

Fiche informative sur les organismes de quarantaine

Citrus greening bacterium**IDENTITE**

Nom: Citrus greening bacterium

Classement taxonomique: Bacteria: Gracilicutes

Noms communs: Greening (Afrique), leaf mottling (Philippines), decline (Inde), vein phloem degeneration (Indonésie) (anglais)
Huang long bin (maladie des pousses jaunes), likubin (déclin) (chinois)
Enverdecimiento (espagnol)
Greening (français)

Notes sur la taxonomie et la nomenclature: c'est une bactérie fastidieuse, limitée au phloème, Gram-négative et qui n'a pas été cultivée. Il en existe deux formes: une forme thermotolérante (asiatique) et une thermosensible (africaine). Jagoueix *et al.* (1994) ont récemment proposé le genre *Liberobacter* pour l'agent pathogène du greening, le considérant comme un membre de la subdivision alpha des Proteobacteria sur la base d'études de PCR. Les noms *L. asiaticum* et *L. africanum* ont été proposés pour les deux formes qui peuvent être séparées en espèces distinctes sur la base de d'homologie de séquences d'acides nucléiques (Planet *et al.*, 1995). Cependant ces noms ne sont pas encore reconnus comme étant valides.

Code informatique OEPP: CSGXXX

Liste A1 OEPP: No 151

Désignation Annexe UE: II/A1

PLANTES-HOTES

La citrus greening bacterium infecte les agrumes en général. La bactérie peut survivre et se multiplier dans la majorité des *Citrus* spp. mais les symptômes les plus accentués sont observés sur oranger (*C. sinensis*), mandarinier (*C. reticulata*) et tangelo (*C. reticulata* x *C. paradisi*). Des symptômes un peu moins accentués sont observés sur citronnier (*C. limon*), pamplemoussier (*C. paradisi*), *C. limonia*, *C. limettioides*, *C. jambhiri*, kumquat (*Fortunella* spp.) et cédrat (*C. medica*) (McClellan & Schwarz, 1970). Les symptômes sont encore moins accentués sur limettier acide (*C. aurantiifolia*) et sur pomelo (*C. grandis*). Bien que d'autres Rutaceae aient été infectées artificiellement, il n'y a pas apparemment de signalements d'infections naturelles.

Citrus greening bacterium a été transmise expérimentalement par *Cuscuta campestris*, à partir d'agrumes à une espèce-hôte non rutacée: *Catharanthus roseus* (Garnier & Bové, 1983).

REPARTITION GEOGRAPHIQUE

La répartition est donnée séparément pour les deux formes de la maladie

- **Forme thermosensible (“*Liberobacter africanum*”)**

OEPP: absente.

Asie: Arabie saoudite, Yémen.

Afrique: Afrique du Sud, Burundi, Cameroun, Comores, Ethiopie, Kenya, Madagascar, Malawi, Maurice, République Centrafricaine, Réunion, Rwanda, Somalie, Sainte-Hélène (non confirmé), Swaziland, Tanzanie, Zimbabwe. Les signalements récents viennent d'Aubert *et al.* (1988). Des prospections n'ont pas permis de trouver la maladie au Gabon, en Namibie ou en Zambie.

UE: absente.

• **Forme thermotolérante (“*Liberobacter asiaticum*”)**

OEPP: absente.

Asie: Arabie saoudite, Bangladesh, Chine (Guangdong, Guangxi), Hong Kong, Inde (Arunachal Pradesh, Assam, Haryana, Maharashtra, Manipur, Meghalaya, Punjab, Sikkim, West Bengal), Indonésie (Java, Sumatra), Japon (îles Ryukyu), Malaisie (péninsulaire), Népal, Pakistan, Philippines, Taïwan, Thaïlande, Viet Nam.

Afrique: Maurice, Réunion.

UE: absente.

Les deux formes existent à Maurice, à la Réunion et en Arabie saoudite. La zone méditerranéenne et la majorité du Moyen Orient (par exemple l'Iran) sont toujours indemnes de la maladie. La zone infestée la plus proche de la zone méditerranéenne s'étend au sud de La Mecque, sur la côte de la Mer Rouge.

Carte de répartition: voir Commonwealth Department of Health (1982).

