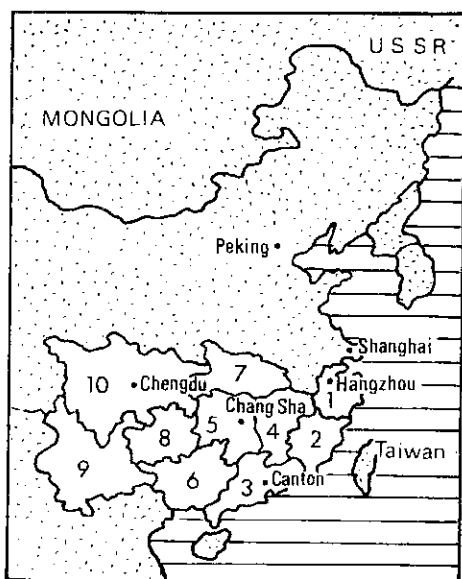


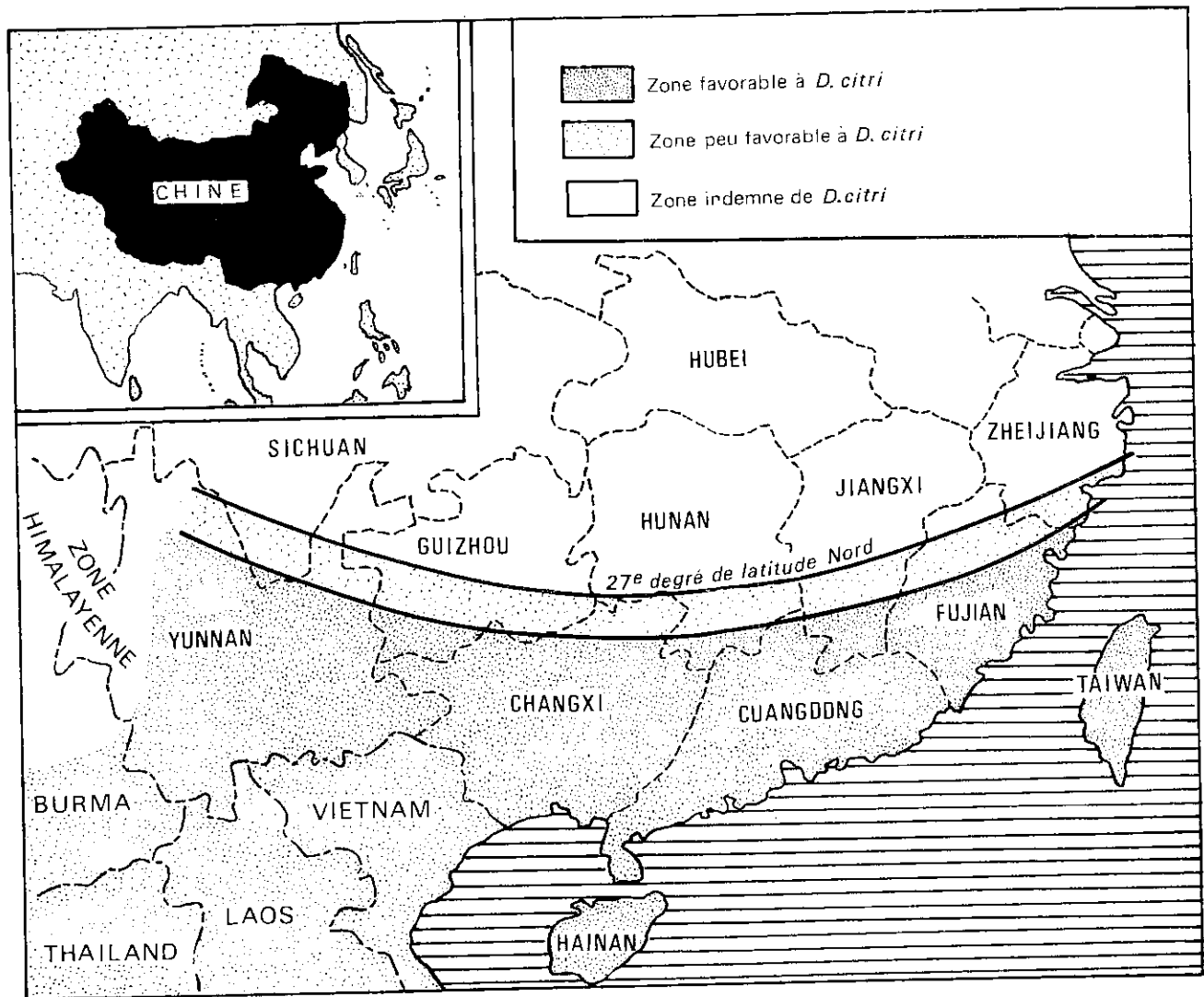
Figure 86 - Provinces agrumicoles de Chine et tonnages escomptés à partir de 1988.

	en 1 000 tonnes
1. Zhejiang	300
2. Fujian	150
3. Guangdong	550
4. Jiangxi	50
5. Hunan	350
6. Guangxi	280
7. Hubei	40
8. Guizhou	30
9. Yunnan	30
10. Sichuan	800
Total :	2 550

TAIWAN : 360.000 tonnes

du 27^e parallèle Nord, et par conséquent en conditions climatiques favorables aux pullulations de *D. citri*. Dans ces régions la réhabilitation des productions citricoles est passée par les différentes étapes suivantes. En premier lieu l'action menée par les Communes Populaires au cours de la Révolution Culturelle a entraîné la destruction de nombreux vergers afin de promouvoir les cultures vivrières. Dans le Fujian, le Guangxi et le Guangdong, ce remplacement a été massivement entrepris pour céder la place aux rizières, et, très rares sont les vergers qui ont survécu à cette époque. Beaucoup d'entre eux étaient déjà sérieusement atteints de greening. Dans le même temps, un groupe de travail *inter-provincial huanglungbing* était constitué entre Guangzhou, Fuzhou et Guilin, afin de mettre en pratique les techniques de replantation préconisées par le Pf. H K LIN à savoir :

- désinfection systématique des graines de porte-greffe par trempage dans un bain d'eau chaude à 56° C pendant 50 minutes,
- traitement des greffons à la chaleur humide : 49° C pendant 50 minutes pour la régénération des lignées atteintes de greening,
- reconstitution des parcs à bois à partir de pieds-mères régénérés et indexés puis installation de pépinières agréées dans des sites n'hébergeant aucun agrume ni aucun *Murraya* dans un rayon d'au moins 3 kilomètres,
- mesures de quarantaine strictes pour la gestion de ces parcs à bois et pépinières.

Figure 87 - Limite d'extension de *Diaphorina citri* en Chine.

Cette politique a permis d'installer une nouvelle génération de vergers d'agrumes dans des sites de piedmonts bien abrités, à proximité de massifs forestiers. La plupart de ces vergers reçoivent une couverture chimique classique (12 à 15 traitements par an) et atteignent l'âge de 7 à 8 ans sans présenter le moindre symptôme de greening. La gestion des parcelles est confiée à des *coopératives fruitières* pour lesquelles il est instamment demandé au personnel résidant de s'abstenir de toute plantation d'agrumes ou de *Murraya* dans les petites parcelles privées. En plus du verger, ces coopératives ont généralement la responsabilité d'un bloc forestier.

Au cours des dernières années, plusieurs équipes ont en outre poursuivi le travail de régénération des lignées d'agrumes selon la technique du microgreffage d'apex avec traitement préalable par thérapie. Dans le Fujian par exemple on compte aujourd'hui 5 parcs à bois d'élite totalisant 6.000 plants indexés et fournissant une trentaine de pépinières. Des schémas analogues existent pour les provinces voisines.

En marge de cette structure officielle qui semble faire ses preuves, on assiste à l'émergence de nombreux petits arboriculteurs en zone de rizières. Ces derniers exploitent des parcelles à bail de 6 ou 9 ans et sont très tentés par les agrumes qui peuvent procurer des revenus 7 à 8 fois supérieurs à ceux du riz. Le contrôle de ces amateurs est beaucoup plus difficile. Leurs vergers situés non loin

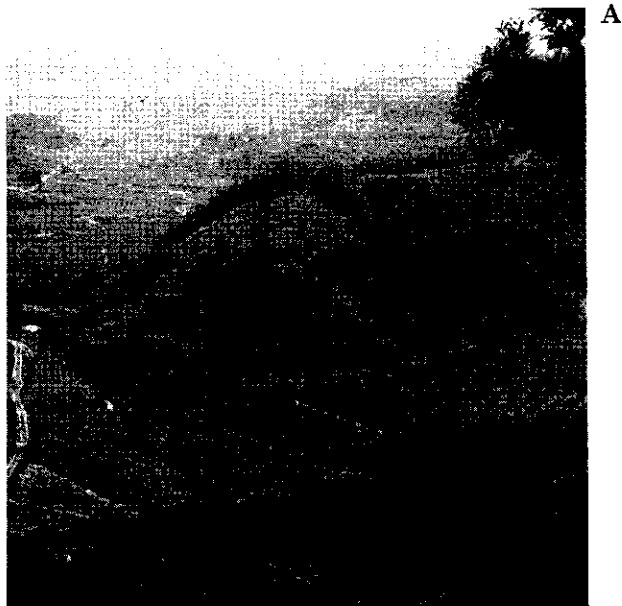


Figure 88 A et B - Nouvelle générations de vergers d'agrumes en bordure de massifs forestiers. (province du Fujian).



des villages sont plus exposés aux attaques de *D. citri* et nécessitent une couverture chimique rapprochée (29 à 30 traitements par an). Dans ces conditions toute défaillance dans les traitements est sanctionnée par une réapparition du greening. L'équilibre de ces vergers est d'autant plus fragile que le taux de parasitisme observé sur *D. citri* est dans l'ensemble assez faible.

