

SELECTION SANITAIRE EN AGRUMICULTURE AU MAROC

par

NHAMI A * et J.J. BOURGE *

Avant propos

De nombreuses personnes ont contribué à la réalisation de ce programme de sélection sanitaire des Agrumes au Maroc. Qu'elles trouvent ici l'expression de nos vifs remerciements.

Introduction

La « tristeza » s'est étendue progressivement à toutes les régions agrumicoles du monde, et le bassin méditerranéen n'a pas échappé à ce fléau. Il s'agit bien d'un fléau, puisque des millions d'arbres greffés sur bigaradier ont péri en une vingtaine d'années sur le continent américain. Pour y faire face, il convenait de remplacer le bigaradier par un autre porte-greffe, dont la combinaison avec l'orange est tolérante à la « tristeza ».

Vu ses qualités, le bigaradier est le porte-greffe le plus utilisé dans les régions méditerranéennes. Il est compatible avec la plupart des variétés cultivées. Il s'adapte de façon satisfaisante aux différents sols et climats. Enfin, il est résistant au *Phytophthora* et tolérant à de nombreuses maladies à virus, à l'exception de la « tristeza ».

* Station Centrale de Recherches sur les agrumes, D.R.A., Rabat.
Cette communication a été présentée à la réunion du Comité maghrébin des Agrumes et Primeurs, tenue à Alger en février 1974.

Par contre, l'utilisation de nouveaux porte-greffes pose une série de problèmes. En effet, la plupart d'entre eux sont sensibles à de nombreuses maladies à virus et au *Phytophthora sp.*

Par ailleurs il est connu que les maladies à virus réduisent la productivité, altérant la quantité et la qualité des fruits. Les chercheurs furent donc amenés à réaliser des progrès considérables dans la détection des virus, afin d'obtenir des clones de sujets et de porte-greffes indemnes de maladies connues causées par ces agents pathogènes.

Pour assainir les différentes variétés d'agrumes cultivées, deux techniques sont généralement utilisées.

- la sélection sanitaire par indexation,
- la production de lignées nucellaires et de nouveaux hybrides pratiquement indemnes de maladies.

D'autres voies sont explorées, mais sans être toutefois utilisées systématiquement, la thermothérapie, la culture de méristèmes et la chimiothérapie.

L'ensemble du verger agrumicole du Maroc est largement contaminé par une série de maladies à virus. Conscient de la nécessité de limiter la multiplication de ces maladies dans les nouveaux vergers, la Direction de la Recherche Agronomique a entrepris, dès 1963, un programme d'amélioration des variétés par la production de lignées nucellaires et la recherche d'arbres indemnes des autres principales maladies à virus des citrius, c'est-à-dire, la « psorose », la « cachexie-xyloporose », l'« exocortis » et la « tristeza ».

Dans la présente communication il ne sera question que de la sélection sanitaire par voie d'indexation.

Rappelons brièvement que l'indexation est une opération qui permet de mettre en évidence la présence éventuelle d'une maladie à virus dans les tissus d'une plante. A cette fin, on inocule par greffage des fragments de la plante à tester sur une plante spécifiquement sensible à la maladie recherchée. La plante à tester est appelée « arbre candidat » et la plante sensible « plante indicatrice ».

Matériel et méthodes

1. Choix du matériel à indexer

1.1. Le programme a débuté par le choix d'arbres candidats

de nombreuses variétés cultivées au Maroc. Même parmi celles d'importance économique réduite. Ils proviennent de vergers situés dans toutes les régions agrumicoles du pays, et répondent aux critères suivants :

- aspect végétatif satisfaisant,
- production satisfaisante en qualité et en quantité,
- plus de quinze ans d'âge.

Cet âge correspond en effet à la pleine production des arbres ainsi qu'à l'extériorisation de certaines maladies à virus qui jusque là seraient demeurées à l'état latent.

1.2. Le programme porte en outre sur des variétés sélectionnées d'origine américaine, introduites en 1963-64. Elles furent soumises à l'indexation de l' « exocortis » et de la « tristeza ».