BIOLOGIE

Graca (1991) a récemment réalisé une synthèse sur la maladie. C'est Lin (1956) qui a signalé pour la première fois la transmission de l'agent du greening par greffage. On pensait initialement que l'agent était un phytoplasme mais des travaux ultérieurs ont montré qu'il s'agissait plutôt d'une bactérie Gram-négative à paroi cellulaire membraneuse contenant des peptidoglycanes (Moll & Martin, 1973; Garnier *et al.*, 1984). La nature bactérienne de l'organisme du greening explique pourquoi le traitement des plantes infestées par la pénicilline entraîne une rémission des symptômes (Aubert & Bové, 1980; Bové *et al.*, 1980). Garnett (1985) a publié qu'il avait réussi à cultiver la citrus greening bacterium, les preuves expérimentales montrant que l'organisme cultivé était effectivement la bactérie du greening sont insuffisantes.

On connaît deux formes du greening (Bové *et al.*, 1974). L'une en Afrique australe est thermosensible, les symptômes ne se développant pas sous un climat chaud lorsque la température dépasse 30°C plusieurs heures par jour. L'autre forme est thermotolérante et supporte des températures élevées, sa répartition est essentiellement asiatique. La forme asiatique thermotolérante a été découverte en Arabie saoudite et la forme africaine thermosensible au Yémen. Lorsque la forme africaine et la forme asiatique de la bactérie du greening sont transmises par *Cuscuta campestris* d'agrumes à *Catharanthus roseus* (Garnier & Bové, 1983), la forme africaine reste thermosensible et la forme asiatique thermorésistante, à la fois chez *C. roseus* et chez les agrumes..

Des anticorps monoclonaux spécifiques du greening et plus précisément d'un isolat indien ont été obtenus (Garnier *et al.*, 1987). En immunofluorescence sur coupes, les anticorps monoclonaux réagissent non seulement avec l'isolat de la citrus greening bacterium homologue (indien) mais aussi avec des isolats provenant des Philippines, de la Réunion et d'autres pays d'Afrique. Des relations sérologiques existent donc entre la forme africaine et la forme asiatique de la citrus greening bacterium, mais il est possible que des travaux ultérieurs mettent en évidence des différences de souches. En conditions naturelles, le greening est transmis en Afrique et au Yémen par *Trioza erytrae* (McClellan & Oberholzer, 1965; OEPP/CABI, 1996b) et en Asie (y compris l'Arabie saoudite) par *Diaphorina citri* (Capoor *et al.*, 1967; OEPP/CABI, 1996a). Cependant il a été démontré

expérimentalement que *T. erytrae* pouvait transmettre la forme indienne du greening et que *D. citri* pouvait transmettre la forme africaine (Lallemand *et al.*, 1986).

DETECTION ET IDENTIFICATION

Symptômes

Aspect général des arbres atteints: croissance libre, rabougrissement, dépérissement des rameaux, feuillage jaune peu dense, chute importante des fruits, sur certains arbres et dans certains pays (Chine) les symptômes apparaissent d'abord sur une branche principale de l'arbre atteint (aspect de branche jaune); un dépérissement grave est observé surtout avec la forme asiatique.

Symptômes sur fruits

Certains fruits restent peu développés, ont un aspect déversé et sont peu colorés. Lorsqu'on exerce une pression avec le doigt, une tache blanc-grisâtre cireuse apparaît parfois à la surface du zeste. Les pépins avortent souvent. Le symptôme de verdissement (greening) que l'on observe surtout en Afrique se voit sur les fruits qui ne mûrissent que du côté exposé au soleil, l'autre face restant d'un vert olive terne (Commonwealth Department of Health, 1982).

Symptômes foliaires

Des symptômes de marbrure et ressemblant à ceux d'une carence en zinc sont très fréquents et caractéristiques. Les feuilles développées présentent souvent des taches irrégulières entre les nervures principales. Les nervures sont souvent proéminentes et jaunes.

Symptômes sur tronc, branches charpentières et pousses

Pas de symptômes apparents.

Symptômes histologiques

Des zones localisées de phloème nécrotique sont disséminées dans le système vasculaire des feuilles. On observe une accumulation massive d'amidon dans les plastes ainsi qu'une activité anormale du cambium et une formation excessive de phloème.

Morphologie

Structures allongées sinueuses en forme de bâtonnets, de 0,15-0,25 µm en diamètre et de plusieurs µm de longueur qui peuvent être observées en microscopie électronique dans les tubes criblés des arbres infectés. On a observé des structures similaires dans les deux vecteurs.