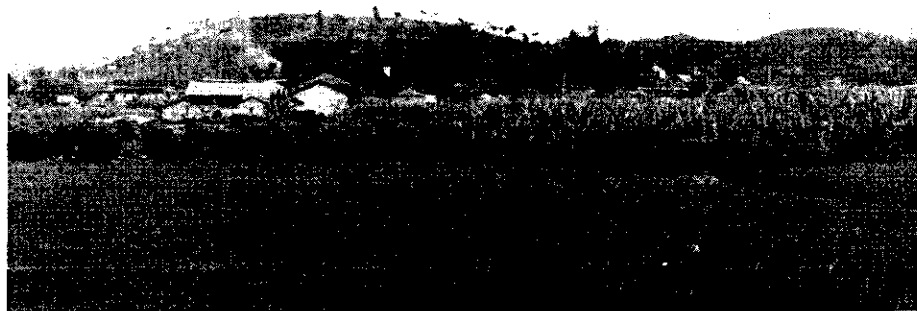


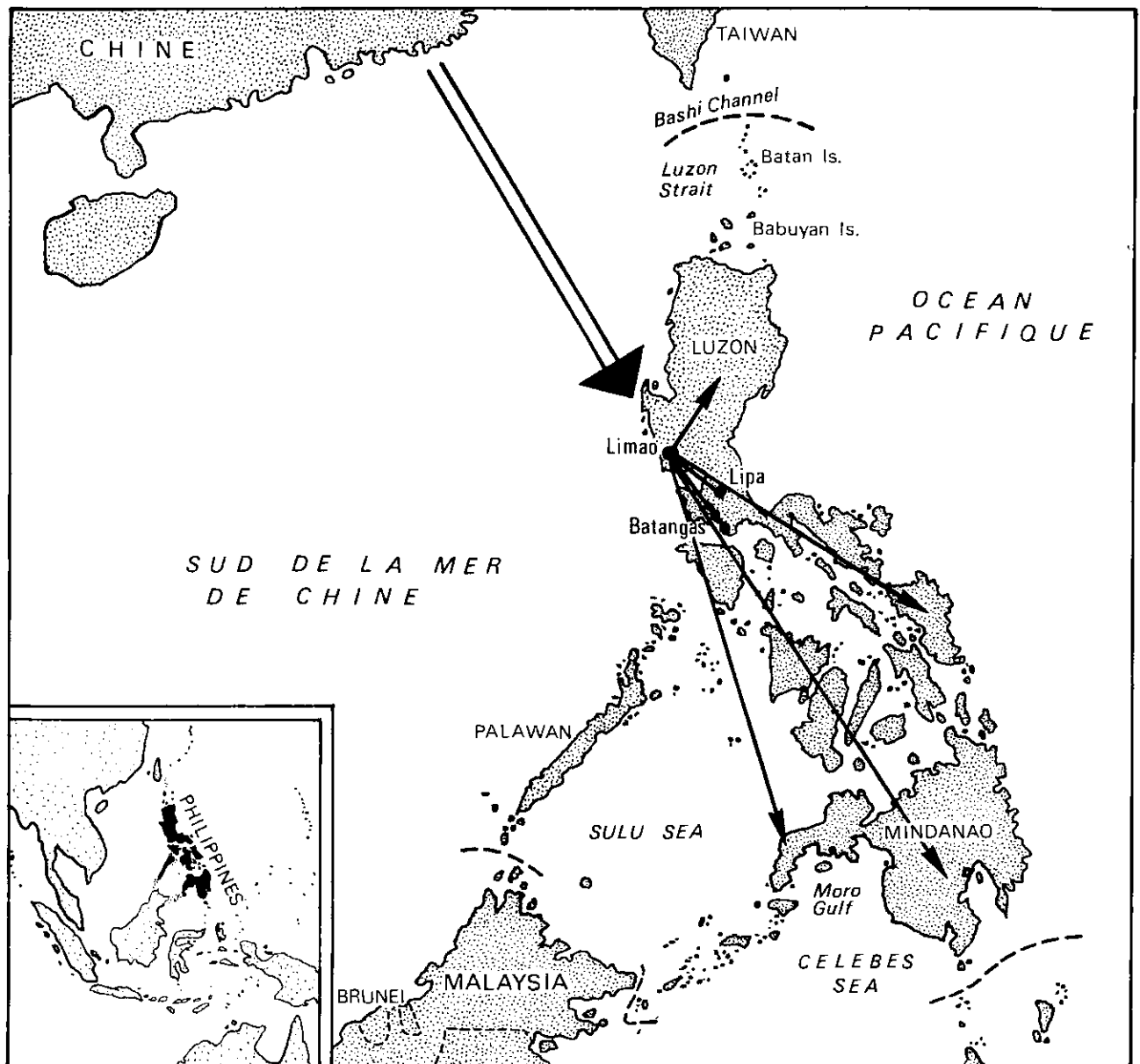
Figure 89 - Petite parcelle privée située en zone de rizière à proximité d'un village. Les arbres nécessitent dans ce cas une couverture chimique rapprochée. (Cliché pris à Zhangzhou Sud Fujian : région à dominante riz et canne à sucre).

Philippines.

Au début des années 1960, le verger des Philippines s'étendait sur plus de 13.000 hectares, et se trouvait concentré dans la partie Nord-Ouest de l'archipel entre LIPA et BATANGAS. La production citricole de cette région était réputée pour ses mandarines bien adaptées aux conditions climatiques locales, notamment leur résistance aux vents cycloniques et à la sécheresse. Des travaux d'hybridation poursuivis entre 1943 et 1948 avaient d'ailleurs permis d'améliorer la qualité et la productivité de deux sélections clonales de base : Szinkom une mandarine précoce à petites feuilles, très rustique, et Ladu, une mandarine de mi-saison proche de Dancy. L'obtention d'hybrides triples comme Ladu Zsibat 15 une mandarine prolifique de fin de saison donnant de gros fruits, ou de Szuikom une mandarine très tardive (mars-avril) d'excellente qualité, permettait d'étaler la production. D'intéressants résultats avaient été également obtenus sur des croisements de pamplemoussiers à vésicules longues juteuses et tendres de couleur rose (Amoy Mantan Siamese Pink et Sunwuiluk).

Malheureusement, les agrumiculteurs des Philippines n'ont guère eu la possibilité d'exploiter ces ressources génétiques puisqu'au début des années 1970, c'est-à-dire dix ans à peine après «l'euphorie

Figure 90 - Extension du greening aux Philippines entre 1940 et 1965.



citricole», la production avait chuté des deux tiers en raison de l'apparition du greening. Entrée par la Station de LIMAO (province de BATAAN) avec du matériel végétal importé de Chine, la maladie avait rapidement gagné les grands vergers de LIPA-BATANGAS, qui se trouvaient donc décimés en moins d'une décade. Avant même que les agronomes aient eu le temps de réaliser la gravité de la situation, le greening était déjà répandu dans tout l'archipel jusqu'au sud du MINDANAO, par suite de la distribution de matériel végétal à partir des pépinières de LIPA-BATANGAS (cf. figure 90).

Très sensibles au greening, les mandarines locales réagissent par la formation de petites feuilles décolorées, la chute des jeunes fruits et le dessèchement des branchettes ; ils périssent en général au bout de 5 à 7 ans. Moins sensibles que les mandariniers, les pamplemoussiers affichent des symptômes de marbrures de feuilles et évoluent plus lentement jusqu'au stade de dessèchement des branchettes. Toutefois s'ils survivent un peu plus longtemps que les mandariniers, leur productivité est loin d'atteindre celle des plants sains.

L'économie agrumicole des Philippines ne s'est pas encore relevée du sinistre des années 1960. En effet le vecteur asiatique *D. citri* est à présent dispersé sur l'ensemble du territoire et pose un délicat problème de couverture chimique. Le faible pourcentage de parasitisme dont il est l'objet lui permet de se maintenir en permanence au-dessus du seuil tolérable de dissémination naturelle du greening. Les agrumiculteurs des Philippines se sont résignés à replanter leurs vergers tous les 7 ans, et deux importants groupements de pépiniéristes totalisant plus de 500 petites entreprises privées de la région de TALISAY (zone de LIPA), s'emploient à distribuer chaque année plus de 2,5 millions de plants d'agrumes : il s'agit de la BATNO (Batangas Association of Plant Nursery Operators) et du Samahan Malilit. Quoique bien gérées sur le plan horticole, ces pépinières sont malheureusement insuffisamment encadrées du point de vue certification de matériel végétal indemne de maladie. Dès le stade des semis de porte-greffe on peut voir d'importantes attaques de chancre citrique et des pontes de *D. citri*.

Des statistiques officielles récentes indiquent que la production d'agrumes aux Philippines s'élève à 132.000 tonnes, soit une moyenne de 2,4 kg/habit./an. Près de la moitié de ce tonnage est constituée par le Calamandin *Citrus madurensis* LOUREIRO, connu localement sous le nom de **Kalamansi**. Il s'agit d'une espèce assez rustique, tolérante au chancre citrique et, dans une certaine mesure au greening. Ses petits fruits sont très utilisés aux Philippines en guise de citron ou de limes pour les jus et la préparation des poissons et crustacés. Les surfaces cultivées et tonnages produits pour les quatre principaux groupes d'agrumes des Philippines sont donnés dans le tableau 33.

Les rendements moyens, exception faite du calamandin qui donne des petits fruits de la taille des kumquats, sont typiques de ceux obtenus en vergers d'agrumes précocement atteints de greening. Ils rappellent ceux observés à la Réunion au début des années 1970.

Le redressement de la situation phytosanitaire du verger d'agrumes des Philippines nécessite la mise en place d'une série de mesures dont les plus urgentes sont : 1) la création de parcs à bois de pieds-mères indexés issus de lignées régénérées ; 2) le lancement d'un programme de lutte biologique contre le vecteur du greening ; 3) un encadrement phytosanitaire plus strict des associations de pépiniéristes ; 4) la recherche de sites protégés pour l'installation d'une nouvelle génération de vergers ; 5) une large diffusion des informations techniques auprès des planteurs.

Tableau 33 - Surfaces agrumicoles plantées et tonnages des 4 principaux groupes d'agrumes cultivés aux Philippines (Statistiques de 1986, source : Centre National de Recherche et de Documentation).

	Calamondins	Mandarines	Oranges	Pamplemoussiers
Surfaces (en ha)	10 560	7 890	3 590	4 300
Tonnages	52 696	24 193	19 545	35 813
Rendements T/ha	5,0	3,0	5,4	8,3

Thaïlande et Indonésie.

Le contexte général qui prévaut en Thaïlande et en Indonésie est assez voisin de celui décrit précédemment aux Philippines ; malgré diverses réglementations ministérielles, le contrôle du matériel végétal «à la source» reste très imparfaitement maîtrisé par suite des importants revenus que tirent les pépiniéristes de la vente de plants. *D. citri* est répandu également dans toutes les régions productrices.

Dans la partie centrale de la Thaïlande (régions de Bangkok, Nakhom Pathom et Pthumtani), les agrumes sont cultivés sur «klongs» et protégés par une couverture chimique drastique : jusqu'à 50 traitements par an c'est-à-dire pratiquement chaque semaine. L'emploi de puissants insecticides de choc comme le Methomyl est assez fréquent. Les pulvérisations sont pratiquées depuis des barques équipées d'une motopompe qui puise directement l'eau du canal pendant leur déplacement. Un venturi permet d'adjoindre la matière active. Ce système évite à l'agriculteur le transport de la bouillie. L'agrumes le plus cultivé par les Thais est la mandarine SOM KEOWAN qui est exclusivement propagée par marcottes aériennes. Dès qu'un arbre dépérit, il est immédiatement arasé, la place laissée libre étant à nouveau occupée par deux jeunes marcottes. Ce système, en dépit de son coût excessif et des risques inhérents aux résidus de pesticides reste malgré tout performant. Dans le Nord du pays par contre, principalement vers les régions de Nan et Chiang Mai, les vergers sont installés à flanc de coteaux. Du fait d'un contrôle phytosanitaire moins suivi le greening y occasionne des dommages beaucoup plus importants.