2. Liste des plantes indicatrices utilisées

● pour le virus de la « psorose »

- oranger « Hamlin » de semis
- oranger « Hinkley » de semis (*Citrus sinensis* Osbeck)
- mandarinier commun de semis (*Citrus reticulata* Blanco)
- bigaradier de semis (*C. aurantium* L.)

● pour le virus de l' « exocortis »

- Poncirus trifoliata (Rafinesque) de semis
- Lime « Rangpur » de semis (*C. reticulata* L. Var. *austeralhyb*)
- Cédrat Etrog 60-13 (*Citrus medica* L. Var., *ethrog* Engl.)

● Pour le virus de la « cachexie-xyloporose »

- Tangelo orlando de semis (*C. paradisi* Maefx *C. reticulata* Blanco)
- Limette de Palestine (*C. aurantifolia* Swingle)

● Pour le virus de la « tristeza »

- Lime mexicaine (*C. aurantifolia* Swingle).

3. Méthodes d'indexation

Virus de la « psorose »

On considère ici la « psorose » A, « blinde pocket », le « concave gum », le « crinckly leaf » et la panachure infectieuse » comme formant un groupe de maladies associées du fait qu'elles occasionnent les mêmes symptômes foliaires sur les plantes indicatrices

(FAWCETT, H.S. and BITANCOURT, A.A., 1943). Etant donné qu'il n'est pas indispensable, pour les besoins du programme de sélection d'identifier dans le groupe de la « psorose » chaque virus en particulier, on désignera ce groupe des cinq maladies sous le nom de « psorose ».

La plante indicatrice est inoculée par greffage d'un écusson de l'arbre candidat. On laisse ensuite se développer une pousse issue de l'inoculum et une autre issue de la plante indicatrice, c'est sur les nouvelles feuilles de la plante indicatrice que seront recherchés les symptômes de la « psorose ». C'est surtout la pousse printanière qui permet d'observer les symptômes de la « psorose », qui disparaissent au fur et à mesure que la feuille croît et s'indure.

Virus de la « cachexie-xyloporose »

La plante indicatrice est élevée comme l'est ordinairement un plan greffé, c'est-à-dire qu'on ne laisse se développer que la pousse issue de l'écusson (inoculum).

Les symptômes de la maladie, peuvent être observés dans l'écorce du tronc à partir de la deuxième année d'inoculation. Après huit ans, les arbres n'ayant pas réagi ont été considérés comme exempts de la maladie.

Les premiers symptômes observés sont de petites imprégnations de gomme dans le phloème, et des trous d'épingle dans la surface combiale du bois, trous comblés par des excroissances de l'écorce.

Virus de l' « exocortis »

Lors de la mise en place du programme d'indexation, la lime « Rangpur » et le *Poncirus trifoliata* étaient utilisés comme plantes indicatrices. La conduite de ces plantes est identique à celle des plantes indicatrices de la « cachexie-xyloporose ».

Les symptômes de la maladie sont visibles à partir de la quatrième année sur le tronc des porte-greffes. L' « exocortis » provoque un écaillage de l'écorce du « *Poncirus trifoliata* ». Ce phénomène est visible d'abord à l'aisselle des grosses racines puis il remonte progressivement vers le point de greffage. Les arbres se développent de moins en moins en vieillissant, ils sont rabougris. Des signes évidents de mauvaise comptabilité entre le porte-greffe et le greffon se traduisent par le développement très inégal des deux parties de

l'arbre, le diamètre du tronc se réduit brusquement au-dessus du point de greffe (goulot de bouteille).

Le tronc de la lime « Rangpur » présente également un écaillage et même quelques écoulements de gomme en présence de virus de l'exocortis. Si on laisse pousser un rejet de ce porte-greffe lorsqu'il est infecté, il présente sur l'écorce des rameaux des taches jaunâtres et de fines craquelures causées par le virus de l'« exocortis ».