Méthodes de détection et d'inspection

Le matériel suspect peut être greffé sur des plantes indicatrices sensibles. Les plantes indicatrices les plus utilisées sont les plantules de tangelo Orlando et d'oranger. L'inoculation doit être réalisée de préférence avec des morceaux de feuilles présentant des marbrures. En raison des résultats aléatoires de la transmission par greffage, on doit utiliser au moins dix plantules pour chaque arbre à tester. Après l'inoculation, la plantule indicatrice doit être maintenue à 24°C (forme africaine) ou 32°C (forme asiatique). Les symptômes apparaissent habituellement après 4-5 mois. On a utilisé, pour la détection (Schwarz, 1968a; 1968b) la présence dans les tissus infectés par le greening d'un marqueur fluorescent spécifique, le gentisoyl glucoside (Feldman & Hanks, 1969). La fiabilité de cette méthode a été confirmée ultérieurement par Hooker *et al.* (1993). On peut analyser les arbres suspects en microscopie électronique pour confirmer la présence de bactéries caractéristiques dans les tubes criblés. L'identification sérologiques avec des anticorps monoclonaux spécifiques de la forme indienne de la citrus greening bacterium a été utilisée avec succès pour détecter la bactérie dans des agrumes et *Catharanthus roseus* cultivés en serre, par immunofluorescence et ELISA (Garnier *et al.*, 1987). Des sondes d'ADN qui détectent le pathogène et différencient les deux formes ont été récemment obtenues (Villeanoux *et al.*, 1992).

MOYENS DE DEPLACEMENT ET DE DISPERSION

Le citrus greening bacterium est disséminé par ses vecteurs ou par du matériel de plantation d'agrumes. Comme les deux psyllides vecteurs de la maladie ne sont présents ni dans la zone méditerranéenne ni dans certaines zones du Moyen Orient ou en Amérique, la maladie, si elle est introduite dans ces zones, ne devrait en théorie ne se disséminer que par du matériel de plantation infecté. Cependant on peut concevoir que des vecteurs du greening non identifiés jusqu'à maintenant existent.

NUISIBILITE

Impact économique

Le greening des agrumes transmis par *D. citri* et *T. erytrae* est une maladie extrêmement grave. En Afrique du Sud en 1965, les pertes de fruits provoquées par la maladie étaient de 30-100 % dans certains vergers; beaucoup d'entre eux ont dû être ultérieurement abandonnés ou arrachés. Des attaques antérieures ont eu lieu en 1932-1936 et 1939-1946. Les pertes annuelles en 1991 étaient estimées à 35 millions de ZAR. A la Réunion, de vastes zones agrumicoles ont dû être abandonnées (Catling, 1973), de même qu'en Thaïlande (Schwarz & Knorr, 1973). Aux Philippines la production de mandarines a chuté de 1170 t en 1960 à 100 t en 1968. Dans le sud-ouest de l'Arabie saoudite la culture de l'oranger et du mandarinier a pratiquement disparu au cours des années 1970. En Asie, un programme FAO-PNUD a été récemment mis en place pour essayer de maîtriser la maladie.

Lutte

Au Transvaal (Afrique du Sud), on traite les agrumes contre le greening par injections de tétracycline (jusqu'à 20 g par arbre) à l'aide de compresseurs à haute capacité fonctionnant à 10 kg cm⁻². On a essayé ces méthodes en Asie mais elles ne sont pas beaucoup utilisées. Le traitement à la rolitétracycline diminue aussi l'expression des symptômes. Cependant en Afrique du Sud on se concentre principalement sur une lutte basée sur l'utilisation d'arbres de pépinières sains et d'insecticides systémiques efficaces (contre le vecteur *T. erytrae*) en traitements des troncs (Buitendag, 1991). Santokh Singh *et al.* (1994) ont obtenu des résultats prometteurs en utilisant une protection croisée avec des souches bénignes du greening, mais cette approche n'a pas été utilisée en verger.