En Indonésie, un vaste programme de lutte chimique par antibiothérapie a été lancé au début des années 1980 à JAVA. Les importantes sommes engagées dans l'opération n'ont malheureusement pas permis de juguler la maladie. Le problème a été repris à la base récemment, avec la régénération par microgreffage d'apex de plusieurs lignées de Keprocks (une mandarine locale proche de Ponkan) et de Siams (une mandarine analogue à Som Keowan). L'étape suivante consistant à créer un conservatoire de matériel végétal sous cage d'isolement puis à aménager des sites en zone forestière pour héberger les parcs à bois et pépinières indexés est déjà engagée. En Indonésie le greening est aujourd'hui largement répandu à Java ainsi que dans d'autres îles comme Bali, Sumatra. Il a également atteint les Célèbes et la partie Est de Kalimantan (Bornéo). La maladie est systématiquement associée à *D. citri* lui aussi largement répandu dans ces endroits. Une étude fondamentale est actuellement entreprise sur la dynamique des populations de vecteurs et leur parasitisme naturel. Elle devrait aboutir à une amélioration du contrôle de *D. citri* par introduction d'entomophages exotiques, ainsi qu'à l'installation d'un réseau de surveillance permettant la mise au point d'un programme de lutte intégrée performant.

Népal.

Le Royaume du NEPAL situé en bordure de la Chaîne himalayenne entre les 26e et 30e degrés de latitude Sud dispose d'une grande variété de microclimat, puisque la gamme altitudinale s'échelonne de 100 m dans la plaine du Terai, à plus de 8.000 m.

L'agrumiculture est traditionnellement concentrée dans les zones de piedmonts situées entre 800 et 1.500 m. On y enregistre une récolte annuelle d'environ 30.000 tonnes. Une des variétés les plus cultivées est la mandarine Suntala dont il existe plusieurs lignées correspondant à des sélections locales (Bojpur, Dankuta, Pokhara, Daileh ...). Sur le plan épidémiologique, ce pays présente un grand intérêt. En effet de nombreuses vallées protégées derrière d'importantes barrières montagneuses ne sont reliées entre elles que par des sentiers muletiers. Dans ce cas l'agrumiculture y a conservé son aspect traditionnel avec des mandariniers de grande taille, souvent centenaires et produisant plus d'une demi-tonne de fruits en une seule récolte.

Dans les zones accessibles par route et connectées au réseau indien, les pépiniéristes ont voulu répondre très vite à la demande de plants à la fin des années 1960. Dans ce but ils ont introduit du matériel végétal de l'Uttar Pradesh. Cette initiative a invariablement occasionné la contamination du verger népalais. L'axe Kathmandu-Pokhara a été le premier exposé aux invasions de *D. citri* avec comme conséquence le dépérissement des anciens vergers et le rapide déclin des nouvelles plantations.

Actuellement la grande majorité des secteurs accessibles en voiture est atteinte de greening en raison des transports de plants hébergeant à la fois la maladie et des larves de vecteurs. Il est également assez courant de trouver la maladie dans les zones situées à une journée de marche du réseau routier par suite du transport plus occasionnel de plants à dos de mules. Seuls les endroits reculés situés à plusieurs jours de marche sont restés indemnes de greening. La présence de nombreux types d'agrumes à l'état subspontané, dans ces vallées très retirées, atteste que *D. citri* n'est pas établi naturellement en zone forestière à l'inverse de son homologue *T. erytrae* en Afrique haute. Cette particularité justifie donc les choix stratégiques faits en Chine.

CONCLUSION

L'analyse des circonstances épidémiologiques permet de raisonner la nature et les urgences des interventions phytosanitaires dans la pratique quotidienne, en faisant appel à l'explication biologique et/ou socio-économique des relations causales impliquées dans le processus infectieux.

Ce type d'approche permet d'explicitier le réseau de dépendances qui relie le pathogène, la plante hôte et son vecteur, et d'en déduire une possible stratégie, ainsi qu'éventuellement un plan de surveillance ou d'assainissement, sachant que les contraintes socio-économiques peuvent être quelquefois tout aussi importantes que les contraintes biologiques.

En Afrique haute la prévalence de *Trioza erytrae* dans la végétation naturelle de brousse, constitue un important facteur de dissémination du greening. Compte tenu du déplacement de ce vecteur sur d'assez longues distances, les mesures d'isolement ou d'éradication ont relativement peu de chances d'aboutir.

En Asie par contre *Diaphorina citri* est un vecteur de tendance grégaire inféodé à quelques plantes domestiques, et dont les vols restent assez limités. La dispersion de la maladie résulte alors beaucoup plus de la juxtaposition de nombreux petits vergers privés où il est difficile d'imposer une politique phytosanitaire d'ensemble. Dans ces conditions, les mesures d'isolement, d'éradication et de quarantaine seront susceptibles d'être beaucoup plus efficaces que dans le cas précédent.

CONCLUSION FINALE

Le *greening* affecte l'ensemble des espèces ou variétés d'agrumes cultivées aujourd'hui dans le monde et entraîne de ce fait d'importantes pertes économiques. Transmissible à la fois par la greffe et par insectes vecteurs il ne peut être maîtrisé efficacement que dans le cadre d'une stratégie anti-épidémique globale faisant appel à des méthodes de lutte collectives. L'intervention phytosanitaire repose en effet sur deux éléments clefs : la certification des plants de pépinière d'une part, et le contrôle des vecteurs d'autre part. L'expérience engagée à l'île de la Réunion entre 1970 et 1985 illustre un choix stratégique basé sur ces deux principes fondamentaux. Mais il n'en demeure pas moins vrai que la mise sur pied d'un programme de lutte structuré se heurte à de nombreuses contraintes biologiques et socio-économiques.

Une des difficultés majeures que rencontrent les agrumiculteurs, est d'évaluer suffisamment à temps les modalités de l'infection. Le début de la maladie reste imperceptible et passe même souvent totalement inaperçu. Le fait aussi que la symptomatologie soit atypique et ne se manifeste qu'avec un important décalage par rapport au moment de l'inoculation contribue à sous-estimer les risques épidémiologiques. En outre si la détection des attaques de vecteurs est relativement aisée en Afrique du fait des traces de galles laissées par *T. erythrae*, elle l'est beaucoup moins en Asie. Tous ces éléments font donc qu'il est difficile de maintenir un réseau de surveillance performant, sans l'aide d'un personnel qualifié et bien entraîné.

Un autre handicap majeur vient du fait qu'en dépit des tentatives de culture de la bactérie du *greening* sur substrat synthétique (GARNETT, 1984), il n'ait pas été possible jusqu'ici de disposer de méthodes sérologiques fiables pouvant faciliter le diagnostic précoce. Ce dernier est pourtant essentiel en verger commercial et a fortiori en verger de pieds-mères. L'absence d'outil sérologique explique aussi les importantes lacunes dans la connaissance des phénomènes de vection par larves ou imagos de psylles. L'obtention récente d'anticorps monoclonaux par GARNIER *et al.* (1988), offre cependant des perspectives nouvelles pour la détection sérologique, même si des mises au point s'avèrent encore nécessaires avant de pouvoir exploiter largement cette technique. Il est incontestable que le fait de ne plus dépendre exclusivement d'une méthodologie lourde et coûteuse (indexage sur plante indicatrice, ou observation en microscopie électronique) pour la confirmation du diagnostic, marquera une étape importante dans les techniques de dépistage.

Le *greening* figure dans une liste de 27 autres maladies des agrumes transmissibles par la greffe, mais n'en demeure pas moins l'un des principaux facteurs limitants de la production agrumicole dans de nombreuses régions d'Afrique et d'Asie. Contrairement à la plupart des autres affections, il ne relève pas d'une typologie épidémiologique constante, puisque selon les cas il pourra revêtir un caractère de pandémie à exposition multiple et généralisée, ou d'endémie plus ou moins circonscrite. C'est la raison pour laquelle un programme d'assainissement ne peut reposer uniquement sur l'excellence des techniques d'observation fine ou sur les prouesses de la biologie moléculaire. Il doit être fondé aussi sur une connaissance approfondie de l'ensemble des relations causales impliquées de près ou de loin dans le processus infectieux, et cela quelle que soit leur nature. En définitive, l'analyse de ces relations, d'un territoire à l'autre, et leurs niveaux d'interaction doivent constituer la base des choix stratégiques

BIBLIOGRAPHIE

- Anonyme.
Bulletin mensuel économique et statistique de la FAO
Jul.-aug. 1983.
- AHMAD (R.). 1961.
Citrus psylla : its damage, population and efficacy of some insecticides against it.
Pakist. J. Sci., 13, 195-200.
- AGARWAL (M.M.). 1965.
Taxonomy of encyrtid parasites (Hymenoptera : Chalcidoidea) of Indian Coccoidea.
Acta Hymenopterologica Fukuoka, 2(2), 37-97.
- AMANTE (E.) et VOLCANO (M.A.). 1971.
Diaphorina pseudo-citri sp. n. (Praga de Citrus)
in : *Congr. Bres. Frutic. Campinas Sao Paulo. Resumos*, p. 47.
- ANDERSON (C.A.) et CALVERT (D.V.). 1970.
Mineral composition of leaves from Citrus trees affected with declines of unknown etiology.
Proc. Fla. State Hort. Soc., 83, 41-45.
- ANGUS (A.). 1962.
Annotated list of plant pests diseases and fungi in Northern Rhodesia (Zambia) recorded at the Plant Pathology Laboratory.
Mount Makulu Research Station.
- ANNECKE (D.P.) et CILLIERS (C.). 1963.
The Citrus psylla *Triozia erytrae* (DEL GUERCIO) and its parasites in South Africa.
S. Afr. J. Agric. Sci., 187-192.
- ANNECKE (D.P.), INSLEY (P.) et PATRICIA (H.). 1971.
Catalogue of Ethiopian Encyrtidae and Aphelinidae (Hymenoptera Chalcidoidea).
Entomology Mem. Dep. agric. tech. serv. Rep. S. Afr., 23, 1-53.
- ANNECKE (D.P.) and MORAN (V.C.). 1982.
Insects and mites of cultivated plants in South Africa.
Butterworths Durban, Pretoria, 382 p.
- ARIOVICH (D.) et GARNETT (H.). 1984.
Structure of the greening organism.
In : *Symposium sur le greening CSFRI Nelspruit*, edit. 10 p.
- ATWAL (A.S.) et VERMA (G.C.). 1968.
Studies on the control of Citrus psylla *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera Psyllidae) by foliage spray and oil application.
Agra Univ. J. Res., 5, 240-243.
- AUBERT (B.). 1975.
La lutte aménagée contre les ravageurs des agrumes en Afrique du Sud et ses applications pour les Mascareignes.
Fruits, 30 (3), 149-159.
- AUBERT (B.). 1977.
Recherches sur la maladie du greening à l'île de la Réunion.
Rapport de DEA, Université de Bordeaux II, 30 p.
- AUBERT (B.), BOVE (J.M.) et ETIENNE (J.). 1979.
La lutte contre le greening des agrumes à la Réunion. Résultats et perspectives.
Fruits, 35 (10), 605-624.
- AUBERT (B.). 1978.
Compte rendu de mission en Union indienne.
Doc. IRFA-Réunion, 6 p.
- AUBERT (B.). 1979.
Une technique d'injection sous pression dans le tronc des arbres.
Fruits, 34 (3), 195-198.
- AUBERT (B.). 1981.
Normes en vue de l'agrément des pépinières fruitières réunionnaises.
IRFA-Réunion DDA, 5 p.
- AUBERT (B.), VOGEL (R.), BOVE (J.M.) et BOVE (Colette). 1982.
Affections virales des agrumes transmises par pucerons à l'île de la Réunion.
Fruits, 37 (7-8), 441-465.
- AUBERT (B.). 1982.
Feasibility study for small holder fruit and tree nut development.
Survey of plant sanitary conditions.
Report to the Ministry of Lands, Resettlement and Rural Development, 30 p.
- AUBERT (B.). 1983.
The fruit production in Swaziland.
in : *Rapport de Mission au Swaziland pour la STEG INTERNATIONALE*, 20 p. *Doc IRFA-CIRAD*.
- AUBERT (B.). 1984 (a).
Problèmes phytosanitaires des vergers d'agrumes mauriciens et rodriguais.
Proposition d'un programme de lutte intégrée.
Compte rendu effectué à la demande de l'Agence de coopération culturelle et technique ACCT, 27 p.
- AUBERT (B.). 1984 (b).
Situation sanitaire des productions fruitières de l'archipel des Comores.
Rapport FAO. 15 p.
- AUBERT (B.). 1984 (c).
Citriculture and greening in Indonesia.
Proposals for an integrated diseases and pests management.
Report to the Government of Indonesia, 30 p.
- AUBERT (B.) et QUILICI (S.). 1984.
Mission d'évaluation phytosanitaire des productions

