

**INSTITUT DE RECHERCHES SUR LES FRUITS ET AGRUMES
(IRFA)**

Les maladies à *Phytophthora* des agrumes

B. Boccas et E. Laville

AVANT - PROPOS

L'importance économique des attaques à *Phytophthora* sp. sur les agrumes et la dispersion des connaissances actuelles sur cette question justifient cet ouvrage de synthèse accessible à l'agronome de terrain.

B. BOCCAS, maître de recherche à l'ORSTOM, y apporte ses connaissances approfondies de la biologie des espèces *Phytophthora* inféodées aux agrumes.

La contribution de E. LAVILLE concerne plus particulièrement les différents aspects de ces maladies, les relations de ces champignons parasites avec les variétés sensibles et résistantes, ainsi que les méthodes de lutte.

Enfin cet ouvrage s'enrichit des connaissances acquises par les chercheurs de l'IRFA, et plus spécialement par P. FROSSARD, dans les zones tropicales et subtropicales où se situent leurs activités.

INTRODUCTION

Les maladies à *Phytophthora* des agrumes, et principalement la «gommosc» de la base des troncs, ont été décelées, vraisemblablement très tôt, et H.S. FAWCETT en 1936, dans la seconde édition de son remarquable ouvrage «*Citrus diseases and their control*», mentionne des descriptions datant de 1646 (FERRARI) et de 1714 (FEUILLEE), parfois imprécises, mais dont on a tout lieu de penser qu'elles correspondaient bien à cette maladie.

C'est en fait au milieu et à la fin du 19^e siècle, vers 1830 et 1870, que les symptômes ont été mieux observés, simultanément dans différentes régions du monde ; cette maladie accompagnant inévitablement le développement des cultures d'agrumes.

Depuis cette époque et jusqu'à maintenant de très nombreuses études sur ce problème ont été réalisées et ont permis d'identifier les différentes espèces de *Phytophthora* inféodées aux agrumes, de préciser les modalités de leurs attaques et de rechercher des mesures efficaces de lutte. Dans ce but, l'utilisation de porte-greffe résistants s'est imposée rapidement et a permis d'obtenir une situation généralement et économiquement satisfaisante, ou du moins ne présentant pas d'aspects dramatiques ou urgents.

Cette situation relativement confortable, et dont l'agrumiculture a bénéficié pendant plusieurs dizaines d'années, a été complètement bouleversée par l'irruption brutale des maladies à virus et par leur rapide extension. Celles-ci ont remis en cause la valeur des associations «greffon - porte-greffe» résistantes, largement utilisées jusqu'alors, et a stimulé la recherche de nouvelles associations à la fois compatibles avec les affections virales et résistantes aux *Phytophthora* sp.

Mais en même temps l'ampleur des menaces et des dégâts causés par les maladies à virus a parfois masqué le problème *Phytophthora* toujours présent et redoutable.

Quoi qu'il en soit, les travaux de bonne qualité réalisés ces dernières années sur les maladies à *Phytophthora* n'ont pas manqué et ont indiscutablement fait progresser nos connaissances dans ce domaine, même si des lacunes importantes subsistent encore.

Cet effort doit être poursuivi car, comme nous le montrerons dans cet ouvrage, la situation, contrairement à ce qu'on pourrait aisément croire, n'est pas immuable et par certains aspects elle est même assez menaçante à long terme.

En effet deux populations d'organismes s'affrontent. Dans ce couple «hôte - parasite» «Citrus - *Phytophthora*» la population des espèces parasites dispose de moyens extrêmement efficaces et divers, pour varier et s'adapter à toute modification ou stabilisation de la population des agrumes hôtes.

Cette dernière est théoriquement dans la même situation, car l'hétérozygotie des agrumes et leurs possibilités d'hybridations intraspécifiques et interspécifiques autorisent de multiples combinaisons qui pourraient lui permettre d'échapper aux espèces parasites.

Mais en réalité cette diversité potentielle n'est pas exploitée, car l'uniformisation des variétés dans les vergers industriels est générale, à la fois dans le temps et dans l'espace.

Ces deux populations antagonistes ne s'affrontent donc pas à armes égales.

L'une, celle des parasites, conserve toutes ses possibilités de diversification, l'autre, celle des hôtes, les perd progressivement.

Il est donc indispensable de rendre une certaine diversité à la population des hôtes au contact de celle des parasites et donc principalement aux porte-greffe, et de se rendre maître, mais cela semble plus difficile, des variations de la population des *Phytophthora*.

Dans cette double perspective on peut constater que le travail à entre-

prendre est vaste et complexe et que nombre de questions restent posées.

Pour mieux les formuler, cet ouvrage se veut à la fois synthétique et pratique.

Synthétique car il tente de présenter dans leur ensemble les différents aspects de ce problème, sans nécessairement entrer dans tous les détails des connaissances déjà acquises et accessibles dans les articles spécialisés, afin d'orienter ceux qui poursuivent l'étude de ces maladies, ou ceux qui s'y engageraient.

Cet ouvrage est aussi pratique, car il doit pouvoir être utilisé par ceux qui œuvrent sur le terrain, et pour qui la recherche de documents précis mais éparpillés est fastidieux ou même impossible.

Ce livre n'est pas notre oeuvre propre, nous avons puisé aux meilleures sources, et sommes redevables, à tous les chercheurs qui ont étudié ces maladies, et particulièrement MM. KLOTZ et CARPENTER, de la matière même de cette étude. Conscients de ce que nous leur devons nous leur exprimons ici toute notre gratitude.

B. BOCCAS et E. LAVILLE

1976

Les numéros à droite de la bibliographie des chapitres II, III, IV, sont les numéros des analyses de la Documentation analytique de la revue FRUITS.

CHAPITRE I

LE PARASITE

I - ESPECES PARASITES DES AGRUMES

L'activité parasitaire des *Phytophthora* chez les Citrus et les genres voisins s'exerce sur différents organes, à différents niveaux. Elle est la cause d'une pourriture brune des feuilles et des fruits, d'une pourriture corticale des rameaux et des racines, et surtout de la formation sur le tronc et les branches de chancres à exsudat gommeux.

Cette dernière affection, communément appelée «gommose parasitaire» est probablement l'une des plus anciennement connue des maladies des agrumes. Selon FAWCETT (32), on en retrouve la description dans certains écrits arabes du dixième siècle, puis plus tardivement au dix-septième siècle en Italie et en France. Ce n'est cependant que vers la fin du dix-neuvième siècle que les auteurs se sont interrogés sur les origines possibles de la maladie, et c'est seulement en 1913 que FAWCETT a déterminé la responsabilité du *Pythiacystis citrophthora* dans certains types de gommose. Le *Pythiacystis citrophthora* initialement décrit en 1906 par SMITH (118), fut ensuite reclassé en 1925 par LEONIAN (80), dans le genre *Phytophthora*. Depuis cette époque plusieurs autres espèces ont été reconnues sur Citrus, et l'on sait aujourd'hui que parmi les quelques quarante espèces que compte le genre *Phytophthora*, onze, au moins, sont capables d'attaquer les agrumes.

Il s'agit de *Phytophthora citrophthora* SMITH and SMITH, *P. nicotianae* var. *parasitica* DASTUR, *P. palmivora* (BUTL.), BUTL., *P. citricola* SAWADA, *P. cactorum* SCHROETER, *P. syringae* KELB, *P. hibernalis* CARNE, *P. megasperma* DRECHSLER, *P. boehmeriae* SAWADA, *P.*

drechsleri TUCKER et *P. cinnamomi* RANDS.

La répartition géographique de ces espèces, établie en fonction des cas recensés dans la littérature, est indiquée dans le tableau 1. Elle recouvre largement la plupart des régions mondiales d'agrumiculture.

Ce tableau montre que toutes les espèces n'ont pas la même responsabilité dans les dommages causés aux agrumes. Certaines n'apparaissent qu'exceptionnellement : tel *P. cinnamomi* observé par FAWCETT et BITANCOURT (33) sur *Citrus aurantium* au Brésil et plus récemment isolé à Formose, tel *P. megasperma* cité par FAWCETT (32) et par FREZZI (38) qui mentionne également *P. boehmeriae* sur *Citrus sinensis* en Argentine, tel enfin *P. drechsleri* trouvé par FAWCETT (32) en Californie.

Les autres espèces en revanche sont à l'origine de la presque totalité des destructions imputables aux *Phytophthora* sp. Leur fréquence relative est liée aux conditions climatiques. Le *P. parasitica* et le *P. palmivora* sont les plus actifs dans les régions tropicales (89, 97), mais se manifestent également, surtout durant les saisons chaudes et humides, dans les zones subtropicales et méditerranéennes. Dans ces dernières régions, *P. citrophthora*, *P. syringae*, *P. cactorum*, *P. citricola* et *P. hibernalis* prévalent pendant les périodes fraîches de l'hiver et du printemps. C'est le cas en Californie (34), en Australie (26) et en Italie (31, 138).

Chacune de ces espèces, à l'exception de *P. boehmeriae* (38), *P. megasperma* (32) et *P. drechsleri* (32) trouvés seulement sur fruits, est susceptible d'attaquer indifféremment les divers organes des Citrus. Cependant, le plus souvent les cas de gommose parasitaire ou d'attaques racinaires sont attribués aux *P. citrophthora*, *P. parasitica* et *P. palmivora*, les autres espèces étant plus fréquemment isolées des fruits. Cela, toutefois, n'est pas une règle absolue ; dès 1943, FAWCETT et KLOTZ (34) notaient la possibilité de reproduire les symptômes de la gommose, par inoculation artificielle de *P. syringae* et *P. hibernalis*. De leur côté, FAVAROLO et SOMMA (31) ont récemment recensé les espèces responsables de la pourriture des racines en Sicile : il s'agit par ordre décroissant de fréquence, de *P. citrophthora*, *P. syringae*, *P. citricola*, *P. cactorum*, *P. parasitica* et *P. hibernalis*. Il est donc impossible d'identifier un isolat en fonction uniquement du type de lésion qu'il a provoqué ou de

TABLEAU 1 - Distribution géographique des différents *Phytophthora* sp. sur Citrus et les genres reliés.

<i>P. citrophthora</i>	Italie, Corse, Espagne, Chypre, Palestine, Israël, Grèce. U.S.A., Puerto-Rico, Brésil. Egypte, Maroc, Afrique du Sud, Rhodésie, Mozambique, Zambie, Australie, Nouvelle Zélande, Inde, Japon.
<i>P. parasitica</i>	Italie, Corse, Espagne, Grèce, Iran, Israël. U.S.A., Cuba, Puerto-Rico, Brésil, Argentine, Uruguay, Vénézuéla, Guatémala. Congo, Côte d'Ivoire, Mali, Cameroun, Afrique du Sud, Tunisie, Maroc. Australie, Inde, Malaisie, Formose, Java, Japon.
<i>P. palmivora</i>	Italie. Guyane, Puerto-Rico. Congo, Tanzanie. Inde, Java, Philippines, Malaisie.
<i>P. hibernalis</i>	Italie, Portugal, Grèce, Israël. U.S.A. Afrique du Sud. Australie.
<i>P. syringae</i>	Italie, Grèce. U.S.A., Argentine. Maroc.
<i>P. cactorum</i>	Italie. U.S.A.
<i>P. citricola</i>	Italie, Grèce. Afrique du Sud. Australie, Japon.
<i>P. megasperma</i>	U.S.A., Argentine.
<i>P. boehmeriae</i>	Argentine.
<i>P. cinnamomi</i>	Brésil. Formose.
<i>P. drechsleri</i>	U.S.A.

l'organe sur lequel il a été récolté.

L'origine parasitaire n'est pas un caractère déterminant dans l'identification spécifique. La détermination nécessite le recours aux critères classiques de la taxonomie des *Phytophthora*.

II - TAXONOMIE DES *PHYTOPHTHORA* SP. PATHOGENES POUR LES AGRUMES.

Dans la classe des Oomycètes et au sein des Péronosporales, le genre *Phytophthora* constitue avec le genre *Pythium* la famille des Pythiacées. Depuis sa création en 1876 par DE BARY (6) avec *P. infestans* comme espèce type, le genre *Phytophthora* a fait l'objet de plusieurs monographies. Les principales contributions sont celles de TUCKER (136), de LEONIAN (80), de BLACKWELL (7, 8), de FREZZI (38) et de WATERHOUSE (141, 142), auteur en 1963 de «Key to the species of *Phytophthora* DE BARY», considéré aujourd'hui comme l'ouvrage de base dans l'identification des *Phytophthora* sp.

LES CARACTERES GENERAUX DU GENRE

Le mycélium.

Le mycélium est coenocytique et hyalin. Les hyphes d'un diamètre variable ($2 - 10 \mu$) sont abondamment ramifiées. Leur morphologie, la présence ou l'absence de vésicules, leur mode de croissance, sont des caractères spécifiques.

La reproduction végétative.

Les chlamydospores sont les organes de la reproduction végétative. Elles sont sphériques ou ellipsoïdes, généralement intercalaires, et possèdent à maturité une paroi épaisse ($1 - 3 \mu$) qui leur permet de résister aux conditions d'environnement léthales pour le mycélium et leur confèrent ainsi le rôle de structure de résistance. Toutes les espèces n'en produisent pas. Elles sont également utilisées par les taxonomistes comme critères d'identification.

La reproduction asexuée.

Elle s'accomplit par l'intermédiaire de sporocystes différenciés à l'apex de filaments simples dans la majorité des cas, ou ramifiés chez quelques espèces. La forme, d'ovoïde à pyriforme, la taille et surtout la présence ou l'absence d'une papille apicale, ainsi que les dimensions de cette dernière, sont des caractères spécifiques déterminants.

Les sporocystes peuvent germer directement par émission de filaments germinatifs ou indirectement en relâchant des zoospores biflagellées mobiles, capables de se déplacer en milieu liquide, avant de s'enkyster et de germer. Les zoospores sont les principaux organes de la dissémination du parasite.

La reproduction sexuée.

Les oospores sont les organes de la reproduction sexuée. Chacune d'entre elles résulte de la fécondation d'un oogone par une anthéridie qui peut être paragyne ou amphigyne.

Dans le cas de l'amphigynie, après la rencontre des hyphes gamétocystiques mâles et femelles et leur accollement apical, le filament oogonial traverse l'ampoule terminale de l'hyphe anthéridiale, et s'enfle à sa sortie en un oogone sphérique dont le pied demeure enserré par l'anthéridie (figure 1 C, D). Ultérieurement, après fécondation de l'oogone par un noyau anthéridial, l'oospore s'entourant d'une double paroi épaisse de 1 à 3 μ , se différencie à l'intérieur de l'oogone dont elle occupe plus ou moins complètement le volume interne.

Dans le cas de la paragynie, l'anthéridie est simplement appliquée contre la paroi de l'oogone, généralement sur son hémisphère inférieur (figure 1 A, B).

Homothallisme et hétérothallisme.

En règle générale les espèces à anthéridie paragyne dominante sont homothalliques et produisent des oospores en culture pure, pourvu que le milieu s'y prête. Les espèces à anthéridie amphigyne dominante peuvent être homothalliques, mais la plupart sont hétérothalliques. L'accomplisse-

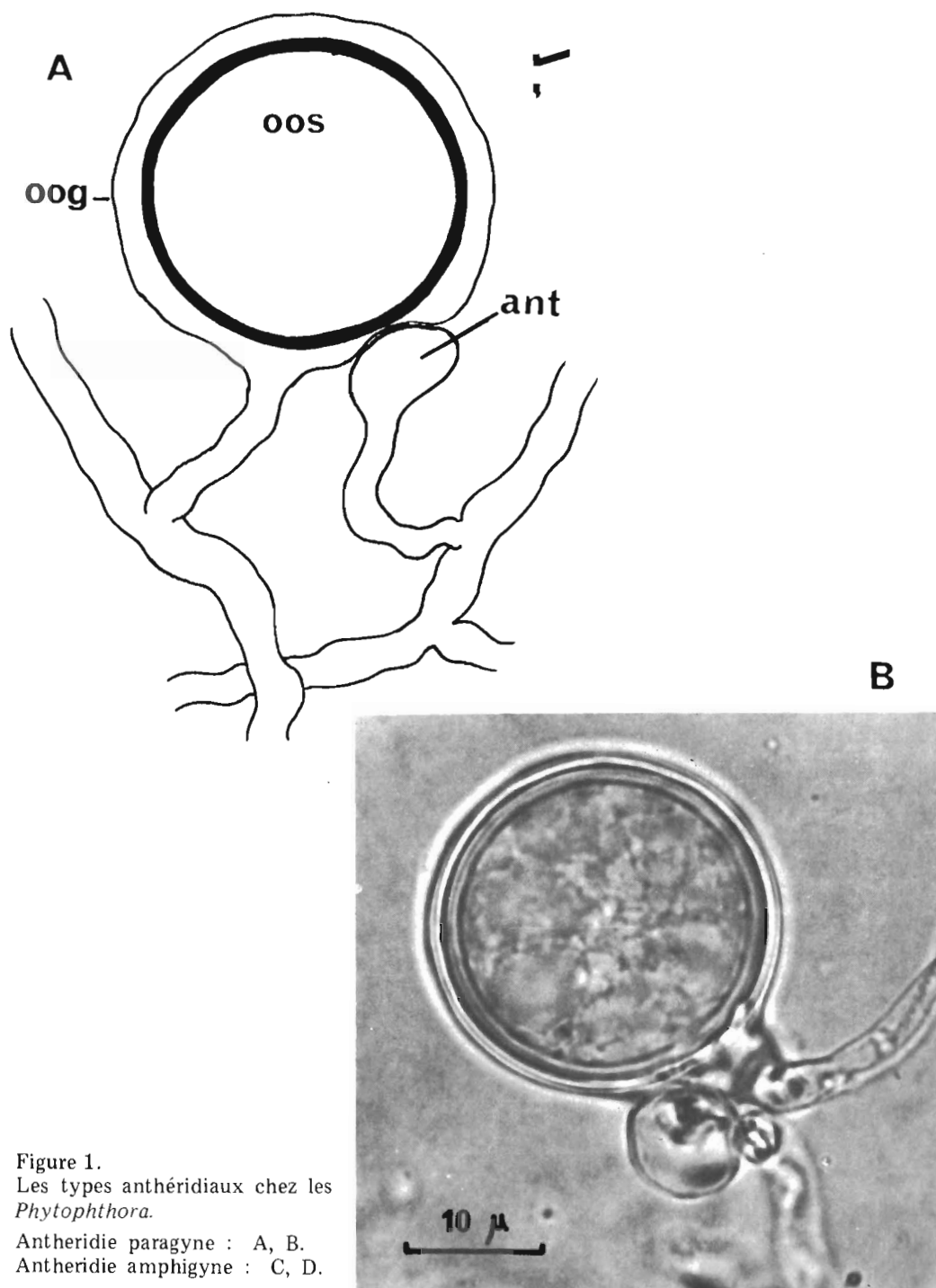
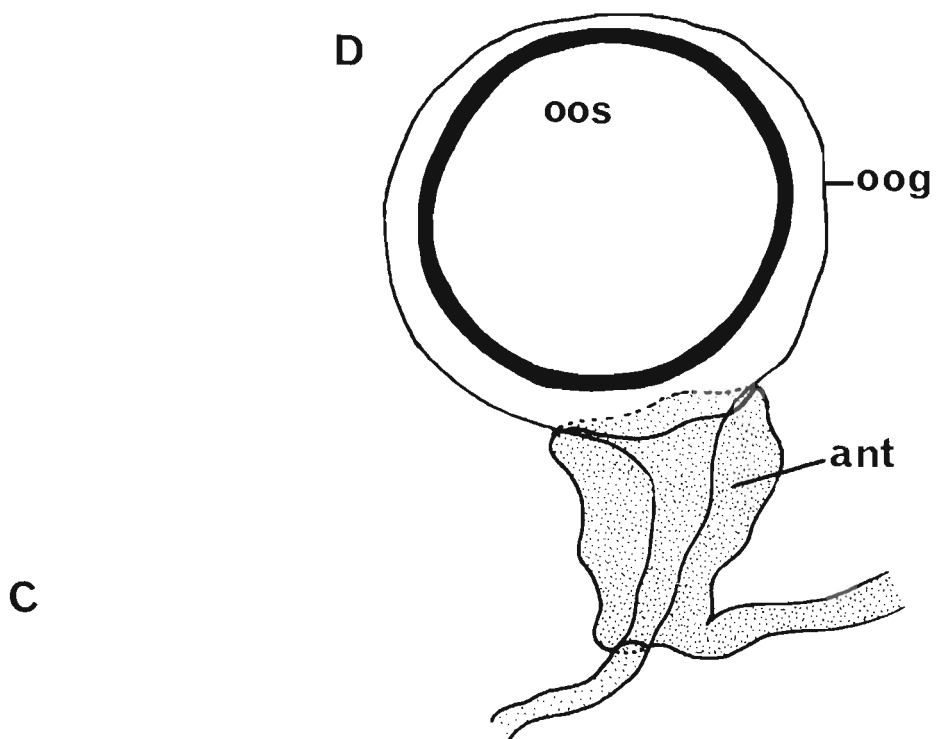
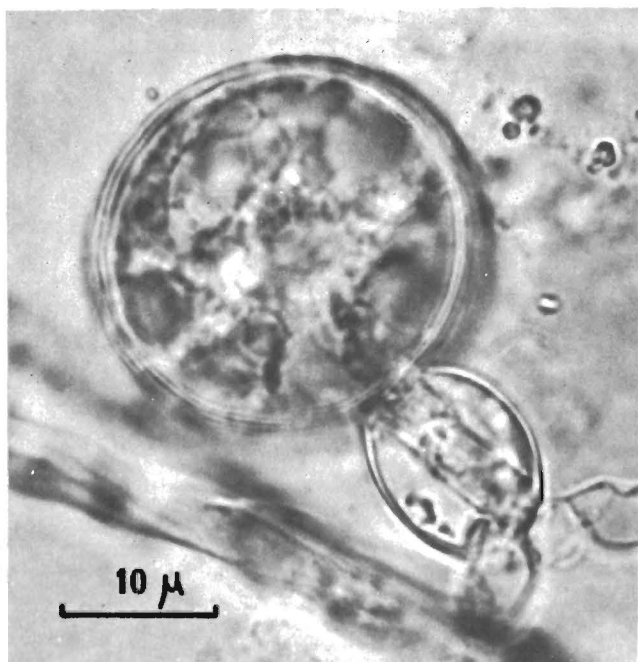


Figure 1.
Les types anthéridiaux chez les
Phytophthora.

Antheridie paratype : A, B.
Antheridie amphigyne : C, D.



C



14.

ment de la reproduction sexuée nécessite alors, en principe, la rencontre de deux isolats porteurs des types de compatibilité complémentaire.

DESCRIPTION DES ESPECES PARASITES DES AGRUMES

La classification de WATERHOUSE (141) définit six groupes d'espèces morphologiquement affines. L'appartenance à ces groupes s'établit en fonction du mode de production et de la morphologie des sporocystes, des oospores et des anthéridies. Les clefs des groupes sont résumées dans le tableau 2.

Les *Phytophthora* parasites des agrumes, dont nous indiquons ci-dessous les caractéristiques, se répartissent dans chacun de ces groupes. Dans un souci de simplification, nous nous bornons ici à donner des espèces une description succincte, mettant l'accent sur les caractères et les différences essentielles. Une information plus détaillée et complète peut être trouvée dans les ouvrages de taxonomie.

Tous les caractères indiqués par la suite, notamment les caractéristiques biométriques, s'appliquent à des cultures sur farine de maïs ou décoction d'avoine gélosée.

Groupe I.

Phytophthora cactorum.

Les sporocystes d'ovoïdes à pyriformes, ($36 - 50 \mu \times 28 - 35 \mu$) sont sessiles et portent une papille apicale marquée. Ils sont portés par des sporangiophores à ramification sympodiale. Les chlamydospores ne sont pas présentes chez toutes les souches, à la différence des oospores qui se forment normalement en culture pure, l'espèce étant homothallique. Les anthéridies sont paragynes, toujours appliquées à la base de l'oogone près de l'insertion du pied.

Les températures cardinales sont : minimum 2°C . optimum 25°C . maximum 30°C.

TABLEAU 2 - Clefs simplifiées des groupes d'espèces du genre *Phytophthora* (d'après WATERHOUSE).

	Oospores formées en culture pure (espèces homothalliques)	Oospores formées après croisement de souches A ₁ et A ₂ (espèces hétérothalliques)
Sporocystes	anthéridies paragynes	anthéridies amphigynes
formé en milieu solide apex protubérant papille marquée épaississement apical $>4\mu$	groupe I	groupe II
apex peu protubérant papille peu marquée épaississement apical $<3,5\mu$	groupe III	groupe IV
formé en milieu liquide apex non protubérant pas de papille épaississement apical très fin	groupe V	groupe VI

Groupe II.

Ce groupe comprend les deux espèces les plus communes *P. citrophthora* et *P. parasitica*, une espèce relativement moins fréquente *P. palmivora*, et une espèce dont la présence sur Citrus n'a été qu'exceptionnellement signalée, *P. boehmeriae*. Toutes ces espèces ont en commun des sporocystes à papille nettement différenciée. Elles sont hétérothalliques ou homothalliques mais forment toujours des oospores à anthéridies amphigynes. Ces caractères communs rendent leur identification souvent délicate. Leur détermination est fondée sur les critères taxonomiques suivants.

Le thalle

Les hyphes sont très épaisses ($9\ \mu$) et irrégulières chez *P. parasitica*, épaisses ($7\ \mu$) chez *P. citrophthora*, et relativement plus fines ($5\ \mu$) et régulières chez *P. palmivora*.

Le thalle développé sur farine de maïs gélosé peut être ras et finement radié chez *P. citrophthora*, légèrement duveteux et en rosette chez *P. palmivora*, dense et aérien chez *P. boehmeriae*.

Les sporocystes.

Les quatre espèces possèdent des sporocystes de forme et de taille variable, d'ovoïde à sphérique, présentant une papille bien différenciée terminée par un épaississement apical hémisphérique (photos 1 et 2). Ces sporocystes sont portés par des sporangiophores différenciés qui peuvent être ramifiés irrégulièrement chez *P. citrophthora*, ou sympodiale ment chez *P. boehmeriae*, les deux types de ramifications se rencontrant chez *P. parasitica* et *P. palmivora*. La taille moyenne des sporocystes se situe chez *P. parasitica* entre $38-50\ \mu \times 30-40\ \mu$, $45-90\ \mu \times 26-60\ \mu$ chez *P. citrophthora*, $50-70\ \mu \times 40-35\ \mu$ chez *P. boehmeriae*, et $35-60\ \mu \times 20-40\ \mu$ chez *P. palmivora*.

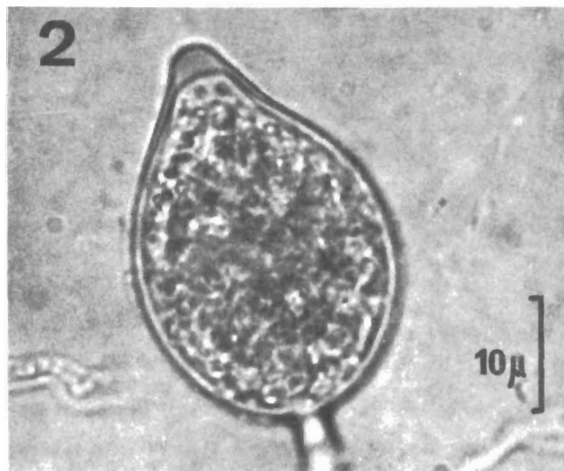
Cependant, à notre avis, la taille et la forme des sporocystes ne sont pas absolument déterminantes dans la distinction des espèces car l'amplitude de la variabilité intraspécifique de ces caractères dépasse souvent les variations interspécifiques. En ce qui concerne le *P. palmivora*, les isolats du Congo s'apparentent au type morphologique 2, qui se caractérise par des sporocystes plus larges et moins allongés (l/L 1,3 - 1,4).

Les oospores.

Les oospores sont d'assez petite taille ($20-30\ \mu$) et entourées d'une paroi épaisse ($1-2\ \mu$). Elles sont sphériques et toujours accompagnées d'anthéridies amphigynes (photo 6). L'homothallisme est très affirmé chez *P. boehmeriae* dont les oospores sont toujours présentes en culture pure (sur milieu approprié). *P. parasitica* est considéré comme hétérothallique en raison de son aptitude à produire un très grand nombre d'oospores lorsque deux souches de compatibilité complémentaires sont confrontées.



Photos 1 et 2. Sporocystes chez
P. parasitica.



Certaines souches cependant possèdent souvent une tendance plus ou moins marquée à l'homothallisme, matérialisée par la production d'un petit nombre d'oospores en culture pure par les thalles âgés. *P. palmivora* est en général plus nettement hétérothallique et *P. citrophthora*, dont les oospores ne sont pas décrites par WATERHOUSE, est cependant hétérothallique selon SAVAGE et col. (115).

Les chlamydospores.

Selon WATERHOUSE, la taille des chlamydospores est un élément utilisable dans la distinction des espèces du second groupe. De petite taille chez *P. citrophthora* (28 μ) elles peuvent atteindre 30 à 35 μ chez *P. palmivora*, 40 μ chez *P. boehmeriae*, et jusqu'à 60 μ chez *P. parasitica* (photo 5). Il faut cependant considérer ce caractère avec prudence, car une fois encore, les variations intraspécifiques sont assez importantes.

Les températures cardinales de croissance.

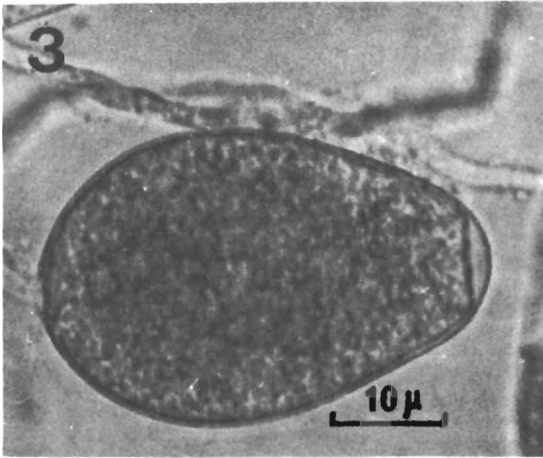
Ce caractère est considéré comme déterminant par bien des auteurs. La figure 2 qui représente les courbes de croissance radiale en fonction de la température, illustre les différences théoriques entre *P. citrophthora*, *P. palmivora* et *P. parasitica*.

Les températures minimum sont d'environ 5°C pour *P. citrophthora* et *P. boehmeriae*, 10°C pour *P. parasitica* et 11°C pour *P. palmivora*.

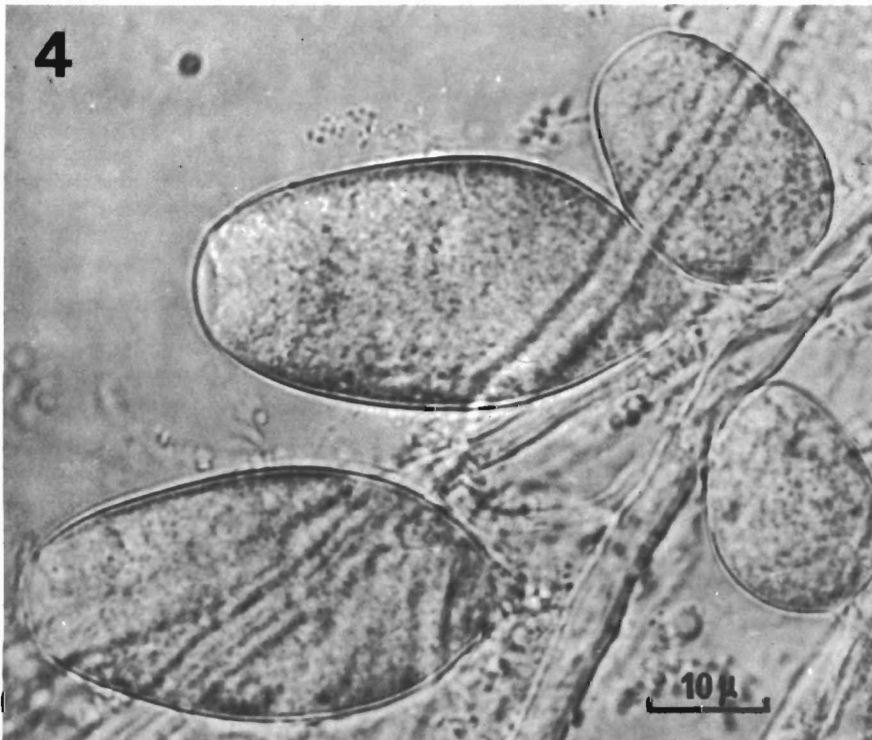
L'optimum de croissance de *P. parasitica* est réputé plus élevé (30-32°C) que ceux de *P. citrophthora* (26-27°C) et *P. palmivora* (28-29°C). De la même façon, les températures maximum diffèrent : *P. parasitica* se développe jusqu'à 37°C, *P. palmivora* cesse de croître à 35°C et *P. citrophthora* à 32°C. Le comportement de *P. boehmeriae* est voisin de celui de *P. citrophthora*.

Groupe III

P. citricola et *P. syringae* appartiennent à ce groupe. Les hyphes de *P. citricola* sont épaisses (6 μ), non ou peu vésiculeuses. Le thalle est en



Photos 3 et 4. Sporocystes
chez *P. cinnamomi*.



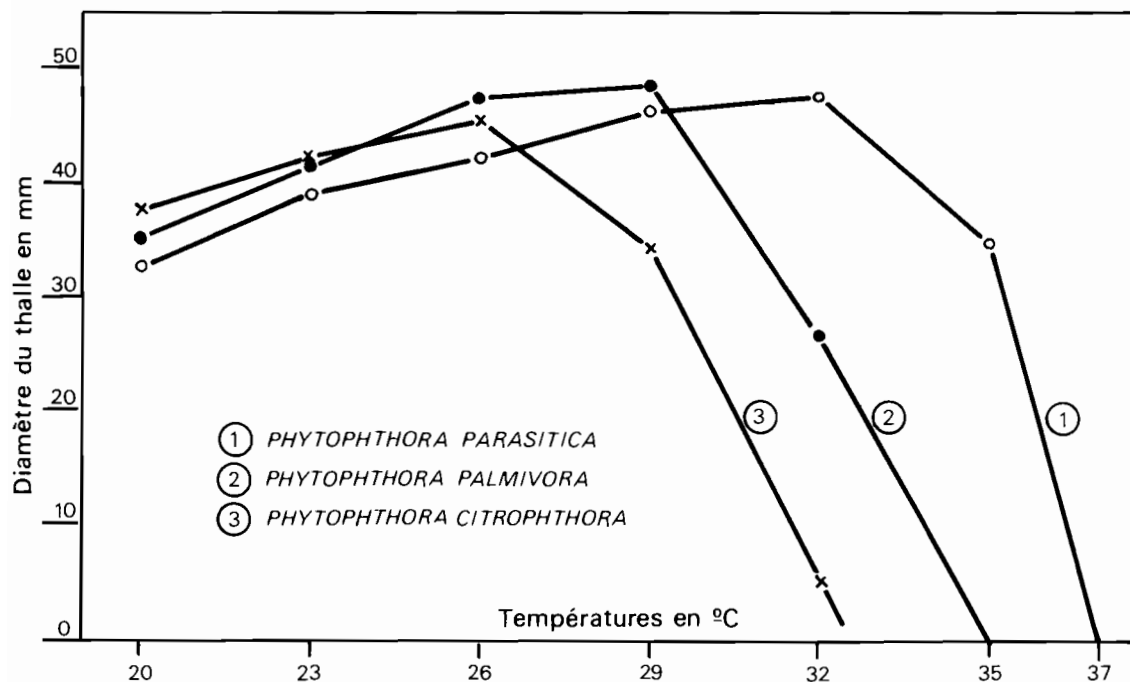


Figure 2 • VARIATIONS DE LA CROISSANCE RADIALE EN FONCTION DE LA TEMPERATURE CHEZ *P. PARASITICA*, *P. PALMIVORA* ET *P. CITROPHTHORA*. (CULTURES SUR MILIEU PDA).

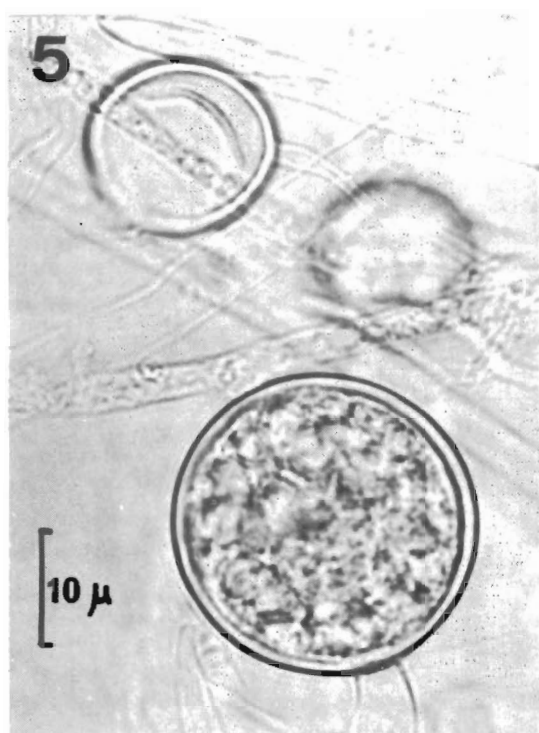
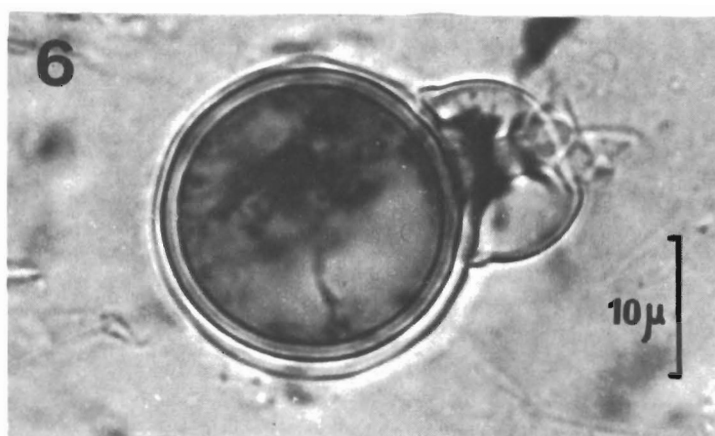


Photo 5. Chlamydospore chez *P. parasitica*.

