

Compte Rendu de la III^e Réunion de l'« International Council on Lethal Yellowing »

M. DOLLET (1)

La III^e Réunion de l'« International Council on Lethal Yellowing » s'est tenue du 30 octobre au 3 novembre 1977, au Jupiter Hilton Hôtel, Palm Beach County en Floride.

Priorité a été donnée lors de ce congrès aux problèmes posés par les recherches effectuées sur l'étiologie de ces maladies à jaunissement mortel, affectant les palmiers et cocotiers des Caraïbes et de Floride ou certaines cocoteraies d'Afrique de l'Ouest. Le problème a été abordé sur le plan fondamental de la recherche scientifique dans ce domaine récent de la phytopathologie : « Les mycoplasmoses ». En effet, dix ans après le premier rapport d'observation de « Mycoplasma, Like, Organisms » (MLO) en microscopie électronique dans une plante malade, le problème de la démonstration de la pathogénicité de ce type d'organismes observés sur des coupes fines n'est toujours pas élucidé. Seuls, deux cas particuliers ont été résolus : le « Stubborn » des agrumes et le « Corn Stunt » pour lesquels des Spiroplasmes, germes appartenant à la même classe que les mycoplasmes — Mollicutes — mais qui possèdent des caractéristiques uniques qui en font le seul membre du genre *Spiroplasma*, ont pu être isolés, cultivés, caractérisés et retransmis expérimentalement sur des plantes saines par l'intermédiaire d'insectes. Dans ces deux derniers cas la nature mycoplasmatique des éléments observés en microscopie électronique a donc été prouvée et leur pathogénicité démontrée.

Comme le montre le programme de cette réunion :

I. — SESSION D'INTRODUCTION

Après un rappel de L. Chiarappa de la FAO sur l'importance économique du cocotier dans de nombreux pays, et sur les implications potentielles de maladies, type jaunissement mortel dans le monde, trois communications ont permis de faire le bilan de la distribution et de l'impact de cette maladie :

I. Session d'introduction, II. Biologie de base des jaunisses, III. Diagnostic de la maladie, IV. Isolement et culture de mycoplasmes, V. Vecteurs, VI. Maîtrise de la maladie, VII. Excursion « sur le terrain », VIII. Problèmes posés par des nouvelles maladies, dans la culture des palmiers, une grande place (I, III, IV, V) revenait donc au problème général des mycoplasmoses et de leur transmission, une session était consacrée à la lutte à court et long termes contre la maladie, et enfin une dernière session qui a soulevé un très grand intérêt auprès de tous les participants et qui avait pour objet les nouveaux grands problèmes phytopathologiques rencontrés dans la culture des palmiers. Dans cette dernière session a été plus particulièrement approfondi le cas d'un nouveau type de maladie affectant, comme le jaunissement mortel, à la fois palmiers et cocotiers. Son aire de répartition est assez vaste, englobant tout le Nord de l'Amérique du Sud y compris l'île de Trinidad. Nous avons probablement affaire, avec cette maladie, à un nouveau domaine de la phytopathologie puisque les microorganismes impliqués sont des protozoaires flagellés.

Ces différentes sessions se révélèrent d'autant plus intéressantes que plusieurs spécialistes des différentes disciplines scientifiques abordées (mycoplasmes animaux, spiroplasmes, transmission des maladies à virus et à mycoplasmes, protozoaires flagellés, botanique des palmiers) qui n'avaient jamais travaillé sur les maladies des palmiers, ont apporté leurs connaissances et fait part de leurs nombreuses suggestions.

— en Afrique, où la maladie continue de progresser, la maladie de Cap St Paul étant actuellement dans la région de Princes Town soit environ 460 km à l'ouest du foyer d'origine [E. A. Addison],

— dans les Caraïbes où, d'après H. C. Harries, seule une recherche sur la culture de variétés résistantes peut maintenant apporter une solution au problème,

— et en Floride, où vingt et une espèces de palmiers sont atteintes. En Floride sous l'égide de la « Division

(1) Département Virologie, I. R. H. O., Station de recherches de pathologie comparée I. N. R. A.-C. N. R. S. 30380 St Christol-les-Aîles (France).

of Plant Industry » et du centre de Recherches IFAS de Fort Lauderdale, s'est formé un véritable mouvement de résistance contre le jaunissement mortel, rassemblant chambres de commerce, municipalités, « county », particuliers... Cette mobilisation, utilisant

plus particulièrement les traitements aux antibiotiques (terramycine), a permis de stopper la progression de la maladie sur la côte Ouest de la Floride (Collier County) où seulement un seul cas a été enregistré depuis octobre 1974 [G. H. Gwin].

II. — BIOLOGIE DE BASE DES JAUNISSES

Actuellement, l'étude des jaunisses de plantes passe par trois étapes principales : 1° Symptomatologie ; 2° Détermination de MLO en microscopie électronique ; 3° La phase la plus importante et qui pose le plus de problèmes : essais d'isolement et de culture des organismes observés.

Parlant des deux premiers points, R. E. Mac Coy a insisté sur les nombreuses confusions que l'on peut trouver dans les rapports de travaux en microscopie électronique. Il semble en effet peu probable, étant donné les environnements très différents et en particulier les différences de pression osmotique et le diamètre des plasmodesmes, que les MLO puissent occuper d'autres cellules que les tubes criblés. Quant aux interprétations des clichés de microscopie électronique, il pense qu'il faut les faire avec prudence sans oublier les nombreux artefacts possibles intervenant lors de la fixation.

J. Tully, spécialiste des mycoplasmes animaux a rappelé les règles essentielles à suivre dans la détermination de chaque nouvel isolement de mycoplasme, animal ou végétal.

