

Maladie à proliférations affectant *Tabernaemontana crassa* Benth.

Transmission par greffe et cuscute. Action de la terramycine

M. DOLLET et J. DUBERN *

Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux, C.N.R.S.,
Station de Recherches de Pathologie comparée, I.N.R.A.,
30380 Saint-Christol-lès-Alès

* Laboratoire de Virologie O.R.S.T.O.M.,
B. P. V. 51 Abidjan, Côte-d'Ivoire

Résumé

En 1972, est apparue en Côte-d'Ivoire, sur *Tabernaemontana crassa* Benth., une maladie à proliférations et jaunissement qui entraîne la mort de l'arbre. Les essais de transmission, par greffe et par cuscute, ont permis de montrer qu'il s'agit d'une maladie d'origine infectieuse.

Les symptômes sur *Vinca rosea* ne s'expriment que dans une gamme étroite de températures élevées. L'agent responsable de cette maladie est sensible à la terramycine, puisque des cas de rémission de la maladie ont été notés après application de cet antibiotique.

I. — Introduction

Tabernaemontana crassa Benth, de la famille des Apocynacées, est implanté en Afrique, du Cameroun à la Sierra Leone (Aubreville, 1959). Cette plante médicinale contient des alcaloïdes et d'autres substances utilisées à des fins thérapeutiques (Bouquet et Debray, 1974). Elle n'avait fait jusqu'en 1972 l'objet d'aucune observation d'ordre pathologique. A cette époque, pour la première fois, nous avons noté sur cette plante d'importantes modifications de l'aspect général, du port et du développement de certains arbres entraînant leur mort.

Plusieurs raisons nous ont incité à rechercher les causes de cette maladie. Parmi celles-ci, il y a la nature même des symptômes qui, chez de nombreux végétaux, ont déjà été mis en relation avec des infections à mycoplasmes, à rickettsies ou comprenant même les deux types de germes (Giannotti *et al.*, 1974). D'autre part *T. crassa* appartient à la même famille que *Vinca rosea*, plante fréquemment infectée naturellement par des mycoplasmes (Ploaie, 1973, observations personnelles) ou des spiroplasmales (Granett *et al.*, 1976) et souvent adoptée comme plante test pour l'étude expérimentale

88 M O. R. S. T. O. M.

Collection de Références

22 DEC. 1978

n° — 9487P2A

des maladies de type jaunisse. Enfin, *T. crassa* a une aire de répartition qui coïncide avec celle de plusieurs cultures industrielles comme le Caféier, le Cacaoyer, le Palmier à huile ou le Cocotier, qu'affectent parfois des maladies graves, d'étiologie inconnue ou encore insuffisamment précisée. Ce dernier cas concerne en particulier une jaunisse à dépérissement mortel qui frappe les cocotiers dans cette zone et pour laquelle la présence de microorganismes de type mycoplasme a été récemment mise en évidence (Dollet et Giannotti, 1976). Nous avons donc envisagé l'étude expérimentale de la maladie affectant *T. crassa* par des essais de transmission, l'observation de l'action des antibiotiques et en suivant l'évolution symptomatologique des plantes infectées naturellement ou expérimentalement.

II. — Matériel et méthodes

A. — Inoculations mécaniques

L'inoculum est préparé à partir de petites feuilles prélevées sur les bouquets proliférants. Les inoculations ont été réalisées selon des modalités précédemment décrites (Thouvenel *et al.*, 1976). Pour certaines inoculations, 2,5 p. 100 de nicotine base ont été additionnés au tampon. Des plantes saines inoculées avec du tampon seul constituent les témoins.

B. — Greffes

Elles sont réalisées à partir de greffons prélevés sur des sujets sains et malades, sur des *T. crassa* ou sur des *V. rosea* issus de semis, de 20 cm de hauteur.

Pour *T. crassa*, elles sont effectuées en fente terminale (neuf essais) ou latérale (six essais). Pour *V. rosea* trente-cinq greffages ont été effectués en fente terminale. Les plantes greffées sont laissées d'abord à 25 °C pendant une semaine puis exposées à une température de 25 à 35 °C.

C. — Transmission par cuscute

Après germination en chambre humide, des plantules de *Cuscuta subinclusa* sont mises en contact avec de jeunes *V. rosea* sur lesquels elles se développent. Après une croissance convenable, des fragments de tige de la cuscute sont placés sur un *T. crassa* malade. Trois semaines environ après l'installation des premiers haustoria, des segments de cuscute sont ramenés sur les plantes test. Quatorze essais de transmission sont ainsi conduits, les cuscutes de départ maintenues sur des plantes saines servant de témoins.

D. — Traitements à la terramycine

La terramycine (oxytétracycline H-Cl) a été choisie en fonction de son efficacité vis-à-vis des micro-organismes de type mycoplasme chez les végétaux (Cousin et Staron, 1969). Elle est utilisée à la dose de 1 000 ppm, soit par trempage des racines, soit par injection (Schwarz, 1974)



FIG. 1. — *T. crassa* avec proliférations, 1 an après l'apparition des premiers symptômes.
A l'arrière-plan à gauche, arbre sain.