Photo 6. Oospore chez *P. parasitica*.



général radié et présente des secteurs d'aspect lancéolé. Le mycélium de *P. syringae* est formé d'hyphes irrégulières, la plupart du temps vésiculeuses, dont l'épaisseur peut atteindre $6\ \mu$. Le thalle différencie de nombreux secteurs en rosace.

Chez les deux espèces les sporocystes se forment de préférence en milieu liquide. Ceux de *P. citricola* (taille moyenne $30\ \mu \times 45\ \mu$), sont hétéromorphes, généralement ovoïdes ou pyriformes ; ils peuvent parfois présenter plusieurs apex divergents (de 2 à $4\ \mu$). La papille est peu protubérante et l'épaississement apical peu marqué. Chez *P. syringae*, les sporocystes de forme régulièrement ovoïde (en moyenne $36\ \mu \times 57\ \mu$), avec une papille peu marquée, se forment sur de courts pedicelles. Ils ne sont pas sessiles. Les deux espèces sont homothalliques et forment un grand nombre d'oospores ($25-35\ \mu$). Les anthéridies sont toujours paragynes chez *P. citricola*, alors que l'on peut trouver rarement, quelques anthéridies amphigynes chez *P. syringae*.

Les températures cardinales sont les suivantes :

	minimum	optimum	maximum
<i>P. citricola</i>	3°C	25-28°C	31°C
<i>P. syringae</i>	5°C	20°C	23°C

Groupe IV

Phytophthora hibernalis.

Cette espèce homothallique est souvent confondue avec *P. syringae* dont elle se distingue par un mycélium plus régulier, non porteur de vésicules ou de chlamydospores, par des sporocystes plus allongés (moyenne $19\ \mu \times 36\ \mu$), sessiles et à papilles peu proéminentes, et surtout par des anthéridies presque exclusivement amphigynes, rarement paragynes. Les températures cardinales sont du même ordre que celles de *P. syringae*.

Groupe V

Phytophthora megasperma.

Sur milieu solide le mycélium est régulier, sans vésicule et forme un

thalle légèrement radié. Les sporocystes, qui se forment en milieu liquide, sont ovoïdes avec un apex non protubérant et sans papille ($6.45 \mu \times 15.60 \mu$). L'épaississement apical est mince.

Les oospores formées en culture pure (espèce homothallique) sont assez grandes (37.44μ). Les anthéridies sont souvent paragynes, parfois amphigynes.

Les températures cardinales sont les suivantes : minimum 2°C , optimum 25°C , maximum 30°C .

Groupe Vi

Phytophthora cinnamomi et *Phytophthora drechsleri*, deux espèces rarement rencontrées sur agrumes, ont en commun des sporocystes sans apex protubérant, avec un épaississement apical très fin et dépourvu de papille (photos 3 et 4). Ces sporocystes, difficiles à obtenir chez *P. cinnamomi*, se forment exclusivement en milieu liquide chez les deux espèces. Ils sont de forme régulière, d'ovoïde à ellipsoïde chez *P. cinnamomi* ($33 \mu \times 55 \mu$) et plus hétéromorphes chez *P. drechsleri* ($26.30 \mu \times 36.50 \mu$).

Les deux espèces forment des oospores largement dimensionnées (40μ), à anthéridies amphigynes plus allongées chez *P. cinnamomi* (20μ) que chez *P. drechsleri* (15μ). *P. cinnamomi* est considéré comme strictement hétérothallique alors que *P. drechsleri*, habituellement hétérothallique, peut parfois être homothallique.

Le mycélium permet de différencier les deux espèces. Il est coralloïde, épais (8μ) et abondamment pourvu de vésicules sphériques, parfois disposées en grappe, chez *P. cinnamomi*. Il est au contraire régulier avec des hyphes dont l'épaisseur atteint rarement 5μ chez *P. drechsleri*.

Températures cardinales :

	minimum	optimum	maximum
<i>P. cinnamomi</i>	5°C	24.28°C	32.34°C
<i>P. drechsleri</i>	5°C	28.31°C	36.37°C

LA VALEUR DE LA TAXONOMIE, SES LIMITES

En dépit de la relative simplicité de la taxonomie et de la précision des clefs systématiques de WATERHOUSE, la pratique de l'isolement et de l'identification des *Phytophthora* demeure délicate. La rencontre d'isolats s'identifiant raisonnablement aux espèces décrites n'est pas rare, mais il est également fréquent de trouver des souches qui semblent combiner les caractères d'espèces voisines.

Il en est ainsi, notamment dans le second groupe où l'on est fréquemment confronté à des isolats qui présentent des associations de caractères de *P. palmivora* et de *P. nicotianae*. Leur détermination, le choix d'une identité, sont alors souvent subjectifs. Et cela n'est que la conséquence de l'ambiguïté du système qui sépare les espèces affines en fonction de différences quantitatives plus que qualitatives. Nous avons vu en effet, qu'au sein de chacun des groupes, et parfois à la charnière entre deux groupes, les espèces sont distinguées selon des critères tels que les températures cardinales de croissance, le degré d'homothallisme ou d'hétérothallisme, la morphologie des sporocystes tous caractères qui varient quantitativement, sont parfois adaptatifs et vraisemblablement placés sous contrôle polygénique.

De par leur nature, ces caractères sont soumis à tous les facteurs de la variabilité naturelle : mutation, variation d'origine cytoplasmique, recombinaison mitotique, hétérocaryose. Ils peuvent en outre être modifiés à la suite d'autofécondation ou d'hybridations intra ou interspécifiques. Ainsi SATOUR et BUTLER (114) ont-ils observé dans la descendance de croisements intraspécifiques entre souches du *P. capsici*, des isolats qui, sur la base de la morphologie des sporocystes, étaient indistinguables du *P. parasitica* et du *P. palmivora*. Les possibilités d'hybridation interspécifique, pour leur part, n'ont pas encore été complètement explorées. Il apparaît cependant dès maintenant probable que les espèces voisines sont capables de s'hybrider (BOCCAS, résultats non publiés). Cette potentialité que semblent posséder certaines espèces d'échanger du matériel génétique au cours de la reproduction sexuée, introduit dans le genre *Phytophthora* un facteur de variabilité de large amplitude et conduit à s'interroger sur la validité du concept actuel de l'espèce chez les *Phytophthora*.

Il apparaît aujourd'hui qu'une systématique fondée essentiellement sur des critères morphologiques est souvent insuffisante. L'introduction de méthodes nouvelles semble nécessaire à une meilleure délimitation des espèces. Les techniques d'électrophorèse, dont l'utilisation semble prometteuse chez les *Phytophthora* (42, 47), pourraient contribuer à clarifier la situation, en particulier si elles sont intégrées, avec les méthodes biométriques traditionnelles, dans des études de taxonomie numérique (120, 121), qui tiendraient également compte des aptitudes pathogéniques et des caractères physiologiques des isolats.

Cependant, malgré ces réserves, la taxonomie actuelle est un outil utile, et le seul qui permette de situer la position d'un isolat dans un cadre utilisé par tous, ce qui reste indispensable pour assurer la circulation de l'information scientifique.

III - QUELQUES ASPECTS DE LA PHYSIOLOGIE DES *PHYTOPHTHORA*.

Les difficultés éprouvées par les taxonomistes à mettre au point une systématique fondée exclusivement sur la morphologie, a conduit nombre d'auteurs à rechercher dans la physiologie des critères de distinction spécifiques. Leurs études n'ont pas toujours atteint leur objectif initial en raison du comportement physiologique assez homogène de l'ensemble des espèces. Elles ont en revanche permis d'acquérir des connaissances importantes sur les aspects essentiels de la physiologie des *Phytophthora* : exigences nutritionnelles et influences des facteurs physico-chimiques externes sur la croissance mycélienne, la sporocystogénèse, la chlamydogénèse et l'oogénèse.

CROISSANCE MYCELIENNE ET DEVELOPPEMENT DU THALLE

La nutrition.

Utilisation de l'Azote.

Les espèces du genre *Phytophthora* peuvent réaliser leur cycle en présence de source inorganique de soufre et d'azote. Les espèces utilisent

les ions nitrates et les ions ammonium. Contrairement aux *Pythium* qui peuvent dégrader les nitrites, les *Phytophthora* ne s'accommodent pas de cette source d'azote. Dans leur ensemble les espèces tirent un meilleur parti des nitrates que de l'azote ammoniacal sur lequel les thalles formés sont généralement diffus (98). Les exceptions à cette règle sont cependant fréquentes et RONCADORI (102), entre autres, cite le cas de souches du *P. drechsleri*, du *P. cactorum* et du *P. hibernalis*, qui acceptent difficilement les ions nitrates.

Dans la majorité des cas la croissance mycélienne est stimulée par l'apport d'azote organique (17, 98). En milieu liquide le gain de croissance ainsi obtenu peut atteindre 40 p. cent en poids de mycélium sec (98). L'influence d'un grand nombre d'acides aminés a été examinée (17, 75, 77, 98). La D.L. alanine, la L. alanine et surtout la L. asparagine, sont bien utilisées par un grand nombre de souches et, de ce fait, sont fréquemment incorporées aux milieux de culture synthétiques. Le plus souvent cependant il n'y a pas de réaction commune des souches d'une même espèce vis-à-vis des différents amino-acides, qu'ils soient employés seuls ou en association. Les réponses des isolats sont individuelles et apparemment indépendantes de leur position taxonomique (98). D'une façon générale, les *Phytophthora* comme la plupart des organismes vivants utilisent mieux les L. isomères des acides aminés que les formes dextrogyres (16).

Utilisation des sources de carbone.

Le glucose, le fructose, le lactose, le maltose, le saccharose et à un moindre degré la cellulose, assurent une croissance mycélienne harmonieuse chez toutes les espèces (98, 105). Des variations importantes s'observent dans l'utilisation du mannose et du xylose, notamment chez *P. boehmeriae*, *P. drechsleri* et *P. hibernalis* (105). La croissance des thalles est faible sur l'inositol (98) et sur l'éthanol (78), infime sur l'amidon et nulle sur le sorbose (98).

Influence du rapport C. N.

RAVISÉ (98) a montré chez douze souches représentant huit espèces que le développement du mycélium est abondant pour les valeurs élevées du rapport C/N (100/1 et 50/1). La densité des thalles décroît en fonction

inverse de ce rapport et les dérèglements qui apparaissent aux valeurs voisines de 20/l deviennent très importants pour 5/l.

Influence des facteurs de croissance.

Contrairement à la plupart des *Pythium* qui peuvent, sur milieu artificiel, synthétiser la vitamine B₁ à partir de ses précurseurs : thiazole et pyrimidine, les *Phytophthora* sont auxotrophes pour la thiamine (18, 96, 102, 105). Le seuil de concentration permettant d'initier la croissance du thalle est d'environ 0,01 mg de thiamine par litre de milieu. mais il faut au moins 0,1 mg/litre pour que le cycle complet puisse se réaliser normalement.

L'influence de onze autres facteurs de croissance a été testée par RAVISÉ (98). Il s'agit de la biotine, la nicotinamide, le panthoténate de calcium, la pyridoxine, l'acide ascorbique, la riboflavine, la cyanocobalamine, le calciférol, l' α -tocophérol, la vitamine A et l'acide paraminobenzoïque. Aucun de ces facteurs ne semble être indispensable au développement des *Phytophthora*. Toutefois, l'incorporation simultanée de ces substances (1 mg/l) à un milieu contenant déjà de la thiamine, entraîne une augmentation sensible de la densité des thalles formés.

Les stérols sont une autre catégorie de substances qui, sans être indispensables, favorisent la croissance mycélienne des *Phytophthora* (28, 98). Le champignon est en effet incapable de réaliser la synthèse des composés stéroliques et la quasi-totalité des souches réagit favorablement à leur incorporation aux milieux de cultures. Les stérols les plus couramment employés sont, par ordre d'efficacité croissante : le cholestérol, le stigmasterol et le P. sitostérol. Selon LILLY (81) le seuil d'efficacité, déterminé chez *P. cactorum* est de 0,2 mg/l, la concentration communément employée *in vitro* étant de 20 mg/l.

Les facteurs physico-chimiques externes.

Influence de la température.

Nous avons vu dans le chapitre consacré à la taxonomie que les espèces parasites des agrumes ont des exigences thermiques diverses, adaptées aux conditions écologiques dans lesquelles elles vivent. Parmi les espèces les

plus fréquemment rencontrées sur agrumes, deux groupes se distinguent en fonction de leur optimum thermique. Le premier comprend *P. syringae* et *P. hibernalis*, espèces dont le parasitisme s'exerce surtout pendant les saisons fraîches des zones méditerranéennes et subtropicales. La température optimum pour la croissance de leur thalle est d'environ 20°C. Le second groupe est celui des espèces s'accommodant de températures plus élevées : le *P. palmivora* et le *P. nicotianae* var. *parasitica* ont un optimum de croissance pour des températures voisines de 30°C. La position du *P. citrophthora* est intermédiaire, son développement est optimum à 26°C.

Influence du pH.

La plupart des souches poussent de pH 3,5 à pH 8,5. Selon CAMERON (17) la valeur la plus favorable à la croissance du thalle se situe entre pH 4,5 et pH 5,5. RAVISÉ (96) indique des valeurs légèrement plus élevées, de pH 5,5 à pH 6,5. Le pH des milieux de culture les plus couramment utilisés est en général proche de 6.

SPOROCYSTOGENÈSE, CHLAMYDOGENÈSE et OOGÈNESE

Influence des facteurs trophiques.

Les sources de carbone et d'azote, les valeurs du rapport C/N (76) et les facteurs de croissance les plus favorables au développement du thalle, favorisent également l'oogénèse et la sporocystogénèse chez la majorité des espèces. Chez le *P. cinnamomi*, toutefois, les sporocystes ne se forment pas en culture axénique, ou ne le font que sous l'action de divers artifices stimulateurs (23, 94). La sporocystogénèse de cette espèce s'effectue en revanche normalement en présence de certaines bactéries (84) ou sur extrait aqueux de sol non stérile dont l'effet inducteur est attribué aux microorganismes qu'il contient (22, 84).

La chlamydogénèse, comme les deux autres formes de reproduction est plus abondante en présence d'une source complexe d'azote organique (hydrolysât de caséine par exemple) que sur un milieu contenant seulement de l'azote minéral. De même, les valeurs du rapport C/N les plus propices à la formation des sporocystes et des oospores sont aussi celles

qui favorisent la chlamydogénèse : les chlamydospores apparaissent en abondance lorsque la valeur du rapport C/N en début de culture est comprise entre 100 et 20, l'optimum pour *P. palmivora* (61), *P. parasitica*, *P. drechsleri* et *P. cinnamomi* (103) étant voisin de 30.

Le métabolisme de la chlamydogénèse et de l'oogénèse diffère cependant de celui de la sporosystogénèse. Alors que cette dernière est avantagée sur les milieux riches et bien aérés, la chlamydogénèse se trouve au contraire privilégiée sur les substrats en voie d'épuisement et sur les milieux faiblement oxygénés (61, 133, 135). Ainsi chez *P. palmivora* le rythme de formation des chlamydospores entre en phase exponentielle après l'épuisement de l'azote disponible dans le milieu (61). Chez la même espèce, le début de cette phase exponentielle peut être significativement avancé par des conditions d'anaérobiose partielle. Les faibles tensions en oxygène favorisent également la formation des oospores qui sont plus nombreuses dans un milieu contenant de 1 à 5 p. cent d'oxygène que sur un substrat bien aéré (133).

Les stérols, nous l'avons vu, ne sont pas indispensables à la croissance du thalle ils sont par contre nécessaires à toutes les formes de sporulation. En leur absence les *Phytophthora* ne sporulent pas ou produisent des spores mal constituées (51, 52, 61, 73).

Influence des facteurs physico-chimiques.

La température et le pH.

La sporocystogénèse est en général favorisée aux températures proches de l'optimum thermique pour la croissance du mycélium, la chlamydogénèse et la reproduction sexuée sont au contraire avantagées par les températures plus basses. Chez *P. palmivora* et *P. parasitica* la production des sporocystes est particulièrement abondante entre 28 et 30 C, alors que la chlamydogénèse est stimulée entre 18 et 22 C (61, 132). et l'oogénèse entre 18 et 25 C, suivant les souches (13, 58).

Les valeurs de pH qui permettent la meilleure croissance du mycélium sont également favorables à la production des sporocystes des chlamydospores et des oospores. Sur milieu temponné, *P. palmivora* forme chlamydospores et oospores de pH 4 à pH 7 avec un maximum entre pH 5,5 et

pH 6.

La lumière.

La lumière est sans action sur la chlamydogénèse. Elle stimule en revanche la sporosystogénèse et inhibe l'oogénèse.

Le rôle stimulateur des radiations lumineuses de faible longueur d'onde (inférieure à 540 nm) sur la reproduction asexuée, mis en évidence pour la première fois par ARAGAKI et HINE (3) chez *P. parasitica*, fut par la suite confirmé chez différentes espèces homothalliques et hétérothalliques.

Parmi les espèces homothalliques parasites des agrumes, *P. cactorum* et *P. boehmeriae* sont en général sensibles à la lumière, alors que certains isolats de *P. syringae*, *P. megasperma*, et *P. citricola* ne le sont pas (48). Parmi les espèces hétérothalliques *P. drechsleri*, *P. citrophthora*, *P. parasitica* et surtout *P. palmivora* répondent toujours de façon positive à l'irradiation. L'intensité de la réponse, matérialisée par le taux de formation des sporocystes, varie toutefois considérablement en fonction des espèces et des souches de chaque espèce. L'action de la lumière sur *P. cinnamomi* est mal connue, mais il semble que l'éclairement active la formation des sporocystes lorsque sont par ailleurs réunies les conditions nutritionnelles spéciales à la sporulation de cette espèce.

Le spectre d'action de la lumière sur la reproduction asexuée a été établi par MERZ (86) puis, d'une façon plus précise, par HUGUENIN (60). Ce dernier, utilisant les radiations monochromatiques d'un illuminateur spectral, a déterminé que, pour un flux énergétique constant de 100 $\mu\text{w cm}^{-2}$, l'action stimulatrice de la lumière atteint un maximum à 420 nm, dans le bleu, puis décroît ensuite jusqu'à 575 nm. Une seconde stimulation de faible amplitude s'observe à 630 nm dans le rouge. L'intensité de l'illumination peut également influencer la production des sporocystes : selon LILLY (81) un éclairage intense, de l'ordre de 7.000 lux inhibe la sporocystogénèse chez certaines espèces dont *P. citricola*.

Différents auteurs (48, 58, 59, 60) ont montré que la lumière blanche inhibe la reproduction sexuée des *Phytophthora*. Chez *P. palmivora*, cette inhibition, dont l'intensité est directement proportionnelle à la densité du flux lumineux, est partielle sous un flux énergétique de 65 $\mu\text{w/cm}^2$, et

complète sous $650 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. Il a été démontré (59) que la lumière agit sur les phases précoces de la gamétogénèse, probablement en empêchant l'induction de la différenciation des gamétocystes. Aussi pour être efficace, l'irradiation doit-elle être appliquée avant que ne s'établisse le contact entre les hyphes sexuels ; une irradiation postérieure à cette rencontre est inefficace. Les radiations inhibitrices de l'oogénèse ont une longueur d'onde comprise entre 420 nm et 540 nm. En illumination monochromatique, le maximum d'inhibition est obtenu à 480 nm. Au-dessus de 540 nm, les radiations lumineuses ont au contraire un léger effet stimulateur sur la reproduction sexuée tout comme, rappelons-le, sur la reproduction asexuée (60).

GERMINATION DES SPORES

Les sporocystes.

Deux facteurs externes : la température et l'hygrométrie conditionnent la germination des sporocystes, qui peut être directe ou indirecte.

La germination est directe lorsque le sporocyste élabore directement l'ébauche d'un thalle en émettant des filaments germinatifs (photos 8, 9). Ce type de germination survient aux températures proches de l'optimum thermique pour la croissance ou en l'absence d'eau libre.

La germination est indirecte lorsque le sporocyste différencie et libère des zoospores (photos 7 a, b, c, d, e). Les zoospores résultent de la fragmentation du protoplasme du sporocyste. Elles sont uninucléées, biflagellées et capables de se déplacer dans l'eau. En présence d'eau libre ce type de germination est généralement induit par un choc thermique. Un abaissement de 8 à 10° C de la température pendant un laps de temps variant de 15 à 60 minutes déclenche l'ouverture de la papille et l'expulsion des zoospores par le pore apical du sporocyste. Plus rarement c'est la rupture de la paroi du sporocyste qui entraîne la libération des zoospores. La germination indirecte est vraisemblablement la plus fréquente dans la nature. Elle est aussi la plus efficace pour assurer la dissémination du parasite. Chaque sporocyste libère en effet de 10 à 30 zoospores qui peuvent conserver leur mobilité propre pendant près de 24 heures, et sont

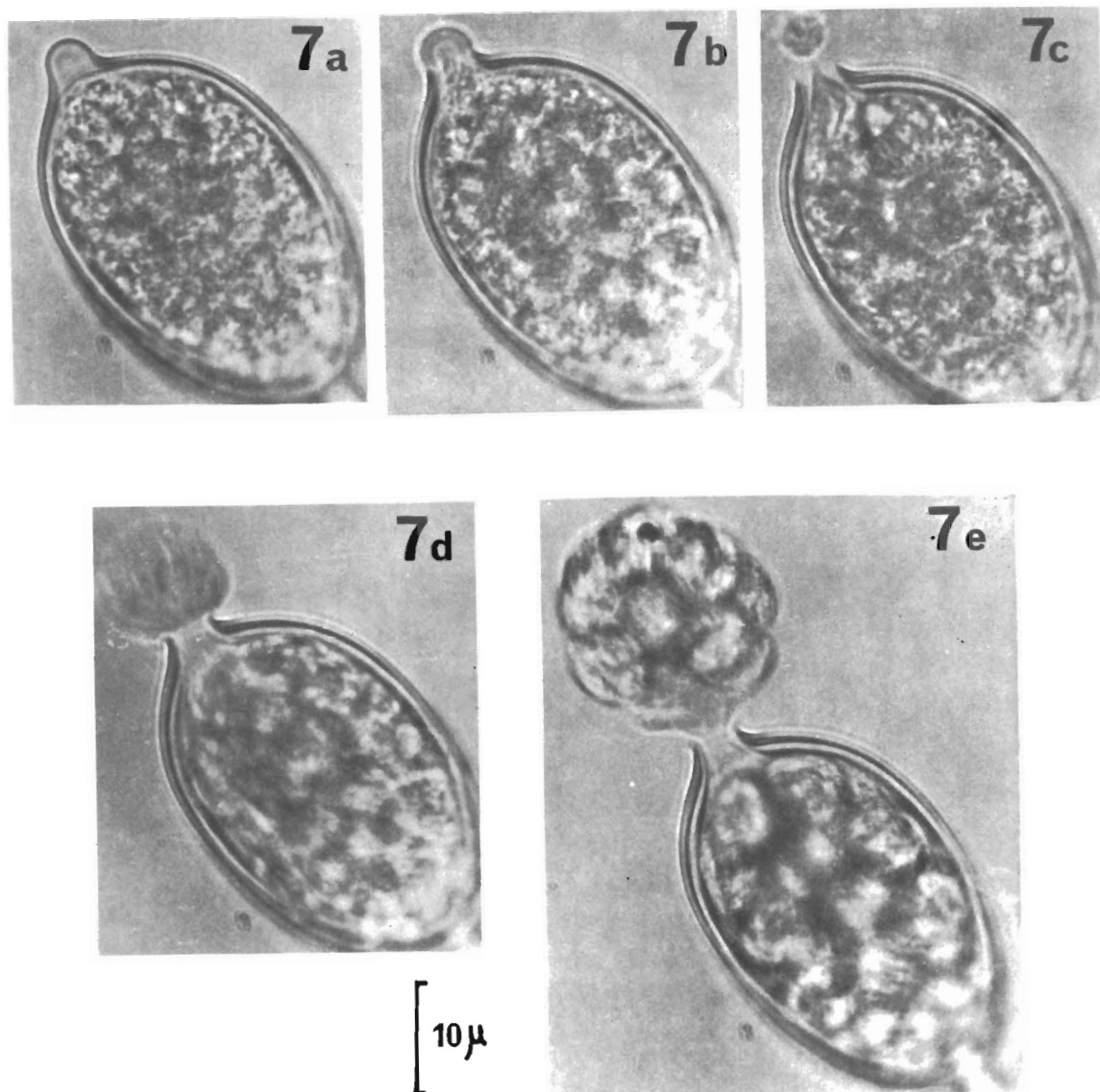
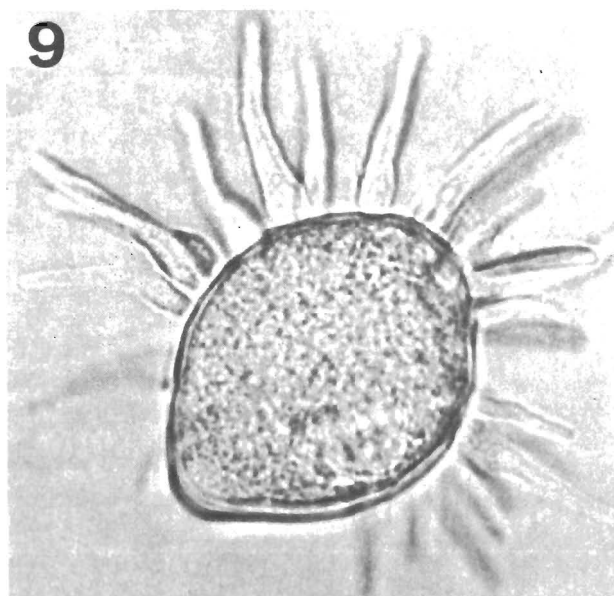
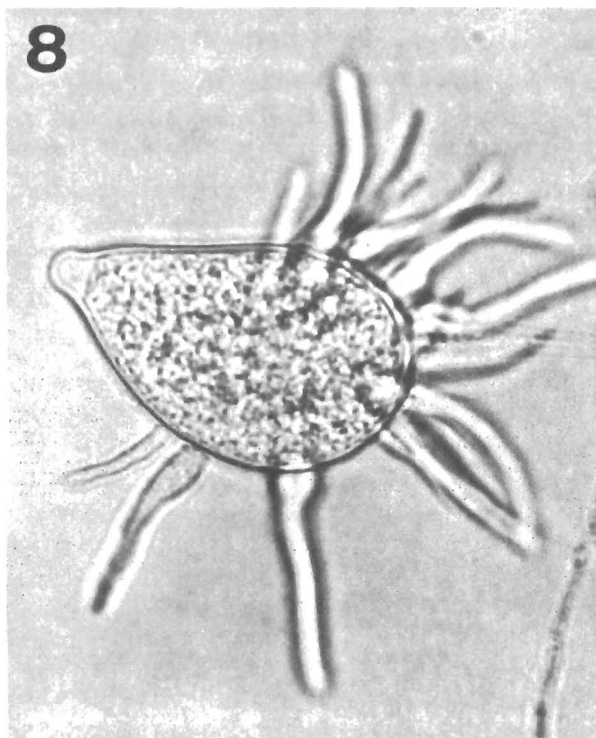


Photo 7 (a, b, c, d, e). Germination indirecte d'un sporocyste chez *P. parasitica* : différentes phases de l'émission des zoospores.



Photos 8 et 9. Germination
directe de sporocystes chez
P. parasitica.

ainsi capables de se déplacer dans les eaux de ruissellement sur des distances considérables. Ces zoospores obéissant à un chimiotactisme, sont en outre attirées par diverses substances, dont les acides aminés (65) et par certains exsudats végétaux, notamment ceux qu'excrètent les racines de Citrus. Après avoir nagé pendant une période qui selon TARJOT (127) est d'autant plus longue que la tension en oxygène du milieu est plus faible, après s'être agrégées à la surface de l'organe végétal qui les a attirées, les zoospores rétractent leurs flagelles, s'enkistent en prenant un aspect sphérique, et émettent rapidement un tube germinatif. Cet hyphe s'orientant vers la source de la substance chimiquement attractive, pénètre dans les tissus de l'hôte, le plus souvent après avoir formé un appressorium. Les zoospores de *P. parasitica* sont peu sensibles à l'action fongistatique du sol et leur taux de germination, lorsque les conditions hygro-métriques sont favorables, est supérieur à celui des conidies d'autres champignons [tel le *Glomerella cingulata* (85)]. Une des raisons de cette supériorité pourrait être, d'après MENYONGA (85), la résistance des zoospores aux antibiotiques polyènes émis dans le sol par les actinomycètes.

La germination des sporocystes n'est pas toujours immédiate. Lorsque l'environnement est défavorable, le sporocyste peut survivre pendant d'assez longues périodes, jusqu'au retour des conditions propices à sa germination. HOLDAWAY et TSAO (54) ont observé la germination de sporocystes de *P. parasitica* conservés pendant 180 jours dans un sol maintenu à 12°C. Cette fonction d'organe de résistance n'est cependant qu'un rôle annexe pour les sporocystes qui, résistant assez mal à la dessiccation, sont avant tout des organes de dissémination.

Les chlamydospores.

Les véritables propagules de résistance sont les chlamydospores. Leur morphologie caractérisée par une paroi épaisse, et aussi probablement une activité métabolique réduite, leur confèrent dans le sol une bonne résistance à la dessiccation. Cette résistance varie en fonction de deux paramètres : la température et l'hygrométrie. Dans un sol retenant de 50 à 75 p. cent de sa capacité totale de rétention en eau, la survie des chlamydospores de *P. parasitica* est optimum à 12°C. lorsque le sol contient seulement 20 p. cent de sa capacité de rétention la durée de survie atteint

son maximum à 25°C : elle peut alors excéder 55 semaines (53, 54, 55). La germination des chlamydospores qui est faible, voire nulle, à basse température et en milieu liquide sous faible tension d'oxygène, s'effectue normalement sur milieu nutritif aux températures proches de l'optimum thermique. Les chlamydospores germent directement en émettant des filaments générateurs d'un thalle. Lorsque toutefois les conditions d'environnement sont défavorables au développement du mycélium, les hyphes germinatifs cessent rapidement de croître et différencient parfois des sporocystes terminaux (132) qui peuvent libérer des zoospores.

Les oospores.

Pendant une courte période, le jeune oogone en cours de différenciation est capable de germer si on le sépare du thalle qui l'a produit (9). Cette aptitude germinative précoce qui reflète simplement la capacité de bouturage de l'organe néoformé dont l'évolution physiologique normale a été interrompue, disparaît en quelques heures, dès que débute dans l'oogone le processus de divisions nucléaires conduisant à la formation de l'oospore. Aussitôt formée, l'oospore entourée d'une double paroi épaisse entre en dormance.

Cette dormance, dont l'origine est indépendante des facteurs externes, est, semble-t-il, déclenchée par un stimulus endogène : elle est constitutive (9). La levée de la dormance et la germination dont les modalités dans la nature restent inconnues, sont difficiles à obtenir *in vitro*, notamment chez les espèces hétérothalliques, ce qui a longtemps interdit toute étude génétique des *Phytophthora*. Ce n'est qu'au cours de la dernière décade que cette difficulté a pu être partiellement surmontée, par la mise au point de diverses méthodes permettant d'induire la germination des oospores.

Dans la plupart des techniques d'induction proposées par les auteurs la lumière joue un rôle capital. Les oospores sont en général irradiées *in situ*, dans leur milieu de culture. La lumière du jour est efficace (45, 64, 74, 117), mais elle peut être remplacée par une lumière artificielle fluorescente (5, 9, 58, 99, 114). Les radiations bleu-violet sont les plus actives, suivies par les radiations rouges. Les fortes intensités lumineuses peuvent être inhibitrices, et une intensité inférieure à 1.000 lux est suffisante pour

induire la levée de la dormance. C'est avec un dispositif d'éclairement en lumière blanche (type lumière du jour) fournissant 700 lux, ce qui représente au niveau des oospores incluses dans le milieu une énergie utilisable d'environ $0,15 \mu\text{w}/\text{cm}^2$, que nous avons obtenu chez *P. parasitica*, *P. palmivora* et *P. cinnamomi* les taux de germination les plus élevés, après une irradiation de six semaines succédant à une incubation de 15 jours à l'obscurité (58). La majorité des auteurs s'accorde à reconnaître la nécessité d'une période de maturation à l'obscurité de 10 à 15 jours avant l'application du traitement lumineux. L'irradiation peut être continue ou appliquée en alternance avec des périodes d'obscurité, le rythme 12 heures de lumière - 12 heures d'obscurité, étant le plus fréquemment employé. La durée du traitement inducteur varie avec les auteurs, il semble cependant que, dans la majorité des cas, une période de maturation d'au moins vingt jours, dont dix à l'obscurité, soit nécessaire à l'induction de la germination.

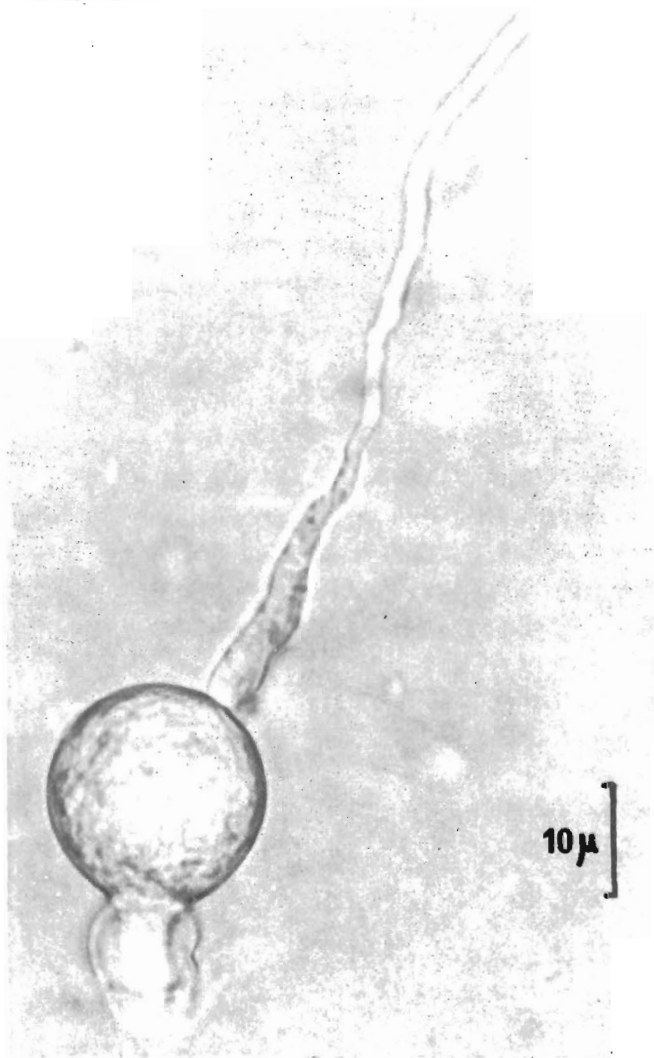
Les oospores germent rarement *in situ*. Il convient donc, après le traitement inducteur, de les extraire du milieu et de les séparer du mycélium, ce qui peut se faire par une succession de broyage, filtration et centrifugation, puis de les placer sur un substrat de germination neuf. La nature de ce substrat est indifférente, il peut être gélosé ou liquide. La meilleure solution est, à notre avis, de laisser la germination débiter dans l'eau stérile avant de transférer les zygotes sur un milieu de culture.

Sur le plan morphologique, la fin de la dormance s'accompagne de profondes modifications de l'oospore. Le protoplasme, perdant son aspect homogène et réfringent, devient granuleux et retrouve l'apparence qui était sienne avant la différenciation de l'oospore. Dans le même temps les parois de la spore s'estompent, la turgescence du protoplasme augmente jusqu'à ce qu'il occupe la totalité de la loge oogoniale. La germination peut alors suivre deux voies différentes. Dans le premier cas, de loin le plus fréquent, la germination est directe : l'oospore émet un ou plusieurs filaments germinatifs qui développent un thalle (photos 10, 11, 12 et 13). Dans le second cas, le tube germinatif unique différencie à son apex un sporocyste qui peut libérer son contenu sous forme de zoospores.

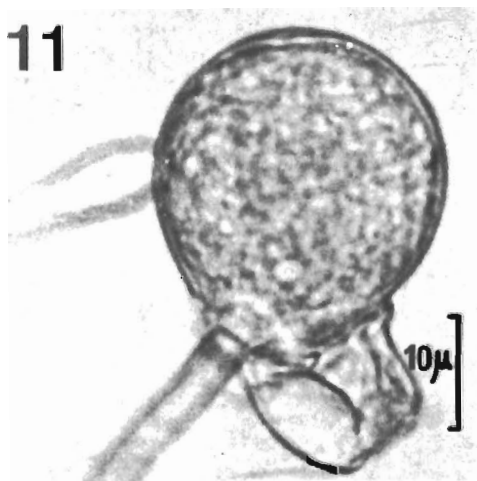
Les taux de germination obtenus *in vitro* varient considérablement en fonction des espèces et des souches de chaque espèce. Hormis quelques

10

37.



11



Photos 10 et 11. Germinations d'oospores
chez *P. parasitica*.