- fruitières de Madagascar.
Document IRFA-CIRAD, 50 p.
- AUBERT (B.). 1986.
Rapport d'expertise concernant les vergers d'Okolo-ville en République du Gabon.
SOSUHO/IRFA-CIRAD, 16 p.
- AUBERT (B.). 1986.
Problèmes posés à l'agrumiculture camerounaise.
Rapport IRA Cameroun, IRFA-CIRAD, 25 p.
- AUBERT (B.), GARNIER (M.), GUILLAUMIN (D.), HERBAGYANDONO (B.), SETIOBUDI (L.) et NURHADI (F.). 1985.
Le greening, une sérieuse menace pour les productions agrumicoles de l'Archipel indonésien.
Fruits, 40 (9), 549-563.
- AUBERT (B.), GARNIER (M.), CASSIN (J.C.) et BERTIN (Y.). 1988.
Citrus greening disease survey in East and West African countries South of Sahara.
Proceedings of the 10th IOCV Conference (in press).
- AUBERT (B.) et QUILICI (S.). 1988.
Results of the monitoring Citrus psyllas on yellow traps in Reunion Island.
Proceedings of the 10th IOCV Conf. (in press).
- BALTAZAR CLARE (R.). 1966.
Pacific insects monograph n° 8 Ento. Dept. Bernice P. Bishop Museum Honolulu, Hawaii, USA.
- BAR-JOSEPH (M.). 1972.
Rapport de visite à la Station de Recherches horticoles de Thika, 15 p.
- 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.
- BEDFORD (E.C.G.) et GROBLER (J.H.). 1981.
The current status of the biological control of red scale *Aonidiella aurantii* (MASK) on citrus in South Africa.
Proc. Int. Soc. citriculture, 2, 616-620.
- BEDFORD (E.C.G.), VERCUEIL (S.W.) et DEACON (V.). 1985.
A general guide to the integrated control of citrus pests with red scale under biological control, 16 p.
Citrus H. 47 Farmin in South Africa, Dt. of Agr. and Water Supply S.A.
- BEGEMAN (G.J.). 1984.
Die epidemiologie van vergroeningsiekte van sitrus te Zebedelia, Sentraal-Transvaal Suid-Africa.
Symposium on Greening CSFRI editor, 10 p.
- BENASSY (C.), BIANCHI (H.) et MILAIRE (M.). 1961.
Incidence des traitements insecticides sur les parasites de Coccides : Action des traitements d'été contre *Pseudolacaspis pentagona* TARG. sur son parasite spécifique *Prospaltella berlesesi* HOW.
Phytiatrie Phytopharmacie, 10, 119-129.
- BENASSY (C.). 1984.
Les problèmes cochenilles diaspines chez les Citrus.
IRFA-CIRAD, Document n° 29 Réunion annuelle, 8 p.
- BENOIST (M.) et DEFOS de RAU (J.). 1975.
Climatologie dans Atlas des Départements français d'Outre-Mer.
I.- La Réunion.
Centre d'Etudes de Géographie tropicale du CNRS, Bordeaux-Talence, 10 p.
- BEZANGER (L.). 1977.
Citroflavonoïdes et dérivés d'hémisynthèse.
Plantes médicinales et Phytothérapie, Tome XI, numéro spécial, p. 152-157.
- BLONDEL (L.). 1970.
L'agrumiculture au Japon et dans quelques pays du Sud-Est asiatique.
Fruits, 25 (2), 523-537.
- BORY DE ST VINCENT (J.B.). 1804.
Voyage dans les quatre principales îles des mers australes d'Afrique. Paris.
- BORDAGE. 1898.
Note d'entomologie agricole.
II.- un ennemi du vanillier.
Revue agricole, organe de la Chambre d'agriculture et des cultivateurs de la Réunion, p. 524-525.
- BOVE (J.M.) et CASSIN (J.). 1968 (a).
Problèmes de l'agrumiculture réunionnaise.
Compte rendu de mission, IFAC, Paris, nov. 1968.
- BOVE (J.M.) et CASSIN (J.). 1968 (b).
Problèmes de l'agrumiculture malgache.
Compte rendu de mission, Doc. IRFA, 50 p.
- BOVE (J.M.), CALAVAN (E.C.), CAPOOR (S.P.), CORTEZ (R.E.), SCHWARZ (R.). 1974.
Influence of temperature on symptoms of California stubborn, South African greening India Citrus decline and Philippines leaf mottle.
in : *Proceedings of the 6th IOCV, Weathers and Cohen ed.*, p. 12-15.
- BOVE (J.M.) and SAGLIO (P.). 1974.
Stubborn and greening : a review, 1969-1977.
in : *Proc. 6th Conf. IOCV, Univ. Calif., Div. Agr. Sci. Richmond*, p. 1-11.
- BOVE (J.M.) et VOGEL (R.). 1981.
Description and illustration of virus and virus-like diseases of Citrus, a collection of color slides.
International Organization of Citrus Virologists Edit. IRFA-SETCO Paris, vol. I, II, III and IV.
- BOVE (J.M.). 1979.
Recherche sur la maladie du Stubborn des agrumes.
I.- Découverte et propriété de *Spiroplasma citri* le mycoplasme responsable de la maladie du Stubborn des agrumes : un historique.
Fruits, 34 (4), 267-281.
- BOVE (J.M.), GARNIER (P.) et AUBERT (B.). 1980.
Penicillin and tetracycline treatments of greening disease affected Citrus plants in the glasshouse, and the bacterial nature of the procaryote associated with greening.
in : *Proceeding of the 8th IOCV Conference*, p. 91-102.
E.C. CALAVAN, S.M. GARNSEY and L.W. TIMMER Ed.
- BOVE (J.M.) et GARNIER (M.). 1984.
Citrus greening and psylla vectors of the disease in the Arabic Peninsula.
in : *Comptes rendus de la 9e Conférence de l'IOCV*, p.109-114.
S.M. GARNSEY, L.W. TIMMER and J.A. DODDS Ed.

- BOVE (J.M.) et AUBERT (B.). 1984.
Report on virus and virus-like diseases of citrus in Saudi Arabia with special reference to citrus greening: Report to the FAO, 33 p.
- BRENIERE (J.) et DUBOIS (J.). 1965.
Catalogue des insectes nuisibles aux cultures malgaches.
Doc. Division Ento. Agric. IRAM, n° 43, 168 p.
- BREON (N.). 1835.
Catalogue des plantes cultivées au Jardin botanique et de naturalisation de l'île Bourbon.
Impr. du Gouvernement St Denis, île Bourbon.
- BRIDGES (G.D.), YOUTSEY (C.D.) and NIXON (R.R.). 1965.
Observations indicating psorosis transmission by seed of Carrizo citrange.
Citrus Industry, 46 (12), 5-6 et 14.
- BRLANSKY (R.H.), TIMMER (L.W.) and LEE (R.F.). 1982.
Detection and transmission of a gram-negative, xylem limited bacterium in sharpshooter from a Citrus grove in Florida.
Plant Disease, 66 (7).
- BROADBENT (P.) (BARKLEY). 1983.
Citrus greening and virus diseases in China and South East Asia.
Report to the Plant Pathology section at the International Plant Pathology Congress of Melbourne, 21 p.
- BUITENDAG (C.H.) et BRONKHORST (G.T.). 1982.
An inhibition test to observe the translocation of bactericides in Citrus trees.
Citrus subtrop. Fr. J., 586, n° 9.
- BUITENDAG (C.H.) et BRONKHORST (G.J.). 1984.
Beheer van vergroening by citrus and spesiale verwysing na PMT inspuut.
Greening Symposium CSFRI Ed., 17 p.
- BURCKHARDT (D.). 1984.
The mediterranean species of *Diaphorina* Loew (Homoptera, Psylloidea).
Systematic Entomology, 40 p.
- BURGER (W.P.), VAN VUUREN (S.P.) et VAN WYNGAARDT (W.). 1984.
Comparative evaluation of gentisic acid and gentisoyl-B-D-glucose as markers for the identification of Citrus greening disease.
in : *Greening Symposium CSFRI Ed.*, 14 p.
- BURNETT (H.C.), NEMEC (S.) et PATTERSON (M.). 1982.
A review of Florida Citrus blight and its Association with soil edaphic factors, nutrition and *Fusarium solani*.
Tropical Pest Management 28 (4), 416-422.
- CADET (Th.). 1977.
La végétation de l'île de la Réunion.
Etude phytocologique et phytosociologique.
Thèse d'Etat, 360 p., 62 fig., 19 tabl., 5 pl. photos.
- CALAVAN (I.C.), PRATT (R.M.), LEE (B.W.) et HILL (J.P.). 1968.
Tristeza related to decline of orange trees on citrange rootstocks.
Citrograph, 53 (3), 75-84, 88.
- CALAVAN (E.C.), OLSON (E.O.) et CHRISTIANSEN (D.W.). 1972.
Transmission of the stubborn pathogen in citrus by leaf piece grafts.
in : *5e Conférence de l'IOCV*, p. 11-14.
- CAPOOR (S.P.). 1960.
Kagzi lime : an indicator plant of the Citrus decline virus in India.
India Phytopath., 14, 109-112.
- CAPOOR (S.P.), RAO (G.) et VISWANATH (S.M.). 1967.
Diaphorina citri Kuwayama, a vector of the greening disease of Citrus in India.
India Journal Agric. Sci., 35, 572-576.
- CAPOOR (S.P.), RAO (D.G.) et VISWANATH (S.M.). 1974.
Greening disease of Citrus in the Deccan Trap country and its relations with the vector *Diaphorina citri* KUW.
In W.C. PRICED Ed. : 5th Confer. of IOCV Univ. Florida Press Gainesville, p. 139-43.
- CASSIN (J.). 1973.
L'embryonie nucellaire chez les agrumes.
Revue horticole. Soc. Nat. Hort. de France, n° 2310 p. 362-369.
- CATLING (H.D.). 1968.
Distribution and biology of *Diaphorina citri* the insect vector of leaf mottling (greening) disease of Citrus.
Report to the Government of Philippines - UNDP, FAO, n° 2589, 16 p.
- CATLING (H.D.). 1970.
Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*.
FAO Plant Prot. Bull. 8 (1), 8-15, 2 fig.
- CATLING (H.D.). 1973.
Results of a survey for psyllid vectors of Citrus greening disease in Reunion.
FAO Plant Protection Bull. n° 4, p. 78-82.
- CATLING (H.D.) and ATKINSON (P.R.). 1974.
Spread of greening by *Trioza erytreae* (Del Guercio) in Swaziland.
in : *Proceedings of the 6th Conference of the International Organization of Citrus virologists. L.C. WEATHERS and M. COHEN Ed.*, p. 33-39.
- CELINO (C.S.), SALIBE (A.A.) et CORTEZ (R.E.). 1966.
Diaphorina citri Kuwayama, the insect vector for the leaf mottle virus of citrus in the Philippines.
Bureau of Plant Industry Manila Philippines.
- CHAGAS (C.M.). 1973.
A associação do acaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) a mancha anular do cafeeiro.
O Biológico, 39, 229-232.
- CHAKRABORTY (N.K.), PANDEY (P.K.), CHATTERJEE (S.M.) et SINGH (A.B.). 1975.
Host preference in *Diaphorina citri* Kuwayama vector of greening disease in Citrus in India.
Ind. Journ. of Ent., 38 (2), 196-197.
- CHAO (H.Y.), CHIANG (Y.H.), LEE (S.L.), CHIU (C.S.) et SU (W.F.). 1979.
A preliminary study on the relation between the prevalence of the Citrus Yellow Shoot (*huanglung*