Risque phytosanitaire

Le citrus greening bacterium figure sur la liste d'organismes de quarantaine A1 de l'OEPP (OEPP/EPPO, 1988) et présente aussi une importance de quarantaine pour la COSAVE, la CPPC et l'IAPSC. Dans les zones d'agrumiculture de l'OEPP, elle ne présenterait un problème que si elle était introduite avec l'un de ses deux vecteurs. Il n'y a aucune indication réelle que des vecteurs indigènes méditerranéens puissent exister. En raison de sa gravité il est essentiel d'éviter l'arrivée de la maladie et de ses vecteurs dans la zone méditerranéenne et d'éviter leur dissémination au Moyen Orient. *D. citri* and *T. erytrae* sont aussi considérés comme organismes de quarantaine A1 par l'OEPP (OEPP/EPPO, 1988; OEPP/CABI, 1996a,b), par eux-mêmes ainsi qu'en raison de leur rôle de vecteur.

MESURES PHYTOSANITAIRES

L'OEPP recommande (OEPP/EPPO, 1990) que l'importation de matériel de plantation et de rameaux coupés d'agrumes provenant de pays où la bactérie du greening ou l'un de ses vecteurs est présent, soit interdite. Du bois sain peut être obtenu à partir de matériel en quarantaine par greffage de bourgeons terminaux ou bien par traitement à la vapeur (par exemple air chaud saturé d'humidité à 49°C pendant 50 min.) de bourgeons dans une

solution de tétracycline (100 ppm) ce qui permet d'obtenir un fort pourcentage de bourgeons indemnes de greening. D'autres systèmes de traitement à la vapeur sont aussi possibles. Ce matériel indemne de greening doit être conservé et propagé dans des conditions assurant de les maintenir à l'écart des insectes et leur état sanitaire vérifié par greffage sur oranger.

BIBLIOGRAPHIE

- Aubert, B.; Bové, J.M. (1980) Effect of penicillin or tetracycline injections of citrus trees affected by greening disease under field conditions in Réunion Island. In: *Proceedings of the 8th Conference of the International Organization of Citrus Virologists* (Ed. by Calavan, E.C.; Garnsey, S.M.; Timmer, L.W.), pp. 103-108. University of California, Riverside, Etats-Unis.
- Aubert, B.; Garnier, M.; Cassim, J.C.; Bertin, Y. (1988) Citrus greening disease in east and west African countries south of the Sahara. In: *Proceedings of the 10th Conference of the International Organization of Citrus Virologists*, pp. 226-230.
- Bové, J.M.; Calavan, E.D.; Capoor, S.P.; Cortez, R.E.; Schwarz, R.E. (1974) Influence of temperature on symptom of Californian stubborn, South African greening, Indian citrus decline and Philippines leaf mottling disease. In: *Proceedings of the 6th Conference of the International Organization of Citrus Virologists* (Ed. by Weathers, L.G.; Cohen, M.), pp. 12-15. University of California, Berkeley, Etats-Unis.
- Bové, J.M.; Bonnet, P.; Garnier, M.; Aubert, B. (1980) Penicillin and tetracycline treatments of greening disease affected citrus plants in the glasshouse and the bacterial nature of the prokaryote associated with greening. In: *Proceedings of the 8th Conference of the International Organization of Citrus Virologists* (Ed. by Calavan, E.C.; Garnsey, S.M.; Timmer, L.W.), pp. 91-97. University of California, Riverside, Etats-Unis.
- Buitendag, C.H. (1991) The current status and the control of greening disease of citrus in the Republic of South Africa. *Citrus Journal* **1**, 35-40.
- Capoor, S.P.; Rao, D.B.; Viswanath, S.M. (1967) *Diaphorina citri*, a vector of the greening disease of citrus in India. *Indian Journal of Agricultural Science* **37**, 572-576.
- Catling, H.D. (1973) Notes on the biology of the South African citrus psylla *Trioza erytrae*. *Journal of the Entomological Society of South Africa* **36**, 299-306.
- Commonwealth Department of Health (1982) Citrus dieback and greening. *Plant Quarantine Leaflet* No. 26. Australian Government Publishing Service, Canberra, Australie.
- Feldman, A.W.; Hanks, R.W. (1969) The occurrence of a gentisic glucoside in the bark and albedo of virus-infected citrus trees. *Phytopathology* **59**, 603-606.
- Garnett, H.M. (1985) Isolation of the greening organism. *Citrus and Subtropical Fruit Journal* No. 611, pp. 4-6.
- Garnier, M.; Bové, J.M. (1983) Transmission of the organism associated with citrus greening disease from sweet orange to periwinkle by dodder. *Phytopathology* **73**, 1358-1363.
- Garnier, M.; Danel, N.; Bové, J.M. (1984) Etiology of citrus greening disease. *Annales de Microbiologie (Institut Pasteur)* **153A**, 169-179.
- Garnier, M.; Martin-Gros, G.; Bové, J.M. (1987) Monoclonal antibodies against the bacterial-like organism associated with citrus greening disease. *Annales de Microbiologie (Institut Pasteur)* **138**, 639-650.
- Graca, J.V. da (1991) Citrus greening disease. *Annual Review of Phytopathology* **29**, 109-136.
- Hooker, M.E.; Lee, R.F.; Civerolo, E.L.; Wang, S.Y. (1993) Reliability of gentisic acid, a fluorescent marker, for diagnosis of citrus greening disease. *Plant Disease* **77**, 174-180.
- Jagoueix, S.; Bové, J.M.; Garnier, M. (1994) The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the Proteobacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology* **44**, 379-386.
- Lallemand, J.; Fos, A.; Bové, J.M. (1986) Transmission de la bactérie associée à la forme africaine de la maladie du 'greening' par le psylle asiatique *Diaphorina citri*. *Fruits* **41**, 341-343.
- Lin, K.H. (1956) Observations on yellow shoot on citrus. *Acta Phytopathologica Sinica* **2**, 1-42.
- Massonie, G.; Garnier, M.; Bové, J.M. (1976) Transmission of Indian citrus decline by *Trioza erytrae*, the vector of South African greening. In: *Proceedings of the 7th Conference of the*