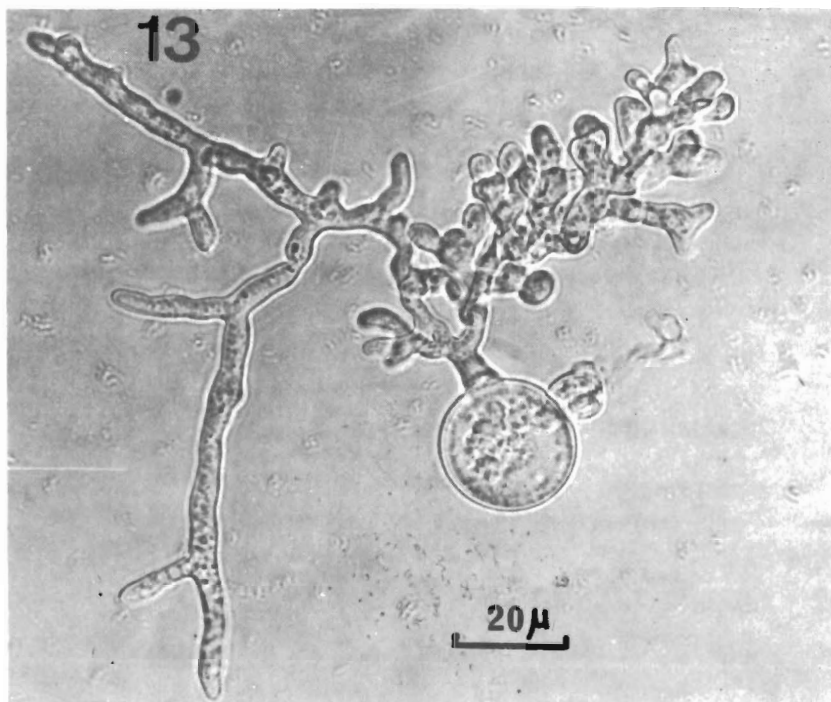
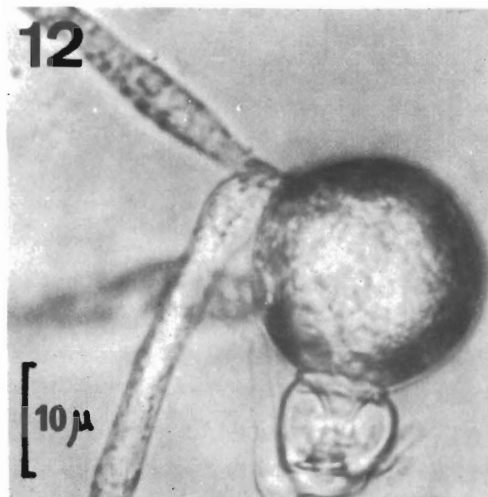
exceptions (10, 64, 117), ils sont dans l'ensemble assez faibles, généralement inférieurs à 20 p. cent.

Bien que l'on ignore les modalités de la germination des oospores dans la nature, il est probable que la lumière n'est pas le seul facteur à intervenir, si toutefois elle intervient, dans la maturation et la germination naturelles des spores sexuelles. L'action des microorganismes et celle des petits invertébrés (mollusques, insectes) sont sans doute importantes. Des microorganismes tel que les *Streptomyces* exercent sur les oospores une action protectrice en induisant une mélanisation de la membrane oogoniale qui accroît la résistance de l'oospore aux actions lytiques des antagonistes de la microflore (56). De leur côté les mollusques et sans doute aussi certains insectes, peuvent accélérer ou déclencher le processus de maturation en ingérant les oospores. Des expériences réalisées *in vitro* ont montré que des oospores de *P. megasperma* (107) et de *P. cactorum* (116) âgées d'au moins quatre semaines, ingérées respectivement par *Helix aspersa* MULLER et *Planorbis corneus* LINN., puis rejetés dans les fèces, germent suivant des taux particulièrement élevés (73 p. cent et 67 p. cent). La stimulation de la germination est due, dans ce cas, à l'action des enzymes digestifs des escargots. Le complexe enzymatique bêta-glucuronidase/aryl-sulfatase modifie la perméabilité de la paroi de l'oospore aux facteurs externes en la digérant partiellement et déclenche ainsi la germination (107).

LA VIE SAPROPHYTIQUE DES *PHYTOPHTHORA*

La vie saprophytique des *Phytophthora* se déroule essentiellement dans le sol. Elle offre de ce fait peu d'accès à l'investigation et nos connaissances à son sujet sont fragmentaires. Il est cependant généralement admis que le pouvoir de compétition saprophytique des *Phytophthora* est assez faible (62, 133). En effet, à l'exception de quelques espèces qui, tel le *P. cinnamomi*, peuvent développer un mycélium abondant dans le sol (144), la majorité des *Phytophthora* est tenue pour incapable d'en assurer la colonisation mycélienne active. Ainsi *P. palmivora* et *P. parasitica*, en particulier, ne développent leur mycélium que sur quelques centimètres à partir du point d'inoculation dans un sol naturel non stérile (132). Lorsque

Photos 12 et 13. Germinations
d'oospores chez *P. parasitica*.



la capacité nutritive d'un tel sol est augmentée par un amendement organique (glucose, asparagine, fragments végétaux frais) ou lorsqu'il est saturé d'eau, la croissance mycélienne peut être plus abondante et plus prolongée, tout en restant limitée par rapport à ce qu'elle est dans un sol stérilisé préalablement à l'inoculation. Ceci montre que la concurrence des éléments de la microflore du sol est un facteur qui limite l'expansion mycélienne des *Phytophthora*. Les micro-organismes agissent indirectement en conférant au sol un certain pouvoir fongistatique par leurs exérétats, et directement en colonisant les hyphes de *Phytophthora* dont ils provoquent la lyse. Le rôle des actinomycètes et des bactéries en ce domaine est particulièrement important. HONOUR (56) a montré qu'un inoculum mycélien de *P. parasitica* dans un sol naturel est éliminé totalement en moins de dix jours par l'action lytique de *Streptomyces sp.* En dehors des périodes où les conditions d'environnement (température, hygrométrie) sont particulièrement propices au déclenchement d'une phase de dissémination par l'intermédiaire de la reproduction asexuée (sporocystes, zoospores), il apparaît très probable que le maintien du pouvoir infectieux du sol est assuré par la persistance des propagules résistant à la concurrence de la microflore et aux conditions climatiques défavorables, plutôt qu'à des éléments mycéliens en croissance active. Ces propagules sont essentiellement les chlamydospores et les oospores qui peuvent traverser la longue période de latence ou de dormance et résister à l'action lytique des actinomycètes (56), avant de germer.

La figure 3, inspirée du diagramme proposé par TSAO (133), donne une représentation schématique de l'incidence des facteurs externes essentiels sur le déroulement de la phase saprophytique de *P. parasitica*. Ce modèle peut être appliqué aux autres espèces parasitant les agrumes, les variations de l'influence des facteurs physico-chimiques sur chacune d'entre elles étant le plus souvent quantitatives.

IV - GÉNÉTIQUE

Nos connaissances sur la génétique des *Phytophthora* sont encore relativement modestes parce que d'acquisition récente. L'ensemble des informations, parfois contradictoires, recueillies au cours de ces dernières

années, permet cependant de mieux comprendre les bases génétiques de la sexualité, du cycle caryologique et de la variabilité des *Phytophthora*, mais aussi de concevoir plus clairement la nature des relations que le parasite entretient avec ses hôtes.

LA SEXUALITE

Hétérothallisme et reproduction sexuelle.

C'est à GALLEGLY et GALINDO (41) que revient le mérite d'avoir clarifié la notion d'hétérothallisme chez les *Phytophthora*. Ces auteurs découvrirent chez *P. infestans*, espèce type du genre, l'existence de deux types de compatibilité qu'ils désignèrent conventionnellement par les symboles A1 et A2, et montrèrent que toutes les souches des espèces hétérothalliques, à l'exception de rares isolats sexuellement stériles, peuvent être classées dans l'un de ces deux groupes de compatibilité. La compatibilité est indépendante de l'espèce et, tout croisement entre un isolat de type A1 et un isolat de type A2 produit en principe des oospores, quelle que soit la position taxonomique des deux confrontants (115). Le nombre d'oospores formées, et parmi celles-ci, la proportion de spores bien constituées, reflètent en première analyse, la fertilité du croisement. En règle générale, la fertilité des croisements intraspécifiques est plus grande que celle des croisements interspécifiques (12, 115). A la limite il existe d'assez nombreuses combinaisons stériles entre des souches théoriquement compatibles : cela indique qu'au-delà du système de compatibilité A1 - A2, interviennent d'autres facteurs génétiques déterminant la plus ou moins grande complémentarité des génomes.

Les travaux de GALINDO et GALLEGLY (39), après ceux de STAMPS (122) de KOUYEAS (70) et d'APPLE (2) ont montré que tout isolat de *Phytophthora* est potentiellement bisexué, capable de produire des organes mâles et femelles. Suivant les croisements, les isolats des espèces hétérothalliques manifestent cependant des tendances variables et plus ou moins marquées à se comporter en souche mâle ou en souche femelle, chacun d'entre eux restant néanmoins capable de différencier en proportion variable au sein de chaque croisement les deux types d'orga-

nes : oogones et anthéridies (39). L'hétérothallisme chez les *Phytophthora* n'est donc pas simplement morphologique, comme c'est le cas chez les Saprolegniales (*Achlya*), et il est aujourd'hui généralement admis que les types complémentaires A1 et A2 chez les *Phytophthora* correspondent à de véritables types de compatibilité génétique et non pas seulement à des types sexuels morphologiques. Deux systèmes de régulation coordonnent donc la reproduction sexuelle chez les *Phytophthora* hétérothalliques. Le premier se manifeste par l'expression de tendances sexuelles mâles ou femelles variables en fonction des croisements. Ce système de régulation à «facteurs sexuels multiples et alternés» selon la terminologie de RAPER (95), règle la sexualité de l'ensemble du groupe des Phycomycètes biflagellés. Le second système est particulier au genre *Phytophthora*, il fait intervenir un mécanisme de compatibilité génétique à deux groupes : A1 - A2. La nature du support génétique de la compatibilité n'est pas encore connue, les études récentes sur ce caractère indiquent cependant qu'il pourrait être placé sous un déterminisme polygénique complexe.

La bisexualité intrinsèque des *Phytophthora* qui s'exprime sans entrave chez les espèces homothalliques est inhibée (ou réprimée) chez les espèces hétérothalliques. L'efficacité de l'inhibition (ou de la répression) des chaînes métaboliques aboutissant à la différenciation des gamétoécystes, n'est pas identique chez toutes les espèces. Certaines d'entre elles, bien que considérées comme hétérothalliques, forment parfois en culture pure sénescence des oospores normalement constituées, c'est le cas notamment de *P. parasitica*. La force de l'inhibition de la gamétogénèse n'est pas non plus la même chez les souches de type A1 et celles de type A2. Chez ces dernières l'inhibition est plus fragile, plus facilement réversible. Il est en effet connu que de très nombreux isolats hétérothalliques A2 de différentes espèces peuvent produire des oospores en culture pure sous l'effet de diverses stimulations : culture en présence d'extrait de racines d'avocatier (143), culture en présence de chloroneb (90), culture en présence de *Trichoderma viride* (14), ou simplement réaction à un traumatisme mycélien d'origine mécanique. Aucune stimulation comparable n'a jusque là pu être mise en évidence chez les isolats de type A1.

Il apparaît aujourd'hui très vraisemblable que l'induction de l'auto-fécondation chez les espèces hétérothalliques par des stimuli exogènes est un phénomène fréquent dans la nature, et l'on peut raisonnablement

penser que de nouveaux mécanismes de stimulation seront mis en évidence.

La rencontre de souches compatibles n'est donc pas indispensables à la réalisation de la reproduction sexuée des espèces hétérothalliques qui disposent ainsi de plusieurs voies pour accomplir cette importante étape de leur cycle : la voie des croisements intraspécifiques, celle des croisements interspécifiques, et celle de l'autofécondation induite.

Cette constatation, qui suggère que l'intervention de la reproduction sexuée dans le cycle naturel du parasite est vraisemblablement tout aussi fréquente chez les espèces hétérothalliques que chez les espèces homothalliques conduit à s'interroger sur l'incidence du phénomène sur la variabilité des *Phytophthora* dans la nature.

La mise en évidence de recombinaisons génétiques concernant des caractères morphologiques, biochimiques et pathogéniques, parmi les descendants d'oospores de plusieurs espèces, a clairement démontré que la reproduction sexuée est une source potentielle de variation génétique chez les *Phytophthora* tout comme chez les autres organismes. Ses conséquences doivent être évaluées en fonction des connaissances actuelles sur le cycle caryologique du parasite.

LE CYCLE CARYOLOGIQUE

Dans la plupart des études génétiques récentes consacrées aux *Phytophthora*, les auteurs se sont avant tout attachés à déterminer la nature du cycle caryologique du parasite, alimentant ainsi la vive controverse qui s'est développée ces dernières années au sujet du niveau de ploïdie des noyaux somatiques des Oomycètes biflagellés.

Les théories du cycle, leurs fondements cytologiques.

Deux thèses sont en présence.

Selon la théorie classique la phase végétative du cycle des Oomycètes biflagellés, comme celle de la plupart des champignons, est haploïde. La diplophase se réduit au seul zygote issu de la fécondation de l'oogone par

un noyau anthéridial. La fusion de deux noyaux gamétiques, puis la méiose se déroulent dans l'oospore avant sa germination qui produit ainsi un thalle pourvu de noyaux haploïdes.

Cette thèse est fondée sur des travaux anciens, réalisés au début du siècle par WAGER (140), DAVIS (24) et STEVENS (126). Ces auteurs observèrent les noyaux en division dans les gamétocystes de *Peronosporales* sans déceler de réduction dans le nombre des chromosomes. Ils en conclurent que ces divisions étaient mitotiques et, qu'en conséquence, la méiose se déroulait vraisemblablement dans le zygote. Leurs observations furent ultérieurement confirmées par d'autres auteurs (82, 88, 128, 146) qui constatèrent en outre, une diminution du nombre des chromosomes au cours des premières divisions nucléaires précédant la germination de l'oospore chez différentes *Saprolegniales* et *Péronosporales*. Plus récemment, STEPHENSON et col. (124) comparant la division des noyaux dans le mycélium et les gamétocystes chez *P. capsici* et *P. megasperma*, ne relevèrent aucune différence entre les deux types d'organes et conclurent qu'il s'agissait dans les deux cas de divisions mitotiques. Leurs conclusions ne sont cependant pas réellement convaincantes car les photographies de gamétocystes sur lesquelles est fondée leur argumentation, ne montrent à notre avis, que des noyaux interphasiques en phase prédivisionnelle. L'examen de phases plus tardives dans le développement des organes sexuels leur aurait sans doute permis d'observer un processus caryocinétique tout à fait différent de celui des noyaux somatiques (SANSOME, communication personnelle). Dans un autre article (123) ces mêmes auteurs présentèrent, par contre, des photographies pouvant suggérer des configurations méiotiques dans l'oospore de *P. capsici* avant sa germination, ce qui les conduisit à prendre position en faveur de la thèse du cycle essentiellement haploïde.

A cette conception classique du cycle s'oppose une thèse moderne suivant laquelle la phase végétative du cycle est diploïde. La méiose et par conséquent l'haplophase, se déroulent dans les gamétocystes : anthéridie et oogone, avant la fécondation de cette dernière par un noyau gamétique anthéridial. La caryogamie survient dans l'oospore dont la germination produit alors un thalle pourvu de noyaux diploïdes.

C'est SANSOME (108, 109, 110, 111, 112) qui proposa cette nouvelle

théorie du cycle après avoir identifié dans les gamétocystes de plusieurs Oomycètes des divisions nucléaires de type méiotique contrastant avec les divisions observées dans les organes somatiques. Ses observations furent en partie confirmées par GALINDO et ZENTMYER (40) puis d'une manière plus complète par DICK et WIN-TIN (25). Elles concordent en outre entièrement avec celles que nous avons réalisées chez *P. parasitica* (57). Chez cette espèce, comme chez les autres *Phytophthora*, il apparaît que le mode de division des noyaux dans les organes végétatifs (mycélium, sporocystes) diffère fondamentalement de celui qui s'observe dans les gamétocystes.

Dans les organes somatiques les mitoses sont intranucléaires et atypiques. Les stades classiques de la division mitotique sont difficilement identifiables car les chromosomes, qui restent inclus à l'intérieur de la membrane nucléaire pendant tout le processus divisionnel, sont rarement individualisés. Le caractère intranucléaire de la mitose et la persistance de la membrane du noyau, qui furent parfois contestés, sont aujourd'hui clairement démontrés par les remarquables photographies obtenues en microscopie électronique par HEMMES et HOHL (49).

Dans les gamétocystes la division des noyaux débute de façon synchrone dans l'anthéridie et l'oospore de chaque couple. La première phase est un gonflement important du noyau. Elle est suivie par la disparition de la membrane nucléaire et l'individualisation nette des chromosomes. Les phases ultérieures montrent une contraction progressive des chromosomes et présentent des figures d'appariements et des configurations d'aspects chiasmiques, auxquelles succèdent une métaphase et une anaphase classique. Dès la fin de l'anaphase les noyaux entreprennent une seconde division, plus rapide, qui aboutit à la mise en place dans les organes mâles et femelles des noyaux gamétiques. La taille de ces noyaux est d'environ deux fois inférieure à celle des noyaux somatiques en interphase. La copulation intervient alors, et un noyau anthéridial pénètre dans l'oogone par un canal de fécondation qui s'ouvre à la base de cette dernière (50).

La très petite taille des noyaux qui, de surcroît, sont inclus dans un cytoplasme oogonial abondant et dense n'a pas permis, jusqu'à présent, d'identifier avec certitude les phases typiques de la méiose (stades pachytène et diplotène et diacinèse), cela a conduit les tenants de la

thèse du cycle haploïde à contester la nature meïotique des divisions observées dans les gamétocystes. Il semble cependant peu conforme à la logique d'admettre qu'il existe chez les *Phytophthora* deux types radicalement différents de mitoses : le premier localisé dans les organes somatiques, le second ayant son siège dans les organes sexuels. Il est en revanche plus vraisemblable que la succession de deux divisions, la contraction progressive des chromosomes au cours de la première prophase, les configurations chiasmiques, et la réduction de la taille des noyaux gamétiques, représentent, dans les gamétocystes, les différentes étapes de la méïose.

Cette interprétation est renforcée par les résultats obtenus en microspectrophotométrie par BRYANT et HOWARD (15) qui ont démontré chez *Saprolegnia terrestris* que les noyaux oogoniaux et anthéridiaux contiennent, avant division, quatre fois plus d'ADN que les noyaux gamétiques.

Les arguments de la génétique.

Toutes les études génétiques consacrées aux Oomycètes indiquent que, dans la quasi-totalité des cas, il n'y a pas de ségrégation phénotypique des caractères parentaux dans la descendance d'une oospore unique : chaque oospore produit un thalle fils, qui, même soumis à un clonage monozospore, n'exprime qu'un seul phénotype. Ce phénomène s'explique aisément si l'organisme est diploïde. Dans cette hypothèse, en effet, le phénotype du thalle issu de la germination de l'oospore n'est déterminé que par le seul noyau diploïde résultant de la caryogamie. Si au contraire l'organisme est haploïde, les quatre produits de la méïose devraient, d'une façon ou d'une autre, s'exprimer à la germination de l'oospore ; à moins que trois d'entre eux ne dégénèrent avant la germination et que, seul, le noyau survivant ne détermine le phénotype de la descendance.

GALINDO et ZENTMYER (40) ont envisagé cette dernière hypothèse initialement formulée par KOHLER (69) à propos de *Mucor mucedo*, dans une étude chez *P. drechsleri*, sans toutefois parvenir à une conclusion nette : leurs résultats comportent des arguments en faveur de chacune des deux théories du cycle.

L'éventualité de la survie d'un seul des noyaux meïotiques est égale-

ment évoquée par TIMMER et col. (129), qui ont étudié chez *P. capsici* la ségrégation du type de compatibilité, de la résistance à la streptomycine, et de l'auxotrophie pour l'arginine et la méthionine. Les principaux arguments qui les conduisent à prendre nettement position en faveur du cycle haploïde sont : d'une part l'obtention de mutants auxotrophes par irradiation de zoospores aux U.V. (20) et d'autre part l'apparition de quatre classes de descendants dans la première génération (F1) de croisements du type $met^-arg^+ \times met^+arg^-$. Les répartitions aberrantes observées en F1 pour ces caractères, et notamment l'excès de descendants prototrophes, sont attribués à la ségrégation de gènes supprimeurs des déficiences pour l'arginine et la méthionine. Le caractère strictement hypothétique de l'explication présentée par les auteurs ne renforce pas leur interprétation de résultats qui, par ailleurs, sont fortement hypothéqués par la faiblesse des taux de germination (de 0,5 à 5 p. cent) sur lesquels ils reposent.

Les résultats obtenus par SHAW et KHAKI (64, 117) chez *P. drechsleri* sont, quant à eux, solidement établis sur des pourcentages de germination élevés (de 41 à 100 p. cent) qui garantissent mieux la représentativité des descendance analysées. Ces auteurs ont croisé des souches sauvages avec des souches mutantes résistantes à la parafluorophénylalanine (mutants spontanés), ou résistantes au chloramphénicol (mutants induits par la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine). Dans tous les cas, la première génération (F1) a produit une descendance homogène composée de souches résistantes, et les facteurs de résistance ont ségrégué en F2 et en «back-cross» suivant des proportions de type 1R/1S et 3R/1S, respectivement. Ces résultats sont conformes à ceux attendus dans l'hypothèse de la diploïdie. Ils indiquent, selon l'interprétation la plus simple, que chez chaque souche mutante parentale la résistance était contrôlée par un gène dominant présent à l'état homozygote. Cette homozygotie, inattendue chez des souches mutantes, est attribuée par les auteurs à des recombinaisons mitotiques postérieures à la mutation.

Une conséquence importante de la bisexualité potentielle des *Phytophthora*, caractéristique que nous avons évoquée plus haut, est que tout croisement entre deux souches hétérothalliques peut produire deux types d'oospores. Les unes, hybrides, proviennent de la fusion des gamétocystes

des deux souches parentales, les autres sont issues de l'autofécondation de chacun des parents. Il n'existe, à notre connaissance, aucun moyen réellement efficace de discerner l'origine des oospores dans un croisement intraspécifique, dont la descendance peut donc résulter de proportions variées et indéterminables de zygotes hybrides et de zygotes autofécondés. Ainsi, HUGUENIN a-t-il trouvé que certains croisements de *P. palmivora* peuvent produire 40 p. cent et plus d'oospores issues de l'autofécondation de la souche parentale A2. Il est bien évident que dans ces conditions, la représentativité des descendance est sujette à caution, ce qui hypothèque toute interprétation fondée sur la répartition des marqueurs génétiques. Les résultats de TIMMER et col. (129), tout comme ceux de SHAW et KHAKI (117), sont soumis à cette incertitude.

Cette réserve ne s'applique pas, en revanche, à l'étude réalisée par ELLIOT et Mc INTYRE (29) chez une espèce homothallique : *P. cactorum*. Les auteurs ont traité à la N. nitrosoguanidine des zoospores qui ont donné naissance à des lignées d'origine mono-zoospores développant un mycélium prototrophe. La germination des spores sexuelles (oospores) de certaines de ces lignées prototrophes a produit des descendance hétérogènes ségrégeant divers caractères morphologiques ou nutritionnels (déficiences). Cette ségrégation indique que les caractères mutants, masqués sous forme d'hétérozygotes récessifs dans le génome des lignées monozoospores, ont été révélés dans la descendance sexuelle à la suite des réassortiments génétiques intervenus dans l'oospore. Le mode de ségrégation de l'un de ces marqueurs, l'auxotrophie pour la méthionine, a été suivi chez trois générations successives issues de l'une des lignées mutantes. Toutes les répartitions observées sont conformes à l'hypothèse d'un cycle végétatif diploïde chez *P. cactorum*.

Les espèces homothalliques forment en culture pure des zoospores et des oospores. Chez *P. syringae* ces dernières germent suivant des taux élevés (> 60 p. cent), et nous avons pu comparer des populations d'origine sexuelle (lignées mono-oospores) et des populations d'origine asexuelle (lignées mono-zoospores) issues d'une même souche homocaryotique (10). L'étude a porté sur un caractère quantitatif : la vitesse de croissance diamétrale du thalle, dont les variations ont été comparées chez les deux types de descendance, au cours de trois générations successives. Le carac-

tère, très stable dans les populations d'origine asexuelle, s'est révélé largement variable parmi les descendants d'oospores : les différences entre les deux types de population étaient hautement significatives.

Les variations génétiques dans les descendances sexuelles et asexuelles d'un clone haploïde peuvent avoir pour origine la mutation, génératrice d'hétérocaryose, ou la ségrégation de facteurs cytoplasmiques. Lorsque, chez un tel organisme, aucune de ces deux sources potentielles de variation ne se manifeste dans la descendance asexuelle, la reproduction sexuelle en elle-même ne peut produire par la voie de l'autofécondation que des descendants identiques au clone parental. Les deux types de descendances, soumis aux mêmes facteurs de variations, ne devraient donc pas différer significativement chez un organisme haploïde. Si au contraire le clone parental est diploïde et hétérozygote pour plusieurs loci, et si les oospores résultent de la fusion de produits méiotiques différents, leur descendance peut exprimer des combinaisons alléliques nouvelles. La variabilité des populations issues de la germination des spores sexuelles doit, dans ces conditions, être plus grande que celle des descendants de zoospores dont les noyaux ne proviennent que de divisions mitotiques.

Dans nos expériences (10), la variabilité phénotypique des descendances sexuelles ne s'explique donc pas simplement si *P. syringae* est haploïde. Elle se conçoit par contre aisément si la souche parentale homocaryotique est diploïde et hétérozygote pour différents loci contrôlant la vitesse de croissance du thalle.

Cette interprétation de nos résultats a été partiellement confirmée par Mc INTYRE et ELLIOT (83) chez *P. cactorum*. Ces auteurs ont toutefois mis en évidence une certaine variabilité phénotypique dans les descendances asexuelles, ce que nous n'avons pas observé chez *P. syringae*. Ils attribuent ces variations supplémentaires à la ségrégation de facteurs cytoplasmiques.

Un dernier argument en faveur de la thèse du cycle essentiellement diploïde a récemment été apporté par PELLEGRIN (91) qui a établi les courbes de survie de populations de zoospores irradiées par des doses croissantes de rayons γ . Plusieurs souches de *P. parasitica*, *P. citricola* et *P. palmivora* ont été étudiées. Une analyse statistique précise des courbes de

survie a démontré qu'elles sont sans conteste de type sigmoïdal (courbes à n coups), ce qui exclut la possibilité que les noyaux de zoospores irradiées aient pu être haploïdes. La méthode employée ne permet cependant pas de déterminer avec certitude le degré de ploïdie, et l'on pense aujourd'hui que si certaines espèces sont diploïdes, d'autres sont très vraisemblablement polyploïdes (113).

Il serait sans doute prématuré de considérer que le problème du cycle caryologique des *Phytophthora* est définitivement résolu. Les arguments en faveur de la thèse de la diploïdie apparaissent cependant plus nombreux, plus solides et plus convaincants que l'ensemble de ceux que proposent les défenseurs de la théorie alternative. L'avenir tranchera, mais il semble d'ores et déjà raisonnable de considérer que les *Phytophthora* se distinguent très probablement de la majorité des autres champignons phytopathogènes par une caractéristique fondamentale : leur degré de ploïdie.

VARIABILITE

La première conséquence théorique de la diploïdie probable des *Phytophthora* est que ces parasites bénéficient vraisemblablement d'une adaptabilité supérieure à celle des autres champignons phytopathogènes à cycle végétatif haploïde. L'adaptabilité d'un organisme, que nous définirons comme son aptitude à répondre à tout changement de la pression sélective de l'environnement par un ajustement phénotypique adéquat, dépend en effet de la capacité du génome à mettre en fonction des voies métaboliques nouvelles imposées par les nouvelles conditions d'environnement. Il est logique de penser que, pour cela, les ressources d'un génome diploïde sont plus diverses que celles d'un génome haploïde, et qu'en conséquence ses facultés d'adaptation seront plus étendues. Dans un génome haploïde, en effet, chaque caractère n'est représenté que par un seul allèle, et tout changement de ce caractère implique un événement génétique aboutissant à une modification génotypique, ce qui restreint les possibilités d'adaptation de l'organisme. Chez un tel organisme, tout événement intéressant le génome, toute mutation, peuvent en outre se traduire immédiatement par l'apparition d'un phénotype nouveau qui

court le risque d'être contre-sélectionné et éliminé si ses caractéristiques sont défavorisantes. Un génome diploïde au contraire, peut mettre en réserve et cumuler des potentialités génétiques nouvelles, qu'elles soient introduites par mutation ou par hybridation, pour éventuellement les exprimer en réponse à une modification des composantes de la pression de sélection du milieu. Dans une certaine mesure on peut donc dire qu'un génome diploïde possède une mémoire et un pouvoir tampon qui n'existent pas chez un organisme haploïde. En cumulant les potentialités nouvelles, un génome diploïde peut en outre atteindre des taux d'hétérozygotie élevés et les noyaux hétérozygotes ainsi formés peuvent subir directement des recombinaisons mitotiques génératrices de réassortiments géniques et d'hétérocaryose. La pression de sélection doit donc logiquement s'exercer chez les *Phytophthora* sur une base génétique plus large et plus diversifiée que chez d'autres champignons parasites à cycle végétatif haploïde.

Différentes données expérimentales (68, 72, 106) tendent à indiquer que dans le couple *agrume-Phytophthora*, comme dans d'autres complexes hôte-parasite, les relations entre le champignon et la plante sont régies par deux systèmes génétiques distincts et complémentaires. Dans le premier système, qui est le plus important dans le couple qui nous intéresse, les relations hôte-parasite s'établissent sur un plan polygénique : la résistance de la plante comme le pouvoir pathogène du champignon sont déterminés par des ensembles de gènes à effet le plus souvent cumulatif, et les relations dans le couple sont quantitatives. Selon la terminologie de VAN DER PLANCK (137) ce type de résistance plurifactorielle est qualifiée d'horizontale, elle s'oppose à l'agressivité du parasite. Dans le second système, les relations s'établissent sur un plan mono ou oligo-génique, elles résultent d'interactions gène pour gène. Chaque gène de résistance chez la plante peut, en principe, être contrebalancé par un gène de virulence chez le parasite. Cette résistance est dite verticale, elle s'oppose à la virulence du champignon, les relations entre le parasite et l'hôte sont alors qualitatives.

La quasi-totalité des études génétiques sur les relations hôte-parasite impliquant un *Phytophthora* sp. ont été réalisées chez le couple *P. infestans-Solanum demissum*. Leurs résultats ont démontré le rôle essentiel de la mutabilité du champignon dans l'évolution de son pouvoir pathogène.

Selon GRAHAM et col. (43, 44), l'apparition chez *P. infestans* de races virulentes nouvelles résulte de mutations au hasard, suivies de la sélection des génotypes mutants portant les caractères de virulence capables de surmonter les facteurs de résistance présents chez l'hôte.

La littérature n'offre aucune donnée prouvant qu'il en est de même chez les *Phytophthora* parasités des agrumes, mais selon toute vraisemblance, la mutabilité est également la source première de la variabilité du pouvoir pathogène chez ces espèces. Elle peut exercer ses effets aussi bien sur la virulence que sur l'agressivité, mais avec des conséquences différentes.

Ainsi, toute mutation à un locus gouvernant la virulence peut se traduire par un changement important de la pathogénie : par exemple acquisition de la virulence à l'égard d'une plante jusque là résistante, et déplacer brutalement en faveur du parasite l'équilibre précédemment établi entre ce dernier et son hôte. Cependant, en raison de la diploïdie probable des *Phytophthora*, le caractère mutant ne s'exprimera sans délai dans le phénotype que s'il est dominant par rapport à son allèle sauvage. Les mutations dominantes ne sont pas rares, mais l'on sait aujourd'hui que dans un système d'interaction hôte-parasite du type gène pour gène, la virulence est souvent récessive par rapport à l'avirulence, car elle correspond sur le plan physiologique à la perte d'une fonction. L'aptitude à induire une réaction d'hypersensibilité chez l'hôte. Toute mutation vers la virulence peut donc, chez les *Phytophthora*, rester masquée dans le génome sous forme d'hétérozygote récessif jusqu'à ce qu'un réassortiment génique produise un génotype homozygote mutant capable de soumettre au ban d'essai de la sélection naturelle le nouveau caractère de virulence.

Une mutation survenant à l'un des loci du complexe génique contrôlant l'agressivité, n'affectera qu'une faible partie de l'ensemble des gènes qui déterminent le niveau de pathogénie et n'aura, de ce fait, que peu de chances d'aboutir à une modification perceptible des aptitudes parasitaires du champignon. Seuls des réassortiments géniques importants, impliquant plusieurs fonctions, ou rassemblant dans un même génome différents caractères mutants, pourront se traduire par un changement profond de l'agressivité.

De tels réassortiments géniques peuvent provenir, soit de recombinaisons mitotiques, soit de la reproduction sexuée.

Les recombinaisons intrachromosomiques consécutives à des crossing over mitotiques sont connues chez de nombreux organismes (30). Ce sont des événements rares, dont l'existence n'a pas réellement été démontrée chez les *Phytophthora*, mais dont la probabilité a été évoquée par différents auteurs (117, 125). A partir d'un génotype hétérozygote, le crossing over mitotique peut conduire à des génotypes homozygotes et, au niveau du thalle, à une situation hétérocaryotique.

La seconde source de recombinaisons génétiques, et la plus importante, est la reproduction sexuée. Nous avons vu qu'elle peut survenir entre souches de la même espèce (croisements intraspécifiques) entre espèces différentes (croisements interspécifiques) ou même au sein d'un isolat en culture pure (homothallisme, autofécondation induite). Dans tous les cas son rôle essentiel, comme d'ailleurs celui des recombinaisons somatiques, sera d'accroître considérablement la diversité des génotypes soumis au crible de la sélection naturelle, par suite de la confrontation et de la recombinaison de génomes aux potentialités différentes. Chez les espèces hétérothalliques, la diversité et le taux d'hétérozygotie des génotypes issus de la reproduction sexuée seront d'autant plus grands que les souches croisées auront des caractéristiques génétiques plus différentes. (104) Chez les espèces homothalliques, l'hétérogénéité de la descendance sexuelle dépendra directement du taux d'hétérozygotie et d'hétérocaryose des souches.

Or, des différences considérables peuvent être mises en évidence parmi les souches des diverses espèces parasitant les agrumes. Les variations morphologiques, physiologiques et pathologiques au sein d'une même espèce permettent en général de distinguer les isolats d'origines parasitaires ou géographiques différentes (photo 14). Ces variations existent également dans les populations de souches issues d'aire géographique restreinte comme le verger agrumicole de la plaine orientale corse (photo 15) (71), ou même parfois au niveau d'une plantation : c'est le cas de la station fruitière du Congo où l'on peut récolter des souches de *P. parasitica* présentant divers niveaux d'agressivité. La plupart des *Phytophthora* des agrumes sont en outre capables d'attaquer d'autres hôtes, notamment des

14

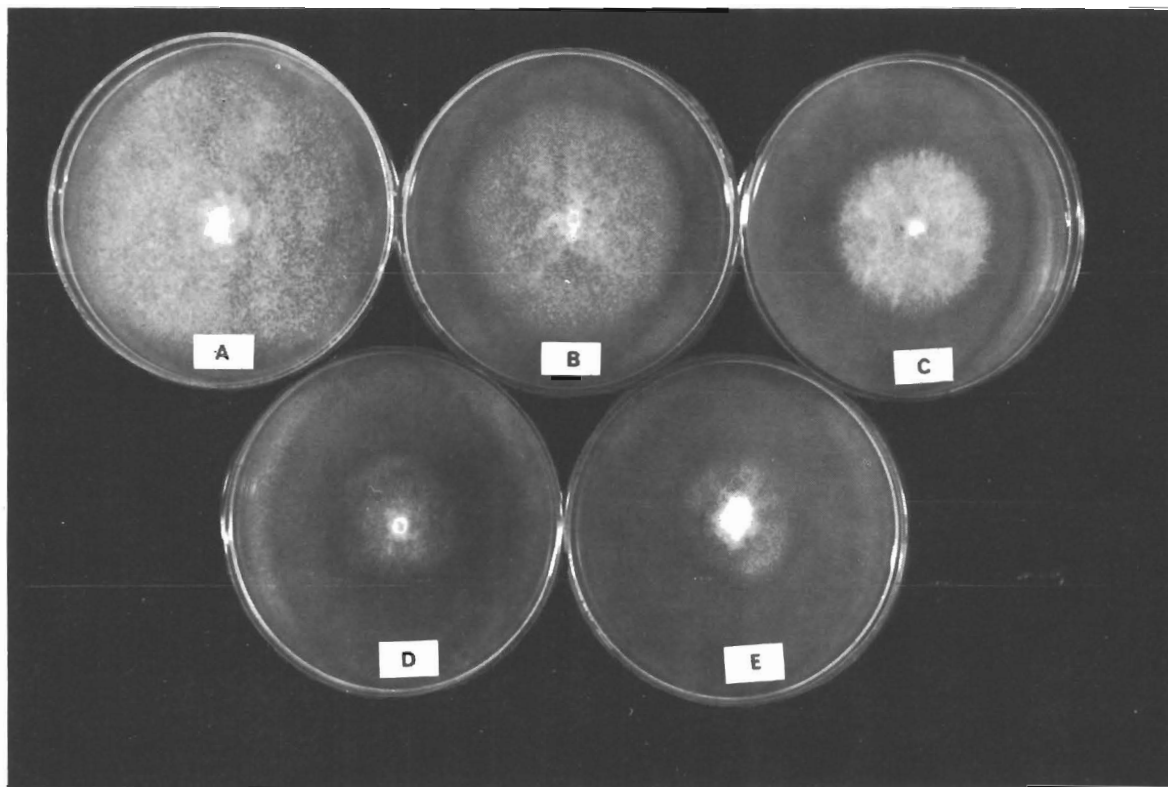


Photo 14. Souches de différentes origines géographiques. A : Corse, B : Californie, C : Maroc, D : Côte d'Ivoire, E : Cameroun.

plantes annuelles (solanacées, cucurbitacées, malvacées). Ils le font, *in vitro*, avec une agressivité qui varie en fonction des souches (63), et l'on peut considérer que l'étendue du spectre parasitaire de chaque isolat reflète dans une certaine mesure son aptitude à changer d'hôte. Cette mobilité parasitaire potentielle a sans doute son importance dans l'évolution naturelle des espèces, d'abord parce qu'elle détermine pour une large part les possibilités de rencontre et donc d'échanges génétiques entre souches de diverses provenances, ensuite parce qu'elle entraîne des variations de la pression sélective de l'environnement sur les isolats.

Il semble donc légitime de considérer que les souches des différentes espèces de *Phytophthora* parasitant les agrumes constituent des populations évolutives hétérogènes, au sein desquelles la reproduction sexuée agit comme un facteur de diversification supplémentaire.