T. crassa with proliferations, one year after the appearance of first symptoms.
In the background left, healthy tree.

Deux types d'essais ont été réalisés. Le premier est conduit en plusieurs temps sur trois pieds malades. Tout d'abord, les plantes absorbent en 24 h par gravitation, 1,8 ml de solution d'antibiotique. 15 j plus tard, elles sont soumises à un trempage des racines pendant 12 h dans la solution, enfin un mois plus tard, 1,2 à 1,6 ml d'antibiotique sont injectés à chaque plante en cinq ou six points d'injection répartis sur le tronc. Le deuxième essai consiste, pour huit *T. crassa* malades, en des injections de 1,5 à 2 ml de solution de terramycine, répétées quatre fois à un mois d'intervalle. Dans chacun des essais, trois *T. crassa* malades traités à l'eau distillée constituent les témoins.

III. — Résultats

A. — Symptomatologie sur *Tabernaemontana crassa*

A côté d'arbres gardant l'aspect normal avec une ramification strictement acroton (Prévost, 1969), on observe sur d'autres une multiplication anarchique d'axillaires évoluant en proliférations rabougries. Leur distribution est irrégulière depuis la base du tronc jusqu'aux derniers articles de la ramure. On remarque en même temps l'apparition de taches chlorotiques évoluant vers un jaunissement total des feuilles. Les proliférations portent des feuilles allongées et pointues de 2 à 10 cm de long et de 1 à 3 cm de large alors que les feuilles normales atteignent 30 à 40 cm de long et 20 à 25 cm de large (fig. 1). La croissance est arrêtée et les proliférations se dessèchent progressivement depuis le haut de l'arbre vers le bas, tandis que les branches deviennent creuses et que de nombreux bouquets proliférants peuvent apparaître à la base du tronc.

Entre l'apparition des premiers symptômes et la mort de l'arbre s'écoule une période d'environ trois ans.

B. — Inoculations mécaniques

Les essais de transmission de *T. crassa* à *T. crassa* sont restés négatifs.

Des inoculations mécaniques ont été réalisées sur différentes plantes : *Amaranthus caudatus*, *Beta vulgaris*, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. murale*, *Cucumis sativus*, *Cassia occidentalis*, *Vigna sinensis*, *V. cylindrica*, *Datura metel*, *D. stramonium*, *Nicotiana tabacum* Xanthi, *N. tabacum* Samsun, *N. glutinosa*, *N. clevelandii*, *Physalis alkekengii* et *Vinca rosea* ; aucun symptôme n'est apparu sur chacune de ces plantes.

C. — Transmission par greffe

1. — Transmission à *T. crassa*.

Sur les seize tentatives de transmission, douze sont positives : sept pour les greffes terminales, cinq pour les latérales. Dans les deux cas, les premiers symptômes apparaissent au bout de deux mois sur les feuilles. Celles-ci présentent des déformations

tandis que se développent des taches jaunes diffuses. Puis, le jaunissement s'étend à la feuille entière. Les premiers bourgeons proliférants apparaissent entre cinq et sept mois après la greffe et l'aspect proliférant caractéristique est obtenu en 10 à 12 mois (fig. 3).

2. — *Transmission à Vinca rosea.*

La survie des greffons de *T. crassa* sur *V. rosea* varie de 6 jours à 5 mois.

Deux mois après les greffages, et pour une température moyenne de 30 °C environ, des *V. rosea* présentent une dissymétrie de certaines feuilles avec parfois un léger « vein banding », puis une forte réduction de la taille des fleurs (fig. 2). Lorsque la température moyenne se maintient au-dessus de 33 °C, une décoloration et une virescence se développent à l'extrémité des pétales. On note alors trois zones de couleur différente : la première, verte, descendant en « V » vers le bas du pétale, une zone sans pigment bordant celle-ci et enfin le reste du pétale qui garde sa couleur rose normale. Au-dessous d'une température moyenne de 30 °C aucun symptôme ne se développe sur *V. rosea*. Nous avons pu noter, sur une période d'observation de 15 mois, une accentuation ou une régression de ces symptômes en fonction de la température moyenne. Sur trente-cinq plantes soumises aux essais de greffes hétérologues, douze ont manifesté les symptômes décrits. La survie minimale des greffons, qui conditionne la réussite de la transmission de la maladie, est d'un mois environ. Aucune des mani-



FIG. 2. — *Symptômes obtenus sur V. rosea par greffage d'un bouquet proliférant de T. crassa.*
A droite, fleur saine de couleur rose uniforme.

Symptoms obtained on V. rosea by grafting a proliferating bunch of T. crassa.
Right, healthy uniformly pink flower.

festations pathologiques décrites n'apparaît sur les plantes saines ayant reçu des greffons non malades.

D. — *Transmission par cuscute*

Sur quatorze essais de transmission à *V. rosea*, neuf se sont révélés positifs, entraînant l'apparition de symptômes identiques dans leur expression et leur évolution à ceux décrits précédemment pour la méthode de greffage.