- bin) and the citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama.
Acta phytopathologica sinica a (2), 121-126.
- CHAPMAN (H.D.), LIEBIG (G.F.) et PARKER (E.R.). 1939.
Manganese studies on California soils and Citrus symptoms of deficiency.
Calif. Citrog., 24, p. 427-454 et 25, p. 11-15.
- CHAPMAN (H.D.). 1960.
Criteria for the diagnosis of nutrient status and guidance of fertilization and soil management practices.
Calif. Agric. Exp. Sta. Ext. Serv. Manual 25, 53 p.
- CHAPMAN (H.D.). 1968.
The mineral nutrition of Citrus,
in : *Citrus Industry*, vol. II, Ed. Reuther, Batchelor and Webber, p. 127-289.
- CHAPMAN (H.D.). 1981.
Mineral deficiencies and excesses.
in : *Description and illustration of Virus and Virus-like diseases of Citrus a collection of slides*.
Ed. SETCO-IRFA, second édition.
- CHAPOT (H.). 1970.
The possibilities of improving and developing fruit crops with particular reference to Citrus.
Inst. of Agric. Res. FAO Report of Ethiopia.
- CHEN (T.Y.), SHEN (C.Y.), TAO (S.C.), KUNG (T.H.), CHEN (N.W.) et TAI (Y.M.). 1979 (a).
Studies on the pathogens of *huanlung bing* (Citrus yellow shoot disease).
3. Mycoplasma like organism associated with *Huanglung bin* in Kwantung.
Acta Biochimica Biophysica Sinica, 11 (2), 191-192.
- CHEN (T.Y.), SHEN (C.Y.), TAO (S.C.), KUNG (T.H.), CHAO (H.Y.), CHIANG (Y.H.) et CHIU (C.S.). 1979 (b).
Mycoplasma-like organisms associated with *huanlung big* in Kwangxi.
Acta Biochimica Biophysica Sinica, 11 (4), 389-391.
- CHEN (M.), MIYAKAWA (T.), MATSUI (C.). 1971.
Citrus likubin pathogens in the salivary glands of *Diaphorina citri*.
Phytopathology, 63, 194-195.
- CHIU (R.J.) et TSAI (M.Y.). 1977.
Tree transfusion with tetracycline as a measure for citrus Likubin control.
Seminar on Plant Diseases caused by mycoplasma-like organisms. Tokyo 29 nov.-4 Dec.
- CHUNG KE. 1983.
Le greening en Chine continentale.
Comm. présentée à la 9e Conférence de l'IOCV (abstracts).
- COHEN (M.). 1974.
Diagnosis of young tree decline blight and sandhill decline of Citrus by measurements of water uptake using gravity injection.
Plant. Dis. Rep., 58, p. 801-805.
- COHEN (M.), PELOSI (R.R.) et BRLANSKY (R.H.). 1983.
Nature and location of xylem blockage structures in trees with Citrus blight.
Phytopathology, 73 (8), 1125-1130.
- COLENO (A.). 1979.
Les antibiotiques en agriculture.
Phytoma Défense des cultures, n° 11, p. 23.
- COODE (M.J.E.). 1979.
Flore des Mascareignes.
65. Rutacées.
in : *Flore des Mascareignes, la Réunion, Maurice, Rodrigues*.
MSRI, ORSTOM. *Kew Bol., Gardens Editeurs*.
- CRAWFORD (D.L.). 1919.
The jumping plant lice of Palaeotropics and South Pacific islands Family Psyllidae or Chermidae.
Homoptera.
Philipp. J. Sci., XV, 139-208.
- DANEL (N.). 1982.
Nature bactérienne de l'agent associé à la maladie du greening des agrumes.
Rapport de DEA, Université de Bordeaux II, 27 p.
- DE BACH (P.), ROSEN (D.) et KENNETT (C.E.). 1971.
Biological control of coccids by introduced natural enemies.
Biological control (ed. C.B. Huffaker) Plenum Press 165.
- DE LANGE, VINCENT (A.P.) et NEL (M.). 1984.
Breeding for resistance to greening disease in Citrus.
in : *Symposium on Greening CSFRI Nelspruit ed.* 18 p.
- DEL GUERCIO (G.). 1918.
Il cecidio delle foglie del limone ed il suo cecidooza in Eritrea.
Agric. colon., 12, 167-169.
- DICKSON (R.C.), JOHSON (M.), FLOCK (R.A.) et LAIRD (E.F.). 1956.
Flying aphid populations in Southern California Citrus groves and their relation to the transmission of the tristeza virus.
Phytopathology, 46, 204-210.
- DOI (Y.), TERANAKA (M.), YORA (K.) et ASUYAMA (H.). 1967.
Mycoplasma or PLT group-like microorganism found in the phloem elements of plant infected with mulberry dwarf potato witches broom aster yellows or Pawlownia witches broom.
Ann. Phytopatho. Soc. Japan, 33, 259-266.
- DOMENECHINI (G.). 1965.
Tetrastichini (Hymenoptera Eulophidae) palcartici e i loro ospiti.
Boll. Zool. Bachic., 6, 61-204.
- DUNCAN (F.) et GARNETT (H.). 1984.
Serological studies of the greening organism.
in : *Symposium sur le Greening CSFRI Nelspruit ed.*, 8 p.
- EBELING (W.). 1959.
Subtropical fruit pests.
University of California, Los Angeles.
- ETIENNE (J.). 1975.
Lutte biologique contre les psylles vecteurs de la maladie du greening.
Rapport IRAT-Réunion, p. 5-10.
- ETIENNE (J.) et VILARDEBO (A.). 1978.
Notes sur les principaux ravageurs des agrumes à l'île de la Réunion.
Fruits, 33 (12), 873-876.

- ETIENNE (J.). 1978.
Contrôle biologique à la Réunion de *Trioza erytrae*
Homopt. Psyllidae au moyen de *Tetrastichus dryi*
(Hym. Eulophidae).
Fruits, 33 (12), 877-882.
- ETIENNE (J.) and AUBERT (B.). 1980.
Biological control of Psyllid Vectors of greening dis-
ease on Reunion Islands.
in : *Proceedings 8th Conference of International
Organization of Citrus Virologists.*
E.C. CALAVAN, S.M. GARNSEY, L.W. TIMMERS
ed., p. 118-121.
- FAN (H.C.) et LIU (C.C.). 1965.
The insect vector and indicator plants of the
citrus yellow shoot disease.
Acta Phytophylactica Sinica, 4 (3), 219-224.
- FAWCETT (H.S.). 1936.
Citrus diseases and their control.
Mc Graw-Hill Book Co. Inc., p. 188-202.
- FAWCETT (H.S.) et WALLACE (J.M.). 1946.
Evidence of virus nature of citrus quick decline.
Calif. Citrograph, 32 (50), 88-89.
- FELDMAN (A.W.) et HANKS (R.W.). 1969.
The occurrence of a gentisic glucoside in the bark and
albedo of virus infected citrus trees.
Phytopathology Sc., 603-606.
- FEREIRRA DE MELLO (O.), ROSSETTI (V.) et
DE CONTI (E.). 1974.
Application of the fluorescent test to Citrus affected
by virus and virus like diseases.
Comptes rendus de la 6e Conférence de l'IOCV
L.G. WEATHERS and M. COHEN, ed., p. 191-197.
- FILER (T.H.). 1973.
Pressure apparatus for injecting chemicals into trees.
Plant Dis. Repr., 57, 338-341.
- FRASER (L.R.), SINGH (D.), CAPOOR (S.P.) and
NARIANI (T.K.). 1966.
Greening virus, the likely cause of Citrus dieback in
India.
FAO Plant Prot., Bull. 14, 127-130.
- FUDL-ALLAH (A.E.S.A.), CALAVAN (C.E.) and
IGWEBE (E.C.K.). 1972.
Culture of mycoplasma like organism associated with
stubborn disease of citrus.
Phytopathology, 62, 729-731.
- FUSEE AUBLET. 1775.
Notes pour servir à l'Histoire naturelle de l'Isle de
France
in : *Histoire des plantes de la Guiane Française.*
Tome second, p. 129-160.
- GAILLARD (J.P.). 1985.
Recherche agronomique et productions fruitières à
la Réunion.
Document IRFA-CIRAD, Paris, 65 p.
- GARNETT (H.M.). 1984.
Isolation of the greening organism.
in : *Symposium on greening CSFRI, Nelspruit ed.*
4 p.
- GARNIER (M.), LATRILLE (J.) and BOVE (J.M.).
1976.
Spiroplasma citri and the organism associated with
likubin : comparison of their envelope system.
in : *Proc. 7th Conf. IOCV, Riverside*, p. 13-17.
- GARNIER (M.) and BOVE (J.M.). 1977.
Structure trilamellaire des deux membranes qui
entourent les organismes procaryotes associés à la
maladie du greening des agrumes.
Fruits, 32 (12), 749-752.
- GARNIER (M.), MOLL (J.N.) and BOVE (J.M.). 1983.
Transmission of the organism associated with citrus
greening disease from Citrus to periwinkle (*Vinca
rosea*) by dodder (*Cuscuta campestris*).
Compte-rendu du 9e Congrès de l'IOCV (abstracts).
- GARNIER (M.), DANIEL (N.) and BOVE (J.M.). 1984.
The greening organism is a gram negative bacterium
Comptes rendus de la 9e Conférence de l'IOCV,
S.M. GARNSEY, L.W. TIMMER and J.A. DODDS
ed., p. 115-124.
- GARNIER (M.), DANIEL (N.) and BOVE (J.M.). 1984.
Aetiology of citrus greening disease.
Annales Microbiologie, Institut Pasteur, vol. 135 A
169-179.
- GARNIER (M.), MARTIN-GROS (G.) et BOVE (J.M.)
(1988).
Monoclonal antibodies against the bacterial-like
organism associated with Citrus greening disease
(*sous presse*).
- GAZAVE (J.M.). 1977.
Le complexe vitaminique C contenu dans les fruits
Fruits, 32 (4), 275-284.
- GENTRY (J.W.). 1965.
Crop insects of Northeast Africa - Southwest Asia.
Agric. Handb. US Dept. of Agric. (273), 210 p.
- GHESEQUIERE (J.). 1958.
Le premier oviparasite de psylle et son hôte *Trioza
erytrae* (DEL GUERCIO) au Congo Belge.
Proc. Xth Int. Congr. Ent., 1, 1956, 275-280.
- GHOSH (S.P.), VERNA (A.N.) and GOVINO (S.). 1978.
Decline position, productivity and occurrence of
greening disease.
in : *Mandarin Orange of North Eastern Hills.*
- GHOSH (S.), GIANNOTTI (J.) et LOUIS (C.). 1977.
Multiplication intensive des procaryotes associés aux
maladies de type greening des agrumes dans les cellu-
les criblées de la Cuscute.
Ann. Phytopathol., 9, 525-530.
- GHUYSEN (J.M.) and SHOCKMAN (G.D.). 1973.
Biosynthesis of peptidoglycan.
in : *L. Leive ed.*, p. 37-130.
Bacterial membranes and walls, M. Dekker, N.Y.
- GIBBONS (N.E.) and MURRAY (R.G.E.). 1979.
Proposals concerning the higher taxa of bacteria.
Intern. J. Sst. Bacter., 28 (1), 1-6.
- GRACA (J.V.) da and Van VUUREN. 1979.
A decline of Citrus in South Africa resembling young
tree decline.
Plant Dis. Repr., 63, 901-903.
- GREEN (G.C.) and CATLING (H.D.). 1971.
Weather-induced mortality of the citrus psylla *Trioza
erytrae* (Del Guercio) a vector of greening virus, in
some citrus producing areas of southern Africa.
Agr. Meteorol., 8, 305-317.