Ainsi, lorsqu'un croisement intraspécifique intervient entre deux isolats à large spectre parasitaire, la descendance présente en général toute une gamme de souches associant dans des proportions variées les aptitudes pathogéniques des deux parents (11). Dans la nature, les chances de survie de chacun de ces descendants aux aptitudes renouvelées seront vraisemblablement déterminées par le jeu de la sélection naturelle, et l'on doit logiquement s'attendre à ce que la diversité des phénotypes sélectionnés soit d'autant plus grande que l'environnement est plus hétérogène : c'est peut-être la raison pour laquelle les populations de souches récoltées dans les vergers plurispécifiques sont souvent phénotypiquement plus variées que celles qui proviennent de plantations monospécifiques.

Les confrontations entre souches d'espèces différentes peuvent aboutir à deux sortes de résultats. Dans le premier cas, si les souches confrontées appartiennent à des espèces proches et génétiquement compatibles, comme par exemple certaines espèces du second groupe taxonomique de WATERHOUSE (*P. parasitica*, *P. palmivora*), il semble que le croisement puisse aboutir à une véritable hybridation interspécifique (BOCCAS, résultats non publiés), et l'amplitude des variations morphologiques physiologiques et pathogéniques chez les hybrides, recouvrira les potentialités des espèces parentales. Le second cas est celui du croisement entre souches appartenant à des espèces taxonomiquement éloignées. Les

15

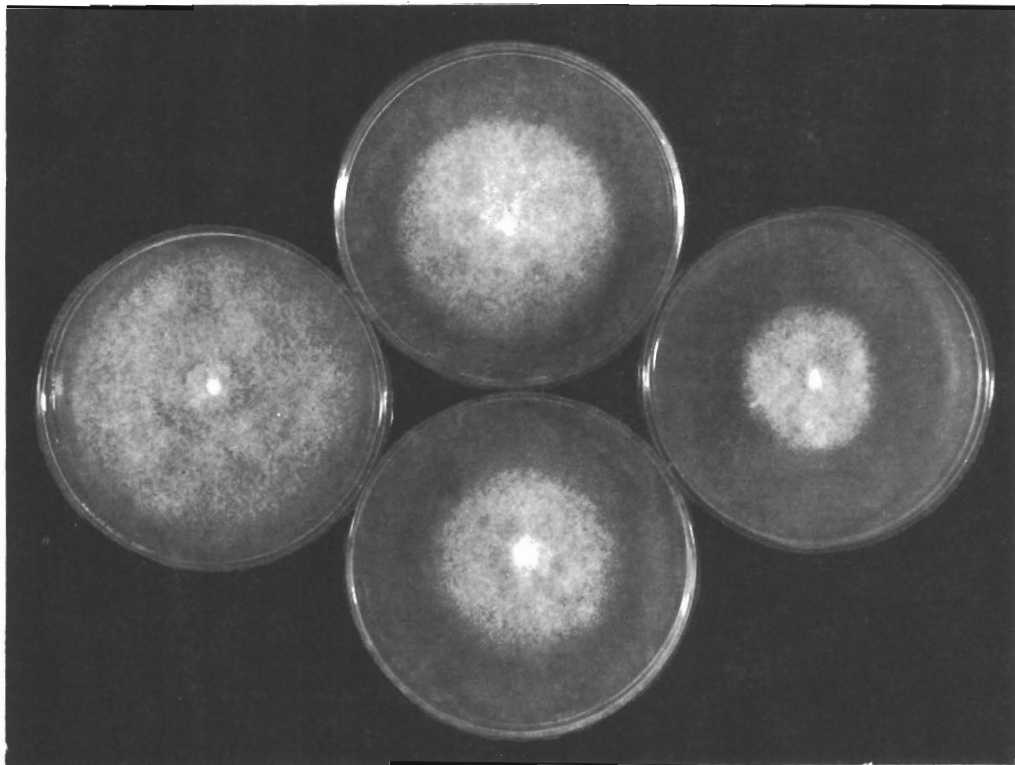


Photo 15. Souches de la plaine orientale corse.

résultats récents (12) que nous avons obtenus dans le croisement entre différents isolats de *P. parasitica* et de *P. cinnamomi* tendant à indiquer que ces espèces ne sont pas capables de s'hybrider. Leur croisement produit deux types d'oospores : les oospores hybrides résultant de la fusion des gamétocystes des deux espèces, et les oospores formées par l'autofécondation de chacune des souches parentales. Mais dans les croisements étudiés, les oospores hybrides, les plus nombreuses, ont avorté par suite de diverses malformations vraisemblablement révélatrices d'une incompatibilité génétique entre des génomes trop différents. Seul un petit nombre d'oospores autofécondées a germé et produit des descendants viables. Dans l'un des croisements tous les descendants issus de ces oospores autofécondées étaient identiques aux parents pour tous les caractères testés : morphologie du thalle et des sporocystes, température cardinale de croissance, type de compatibilité et pathogénie. Dans l'autre croisement, la descendance était phénotypiquement très hétérogène pour tous les caractères précédents et notamment pour les caractéristiques pathogéniques. Cette hétérogénéité fut en première analyse, interprétée comme un indice d'hybridation interspécifique, mais cette hypothèse ne fut pas confirmée par la comparaison de la composition en protéines solubles des divers descendants. Le spectre protéique de ces souches déterminé par électrophorèse sur gel d'acrylamide révéla que tous les descendants étaient tous de type parental pour ce qui concerne les protéines constitutives. Aucun indice de recombinaison entre les deux espèces ne put être mis en évidence. Ce fait et d'autres indications (12) nous conduisit à conclure, d'une part que l'hybridation ne s'était pas réalisée entre *P. parasitica* et *P. cinnamomi*, et que d'autre part l'hétérogénéité de la descendance pour les caractères polygéniques examinés était due à des réassortiments géniques à l'intérieur d'un génome fortement hétérozygote.

Ces deux derniers exemples illustrent d'ailleurs assez bien ce que l'on peut attendre de l'autofécondation qui, rappelons-le, constitue la voie sexuelle normale des espèces homothalliques, et peut également intervenir chez les espèces hétérothalliques. L'autofécondation peut aboutir à une descendance homogène si la souche autofécondée est homozygote et homocaryotique, ou au contraire à une descendance très hétérogène si la souche est hétérozygote ou hétérocaryotique. Dans cette dernière hypo-

thèse, le sort des souches nouvelles sera, comme dans les cas précédents déterminé par la sélection et la diversité des descendants appelés à survivre sera directement fonction de l'hétérogénéité du milieu dans lequel elles auront été sélectionnées.

Un dernier type de variation affectant les *Phytophthora* doit être mentionné. il s'agit des variations d'origine cytoplasmique. Il a été montré (21, 83) que la descendance asexuelle de différentes espèces peut ségréger des variants instables dont les caractères modifiés sont, selon toute vraisemblance, placés sous un contrôle extra-chromosomique. Les variations portent en général sur des caractères quantitatifs tels que la vitesse de croissance ou l'intensité de la sporulation, qui peuvent éventuellement intervenir dans l'expression du pouvoir pathogène du parasite.

V - ISOLEMENTS DES *PHYTOPHTHORA*

En raison de leur faible compétitivité à l'égard des autres champignons et des bactéries, les espèces du genre *Phytophthora* sont parmi les plus difficiles à isoler. Elles peuvent l'être du sol ou de la plante hôte. Deux types de méthodes sont utilisées, l'isolement sélectif par voie chimique, ou le piégeage à l'aide de plante ou de fragment de végétal choisi en fonction de leur sensibilité aux Pythiacées. La première méthode est généralement utilisée pour les isollements sur la plante hôte, la seconde pour les isollements à partir du sol. Dans ce dernier cas il est souvent nécessaire de combiner les deux techniques, et de purifier sur un milieu sélectif le pathogène qui est généralement accompagné sur le piège par un cortège de bactéries et parfois de quelques champignons saprophytes.

L'ISOLEMENT SELECTIF PAR VOIE CHIMIQUE

Un milieu sélectif peut être conçu pour stimuler la croissance d'un organisme spécifique par l'apport de sources nutritives favorisantes, ou pour inhiber sélectivement la germination et le développement des microorganismes à l'exclusion de l'organisme recherché. Ce second

principe, l'inhibition sélective, est mis en pratique dans les milieux d'isolement des *Phytophthora*.

La base nutritive de ces milieux peut être totalement artificielle à condition de contenir de la thiamine, mais il est généralement préférable d'utiliser des milieux naturels (décoction de pomme de terre, de pois, de haricot de Lima, de farine de céréales) qui permettent une croissance plus rapide des *Phytophthora*. Ces milieux peuvent être employés sous forme liquide, si l'on cherche à stimuler la sporulation du champignon, mais sont, la plupart du temps, solidifiés par la gélose, ce qui rend leur maniement plus facile.

Les inhibiteurs incorporés aux milieux visent à éliminer bactéries et champignons, à l'exclusion des Pythiacées. Ils sont de deux sortes chimiques et biochimiques.

Les inhibiteurs chimiques.

Le pentachloronitrobenzène (P.C.N.B.) et le bénomyl sont des fongicides efficaces contre les champignons supérieurs et sans action, à faible dose, sur les Pythiacées.

Les inhibiteurs biochimiques.

Ce sont des substances antibiotiques d'origine biologique. La vancomycine, le chloramphénicol, la pénicilline, la streptomycine et la polymyxine sont des agents antibactériens. Les antibiotiques polyènes tels que la nystatine et la pimarinine sont antifongiques et, bien que capables d'empêcher la germination des spores de *Phytophthora*, sont sans action sur la croissance mycélienne.

Les milieux sélectifs.

Le premier milieu réellement sélectif des Pythiacées fut mis au point en 1962 par ECKERT et TSAO (27). A une base naturelle, ce milieu adjoint les inhibiteurs suivants :

Pimaricine	100 ppm
Pénicilline	50 ppm (contre les bactéries Gram +)
Polymyxine	50 ppm (contre les bactéries Gram -)

Ce milieu «3 P» permet un isolement rapide des Pythiacées à partir de l'hôte. Cependant, la pénicilline et la polymyxine ne sont pas sans action sur les *Phytophthora* et selon TSAO et MENYONGA (131) il est avisé de les remplacer par la vancomycine (200 ppm) qui n'affecte pas les Pythiacées, mais inhibe les bactéries Gram⁺, en particulier les staphylocoques résistant aux autres antibiotiques.

Le milieu «pimaricine vancomycine» (milieu P.V.) est actuellement le plus couramment employé dans les isolements à partir de la plante hôte.

En raison de leur concentration élevée en pimaricine, inhibitrice de la germination des spores, les milieux précédents sont peu efficaces dans les isolements à partir du sol. Aussi HAAS (46) puis TSAO et OCANA (134) ont-ils proposé deux variantes dans lesquelles la pimaricine est employée à dose plus faible, une action antifongique complémentaire étant obtenue par l'adjonction de P.C.N.B. Leur composition est la suivante.

HAAS	Pimaricine	2 ppm	TSAO et OCANA	Pimaricine	10 ppm
	Pénicilline	80 unités/ml		Vancomycine	200 ppm
	Polymyxine	370 unités/ml		P.C.N.B.	100 ppm
	P.C.N.B.	10 ppm			

FLOWERS et HENDRIX (35), de leur côté, préconisent pour les isolements du sol un milieu à base artificielle contenant :

Saccharose	30 g	Acide gallique	425 ppm
NaNO ₃	2 g	Nystatine	100 unités/ml
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g	P.C.N.B.	25 ppm
Extrait levure	1 g	Pénicilline	80 unités/ml
Thiamine HCl	2 g	Rose Bengale	0,5 ppm
KH ₂ PO ₄	1 g		
Agar	20 g		

Un autre type de milieu artificiel est celui de SNEH (119), il contient

KH ₂ PO ₄	1 g	P.C.N.B.	0,1 l
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g	Triton B 1956	0,1 ml
CaSO ₄ . 2H ₂ O	0,1 g	Pimaricine	2 ppm
DL Thréonine	1 g	Mycostatine	10 ppm
Thiamine HCl	0.02 g	Chloramphénicol	60 ppm

Agar	20 g	Pénicilline	60 ppm
Saccharose	20 g	Polymixine	60 ppm
Corn Oil	traces		

Selon l'auteur, il permet l'isolement de *P. cactorum*, *P. nicotianae*, *P. cinnamomi* et de *P. drechsleri*, lorsque NH_4NO_3 est substitué à la D.L. thréonine.

PONCHET et col. (93) utilisent pour isoler le *P. nicotianae* du sol une formulation malt-agar à fort pouvoir antibiotique :

Pénicilline G	250 ppm
Polymixine B	250 ppm
P.C.N.B.	100 ppm
Bénomyl	15 ppm

Ce dernier fongicide, du groupe des benzimidazoles, est également cité par FOLLIN (36, 37) qui le tient pour un remplaçant avantageux en raison de sa relative stabilité à la chaleur, des antibiotiques polyènes (pimaricine et nystatine). A faible dose (15-20 ppm) le benomyl inhibe très efficacement la plupart des champignons supérieurs sans affecter les Pythiacées.

L'isolement du parasite est généralement aisé à partir des feuilles, des fruits ou des jeunes rameaux, puisqu'il suffit de déposer quelques fragments des tissus infectés sur l'un des milieux sélectifs pour observer après quelques jours le mycélium du champignon. Il est en revanche toujours difficile d'isoler le *Phytophthora* des racines ou des tissus ligneux du tronc et des branches.

Dans les chancres du tronc et des branches, le parasite qui se développe essentiellement dans le cambium, est rapidement remplacé dans les tissus morts par des saprophytes. Il est donc nécessaire d'effectuer les prélèvements en aval de cette zone. De même il est préférable de pratiquer l'isolement sur un chancre en pleine activité et d'éviter les périodes de sécheresse qui ralentissent ou arrêtent le développement du *Phytophthora* dans les tissus de l'hôte.

La difficulté de l'isolement à partir des racines tient surtout à la fréquence des *Pythium* dans le sol. Les *Pythium* ne sont pas éliminés par

les milieux sélectifs actuellement disponibles et, par leur croissance plus rapide, ils ont tendance à masquer la présence des *Phytophthora*. Il est donc utile de procéder à une désinfection superficielle et rapide des racines dans l'hypochlorite ou dans l'alcool avant leur mise en culture. Après ce traitement, une surveillance attentive des cultures permettra souvent de déceler les filaments mycéliens du *Phytophthora* qui apparaissent précocement dans le milieu. Il convient alors de les transférer immédiatement sur un milieu neuf avant qu'ils ne soient recouverts par d'autres Pythiacées.

ISOLEMENT PAR PIEGEAGE SELECTIF

L'utilisation des antibiotiques sélectifs a enlevé une part de leur intérêt aux techniques d'isolement par piégeage, jadis les plus efficaces. Elles restent cependant utiles sur le terrain, principalement pour la recherche du parasite dans le sol.

Le principe du piégeage est de fournir au *Phytophthora* dont la présence est soupçonné dans un échantillon de sol, un substrat végétal qui favorisera son développement au détriment des autres microorganismes. Le piège peut être un fragment ou un organe (fruit, feuille) d'une plante sensible au parasite.

Piégeage par fruit ou feuille de Citrus.

La méthode décrite par KLOTZ et De WOLFE (67), et ses dérivés, utilise les fruits de Citrus (citron vert, orange) qui sont d'excellents pièges, assez sélectifs, pour les *Phytophthora* des agrumes. Ces fruits peuvent être employés selon deux techniques.

Des trous peuvent être percés à l'aide d'un emporte-pièce jusque dans l'albedo d'un citron vert et rempli de terre saturée d'eau. Après quelques jours d'incubation, le *Phytophthora* se développe dans les tissus du fruit et peut être récupéré à la marge de la zone de pourriture.

Plus simplement, le fruit (orange, citron) peut être à demi immergé dans une suspension de terre plus ou moins diluée. Les zoospores du *Phytophthora* obéissant à un chimiotactisme vont s'agréger à la surface du fruit où elles germent. Le mycélium pénètre et s'établit dans l'albedo

dont il provoque la pourriture. Le parasite peut alors aisément être isolé à chacun des points de pénétration.

Une variante de cette dernière méthode consiste à remplacer les fruits par des fragments, de 3 à 5 mm², de jeunes feuilles de variétés d'agrumes sensibles ou non au *Phytophthora* (Rough lemon Orange douce, *Poncirus trifoliata*). Ces fragments de feuilles flottant à la surface de la suspension de terre, captent les zoospores nageant, comme dans le cas précédent.

Les sporocystes sont recueillis trois à quatre jours après, sur les bords des fragments, mais sont absents des feuilles entières ou des morceaux immergés.

Les feuilles étant présentes sur les arbres toute l'année, la méthode est utilisable à tout moment.

Piégeage par feuille d'ananas.

Cette technique très utile en zone tropicale a été décrite par ANDERSON (1) puis par KLEMMER et NAKANO (66). Les parties basales non pigmentées de jeunes feuilles du coeur d'ananas sont immergées dans une suspension de terre ou directement plantées dans le sol à tester qui doit alors être saturé d'eau. Après environ 72 heures la capture du *Phytophthora* est révélée par l'apparition de lésions brunâtres translucides à la base des feuilles.

Ces méthodes nous paraissent être les plus efficaces pour l'isolement des *Phytophthora* des Citrus. Il existe cependant plusieurs autres techniques utilisant des fruits divers. TUCKER (136) et CAMPBELL (19) préconisent l'emploi de la pomme, ZENTMYER et col. (145) celui de l'avocat BANIHASHEMI (4) celui du concombre, PONCHET et col. (93) utilisent les pétales d'oeillet.

Toutes les méthodes sont valables, les meilleures restant cependant, dans le cas présent, celles qui font appel aux fruits ou aux feuilles de Citrus, car elles mettent en présence les deux éléments du couple hôte-parasite. Leur limite est leur manque relatif de sélectivité. Les substrats utilisés, fruits, feuilles ou fragments végétaux, sont en effet inertes et n'éliminent pas les *Rhizopus*, *Mucor* et *Pythium*. Il est donc souvent

nécessaire de compléter l'action du piège par un réisolement sur l'un des milieux sélectifs précédemment décrits.

L'emploi de culture-test est un autre procédé de piégeage. Dans ce cas, on substitue au substrat inerte une plantule vivante d'une variété de *Citrus* sensible. La plante-piège est cultivée sur l'échantillon de sol à tester. Le parasite envahit les racines à partir desquelles il peut être réisolé. Le système est sélectif, souvent trop sélectif, car seul les isolats très agressifs ou spécialisés dans l'attaque de racines (si cette spécialisation existe ?) sont capables d'infecter les racines d'une plante saine.

EVALUATION QUANTITATIVE DU *PHYTOPHTHORA* DANS LE SOL

Lorsqu'il est nécessaire d'évaluer le taux d'infestation d'un sol par les *Phytophthora*, il est généralement préférable d'adopter une méthode permettant la numération directe du parasite sur un milieu sélectif. Cependant, si le dénombrement direct des propagules viables contenues dans une suspension de terre permet de mesurer la densité totale de l'inoculum (92), cette méthode ne permet d'apprécier, ni l'effet fongistatique du sol, ni les aptitudes parasitaires réelles des spores viables. Il peut donc être utile de compléter les résultats du dénombrement sur milieu sélectif par l'emploi d'une méthode de piégeage. TSAO (130) préconise la recherche des *Phytophthora* à l'aide de citrons verts. Le sol à tester est dilué de 2 en 2 dans de la terre stérile, et le pouvoir infectieux de chaque dilution est déterminé. La méthode permet de définir la dilution limite pour laquelle il n'y a pas contamination de l'appât, elle n'est que semi-quantitative. La technique proposée par RICCI (100, 101) qui utilise les pétales d'oeillets, est plus satisfaisante, elle permet d'approcher réellement la dynamique de l'inoculum dans le sol. Elle pourrait vraisemblablement être adaptée à l'étude des *Phytophthora* des agrumes en substituant aux pétales d'oeillet de jeunes feuilles de *Citrus*.

Les méthodes d'isolements par voie chimique ne fournissent pas d'informations sur l'activité pathogène des souches isolées.

Il est donc nécessaire, si l'on veut obtenir ces précisions, de réinoculer les souches ainsi isolées, sur de jeunes plantules ou sur des arbres en place.

selon les méthodes d'inoculation qui sont exposées dans un autre chapitre.

Les méthodes d'isolement par piégeage sélectif, et en particulier celles utilisant les fruits, permettent en général de recueillir des souches réellement pathogènes, mais ne peuvent indiquer leur niveau exact de pathogénie. Ce niveau (virulence forte ou faible, agressivité forte ou faible) est déterminable par inoculation sur plantule ou même sur arbre adulte.

VI - BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE I

1. ANDERSON (E.J.). 1951.
A simple method for detecting the presence of *P. cinnamomi* RANDS in soil.
Phytopathology, 41 : 187-188.
2. APPLE (J.L.). 1959.
Sexuality of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*.
Phytopathology, 49 : 37-43.
3. ARAGAKI (M.) and HINES (R.B.). 1963.
Effect of radiation on sporangial production of *Phytophthora parasitica* in artificial media and detached papaya fruit.
Phytopathology, 51 : 854-856.
4. BANIHASHEMI (Z.). 1970.
A new technique for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* from soil.
Plant Dis. Repr., 33 : 134-135.
5. BANIHASHEMI (Z.) and MITCHELL (J.E.). 1974.
Germination of oospores of *Phytophthora cactorum*.
Proc. 66th An. Meeting of the American Phytopathological Society, p. 129.
6. BARY (A.) de. 1876.
Researches into the nature of the potato fungus, *Phytophthora infestans*.
J.R. agric. Soc. (Ser. 2), 12 : 239-272.
7. BLACKWELL (E.M.). 1944.
Species of *Phytophthora* as water moulds.
Nature, Lond., 153, 496.
8. BLACKWELL (E.M.). 1949.
Terminology in *Phytophthora*.
Mycol. Pap. Commonw. Mycol. Inst., n°30.
9. BOCCAS (B.). 1971.
Contribution à l'étude de la reproduction sexuelle chez le *P. palmivora* (BUTL.) BUTL., parasite des cultures tropicales.
Thèse de Doctorat de 3e cycle. Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay.

10. BOCCAS (B.). 1972.
Contribution à l'étude du cycle chez les *Phytophthora*. Analyse du mode de transmission d'un caractère génétique quantitatif chez une espèce homothallique : le *P. syringae*.
C.R. Acad. Sc. Paris, 275 D : 663-666.
11. BOCCAS (B.). 1973.
Observations préliminaires sur l'hérédité du pouvoir pathogène chez le *P. palmivora* (BUTL.) BUTL.
Cah. O.R.S.T.O.M., Série Biol., 20 : 51-56.
12. BOCCAS (B.) and ZENTMYER (G.A.). 1976.
Genetical studies with interspecific crosses between *Phytophthora cinnamomi* and *Phytophthora parasitica*.
Phytopathology, in press.
13. BRASIER (C.M.). 1969.
The effect of light and temperature on reproduction *in vitro* in two tropical species of *Phytophthora*.
Trans. Br. mycol. Soc., 52 : 105-113.
14. BRASIER (C.M.). 1972.
Observations on the sexual mechanism in *Phytophthora palmivora* and related species.
Trans. Br. Mycol. Soc. 58 : 237-251.
15. BRYANT (T.R.) and HOWARD (K.L.) 1969.
Meiosis in the Oomycetes. I.- A microspectrophotometric analysis of nucleic acid in *Saprolegnia terrestris*.
An. J. Bot., 56 : 1075-1083.
16. CALDERONE (R.A.). 1968.
The utilization of D. and L. forms of leucine and aspartic acid by species of *Pythium* and *Phytophthora*.
Proc. W. va. Acad. Sci., 40 : 55-60.
17. CAMERON (H.R.) and MILBRATH (G.M.). 1965.
Variability in the genus *Phytophthora*. I.- Effect of nitrogen sources and pH on growth.
Phytopathology, 55 : 653-657.
18. CAMERON (H.R.) and MILBRATH (G.M.). 1965.
Variability in the genus *Phytophthora*. Effect of vitamins on growth.
Phytopathology, 56, 7 : 812-815.
19. CAMPBELL (W.A.). 1949.
A method of isolating *Phytophthora cinnamomi* directly from soil.
Plant Dis. Repr., 33 : 134-135.
20. CASTRO (J.). 1968.
Genetical studies with the genus *Phytophthora*.
Ph. D. Diss. Univ. Calif. Riverside.
21. CATEN (C.E.) and JINKS (J.L.). 1968.
Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. I.- Cultural variations.
Can. J. Bot., 46 : 329-348.

22. CHEE (K.H.) and NEWHOOK (F.J.). 1966.
Relationship of microorganisms to sporulation of *Phytophthora cinnamomi*.
New Zealand J. Agr. Res., 9 : 34-43.
23. DAH WU CHEN and ZENTMYER (G.A.). 1970.
Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture.
Mycologia, 62 : 397-401.
24. DAVIS (B.M.) 1900.
The fertilization of *Albugo candida*.
Bot. gaz. 29 : 297-311.
25. DICK (M.W.) and WIN-TIN. 1973.
The development of cytological theory in the Oomycetes.
Biol. Rev., 48 : 133-158.
26. DOEPEL (R.F.). 1966.
Phytophthora species on Citrus in Western Australia.
Pl. Dis. Repr., 50, 7 : 494-496.
27. ECKERT (J.W.) and TSAO (P.H.). 1962.
A selective antibiotic medium for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* from plant roots.
Phytopathology, 52 : 771-777.
28. ELLIOT (C.G.), HENDRIE (M.R.), KNIGHTS (M.R.) and PARKER (B.A.). 1964.
A steroid growth factor requirement for a fungus.
Nature, Lond. 203 : 427-428.
29. ELLIOT (C.G.) and MAC INTYRE (D.). 1973.
Genetical evidence on the life-history of *Phytophthora*.
Trans. Br. Mycol. Soc., 60 : 311-316.
30. ESSER (K.) and KUENEN (R.). 1967.
Genetics of Fungi.
Springer - Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
31. FAVALORO (M.) and SOMMA (V.). 1970.
Ricerche sul marciume del colletto e radicale degli agrumi. Specie di *Phytophthora* presenti negli agrumeti della Sicilia occidentale.
Phytopath. Mediterranea, 9, 1 : 54-56.
32. FAWCETT (H.S.). 1936.
Citrus diseases and their control.
Mc Graw. Hill Book Company.
33. FAWCETT (H.S.) and BITANCOURT (A.A.). 1940.
Occurrence, pathogenicity and temperature relation of *Phytophthora* species on Citrus in Brasil and other South american countries.
Inst. Biol. (Sao Paulo) - Arch. II : 107-118.
34. FAWCETT (H.S.) and KLOTZ (L.J.). 1948.
The Citrus Industry .
Batchelor and Webber. University of California Press.
35. FLOWERS (R.A.) and HENDRIX (J.W.). 1969.
Gallic acid in a procedure for isolation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* and *Pythium* spp. from soil.
Phytopathology, 59 : 725-731.

36. FOLLIN (J.C.). 1971.
L'utilisation du Bénomyl pour l'isolement sélectif des Pythiacées.
Cot. Fib. Trop., XXVI, 4 : 467.
37. FOLLIN (J.C.). 1973.
Méthodes pour l'isolement sélectif des Pythiacées.
Document GERDAT, Paris.
38. FREZZI (M.J.). 1950.
Las especies de *Phytophthora* en la Argentina.
Revista de Invest. Agric., IV, I : 47-134.
39. GALINDO (J.) and GALLEGLY (M.E.). 1960.
The nature of sexuality in *Phytophthora infestans*.
Phytopathology, 50 : 123-128.
40. GALINDO (J.) and ZENTMYER (G.A.). 1967.
Genetical and cytological studies of *Phytophthora* strains pathogenic to pepper plants.
Phytopathology, 57 : 1300-1304.
41. GALLEGLY (M.E.) and GALINDO (J.). 1958.
Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico.
Phytopathology, 48 : 274-177.
42. GILL (H.S.) and POWELL (D.). 1968.
The use of Polyacrylamide gel disc electrophoresis in delimiting species of *Phytophthora*.
Phytopath. Z., 63 : 23-29.
43. GRAHAM (K.M.), DRONNE (L.A.) and HODGSON (W.A.). 1961.
Mutability of *Phytophthora infestans* on blight resistant selection of potato and tomato.
Phytopathology, 51 : 264-265.
44. GRAHAM (K.M.) and HODGSON (W.A.). 1965.
Effect of major and minor gene interaction on adaptative parasitism in *Phytophthora infestans*.
Phytopathology, 55 : 73-75.
45. GREGG (M.). 1957.
Germination of oospores of *Phytophthora erythroseptica*.
Nature, 180 : 150.
46. HAAS (J.H.). 1964.
Isolation of *Phytophthora megasperma* var. *sojae* in soil dilution plates (Abstr.) *Phytopathology*, 54 : 894.
47. HALL (R.), ZENTMYER (G.A.) and ERWIN (D.C.). 1969.
Approach to taxonomy of *Phytophthora* through Acrylamide gel electrophoresis of proteins.
Phytopathology, 59, 6 : 770-774.
48. HARNISH (W.N.). 1965.
Effects of light on production of oospores and sporangia in species of *Phytophthora*.
Mycologia, 57 : 85-90.

49. HEMMES (D.E.) and HOHL (H.R.). 1973.
Mitosis and nuclear degeneration : simultaneous events during secondary sporangia formation in *Phytophthora palmivora*.
Can. J. Bot., 51, 9 : 1673-1675.
50. HEMMES (D.E.) and BARTNICKI (S.). 1975.
Electron microscopy of gametangial interaction and oospores development in *Phytophthora capsici*.
Arch. Microbiol., 103 : 91-112.
51. HENDRIXS (J.N.). 1964.
Sterol induction of reproduction and stimulation of growth of *Pythium* and *Phytophthora* (1).
Science, 144 : 1028-1029.
52. HENDRIX (J.W.). 1965.
Influence of sterols on growth and reproduction of *Pythium* and *Phytophthora* spp.
Phytopathology, 55 : 790-797.
53. HOLDAWAY (B.F.). 1971.
The survival and population of *Phytophthora parasitica* in soils as influenced by ecological factors.
Abstract of the Dissertation. P.H.D. Thesis. University of California Riverside.
54. HOLDAWAY (B.F.) and TSAO (P.H.). 1971.
Survival of *Phytophthora parasitica* in soils.
Phytopathology, 61 : 1321.
55. HOLDAWAY (B.F.) and TSAO (P.H.). 1972.
Longevity of chlamydospores of *Phytophthora parasitica* in water.
Pl. Dis. Repr., 56, 11 : 971-973.
56. HONOUR (R.C.). 1973.
Lysis of *Phytophthora parasitica* mycelium and oospores in soil.
Abstract of the dissertation. PH. D. Thesis. University of California Riverside.
57. HUGUENIN (B.) et BOCCAS (B.). 1970.
Etude de la caryocinèse chez le *P. parasitica* DASTUR.
C.R. Acad. Sc. Paris, 271 : 660-663.
58. HUGUENIN (B.) et BOCCAS (B.). 1971.
Rôle de quelques facteurs dans la formation et la germination des oospores chez le *Phytophthora palmivora*.
An. Phytopathol., 3 (3) : 353-371.
59. HUGUENIN (B.). 1972.
Influence de la lumière blanche sur les phases précoces de la gamétogénèse chez le *P. palmivora*.
C.R. Acad. Sc. Paris, 174 : 3214 -3217.
60. HUGUENIN (B.). 1973.
Etablissement du spectre d'action de la lumière sur la sporogénèse et l'oogénèse de souches du *Phytophthora palmivora* BUTL.
C.R. Acad. Sc. Paris, 276 : 725-728.
61. HUGUENIN (B.). 1974.
Influence des conditions de culture sur la formation et la germination *in vitro* des chlamydospores du *P. palmivora*.
Ann. Phytopathol., 6 (4) : 425-440.

62. HUGUENIN (B.). 1975.
 Quelques aspects importants de la vie saprophytique chez le *Phytophthora palmivora* et *nicotianae*.
 Communication à la 3e Réunion du sous-groupe de travail Afrique sur le *P. palmivora*. Accra.
63. HUGUENIN (B.), BOCCAS (B.) et KOHLER (F.). 1975.
 Les problèmes de structure de population chez le *Phytophthora palmivora* vus à travers les réactions d'une gamme d'hôte différentiels.
 Communication à la Troisième Réunion du sous-groupe de travail Afrique sur *Phytophthora palmivora*. Accra.
64. IKRAM (A.), KHAKI (A.) and SHAW (D.). 1974.
 The inheritance of drug resistance and compatibility type in *Phytophthora dreschleri*.
Genet. Res. Camb. 23, p. 75-86.
65. KHEW (K.) and ZENTMYER (G.A.). 1973.
 Chemotactic response of zoospores of five species of *Phytophthora*.
Phytopathology, 63, 1511-1517.
66. KLEMMER (H.W.) and NAKANO (R.K.). 1972.
 Technique in isolation of Pythiaceus fungi from soil and diseased pineapple tissues.
Phytopathology, 52 : 955-956.
67. KLOTZ (L.J.) and DE WOLFE (T.A.). 1958.
 Techniques for isolating *Phytophthora* spp. which attack Citrus.
Plant Dis. Repr., 42 : 675-676.
68. KLOTZ (L.J.), DE WOLFE (T.A.) and PO-PING WONG. 1958.
 Influence of two varieties of Citrus scions on the pathogenicity of three isolates *P. parasitica* to sweet orange rootstocks.
Phytopathology, 48 : 520-521.
69. KOHLER (F.). 1935.
 Genetische studien au *Mucor mucedo* BREFEL.
Zeit. Ind. Abst. Vererb., 70 : 1-54.
70. KOUYEAS (V.). 1953.
 On the sexuality of *Phytophthora parasitica* DASTUR.
Annales de l'Institut Phytopathologique, Benaki, 7 : 40-53.
71. LAVILLE (E.). 1974.
 Les maladies à *Phytophthora* des agrumes en Corse.
Fruits, 29, 4 : 297-301.
72. LAVILLE (E.). 1975.
 Réflexions sur la nature des relations hôte-parasite dans le couple Agrume-*Phytophthora*.
Fruits, 30 : 1, 19-22.
73. LEAL (J.A.), FRIEND (J.) and HOLLIDAY (P.). 1964.
 A factor controlling sexual reproduction in *Phytophthora*.
Nature, 203, 4944 : 545-546.
74. LEAL (J.A.) and BEGONA GOMEZ-MIRANDA. 1965.
 The effect of light and darkness on the germination of the oospores of certain species of *Phytophthora* on some synthetic media.
Trans - Brit - mycol - Soc., 48 (3) : 491-494.

75. LEAL (J.A.), LILLY (V.G.) and GALLEGLY (M.E.). 1967.
The utilization of L-asparagine by two species of *Phytophthora*.
Proc. W. Va. Acad. Sc., 39 : 95-101.
76. LEAL (J.A.), GALLEGLY (M.E.) et LILLY (V.G.). 1967.
The relation of the carbon - nitrogen ratio in the basal medium to sexual reproduction in species of *Phytophthora*.
Mycologia, 59, 953-964.
77. LEAL (J.A.), LILLY (V.G.) and GALLEGLY (M.E.). 1968.
Growth of *Phytophthora heveae* on media containing L-glutamine and urea.
Proc. W. Va. Acad. Sci., 40 : 47-53.
78. LEAL (J.A.), LILLY (V.G.) and GALLEGLY (M.E.). 1968.
The utilization of ethanol as a carbon source by *Phytophthora heveae*.
Proc. W. Va. Acad. Sc., 40 : 73-76.
79. LEONIAN (L.H.). 1925.
Phytophthora citrophthora.
Am. J. Bot., 12, 7 : 445.
80. LEONIAN (L.H.). 1934.
Identification of *Phytophthora* species.
Agric. Exp. Sta. W. Virginia Univ. Bull. 262 : 36.
81. LILLY (V.G.). 1966.
The effects of sterols and light on the production and germination of *Phytophthora* spores.
Colston paper 18. The fungus spore. Ed. M.f. Madelin - London.
82. Mc DONOUGH (E.S.). 1937.
The nuclear history of *Sclerospora graminicola*.
Mycologia, 29 : 151-173.
83. Mac INTYRE (D.) and ELLIOT (C.G.). 1974.
Selection for growth rate during asexual and sexual reproduction in *Phytophthora cactorum*.
Genet. Res., Camb. 24 : 295-309.
84. MANNING (W.J.) and CROSSAN (D.F.). 1966.
Effect of a particular soil bacterium on sporangial production in *P. cinnamomi* in liquid culture.
Phytopathology, 65 : 235-337.
85. MENYONGA (J.M.). 1965.
Nature of response of zoospores of *P. parasitica* to soil fungistasis.
Thesis - University of California Riverside.
86. MERZ (W.G.). 1965.
Effect of light on species of *Phytophthora* M.S.
Thesis West Va. Univ.
87. MITCHELL (D.J.) and ZENTMYER (G.A.). 1971.
Effects of oxygen and carbon dioxide tensions on sporangium and oospore formation by *Phytophthora* sp.
Phytopathology, 1, 7, 807-812.
88. MOREAU (F.) et MOREAU (F.). 1935.
Les phénomènes cytologiques du développement de l'oeuf et de la fécondation chez les champignons du groupe des Saprolegniées.
C.R. Acad. Sc. Paris, 201 : 1208-1210.

89. MOREAU (C.) et (M.). 1954.
Le dépérissement des agrumes en Côte d'Ivoire.
Rev. de Mycol., XIX, suppl. col. n°2 : 55 : 57.
90. NOON (J.P.) and HICKMAN (C.J.). 1974.
Oospore production by single isolate of *P. capsici* in the presence of chloroneb.
Can. J. Bot., 52 : 1591-1595.
91. PELLEGRIN (F.). 1975.
Etude du degré de ploïdie chez *Phytophthora palmivora* et *P. parasitica*.
DEA D'amélioration des plantes, option Phytopathologie, Université de Paris-Sud
Centre d'Orsay.
92. PETERSEN (L.J.). 1959.
Relations between inoculum density and infection of wheat by uredospores of
Puccinia graminis var. *tritici*.
Phytopathology, 52 : 567-572.
93. PONCHET (J.), RICCI (P.), ANDREOLI (C.) et AUGET (G.). 1972.
Méthodes sélectives d'isolement du *P. nicotianae* à partir du sol.
Ann. Phytopath., 4 : 97-108.
94. RANDS (R.D.). 1922.
Strepkanker van Baneel, veroorzaakt door *Phytophthora cinnamomi* n. sp.
Medel. Inst. var. Plantenziekt, n°54, 54 p.
95. RAPER (J.R.). 1966.
Life cycles, basic patterns of sexuality and sexual mechanisms.
The fungi Anisworth. Sussman, II, 473-511. Academic Press New York and London.
96. RAVISE (A.). 1968.
Etude expérimentale de l'incidence de la nutrition sur l'accomplissement du cycle
des Pythiacées parasites des cultures tropicales.
C.R. Acad. Sc. Paris, 267 D : 1821-1824.
97. RAVISE (A.) et BOCCAS (B.). 1969.
Première liste annotée des Pythiacées parasites des plantes cultivées au Congo.
Cahier de la Maboké, VII, I : 41-69.
98. RAVISE (A.). 1972.
Observations sur la nutrition de souches de *Phytophthora* de Bary parasites des
cultures tropicales.
Agronomie tropicale, XXVII, 3 : 309-319.
99. RIBEIRO (O.K.), ZENTMYER (G.A.) and ERWIN (D.C.). 1974.
The effect of the duration and quality of light on oospore germination of *Phytophthora*.
Proc. 66th Annual Meeting of the American Phytopathological Society. p. 60.
100. RICCI (P.). 1974.
Mesure de la densité d'inoculum d'un agent pathogène dans le sol à l'aide d'une
technique d'isolement par tout ou rien.
Ann. Phytopathol., 6, (4) : 441-453.
101. RICCI (P.). 1972.
Moyens d'étude de l'inoculum du *Phytophthora nicotianae* F. sp. *parasitica*
(DASTUR) WATHERH., parasite de l'oeillet dans le sol.
Ann. Phytopathol., 4 (3) : 257-276.