E. — *Traitements à la terramycine*

Sur les onze pieds de *T. crasa* malades traités, l'un est mort des suites des traumatismes provoqués par les piqûres. Pour les dix autres sujets, un mois après la dernière injection, sont apparues de nouvelles feuilles dont les dimensions sont deux à trois fois plus grandes que celles de feuilles plus anciennes. Elles sont par ailleurs vert foncé et ne présentent aucune déformation. Puis, la croissance de chaque sujet a repris normalement et ce rétablissement se poursuit 14 mois après les dernières injections. L'élagage de certaines plantes n'a pas favorisé la réapparition des symptômes, ce qui témoigne, en l'état actuel de nos observations, de la stabilité des rémissions (fig. 3).



FIG. 3. — *Résultat obtenu après traitement à la terramycine. A gauche, arbre traité avec l'antibiotique, élagué, 8 mois après la dernière injection. A droite, arbre élagué, 8 mois après la dernière injection d'eau distillée.*

Result obtained after terramycin treatment. On the left, terramycin treated tree, loped, 8 months after the last infection. Right, loped tree 8 months after the last injection of bidistilled water.

IV. — Conclusion

Les résultats décrits dans cette note permettent de dégager les caractéristiques de cette maladie à proliférations de *T. crassa* :

— Elle est transmissible par greffe ou par cuscute. Elle est donc d'origine infectieuse. Mais elle ne se transmet pas mécaniquement.

— Les traitements à la terramycine entraînent une rémission de longue durée. Le germe responsable de la maladie pourrait être un procaryote de type mollicute ou un rickettsioïde, ou un complexe de ces deux germes.

— *V. rosea* est sensible à la maladie. Le symptôme de semi-virescence des fleurs est un caractère distinctif pour cette plante.

— L'expression des symptômes caractéristiques de cette maladie sur *T. crassa* comme sur *V. rosea* nécessite une température relativement haute, au-delà de 30 °C. De ce fait, elle se distingue de la plupart des maladies de plantes à procaryotes qui expriment des symptômes typiques dans une gamme très large de températures.

Seul le « Stubborn » des agrumes (Lafèche et Bové, 1970) paraît se rapprocher, sur ce point, de la prolifération de *T. crassa*.

Cet ensemble de données nous incite donc à développer l'étude de cette maladie, notamment en orientant nos travaux vers la caractérisation du germe responsable, en microscopie électronique et *in vitro*.

Reçu pour publication en novembre 1977.

Summary

Proliferations disease affecting Tabernaemontana crassa benth. Transmission by grafting and dodder terramycin effect

A proliferations and yellowing disease appeared in 1972 in Ivory Coast on *Tabernaemontana crassa* Benth., inducing the death of the tree. Attempts to transmit the disease by grafting or by dodder showed that the disease is of infectious origine. The agent responsible for the disease is susceptible to terramycin because some cases of recovery have been observed after antibiotic treatment.

Références bibliographiques

- AUBREVILLE A., 1959. La flore forestière de la Côte-d'Ivoire, Tome III. CTFT, Nogent-sur-Marne.
 BOUQUET A., DEBRAY M., 1974. Plantes médicinales de la Côte-d'Ivoire. Travaux et documents de l'ORSTOM n° 32.
 COUSIN Marie Thérèse, STARON T., 1969. Action de quelques antibiotiques sur des maladies végétales causées par des microorganismes apparentés aux groupes des mycoplasmes ou des PLT. *Ann. Phytopathol.*, 1 (2), 195-200.
 DOLLET M., GIANNOTTI J., 1976. Maladie de Kaincopé : Présence de mycoplasmes dans le phloème des cocotiers malades. *Oléagineux*, 31, 169-171.
 GIANNOTTI J., LOUIS C., LECLANT F., MARCHOUX G., VAGO C., 1974. Infection à micro-organismes d'allure rickettsienne chez une plante atteinte de proliférations et chez le psylle vecteur de la maladie. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, 278, 469-470.

- GRANETT A. L., BLUE R. L., HARTJUNG M. K., CALAYAN E. C., GUMPF D. J., 1976. Occurrence of *Spiroplasma citri* in periwinkle in California ; *Calif. Agric.*, 30, 18-19.
- LAFLECHE D., BOVÉ J. M., 1970. Mycoplasmes dans les agrumes atteints de « Greening » et de « Stubborn » ou de maladies similaires. *Fruits*, 25, 455-465.
- PLOAIE P. G., 1973. Mycoplasmes et maladies à proliférations des plantes (Roumain). *Editura « CERES »*, 177 p.
- PRÉVOST M. F., 1969. Arrêts méristématiques chez *Tabernaemontana crassa* Benth. *ORSTOM (non publié)* 62 p.
- SCHWARZ R. E., 1974. Injection of mycoplasma-cides and insecticides into a woody plant : a possible method of controlling mycoplasma-associated diseases and their vectors. *FAO Plant Prot. Bull.*, 22, 1-6.
- THOUVENEL J. C., DOLLET M., FAUQUET C., 1976. Some properties of Peanut Clump, a newly discovered virus. *Ann. appl. Biol.*, 84, 311-320.
-