Chaque communication relatant l'isolement et la culture de mycoplasme devrait en effet être obligatoirement fondée sur :

- culture en milieux liquide et solide,
- filtration sur membrane à pores de 220 ou 450 nm,
- trois clonages successifs à partir d'une colonie,
- vérification de l'absence de paroi en microscopie électronique sur un culot de centrifugation de culture,
- observation en microscopie optique en contraste de phase de structures polymorphes typiques,
- culture sur milieu solide sans pénicilline ou autre antibiotique de manière à vérifier l'absence de cas de réversion vers une forme bactérienne,
- tests biochimiques : quatre principaux qui sont : la dégradation du glucose, l'hydrolyse de l'Arginine, de l'urée, et la biosynthèse de caraténoides,
- tests sérologiques dont les deux principaux sont l'inhibition de croissance et la fixation du complément ou le test de double immuno-diffusion.

M. J. Daniels a présenté dans la III^e session une nouvelle méthode possible d'identification de souches par analyse, à l'aide d'un « computer », d'électrophorèses sur gel de polyacrylamide des protéines de mycoplasmes dans le sodium dodécyl sulfate. Cette méthode pourrait remplacer les nombreux tests sérologiques (75 antisérums à tester).

Une fois isolés et définis, il reste à prouver la pathogénicité de ces organismes. Comme l'a expliqué M. J. Daniels, il y a probablement plusieurs types d'action des mycoplasmes dans les plantes. En effet, les travaux effectués sur 2 souches de spiroplasmes, *Spiroplasma citri* et celui du Corn Stunt, montrent que la première provoque un flétrissement grave sur *Vinca rosea* alors que la seconde n'induit que des effets bénins. A cette différence de symptômes sur plante test, on peut relier le fait que *Spiroplasma citri* produit une toxine alors que le spiroplasma du Corn Stunt n'en produit pas.

Deux types de test de révélation des toxines mis au point par l'équipe de Daniels, un test d'inhibition de germination et un test sur fragments de feuilles de fèves, pourraient servir à rechercher une éventuelle toxine dans les palmiers atteints de jaunissement mortel. On pourrait en cas de réponse positive utiliser ces tests, avec résultat immédiat, pour chercher de nouvelles variétés résistantes.

A côté de ces deux spiroplasmes, bien connus maintenant, sont venus s'ajouter d'autres isollements à partir de plantes pour lesquelles la microscopie électronique n'avait révélé que des MLO « habituels » sans aucun soupçon de forme spiralée. Ainsi l'équipe de K. Maramorosch, a pu isoler sur milieu classique, des spiroplasmes d'une cactée et de diverses plantes atteintes de jaunisses (Aster Yellows). D'après Maramorosch, le succès ou l'échec de ces tentatives d'isolement dépendrait de la nature même de la plante atteinte. En effet leur pourcentage de réussite est bien plus élevé avec certaines plantes que pour d'autres.

Cette dernière remarque est très intéressante car évidemment la culture est une étape essentielle dans l'étude de ces maladies, et comme l'a exposé G. H. Kaloostian, ce serait un des meilleurs moyens de résoudre l'énigme du vecteur. Une fois la souche isolée et caractérisée on pourrait tenter systématiquement des isollements à partir des insectes suspectés et comparer les souches ainsi isolées à celle des palmiers pour son identification.

A la vue de la longue liste des insectes suspectés et testés G. H. Kaloostian suggère, d'autre part, de s'intéresser aux ériophides connus déjà comme vecteurs de virus.

Enfin, H. E. Moore a présenté une série de candidats pour le remplacement des espèces de palmiers susceptibles au « Lethal Yellowing » en Floride, candidats qui doivent être adaptés aux conditions climatiques et écologiques de cette région et en particulier résister à des températures assez basses.

III. — DIAGNOSTIC DE LA MALADIE

Le but de cette session était de définir les moyens de diagnostiquer le jaunissement mortel et d'évaluer le test examen en microscopie électronique.

Le premier élément de diagnostic réside naturellement dans une définition parfaite de la symptomatologie. Il semble qu'à ce niveau là, on ne possède pas encore tous les éléments pour conclure de manière certaine. Ainsi S. J. Eden-Green pense avoir trouvé un nouveau type de symptômes sur les apex racinaires.

D'autre part, on peut avoir des différences notables dans la symptomatologie suivant l'état physiologique des arbres et à cause d'interactions avec d'autres symptômes pathologiques comme le Bud Rot en Jamaïque, en particulier sur le Nain Malais [H. C. Harries].

Enfin, une symptomatologie précise et sûre, aiderait à mieux se prononcer sur l'existence réelle de cas de rémission comme il semble y en avoir eu en Jamaïque, et sur des cas de cocotiers présentant un plus ou moins grand degré de résistance après avoir contracté des symptômes semblant être ceux de la maladie [H. C. Harries].

Le second élément de diagnostic, le plus utilisé actuellement, qui complète la symptomatologie, réside dans les examens en microscopie électronique de coupes fines d'échantillons de palmiers malades. Ces examens ont permis de vérifier en Floride [D. L. Thomas] que des éléments de type mycoplasme (MLO) de formes variées avec une membrane unitaire trilamellaire, contenus uniquement dans les tubes criblés (avec un pourcentage de tubes criblés atteints variant de 1 à 50 p. 100 suivant les espèces), étaient associés spécifiquement à dix-neuf espèces différentes

de palmiers présentant des symptômes de jaunissement.

En microscopie électronique des MLO ont également été trouvés associés à deux maladies à jaunissement mortel des cocotiers en Afrique de l'Ouest. La maladie de Kaincopé qui sévit au Togo et au Ghana (Cap St Paul Wilt), et la maladie de Kribi au Cameroun [M. Dollet]. Au Cameroun, ces MLO ont été observés à la fois sur les grands cocotiers « Typica » et également sur des cocotiers « Nain Rouge » du Cameroun présentant des symptômes semblables à ceux des Typica malades.