102. RIDINGS (W.H.), GALLEGLEY (M.E.) and LILLY (V.G.). 1969.
Thiamine requirement helpful in distinguishing isolates of *Pythium* from those of *Phytophthora*.
Phytopathology, 59, 6 : 737-742.
103. RIOU (S.) et RAVISE (A.). 1970.
Etude des chlamydospores chez quelques espèces de *Phytophthora* de Bary.
Cahier de la Maboké, Tome VIII, Fasc. 2, 93-106.
104. ROMERO (S.) and ERWIN (D.C.). 1969.
Variation in pathogenicity Among single - oospore cultures of *Phytophthora infestans*.
Phytopathology, 59 : 1310-1317.
105. RONCADORI (R.W.). 1965.
A nutritional comparison of some species of *Phytophthora*.
Phytopathology, 55, 595-599.
106. ROSSETTI (V.). 1971.
Estudo comparativo da resistencia a *Phytophthora citrophthora* e *P. parasitica* de onze variedades de *Citrus sinensis*, usado como porta enxertos para laranja Hamlin de clone nucelar e clone velho.
Anais de I Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1971 : 489-503.
107. SALVATORE (M.A.), GRAY (F.A.) and NINE (R.B.). 1973.
Enzymatically induced germination of oospore of *Phytophthora megasperma*.
Phytopathology, 63, 1083-1086.
108. SANSOME (E.). 1961.
Meiosis in the oogonium and antheridium of *Pythium debaryanum* HESSE.
Nature, Lond. 191, 827-828.
109. SANSOME (E.). 1963.
Meiosis in *Pythium debaryanum* HESSE and its significance in the life cycle of the biflagellate.
Trans. Br. mycol. Soc., 46, 63-72.
110. SANSOME (E.). 1965.
Meiosis in diploid and polyploid sex organs of *Phytophthora* and *Achlya*.
Cytologia, 30 : 103-117.
111. SANSOME (E.) and BRASIER (C.M.). 1971.
Genetical evidence for diploidy in *Phytophthora*.
Genet. Res. Camb., 17 : 165-167.
112. SANSOME (E.) and BRASIER (C.M.). 1973.
Diploidy and chromosomal structural hybridity in *P. infestans*.
Nature, Lond., 241 : 344-345.
113. SANSOME (E.) and BRASIER (C.M.). 1974.
Polyploidy associated with varietal differentiation in the *megasperma* complex of *Phytophthora*.
Trans. Br. mycol. Soc., 63 (3) : 461-467.
114. SATOUR (M.M.) and BUTLER (E.E.). 1968.
Comparative morphological and physiological studies on the progenies from intra-specific matings of *Phytophthora capsici*.
Phytopathology, 58 : 183-192.

115. SAVAGE (E.J.), CLAYTON (C.W.), HUNTER (J.H.), BRENNEMAN (J.A.), LAVIOLA (C.) and GALLEGLY (M.E.). 1968.
Homothallism, heterothallism and interspecific hybridization in the genus *Phytophthora*.
Phytopathology, 58 : 1004-1021.
116. SHAW (D.S.). 1967.
A method of obtaining single oospore cultures of *Phytophthora cactorum* using live water snails.
Phytopathology, 57 : 454.
117. SHAW (D.S.) and KHAKI (I.A.). 1971.
Genetical evidence for diploidy in *Phytophthora* genet.
Res. Camb., 17 : 165-167.
118. SMITH (R.E.). 1906.
Pythiacistis citrophthora.
Bot. gaz., 42 : 221.
119. SNEH (B.). 1972.
Can. J. Microbiology, 18 : 1389-1392.
120. SNIDER (R.D.) and KRAMER (C.L.). 1974.
Polyacrylamide gel electrophoresis and numerical taxonomy of *Taphrina caerulescens* and *Taphrina deformans*.
Mycologia, LXVI, 5 : 743-753.
121. SNIDER (R.D.) and KRAMER (C.L.). 1974.
An electrophoretic protein analysis and numerical taxonomic study of the genus *Taphrina*.
Mycologia, LXVI, 5 : 754-772.
122. STAMPS (D.J.). 1953.
Oospore production in paired culture of *Phytophthora* species.
Trans. Br. Mycol. Soc., 36, 255-259.
123. STEPHENSON (L.W.), ERWIN (D.C.) and LEARY (J.V.). 1974.
Meiotic configurations in the oospore of *Phytophthora capsici*.
Can. J. Bot., 52 : 2141-2143.
124. STEPHENSON (L.W.), ERWIN (D.C.) and LEARY (J.V.). 1974.
Cytology of somatic and gametangial nuclei in *Phytophthora capsici* and *Phytophthora megasperma* var. *sojae*.
Can. J. Bot., 52, 9 : 2055-2060.
125. STEPHENSON (L.W.), ERWIN (D.C.) and LEARY (J.V.). 1974.
Hyphal anastomosis in *Phytophthora capsici*.
Phytopathology, 64, 1 : 149-150.
126. STEVENS (F.L.). 1901.
Gametogenesis and fertilization in *Albugo*.
Bot. gaz., 32 : 77-08, 57-169, 238-261.
127. TARJOT (M.). 1974.
Physiology of the fungus.
in *Phytophthora disease of cocoa*. Ed. P.H. Gregory, Longmann.
128. THIRUMALACHAR (M.J.), WHITEHEAD (M.D.) and BOYLE (J.C.). 1949.
Gametogenesis and oospore formation in *Cystopus evolvuli*.
Bot. Gaz., 110 : 487-491.

129. TIMMER (L.W.), CASTRO (J.), ERWIN (D.C.), BELSER (W.L.) and ZENTMYER (G.A.). 1970.
Genetic evidence for zygotic meiosis in *Phytophthora capsici*.
Amer. J. Bot., 57 : 1211-1218.
130. TSAO (P.H.). 1960.
A serial dilution-end-point method for estimating disease potentials of *Citrus Phytophthora* in soil.
Phytopathology, 50 : 717-724.
131. TSAO (P.) and MENYONGA (J.M.). 1966.
Response of *Phytophthora* spp. and soil microflora to antibiotics in the pimarin - vancomycin medium.
(Abstr.) *Phytopathology*, 56 : 152.
132. TSAO (P.H.) and BRICKER (J.L.). 1968.
Germination of chlamydospores of *P. parasitica* in soil.
Phytopathology, 58 : 1070.
133. TSAO (P.H.). 1969.
Studies on the saprophytic behavior of *Phytophthora parasitica* in soil.
Proc. Ist. Intern. Citrus Symp., 3 : 1221-1230.
134. TSAO (P.H.) and OCANA (G.). 1969.
Selective isolation of species of *Phytophthora* from natural soil on an improved antibiotic medium.
Nature, 223 : 636-638.
135. TSAO (P.H.). 1971.
Chlamydospores formation in Sporangium free liquid cultures of *Phytophthora parasitica*.
Phytopathology, 61, 11, 1412-1413.
136. TUCKER (C.M.). 1931.
Taxonomy of the genus *Phytophthora* de Bary.
Missouri agr. Sta. Res. Bull. 153, 208 p.
137. VAN DER PLANCK. 1968.
Disease resistance in plants.
Academic Press New York and London.
138. VERNEAU (R.). 1954.
Le *Phytophthora* parasite degli agrumi nella Campania.
Am. Sper. Agr. N.S., 8, 1 : 133-162.
139. WAGER (H.) 1896.
On the structure and reproduction of *Cystopus candidus*.
Ann. Bot., 10 : 295-342.
140. WAGER (H.). 1900.
On the fertilization of *Peronospora parasitica*.
Ann. Bot., 14 : 263.
141. WATERHOUSE (G.). 1963.
Key to the species of *Phytophthora* de Bary.
Mycol. Pap. 92, C.M.I. Kew, p. 22.
142. WATERHOUSE (G.). 1970.
The genus *Phytophthora* de Bary.
Mycol. Pap. 122, C.M.I. Kew.

143. ZENTMYER (G.A.). 1952.
A substance stimulating sexual reproduction in *P. cinnamomi*.
Phytopathology, 42 : 24.
144. ZENTMYER (G.A.) and MIRCETICH (S.M.). 1966.
Saprophytism and persistence in soil by *Phytophthora cinnamomi*.
Phytopathology, 56 : 710-715.
145. ZENTMYER (G.A.) , PAULUS (A.O.) and BURNS (R.M.). 1967.
Avocado root rot.
Calif. Agr. Exp. Sta. Exten. Sc. v., Circular 511.
146. ZIEGLER (A.W.).1953.
Meiosis in the saprolegniaceae.
Am. J. Bot., 40 : 60-66.

CHAPITRE II

LES DIFFÉRENTS ASPECTS DES MALADIES À PHYTOPHTHORA DES AGRUMES

I - SYMPTOMES, VOIE DE PÉNÉTRATION, DÉVELOPPEMENT FACTEURS FAVORABLES

FRUITS

Sur les fruits, la maladie est le plus souvent désignée par le terme de «pourriture brune à *Phytophthora*» (brown rot).

Elle est présente dans toutes les régions agrumicoles, tropicales ou subtropicales (7, 27, 28, 19, 33, 46), et peut apparaître soit aux champs, soit au cours des opérations d'emballage, soit en entrepôt (38).

Elle est provoquée par l'une quelconque des principales espèces de *Phytophthora* inféodées aux agrumes (voir chapitre I), mais la présence et la répartition de ces espèces varient selon les régions (1, 33). Ainsi *P. citrophthora*, moins sensible aux variations de températures, est la plus fréquemment isolée. *P. parasitica* et *P. palmivora*, préférant des températures plus élevées, se rencontrent plus souvent en zone tropicale, ou en automne et en été dans les régions subtropicales. En revanche, *P. hibernalis* et *P. syringae* sont mieux adaptées aux températures hivernales plus basses. *P. citricola* est rare.

En principe les fruits de toutes les variétés d'agrumes sont susceptibles d'être infectés, mais il semble que l'on puisse distinguer quelques petites différences de sensibilité entre variétés. Ainsi les oranges apparaissent comme plus souvent atteintes que les citrons et les mandarines.

Symptômes.

Toutes les espèces provoquent sensiblement les mêmes symptômes, et les faibles différences observées sont dues soit à la variété, soit surtout au stade de maturité du fruit atteint (7, 19).

On observe au début une légère décoloration ponctuelle de la peau, vert clair sur les citrons non mûrs, brun clair sur les oranges à maturité, puis la zone nécrosée s'étend et se colore, selon les fruits de différentes teintes plus ou moins foncées de brun. Les tissus atteints demeurent souples et ne cèdent pas sous la pression du doigt.

A ce stade l'infection par *Phytophthora* peut être confondue avec celles causées par *Phomopsis citri* et par *Diplodia natalensis*. Aucun développement mycélien ne couvre les fruits infectés au verger, mais, en entrepôt, un fin feutrage blanc apparaît sur l'épiderme dans les zones brunes (photos 16 et 17).

Plus tardivement, sous l'action de microorganismes secondaires, les fruits atteints se désagrègent. Une odeur très caractéristique est liée à ce type de pourriture, et provient de la décomposition des huiles essentielles libérées par la progression du parasite dans les tissus du flavedo.

Le taux respiratoire des fruits infectés augmente les deux premiers jours, puis décroît lorsque le fruit est entièrement pourri (6).

Modalités d'infection - Voies de pénétration - Facteurs favorables.

Les fruits sont principalement contaminés par les zoospores, au verger, sur l'arbre et au sol, et dans les stations d'emballage durant les opérations de lavage. En entrepôt, la contamination s'effectue le plus souvent par contact de fruit à fruit.

Au verger, l'eau joue un grand rôle dans la libération et la dispersion des zoospores. En effet, lors de pluies accompagnées de vents violents et d'une chute brutale de la température, les gouttelettes d'eau projetées du sol à plusieurs dizaines de centimètres de hauteur, entraînent sur les fruits les zoospores libérées des sporocystes (43).

Certaines méthodes d'irrigation par aspersion, et sous frondaison,

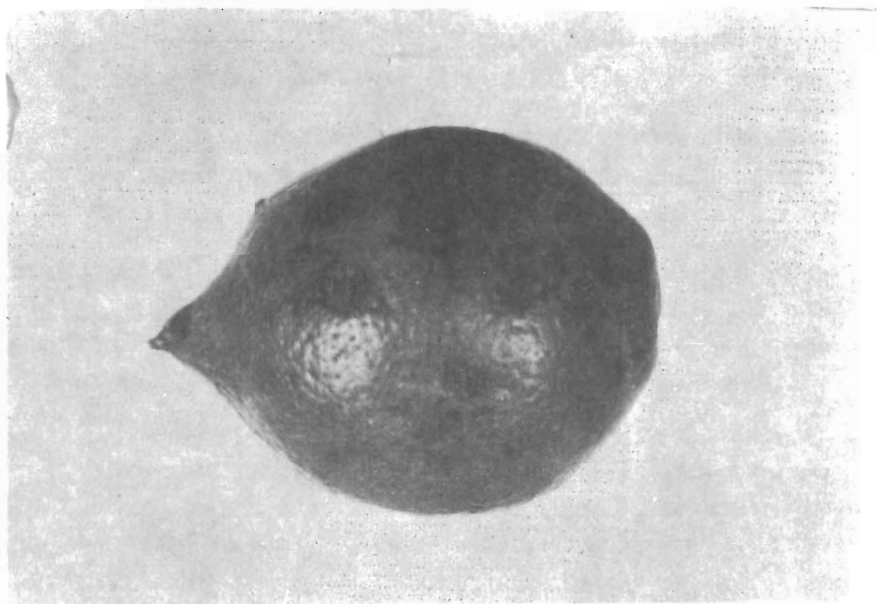
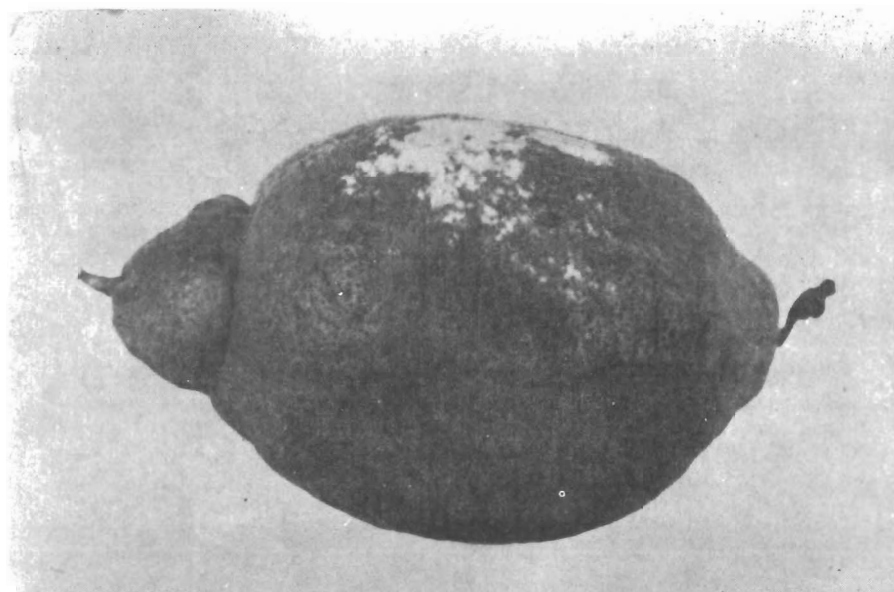


Photo 16. Début d'infection sur citron (au verger). (développement de taches brunes).

Photo 17. Infection sur citron (en entrepôt) (développement mycélien).



contribuent de la même manière à la dispersion des zoospores (18, 22, 42, 50). Dans les stations d'emballage, l'eau des bains de lavage, souillés de débris végétaux et de particules de terre, favorise la contamination.

La pénétration dans l'épiderme des fruits s'effectue en quelques heures après la germination des zoospores, en l'absence de toute blessure, si l'humidité est maximum et la température comprise entre 14 et 28°C.

Le temps d'incubation varie avec la variété atteinte, il semble plus court pour les citrons, les clémentines et les pomélos (3 jours) que pour les oranges (4 à 5 jours) (37). La température optimum paraît être de 28° C et la maladie ne peut se développer au-delà de 35°C ni à moins de 4°C (39).

Les périodes les plus favorables sont celles comportant des brouillards matinaux persistants plusieurs jours de suite. Les averses courtes suivies d'ensoleillement sont en revanche moins favorables. Ces exigences climatiques expliquent que l'importance de la maladie puisse varier notablement selon les saisons ou, pour une même saison, selon les années.

FEUILLES

Les attaques de *Phytophthora* sur les feuilles sont peu fréquentes. Deux espèces ont été principalement isolées : *P. citrophthora* plus souvent sur les feuilles de citronnier, et *P. hibernalis* sur celles d'oranger et de mandarinier (7, 28, 29, 33, 46).

Les premiers symptômes débutent par l'apparition de petites taches translucides sur le limbe, d'aspect voisin des dégâts causés par le gel. Ces taches, localisées le plus souvent sur la bordure des feuilles, deviennent aqueuses puis noires. A ce stade, les feuilles, dont certaines parties du limbe peuvent être encore vertes, tombent précocement, et une défoliation complète survient alors sur les basses branches.

Des taches semblables sont parfois observées sur de jeunes rameaux.

Les conditions favorables aux attaques sur feuilles sont identiques à celles permettant l'infection des fruits au verger.

RACINES

Parmi les différentes espèces de *Phytophthora* rencontrées sur les agrumes, *P. citrophthora*, *P. parasitica* et *P. palmivora* sont plus particulièrement susceptibles d'envahir les organes souterrains, les grosses racines, les racines secondaires et tertiaires ainsi que le chevelu des arbres en place. Elles peuvent aussi attaquer les radicelles des jeunes semis de pépinières.

L'ensemble de ces attaques racinaires est désigné habituellement par les termes de : «Pourritures des racines à *Phytophthora*» (*Phytophthora* root rot), «altération des racines lignifiées» (decay of fibrous roots), «altération du chevelu» (decay of feeder roots), ou par le terme plus général de «dépérissement» (8, 13, 27, 28, 19, 46).

Ce type de «dépérissement» est présent dans toutes les régions agrumicoles. Sur les arbres, il est aussi grave que la pourriture de la base du tronc ou «gommose», mais il est plus tardivement et moins facilement signalé car plus difficile à identifier. Il peut survenir à tous les stades de développement des arbres (32).

Sur les jeunes semis, il est aussi fréquent, mais en revanche plus facile à diagnostiquer.

Symptômes.

Sur les arbres, les premiers symptômes, d'ailleurs communs à toute insuffisance racinaire, qu'elle soit d'origine parasitaire ou d'ordre physiologique, sont visibles sur le feuillage. On remarque un léger retard dans la croissance de l'arbre atteint, accompagné par une sorte d'éclaircissage de la frondaison, au sommet ou sur un côté, et la présence de petites feuilles jaunâtres sur quelques rameaux. La formation des nouvelles pousses est retardée ou arrêtée et, si celles-ci apparaissent néanmoins, elles sont en général peu vigoureuses (photo 18).

Ces symptômes peuvent aussi périodiquement s'accroître ou s'estomper, selon que les conditions sont ou non favorables au développement de ce type d'attaque.

Si la maladie progresse, le feuillage jaunit, quelques rameaux sèchent

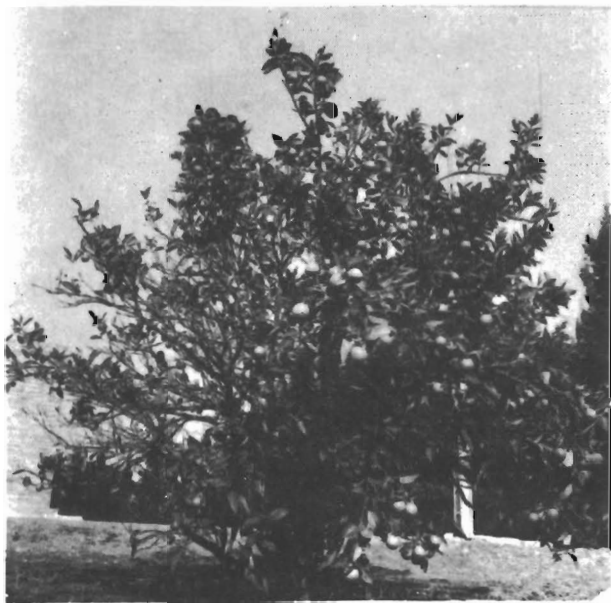


Photo 18. Premiers symptômes d'une attaque racinaire. (éclaircissage latéral de la frondaison).

Photo 19. Attaque racinaire sur jeunes semis (rabougrissement des plantules, et jaunissement des feuilles).



totallement et ne sont pas remplacés, et les arbres atteints meurent ensuite rapidement.

Sur les jeunes plants de pépinière on observe un ralentissement dans la croissance et l'émission des feuilles, ces dernières progressivement jaunissent (photo 19).

Les dégâts proprement dits ne sont bien visibles que lorsqu'on dégage la base des troncs au-delà de l'origine des grosses racines et si l'on pratique une tranchée dans la zone prospectée par le système racinaire, ou lorsqu'on arrache totalement l'arbre ou le jeune plant.

Sur les racines principales on peut observer un plus ou moins grand nombre de nécroses, parfois confluentes, en forme de «boutonniers» (frog eye) de taille variable, 2 à 10 cm de long et 0,5 à 2 cm de large, intéressant l'écorce et le cambium jusqu'au bois. Les bords de ces plaies sont souvent cernés de bourrelets cicatriciels de couleur brune. Le fond de la nécrose est jaune brun devenant brun presque noir (photos 20 et 21). Dans certains cas on remarque la superposition de plusieurs bourrelets de cicatrisation successifs indiquant une certaine alternance dans l'activité de ces sortes de petits chancres.

Les racines secondaires atteintes prennent un aspect jaune terne et aqueux et leur écorce se désagrège facilement. En fin d'évolution la zone ligneuse devient noire.

Les attaques localisées aux extrémités apicales des racines induisent le départ de racines nouvelles, courtes et ramifiées. Les extrémités sont parfois totalement détruites laissant le bois à nu (photo 22). Sur les petites racines, la zone corticale devient translucide et brune clair et peut être facilement détachée de la partie centrale. En fin d'évolution les radicelles sèchent et noircissent tandis que le cortex s'effrite.

Modalités d'infection - Voies de pénétration - Facteurs favorables.

Phytophthora parasitica et *P. citrophthora* ont semble-t-il la possibilité de coloniser le sol à des profondeurs plus grandes que les autres espèces, on peut les isoler jusqu'à 70 cm de profondeur. Elles sont apparemment moins sensibles à de faibles taux d'oxygène.



Photo 20. Attaque sur racine principale (nécrose typique en «boutonnière»).



Photo 21. Attaque sur racine principale au départ du tronc (le cortex a été enlevé).



Photo 22. Attaque sur racine secondaire (induction de nouvelles radicelles).

Les zoospores qu'elles produisent sont attirées par les exsudats des racines (2, 52), des variétés sensibles ou résistantes indifféremment, et plus particulièrement au niveau de la zone d'élongation. Après la germination des zoospores au contact des racines, et la formation d'un appressorium, les hyphes mycéliens pénètrent dans les cellules épidermiques en 4 à 6 heures. L'infection est alors arrêtée à ce niveau chez les variétés résistantes et si les conditions sont défavorables au parasite (2).

Chez les variétés sensibles, les hyphes poursuivent leur progression dans les tissus corticaux jusqu'à la stèle centrale qu'ils peuvent envahir dans la zone apicale peu différenciée des jeunes racines. Sur les grosses racines, la pénétration s'effectue plus vraisemblablement à l'occasion de blessures du cortex, naturelles ou provoquées par les façons culturales ou les insectes.

L'excès d'humidité du sol est le facteur le plus favorable au développement de ce type d'attaque. Les premières racines atteintes sont généralement celles situées plus profondément, là où l'humidité est la plus forte.

Comme par ailleurs les plantes atteintes paraissent souvent souffrir d'un manque d'eau (40), les irrigations complémentaires effectuées pour y remédier, ne font en réalité qu'aggraver le mal (9, 22). D'autre part, tout ce qui limite la croissance des racines, comme les basses températures ou une mauvaise aération du sol (25, 40), favorisent aussi ce type de maladie (41).

Un excès de matière organique ainsi que des fumures minérales trop riches en azote ammoniacal lui sont aussi plus propices. En revanche, le pH du sol ne paraît pas aussi déterminant.

Il semble qu'un équilibre s'établisse chez certaines variétés, la destruction de racines par le champignon étant en partie compensée par l'apparition de nouvelles. Chez les variétés particulièrement vigoureuses comme le Rough lemon ou le citron Bornéo, cet équilibre, qui permet à l'arbre de présenter toujours un aspect normal, masque en réalité une grande sensibilité racinaire aux attaques de *Phytophthora*.

TRONCS

L'attaque se développant soit au collet des jeunes semis, soit à la base des troncs des arbres adultes ou à l'origine de leurs racines principales, soit encore à la base des grosses branches, est habituellement appelée «gommose», «gommose à *Phytophthora*» (brown rot gommosis), «pourriture du pied» (foot rot), «pourriture du collet» (collar rot), «pourriture de la base du tronc» (basal trunk rot, crown root rot).

Ce genre d'attaque est extrêmement répandu et connu dans toutes les régions agrumicoles du monde sans exception, et son observation facile l'a fait très tôt reconnaître et étudier (4, 7, 10, 11, 12, 15, 24, 27, 28, 29, 31, 46). Elle peut survenir à tous les stades de développement des arbres.

On isole principalement de ces chancres : *Phytophthora citrophthora*, *P. parasitica*, *P. palmivora* ; les autres espèces y sont aussi parfois présentes.

Symptômes.

Ces différentes espèces de *Phytophthora* induisent des symptômes pratiquement identiques. En revanche ces derniers diffèrent légèrement selon l'âge et l'état physiologique de la plante, et plus nettement selon la variété hôte attaquée.

Sur jeune plantule, on note, à la base de la tige, l'apparition de petites taches irrégulières, foncées, tranchant sur le vert clair de l'écorce. Puis rapidement l'écorce se fendille et laisse écouler quelques gouttelettes de gomme brun ambré (7).

La zone nécrosée s'étend légèrement vers le haut puis ceinture la tige. Avant de se dessécher, la zone cambiale de la partie de la tige atteinte est humide et de couleur jaune brun clair. Cette coloration s'observe aussi à la limite du bois.

A ce stade le feuillage flétrit, puis jaunit et la jeune plante meurt en quelques jours.

Sur les troncs d'arbres bien développés, les tous premiers symptômes sont assez difficiles à déceler. On peut cependant observer l'apparition sur l'écorce d'une ou de plusieurs taches irrégulières de la taille d'une pièce de monnaie, de couleur brun foncé, d'aspect humide et situées le plus souvent au niveau du sol. Ultérieurement, l'écorce se fendille et laisse exsuder une gomme brun ambré plus ou moins abondante selon la variété attaquée et l'état végétatif de l'arbre. C'est à ce stade que sont repérées le plus souvent les attaques (photo 23).

Les nécroses se développent vers le haut et vers le bas en gagnant la base des grosses racines. Elles s'étendent aussi autour du tronc qu'elles peuvent ceinturer complètement.

La partie superficielle de l'écorce se dessèche progressivement, alors que le cambium reste humide et de couleur brun clair. Le bois sous-jacent présente cette même coloration, variant en intensité avec les variétés. La zone réellement envahie est toujours plus importante que ne le laisseraient supposer les seules nécroses visibles sur l'écorce (photo 24).



Photo 23. «Gommose» sur tronc (développement de la nécrose avec exsudation de gomme).



Photo 24. «Gommose» sur tronc (aspect de la zone nécrosée après dégagement de l'écorce).

En début d'attaque, aucun symptôme foliaire n'est visible. En revanche dès que l'attaque se développe, et avec un certain retard, le feuillage jaunit par secteur (photo 25), l'arbre fleurit à contre saison et se couvre de fruits précocement. Lorsque la nécrose ceinture tout le tronc, l'arbre sèche, les feuilles tombent les premières suivies par les fruits (photo 26).

Sans soins précoces, on observe parfois des périodes de moindre évolution, suivies d'une régénération partielle de l'écorce avec formation de bourrelets cicatriciels, mais le plus souvent l'arbre meurt plus ou moins rapidement selon les conditions climatiques et surtout selon le degré de sensibilité de la variété du porte-greffe, ou de l'arbre lui-même, s'il s'agit d'un sujet de semis.

Sur certains arbres, où l'implantation des branches charpentières est basse, la maladie peut débiter directement à la naissance de celles-ci, sur la variété greffée (photo 27).

Ces symptômes externes doivent être confirmés par l'isolement et la détermination d'espèces de *Phytophthora* spécifiques des agrumes, car d'autres maladies cryptogamiques, dues par exemple à *Diplodia*, à *Armillaria* ou encore à *Ceratocystis*, sont aussi localisées à la base des troncs et des grosses racines et provoquent parfois des exsudations de gomme et des symptômes foliaires voisins de ceux causés par une attaque avancée de *Phytophthora*.

Modalités d'infection - Voies de pénétration - Facteurs favorables.

Sur jeunes plantules, le *Phytophthora* peut pénétrer dans les tiges en l'absence de toute blessure, mais à condition cependant que le périoderme ne soit pas encore développé (48).

En revanche, il ne peut envahir les tiges subérisées, que dans le cas de blessure faite sur la partie externe de l'écorce. Les filaments mycéliens issus des zoospores ne peuvent pas pénétrer directement à travers l'écorce sains, mais on remarque qu'ils colonisent bien les tissus parenchymateux mis à nu.

La réussite de l'infection nécessite la présence d'un grand nombre de zoospores et les blessures fraîches sont plus facilement envahies que les



Photo 25. «Gommose» sur tronc (aspect de la frondaison au cours du développement de l'attaque).

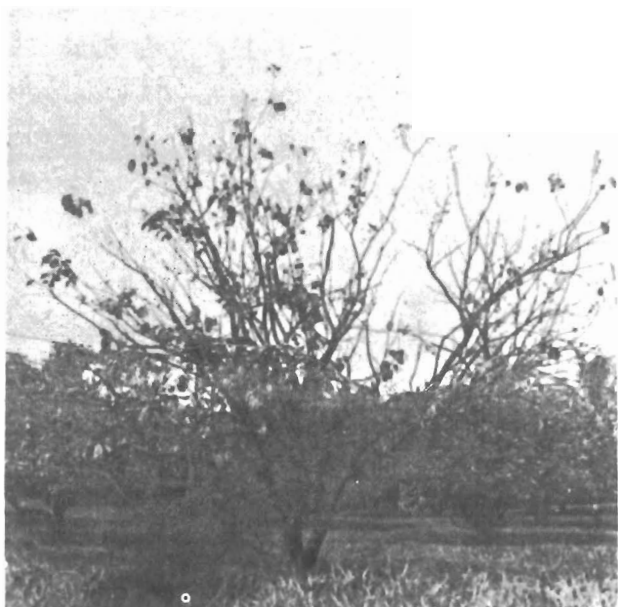


Photo 26. «Gommose» sur tronc (stade final).



Photo 27. «Gommose» sur branches charpentières (développement de la maladie sur la variété greffée).

blessures anciennes. Le développement des nécroses est favorisé par la présence de particules de terre sur la blessure.

Sur les troncs d'arbres plus âgés, la plupart des cas de gommose débudent à partir de blessures et, bien qu'il soit fréquent d'observer les premiers symptômes sans blessure apparente, il est difficile d'affirmer que l'écorce ne présentait aucune lésion si petite soit-elle, au moment de l'infection (23, 49).

Hormis le degré de sensibilité des variétés de semis ou de celles des porte-greffe utilisés (35), facteur essentiel dans la fréquence et l'importance de ce type d'attaque, le développement de la gommose est favorisé par une forte humidité persistante du sol, par des températures comprises entre 14 et 28°C et par les blessures de l'écorce (18, 22, 34).

II - MÉTHODES D'INOCULATION

Les méthodes d'inoculation mises au point sont destinées à répondre à des impératifs qui, souvent confondus, peuvent être cependant disjoints pour le besoin des études, d'une part vérifier l'activité parasitaire des souches, isolées soit des eaux d'irrigation, soit du sol, soit des organes atteints et, d'autre part, déceler la résistance ou la sensibilité des variétés (51).

Elles permettent aussi de juger de la valeur d'un traitement chimique.

METHODES D'INOCULATION DESTINEES A DECELER LA RESISTANCE OU LA SENSIBILITE DES VARIETES

Les *Phytophthora* inféodés aux agrumes infectant principalement les plantes, soit au niveau du système racinaire, petites ou grosses racines, soit à la base des troncs, les méthodes d'inoculation les plus couramment utilisées consistent précisément à placer au contact de ces zones un inoculum connu (13, 14, 20).

Inoculation sur fruits.

L'inoculation sur fruits n'est pas utilisable dans ce but, d'une part parce qu'on ne dispose des fruits d'une nouvelle variété qu'après de longs délais et, d'autre part, parce que les fruits de toutes les variétés possèdent à peu près la même sensibilité. (Ce dernier point est habituellement admis mais n'a, semble-t-il, pas été systématiquement vérifié).

Les inoculations ne s'effectuent pas sur les feuilles, bien qu'elles soient disponibles très tôt après la germination de la graine. Il est vrai qu'elles sont utilisées comme «piège» et que vraisemblablement leurs réactions à l'infection, tout comme les fruits, sont presque semblables chez toutes les variétés, et sans rapport avec les comportements aux champs des variétés correspondantes.

Inoculation sur racines et radicules.

Deux modes principaux d'inoculation sont couramment utilisés sur ces

organes.

Dans l'un, les jeunes plantes sont, après arrachage, inoculées à racines nues, par trempage durant quelques heures dans une suspension d'inoculum, puis replacées en pots.

Dans l'autre, l'inoculum est directement apporté dans le pot, le jeune plant restant en place.

Les plantes utilisées sont issues soit de semis, soit de boutures ; elles sont âgées de huit à dix mois et ont en général de 20 à 30 cm de haut et possèdent dix à douze feuilles. On peut aussi utiliser des plants plus jeunes de deux à trois mois et ne possédant que quatre à huit feuilles. Entre ces limites, il semble que l'âge du plant ne modifie pas le résultat final des essais.

Inoculation par trempage des racines.

Les jeunes plantes sont élevées durant plusieurs semaines sur un support léger (tourbe, vermiculite) additionné de solution nutritive, puis arrachées avec précaution.

Les racines sont mises à tremper 2 à 3 jours dans un bac d'eau aérée contenant l'inoculum. Celui-ci est obtenu à partir de cultures en milieux liquides (pois, lima bean, pomme de terre) âgées de 10 jours, légèrement broyées, enfermées dans un petit sac d'étamine fine après 20 heures d'incubation, afin de faciliter la libération des zoospores dans l'eau du bac d'inoculation. Les plantules sont ensuite replacées sur un support léger afin de ne pas léser les racines. Les observations sont faites environ trois à cinq semaines après (5, 20, 45).

Inoculation par apport direct d'inoculum.

Avec cette méthode les plantules sont placées soit dans un support tourbe vermiculite additionné de solution nutritive, soit dans un milieu liquide aéré (solution de Hoagland), soit enfin dans de la terre stérile de composition connue (3, 44).

L'inoculum provient de cultures sur milieux solides, âgées de quatre à six semaines (mélange semoule de maïs - sable) (3, 44) et il est alors

enterré à quelques centimètres de profondeur aux pieds des plantules, ou de cultures en milieux liquides, âgées de sept à dix jours (pois ou pomme de terre), diluées dix fois, broyées légèrement et distribuées par arrosage, ou mises en suspension dans la solution nutritive.

Cette méthode d'inoculation n'occasionne aucune blessure aux racines et permet de déterminer l'influence des caractéristiques physico-chimiques des différents sols dans l'évolution de la maladie.

Pour ces deux méthodes, les observations portent soit sur le nombre de plantules flétries ou mortes, soit sur les pourcentages de racines mortes et saines par rapport aux témoins. Pour l'estimation de ces pourcentages le système racinaire des plantules inoculées est trempé durant 24 heures à l'obscurité dans une solution à 1 p. cent de chlorure de 2-3-5 triphényl tétrazolium qui permet de distinguer facilement les racines saines, qui apparaissent alors colorées, des racines attaquées (21).

Inoculation sur tiges et troncs.

L'inoculation sur tige ou sur tronc a été employée dès le début des recherches. Elle peut se faire sur jeunes plants dont la tige bien lignifiée a atteint un diamètre d'au moins 1 cm (photo 28), ou sur les troncs des arbres plus âgés (23, 36, 47).

Sur jeune tige on peut pratiquer une incision en V au collet, soulever l'écorce et faire pénétrer dans la fente un fragment de culture de la souche retenue, puis couvrir avec un lien plastique de greffage, ou enlever une rondelle d'écorce avec un petit emporte-pièce, y placer un fragment de culture de la souche étudiée et couvrir également d'un lien plastique.

Sur arbre de plus grande taille, après brossage et lavage de l'écorce, on enlève une rondelle d'écorce jusqu'au bois avec un emporte-pièce de plus grande taille et l'on remplit la cavité de fragments de culture du *Phytophthora* retenu. On couvre d'une feuille de papier métallisé, maintenue d'un lien plastique (16, 17).