Lorsque le cédrat Etrog 60-13 fut disponible pour les indexations (CALAVAN et *al.*, 1964) il fut utilisé comme plante indicatrice. Il présente l'avantage de réagir très rapidement et de façon très spécifique à l'exocortis. La technique d'indexation est la suivante :

— un œil de cédrat Etrog 60-13 est greffé sur un porte-greffe vigoureux, d'autre part des inocula sont greffés sur le même porte-greffe, l'un au-dessus, l'autre en-dessous de l'œil du cédrat.

Les symptômes apparaissent sur le cédrat, dès les premières semaines du développement du rameau issu de l'œil greffé. Il s'agit d'épinastie foliaire et d'éclatements de la nervure principale à la face inférieure des feuilles. Plus tard on observe que la tige ne croît pas de façon rectiligne, elle présente des éclatements et des jaunissements de l'écorce et sa croissance est fortement ralentie. Ce nanisme est parfois le seul symptôme visible comparé au témoin non inoculé.

Virus de la « tristeza »

La plante indicatrice est inoculée avec un morceau d'écorce ou un écusson. Les symptômes foliaires de la « tristeza » apparaissent sur la lime mexicaine d'autant plus rapidement que la nouvelle pousse est plus proche de l'inoculum. Dans ce but, on arque la tige de la lime mexicaine de manière à forcer la croissance des yeux qui se situent au-dessus de l'inoculum. Les symptômes foliaires se présentent sous forme de petits éclaircissements des nervures, ils sont nettement visibles, en exposant la feuille à contre-jour. Après six mois, on obtient des symptômes sur le bois que l'on nomme « stem pitting ».

Le « stem pitting » est une déformation creusée dans la surface du bois de la tige. C'est un réseau de fines rainures plus au moins verticales auxquelles correspondent les reliefs de l'écorce qui épousent exactement les formes du bois. Ces symptômes s'accroissent

avec le temps jusqu'à devenir visibles même sans soulever l'écorce, dans le cas d'infections anciennes.

Nous avons récemment utilisé la technique de « dip-préparation » électronique des particules virales dont on connaît bien les caractéristiques. Cette technique consiste à poser sur une grille munie d'un film de Forvar, une goutte d'eau contenant un colorant permettant de visualiser les particules cellulaires soumises au flux d'électrons, nous avons utilisé à cet effet l'acide phosphotungstique. Une section fraîche de l'écorce de citrus est mise au contact de la goutte pendant quelques secondes afin d'y répandre le contenu des cellules sectionnées.

Le virus de la « tristeza » est facilement identifiable et en concentration suffisante quoique assez faible. Il s'agit d'un filament flexueux de 10 nm x 1.900 à 2.100 nm (BAR-JOSEPH, M. LOEBENSTEIN, G., 1970). Nous avons reconnu de nombreux filaments dans les préparations réalisées avec de l'écorce des arbres atteints de « tristeza ». Nous avons préalablement contrôlé notre source de virus par une indexation sur lime mexicaine. Aucun filament semblable n'est visible dans les préparations provenant des arbres témoins, de la même variété, exempts de « tristeza ».

Cette technique réduit considérablement le temps nécessaire pour diagnostiquer la « tristeza », puisque la méthode d'indexation sur lime mexicaine nécessite au moins trois mois. En cas d'épidémie, par exemple, elle permettra de circonscrire rapidement les foyers de la maladie.

3. Dispositif de la « parcelle d'indexation »

Au début du programme de sélection, les indexations de la « psorose », de la « cachexie-xyloporose » et de l'« exocortis » furent mises en place simultanément en champ.

Chaque arbre candidat fut greffé sur une rangée de vingt arbres appartenant à cinq porte-greffes différents, soit :

- 4 orangers « Hamlin »
- 4 limes « Rangpur »
- 4 poncirus trifoliata
- 4 limes douces de Palestine.

L'ensemble des rangées forme la « parcelle d'indexation ».