Une étude plus approfondie de ces MLO, faite sur des coupes sérielles de racines de cocotiers malades en Jamaïque montre que les MLO peuvent être groupés en cinq classes différentes suivant leur structure tridimensionnelle : parmi les filamenteux on peut distinguer les « filiformes », les « cylindriques » et les « formes enchaînées », parmi les formes arrondies irrégulières, les « sacciformes » et celles « en forme d'érythrocytes ». Cette technique de coupes sérielles a permis de reconstituer ces MLO en des modèles structuraux tridimensionnels (en polystyrène) qui démontrent certaines erreurs probables d'interprétations des coupes fines [H. Waters et P. Hunt].

Pour terminer, un moyen original pour essayer de diagnostiquer le jaunissement mortel a été présenté par Janet Mac Donough. En effet, les mesures de variations au cours de la journée, de la pression osmotique dans les stipes de cocotiers pendant la saison sèche en Floride, montrent une assez nette différence entre cocotiers sains et cocotiers atteints de « Lethal Yellowing ».

IV. — ISOLEMENT ET CULTURE DE MYCOPLASMES

L'isolement et la culture de ces MLO observés en microscopie électronique sont une étape essentielle dans la suite des recherches étiologiques.

En Floride, de nombreux essais sur un milieu à base de jus de palmier mis au point par R. E. Mac Coy, ont été réalisés. Cependant ce dernier n'a jamais réussi à cultiver des mycoplasmes à partir de palmiers atteints de jaunissement, alors que les spiroplasma des agrumes et du maïs se multiplient très bien dans ce milieu. Mais ces MLO peuvent être maintenus dans des morceaux d'inflorescences de cocotiers malades maintenus dans un milieu de culture de tissus, pendant six semaines au moins.

A la Jamaïque, S. J. Eden-Green a pu isoler à différentes reprises sur un milieu de même type que celui de Mac Coy, des *Acholeplasma* (probablement *A. axanthum*) à partir de cocotiers malades mais aussi à partir de cocotiers sains. Ces isolats ne sont pas acquis

par des « leafhoppers » à travers une membrane, mais survivent une fois injectés dans ces insectes.

Une autre voie de recherche consiste — quand on connaît le vecteur — à entreprendre la culture à partir de celui-ci. Les essais faits aux U. S. A. par Alexis Smith à partir de *Macrostelus fascifrons*, vecteur de l'« Aster Yellows » ont permis de maintenir en survie des mycoplasmes isolés de cet insecte, mais aucun élément spiralé n'a, par contre, été mis en évidence.

R. E. Davis a apporté des éléments nouveaux très intéressants dans ce problème des isolations. Il a en effet réussi à isoler des Mycoplasmes — non encore identifiés (*Mycoplasma-Acholeplasma*) — et des spiroplasma à partir d'éléments floraux non stérilisés en surface de *Liriodendron tulipifera* L. Par contre ces isolations sont négatives quand il y a une stérilisation de surface préalable, et, en microscopie électronique on ne décèle aucun MLO dans les tissus internes de

cette plante. D'autre part Davis avait déjà isolé des spiroplasmés à partir d'abeilles. Celles-ci semblent être contaminées uniquement au printemps. Tous ces résultats font penser que ces microorganismes pourraient vivre « en surface » des parties florales, dans le nectar. Evidemment cette hypothèse en amène une autre, nouvelle, sur la possibilité de transmission des MLO, mais bien sûr il reste encore du travail à réaliser pour confirmer et approfondir ces premiers résultats.

V. — VECTEURS

Cette session, encore plus que les précédentes, démontre combien les recherches sur cette maladie se révèlent longues et difficiles. Les difficultés viennent sans doute d'une part de la nature même de la maladie mais également du matériel lui-même, les palmiers, plantes très peu étudiées, monocotylédones, avec probablement des périodes d'incubation des maladies assez longues, et sur lesquelles on peut trouver de très très nombreux insectes appartenant à plusieurs familles.

La communication de S. J. Eden-Green est un exemple de ces difficultés. Plusieurs essais de transmission réalisés en Jamaïque entre 1975 et 1977 avec *Haplaxius* sp. (Cixiidae), *Proarna hilaris* (Cicadidae), *Chlorotettix* sp., *Graminella* sp., *Hortensia similis*, et *Metascarta histrio* (Cicadelloidea) se sont révélés négatifs. Les périodes d'acquisition avaient eu lieu soit sur des feuilles jaunes, soit sur des feuilles vertes de palmiers malades pendant 3 ou 4 jours. D'autres insectes ont été inoculés avec des extraits de palmiers malades provenant de différents organes (inflorescences, feuilles) — *Chlorotettix* sp. *Haplaxius* sp., et *Spangbergiella vulnerata* — laissés en période d'incubation sur graminées pendant une dizaine de jours puis transférés sur palmiers, sans résultats.

J. H. Tsai en Floride a orienté ses essais plus particulièrement sur *Haplaxius crudus*. Le même genre d'expérimentations avec différents modes d'acquisition ou inoculations directes de l'insecte n'a pas permis la transmission de la maladie.