Les observations peuvent débiter entre trois à huit semaines après l'inoculation, et l'on mesure l'importance de la lésion développée. On peut



Photo 28. Plants de semis prêts à être inoculés.

alors comparer entre les différentes variétés inoculées, soit la taille des nécroses, soit leurs vitesses de développement.

Evaluation de la résistance au champ.

Les inoculations sur jeunes semis sont toujours complétées par des essais de comportement au champ.

La plantation des variétés retenues est réalisée dans un terrain naturellement infesté et l'on note, au cours des années, la vigueur des arbres et leur récolte, ce qui permet de déceler d'éventuels attaques sur racines ; on note aussi l'apparition de chancres au collet ainsi que leur vitesse de développement (26).

Les arbres témoins sont placés sur des parcelles voisines dont le sol a été préalablement désinfecté au Vapam, ou au Bromure de Méthyle additionné de Chloropicrine.

Corrélations entre les résultats obtenus avec les différentes méthodes d'inoculation.

A la suite des nombreuses séries d'inoculation effectuées tant sur racines, jeunes ou âgées, que sur tiges et troncs, avec ou sans blessure, et après comparaison des résultats, il apparaît que les radicules sont les organes les plus sensibles aux attaques, quelle que soit l'activité pathogène de la souche utilisée. Par conséquent, l'inoculation sur jeunes racines sélectionne plus sévèrement les variétés et présente le risque, si elle est seule utilisée, de classer comme sensibles des variétés possédant peut-être une résistance satisfaisante au champ.

Il faut indiquer cependant que, lorsqu'on inocule une gamme de variétés avec une seule souche de *Phytophthora*, le classement de celles-là, par ordre de résistance croissante par exemple, n'est guère modifié par les méthodes d'inoculation employées.

Il suffit donc d'introduire dans les essais où l'on utilise une seule méthode, une variété de référence dont on connaît bien le comportement à toutes les méthodes, pour pouvoir estimer sans risque excessif d'erreur le niveau de résistance des nouvelles variétés étudiées.

Corrélations entre les résultats obtenus avec les différentes méthodes d'inoculation et le comportement en champ.

La plupart des essais d'inoculations en serre ont été complétés, sur les mêmes variétés, d'observations en champ, ce qui a permis d'établir l'existence de bonnes corrélations entre le degré de sensibilité ou de résistance d'une variété, déterminé par inoculation expérimentale, et son comportement ultérieur en verger contaminé.

Ces essais ont aussi montré que les inoculations expérimentales sélectionnent plus sévèrement que les conditions naturelles. Par conséquent le risque de retenir comme résistante une variété qui se révélerait ensuite sensible sur le terrain, est presque inexistant et proviendrait, non pas de l'imperfection de la méthode d'inoculation employée, mais d'une variation possible de pathogénie au sein de la population du parasite, qui n'aurait pas été détectée. On limite d'ailleurs cette dernière éventualité en utilisant

comme inoculum, séparément et non en mélange, plusieurs souches d'origines géographiques différentes et d'activité parasitaire variée.

Un autre risque serait d'éliminer comme trop sensible une variété ayant en réalité une bonne résistance en verger contaminé. Pour éviter cette erreur, il suffit de placer dans les essais, systématiquement, une variété de référence dont on connaît bien le comportement en champ.

METHODES D'INOCULATION DESTINEES A VERIFIER L'ACTIVITE PATHOGENE DES SOUCHES ISOLEES

Les méthodes d'inoculation sur jeunes plantes et sur troncs d'arbres âgés, précédemment décrites, sont valables aussi pour vérifier l'activité pathogène des souches de *Phytophthora* (13).

En revanche, les contaminations réalisées aux champs sont difficiles à interpréter dans cette optique. Il faudrait pour cela disposer de souches de *Phytophthora* «marquées», c'est-à-dire possédant un caractère bien distinct et stable, permettant de les distinguer dans le sol lorsqu'elles sont en mélange avec d'autres souches.

Mais la pathogénie peut être simplement estimée en utilisant les fruits.

L'inoculation est facilement réalisée par simple trempage des fruits, la variété important peu, durant 2 minutes dans une suspension de zoospores de la souche à étudier. Il n'est pas nécessaire de les blesser. Les fruits sont ensuite placés à 28°C dans une enceinte humide. Le résultat est obtenu en quelques jours (20).

Mais cette méthode, comme nous l'avons déjà indiqué, ne renseigne pas avec précision sur le niveau de pathogénie des souches étudiées.

III - BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II

1. ANON. 1974.
Brown rot of Citrus fruit.
Plant Disease Bulletin, n°162, 3 p. 070656
2. BROADBENT (P.). 1969.
Observations on the mode of infection of *Phytophthora citrophthora* in resistant and susceptible Citrus roots.
1 st Int. Citrus Symp. Riverside, Californie, 1969, v. 4, p. 1207-1210 053103
3. BROADBENT (P.), FRASER (L.R.) et WATERWORTH (Y.). 1971.
The reaction of seedlings of Citrus spp. and related genera to *Phytophthora citrophthora*.
Proc. Linn., Soc. N.S.W., 1971, v. 96, n°3, p. 119-127. 061026
4. BRUN (J.). 1972.
Rapport sur la mission effectuée en Afrique : Gabon, Congo, Cameroun, Mali.
R.A., 1972, G 1, doc. 41, 22 p. 061030
5. CAMERON (J.W.), KLOTZ (L.J.), DEWOLFE (T.A.), SOOST (R.K.). 1972.
Estimates of the resistance of Citrus x Poncirus hybrids to feeder root infection by *Phytophthora* spp., by a greenhouse seedling test.
PLDRA, 1972, v. 56, n°11, p. 927-931. 063438
6. COHEN (E.), SCHIFFMANN-NADEL (M.). 1972.
Respiration pattern of lemon fruit infected with *Phytophthora citrophthora*.
Phyt., 1972, v. 62, n°7, p. 932-933. 063426
7. FAWCETT (H.S.). 1936.
Citrus diseases and their control.
Mc Graw Hill Book Company N.Y. London, 1936.
8. FATEMY (J.). 1972.
Phytiaceous fungi associated with Citrus decline in Iran.
Phyz., 1972, v. 74, n°2, p. 153-160. 066912
9. FRASER (L.R.) et SINGH (D.). 1966.
Root rot of Citrus in India.
Indian Hort., 1966, v. 11, n°1, p. 15-17. 44766
10. FROSSARD (P.). 1971.
La gommosse à *Phytophthora* des agrumes (cas des régions tropicales).
R.A., 1971, C 6, doc. 60, 8 p. 057788
11. GATTANI (M.L.) et SADEK (A.). 1962.
Maladies des plantes d'importance économique en Afghanistan.
Bull. Phytosanit. FAO, apr. 1962, vol. 10, n°2, p. 30-35. 19724
12. GRANADA (C.G.A.) et SANCHEZ (F.A.). 1969.
Etiología y prueba de resistencia de patrones a la pudrición del pie de los cítricos en el Valle del Cauca, Colombia.
ACAG, 1969, v. 19, n°3-4, p. 107-133. 054701
13. GRIMM (G.R.) et WHIDDEN (R.). 1963.
Range of pathogenicity of Florida cultures of the foot root fungus.
Citrus Ind., apr. 1963, vol. 44, n°4, p. 18-19. 22693

14. GRIMM (G.R.) et HUTCHINSON (D.J.). 1973.
A procedure for evaluating resistance of Citrus seedlings to *Phytophthora parasitica*.
PLDRA, 1973, v. 57, n° 8, p. 669-672. 065491
15. HARTMANN (G.). 1969.
Investigations on Citrus gummosis in Lebanon.
2e Congrès de l'Union phytopathologique méditerranéenne, 1969, v. 1,
p. 181-183. 052124
16. HARTMANN (G.) et NIENHAUS (F.). 1974.
The isolation of xanthoxylan from the bark of *Phytophthora* and *Hendersoniella*.
Infected Citrus limon and its fungitoxic effect.
PHYZ., 1974, v. 81, n° 2, p. 97-113. 070068
17. KLOTZ (L.J.) et FAWCETT (H.S.). 1930.
The relative resistance of varieties and species of Citrus to *Pythiacystis* gummosis
and other bark diseases.
J. agr. Res., Washington, 1930, 41 (3), p. 415-425. 42195
18. KLOTZ (L.J.), WONG (P.P.) et DeWOLFE (T.A.). 1959.
Survey of irrigation water for the presence of *Phytophthora* sp. pathogenic to
Citrus.
Plant Dis. Repr., 1959, vol. 43, n° 7, p. 830-832. 13628
19. KLOTZ (L.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1959.
Brown rot of lemon (*Phytophthora citrophthora*).
Amer. Phytopath. Soc., 1959, p. 43. 13399
20. KLOTZ (L.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1960.
The production and use of zoospore suspensions of *Phytophthora* spp. for
investigations on diseases of Citrus.
Plant Dis. Repr., 1960, vol. 44, n° 7, p. 572-573.
21. KLOTZ (L.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1965.
Tetrazolium, an indicator of infection in *Phytophthora* root rot of Citrus:
Plant Dis. Repr., Beltsville, mai 1965, vol. 40, n° 5, p. 423-424. 31561
22. KLOTZ (L.J.), RICHARDS (S.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1967.
Irrigation effects on root rot of young Citrus trees.
Cal. C., 1967, 52 (3), p. 91. 38717
23. KLOTZ (L.J.), BITTERS (W.P.), DeWOLFE (T.A.) et GARBER (M.J.). 1968.
Some factors in resistance of Citrus to *Phytophthora* spp.
PLDR, 1968, v. 52, n° 12, p. 952-955. 50150
24. KLOTZ (L.J.) et CALAVAN (E.C.). 1969.
Gum disease of Citrus in California.
CAGCA, 1969, n° 396, p. 1-26. 052360
25. KLOTZ (L.J.), STOLZY (L.H.), LABANAUSKAS (C.K.) et DeWOLFE (T.A.).
1971.
Importance of *Phytophthora* spp. and aeration in root rot and growth inhibition
of orange seedlings.
Phyt., 1971, v. 61, n° 11, p. 1342-1346. 060663
26. KLOTZ (L.J.), BITTERS (W.P.), BAINES (R.C.), MOORE (P.W.), DeWOLFE
(T.A.) et SMALL (R.H.). 1972.
Field testing for resistance to fungi and Citrus nematodes.
CALC, 1972, v. 57, n° 11, p. 395-396, 411-413. 061531

27. KLOTZ (L.J.). 1973.
Color handbook of Citrus disease.
University of California, 1973.
28. KNORR (L.C.), SUIT (R.F.) et DUCHARME (E.P.). 1957.
Handbook of Citrus diseases in Florida.
University of Florida, Bull. 587, 1957.
29. KNORR (L.C.). 1973.
Citrus diseases and disorders.
The University Presses of Florida, 1973.
30. LABANAUSKAS (C.K.), STOLZY (L.H.) et HANDY (M.F.). 1974.
Soil oxygen and *Phytophthora* spp. root infestation effects on the protein and free amino acids in lemon and orange leaves.
JASH, 1974, v. 99, n°6, p. 497-500. 068863
31. MARTIFRABREGAT (F.). 1974.
Icidenia de los agents patogenos que afectan a los agrios.
BSGNA, 1974, v. 35, n°9, p. 558. 068704
32. MATHEWS (W.D.). 1960.
Foot rot ... A major cause of Citrus tree decline.
Citrus Industry, sep. 1960, vol. 41, n°9, p. 18-19 14151
33. OXENHAM (B.L.) et STONE (Y.N.). 1969.
Citrus brown rot in Queensland.
QJAAA, 1969, v. 26, n°2, p. 173-180. 051425
34. ROSSETTI (V.) et BITANCOURT (A.A.). 1954.
Desenvolvimento de lesões experimentais de *Phytophthora* spp. nas diferentes estações do ano.
Ile Congr. Panamericano de Agronomia, Piracicaba, 1954 19052
35. ROSSETTI (V.), MUSUMECI (M.R.) et NAKADAIIRA (J.T.). 1964.
Estudos sobre gomose de *Phytophthora*. Influencia de diferentes clones sobre o desenvolvimento de leões causadas pelo fungo *Phytophthora* sp. inoculadas experimentalmente em porta enxerto de diversas variedades.
O Biologico, Sao Paulo, apr. 1964, vol. 30, n°1, p. 81. 30151
36. ROTH (G.). 1966.
The pathogenicity of *Diplodia natalensis* POLE-EVANS and *Phytophthora citrophthora* (SM. and SM.) LEON. to Citrus rootstocks.
Phytopathol. Z., 57, (3), p. 201-215. 1966 39904
37. SCHIFFMANN-NADEL (M.) et COHEN (E.). 1966.
Length of the incubation period of *Phytophthora citrophthora* under natural conditions in Citrus groves.
Pl. Dis. Repr., 1966, 50, (4), p. 251-253. 37081
38. SCHIFFMANN-NADEL (M.). 1969.
Research on *Phytophthora* diseases of Citrus fruit in Israël.
1 St Int. Citrus Symp., Riverside, California, 1969, v. 3, p. 1201-1205. 053102
39. SCHIFFMANN-NADEL (M.) et COHEN (E.). 1969.
The incubation period of *Phytophthora citrophthora* in Citrus fruits stored at different temperatures.
Phyt., 1969, v. 59, n°2, p. 237-238. 49023

40. STOLZY (L.H.), MOORE (P.W.), KLOTZ L.J.), DeWOLFE (T.A.) et SZUSKIESICZ (T.E.). 1960.
Effects of *Phytophthora* spp. on water used by Citrus seedlings.
Proc. amer. Soc. hort. Sci., 1960, vol. 76, p. 240-244. 15162
41. STOLZY (L.H.), LETEY (J.), KLOTZ (L.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1965.
Soil aeration and root-rotting fungi as factors in decay of Citrus feeder roots.
Soil Sci., Baltimore, jun. 1965, vol. 99, n°6, p. 403-406. 31539
42. THOMSON (S.V.) et ALLEN (R.M.). 1974.
Occurrence of *Phytophthora* species and other potential plant pathogens in recycled irrigation water.
PLDRA, 1974, v. 58, n°10, p. 945-949. 068885
43. TIMMER (L.W.) et FUCIK (J.E.). 1975.
The effect of rainfall, drainage, tree spacing, and fungicide application on the incidence of Citrus brown rot.
PHYTA, 1975, v. 65, n°3, p. 241-242. 070320
44. TSAO (P.H.) et GARBER (M.J.). 1960.
Methods of soil infestation, watering, and assessing the degree of root infection for greenhouse *in situ* ecological studies with Citrus *Phytophthora*.
Plant. Dis. Repr., 1960, vol. 44, n°9, p. 710-715. 15631
45. TSAO (P.H.) et MARTIN (J.P.). 1963.
Effect of soil exchangeable hydrogen and calcium ratio and the resulting pH on infection of Citrus fibrous roots by *Phytophthora parasitica*.
Phytopath., oct. 1963, vol. 53, n°10, p. 1143 25144
46. TUCKER (C.M.). 1963.
The distribution of the genus *Phytophthora*.
Univ. Missouri, agric. Exp. Sta., Columbia, Res. Bull. n°184, 80 p., mar. 1963 27343
47. VANDERWEYEN (A.). 1969.
Evaluation de la sensibilité de divers porte-greffe à la gommose à *Phytophthora*.
Plant Physiology Program with Abstracts of Papers to be presented at the Annual Meetings (CAZF), 1969, v. 6, p. 66-68. 067022
48. WHITESIDE (J.O.). 1971.
Some factors affecting the occurrence and development of foot rot on Citrus trees.
Phyt., 1971, v. 61, n°10, p. 1233-1238. 059833
49. WHITESIDE (J.O.). 1971.
Foot rot of Citrus : its development and control.
AUFSA, 1971, p. 190. 067176
50. WHITESIDE (J.O.) et OSWALT (T.W.). 1973.
An unusual brown rot outbreak in a Florida Citrus grove following sprinkler irrigation with *Phytophthora*-infested water.
PLDRA, 1973, v. 57, n°5, p. 391-393. 064734
51. WHITESIDE (J.O.). 1974.
Zoospore-inoculation techniques for determining the relative susceptibility of Citrus rootstocks to foot rot.
PLDRA, 1974, v. 58, n°8, p. 713-717. 068103

104.

52. ZENTMYER (G.A.). 1968.

Tactic responses of zoospores of *Phytophthora*.

First International Congress of Plant Pathology, 1968, v. 1, p. 225.

48364

CHAPITRE III

LES ESPÈCES ET VARIÉTÉS HÔTES

I - GÉNÉRALITÉS

La classification des agrumes et des genres voisins est complexe et tient à leur aptitude particulièrement développée à s'hybrider entre eux et avec de nombreuses espèces proches (25, 34).

Au sein de la famille des RUTACEES, les genres PONCIRUS, FORTUNELLA et CITRUS fournissent l'essentiel des espèces utilisées.

GENERALITES SUR LES GENRES PONCIRUS, FORTUNELLA ET CITRUS

Le genre PONCIRUS présente peu de variations et l'on connaît plus particulièrement le *Poncirus trifoliata*, petit arbre buissonneux et épineux dont les feuilles présentent trois folioles palmées. Les fruits ne sont pas comestibles.

Le genre FORTUNELLA, plus proche du genre CITRUS, comprend plusieurs espèces parmi lesquelles figurent les kumquats. Ce sont de petits arbustes épineux à feuilles simples et à fruits charnus.

Le genre CITRUS englobe la majeure partie des espèces cultivées pour leurs fruits. Ce sont des arbres en général de plus grande taille à feuilles simples dont les pétioles sont plus ou moins ailés. Leurs fruits charnus sont le plus souvent comestibles.

Dans ce genre CITRUS on distingue habituellement les principales espèces suivantes :

<i>Citrus medica</i> LINN.	cédrats
<i>Citrus limon</i> LINN. BURM.	citrons
<i>Citrus reticulata</i> BLANCO	mandarines et tangerines
<i>Citrus grandis</i> LINN. OSBECK	pamplemousses
<i>Citrus paradisi</i> Mac F.)	pomélos (ou grapefruits)
<i>Citrus aurantifolia</i> (CHRISTM.) SWINGLE	limes
<i>Citrus sinensis</i> (LINN.) OSBECK	oranges
<i>Citrus aurantium</i> (LINN.)	bigarades

HYBRIDES INTERGENERIQUES ET INTRAGENERIQUES

Les hybridations intergénériques et intragénériques sont possibles et ont produit toute une série de nouvelles formes, extrêmement diversifiées, dont certaines ont été retenues pour l'agrumiculture, soit comme variétés productrices de fruits, soit comme variétés de porte-greffe.

Ainsi les croisements entre le genre FORTUNELLA et quelques espèces du genre CITRUS, mandarines, limes et oranges, fournissent respectivement : calamondins, limequats et orangequats.

Ceux réalisés entre le genre PONCIRUS et les espèces citrons, mandarines, pomélos, oranges et bigarades, permettent d'obtenir : citremons, citrandarins, citrumelos, citranges et citradias (figure 4) (34).

Au sein du genre CITRUS, les cédrats se croisent entre eux, mais ne sont pratiquement pas hybridés avec les autres espèces.

Les citrons s'hybrident bien avec les oranges, les bigarades et les mandarines et fournissent alors des lemonanges, les limonines et des lemandarins.

Les limes sont peu fréquemment croisées entre elles, elles présentent d'ailleurs des formes variées, à petits ou gros fruits, de saveur douce ou acide, ce sont les limettes, limonettes ou limes-mandarines, dont les

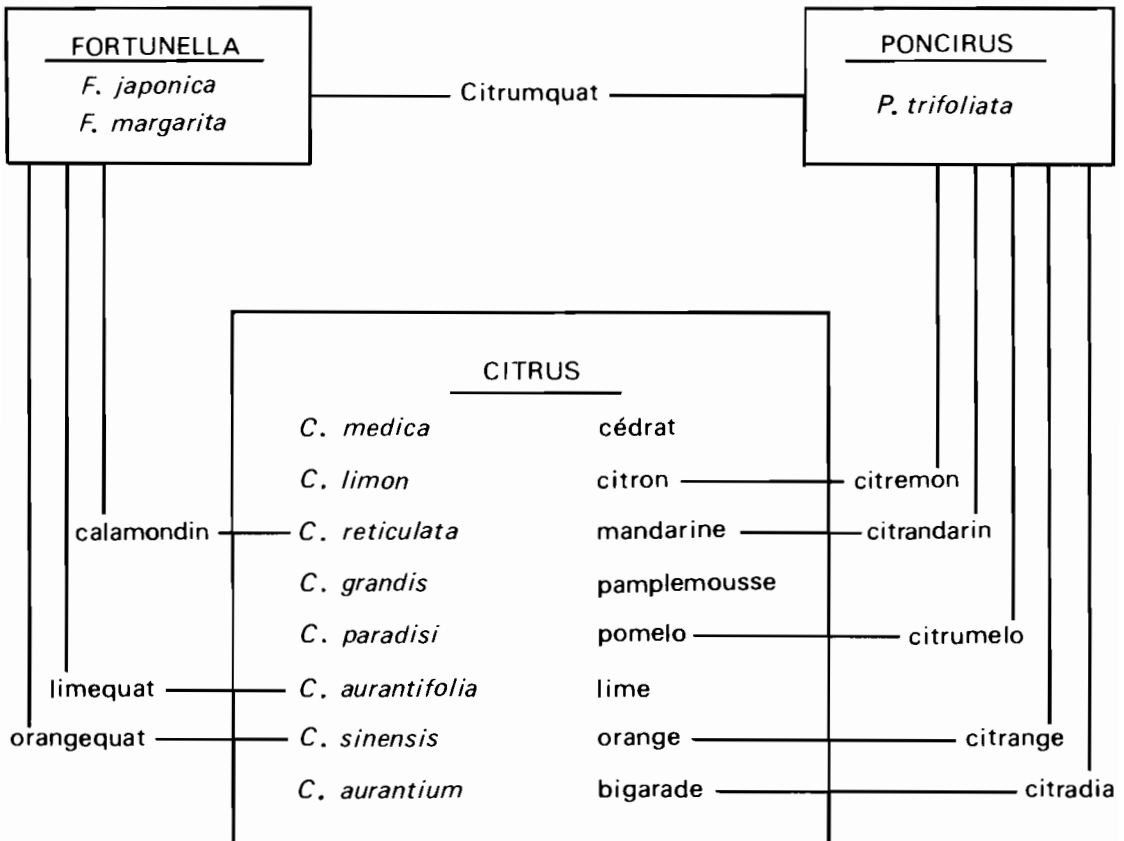


Figure 4 • HYBRIDATIONS INTERGENERIQUES.

positions systématiques sont mal définies.

En ce qui concerne les mandarines, la grande diversité des formes conduit encore à des opinions divergentes sur la classification de ces espèces. De plus, de nombreux hybrides intraspécifiques ont été réalisés.

Les mandarines s'hybrident bien avec les oranges, les pomélos, pour fournir des tangors, des tangelos et des siamelos.

Bien que classés dans deux groupes séparés, les pamplemousses et les pomélos sont assez voisins.

Les variétés de pamplemousses sont nombreuses mais leur intérêt commercial est limité.

Le groupe des pomélos ou grapefruits présente quelques variétés bien distinctes qui s'hybrident facilement avec d'autres espèces.

C'est au sein de l'espèce orange que l'on rencontre le plus de variétés utiles. Dans ce groupe on distingue habituellement les oranges blondes navel, les oranges blondes proprement dites, les oranges sanguines et les oranges sans acidité, dites douces.

Les croisements intra et interspécifiques sont aisés.

Les bigarades ou oranges amères sont assez proches des oranges. Plusieurs variétés sont utilisées pour leur production d'essence. Certains clones sont particulièrement appréciés pour leurs qualités de porte-greffe. Elles s'hybrident facilement entre elles.

II - SENSIBILITÉ ET RÉSISTANCE DES HOTES VIS-A-VIS DE *PHYTOPHTHORA*

Les travaux destinés à déterminer le degré de sensibilité ou de résistance aux *Phytophthora* spp. des espèces du genre *Citrus* et des genres voisins, ont été entrepris très tôt et sur une très large échelle, et sont venus compléter les observations de terrain.

Ainsi, depuis 1930 et jusqu'à maintenant, dans différentes régions du monde, plusieurs centaines de milliers de plantules et d'arbres de diverses variétés ont été observés ou inoculés artificiellement et classés selon leurs réactions aux attaques de *Phytophthora* 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 16, 17, 19, 21, 28, 30, 31, 33, 34).

Ces inoculations peuvent être réparties en deux grands groupes, d'une part celles qui ont été effectuées sur des variétés bien définies et qui ont permis un classement par groupe de sensibilité et, d'autre part, celles qui ont été réalisées sur des variétés hybrides, surtout obtenues par croisements contrôlés, et qui ont pu fournir des renseignements intéressants sur les meilleurs géniteurs à utiliser pour l'obtention ultérieure de nouvelles

variétés (3, 4, 7, 8, 15, 16, 17, 19, 25, 30, 31, 34). Ces travaux étaient menés soit avec des plants de semis, soit avec des plants greffés, et l'inoculum était appliqué aux racines ou aux tiges et troncs. De nombreuses races de *Phytophthora* ont été utilisées.

Tous ces résultats ont permis de distinguer, dans les réactions de sensibilité ou de résistance des variétés étudiées, la part due au patrimoine génétique, de celle due, par exemple, aux facteurs de l'environnement ou à l'âge du plant (4, 6, 12, 13). On a pu vérifier en outre que le niveau même de la résistance ne s'est pas toujours révélé constant d'un sujet de semis à l'autre (pris dans une même variété), ce qui ne saurait surprendre lorsqu'on connaît le fort degré d'hétérozygotie des principales espèces et variétés.

Cette résistance n'est pas non plus égale d'un sujet greffé à l'autre puisqu'elle est modifiée, pour le greffon, par la variété du porte-greffe et, pour le porte-greffe, par la variété du greffon (6, 19, 28).

Ces dernières modifications sont cependant de peu d'amplitude car, par exemple, un greffon de variété résistante ne rend pas résistant un porte-greffe sensible ou, inversement, un porte-greffe résistant ne confère pas la résistance à une variété sensible qui lui serait greffée.

On a noté en revanche des différences de sensibilité plus accusées vis-à-vis des diverses espèces de *Phytophthora* (29, 33).

Ainsi, par exemple, on estime généralement que le Citrange Carrizo est moins résistant à *Phytophthora citrophthora* qu'à *P. parasitica* (25). Sur un siamelo (mandarine King x pomélo) le *P. parasitica* serait plus actif que le *P. citrophthora* (15).

Mais comme ces essais restèrent limités et n'ont pas été répétés dans toutes les régions agrumicoles et avec un grand nombre de souches de *Phytophthora* et que, par ailleurs, les espèces de *Phytophthora* sont habituellement presque toutes présentes dans les vergers, ces différences de sensibilité aux races de *Phytophthora* ne peuvent être utilisées valablement pour la sélection de variétés résistantes.

SENSIBILITE ET RESISTANCE DES ESPECES ET HYBRIDES INTRAGENERIQUES DU GENRE CITRUS

On ne dispose que de données très succinctes pour ce qui concerne le groupe des **Cédrats**, mais il a été signalé que certains clones, aux Indes, étaient assez résistants (25, 34).

Les **Citrons** sont en général sensibles et même très sensibles, avec cependant des degrés selon les variétés ; ainsi, parmi les plus courants, il est admis que les citrons Lisbonne et Eureka sont plus sensibles que Villafranca.

Chez les **Mandarines** la différence de comportement entre les variétés est très grande. Certaines sont considérées comme résistantes, comme les mandarines Batangas, King et certains clones de la mandarine Ponkan (4, 7, 8). D'autres se classent dans la catégorie des très sensibles, comme quelques Satsuma et la mandarine Dancy. D'autres clones de Ponkan seraient également plus sensibles à *P. parasitica* qu'à *P. citrophthora* (4, 7, 8). La mandarine Cléopâtre est parfois considérée comme résistante, mais des attaques sévères sur certains clones ne sont pas rares. Elle serait sensible à *P. parasitica* mais résistante à *P. citrophthora*.

Au sein du groupe des **Pamplemousses** il existe de très grandes différences. Certaines variétés sont sensibles. D'autres, comme le pamplemousse Ichang par exemple, présentent une bonne résistance (4, 7, 8).

Une situation semblable se rencontre dans le groupe des **Pomélos**, où variétés sensibles et résistantes coexistent. Par exemple, le pomélo Impérial est considéré comme résistant ainsi que le pomélo Ogami, mais le pomélo Royal est sensible (4, 7, 8).

Dans le groupe des **Limes** il semble que l'on ne connaisse pas de variétés nettement résistantes. Les limes douces, comme la lime douce de Palestine, sont réputées très sensibles, les limes acides le sont légèrement moins. On constate par ailleurs différents degrés de sensibilité entre les limes Beerse, Tahiti et Persian (25).

La majeure partie des variétés du groupe **Orange** sont considérées comme sensibles et souvent même comme très sensibles (25, 28). Il existe

cependant quelques exceptions, comme par exemple l'orange Smooth Seville qui, selon les clones, peut être classée parmi les variétés résistantes ou très résistantes (2, 11).

Les **Bigaradiers** présentent tous une très bonne résistance, avec quelques variations selon les clones.

Il apparaît donc que, parmi les variétés des principaux groupes du genre *Citrus*, peu d'entre elles présentent réellement une bonne résistance aux *Phytophthora* spp.

C'est pourquoi les recherches se sont portées sur d'autres espèces plus marginales.

Ainsi, parmi les limes-mandarines (*Citrus limonia*), la lime **Rangpur** est considérée par certains auteurs comme résistante, bien que d'autres la classent de préférence avec les espèces sensibles (2, 25).

Citrus volkameriana est, selon les clones, classé parmi les résistants ou les sensibles.

Citrus junos (YUZU), *Citrus taiwanica* et *Citrus macrophylla* sont considérés comme résistants et même parfois comme très résistants (25).

En ce qui concerne le *Citrus jambhiri* ou **Rough lemon**, on note des différences importantes de comportement selon les clones (4). Considéré en général comme sensible, le Rough lemon est néanmoins souvent utilisé comme porte-greffe. Il est vraisemblable que, pour cette variété, les conditions de climat et de sol, et peut être aussi de races de *Phytophthora*, jouent un rôle très important dans l'expression de son degré de sensibilité.

Hybrides intragénériques.

Des croisements intragénériques ont été réalisés chez les *Citrus*, avec les différentes espèces, et le comportement des hybrides observés.

Les croisements entre mandarines fournissent en général des hybrides sensibles (4).

En revanche, les croisements entre bigaradiers produisent des hybrides qui conservent habituellement la résistance des parents.

Avec les Tangelos et les Siamelos, issus de croisements entre mandarine et pomélo, on obtient des hybrides intéressants. Les tangelos Sampson, Thorton, Seminole et Pearle sont résistants, ainsi qu'Orlando dans certaines conditions, mais d'autres tangelos hybrides se sont révélés sensibles (4, 8).

SENSIBILITE ET RESISTANCE DES ESPECES DES GENRES FORTUNELLA ET PONCIRUS

Dans le genre *Fortunella*, l'espèce kumquat présente des différences de comportement selon les variétés. Le kumquat Marumi est réputé résistant, en revanche le kumquat Nagami est sensible (34).

Au sein du genre *Poncirus*, l'espèce la mieux connue, *Poncirus trifoliata*, est représentée par plusieurs dizaines de variétés et de clones. Tous sont, à des degrés divers, normalement résistants. Ainsi les *Poncirus* Pomeroy, Texas, Rubidoux, sont considérés comme extrêmement résistants, d'autres, comme Sacatan, Swingle, Barnes, présentent simplement une très bonne résistance (4, 8, 18).

SENSIBILITE ET RESISTANCE DES HYBRIDES INTERGENERIQUES

Les espèces connues du genre *Poncirus*, ayant montré qu'elles étaient toutes résistantes, sous de nombreux climats et à des nombreuses souches de *Phytophthora* liées aux agrumes, ont été tout naturellement utilisées comme parents pour les croisements intergénériques (3, 4).

Les variétés et clones de *Poncirus trifoliata* ont été croisés dans la plupart des cas, avec les espèces du genre *Citrus* qui apportaient leurs qualités agronomiques, gustatives et commerciales.

Les croisements de *Poncirus trifoliata* avec différents orangers ont donné naissance à plusieurs citranges. Parmi eux les citranges Rusk, Yuma,

Savage, Troyer, Carrizo, ont conservé la très forte résistance de leur parent *Poncirus*. D'autres, comme les citranges Colman, Eatonia, Morton, présentent aussi un bon comportement vis-à-vis des *Phytophthora* spp. (4, 17).

Les croisements de *Poncirus trifoliata* avec les pomélos (Citrumelo), les citrons (Citremón), les bigaradiers (Citradias) ont aussi fourni des hybrides très résistants comme le Citrumelo CPB 4475 (16). Le *Poncirus trifoliata* 'Swingle', croisé avec la lime Rangpur et la mandarine Cléopâtre, a donné des hybrides assez sensibles, mais, avec la mandarine Sunki, une variété très résistante de citrandarin a été obtenue.

La même mandarine Sunki, croisée avec le *Poncirus trifoliata* 'Rubidoux', a également fourni une nouvelle variété très résistante (4, 20). Ce même *Poncirus trifoliata* 'Rubidoux' a transmis ses caractères de grande résistance à deux hybrides obtenus avec les mandarines Suen Kat et Shekwaska, et à d'autres variétés après croisement avec le pamplemousse 'African' (4, 20).

Les citranges (*Poncirus trifoliata* x oranger) étant en général tous très résistants, ils ont été à leur tour utilisés comme parents pour l'obtention d'hybrides résistants.

Mais si certains Citrangors (citrangle x oranger) sont résistants, d'autres croisements, citrange x clémentine et citrange x mandarine, ont fourni des variétés hybrides très sensibles.

En conclusion, la résistance aux *Phytophthora* inféodés aux agrumes est largement, mais inégalement, distribués au sein du genre *Citrus* et les genres voisins *Fortunella* et *Poncirus*.

Bien que de très nombreuses variétés aient été étudiées, il est encore possible de découvrir des sujets de semis présentant une bonne résistance dans les zones de peuplements anciens et subspontanés.

Par ailleurs, d'autres variétés peuvent être créées et les observations antérieures montrent qu'il n'est pas toujours indispensable, pour obtenir une nouvelle variété résistante, que les deux parents soient également résistants.

III - CARACTERES ET LOCALISATION DE LA RÉSISTANCE

Les travaux réalisés pour tenter de localiser et de caractériser les différences existant entre variétés sensibles et variétés résistantes sont peu nombreux et limités (1, 10, 12, 21, 22).

En ce qui concerne les attaques intervenant sur les troncs, on a pu observer que la croissance *in vitro* de *Phytophthora* était partiellement inhibée en présence de disques d'écorces prélevés sur des variétés résistantes (22).

La résistance serait alors localisée dans les couches externes de l'écorce, et serait liée à la présence de substances capables d'entraver la progression du champignon. Ces substances ont été caractérisées, il s'agirait de composés phénoliques et de xanthoxylines.

Pour les attaques racinaires, chez les variétés résistantes, les réactions de défense interviennent toujours après la pénétration, au niveau des premières couches de cellules sous épidermiques. On ne possède pas d'autres informations sur la nature de ces réactions racinaires et l'on ignore tout de leur mode de déclenchement.

Il apparaît donc que la pénétration s'effectue selon le même mode, aussi bien chez les variétés résistantes que chez les variétés sensibles, au niveau des troncs et des racines, et que les mécanismes de défense n'interviennent qu'après, pour limiter ou arrêter, chez les variétés résistantes, la progression du champignon. Ces mécanismes seraient d'ailleurs partiellement perturbés lorsqu'il y a blessure profonde des tissus de l'écorce, chez certaines variétés résistantes, permettant ainsi la progression (17).

Il reste beaucoup à faire pour connaître avec précision ces réactions cellulaires et les relier aux comportements en champs des différentes variétés.

IV - NATURE DES RELATIONS HOTE-PARASITE DANS LE COUPLE «AGRUMES-PHYTOPHTHORA spp.»

Malgré la réalisation d'un grand nombre d'expériences d'inoculations

destinées à déterminer la sensibilité des variétés et à sélectionner de nouvelles variétés résistantes, il semble qu'aucune d'entre elles n'ait été réalisée ou exploitée dans le but de déterminer aussi la nature de cette relation de sensibilité ou de résistance. Est-elle de type polygénique ou de type oligogénique ? (32).

C'est ainsi que dans un grand nombre d'expériences, **une seule souche** de *Phytophthora* est confrontée à **plusieurs variétés** d'agrumes. Cette méthode a permis de ranger ces variétés selon leurs sensibilités relatives, mais limite ce classement à un cas particulier (20).

Dans d'autres expériences, **plusieurs souches** sont inoculées à **une seule variété** hôte, et l'on met ainsi en évidence l'existence de différences dans l'activité parasitaire de souches morphologiquement identiques. Ces variations étant sans relation avec l'origine d'isolement des souches (écorce, racine, ou terre) (10).

Mais dans la plupart des essais, plusieurs souches de *Phytophthora* sont inoculées **en mélange** à **plusieurs variétés** de plantes hôtes. Cette technique n'apporte pas de renseignements supplémentaires par rapport aux inoculations effectuées avec une seule souche, car on ne peut savoir si plusieurs souches parasitent en même temps une seule plante ou si l'une d'elles ne supplante pas les autres (2, 4). D'autre part cette méthode ne permet pas de distinguer si les différences de sensibilité, observées sur une même variété au cours d'expériences réalisées indépendamment ou dans des pays différents, proviennent de variations naissant au sein des populations d'hôtes ou au sein des populations de parasites.

Elle est enfin très incertaine car rien n'indique que les plantes atteintes le sont toujours systématiquement par la souche la plus active de mélange. On se prive donc d'une information importante concernant l'amplitude de la variabilité de pathogénie des populations de parasites.

Il existe cependant des expériences au cours desquelles **plusieurs souches** de *Phytophthora* ont été inoculées **séparément** à **plusieurs variétés** d'agrumes.