- GUILLAUMIN (D.). 1980.
La pratique du microscope électronique à balayage en biologie.
Technique de laboratoire n° 3, Masson, Paris.
- HAYAT (Moh.). 1981.
Taxonomic notes on Indian Encyrtidae (Hym. : Chalcidoidea). II.
Journal of Natural History, 15, p. 17-20.
- HELBURG (L.B.), SCHOMAKER (M.E.) and MORROW (R.A.). 1973.
A new trunk injection technique for systemic chemicals.
Plant Dis. Reprt., 57 (6), 514-514.
- HODKINSON (T.D.). 1980.
Present day distribution patterns of the *Holarctic psylloidea* (Homoptera : Insecta) with special reference to the origin of the Nearctic fauna.
Journal of Biogeography, 7, 127-146.
- HODKINSON (I.D.) and WHITE (I.M.). 1981.
The neotropical Psylloidea (Homoptera : Insecta) an annotated check list.
Journal of National History, 15, 491-523.
- HOFFMANN (W.E.). 1936.
Diaphorina citri Kuw. (Homoptera : Chermidae) a citrus pest in Kwangtung.
Lingnan Sci. J., 15, 127-132.
- HOLLIS (D.). 1984.
Afrotropical jumping plant lice of the family Trioziidae (Homoptera : Psylloidea).
Entomology series vol. 49, Bull. of the British Museum of Natural Histories, 102 p.
- HOLLIS (D.). 1987.
A new Citrus-feeding psyllid from the Comores Islands with a review of the *Diaphorina amoena* species group (Homoptera : Psyllidae).
Systematic Entomology, (1), 5 p.
- HUET (R.). 1982.
Constituants des agrumes à effet pharmacodynamique : les citroflavonoïdes.
Fruits, 37 (4), 267-271.
- HUMAN (N.B.) et BEDFORD (E.C.G.). 1985.
Verwantskap tussen weersfaktore die voorkoms van sitrusbladvlooi *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO) (Hemiptera : Trioziidae) by Rustenburg vir 1978 tot 1982.
Subtropica, 6, 19-23.
- HUSAIN (M.A.) and NATH (L.D.). 1924.
The life history of *Tetrastichus radiatus* parasitic on *Euphalerus citri* Kuw. and its hyperparasite.
Rep. Proc. 5th Ent. Meet. Fusa, 122-128.
- HUSAIN (M.A.) et NATH (L.D.). 1927.
Citrus psylla *Diaphorina citri* Kuw.
Mem. Dept. Agric. (Ent. Serv.), 10 (2), 5-27.
- IGWEBE (E.C.K.) and CALAVAN (E.C.). 1970.
Occurrence of mycoplasma like bodies in phloem of stubborn infected citrus seedlings.
Phytopathology, 60, 1525-1526.
- ISHIL (T.Y.), DOI (K.), YORA (H.) and MUSAYAMA 1967.
Suppressive effect of tetracycline group on symptom development of mulberry dwarf disease.
Ann. Phytopath. Soc. Japan, 33, p. 267-275.
- JENICEK et CLEROUX (R.). 1983.
Epidémiologie, principes, techniques, application.
Edisem Quebec, Maloine Paris Editeurs, 450 p.
- KALOOSTIAN (G.H.). 1980.
Psyllids.
in : *Vectors of plant pathogens USA New York Academic*, 87-91.
- KALOOSTIAN (G.H.) and YEDMANS (M.S.). 1944.
A sticky board trap used in scouting for pear psylla.
U.S. Dept. Ag. Bull. Ent. and plant QUER et 200, 6 p.
- KE (S.), LI (B.), KE (C.) et TSAI (T.H.). 1987.
Transmission of Huanglungbing agent from Citrus to periwinkle by Dodder.
In : *Proceedings of the 10th IOCV Conference (in press)*.
- KE CHUNG et WANG ZHI SHENG. 1987.
A study on the use of antibiotics to control Citrus Huanglungbin.
Bull. Acad. Agric. Sci. of Fujian, p. 10-15.
- KITAJIMA (E.W.), SILVA (D.M.), OLIVEIRA (A.R.), MULLER (G.W.) and COSTA (A.S.). 1964.
Thread-like particles associated with tristeza disease of citrus.
Nature, 201, 1011-1012.
- KITAJIMA (E.W.), MULLER (G.W.), COSTA (A.S.) and YUKI (W.). 1972.
Short, rod-like particles associated with citrus leprosis
Virology, 50, 254-258.
- KNORR (L.C.), GUPTA (O.P.) and AHMAD (S.). 1970.
Occurrence of greening virus disease of Citrus in West-Pakistan.
Plant Disease Reporter Beltsville, 54 (7).
- KNORR (L.C.) et MOIN SHAW (S.). 1971.
Les problèmes agrumicoles dans le monde. Vol. Nepal.
FAO Plant Prot. Bull., vol. 19, p. 4.
- KOIZUMI (M.). 1983.
Diagnostic aspects of Citrus diseases in Bangla Desh, emphasizing overwhelming prevalence of greening disease.
in : *Report on the Citrus research works at Citrus and vegetable seeds research Centre Dhaka. Japan. International Cooperation Agency editor*, p. 31-57.
- KOEN (T.J.) and LANGENEGGER (W.). 1978.
Effect of greening virus on the macro-element content on citrus leaves.
Farming in South Africa, n° 392, p. 1.
- KOTZE (J.M.). 1984.
Epidemiology of Citrus greening.
in : *Comptes rendus du Symposium Greening CSFRI Nelspruit ed.*, 8 p.
- LAFLECHE (D.) et BOVE (J.M.). 1970 (a).
Mycoplasmes dans les agrumes atteints de greening, de stubborn ou de maladies similaires.
Fruits, 25 (6), 455-465.
- LAFLECHE (D.) et BOVE (J.M.). 1970 (b).
Structures de type mycoplasme dans les feuilles d'orangers atteints de la maladie du greening.
C.R. Acad. Sci. Ser. D., 270, 1915-1917.
- LAING (F.). 1923.
On some psyllidae (Hem-Hom) from the New World

- Annals and Magazine of Natural History* (a) 11, 696-705, 7 fig.
- LAL (K.B.). 1934.
Insect parasites of Psyllidae.
Parasitology, 26, 325-334.
- LALLEMAND (J.), FOS (D.) et BOVE (J.M.). 1986.
Transmission de la bactérie associée à la forme africaine de la bactérie du greening par le psylle asiatique *Diaphorina citri* KUW.
Fruits, 41 (5), 341-343.
- LAVABRE (M.E.). 1960.
Présence au Cameroun du psylle des Citrus *Trioza (Spanioza) erytrae* Del Guercio.
J. Agric. trop. Bot. Appl., 7, 132-134.
- LAVIGNE (G.L.). 1957.
Diaphorina citri Kuwayama 1908 (Homoptera, Psyllidae) Praga dos citrus na Bahia, Brasil
Bolm. Inst. Biol. Bahia, 1, p. 3-5.
- LEE (R.F.), MARAIS (L.J.) and BRLANSKY (R.H.). 1984.
A survey of citrus blight in South Africa.
in : *9th Compte rendu de l'IOCV*, S.M. GARNSEY, L.W. TIMMER and A. DODDS ed., p. 270-278.
- LE PELLEY (R.H.). 1959.
Agricultural insects of East Africa.
East African High Commission Nairobi.
- LECLANT (F.), MARCHOUX (G.) and GIANNOTTI (J.). 1974.
Evidence of the role of the psylla *Trioza nigricornis* as a vector in the transmission of a proliferation disease of *Daucus carota*.
C.R. Acad. Sci. Ser. 278, 1, 57-59.
- LIMA (A.M.), Da COSTA. 1942.
Insetos do Brazil.
3e tomo : Homopteros
Esc. Nac. Agronomia Min. Agric., p. 101.
- LIN (K.H.). 1956.
Observations on yellow shoot of Citrus.
Etiological study of yellow shoot of Citrus.
Acta Phytopathologica Sinica, 2, p. 1-42.
- LIN (S.J.), CHIA CHU TAO. 1972.
A new *Psyllaephagus* Ashmed parasitizing *Diaphorina citri* Kuwayama in Taiwan China.
Quarterly J. of Taiwan Museum.
- LIN (C.) and LIN (K.M.). 1964.
Notes on Citrus Yellow disease.
Acta Phytopath. Sinica Pekin, 2 (3), p. 237-242 and 243-251.
- LOUNSBURY (C.P.). 1897.
Psyllidae or jumping plant lice. Citrus psylla.
Report of the Government Entomologist. Cape of Good Hope, 1896, 115-118, 2 fig.
- MAC CLEAN (A.P.P.) and OBERHOLZER (P.C.J.). 1965.
Citrus psylla, a vector of the greening disease of sweet orange.
S. afric. J. agric. Sci., 8, p. 297-298.
- MAC CLEAN (A.P.D.). 1970.
Greening or blotchy-mottle disease of Citrus.
Phytophylactica, 2, 177-194.
- MAC DANIEL (J.R.) and MORAN (V.C.). 1972.
The parasitoid complex of the citrus psylla *Trioza erytrae* (Del Guercio) (Homoptera : Psyllidae).
Entomophaga, 17, 297-317.
- MADDEN (L.V.), LOVIE (R.), ABT (J.J.) and KNOKE (K.). 1982.
Evolution of tests for randomness of infected plants.
Phytopathology, 72 (2), 195-198.
- MARAIS (L.J.) et REA (M.). 1984.
Transmission of greening disease by various methods of inoculation.
in : *C.R. Greening Symposium CSFRI Nelspruit ed.*
- MARCHAL (J.) et LACOEUILHE (J.J.). 1969.
Bilan minéral du mandarinier Wilking : influence de la production et de l'état végétatif de l'arbre sur sa composition minérale.
Fruits, 26 (6), 299-318.
- MARKHAM (P.G.), TOWNSEND (R.), BAR-JOSEPH (M.), DANIELS (M.J.), PLASKITT (A.) et MEDDINS (B.M.). 1974.
Ann. Appl. Biol., 78, 49-57.
- MARTIN (J.H.). 1982.
Collection and preparation of Psyllidae for microscopical study.
British Museum (Natural History) Londres, 2 p.
- MARTINEZ (A.L.) and WALLACE (J.M.). 1967.
Citrus leaf-mottle yellows disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid : *Diaphorina citri*.
Plant Disease Reporter, 51 (8), 692-695.
- MASSONIE (G.), GARNIER (M.) and BOVE (J.M.). 1976.
Transmission of India Citrus decline by *Trioza erytrae* (Del Guercio), the vector of South Africa greening.
In : E.C. CALAVAN. *Proc. 7th Conf. intern. Organization Citrus Virol., Univ., California, Riverside*, p. 18-20.
- MATHUR (R.N.). 1975.
Psyllides of Indian Subcontinent.
Indian Council of Agricultural Research New Delhi, 429 p.
- MATSUMOTO (T.), WANG (M.C.) and SU (H.J.). 1961.
Studies on Likubin
in : W.C. Price (ed.) *Proc. 2nd Conf. intern. Organiz. Citrus Virol. Univ. Florida press, Gainesville*, p. 121-125.
- MATSUMOTO (T.) and SU (H.J.). 1966.
Likubin or Huanglungbin citrus disease closely related to Trizteza.
J. Agric. Ass. China, n° 66, p. 76-86.
- MENEGHINI (M.). 1946.
Sobre a natureza e transmisibilidade do doença tristeza dos citrus.
O Biologico, 12, 285-287.
- MIYAKAWA (T.) and MATSUI (C.). 1984.
Psyllid transmission of the causal agent of Likubin (Citrus Greening Disease) to Citrus and *Murraya paniculata*.
Report of Research Okitsu Station, 4 p.