Pourtant d'après le travail de F. W. Howard, qui a fait l'inventaire des insectes visitant le plus fréquemment les palmiers et cocotiers dans des régions où le jaunissement mortel est en progression, cet insecte apparaît comme le meilleur candidat dans le rôle de vecteur de cette maladie. Cette hypothèse est fondée

Devant les difficultés rencontrées dans les essais de culture des MLO du jaunissement mortel, des recherches sur la mise au point d'un test simple et rapide pour détecter la présence de mycoplasmes dans les plantes malades ou les insectes, ont été entreprises en Floride [H. G. Basham]. Les efforts sont actuellement dirigés sur un test basé sur la production de H_2O_2 par les mycoplasmes (pas de production naturelle de H_2O_2 dans les plantes ou les insectes normalement).

sur sa distribution, sa fréquence dans les collections, ses hôtes, son comportement alimentaire et son appartenance à une famille comportant des espèces connues, vectrices de viroses ou mycoplasmoses. *Cedusa* sp. (Derbidae) et *Idioderma virescens* Van Duzee (Membracidae) ont été collectés moins fréquemment que *Haplaxius*.

Etant donné que les MLO observés en microscopie électronique sont intraphloémiques, J. B. Fisher et J. H. Tsai ont étudié, en faisant des coupes histologiques dans des feuilles de cocotier sur lesquelles les insectes avaient « piqué », à quel niveau cellulaire s'arrêtaient les stylets de quelques insectes suspectés dans la transmission de ces MLO.

Haplaxius crudus, *Graminella nigrifrons*, *Macrosteles fascifrons*, *Peregrinus maidis* semblent se nourrir uniquement au niveau du phloème, tandis que le stylet de *Spangbergiella* sp. et celui des nymphes de *Haplaxius crudus* — sur les racines — s'arrêtent parfois au niveau du xylem et plus généralement au niveau du phloème. Inversement, *Oncometopia nigricans* pique généralement dans le xylem, mais parfois le stylet s'arrête au niveau du phloème.

On s'oriente donc actuellement vers de nouvelles expérimentations reposant sur des bases plus solides. Ainsi, H. Waters, I. Osborne ont entrepris un travail en microscopie électronique sur la distribution des MLO dans les palmiers de manière à trouver les endroits les plus favorables pour la période d'acquisition de l'insecte.

A. J. Dabek commence une expérimentation essentiellement orientée vers les *Cicadelloidea*, accordant plus d'intérêt aux temps d'acquisition et au temps d'incubation (5 à 38 jours).

VI. — MAITRISE DE LA MALADIE

Actuellement en Floride, comme l'ont expliqué G. H. Gwin en introduction et H. M. Donselman, dans cette session, l'homme commence à maîtriser quelque peu ce fléau que constitue le jaunissement mortel, grâce aux traitements aux antibiotiques (tetracycline). Les recherches sur ces injections se poursuivent toujours et R. E. Mac Coy a montré que l'on pouvait injecter dans la base pétiolaire des feuilles et

obtenir le même effet curatif et préventif contre la maladie qu'en injectant dans le stipe. Ce système a l'avantage d'éviter la légère détérioration des stipes de cocotiers après plusieurs injections.

Mais, comme l'a expliqué plusieurs fois J. Tully au cours de cette réunion, cette méthode de lutte n'est pas actuellement très bien contrôlée et on peut se poser une

question importante : est-ce que, aux doses utilisées généralement, tous les MLO de l'arbre traité sont tués ? Ne peut-on pas ainsi induire des phénomènes de résistance dangereux ? D'autre part, l'application directe de ce moyen de lutte est aujourd'hui non réalisable à la Jamaïque ou dans les pays africains victimes de cette maladie.

C'est pourquoi à la Jamaïque, comme en Afrique, le meilleur espoir réside sur les champs de comportement mis en place depuis quelques années, destinés à trouver des variétés ayant au moins les mêmes qualités que le « Grand de Jamaïque » ou le « Grand Ouest Africain » et qui soient résistantes au Jaunissement mortel.

Ainsi à la Jamaïque (D. H. Romney) environ 500 000 cocotiers « Nain Malais » et « Maypan » — hybride F₁, Nain Malais × Grand de Panama (Malayan Dwarf × Panama Tall) — sont plantés chaque année, car ils montrent un très haut degré de résistance à la maladie. Mais leur culture demande beaucoup plus de soins et de précautions indispensables que pour les « Grands » : Arbres mères de pure origine, sélection rigoureuse des noix, bon entretien du germe et sélection sévère en pépinière...

En Floride [H. M. Donselman, W. Theobald], les « Nain Malais » sont également essayés et 750 000 noix ont été introduites en 5 ans. Mais en raison des exigences culturelles et de l'hiver exceptionnellement rigoureux de 1976, on peut estimer qu'il n'en reste actuellement qu'environ 250 000, en remplacement des « Grands » morts de la maladie. Cependant on se tourne plutôt maintenant vers l'introduction du Maypan de Jamaïque qui est plus vigoureux, et la « Division of Forestry » de Floride espère produire ces hybrides dans quelques années. D'autres variétés comme le « Grand de Panama », le « Nain de Fidji » et leur hybride sont également prévus.

Le problème des remplacements en Floride est un peu particulier. Il s'agit en effet dans cette région, surtout d'un « problème touristique » car il faut sauvegarder l'atmosphère tropicale des paysages de Floride du sud dont les cocotiers et palmiers sont un symbole. Il faut donc remplacer les cocotiers (Grand de Jamaïque) mais aussi de nombreux autres palmiers

ornementaux, tels le *Veitchia merrillii* que l'on trouve très souvent devant les maisons particulières ; pour cela, un champ de comportement avec 120 espèces de nouveaux palmiers est en voie de réalisation.

L'inconvénient de ces champs de comportement réside bien sûr dans le fait qu'il faut attendre relativement longtemps avant de pouvoir se prononcer sur la résistance ou non des variétés testées. Il serait absolument nécessaire de trouver une technique permettant de raccourcir ce délai.

D'après H. C. Harries on pourrait déjà faire un premier choix en faveur des Nains, car s'il y a plusieurs degrés de résistance indépendants, par exemple résistance au vecteur puis résistance aux MLO... on peut penser que les Nains en possèdent un maximum, et les gardent de génération en génération grâce à leur autofécondation.