- International Organization of Citrus Virologists* (Ed. by Calavan, E.C.), pp. 18-20. University of California, Riverside, Etats-Unis.
- McClellan, A.P.D.; Oberholzer, P.C.J. (1965) Citrus psylla, a vector of the greening disease of sweet orange. *South African Journal of Agricultural Science* **8**, 297-298.
- McClellan, A.P.D.; Schwarz, R.E. (1970) Greening or blotchy-mottle disease of citrus. *Phytophylactica* **2**, 177-194.
- Moll, J.N.; Martin, M.N. (1973) Electron microscope evidence that citrus psylla (*Trioza erytreae*) is a vector of citrus greening in South Africa. *Phytophylactica* **5**, 41-44.
- OEPP/CABI (1996a) *Diaphorina citri*. In *Organismes de Quarantaine Pour l'Europe*. 2ème édition CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
- OEPP/CABI (1996b) *Trioza erytreae*. In *Organismes de Quarantaine Pour l'Europe*. 2ème édition CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
- OEPP/EPPO (1988) Fiches informatives OEPP sur les organismes de quarantaine n° 151, Citrus greening bacterium et ses vecteurs *Diaphorina citri* & *Trioza erytreae*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **18**, 497-507.
- OEPP/EPPO (1990) Exigences spécifiques de quarantaine. *Document technique de l'OEPP* n° 1008.
- Planet, P.; Jagoueix, S.; Bové, J.M.; Garnier, M. (1995) Detection and characterization of the African citrus greening liberobacter by amplification, cloning, and sequencing of the rplKJL-rpoBC operon. *Current Microbiology* **30**, 137-141.
- Santokh Singh; Kapur, S.P.; Cheema, S.S. (1994) Management of greening disease through cross-protection. *Indian Journal of Virology* **10**, 113-121.
- Schwarz, R.E. (1968a) Indexing of greening and exocortis through fluorescent marker substances. In: *Proceedings of the 5th Conference of the International Organization of Citrus Virologists* (Ed. by Childs, J.F.L.), pp. 118-124. University of Florida Press, Gainesville, Etats-Unis.
- Schwarz, R.E. (1968b) Thin layer chromatographical studies on phenolic markers of the greening virus in various citrus species. *South African Journal of Agricultural Science* **11**, 797-801.
- Schwarz, R.E.; Knorr, L.C. (1973) Presence of citrus greening and its psylla vector in Thailand. *FAO Plant Protection Bulletin* **21**, 132-138.
- Villechanoux, S.; Garnier, M.; Renaudin, J.; Bové, M. (1992) Detection of several strains of the bacterium-like organism of citrus greening disease by DNA probes. *Current Microbiology* **24**, 89-95.