- MOLL (J.N.) and MARTIN (M.N.). 1973.
Electron microscopy evidence that citrus psylla *Trioza erythrae* (Del Guercio), is a vector of greening disease in South Africa.
Phytophylactica Sp., 41-44.
- MOLL (J.N.) and MARTIN (M.N.). 1974.
Comparison of the organism causing greening disease with several plant pathogenic gram-negative bacteria, rickettsialike organisms and mycoplasma-like organisms.
Colloq. Inst. Natl. Sante Rech. Med. (INSERM), 33, 89-96.
- MOLL (J.N.) and VAN VUUREN (S.P.). 1977.
Greening disease in Africa.
Proc. Intern. Soc. Citriculture, 1977, vol. III.
- MORAN (V.C.). 1968.
Preliminary observations on the choice of host plants by adults of the citrus psylla *Trioza erythrae* (Del Guercio) (Homoptera : Psyllidae).
J. ent. Sh. Afr., 31 (2), 403-410.
- MORAN (V.C.) and BLOWERS (J.B.). 1967.
On the biology of the South african Citrus psylla *Trioza erythrae* (Del Guercio) (Homoptera : Psyllidae).
J. ent. Soc. Sth. Afric., 30 (1), 96-105.
- MOREIRA (S.). 1967.
Enquête sur les maladies des agrumes, îles Maurice et de la Réunion.
Bull. Phyt. FAO, 15, 54-60.
- MYARTZEVA (S.N.) and TRJAPITZIN (A.). 1978.
Aphidencyrthus diaphorinae (Hymenoptera Encyrtidae) a parasite reared from *Diaphorina citri* in Vietnam.
Bulletin Zoologie Moscou, 1978.
- NAVARRO (L.), ROISTACHER (C.N.) and MURASHIGE (J.). 1975.
Improvement of shoot-tip grafting *in vitro* for virus-free citrus.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 100, 471-479.
- NAVARRO (L.), DINA (J.A.), BALLESTER (J.F.), MORENO (P.) and CAMBRA (M.). 1984.
A new graft transmissible disease found in Nagami Kumquat.
C.R. 9e Conférence de l'IOCV, p. 234-240.
S.M. GARNSEY, L.W. TIMMER and J.A. DOODS Ed.
- NICOLI (M.). 1984.
La régénération des agrumes en Corse par la technique du microgreffage des méristèmes «in vitro».
Diplôme d'Etudes supérieures, Université de Bordeaux I, 40 p.
- NIKOLSKAYA. 1952.
Faune des chalcidiens de l'URSS Chalcidoidea.
Acad. Sc. URSS, Ed. Moscou et Leningrad, 44, 574 p.
- NOYES (J.) and HAYAT (M.). 1984.
A review of the genera of Indo-Pacific Encyrtidae (Hymenoptera : Chalcidoidea).
Bulletin of the British Museum.
- NYLAND (G.) and SACHS (R.). 1974.
Control aspects of plant mycoplasma diseases chemotherapy in the field.
in : *Compte rendu INSERM : Les mycoplasmes de l'homme, des animaux, des végétaux et des insectes, Bordeaux ed. J.M. BOVE*, p. 235-242.
- OBERHOLZER (P.J.C.), VON STANDEN (D.F.A.) and BASSON (W.T.). 1965.
Greening disease of sweet orange in South Africa in : *PRICE (Ed.) Proc. 3th Conf. intern. Organization Citrus Virol*, p. 213-224.
- ONILLON (J.C.). 1967.
Contribution à l'étude d'une association parasitaire *Trioza urticae* L. (Homoptera-Psyllidae) et son parasite *Tetrastichus upis* Walk (Hymenoptera Chalcidoidea-Tetrastichidae).
Thèse n° 554, Toulouse, 78 p.
- ORIAN (A.). 1972.
Fauna of Mauritius Insecta Homoptera.
The psylloidea of Mauritius with a description of Trioza eastopi sp. nov., 8 p., 10 plates.
- PANDE (Y.D.). 1971.
Biology of Citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw. (Homoptera : Psyllidae).
Israel Journal of Entomology, vol. VI, p. 307-310.
- PETTEY (F.W.). 1923.
A new species of psyllid.
South African Journal Natural History, 4, 30-33, 6 fig.
- PRATIKYO. 1984.
Citrus industry development program and commodity analysis.
Compte rendu du Symposium de BATU-MALANG BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN JAKARTA.
- PRINSLOO (G.L.) and ANECKE (D.P.). 1979.
A key to the genera of Encyrtidae from the Ethiopian region, with descriptions of three new genera (Hymenoptera : Chalcidoidea).
J. ent. Soc. South Afr., 42, 349-382.
- PRINSLOO (G.L.). 1980.
Annotated records of economically important Chalcidoidea (Hymenoptera) from South Africa.
Phytophylactica, 12, 159-163.
- PRINSLOO (G.L.). 1981.
On the encyrtid parasites (Hymenoptera : Chalcidoidea) associated with psyllids (Hemiptera : Psylloidea) in Southern Africa.
J. ent. Soc. South Afr., 44 (2), 19-244.
- PRINSLOO (G.L.). 1983.
A parasitoid-host index of afrotropical encyrtidae (Hymenoptera : Chalcidoidea).
Entomology memoir Rep. d'Afrique du Sud, Dept. Agriculture, 35 p.
- PRINSLOO (G.). 1984.
An illustrated guide to parasitic wasps associated with citrus pests in the Republic of South Africa.
Bull. n° 402, Dept. Agric. Sci., 119 p.
- PUJOL (A.R.). 1966.
Transmission de psorosis a traves de la semilla de Citrange Troyer.
INTA Centr. Reg. Entr. Est. Agrop. Parana Ser. Tev. N 10, p. 1-7.
- QUILICI (S.), GESLIN (P.) et MANIKOM (R.). 1984.
Vers une lutte intégrée en agrumiculture à la Réunion.
Réunion annuelle IRFA, 10 p.

- RANDOIN (L.) et LECOQ (M.R.). 1927.
Bull. Soc. Chim. Biol., 9, p. 513.
- RIVALS. 1960.
Les espèces fruitières introduites à l'île de la Réunion.
Notes historiques et biologiques.
Imp. Comès, Toulouse, 96 p.
- ROISTACHER (C.N.). 1976.
Tristeza in the Central Valley : a warning.
Citrograph, 62 (1), 15-23.
- RUMPHIUS. 1750.
Herbarii amboinense Amsterdam.
(Exemplaire de la Bibliothèque du Muséum d'Histoire naturelle à Paris).
- SAGLIO (P.), LAFLECHE (D.), BONISSOL (C.) et BOVE (J.M.). 1971.
Isolement, culture et observation au microscope électronique des structures associées à la maladie du stubborn des agrumes et leur comparaison avec les structures observées dans le cas de la maladie du greening des agrumes.
Physiol. Vég., 9, 569-582.
- SALIBE (A.A.) and CORTEZ (R.E.). 1966.
Studies of leaf mottling disease of Citrus in the Philippines.
FAO Plant Prot. Bull., vol. 14, p. 141-144.
- SALLE (G.). 1981.
Some biological aspects of *Viscum album* L.
Proceedings of the 6th Symposium Morphologie Anatomie and Systematik, Ulm (RFA).
- SAMWAYS (M.J.). 1984.
Use of Saturn Yellow traps for monitoring *Trioxa erythrae* (Hemiptera : Trioziidae) and an attempt at commercial suppression using yellow barriers and traps tree.
in : *Symposium on Greening CSFRI Nelspruit ed.* 12 p.
- SCHNEIDER (H.). 1968.
Anatomy of greening-diseased sweet orange shoots
Phytopathology, 58 (8), 1155-1160.
- SCHWARZ (R.E.). 1968 (a).
Indexing and epidemiology of greening and some other Citrus virus disease in South Africa.
Thèse Université de Pretoria, 87 p.
- SCHWARZ (R.E.). 1968 (b).
Indexing of greening and exocortis through fluorescent marker substances.
in : *Comptes rendus de la 4th Conference de l'IOCV, J.F.C. CHILDS ed.*
- SCHWARZ (R.E.). 1968 (c).
Thin layer chromatographical studies an phenolic markers of the greening virus in various citrus species.
S. African Journ. Agr. Sci., 11, 797-801.
- SCHWARZ (R.E.). 1972.
Strains of greening pathogens.
in : *C.R. 5th Conference IOCV. W.C. PRICE Ed.* p. 40-44.
- SCHWARZ (R.E.). 1975.
Citrus greening in Kenya.
Technical report United Nation. D^r Programme FAO, KEN 71/528, 15 p.
- SCHWARZ (R.E.). 1976.
Citrus greening in Ethiopia.
Technical report United Nation Dept. Programme FAO of the UN ETH. 74/002, 15 p.
- SCHWARZ (R.E.). 1978.
Indexing of greening and exocortis through fluorescent marker substance.
in : *CHILDS (ed.). Proc. 4th Conf. inter. Org. Citrus Virologist, University Press, Gainesville Florida*, p. 118-124.
- SCHWARZ (R.E.) et GREEN (G.C.). 1972.
Heat requirement for symptoms suppression and inactivation of the greening pathogen.
in : *W.C. PRICE Ed. Proc. 5th Conf. Intern. of IOCV*, p. 44-46.
- SCHWARZ (R.E.), KNORR (L.C.) and MAITREE PROMMINTARA. 1973.
Greening, cause of a recent decline of Citrus in Thailand.
Plant Protection Service Technical Bulletin n^o 20. Dept. of Agric. Ministry of Agric. and Cooperatives Bangkok, Thailand, UNDP 9 FAO 68/526.
- SCHWARZ (R.E.), MOLL (J.N.) and VAN VUUREN (S.P.). 1973.
Control of Citrus Greening and its psylla vector by trunk injections of Tetracyclines and Insecticides.
Doc. CSFRI, Nelspruit, 10 p.
- SCHWARZ (R.E.), MOLL (J.N.) and VAN VUUREN (S.P.). 1974.
Control of citrus greening and its psylla vector by trunk injections of tetracycline and insecticides.
in : *L.G. Weathers and M. Cohen (eds.). Proc. 6th Conf. intern. Organization Citrus Virologist, Univ. California Division Agricultural Science*, p. 26-29.
- SCHWARZ (R.E.) and VAN VUUREN (S.P.). 1971.
Decrease in fruit Greening of Sweet Orange by trunk injection of Tetracyclines.
Plant Disease Reporter, 55 (8), 747-749.
- SHAFTE (S.A.), ALAM (M.) and AGARWAL (M.M.). 1974.
Taxonomic survey of Encyrtid parasites (Hymenoptera : Encyrtidae) in India.
in : *Indian Insects Types Alig. Publ. Univ. Publ. (Zoll. S) Ind. Ins. Typ S.M. ALAM*.
- SHEPHERD (R.J.), FRANCKI (R.I.B.), HIRTH (L.), HOLLONGS (M.), INOUE (T.), MACLEOD (D. E.), SINHA (R.C.), TREMAINE (J.H.), VALENTA (V.) and WETTER (C.). 1976.
New groups of plant viruses approved by the International Committee on Taxonomy of Viruses, September 1985.
Intervirology, 6, 181-184.
- SHUI-CHEN CHIU, AUBERT (B.) et CHIN-CHIN-CHIEN (1988).
Attempts to establish *Tetrastichus radiatus* WALTERSTON in Taiwan.
Proceedings of the Xth IOCV meeting (under press).
- SMITH (R.E.). 1966.
Leaf analysis of Citrus.