D'après H. C. Harries, le « Nain Malais » et les autres variétés continentales de l'Asie du Sud-Est représentent sûrement actuellement des espèces qui ont été sélectionnées au fil du temps, pour leurs produits et pour leur résistance à la maladie en général. Le « Grand de Jamaïque » lui, représenterait le type original ayant évolué indépendamment sur une île. Mais, bien que la situation à la Jamaïque et en Afrique de l'Ouest ait été favorable à une telle évolution de la maladie — pratiquement une seule espèce cultivée, sans facteur de résistance, sur de grandes surfaces — celle-ci n'est apparue que longtemps après l'introduction des cocotiers dans l'hémisphère Ouest, et on peut se demander s'il n'existe pas un autre hôte — primaire — du jaunissement mortel.

Enfin, F. W. Howard a présenté les premiers résultats d'un autre essai de lutte : par les insecticides. Ceux-ci ont été réalisés uniquement sur *Veitchia merrillii* avec 1° — du Diazinon AG 500 (13 ml/10 l) et 2° — du Cygon 400 (26,4 ml/10 l), deux fois par semaine pendant dix mois. Des contrôles de la population de *Haplaxius crudus* ont été réalisés pendant la durée de l'expérience, montrant un léger effet positif du Diazinon. Cependant à la fin des dix mois, il y avait autant d'arbres atteints de jaunissement parmi les traités que parmi les témoins.

VII. — NOUVEAUX PROBLÈMES DANS LA CULTURE DES PALMIERS ET COCOTIERS

Après avoir colonisé bon nombre d'îles des Caraïbes, après avoir atteint le continent Américain en Floride, le jaunissement mortel n'a peut-être pas fini sa progression en Amérique.

J. B. Carpenter a rapporté l'apparition en Californie d'une nouvelle maladie mortelle des palmiers dattiers et autres espèces de *Phoenix*, dont la nature et l'évolution des symptômes se rapprochent beaucoup de ceux du jaunissement mortel. Une étude plus complète permettra de savoir exactement s'il s'agit bien d'un nouveau foyer ou d'une autre maladie.

En Afrique la maladie, comme on l'a vu pour le Ghana, évolue toujours. Mais elle a jusqu'à présent semblé se limiter à l'Afrique de l'Ouest, sur le Golfe de Guinée. Or il est rapporté l'observation de cocotiers présentant des symptômes identiques à ceux de la maladie de Kaïncopé dans le Sud de la Tanzanie, de nombreux cocotiers en mourant. Mais, bien sûr d'autres examens plus approfondis restent à faire pour voir si ce dépérissement est vraiment identique à celui de Kaïncopé ou Kribi [K. G. Steiner].

Une autre maladie inconnue est d'autre part signalée

dans la région de Tanga près du Kenya, tuant les cocotiers en deux ans environ. Les premiers examens en microscopie électronique ont permis d'observer des éléments de type rickettsies dans le phloème mais aussi dans le parenchyme. La relation entre ces organismes et la maladie reste à définir [K. G. Steiner].

Il est à noter avec ces deux derniers exemples combien la session « diagnostic de la maladie » était utile, surtout quand plusieurs maladies sévissent en même temps. Un autre exemple est fourni par le Ghana [E. A. Addison] où en même temps que la maladie de Cap St Paul sévit sur les cocotiers un autre dépérissement assez grave : « le Hart Rot ».

Parmi les nouveaux problèmes apparaissant dans la culture des palmiers et cocotiers, il existe un autre type de dépérissement qui a pris des dimensions importantes en Amérique, dans le Nord de l'Amérique du Sud (Pérou, Equateur, Colombie, Surinam), dans l'île de Trinidad et peut-être dans d'autres îles des Caraïbes où sévissent différents types d'affections encore non classées.

Au Surinam, il s'agit du « Hart Rot » des cocotiers. En fait, ce n'est pas un nouveau problème puisque la maladie y sévit depuis près de 70 ans. Mais la nouveauté de cette affection réside dans le fait qu'on ne peut associer à cette maladie aucun organisme phytopathogène connu : ni MLO, ni « Rickettsia-Like-Organism », ni virus, ni champignon, ni bactérié. Par contre, des protozoaires flagellés intraphloémiques, de 12 à 22 microns de long, *Trypanosomatidae* probablement du genre *Phytomonas*, ont été observés dans ces cocotiers malades [M. V. Parthasarathy].

Ces organismes sont observables en microscopie optique à contraste de phase, dans des sections longitudinales fraîches de tubes criblés. Ils semblent insensibles à plusieurs antibiotiques différents : pénicilline, streptomycine, oxytétracycline, tryparsamide, et benenil à une concentration de 3 p. 100.

En Colombie, en Equateur et au Pérou il s'agit d'un problème beaucoup plus récent puisque apparu pour la première fois en 1963 en Colombie. Nous avons affaire dans ce cas à un dépérissement brutal du palmier à huile *Elaeis guineensis*, appelé « Marchitez surprise », qui a causé de très nombreuses pertes sur les plantations industrielles. A ce dépérissement est associé également, de manière spécifique dans les trois pays, un protozoaire flagellé, probablement un *Phytomonas* de 20 μ de long environ et intraphloémique, observé en microscopie électronique et microscopie optique. Ces organismes d'après leur morphologie et leur ultrastructure semblent identiques à ceux de Hart Rot du cocotier.

Les premiers essais de culture ont montré qu'il était assez aisé de maintenir en survie ces protozoaires dans des milieux à base de lait de coco principalement, mais les repiquages semblent plus difficiles [M. Dollet].