Dans l'une d'elles (29) deux souches pathogènes de *Phytophthora* (*P. citrophthora* et *P. parasitica*) ont été inoculées séparément à douze

variétés d'orangers, utilisées comme porte-greffe pour un clone nucellaire et pour un clone de vieille lignée d'oranger Hamlin. L'activité des souches et la sensibilité des combinaisons sont estimées par mesure de l'importance de la lésion produite sur le tronc après inoculation.

Les résultats obtenus dans cet essai révèlent tout d'abord une différence marquée d'activité entre les deux souches parasites ; *P. citrophthora* apparaissant comme nettement plus pathogène que *P. parasitica*. Ils révèlent aussi que le classement des variétés par ordre croissant de sensibilité diffère significativement selon qu'elles ont été inoculées par *P. parasitica* ou par *P. citrophthora*. De plus, ce même classement diffère encore significativement pour les inoculations effectuées avec l'une ou l'autre des deux souches, selon que le greffon est d'origine nucellaire ou d'origine de vieille lignée.

Une action différentielle entre les populations d'hôtes et les deux souches parasites est révélée et, par conséquent, très vraisemblablement la variété de porte-greffe, prise dans le groupe des orangers, introduit une relation de type oligogénique entre ces plantes hôtes et leurs parasites *Phytophthora*.

Les petites différences de sensibilité observées sont commandées par un très petit nombre de gènes différents, présents dans chaque variété.

Dans une autre expérience (18) trois souches de *P. parasitica* sont inoculées, séparément, à deux groupes d'hôtes, le citronnier Lisbonne et l'oranger Washington Navel, greffés sur le même porte-greffe, l'oranger Mme Vinous. Malgré l'identité du porte-greffe, limitant la variabilité des hôtes, des différences significatives apparaissent entre les activités pathogènes des trois souches et au niveau de la sensibilité des deux combinaisons hôtes.

L'influence du greffon sur la sensibilité du porte-greffe est clairement démontrée, mais il apparaît en outre des interactions différentielles entre populations d'hôtes et populations de parasites. En effet le classement des trois souches par ordre d'activité pathogène croissante est différent chez les deux groupes d'hôtes. Dans cet exemple, comme dans le précédent il semble que la variété du greffon révèle aussi l'existence d'une situation de type oligogénique.

Au cours d'expériences similaires (22) trois souches de *P. parasitica* d'origines géographiques diverses ont été inoculées, toujours séparément, à quatre variétés d'agrumes.

Ces essais ont permis d'observer des différences notables d'activité parasitaire parmi ces souches et de classer les variétés selon leur degré de sensibilité. On peut ainsi effectuer simultanément deux classements concernant, d'une part les souches, par ordre décroissant d'activité parasitaire et, d'autre part, les variétés, par ordre croissant de résistance, et les regrouper dans un même tableau.

Souches parasites classées par ordre d'activité décroissante	Variétés classées par ordre de résistance croissante (coefficient de résistance de 0 à 100)			
	citron Eureka	pomélo Thompson	pomélo Marsh	<i>Poncirus trifoliata</i>
<i>P. parasitica</i> (Maroc)	0	12,5	21,2	87,5
<i>P. parasitica</i> (Corse)	0	39,4	45,4	94,1
<i>P. parasitica</i> (Côte d'Ivoire)	45,4	96,9	100	100

On ne note aucune action différentielle entre population d'hôtes et population de parasite. En effet, le classement des trois souches par ordre d'activité parasitaire décroissante n'est pas différent chez les quatre groupes d'hôtes et, réciproquement, le classement des hôtes ne varie pas avec les souches parasites. Cette situation caractérise une relation hôte-parasite de type polygénique. Le citronnier Eureka et le *Poncirus trifoliata* diffèrent donc par un nombre important de gènes réglant leur sensibilité au *Phytophthora*.

Dans un autre essai portant sur différents clones de *Poncirus trifoliata* ceux-ci ont été inoculés, séparément toujours, par deux souches de *P. parasitica*.

Souches parasites classées par ordre d'activité décroissante	Clones de <i>Poncirus trifoliata</i> classés par ordre de résistance croissante (coefficient de résistance de 0 à 100)						
	Z2	A58	A2	A59	Z19	Z26	A7
<i>P. parasitica</i> (Maroc)	76,6	77,7	77,7	85,0	90,0	95,0	100
<i>P. parasitica</i> (Corse)	80,0	84,3	86,1	91,6	95,0	100	100

Comme dans l'exemple précédent, ces résultats sont caractéristiques d'une relation hôte-parasite de type polygénique.

Ces résultats sont insuffisants pour permettre de dénombrer avec exactitude les gènes impliqués, mais ils indiquent cependant que dans le couple « agrume-*Phytophthora* » se superposent deux catégories de relations, l'une de type polygénique, l'autre de type oligogénique.

Cette dernière est plus facilement révélée, soit au sein d'une population d'hôtes relativement sensibles appartenant à un même groupe comme dans l'exemple des orangers, soit lorsque, seule, la variété greffée varie.

La première semble en revanche prépondérante, d'une part lorsqu'on compare l'ensemble des variétés d'agrumes, des plus sensibles aux plus résistantes, d'autre part au sein de groupes d'hôtes résistants comme dans l'exemple des *Poncirus trifoliata*.

Cette situation indique qu'il est préférable de sélectionner les nouvelles variétés résistantes dans la descendance obtenue à partir de croisements interspécifiques (26, 27).

V - BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE III

1. ABD-EL-KEHIM (A.A.), IBRAHIM (I.A.) et EL-NAMPAL (E.M.). 1971
Serodiagnostic studies on Citrus spp. with respect to their resistance to *Phytophthora citrophthora*.
Alexandria J. Agr. Res., 1971, vol. 19, n 1, p. 145-147 064153
2. BROADBENT (P.), FRASER (L.R.) et WATERWORTH (Y.). 1971.
The reaction of seedlings of Citrus spp. and related genera to *Phytophthora citrophthora*.

- Proc. Linn., Soc. N.S.W.*, 1971, v. 96, n 3, p. 119-127. 061026
3. CAMERON (J.W.), KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et SOOST (R.K.). 1972.
Estimate of the resistance of Citrus x *Poncirus trifoliata* to feeder root infection by *Phytophthora* spp., by a greenhouse seedling test.
PLDRA, 1972, v. 56, n 11, p. 927-931. 063438
 4. CARPENTER (J.B.) et FURR (J.R.). 1962.
Evaluation of tolerance to root rot caused by *Phytophthora parasitica* in seedlings of Citrus and related genera.
Phytopath., dec. 1962, vol. 52, n 12, p. 1277-1285. 21221
 5. CARPENTER (J.B.), BURNS (R.M.) et FURR (J.R.). 1975.
Phytophthora-tolerant rootstocks for lemons.
PLDRA, 1975, v. 59, n 1, p. 54-56. 069489
 6. FAWCETT (H.S.). 1936.
Citrus diseases and their control.
Mc Graw Hill Book Company, N.Y. London, 1936.
 7. FURR (J.R.) et CARPENTER (J.B.). 1961.
Program for breeding Citrus rootstocks tolerant to *Phytophthora* root rot.
Proc. Fla. State Hort. Soc., 74, p. 18-23.
 8. FURR (J.R.), CARPENTER (J.B.) et HEWITT (A.A.). 1963.
Breeding new varieties of Citrus fruit and rootstocks for the Southwest.
J. Rio Grande-Valley Horti. Soc., vol. 17, p. 90-107.
 9. GRANADA (C.), (G.A.), et SANCHEZ (P.A.). 1969.
Etiología y prueba de resistencia de patrones a la pudrición del pie de los cítricos en el Valle del Cauca, Colombia.
Acag., 1969, v. 19, n 3-4, p. 107-133. 54701
 10. GRIMM (G.R.) et WHIDDEN (R.). 1962.
Range of pathogenicity of Florida Citrus of the foot rot fungus.
Flor. St. Hort. Soc., n 75, p. 73-74.
 11. GRIMM (G.R.) et GARNSEY (S.M.). 1969.
Foot rot and Tristeza tolerance of smooth Seville orange from two sources.
Citrus Industry, vol. 50, n 1, p. 12.
 12. HARTMANN (G.). 1969.
Investigations on Citrus gummosis in Lebanon.
2e Congrès de l'Union Phytopathologique méditerranéenne, 1969, v. 1, p. 181-183
52124
 13. HARTMANN (G.). 1973.
Influence des saisons sur la sensibilité de Citrus limon BURM à l'égard de l'agent de la gommose *Phytophthora citrophthora* (SM et SM) LEONIAN et *Hendersonula torulosa* NATRASS au Liban.
Thèse Bonn. Theinischen Friedrich-Wilhelms-Universitat, 1973, 141 p.
BSGNB, 1974, v. 10, n 4, p. 105. 068425
 14. HARTMANN (G.) et NIENHAUS (F.). 1974.
The isolation of xanthoxylin from the bark of *Phytophthora* and *Hendersonula*.
Infected Citrus limon and its fungitoxic effect.
PHYZ., 1974, v. 81, n 2, p. 97-113. 070068

15. HUTCHINSON (D.J.) et GRIMM (G.R.). 1973.
Citrus clones resistant to *Ph. parasitica* 1973 : Screening results.
Proc. Fla. State Hort. Soc., 86, 1973-1974, p. 88-91.
16. HUTCHINSON (D.J.). 1974.
Swingle Citrumelo a promising rootstock hybrid.
Proc. Flor. St. Hort. Society, Delond. Florida, vol. 87, 1974, p. 89-91
17. KLOTZ (L.J.) et FAWCETT (H.S.). 1930.
The relative resistance of varieties and species of Citrus to *Pythiacystis gummosis* and other bark diseases.
J. Agr. Res., Washington, 1930, vol. 41, n 3, p. 415-425 42195
18. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et PO-PING-WONG. 1958.
Influence of two varieties of Citrus scions on the pathogenicity of three isolates of *Phytophthora parasitica* - to sweet orange rootstocks.
Phytopathology, vol. 48, p. 520-521.
19. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et MOORE (P.W.). 1967.
Testing sweet orange rootstocks.
Cal. C., 1967, vol. 52, n 9, p. 387-388. 40591
20. KLOTZ (L.J.), BITTERS (W.P.), DeWOLFE (T.A.) et GARBER (M.J.). 1968.
Some factors in resistance of Citrus to *Phytophthora* spp.
PLDR, 1968, vol. 52, n 12, p. 952-955. 50150
21. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et BAINES (R.C.). 1969.
Resistance of Trifoliata oranges stocks to gummosis.
CALC, 1969, vol. 54, n 6, p. 259-260. 49373
22. LAVILLE (E.). 1975.
Réflexions sur la nature des relations hôte-parasite dans le couple «Agrumes-*Phytophthora* spp.».
Fruits, 1975, vol. 30, n 1, p. 19-22. 068573
23. MUSUMECI (M.R.), GROHMANN (A.A.), ROSSETTI (V.) et KUC (J.). 1970.
Estudo das bases bioquímicas do mecanismo de resistencia de variedade de laranja ao fungo *Phytophthora citrophthora*.
BIOG, 1970, vol. 36, n 12, p. 345. 56639
24. MUSUMECI (M.R.), GROHMANN (A.A.) et ROSSETTI (V.). 1970.
Resultados preliminares do estudo do mecanismo de resistencia de variedades cítricas a gomose *Phytophthora citrophthora* (R.E. SM et E.H. SM, LEONIAN).
AIBOA, 1970, vol. 37, n 2, p. 137-142. 55414
25. PRALORAN (J.C.). 1971.
Les agrumes.
Ed. G.P. Maisonneuve et Larose, Paris, 1971.
26. ROBERTSON (R.A.). 1969.
Disease resistance terminology.
Rev. Appl. Mycol., 1969, vol. 48, n 11-12, p. 593-606.
27. ROBERTSON (R.A.). 1971.
Vertical resistance.
Rev. Plant Path., may 1971, vol. 50é n 5, p. 233-239.
28. ROSSETTI (V.), MUSUMECI (M.R.) et NAKADAIRA (J.T.). 1964.
Estudos sobre gomose de *Phytophthora* - Influencia de diferentes clones sobre o desenvolvimento de lesões causadas pelo fungo *Phytophthora* sp. inoculadas experimentalmente em porta enxerto de diversas variedades.
O Biologico, Sao Paulo, apr. 1964, vol. 30, n 1, p. 81. 30151
29. ROSSETTI (V.). 1971.
Estudo comparativo da resistencia a *Phytophthora citrophthora* e *P. parasitica*

de onze variedades de *Citrus sinensis*, usadas como porta-enxertos para Paranja Hamlin de clone nuclear e clone velho.

Anais de I Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1971, p. 489-503.

30. TOXOPEUS (H.J.). 1931.

Ervaringen en resultaten van het in 1928-1929, en 1930 nitgevoerde kruisingswerk in Citrus.

Korte Meded. Alg. Proefstn. Landb., 9, p. 1-13.

31. TOXOPEUS (H.). 1955.

Breeding of stocks for Citrus resistant to gum - disease and «mal tristeza».

Report 14th Intern. Hort. Congr., 2, 1423-1427.

The Hague - Schereningen - The Netherlands.

32. VAN DER PLANK (J.E.). 1968.

Disease resistance in plants.

Academic Press, N.Y. London, 1968.

33. VANDERWEYEN (A.). 1969.

Evaluation de la sensibilité de divers porte-greffe à la gommose à *Phytophthora*.

Plant Physiology Program with Abstracts of Paper to be Presented at the Annual Meetings, 1969, vol. 6, p. 66-68.

34. WEBBER and BACHELOR.

Citrus Industry.

University of California Press, tome 1 - tome 2, 1943, first Edition.

CHAPITRE IV

LES MÉTHODES DE LUTTE

I - LES MÉTHODES DE LUTTE

Pour lutter contre les divers aspects des maladies à *Phytophthora* des agrumes on dispose de plusieurs moyens que l'on utilise, totalement ou partiellement, selon les circonstances, les impératifs économiques, et selon les organes atteints (15, 37, 38, 42, 43).

Dans la plupart des cas on peut engager d'abord la lutte par le choix judicieux de pratiques culturales, et leurs améliorations.

Ensuite, l'arsenal des produits fongicides apporte une contribution efficace, dont les modalités d'application pourront varier dans le futur avec la découverte probable de nouvelles molécules actives.

Enfin l'utilisation et la création de variétés résistantes permet de résoudre plus durablement les problèmes posés par les attaques, localisées à la base des troncs et au système racinaire.

MÉTHODES DE LUTTE CONTRE LA «POURRITURE BRUNE» DES FRUITS, ET CONTRE LES ATTAQUES SUR FEUILLES ET RAMEAUX .

Au verger.

On limite les possibilités d'infections des fruits et des organes aériens, feuilles et petits rameaux, dans les plantations, par l'élimination des herbes

sous la frondaison et par la taille des branches basses.

On complète ces pratiques culturales, dans les saisons favorables aux attaques, par des traitements fongicides, à l'aide de pulvérisations, soit de bouillie bordelaise (3 - 4,5 - 100) ou de bouillies cupriques titrant environ 200 g d'oxychlorure de cuivre pour 100 litres d'eau (3, 26, 31, 47), soit de produits de synthèse du groupe des Carbamates (zinèbe - manèbe), ou mieux du groupe des Dicarboximides comme le captafol à la dose d'environ 250 g m.a. pour 100 litres d'eau à raison de 25 à 30 litres par arbre adulte, répartis pour les 2/3 sur la base de la frondaison et pour 1/3 sur le tronc et le sol autour du tronc (24, 26). Le captafol est parfois susceptible d'occasionner quelques «brûlures» légères à l'épiderme des fruits proches de la maturité, c'est pourquoi à ce stade on préfère l'utiliser à 150 g m.a./100 litres. Malgré ce léger inconvénient, le captafol doit être préféré car il reste, à l'heure actuelle, le plus efficace.

Il est important de traiter dans les périodes favorables au champignon, juste après la première pluie, et si nécessaire de répéter le traitement un mois après (26, 31, 36, 49).

On peut aussi adjoindre aux eaux d'irrigation de petites quantités d'hypochlorure de chaux afin d'obtenir une concentration finale d'environ 1 mg par litre de Cl_2 à la sortie des buses d'aspenseurs ou des capillaires de goutte à goutte.

Aux stations d'emballage.

Dans les stations de conditionnement il est tout d'abord nécessaire de ne pas introduire de fruits ramassés à terre, de veiller à la propreté des caisses de récolte, de changer fréquemment les eaux de lavage et de désinfecter périodiquement les bacs de trempage.

Les fruits présentant des symptômes bien visibles déjà à la récolte sont en principe éliminés, soit à la cueillette, soit aux postes de triage.

Pour les autres, éventuellement infestés, mais ne présentant aucun symptôme visible, la méthode la plus efficace consiste à les traiter par trempage dans un bain d'eau chaude à 46° - 48°C durant 2 à 4 minutes. La température est abaissée à 35° - 38°C pour les citrons qui sont un peu plus

sensibles que les oranges (28, 31). Cette méthode n'est efficace que si les fruits sont traités entre 2 et 4 jours après l'infection éventuelle au champ, et surtout si l'eau du bain est maintenue strictement à la température requise, malgré l'apport continu de fruits. On peut ajouter à l'eau chaude de ce bain des produits fongicides autorisés. En réalité, dans la pratique, les traitements fongicides s'effectuent dans un bac à part, par trempage, ou à un autre point de la chaîne, s'ils sont appliqués par pulvérisation.

Les fongicides habituellement utilisés pour lutter contre les pourritures à *Penicillium* (*P. digitatum* et *P. italicum*), comme l'orthophénylphénate de sodium (S.O.P.P.), le 2-aminobutane et le diphényl, ne sont que partiellement actifs sur les pourritures à *Phytophthora*. Les dérivés à radical benzimidazole tels que le benomyl, le thiabendazole, ou des produits voisins comme les thiophanates, sont totalement inefficaces.

Ces méthodes, trempage dans l'eau chaude et application fongicides, ne donnant que partiellement satisfaction, des recherches sont actuellement entreprises pour la mise au point de nouvelles molécules plus actives sur les *Phytophthora*.

L'activité germicide des rayons gamma (6) a été également expérimentée, mais sans résultat économiquement et qualitativement valable (40).

MÉTHODES DE LUTTE CONTRE LES POURRITURES DU SYSTEME RACINAIRE.

La meilleure solution, vis-à-vis de ce type de pourriture, est évidemment de pouvoir utiliser des variétés résistantes, et cet aspect sera développé dans la partie consacrée à la lutte contre la «gommosse» du tronc.

Comme cette situation idéale n'est pas toujours possible à réaliser, d'autres méthodes peuvent être utilisées contre ces pourritures de racines. Elles varient sensiblement selon qu'elles s'appliquent à de jeunes plants (1) ou à des arbres en place.

Sur semis.

Pour les jeunes semis on recommande tout d'abord de désinfecter les graines par trempage dans l'eau chaude à 54° C durant dix minutes, suivi d'un poudrage de thiram à raison de 2 g m.a. par kilogramme de graines, avant stockage éventuel, ou plantation (27).

Il est indispensable aussi de désinfecter les planches de semis, soit à la vapeur, soit à l'aide d'un fumigant du type métam-sodium à la dose de 10 g m.a. par mètre carré, appliqué en arrosage (25), soit encore avec le mélange bromure de méthyle (98 p. cent) et chloropicrine (2 p. cent) à raison de 50 g par mètre carré, appliqué au pal injecteur, après couverture du sol (4, 21). Ce dernier mélange, extrêmement toxique, ne peut être utilisé sans autorisation ni sans précaution. D'autres produits ont été aussi utilisés, comme le dexion et le terrazole (52), mais leur activité est moins parfaite.

Dans tous les cas d'utilisation de fumigants, il est nécessaire d'attendre plusieurs semaines ou plusieurs mois avant d'utiliser les planches de semis ainsi traitées.

Durant la croissance des jeunes plants il est important d'assurer un bon drainage, pour éviter les excès d'eau, et d'ajouter parfois périodiquement à l'eau d'irrigation 100 mg de sulfate de cuivre pour 100 litres d'eau, ou 100 mg de vert malachite pour 100 litres d'eau également (33).

On peut aussi utiliser en arrosage occasionnel une suspension aqueuse de captafol à 1 p. cent. Une sage précaution consiste, à la transplantation, à tremper les racines des jeunes plants dans une suspension de captane à 7,5 g m.a./100 litres d'eau (19).

Sur arbres adultes.

Pour les arbres en place, les traitements fongicides ne peuvent être qu'exceptionnellement utilisés, soit parce qu'ils sont phytotoxiques, (bromure de méthyle - chloropicrine), soit parce qu'ils sont trop onéreux pour des vergers entiers. A cet égard le traitement au captafol, en arrosage à 1 p. cent m.a., est l'un des mieux tolérés par les arbres adultes, mais ne peut être recommandé que pour des arbres de collection que l'on désire

conserver à tout prix, ou pour traiter occasionnellement quelques sujets d'un verger.

Comme pour les jeunes plants, il est indispensable de ménager un bon drainage, d'éviter les excès d'irrigation, ainsi que les blessures du système racinaire par les outils de culture.

On a pu remarquer que la fumure azotée jouait un rôle non négligeable sur l'importance et l'évolution des attaques. Appliquée sous forme de nitrate, l'azote diminue les attaques de *Phytophthora* sur racines, mais en revanche celles-ci sont favorisées par des apports de sels d'ammonium.

Par conséquent, les méthodes de lutte contre les pourritures racinaires des arbres en place se limitent à l'amélioration des pratiques culturales et à l'utilisation de variétés résistantes.

MÉTHODES DE LUTTE CONTRE LA «GOMMOSE» DU TRONC.

Sur cet aspect particulièrement grave de la maladie, puisqu'elle atteint des arbres en place à tout âge, on utilise toutes les méthodes de lutte disponibles : amélioration des pratiques culturales, traitements fongicides et, bien entendu, utilisation de porte-greffe ou de sujets de semis résistants.

Les deux premières séries de mesures sont applicables quelle que soit la variété de porte-greffe ou de semis considéré. Elles sont cependant d'autant plus impératives que les variétés sont moins résistantes.

Mesures préventives.

Choix et amélioration des pratiques culturales.

Comme il est utopique de penser pouvoir planter dans un terrain indemne de *Phytophthora* et de le maintenir longtemps dans cet état, il est préférable d'avoir présent à l'esprit la menace permanente que ce champignon parasite fait peser sur les vergers.

Comme mesures préventives, on recommande tout d'abord, au moment du greffage des plants en pépinière, de greffer assez haut pour éviter que

la variété greffée, en général plus sensible que le porte-greffe, ne se retrouve quelques années plus tard trop près du sol, lorsque l'arbre s'est développé.

Pour cette même raison, il est souhaitable, à la mise en place, de ne pas trop enterrer le jeune arbre et de prévoir, en plantant sur une légère butte, un tassement possible du sujet dans les années suivantes.

Il est nécessaire de rappeler qu'il faut veiller très soigneusement au choix du terrain, au drainage des parcelles plantées, pour éliminer les excès d'eau dus, soit aux précipitations naturelles trop abondantes, soit aux irrigations intempestives ou mal dirigées, et protéger la base des troncs, des eaux stagnantes, par un système de double cuvette.

Il faut éliminer les herbes présentes au contact du tronc et faciliter l'aération du pied des arbres par la taille des basses branches.

Des précautions devront être prises pour éviter toute blessure de l'écorce des troncs et de la base des branches charpentières, et ceci quelle que soit l'origine de ces blessures : frottement de cordes d'attache du bétail, coup de serpe, de «machette», de «sape», dégâts occasionnés par le passage d'engins, attaques d'insectes, de petits rongeurs ou de chèvres, etc.

Traitements fongicides.

On peut traiter préventivement les troncs en les enduisant périodiquement de bouillies cupriques (bouillie bordelaise ou autres formulations cupriques) ou de bouillie fongicide à base de captafol à 6 p. cent, jusqu'à 80 cm à 1 m de haut.

Il est raisonnable de prévoir que des formulations fongicides systémiques, efficaces sur les espèces du genre *Phytophthora*, seront dans un avenir proche mises au point. On peut alors penser que des traitements à l'aide de ces produits pourront être appliqués préventivement au feuillage afin de protéger, après migration descendante, la base des troncs et le système racinaire.

Mesures curatives.

En cas de blessures, ou d'attaques récentes ou évoluées, il est nécessaire d'agir rapidement et de dégager avec une gouge la zone nécrosée jusqu'à la partie saine et même un peu au-delà de ses limites, puis d'appliquer sur la plaie assainie une pâte fongicide à base de formulations cupriques ou de captafol (voir ci-dessus).

Quelques semaines plus tard il est préférable de répéter cette application après une inspection soigneuse des bordures de la plaie, et de l'enduire ensuite d'un mastic ou d'un goudron de protection du type de ceux utilisés pour garnir les blessures de taille (photo 29).



Photo 29. «Gommose» sur tronc après traitement curatif.

Si la nécrose, au moment du traitement, intéresse plus du tiers ou de la moitié de la circonférence du tronc de l'arbre atteint, la régénération des tissus du liber est souvent compromise, le traitement est alors inefficace et il n'empêchera pas l'arbre de mourir.

On peut cependant encore tenter de sauver les arbres atteints, en prati-

quant plusieurs greffes par approche, à partir de semis, ou de boutures de variété résistante, plantés en couronne autour de la base du tronc malade (inarching). Lorsque les greffes ont pris et se sont bien développées, on peut affranchir le sujet de son ancien porte-greffe malade.

Le succès de cette méthode n'est pas toujours assuré pour des arbres très atteints, et elle ne peut guère être généralisée à tous les arbres d'une plantation.

En cas de réussite elle a le mérite, si la variété du nouveau porte-greffe est résistante, d'être plus durable et plus sûre que les traitements chimiques répétés.

II - UTILISATION DE VARIETES RESISTANTES

Les possibilités de lutte avec cette méthode se sont révélées dès le début très intéressantes, et celle-ci s'est rapidement généralisée, essentiellement par le choix de variétés résistantes devant servir de porte-greffe (46, 30).

En effet l'utilisation de porte-greffe résistants était impérative pour la constitution de vergers de variétés monoembryonnées, sensibles ou résistantes, et de variétés polyembryonnées sensibles, mais moins nécessaire pour les variétés polyembryonnées résistantes, puisque ces dernières peuvent se perpétuer en principe identiquement par semis nucellaires sans succomber pour autant à la maladie (*).

(*) - Rappelons que selon les espèces et variétés des genres *Citrus* - *Poncirus* - *Fortunella*, le pépin obtenu après fécondation peut contenir soit un seul embryon, et l'espèce est dite «monoembryonnée», soit plusieurs embryons et on la qualifie alors de «polyembryonnée» (43).

Dans le cas d'une espèce monoembryonnée, l'embryon obtenu est appelé «gamétique» ou «sexué», et provient de la fécondation du sac embryonnaire par autopolinisation ou par pollinisation croisée. Compte tenu de l'extrême hétérozygotie régnant au sein des genres *Citrus* - *Poncirus* et *Fortunella*, la plantule issue d'un tel embryon ne reproduit qu'imparfaitement et qu'incomplètement les caractéristiques de la plante-mère.

Dans le cas d'espèces polyembryonnées, les embryons obtenus ont deux origines distinctes. En général un seul embryon peut être qualifié de «gamétique» (dans certains cas assez rares on peut trouver plusieurs embryons «gamétiques») et provient

Il faut constater que la recherche de ce dernier type de variété (poly-embryonnée résistante) n'a guère été encouragée, mais qu'en revanche on s'est attaché d'une manière presque exclusive à déceler et à créer des variétés résistantes dans la seule optique de les utiliser comme porte-greffe (50).

Dans ce but, les variétés susceptibles d'être retenues doivent, non seulement présenter une bonne résistance au *Phytophthora*, mais posséder d'autres qualités comme, par exemple, celles qui confèrent à l'arbre une bonne tenue sur différents types de sol et sous divers climats, et qui permettent au greffon de porter des fruits de qualité (5, 55).

Les porte-greffe choisis doivent en outre pouvoir constituer, avec les variétés commerciales les plus courantes, des associations tolérantes aux principales maladies à virus (voir annexe sur les maladies à virus). Il est aussi souhaitable que ces porte-greffe soient producteurs de nombreux pépins, germant bien et présentant un taux élevé d'embryons nucellaires, afin d'en faciliter leur diffusion, tout en conservant leurs caractéristiques.

Tous ces impératifs restreignent le nombre de «bons» porte-greffe utilisables, parmi les variétés existantes, et obligent à créer de nouvelles variétés hybrides par pollinisations contrôlées.

LES PORTE-GREFFE RESISTANTS

On peut actuellement distinguer, parmi les variétés résistantes susceptibles d'être utilisées comme porte-greffe, deux ensembles, l'un comprenant les variétés dont les qualités agronomiques sont bien établies, l'autre groupant les variétés pour lesquelles des précisions complémentaires sur leur comportement sont nécessaires avant d'en recommander un plus large

de la fécondation du sac embryonnaire comme pour l'embryon des espèces mono-embryonnées. Ses caractéristiques sont donc différentes de celles du pied-mère.

Les autres embryons sont appelés «nucellaires», et sont issus du développement des cellules somatiques du nucelle. Les plantules qui en dérivent sont donc, théoriquement, identiques à la plante-mère. Elles sont strictement comparables à des plantules issues de greffon ou de bouture de la même plante-mère.

Les embryons nucellaires permettent donc de maintenir, théoriquement par semis, toutes les caractéristiques de la plante-mère.

usage (2, 7, 8, 9, 18; 22, 34, 39, 54).

Parmi les variétés naturellement résistantes, le bigaradier (*Citrus aurantium*) tient une place prépondérante.

Outre sa bonne résistance au *Phytophthora*, il permet une production abondante et de qualité, il ne présente pas d'incompatibilité particulière avec les greffons des principales variétés commerciales et il tolère des différences notables de climats et de sols.

Sa résistance n'est cependant pas absolue ; les cas de gommose sur bigaradier après blessure importante de l'écorce du tronc ne sont pas rares, et certains clones sont moins résistants que d'autres. Il est faiblement polyembryonné et, par conséquent, les arbres semenciers doivent être isolés des variétés sensibles afin d'éviter des pollinisations accidentelles.

Son défaut principal réside dans le fait qu'à l'exception de son association avec le citronnier, ses combinaisons avec les autres variétés commerciales sont sensibles au virus de la Tristeza. Son utilisation doit donc être réservée aux régions où ne sévit pas cette virose, transmise par insecte. Dans les régions où la Tristeza est présente, ou dans celles où l'on pense qu'elle finira par s'installer, le bigaradier a été remplacé par d'autres variétés, et en particulier par le *Poncirus trifoliata*. La résistance au *Phytophthora* de ce porte-greffe est très grande (10, 29, 35), avec cependant quelques variations selon les clones et selon les races de *Phytophthora*.

Il s'adapte bien aux sols acides et humides, il confère aux variétés greffées une bonne résistance au froid et améliore la qualité des fruits et les rendements.

Il est en revanche sensible à une autre maladie à virus, l'Exocortis, il est par conséquent nécessaire de ne le greffer qu'avec du matériel indemne.

La mandarine Cléopâtre peut être considérée comme un bon porte-greffe, en particulier pour sa tolérance à la plupart des maladies à virus, pour sa bonne affinité avec nombre de variétés commerciales, et pour son bon comportement sur différents types de sol, les sols calcaires notamment.

Cependant sa résistance au *Phytophthora* n'est pas supérieure à celle du bigaradier, et est même parfois mise en défaut. La mandarine Cléopâtre serait plus sensible à *P. parasitica* qu'à *P. citrophthora*.

Quatre autres espèces du genre *Citrus* sont couramment utilisées comme porte-greffe, pour leur tolérance à certains virus et leur bon comportement vis-à-vis des attaques à *Phytophthora*. Il s'agit de *Citrus taiwanica*, de *Citrus junos* (yuzu), de *Citrus macrophylla* et de *Citrus volkameriana* (32).

Le *Citrus macrophylla* est cependant sensible à la Tristeza dans ses associations avec les principales variétés commerciales, excepté avec le citronnier.

Citrus volkameriana est réputé résistant, il semble cependant qu'il soit légèrement sensible aux attaques radiculaires, que sa vigueur lui permet de compenser par la formation abondante et continue de nouvelles racines.

La lime Rangpur et le Rough lemon (*Citrus jambhiri*) sont aussi fréquemment utilisés comme porte-greffe bien qu'on puisse les considérer comme sensibles au *Phytophthora*.

Certains clones paraissent plus résistants et, sur des sols légers, leur comportement est jugé satisfaisant.

Avec les premiers hybrides créés par croisements contrôlés, les sujets les plus intéressants ont été obtenus parmi les citranges (orange x *P. trifoliata*) et les tangelos (tangerine x pomélo).

Le citrange Troyer et le citrange Carrizo présentent une très bonne résistance au *Phytophthora* et leurs qualités agronomiques ont été confirmées (10, 13). Ils permettent des associations tolérantes à la Tristeza, avec les variétés commerciales les plus courantes. Le citrange Savage semble aussi être un excellent porte-greffe.

Parmi les tangelos, T. Orlando et T. Seminole sont résistants, en principe, au *Phytophthora*, et peuvent parfois convenir comme porte-greffe.

On peut donc constater que le nombre de bons porte-greffe disponibles

est en fait assez limité, et que le porte-greffe idéal et parfait n'existe pas.

Cette situation a encouragé la recherche de nouvelles variétés, soit parmi les populations spontanées et leurs hybrides naturels, soit surtout dans la descendance de croisements contrôlés.

On s'est ainsi attaché à vérifier les qualités agronomiques des différents clones de *Poncirus trifoliata* (une cinquantaine) et de *Citrus macrophylla*, dont on connaissait déjà la résistance vis-à-vis des attaques à *Phytophthora*, et parmi les *Poncirus*, les P. Rubidoux et Pomeroy semblent prometteurs.

D'autres essais de comportement ont été entrepris avec quelques espèces plus ou moins bien définies comme *Citrus miaray*, *Citrus intermedia* (Yamamikan), *Citrus natsudaiaï*, 'Poorman', *Citrus neo-aurantium*, (Konetime), *Citrus excelsa*, etc. et *Severinia buxifolia*, porte-greffe nanisant (29, 41).

Parmi les espèces de mandarines, pourtant souvent sensibles, on a pu déceler un niveau correct de résistance chez certaines mandarines communes et chez les variétés Kinnow et Sunki, accompagné d'un bon comportement au verger.

Chez les pamplemousses vrais, le pamplemousse Ogami, tout en présentant une bonne résistance, semble posséder des qualités agronomiques acceptables et, parmi les pomélos, la résistance de la variété Imperial est comparable à celle du bigaradier et son comportement vis-à-vis des principales variétés à greffer est satisfaisant.

Au sein des hybrides obtenus entre les genres *Citrus* et *Poncirus*, les citranges Yuma, Willits, Rusk et Benton conservent le niveau élevé de résistance au *Phytophthora* de leur parent *Poncirus* et possèdent aussi des qualités agronomiques certaines.

Le citrange Benton (*P. trifoliata* x oranger Ruby Blood) en particulier se combine d'une manière satisfaisante avec le citronnier Eureka et quelques autres variétés commerciales du genre *Citrus*.

Plusieurs Citrumelo (*P. trifoliata* x *C. paradisi*), dont le Winter Haven et le Citrumelo Swingle, se sont révélés résistants aux attaques de *Phytoph-*

thora. Le Citrumelo Swingle, qui, par ailleurs, est tolérant à la Tristeza et assure une bonne qualité aux fruits lorsqu'il est greffé en pomélo ou en oranger, possède un système racinaire vigoureux et est polyembryonné, ce qui assure une bonne conservation de ses caractères par semis nucellaires (23).

D'autres croisements intergénériques ont fourni par exemple des Cidradias (*Poncirus trifoliata* x *C. aurantium*), des Citrandarins et des Citremons dont quelques sujets ont été retenus pour des essais agronomiques après vérification de leur résistance au *Phytophthora*.

A partir de croisements intragénériques chez les Citrus, certains hybrides semblent prometteurs, en particulier un Siamelo (mandarin King x *C. paradisi*) dont la résistance au *Phytophthora* est accompagnée de certaines qualités agronomiques.

Enfin parmi les hybrides réalisés entre différentes variétés de bigaradiers, si certains d'entre eux se révèlent moins résistants que leurs parents, d'autres méritent sans doute d'être suivis pour leurs qualités agronomiques.

CREATION DE VARIETES RESISTANTES

La création de variétés nouvelles résistantes est une nécessité, elle permet de faire face à tout changement de situation. Ces changements peuvent être lents, comme pour l'évolution des goûts des consommateurs, ou plus rapides lors de l'apparition soit de nouvelles maladies, à virus par exemple, soit de races de *Phytophthora* possédant des aptitudes parasitaires nouvelles.

Dans un chapitre précédent il a été indiqué les voies, végétatives ou sexuées, des variations propres au genre *Phytophthora*, s'effectuant soit spontanément, soit sous l'influence de fortes pressions de sélection provoquées par la population hôte.

Sur ce dernier point, en effet, les populations d'agrumes ont tendance à se stabiliser et à s'uniformiser car, d'une part, le maintien strict des caractères marchands des variétés est plus recherché que leurs variations et, d'autre part, des méthodes culturales semblables, densités de planta-

tions, traitements chimiques, etc., sont de plus en plus utilisées malgré la diversité des climats et des sols ; et si l'on ajoute que la menace des maladies à virus, largement répandues dans le monde, conduit à choisir des porte-greffe souvent identiques pour presque toutes les régions agrumicoles, on constate que les possibilités de diversification des agrumes sont fortement sous-employées quand elles ne sont pas consciemment réprimées. Par conséquent cette uniformisation exerce une pression de sélection plus forte sur la population des *Phytophthora* et rend théoriquement les vergers plus vulnérables à une mutation brutale d'une race.

Méthodes.

Les méthodes utilisées pour les Citrus et genres voisins ne diffèrent de celles employées pour l'hybridation d'autres arbres fruitiers. Les techniques de pollinisation contrôlée proprement dites sont simples.

On choisit sur un rameau, parmi un groupe de fleurs, les plus précoces et les plus vigoureuses, présentant un pistil bien développé (43). Lorsqu'elles sont prêtes à s'épanouir, on les émascule à la pince, en enlevant, soit les anthères seules, soit les anthères et leurs filaments, en évitant de blesser le stigmate.

Le pollen est alors déposé avec un petit pinceau. On peut utiliser du pollen fraîchement récolté ou conservé au sec à 4 C depuis une trentaine de jours (au maximum), en gardant soit les fleurs entières, soit les anthères seules.