Ultérieurement l'indexation de l' « exocortis » fut recommencée en utilisant le cédrat Etrog 60-13 comme plante indicatrice. Cette indexation ne réquerant que trois mois, elle fut réalisée en pépinière sur de jeunes sujets porte-greffes.

En 1967 GARNSEY et JONES, mirent en évidence que l' « exocortis » se transmettait mécaniquement par les outils de greffage. Il s'avérait donc indispensable de prendre des précautions pour ne pas contaminer tout notre matériel végétal. Pour désinfecter les greffiers et les sécateurs utilisés dans la parcelle d'indexation, les lames des outils sont trempées dans une solution d'eau de javel entre chaque opération.

4. Résultats des indexations

Les résultats des quelques 1.500 indexations réalisées pour la « psorose », « l'exocortis », la « tristeza » et la « cachexie-xyloporose » sont résumés dans le tableau I.

Ils présentent une information précieuse sur l'état sanitaire de l'ensemble des vergers.

TABLEAU I

Résultats des indexations

	Matériel candidat		Matériel sélectionné	
Anciennes lignées	Nombre de variétés 53	Nombre total d'arbres 469	Nombre de variétés 19	Nombre total d'arbres 226
d'importation Lignées récentes	34	160	24	135

Le tableau des résultats donne une appréciation sur la faible proportion d'arbres sains que l'on est en droit d'attendre d'une opération de sélection sanitaire.

Il convient de se souvenir que les arbres retenus au début du programme sont les meilleurs que l'on ait trouvés dans les vergers. Il n'est cependant guère possible de trouver des arbres sains dans de nombreuses variétés.

Les lignées importées, par contre, sont faiblement contaminées par les maladies à virus. On a cependant isolé quelques cas d'« exocortis », il s'agit d'ailleurs peut-être de contamination postérieure à l'importation du matériel végétal, car aucune précaution n'était prise à l'époque pour désinfecter les outils de greffage et de taille.

Etat sanitaire de quelques variétés importées

Variété	Origine des greffons	Tristeza	Indexation Exocortis	Psorose
Or. Parent navel	U.S.A.	—	—	—
» Frost navel	»	—	—	—
» Navelate	Espagne	—	+	+
» Navelina	»	—	+	+
» Salustiana	»	—	+	+
Satsuna owari	U.S.A.	—	—	—
» Wase	»	—	—	—
Mend. Murcott Honey	»	—	—	—

Pourcentage de contamination des arbres candidats des principales variétés

Pourcentage de contamination des arbres candidats

	Nombre d'arbres candidats	Atteints d'exocortis	Atteints de xyloporose	Atteints de psorose	Arbres sélectionnés
Or. « Washington Navel »	110	36 %	55 %	58 %	22 %
Or. « Hamlin »	16	25 %	38 %	44 %	50 %
Or. « Valencia late »	74	11 %	43 %	45 %	45 %
Or. « Grosse Sanguine »	17	100 %	29 %	88 %	0 %
« Clémentine »	84	30 %	65 %	58 %	30 %

Si l'on examine les principales variétés pour lesquelles on a pris la précaution d'indexer un grand nombre d'arbres candidats, on relève que 50 % au moins des arbres qui sont apparemment sains en vergers sont en réalité porteurs d'au moins une virose. Dans le

cas particulier de la variété d'orange « grosse sanguine », aucun arbre candidat sain n'a pu être isolé. Cette contamination révèle à quel point les indexations sont indispensables pour connaître l'état sanitaire des arbres. Contrairement à l'avis communément répandu, des arbres âgés de variétés réputés sensibles à telle maladie ne peuvent pas être considérés sains du moment qu'il ne présentent aucun symptôme. C'est le cas des clémentiniers dont 65 % sont porteurs, sans présenter de symptômes, de virus de « cachexie-xyloporose » et le cas des orangers de la variété « grosse sanguine » dont 80 % sont porteurs de virus de la Psorose.