En microscopie électronique, D. L. Thomas a pu confirmer la présence de ces protozoaires dans des inflorescences de palmier à huile d'Equateur.

En fait, Hart Rot et Marchitez ne sont peut-être que deux symptômes différents, à cause de la nature même des deux plantes hôtes, d'une même maladie. En effet, des *Phytomonas* ont également été trouvés associés à un dépérissement du palmier à huile au Surinam, et également d'un palmier sauvage, — *Maximiliana maripa* Drude [M. V. Parthasarathy].

A Trinidad des protozoaires flagellés semblables ont également été observés dans des cocotiers malades [H. Waters]. Il s'agit encore d'un dépérissement inconnu appelé localement Cedros Wilt et qui a entraîné la disparition de très nombreux cocotiers ces deux dernières années. Ces mêmes organismes ont été trouvés dans les racines de caféiers situés près de cocotiers malades.

La localisation intraphloémique stricte observée par différentes personnes, rend la communication de G. Martinez-Lopez assez inexplicable. Celui-ci prétend en effet avoir transmis mécaniquement la maladie par injection de jus brut de palmier malade dans le stipe de palmiers sains. Il rapporte d'autre part la transmission expérimentale en champs (sans cage ni abri insect-proof) de la maladie, par *Haplaxius pallidus* (Cixiidae) : Treize malades sur 100 contaminés par ces insectes apparurent entre trois et huit mois après le début de l'expérience, contre deux malades dans les témoins. Il est difficile à notre avis, dans une région où la maladie sévit rigoureusement, en expérimentant sans cage ou serre insect-proof de trouver une différence significative entre deux et treize.

On sait heureusement, depuis 1965, que des traitements insecticides réguliers (Endrin) sont très efficaces dans la lutte contre la Marchitez du palmier à huile.

Il reste à démontrer que ces protozoaires flagellés sont bien les agents pathogènes de la maladie et à trouver le vecteur.

Au Surinam des protozoaires flagellés ont été observés dans l'intestin de Pentatominae trouvés près des cocotiers, mais on ne peut, pour le moment, dire si ce sont des parasites de l'insecte comme on en connaît beaucoup chez les Hémiptères ou s'ils correspondent à ceux des cocotiers [W. G. Van Slobbe].

CONCLUSION

Cette réunion s'est donc révélée très fructueuse, autant par ses communications que par les discussions placées à la fin de chaque session où les questions, les idées émises par les différents participants spécialistes ou non du cocotier, furent nombreuses.

Tout le monde était d'accord pour classer dans les

priorités des recherches à mener, l'isolement et la culture des MLO, étape indispensable dans l'étude de cette maladie pour la détermination de son étiologie, qui pourrait faciliter les recherches du vecteur et des variétés résistantes, autres sujets d'intérêt jugés prioritaires.

Proceedings of the third Meeting of the International Council on Lethal Yellowing

M. DOLLET (1)

The 3rd Meeting of the International Council on Lethal Yellowing was held from 30th October to 3rd November 1977 at the Jupiter Hilton Hotel, Palm Beach County, Florida.

On this occasion priority was given to the problems involved in research on the etiology of Lethal Yellowing diseases affecting oil palm and coconut in the Caribbean and Florida, and in certain coconut groves in West Africa. The question was taken up from the point of view of scientific research in that recent field of phytopathology : the mycoplasmoses. In effect, ten years after the first observation of mycoplasma-like organisms (MLO) under electron microscope in a diseased plant was reported, the problem of demonstrating the pathogenicity of this type of organism observed in fine section has still not been solved. Only two specific cases have been resolved : citrus « Stubborn » and « Corn Stunt », for which Spiroplasmas (germs belonging to the same class as mycoplasma — Mollicutes — but having unique characteristics making them the sole member of the genus *Spiroplasma*) could be isolated, cultured, described and retransmitted experimentally to healthy plants through the intermediary of insects. In both cases the mycoplasmic nature of the elements observed under electron microscope was thus proved and their pathogenicity demonstrated.

The programme of the meeting : I. Introduction session —

I. — INTRODUCTORY SESSION

After a reminder by L. Chiarappa, F. A. O., of the economic importance of the coconut in many countries, and the potential implications of diseases of the Lethal Yellowing type in the world, three papers were given summing up the distribution and impact of this disease :

— In Africa, where it continues to develop, Cape St. Paul Wilt is now found in the region of Princes Town, about 460 km west of the original focus of infection (E. A. Addison) ;

— In the Caribbean, according to R. C. Harries, only

II. Basic biology of yellowings — III. Diagnosis of the disease — IV. Isolation and culture of the mycoplasma — V. Vectors — VI. Control of the disease — VII. Visit « In the field » — VIII. Problems presented by the new diseases in oil palm cultivation ; it will be seen from this programme that a good deal of time was devoted to the general problem of mycoplasma and their transmission (I, III, IV, V), one session concerned the short- and long-term control of the disease ; the final session, which aroused great interest in the participants ; dealt with new and serious pathological problems involved in oil palm cultivation. In this last session the case of the new type of disease which, like Lethal Yellowing, affects oil palm and coconut alike, was treated in depth. Its area of distribution appears to be very large, covering the entire northern part of South America including Trinidad. We probably have here a new field in phytopathology, since the implicated micro-organisms are flagellate protozoa.

These sessions turned out to be all the more interesting in that several specialists of these different scientific disciplines (animal mycoplasmas, spiroplasmas, transmission of viral and mycoplasmic diseases, flagellate protozoa, oil palm botany), who had never before worked on oil palm diseases, contributed their knowledge and made numerous suggestions.

research on the breeding of resistant varieties can now bring a solution to the problem ;

— and in Florida, twenty-one species of oil palm are affected. Under the aegis of the Florida Division of Plant Industry and the IFAS research center in Fort Lauderdale, a veritable resistance movement against Lethal Yellowing has formed, involving Chambers of Commerce, municipalities, county agencies, and individuals. This mobilization, particularly utilizing antibiotic treatments such as terramycine, has arrested the progress of the disease along the western coast of Florida (Collier County), where only one case has been recorded since October 1974 (G. H. Gwin).