Immédiatement après la pollinisation, on isole les fleurs fécondées par des sachets de papier ou de toile fine. On favorise la nouaison des fleurs choisies en enlevant les fleurs voisines non fécondées du même rameau.

On a pu remarquer que les fleurs dont on a enlevé étamines et pétales ne sont pratiquement jamais visitées par les abeilles. C'est pourquoi lorsqu'un grand nombre de fleurs doivent être pollinisées on leur enlève aussi les pétales et on se dispense de les ensacher, ce qui simplifie notablement la tâche.

Les graines issues de ces croisements sont récoltées avec les fruits, huit

à dix mois plus tard, et semées.

Choix des parents.

Les difficultés commencent à la germination. Il s'agit en effet de repérer les plantules hybrides parmi d'éventuelles plantules issues des embryons nucléaires.

Pour tourner cette difficulté il est en général préférable de choisir le parent maternel parmi les variétés monoembryonnées.

Si l'on ne peut utiliser ce caractère, il faut alors choisir comme parent une variété possédant un autre caractère, dominant, tôt exprimé, et par conséquent décelable sur la jeune plantule, comme par exemple le caractère trilobé des feuilles des *Poncirus trifoliata* (photo 30), soit utiliser les méthodes fines de micro-analyses, qui permettent de caractériser, sur un petit fragment de plantule, par leurs huiles essentielles, ou par d'autres composés spécifiques, les sujets hybrides par comparaison avec les sujets nucléaires (14, 48).

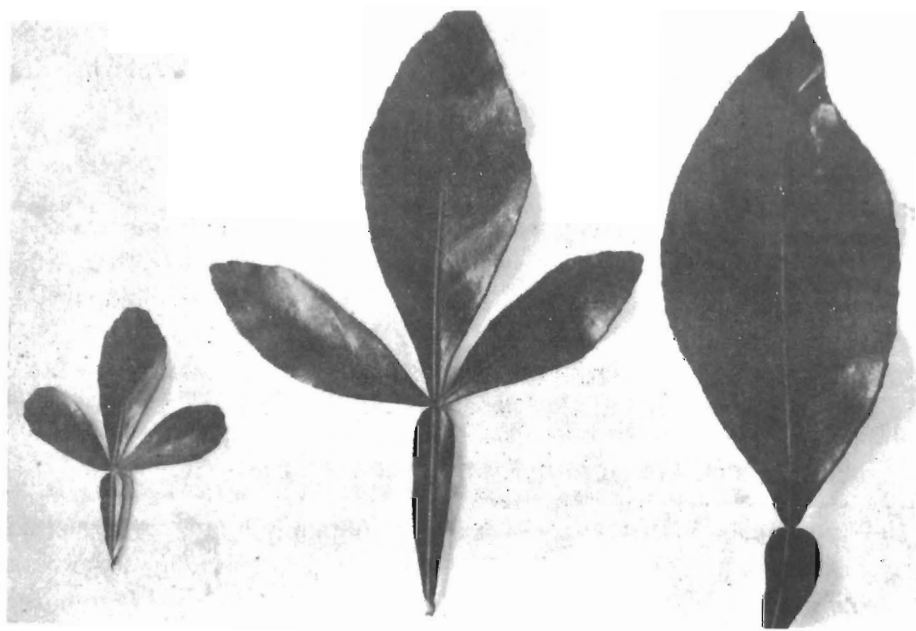


Photo 30. Transmission du caractère «trilobé» à la génération hybride F1
(de gauche à droite : feuilles : parent *P. trifoliata*, hybride, parent bigaradier).

Le caractère monoembryonné des hybrides obtenus est d'ailleurs moins impératif que pour l'un des parents, sauf si les croisements se poursuivent. Il est préférable en effet, une fois les caractères de résistance obtenus, de posséder une variété polyembryonnée, car la multiplication de ce nouveau sujet sera plus homogène si elle peut s'effectuer par semis d'embryons nucellaires.

Les variétés et espèces dont les pépins fournissent plus de 60 p. cent de plantules d'origine nucellaire sont considérées comme fortement polyembryonnées. On trouve dans cette catégorie certains citrons, les limes, quelques mandarines, des pomélos, en général la plupart des oranges, les bigarades et les tangelos.

Dans la catégorie des espèces et variétés moyennement polyembryonnées, c'est-à-dire présentant entre 20 et 60 p. cent de plantules nucellaires après semis, on peut classer d'autres citrons, quelques limes, certaines mandarines, des pomélos, des oranges et les différents clones de *Poncirus trifoliata*.

Dans la dernière catégorie, monoembryonnée, ou très faiblement polyembryonnée (entre 0 et 20 p. cent de plantules nucellaires), on regroupe quelques rares mandarines, certains pomelos, en général la plupart des pamplemousses et la clémentine.

D'autres difficultés sont provoquées par certaines formes de stérilité.

Celle-ci est absolue, par déficience des organes mâles et femelles chez l'orange Washington navel, par défaut des organes mâles chez la lime Tahiti et les mandarines Satsuma, et par déficience femelle seule chez le pomélo Marsh.

La stérilité est relative chez le tangelo Orlando, chez certains pomélos, pour quelques pamplemousses et citrons, ces variétés et espèces étant auto-incompatibles. La clémentine est par ailleurs autostérile.

Ces caractères interdisent l'utilisation comme parents de certaines variétés, soit pour l'obtention de la génération F₁, soit pour les croisements ultérieurs si l'on poursuit la sélection au-delà de la première génération.

Le degré de résistance des variétés oriente aussi le choix de celle-ci comme parents. Or le choix selon les caractères de résistance n'est pas aisé.

Si certains groupes fournissent un plus grand nombre de variétés résistantes que d'autres, on ignore presque tout, comme nous l'avons indiqué précédemment, du support génétique de cette résistance, du nombre de gènes impliqués, si ces derniers sont dominants ou récessifs, et si d'autres caractères y sont liés.

Si comme l'ont confirmé certains résultats, les chances d'obtenir des hybrides résistants à partir de parents résistants sont en principe plus grandes, l'extrême hétérozygotie de nombreuses espèces et variétés n'exclut pas l'éventualité de voir surgir, de parents relativement sensibles, des sujets correctement résistants.

Pour leurs travaux, CARPENTER et FURR (11, 12, 16, 17) ont considéré que de bonnes sources de résistance pouvaient être utilisées chez la majeure partie des clones de *Poncirus trifoliata*, chez plusieurs pamplemousses, dont le pamplemousse 'Swingle', et chez deux citranges, le C. Yuma et le C. Carrizo.

En revanche, on estime que les oranges et les pomélos sont de mauvaises sources de gènes de résistance.

Enfin, les différents clones de Rough lemon, de lime Rangpur, et quelques variétés de mandarines sont utilisables, mais avec des réserves, car leur résistance au *Phytophthora* est moins nettement affirmée.

Rien n'empêche cependant de rechercher des sources de résistance dans les variétés des zones géographiques de peuplements sub-spontanés d'arbres de semis (53).

De toute façon, il est préférable de choisir les hybrides résistants dans la descendance de croisements inter-spécifiques.

En effet, ce mode de croisement est plus à même de créer des nouvelles variétés possédant une résistance de type polygénique ou horizontale qui, au regard des caractères principaux des maladies à *Phytophthora* des agrumes, c'est-à-dire forte variabilité potentielle de la population des parasites, faible variabilité des hôtes et forte pression de sélection sur les

populations de parasites, présente indiscutablement de meilleures garanties de durée et d'efficacité (44, 45, 51).

En général, les inoculations destinées à vérifier le degré de résistance sont réalisées quelques mois après le semis des graines obtenues, sur les plantules hybrides, et par conséquent un premier tri est effectué sur la génération F1. On peut ensuite poursuivre les croisements, avec des intervalles entre générations de l'ordre de trois à cinq ans (délais moyens de mise à fleur après le semis) et mener parallèlement sur les générations successives les études de comportement agronomiques.

Les délais sont plus courts si l'on souhaite sélectionner seulement de bons porte-greffe puisque les qualités requises pour cette fonction sont moins nombreuses.

Ils sont considérablement augmentés si l'on désire obtenir ce que l'on pourrait considérer comme l'idéal, c'est-à-dire de bonnes variétés commerciales, résistantes, fortement polyembryonnées, et par conséquent multipliées et plantées directement de semis.

INCIDENCE DES MALADIES A VIRUS DES AGRUMES SUR LE CHOIX DE VARIETES OU D'ASSOCIATIONS RESISTANTES AU *PHYTOPHTHORA*

L'existence de nombreuses maladies à virus, ou apparentées, produisant sur un grand nombre de variétés d'espèces et de clones de Citrus des symptômes graves, et induisant sur des associations greffon - porte-greffe des désordres importants, limite considérablement l'utilisation de certaines variétés résistantes au *Phytophthora*.

Il n'est pas possible, dans le cadre de cet ouvrage, de traiter dans son ensemble le problème des maladies à virus et apparentées, mais il est indispensable d'avoir présentes à l'esprit, au moment du choix de porte-greffe ou de variétés reconnus résistants au *Phytophthora*, les menaces potentielles des maladies à virus (20).

Si l'on consulte le tableau 3 qui indique schématiquement les différentes possibilités, compte-tenu des deux types de maladies (à virus et à

Phytophthora), on constate que dans certains cas le choix théorique est extrêmement limité ou même impossible.

Dans la pratique il n'en est heureusement pas toujours ainsi, car on peut tenir compte des différents facteurs particuliers à chaque maladie à virus (transmission ou non par insecte, souche de virus plus ou moins virulentes), à chaque région (présence ou absence des insectes vecteurs, conditions climatiques plus ou moins favorables) et aux possibilités locales (obtention de matériel végétal indemne, surveillance sanitaire, etc.), pour trouver une solution satisfaisante.

TABLEAU 3.

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Cachexie- Xyloporose	mandarine clémentine lime douce kumquat alemow (<i>Citrus macrophylla</i>) lime Rangpur tangelo Orlando tangelo Seminole	sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés résistant sensible ou résistant selon les variétés peu résistant résistant	bigaradier orange pomélo pamplemousse citron <i>Poncirus trifoliata</i> tangelo Webber tangelo Williams	résistant sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible résistant - -
Citrange Stunt	citrange Troyer citrange Rusk citrange Carrizo citremons hybrides Poncirus x Citrus	résistant résistant résistant sensible ou résistant selon les variétés plus ou moins résistants	orange citron rough lemon lime	sensible sensible sensible sensible
Concave gum Blind pocket	orange Navel orange mandarine tangelo	sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés	bigaradier <i>Poncirus trifoliata</i>	résistant résistant

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> infoodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> infoodés aux agrumes
Cristacortis	lime douce tangelo tangor bigaradier orange mandarine clémentine pomélo rough lemon Satsuma Siamelo	sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible ou résistant selon les variétés résistant sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible sensible résistant	citron Eureka lime West Indian cédral Etrog combava <i>Poncirus trifoliata</i> citrange Troyer bergamote <i>C. volkameriana</i>	sensible sensible sensible résistant résistant sensible sensible ou résistant selon les clones
Exocortis	<i>Poncirus trifoliata</i> cédral Etrog lime douce citron lime Rangpur citrange	résistant sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les clones résistant	orange bigaradier rough lemon pomélo	sensible résistant sensible sensible ou résistant selon les variétés
Greening	orange mandarine tangelo citron	sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible	<i>Poncirus trifoliata</i> hybrides de <i>Poncirus trifoliata</i>	résistant en général résistant

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Greening (suite)	pomélo lime Rangpur lime douce de Palestine rough lemon kumquat cédrat	sensible ou résistant selon les variétés sensible ou résistant selon les clones sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés en général sensible		
Gummy bark	orange rough lemon	sensible sensible	bigaradier lime mexicaine pomélo mandarine Willow leaf tangelo Orlando <i>Poncirus trifoliata</i> citrange	résistant sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible peu résistant résistant résistant
Gum Pocket	<i>Poncirus trifoliata</i> en porte-greffe	résistant	citrange Troyer lime Rangpur	résistant sensible ou résistant selon les clones sensible
Impietratura	bergamotte clémentine mandarine pomélo	sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés	mandarine Empress kumquat cédrat chinois	sensible ou résistant selon les variétés sensible ou résistant selon les variétés -

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Impetratura (suite)	citron rough lemon bigaradier orange <i>C. volkameriana</i>	sensible sensible résistant sensible ou résistant selon les variétés sensible ou résistant selon les clones		
Infectious variegation Crinkly leaf	citron bigaradier orange lime douce pomélo	sensible résistant sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés	pas d'information précise	
Leaf curl	cédrot Etrog orange mandarine pomélo cédrot citron lime douce lime acide pamplemousse Shaddock	sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés en général sensible sensible sensible sensible	lime Rangpur mandarine Cléopâtre <i>Poncirus trifoliata</i> citrange Troyer	sensible ou résistant selon les clones sensible ou résistant selon les races de <i>Phytophthora</i> résistant résistant
Leprosis	oranges précoces oranges de saison bigaradier	sensible sensible résistant	autres variétés non précisées	

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Multiple sprouting	orange pomélo citron bigaradier bergamotte kumquat	sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible résistant sensible sensible ou résistant selon les variétés	<i>Poncirus trifoliata</i> et ses hybrides	résistant plus ou moins résistants
Psorose A Symptômes sur tronc et feuilles	orange mandarine pomélo	sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés	<i>Poncirus trifoliata</i> <i>Citrus daidai</i>	résistant
Symptômes sur feuilles seulement	mandarine tangelo citron cédrat lime rough lemon	sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible en général sensible sensible sensible		
Ringspot	pomélo citron bigaradier orange citrange Troyer citremont	sensible ou résistant selon les variétés sensible résistant sensible résistant sensible ou résistant selon les variétés	pas d'informations précises	

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Ringspot (suite)	<i>Citrus excelsa</i> rough lemon lime West Indian mandarine Szinkom lime Rangpur tangor Dweet <i>Poncirus trifoliata</i> Pomeroy	résistant sensible sensible - sensible ou résistant selon les clones - résistant		
Rumple	citron Villafranca citron Eureka citron Lisbonne citron Femino Oliva citron Da.sa.co. pomélo	sensible sensible sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés	rough lemon citron hybride Meyer citron hybride Perrine	sensible - -
Satsuma dwarf	lime <i>Citrus excelsa</i> citron Eureka rough lemon pomélo bigaradier orange clémentine tangerine Dancy mandarine Cléopâtre	sensible résistant sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés résistant sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les races de <i>Phytophthora</i>	lime Tahiti cédral Etrog Hassaku tangelo Orlando	sensible sensible - peu résistant

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Satsuma dwarf (suite)	mandarine King mandarine Satsuma tangelo Natsudaïdai Yuzu citrange Carrizo citrange Morton citrange Troyer <i>Poncirus trifoliata</i>	sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés - résistant résistant résistant résistant résistant		
Seedling yellows - jeunes semis de	citrons Eureka citrons Lisbonne bigaradier pomélo pamplemousse rough lemon (selon les sources du virus) lime (selon les sources du virus)	sensible sensible résistant sensible ou résistant selon les variétés sensible ou résistant selon les variétés sensible sensible	orange mandarine	sensible sensible
Stubborn	orange pomélo tangelo	sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible ou résistant selon les variétés	citrange Troyer citrange Cunningham <i>Poncirus trifoliata</i>	résistant résistant

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Stubborn (suite)	Satsuma mandarine citron lime lime douce rough lemon lime mandarine calamondin citrange kumquat bigaradier	sensible sensible sensible sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés - résistant sensible ou résistant selon les variétés résistant		
Tatter leaf	<i>Citrus excelsa</i> informations incomplètes sur d'autres variétés	résistant -	citron hybride Meyer orange bigaradier citron rough lemon	- sensible résistant sensible sensible
Tristeza Espèces et variétés présentant des symptômes lorsqu'elles sont utilisées comme semis, greffons et porte-greffe	Groupe I lime mexicaine lime West Indian <i>Citrus hystrix</i> <i>Citrus macrophylla</i> citrange Uvalde Yuzu	sensible sensible - résistant - -	<i>Poncirus trifoliata</i> (variable selon les souches de virus et les clones de <i>Poncirus trifoliata</i>) semis - bigaradier orange	résistant résistant sensible

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Tristeza (suite)	Groupe I (suite) lime douce de Palestine cédrat Etrog <i>Citrus excelsa</i> Groupe II mêmes variétés que le Groupe I plus : pomélo lime Tahiti orange orange Pera citrus Hassaku citrange Savage citrange Morton citrange Rusk Shaddock Tangor kumquat limequat	sensible sensible résistant sensible ou résistant selon les variétés sensible sensible sensible - résistant résistant résistant résistant - sensible ou résistant selon les variétés -	semis - mandarine mandarine Cléopâtre tangerines Satsuma tangelos lime Rangpur <i>Poncirus trifoliata</i> citron rough lemon Arbres greffés : orange greffées sur mandarine rough lemon (avec ce- mandarine pendant Cléopâtre quelques <i>Poncirus</i> excep- <i>trifoliata</i> tions) lime Rangpur	sensible sensible ou résistant selon les races de <i>Phytophthora</i> sensible sensible sensible ou résistant selon les variétés sensible ou résistant selon les clones résistant sensible sensible sensible sensible ou résistant selon les races de <i>Phytophthora</i> résistant sensible ou résistant selon les clones

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Tristeza (suite) Espèces et variétés présentant des symptômes lorsqu'elles sont greffées sur bigaradier	Groupe III mêmes variétés que les groupes I et II plus : lime Rangpur quelques variétés brésiliennes toutes les variétés des groupes I II III et orange mandarine greffées tangerine sur tangelos bigaradier autres variétés	sensible ou résistant selon les clones résistant	citrons citrange Troyer (greffés sur : bigaradier)	résistant résistant

Maladies à virus	Espèces, variétés et associations sensibles	Comportement des espèces, variétés et associations sensibles vis à vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes	Espèces, variétés et associations tolérantes ou immunes	Comportement des espèces variétés et associations tolérantes ou immunes vis-à-vis des <i>Phytophthora</i> inféodés aux agrumes
Tristeza (suite) Espèces et variétés présentant des symptômes lorsqu'elles sont greffées sur différents porte-greffe et uniquement dans certaines régions	orange greffées sur lime orange greffée sur <i>Poncirus trifoliata</i> orange greffée sur citrange Troyer	résistant résistant		

NB.- Pour les maladies à virus d'importance secondaire, les dépérissements et les cas d'incompatibilité greffon - porte-greffe non transmissibles (Tabacco necrosis virus, Citrus isolate, Vein Enation, Woody Gall, Yellow vein, Zonate chlorosis, etc.) on peut consulter les ouvrages spécialisés tels que : «*Description and illustration of virus and virus like diseases of Citrus*» IOCV éditions SETCO Paris, J. BOVE et R. VOGEL, 1975. d'où sont extraits les renseignements figurant dans ce tableau.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV

1. ALLEN (R.M.) et MC DONALD (H.H.). 1967.
Prevent foot rot in young Citrus.
CALC, 1967, vol. 52, n°12, p. 476-494. 42769
2. ANON. 1974.
Progress reported at whitmore farm.
CJRMA, 1974, vol. 37, n°5, p. 32-33. 067439
3. ANON. 1974.
Brown rot of Citrus fruit.
Plant Disease Bulletin, n°162, 3 p. 070656
4. BAINES (E.C.), KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et SMALL (R.H.). 1962.
Chemicals for control of Citrus soil pests.
Calif. Citrogr., aug. 1962, vol. 47, n°10, p. 342-359. 20312
5. BAINES (R.C.), CAMERON (J.W.) et al. 1967.
Citrus nematode and Phytophthora resistant rootstocks.
Cal. C., 1967, 52, (7), 280, 294-295. 40960
6. BARKAI-GOLAN (R.) et KAHAN (R.S.). 1967.
Combined action of diphenyl and gamma radiation on the in vitro development of fungi pathogenic to Citrus fruits.
Phyt., 1967, 57 (7), p. 696-698. 41625
7. BLONDEL (L.). 1968.
Recherche sur les porte-greffe des Citrus en Corse.
R.A., 68, 1968, C 3, doc. 20, 11 p. 45604
8. BLONDEL (L.). 1974.
Les porte-greffe des agrumes en Corse.
Publication de la Station de Recherches agronomiques - Corse.
9. BLONDEL (L.). 1974.
Les porte-greffe des agrumes (le passé, le présent, l'avenir).
Publication de la Station de Recherches agronomiques - Corse.
10. BROADBENT (P.). 1969.
Resistance to root rot of Citrus.
AGNS, 1969, vol. 80, n°9, p. 545 51200
11. CARPENTER (J.B.) et FURR (J.R.). 1962.
Evaluation of tolerance to root rot caused by *Phytophthora parasitica* in seedlings of Citrus and related genera.
Phytopath., dec. 1962, vol. 52, n°12, p. 1277-1285. 21221
12. CARPENTER (J.B.), BURUS (R.M.) et FURR (J.R.). 1975.
Phytophthora tolerant rootstocks for lemons.
Plant Dis. Reporter, 1975, vol. 59, n°1, p. 54-56.
13. DARTHENUCCQ (A.) et REY (J.Y.). 1974.
Résultats préliminaires d'une étude des porte-greffe d'agrumes au Mali.
Fruits, 1974, vol. 29, n°7-8, p. 505-518. 067208
14. ESEN (A.), SCORA (R.W.) et SOOST (R.K.). 1975.
A simple and rapid screening procedure for identification of zygotic Citrus seedlings among crosses of certain taxa.
J. of the Amer. Society for Horticultural Sciences, n°5, sept. 1975, vol. 100, p. 558.

15. FAWCETT (H.S.). 1936.
Citrus diseases and their control.
Mc Graw Hill Book Company, N. Y. London, 1936.
16. FURR (J.R.) et CARPENTER (J.B.). 1861.
Program for breeding Citrus rootstocks tolerant to *Phytophthora* root rot.
Proc. Fla. State Hort. Soc., 74, p. 18-23.
17. FURR (J.R.), CARPENTER (J.B.) et HEWITT (A.A.). 1963.
Breeding new varieties of Citrus fruits and rootstocks for the Southwest.
J. Rio Grande Valley Hort. Soc., 1963, vol. 17, p. 90-107 23408
18. GRANADA (C.), G.A., SANCHEZ (P.A.). 1969.
Etiología y prueba de resistencia de patrones a la pudrición del pie de los cítricos en el Valle del Cauca, Colombia.
ACAG, 1969, vol. 19, n°3-4, p. 107-133. 54701
19. GRIMM (G.R.) et WHIDDEN (R.). 1966.
Preventing infection from the foot rot fungus.
Proc. Fla. St. Hort. Soc., 1966, 79, p. 73-75. 42085
20. GRIMM (G.R.) et GARNSEY (S.M.). 1969.
Foot rot and Tristeza tolerance of Smooth Seville orange from two sources.
Citrus Industry, vol. 50, n°1, p. 12.
21. GRIMM (G.R.) et ALEXANDER (A.F.). 1971.
Fumigation of *Phytophthora* in sandy soil by surface application of methyl bromide and methyl bromide-chloropicrin.
PLDR, 1971, vol. 55, n°10, p. 929-931. 058877
22. HUTCHINSON (D.J.) et GRIMM (G.R.). 1973-1974.
Citrus clones resistant to *Ph. parasitica* 1973 : screening results.
Proc. Fla. State Hort. Soc., 86, p. 88-91, 1973-1974.
23. HUTCHINSON (D.J.). 1974.
Swingle Citrumelo a promising rootstock hybrid.
Proc. Flor. St. Gort. Society Delond, Florida, 1974, vol. 87, p. 89-91.
24. KLOTZ (L.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1959.
Brown rot of lemon (*Phytophthora citrophthora*).
Amer. Phytopath. Soc., 1959, p. 43 13399
25. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.), ROSEDALE (D.O.) et GARBER (M.J.). 1960.
Disinfection of planting sites may improve growth of Navel orange trees on Troyer citrange rootstock.
Calif. Agric., mai 1960, vol. 14, n°5, p. 4-5. 13394
26. KLOTZ (L.J.). 1960.
Grove treatments to control brown rot of fruit.
Calif. Citrogr., oct. 1960, vol. 45, n°12, p. 414-415. 14154
27. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.), ROISTACHER (C.N.), NAUER (E.M.) et CARPENTER (J.B.). 1960.
Heat treatments to destroy fungi in infected Citrus seeds.
Calif. Citrogr., dec. 1960, vol. 46, n°2, p. 63-64. 14883
28. KLOTZ (L.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1961.
Limitations of the hot water immersion treatments for the control of *Phytophthora* brown rot of lemons.
Plant Dis. Repr., apr. 1961, vol. 45, n°4, p. 264-267.

29. KLOTZ (L.J.), BITTERS (W.P.) et DeWOLFE (T.A.). 1965.
Effect of different rootstocks on growth of Valencia, Lisbon trees in infested soil.
Calif. Citrogr., feb. 1965, vol. 50, n°4, p. 143-144, 146-147. 29039
30. KLOTZ (L.J.), BITTERS (W.P.) et DeWOLFE (T.A.). 1966.
Resistance to *Phytophthora* root rot.
Cal. C., 1966, vol. 51, n°6, p. 257-258. 34798
31. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et MacRILL (J.R.). 1966.
Citrus brown rot control in orchard and packing house.
Cal. C., 1966, vol. 52, n°1, p. 41-42, 44, 46. 37803
32. KLOTZ (L.J.), BITTERS (W.P.) et DeWOLFE (T.A.). 1965.
Citrus rootstocks resistant to *Phytophthora* root rot.
Calif. Agr., 1966, vol. 47, n°1, p. 363.
Biol. A., 1966, vol. 47, n°1, p. 363. 38688
33. KLOTZ (L.J.), RICHARDS (S.J.) et DeWOLFE (T.A.). 1967.
Irrigation effects on root rot of young Citrus trees.
Cal. C., 1967, vol. 52, n°3, p. 91. 38717
34. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et MOORE (P.W.). 1967.
Testing sweet orange rootstocks.
Cal. C., 1967, vol. 52, n°9, p. 387-388. 40591
35. KLOTZ (L.J.), DeWOLFE (T.A.) et BAINES (R.C.). 1969.
Resistance of Trifoliate oranges stocks to gummosis.
CALC, 1969, vol. 54, n°6, p. 259-260. 49373
36. KLOTZ (L.J.), CALAVAN (E.C.), DeWOLFE (T.A.), PEHRSON (J.E.), MILLER (M.P.), ELMER (H.S.) et BURNS (R.M.). 1971.
New orchards methods for brown rot control.
CALC, 1971, vol. 56, n°7, p. 220-222. 57251
37. KLOTZ (L.J.). 1973.
Color handbook of Citrus diseases.
University of California, 1973.
38. KNORR (L.C.). 1973.
Citrus disease and disorders.
The University Presses of Florida, 1973.
39. KREZDORN (A.H.) et CASTLE (W.S.). 1972.
Sweet lime, its performance and potential as a rootstock in Florida.
CLIN, 1972, vol. 53, n°3, p. 20-26. 060308
40. MAHMOOD (T.). 1973.
Use of CO 60 gamma irradiation against some post harvest decay pathogens of Citrus fruit in Turkey.
Pak. J. Scientific & Ind. Res., 1972, vol. 15 n°4-5, p. 268-271.
FSTA, 1973, vol. 5, n°12, p. 54. 065633
41. MENDEL (K.). 1971.
«Poorman», a promising rootstocks for Israeli Citrus.
Hort. Science, 6, p. 45-46.
42. PRALORAN (J.-C.). 1971.
Les agrumes.
Ed. G.P. Maisonneuve et Larose, 1971, Paris.

43. REUTHER (W.), BATCHELOR (L.D.) et WEBBER (H.J.). 1968.
The Citrus industry.
vol. I - II - III.
Revised Edition - University of California.
44. ROBERTSON (R.A.). 1969.
Disease resistance terminology.
Rev. Appl. Mycol., 1969, vol. 48, n°11-12, p. 593-606.
45. ROBERTSON (R.A.). 1971.
Vertical resistance.
Rev. Plant Path., may 1971, vol. 50, n°5, p. 233-239.
46. ROSSETTI (Victoria). 1971.
Estudo comparativo da resistencia a *Phytophthora citrophthora* e *P. parasitica* de onze variedades de *Citrus sinensis*, usadas como porta-enxertos paraaranja Hamlin de clone nuclear e clone velho.
Anais de I Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1971, p. 489-503.
47. SCHIFFMANN-NADEL (M.) et COHEN (E.). 1968.
Duration of effectiveness of the copper spray 'Coprantol' for the control of brown rot of grapefruit caused by *Phytophthora citrophthora*.
IJOA, 1968, vol. 18, n°4, p. 209-210. 48068
48. TATUM (J.H.), BERRY (R.E.) et HEARN (C.J.). 1974.
Characterization of Citrus cultivars and separation of nucellar and zygotic seedlings by their layer chromatography.
Proceed. of the Florida State Horticult. Society, Delond, Florida, vol. 87, p. 75-81.
49. TIMMER (L.W.) et FUCIK (J.E.). 1975.
The effect of rainfall, drainage, tree spacing, and fungicide application on the incidence of Citrus brown rot.
PHYTA, 1975, vol. 65, n°3, p. 241-242. 070320
50. TOXOPENS (H.). 1955.
Breeding of stocks for Citrus resistant to gum - disease and «mal trizteza».
Report 14th Intern. Hort. Congr., 2 : 1423-1427, The Hague - Scheveningen The Netherlands.
51. VAN DER PLANK (J.E.). 1968.
Disease resistance in plants.
Academic Press, N.Y. London, 1968.
52. WHEELER (J.E.), HINE (R.B.) et BOYLE (A.M.). 1970.
Comparative activity of dexton and terrazole against *Phytophthora* and *Pythium*.
PHYT, 1970, vol. 60, n°3, p. 561-562. 52963
53. WONG (T.K.) et VARGHESE (G.). 1966.
Assessing the susceptibility of local Citrus species to *Phytophthora* root rot in Malaya.
Exp. Agr., 1966, vol. 2, n°4, p. 305-308. 39252
54. WUTSCHER (H.K.) et SHULL (A.V.). 1972.
Performance of 13 Citrus cultivars as rootstocks for grapefruit.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1972, vol. 97, n°6, p. 778-781.
55. WUTSCHER (H.K.) et SHULL (A.V.). 1975.
Yield fruit quality, growth, and leaf nutrient levels of 14 years old grapefruit, *C. paradisi* MACF. Trees on 21 rootstocks.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1975, vol. 100, n°3, p. 290-294.

CONCLUSIONS

Au terme de cette étude, il apparaît très clairement que, pour l'aspect le plus dangereux des attaques à *Phytophthora* sur les agrumes, c'est-à-dire celles localisées à la base des troncs et au système racinaire, la méthode de lutte actuellement la mieux appropriée est celle qui fait appel aux variétés résistantes.

Il est évident que cette méthode, privilégiée dès le début des recherches sera pendant de très nombreuses années encore la plus apte à résoudre durablement, au niveau des vergers industriels ou familiaux, les problèmes posés par les *Phytophthora*.

En effet l'amélioration des pratiques culturales, bien qu'efficace dans plusieurs situations, esquive plus la question posée qu'elle ne la résout.

Quant aux traitements fongicides, même si l'on peut espérer prochainement des améliorations intéressantes, avec la mise au point de nouvelles molécules actives, spécifiques et systémiques, leur coût et le risque d'induire de nouvelles races de *Phytophthora* résistantes en limiteront nécessairement l'emploi.

En effet, l'action d'un fongicide très spécifique peut être souvent comparée à celle d'un gène de résistance et, par conséquent, à la présence chez la plante traitée d'une résistance de type oligogénique ou verticale. Or, nous avons bien vu que ce type de résistance n'était guère souhaitable dans le cas du couple *Phytophthora* - Agrumes qui nous préoccupe.

En revanche, une substance systémique, qui induirait chez la plante traitée une résistance à l'invasion, que l'on pourrait assimiler par ses effets secondaires à une résistance naturelle de type polygénique, serait extrê-

mement intéressante, et c'est dans cette voie que pourraient être améliorées les méthodes de lutte chimique.

Nous avons pu constater que les premiers travaux de recherche de variétés résistantes, bien que conduits souvent d'une manière très empirique, avaient permis de trouver rapidement une solution satisfaisante avec l'utilisation quasi-exclusive du bigaradier comme porte-greffe.

On sait aussi que cette solution, que l'on espérait stable, a été brusquement remise en question par l'irruption de la Tristeza suivie du cortège des autres maladies à virus et assimilées.

Cette situation nouvelle a révélé l'insuffisance des connaissances sur la population des hôtes et, dès que cette dernière a été mieux explorée, les lacunes subsistant au niveau de la population des *Phytophthora* inféodés aux agrumes sont apparues plus clairement.

Nous sommes actuellement dans une situation où les qualités et la variabilité potentielle de la population des agrumes sont peu ou mal exploitées, et où l'activité parasitaire et ses variations, chez le *Phytophthora*, sont mal connues.

Comme ces deux aspects du problème sont étroitement imbriqués et d'importance égale, il est indispensable de les étudier ensemble.

Il faut par conséquent orienter les recherches vers une connaissance plus approfondie de la structure des populations de *Phytophthora*, vues sous l'angle de leurs caractères pathogènes, étudier leur répartition géographique, et pouvoir élaborer quelques hypothèses sur leur future évolution.

On doit aussi reprendre plus finement les travaux encore très insuffisants sur les voies de pénétration du parasite dans la plante, et sur les mécanismes d'invasion ou d'exclusion.

Enfin les recherches de génétique proprement dite pourraient apporter une meilleure connaissance des relations hôte-parasite dans le couple «Agrumes-*Phytophthora*», indispensable pour la création, par croisements contrôlés, de nouvelles variétés durablement résistantes, auxquelles on adjoindrait les sujets les plus intéressants recueillis dans les zones de peuplements spontanés.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	1
Introduction	3-5
CHAPITRE I : LE PARASITE	7
Les espèces parasites des agrumes	7
Taxonomie des <i>Phytophthora</i> sp. pathogènes pour les agrumes ..	10
Les caractères généraux du genre	10
- le mycelium	10
- la reproduction végétative	10
- la reproduction asexuée	11
- la reproduction sexuée	11
- homothallisme et hétérothallisme	11
Description des espèces parasites des agrumes	14
- groupe I : <i>P. cactorum</i>	14
- groupe II : <i>P. palmivora</i> , <i>P. parasitica</i> <i>P. citrophthora</i> , <i>P. boehmeriae</i>	15
- groupe III : <i>P. citricola</i> , <i>P. syringae</i>	18
- groupe IV : <i>P. hibernalis</i>	22
- groupe V : <i>P. megasperma</i>	22
- groupe VI : <i>P. cinnamomi</i> , <i>P. dreschleri</i>	23
La valeur de la taxonomie, ses limites	24
Quelques aspects de la physiologie des <i>Phytophthora</i>	25
Croissance mycélienne et développement du thalle	25
- la nutrition	25
- les facteurs physico-chimiques externes	27

Sporocystogénèse, chlamydogénèse et oogénèse	28
- influence des facteurs trophiques	28
- influence des facteurs physico-chimiques	29
Germination des spores	31
- les sporocystes	31
- les chlamydospores	34
- les oospores	35
La vie saprophytique des <i>Phytophthora</i>	38
Génétique	40
La sexualité	42
- hétérothallisme et reproduction sexuelle	42
Le cycle caryologique	44
- les théories du cycle, leurs fondements cytologiques ..	44
- les arguments de la génétique	47
Variabilité	51
Isolement des <i>Phytophthora</i>	59
Isolement sélectif par voie chimique	59
- les inhibiteurs chimiques	60
- les inhibiteurs biochimiques	60
- les milieux sélectifs	60
Isolement par piégeage sélectif	63
- piégeage par fruit ou feuille de Citrus	63
- piégeage par feuille d'ananas	64
Évaluation quantitative du <i>Phytophthora</i> dans le sol	65
Bibliographie	66
 CHAPITRE II - LES DIFFERENTS ASPECTS DES MALADIES A <i>PHYTOPHTHORA</i> DES AGRUMES	 79
Symptômes, voie de pénétration, développement, facteurs favorables	79
- fruits	79
- feuilles	82
- racines	83
- troncs	88

Méthodes d'inoculation	94
Méthodes d'inoculation destinées à déceler la résistance ou la sensibilité des variétés	94
- inoculations sur fruits	94
- inoculations sur racines et radicules	94
- inoculations sur tiges et troncs	96
- évaluation de la résistance au champ	97
- corrélation entre les résultats obtenus avec les différentes méthodes d'inoculation	98
- corrélation entre les résultats obtenus avec les différentes méthodes d'inoculation et le comporte- ment au champ	98
Méthodes d'inoculation destinées à vérifier l'activité pathogène des souches isolées	99
Bibliographie	100

CHAPITRE III - LES ESPECES ET VARIÉTÉS HÔTES.

Généralités	105
Généralités sur les genres <i>Poncirus</i> , <i>Fortunella</i> et <i>Citrus</i>	105
Hybrides intergénériques et intragénériques	106
Sensibilité et résistance des hôtes vis-à-vis de <i>Phytophthora</i>	108
Sensibilité et résistance des espèces et hybrides intragénériques du genre <i>Citrus</i>	110
Sensibilité et résistance des espèces des genres <i>Fortunella</i> et <i>Poncirus</i>	112
Sensibilité et résistance des hybrides intergénériques	112
Caractères et localisation de la résistance	114
Nature des relations hôte-parasite dans le couple Agrumes - <i>Phytophthora</i>	114
Bibliographie	118

CHAPITRE IV - LES METHODES DE LUTTE

Les méthodes de lutte	123
Méthodes de lutte contre la « pourriture brune » des fruits, et contre les attaques sur feuilles et rameaux	123
- au verger	123
- aux stations d'emballage	124

Méthodes de lutte contre les pourritures du système racinaire	125
- sur semis	126
- sur arbres adultes	126
Méthodes de lutte contre la «gommosse» du tronc	127
- mesures préventives	127
- mesures curatives	129
Utilisation de variétés résistantes	130
Les porte-greffe résistants	131
Création de variétés résistantes	135
méthodes	136
choix des méthodes	137
Incidence des maladies à virus des agrumes sur le choix de variétés ou d'associations résistantes au <i>Phytophthora</i> ...	140
Bibliographie	153
CONCLUSIONS	157

Publication SETCO

Impr. « Paysan du Midi »
Avenue de Maguelonne
MAURIN-LATTES

Dépôt légal n° 824 - 1^{er} trimestre 1978