- in : *Horticultura publication*, RUTGERS Somerset Press, p. 208-220.
- SMITH (P.F.). 1974.
Zinc accumulation in the wood of citrus trees affected with blight.
Proc. Fla. State Hort. Soc., 87, 91-95.
- SMITH (J.H.). 1984.
Enhancement of distribution of tetracycline in Citrus trees with enzymes imazalil and nitrate or urea.
in : *Greening Symposium CSFRI Nelspruit S.A. ed.*
- SO PUI-YIP. 1967.
A preliminary list of the insects of agricultural importance.
in : *Hong-Kong Agric. Bull. n° 1, Agr. and Fisheries Dept, Hong Kong.*
- STERRETT (J.P.) and CREAGER (R.A.). 1974.
A miniature pressure injector for deciduous woody seedlings and branches.
Hort Science, 12 (2), 156-158.
- SU (H.J.) and CHANG (S.C.). 1976.
The responses of the *likubin* pathogen to antibiotics and heat therapy.
in : *E.C. CALAVAN (ed.) Proc. 7th Conf. Intern. Organization Citrus Virologist. Univ. Calif. Riverside*, p. 27-34.
- SWINGLE (W.). 1967.
The botany of Citrus.
in : *Citrus Industry, Tome I. W. REUTHER, H.J. WEBER and L.D. BATCHELOR edit.*, p. 190-430.
- TANAKA (S.) and DOI (Y.). 1973.
Mycoplasmalike organism found in Citrus plant infected with *likubin* and leaf mottling.
International Citrus Congress, Murcia, Valencia, Avril 29 Mai 10 1973, p. 352-353.
- TIMMER (L.W.), LEE (R.F.) and ALBRIGO (L.G.). 1982.
Distribution and persistence of trunk injected oxy-tetracycline in blight affected and healthy citrus.
I. Amer. Soc. Hort. Sci.
- THROWER (L.B.). 1959.
Report to the Government of Indonesia on horticultural production and research FAO/ETAP Report 1029 FAO Rome.
- THROWER (L.B.). 1968.
Report on a visit to Thailand.
FAO Report PL. T 52, FAO Rome.
- TIRTAWIDJAJA (S.). 1964.
Citrus vein phloem degeneration virus, a possible cause of citrus chlorosis in Java.
Dissertation BOGOR Inst. of Agri. Indonesia.
- TIRTAWIDJAJA (S.), HADIWIDJAJA (T.) and LASHEEN (M.). 1964.
Citrus vein phloem degeneration virus, a possible cause of Citrus Chlorosis in Java.
Pr. of Am. Soc. Hort. Sci., vol. 86, p. 235-243.
- TIRTAWIDJAJA (S.). 1977.
A possible relationship between stem-pitting and citrus vein phloem degeneration CVPD.
Tropical Agriculture Res., Series n° 10, p. 81-84.
- TIRTAWIDJAJA (S.). 1981.
Insect, dodder and seed transmissions of Citrus vein phloem degeneration CVPD.
Proc. Int. Soc. Citriculture, 469-471.
- TIRTAWIDJAJA (S.), NASLI (E.) and HIDAJAT 1984.
Identification of CVPD in the nursery.
Symposium sur le greening Malang. Badam Penehitan Dan Pengembangan Pertanian, Jakarta.
- URBAN (A.J.). 1976.
Colour vision of the citrus psylla *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Homoptera : Psyllidae) in relation to alightment colour preferences.
PhD Thesis Rhodes University. 150 p.
- USHIYAMA (K.), USUGI (T.) and HIBINO (H.). 1974.
A new citrus virus disease : citrus yellow mottle.
C.R. 9th Conference de l'IOCV. S.M. GARNSEY, L. TIMMER and J.A. DODDS ed., p. 204-210.
- VALMONT DE BOMARE (J.C.). 1764.
Dictionnaire raisonné universel d'histoire naturelle
Lacombe, Paris, 6 vol.
- VAN DEN BERG (M.). 1984.
Introduction of natural enemies against Citrus psyll *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera : Triozidae).
in : *C.R. Symposium Greening CSFRI Nelspruit ed.* 15 p.
- VAN DER PLANCK (J.E.). 1963.
Plant disease : epidemic and control.
Academic Press New York.
- VINSON (A.). 1868.
Le Papilio demoleus.
in : *Album de l'île de la Réunion. Etudes de fruits et de fleurs histoire naturelle, types et physionomies. Portraits historiques. Réédition dirigée par Y. DROUHET*, vol. 5, p. 194-195.
- VOGEL (R.). 1973.
L'amélioration sanitaire des agrumes par indexation.
Rapport de DEA, Université de Bordeaux II, 57 p.
- VOGEL (R.) and BOVE (J.M.). 1974.
Studies of Stubborn disease in Corsica.
in : *Proceedings 6th IOCV. WEATHERS and COHEN ed.*, p. 23-25.
- VOGEL (R.). 1975.
Problèmes phytosanitaires posés à l'agrumiculture réunionnaise.
Doc. IRFA, 16 p.
- VOGEL (R.) et BOVE (J.M.). 1982.
Influence de maladies transmissibles sur le développement et la production du clémentinier en Corse.
Fruits, 37 (4), 229-236.
- WALLACE (R.C.). 1960.
Report on an investigation of agricultural pests in St Helena 1857-1959.
London Colon. Office, 54 p.
- WALLACE (J.M.). 1975 (a).
Vein enation - Woody gall.
in : *Description and illustration of virus and virus-like diseases of Citrus.*
Ed. SETCO-IFAC.
- WANG CHIN LIN. 1981.
Ecological studies of asiatic citrus psyllids (*Diapho-*

- rina citri* K.) with special reference to its spatial distribution.
Jour. Agric. Res. China, 3 (4), 412-419.
- WATERSTON (J.). 1922.
On the Chalcidoid parasites of psyllids (Hemiptera, Homoptera).
Bull. Entomological Research, 13, 41-58.
- WILBURG (O.R.) and BEUTEL (J.A.). 1976.
A pressure machine for injecting trees.
California agriculture, n° 12, p. 4-5.
- WILLIAMS (G.L.) and ALBRIGO (L.G.). 1984.
Some inorganic element changes in trunk phloem of healthy and blight affected citrus trees.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109 (3), 437-440.
- WILSON (K.) and GOLDSMID (J.M.). 1962.
Rhodesian citrus pests control.
Rho. Agric. J., 59, p. 4161.
- WOOLER (A.), PADGHAM (D.) and ARAFAT (A.). 1974.
Outbreaks and new records Saudi Arabia *Diaphorina citri* on citrus.
FAO Plant Prot. Bull., 22 (4), 93-94.
- WUTSCHER (H.K.), CAPPIGLIA (H.G.), HARDESTY (C.) and SALIBE (A.A.). 1977
Similarities between marchitamiento repentino disease in Uruguay and Argentina and blight of Citrus in Florida.
Proc. Fla. State Hort. Soc., 90, 81-84.
- WUTSCHER (H.K.) and HARDESTY (C.). 1979.
Concentration of 14 elements in tissue blight affected and healthy Valencia orange trees.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 104 (1), 9-11.
- WUTSCHER (H.K.), SMITH (P.F.) and BISTLINE (F.). 1982.
Zinc accumulation in the trunk wood and the development of visual symptoms of citrus blight.
Hort Science, 17 (h), 676-677.
- WUTSCHER (H.K.), YOUTSEY (C.O.), SMITH (P.F.) and COHEN (M.). 1983.
Negative results in citrus blight transmission tests.
Proc. Fla. State Hort. Soc., T 6, 48-50.
- WYNIGER (R.). 1962.
Pests of crops in warm climates and their control.
Acta Tropica Suppl. 7, Basel.
- XU (C.F.), XIA (Y.H.), LI (K.B.) et KE (C.). 1988.
Further study on the transmission of Citrus Huanglungbin.
in: Proceedings of the 10th IOCV Conference L.W. TIMMER, S. GARNSEY and A. DODDS ed. (in press).
- YANG-CHI-KUN et LI FA CHENG. 1984.
Nine new species and a new genus of psyllids from Yunnan province.
Entomotaxonomia, 41 (4), 251-266.
- YOKOMI (R.H.), GARNSEY (S.M.), YOUNG (R.H.) and GRIMM (G.R.). 1983.
Spatial and temporal analysis of Citrus blight incidence in Valencia Orange Groves in Central Florida.
Com. présentée au 9th Congrès de l'IOCV (sous presse).
- ZHAO XUE YUAN. 1981.
Citrus yellow shoot disease (*Huanglungbing*) in China: a review.
Proc. Int. Soc. Citriculture, 466-469.