II. — BASIC BIOLOGY OF YELLOWINGS

At the present time, the study of yellowings in plants is divided into three principal stages : 1. — symptomatology, 2. — electron microscope determination of MLO, and 3. — the most important and problem-ridden phase, which is trials of the isolation and culture of the organisms observed.

Concerning the first two points, R. E. MacCoy emphasized the confusion often found in the reports on electron microscope work. It seems unlikely, given the very different environments and particularly the differences in osmotic pressure and the diameter of the plasmodesms, that the MLO can occupy cells other than sieve tubes. Concerning the interpretations of the plates from the electron microscope, he believes that one must proceed with caution remembering the number of possible artifacts intervening in fixation.

J. Tully, specialist in animal mycoplasmas, recalled the

essential rules to follow in determining each new isolation of animal or plant mycoplasmas.

Each communication describing the isolation and culture of mycoplasmas should imperatively be based on :

- Culture in liquid and solid media ;
- Filtration through a membrane with pores of 220 or 450 nm ;
- Three successive clonings from the same colony ;
- Verification of the absence of a wall by electron microscope examination of centrifuge pellets from both diseased and healthy extracts ;
- Optic microscope observation of phase contrast of typical polymorphic structures ;
- Culture on solid medium without penicillin or other antibiotic to ascertain the absence of reversion to bacterial form ;

(1) Virology Department, I. R. H. O. ; Pathology Research Station (I. N. R. A.-C. N. R. S.), 30380 Saint-Christol-lez-Ales (France).

— Biochemical tests : four principal ones — degradation of glucose, hydrolysis of arginine and of urea, and biosynthesis of carotenoids ;

— Serological tests, the two main ones being the inhibition of growth and fixation of the complement, or test of double immune diffusion.

In the 3rd session, Mr. J. Daniels presented a possible new method of identification of strains by analysis with the help of a computer, of electrophoresis on polyacrylamide gel of mycoplasma proteins in sodium dodecyl sulphate. This method could replace the numerous serological tests (75 antisera to be tested).

Once isolated and defined, the pathogenicity of these organisms remains to be proved. As Mr. Daniels explained, mycoplasmas probably have several types of action in plants. Work undertaken on two spiroplasm strains, *Spiroplasma citri* and that of Corn Stunt, show that the former causes a serious wilting in Vinca roses, while the latter's effects are benign. From this difference in symptoms it is concluded that *Spiroplasma citri* produces a toxin which the Corn stunt spiroplasm does not.

Two types of toxin-revealing test developed by the Daniels team — one on inhibition of germination, and one on fragments of bean leaves — could help in the search for a possible toxin in palms affected by Lethal Yellowing. In case of posi-

tive results this test could be used, with immediate results, in researching new resistant varieties.

To these two spiroplasmas which are now well known, have been added other isolations from plants, for which electron microscopy had revealed only «habitual» MLO with no sign of spiral form. The team of Mr. Maramorosch was able to isolate on a standard medium spiroplasmas of a cactus and various other plants affected by Yellowings (Aster Yellowings). According to Maramorosch their percentage of success is in fact much higher for some plants than for others.

This last remark is particularly interesting in that culture is obviously an essential stage in the study of these diseases, and as Mr. G. H. Kaloostian noted, it would be an excellent way to solve the mystery of the vector. Once the strain is isolated and described, a systematic attempt to make isolations from suspected insects could be undertaken, the strains thus isolated being compared with those of the oil palms in order to identify them.

The long list of insects suspected and tested suggested to Mr. G. H. Kaloostian that the *Eriophidae* already known as virus vectors, might be of particular interest.

Last, Mr. H. E. Moore presented a series of candidates to replace the species of oil palms sensitive to Lethal Yellowing in Florida, candidates which must be adapted to the climatic and ecological conditions of the region, and in particular to the rather low temperatures.

III. — DIAGNOSIS

The goal of this session was to define the means of diagnosing Lethal Yellowing and evaluating the electron microscope test.

The first element of diagnosis naturally resides in a perfect definition of the symptoms. It appears that at this level, we have not yet all the elements in hand for certain diagnosis. S. J. Eden-Green believes he has found a new type of symptom at the root apex.

Moreover, there may be notable differences in the symptoms according to the physiological condition of the trees, and stemming from interactions with other pathological symptoms such as Bud Rot in Jamaica, particularly in the Malayan Dwarf (H. C. Harries).

Last, a precise and unquestionable symptomatology would make it easier to decide whether there really have been cases of remission, as there appear to have been in Jamaica, and whether there are coconuts which have developed a certain degree of resistance after having contracted symptoms similar to those of the disease (H. C. Harries).

The second element of diagnosis, completing the symptomatology and now the most widely used, is the electron microscope examination of fine sections of affected oil palm samples. These examinations made it possible to verify, in Florida (D. L. Thomas), that elements of mycoplasma type (MLO) of various forms with a single trilamellar membrane contained only in the sieve tubes (with a percentage of affected sieve

tubes varying from 1 to 50 p. 100 according to the species), were specifically associated with 19 different species of oil palm showing symptoms of yellowing.

Under electronic microscope, the MLO were also found to be associated with two Lethal Yellowing diseases of the coconut in West Africa : Kaincope disease, which is rife in Togo and Ghana (Cape St. Paul Wilt), and Kribi disease in Cameroon (M. Dollet). In Cameroon these MLO's were observed simultaneously on Typica Tall coconuts, and also on Cameroon «Red Dwarf» coconuts which bore symptoms similar to those of the sick Typicas.