Le danger d'une telle situation réside dans la pratique courante du surgreffage des variétés. Au cours de la vie d'un verger de citrus, il est souvent nécessaire pour des raisons économiques de changer de variétés. Pour cela on rabat les branches charpentières et on regreffe une nouvelle variété promise à un meilleur avenir commercial. C'est ainsi que les maladies à virus finissent par s'accumuler dans certains vergers. Chaque nouvelle variété apporte son lot de viroses. Il arrive qu'un pépiniériste s'approvisionne en greffons sur des arbres qui sont de véritables réservoirs de maladies à virus. Il dissémine ensuite des plants qui porteront le plus grand préjudice aux agrumiculteurs. Ceux-ci incriminent la qualité des sols, les carences minérales ou le climat plutôt que l'état sanitaire des arbres. Les maladies à virus ne se manifestent en effet, que tardivement par leurs symptômes les mieux connus. La sélection sanitaire permet de rompre ce mécanisme d'accumulation des viroses qui aboutirait à contaminer sans exception, toutes les variétés. Dans un verger planté d'arbres sains, le surgreffage par des variétés saines ne présente en principe plus d'inconvénient.

Il reste cependant que l'on découvre toujours de nouveaux agents infectieux, virus ou mycoplasme, ou de nouveaux modes de dissémination des maladies qu'ils provoquent. C'est pourquoi une lignée sélectionnée doit être régulièrement soumise à de nouvelles indexations tout en effectuant des tests de contrôle concernant les autres maladies connues.

Projets de recherches

Le travail qui vient d'être exposé ne constitue que la première étape vers le but final qui est la diffusion de matériel sélectionné aux pépinières. Dix ans de recherches ont permis de réaliser le premier verger regroupant toutes les variétés qui ont subi la sélec-

tion sanitaire. Il faut maintenant mener à bien dans ce verger, les opérations suivantes :

1. effectuer les indexations de contrôle,
2. vérifier la valeur pomologique et les qualités organoleptiques de chaque variété,
3. procéder aux premiers tests d'indexation de la maladie du « stubborn ».

Cette maladie à mycoplasme est mieux connue aujourd'hui qu'il y a dix ans. Aussi peut-on espérer la diagnostiquer plus aisément et même envisager de lutter contre cette affection par des méthodes curatives faisant usage des antibiotiques.

Ce n'est que lorsque les lignées sélectionnées auront subi ces trois épreuves qu'il sera possible de diffuser des greffons pour créer de nouveaux vergers.

BIBLIOGRAPHIE

- BAR-JOSEPH, M., LOEBENSTEIN, G. COHEN, J. — 1970. Partial Purification of Virus Like Particles Associated with the Citrus Tristeza Disease. — *Phytopathology* 60, pp. 75-78.
- BAR-JOSEPH, M. and LOEBENSTEIN, G. — 1970. Rapid Diagnosis of the Tristeza Disease by Electron Microscopy of Partially Purified Preparation. — *Phytopathology* 60, p. 1510.
- BOURGE, J.-J. et NHAMI, A. — 1969. Commentaires sur la première série d'indexations effectuées à El-Menzeh, à partir de pieds-mères. — *In* compte-rendu de la réunion de la commission agro-technique du comité des agrumes de la zone franc.
- CALAVAN, E.C., FROLICH, E.F., CARPENTER, J.B. et *al.* — 1964. Rapid Indexing for Exocortis of Citrus. — *Phytopathology* 54, pp. 1359-1362.
- CHAPOT, H., CASSIN, J. — 1961. Maladies et troubles divers affectant les citrus au Maroc. — *Al Awamia* I, pp. 107-140.
- FAWCETT, H.S. and BITANCOURT, A.A. — 1943. Comparative Symptomology of Psorosis Varieties on Citrus in California. — *Phytopathology* 33, pp. 837-864.

- GARNSEY, S.M. and JONES, J.W. — 1967. Mechanical Transmission of Exocortis Virus With Contaminated Budding Tools. — *Plant Disease Reporter* 51, pp. 410-413.
- MILNE, R.G. — 1972. Electron Microscopy of Virus. — *In Principles and Techniques in Plant Virology*. Edited by Kado and Agrawal.