A more profound study of the MLO's, made on serial sections of diseased coconut roots in Jamaica showed that the MLO may be grouped into five classes according to their tridimensional structure : among the fibrous ones may be distinguished the «filiform», the «cylindrical» and the «chain form»; among the irregular rounded forms are the «Sacciform» and the «erythrocyte-shaped». This technique of serial sections has made it possible to reconstitute these MLO in tridimensional certain possible errors in the interpretation of fine sections (H. Waters and P. Hunt).

Last, an original means of diagnosing Lethal Yellowing was presented by Janet MacDonough. Measurements of the variations in osmotic pressure in the coconut trunks taken throughout the day in the dry season in Florida show a fairly marked difference between healthy palms and those affected by Lethal Yellowing.

IV. — ISOLATION AND CULTURE OF MYCOPLASMAS

Isolation and culture of the MLO observed under electron microscope constitute an essential step in the pursuit of etiological research.

In Florida, many trials have been carried out on a medium with a palm sap basis according to a method devised by R. E. MacCoy. However, he has never been able to culture MLO from palms suffering from yellowing, whereas spiroplasmas from citrus and maize multiply very well in this medium. But the MLO's can be maintained, in pieces of sick coconut inflorescences kept in a tissue culture medium for at least six weeks.

In Jamaica, S. J. Eden-Green was able to isolate *Acholeplasma* (probably *A. axanthum*) on a medium of the same type several times from sick coconut trees, but also from healthy ones. These isolates are not acquired by leafhoppers through a membrane, but survive after being injected into the insects.

Another research opening — when the vector is known — consists in culturing on the vector. The trials conducted in

the USA by Alexis Smith using *Maerosteles fascifrons*, vector of Aster Yellowings, made it possible to keep alive mycoplasmas isolated from this insect, but no spiral element was observed.

R. E. Davis contributed some very interesting new elements to the problem of isolation. He had succeeded in isolating mycoplasmas — as yet unidentified (*Mycoplasma-Acholeplasma*) — and spiroplasmas, from non-surface sterilized floral elements of *Liriodendron tulipifera* L. On the other hand, these isolations are negative when the surface is previously sterilized, and no MLO are seen in the internal tissues of this plant under electron microscope. Davis had already isolated spiroplasmas from bees, which seem to be contaminated only in the spring. All these results lead to the conclusion that these micro-organisms could live on the surface of floral organs, in the nectar. Obviously, this hypothesis leads to a new one about the possibility of transmission of MLO's, but much remains to be done to confirm and explore these preliminary results.

In the face of the difficulties encountered in trials of the

culture of the MLO's of Lethal Yellowing, research for a simple and rapid test for detecting the presence of mycoplasmas in sick plants or insects were undertaken in Florida (H. G. Bas-

ham). These efforts are now directed toward a test based on the production of H_2O_2 by mycoplasmas (none is produced normally in the plants or in the insects).

V. — VECTORS

This session, even more than the preceding ones, demonstrated how long and difficult research on this disease is likely to be. On the one hand, difficulties are doubtless due to the very nature of the disease, but also to the material itself, the palms very little studied, monocotyledonous; probably with fairly long disease incubation periods, and on which vast numbers of insects belonging to several families can be found.

S. J. Eden-Green's paper is an example of these difficulties. Several transmission trials carried out in Jamaica between 1975 and 1977 on *Haplaxius* sp. (Cixiidae) *Proarna hilaria* (Cicadidae), *Chlorotettix* sp., *Graminella* sp., *Hortensia similis*, and *Metascarta histrio* (Cicadelloidea) were negative. The acquisition periods had taken place either on yellow leaves or on green leaves of sick palms for 3 to 4 days. Other insects were inoculated with extracts of various organs of sick palms (inflorescences, fronds), and *Chlorotettix* sp., *Haplaxius* sp., and *Spangbergiella vulnerata* were left for the incubation period on grasses for about ten days, and then transferred to the palms, without result.

J. H. Tsai oriented his trials in Florida more particularly toward *Haplaxius crudus*. The same sort of experiment with different modes of acquisition or direct inoculation of the insect did not lead to transmission of the disease.

Yet, according to the work of F. W. Howard, who took an inventory of the insects which most frequently visited the palms and coconuts of the regions where the incidence of Lethal Yellowing is increasing, this insect appeared to

be the best candidate for the role of vector. This hypothesis was founded on its distribution, its frequent occurrence in collections, its hosts, its feeding behaviour, and its membership of a family including species known to be vectors of viruses or mycoplasmas. *Cedusa* sp. (Derbidae) and *Idioderma virescens* Van Duzee (Membracidae) were collected less frequently than *Haplaxius*.

Since the MLO's observed under electronic microscopes are intraphloemic, J. B. Fisher and J. H. Tsai made histological sections from coconut leaves that had been stung by the insects, and studied the cellular level at which the stings of the insects suspected of transmitting the MLO stopped.

Haplaxius crudus, *Graminella nigrifrons*, *Macrostelus fascifrons*, and *Peregrinus maidis* seem to feed only to the phloem level, whereas the sting of the *Spangbergiella* sp. and that of the *Haplaxius crudus* pupa — on the roots — sometimes stop at xylem level, more generally at the phloem. Conversely, *Oncometopia nigricans* generally stings in the xylem but sometimes stopping at the phloem.

Thus, research at the moment is directed towards new experimentation on sounder basis. H. Waters and I. Osborne undertook an electronic microscope study of the distribution of MLO's in the palms to seek out the places most favorable to the acquisition period of the insect.

A. J. Dabek is beginning an experiment mainly concerned with *Cicadelloidea*, and particularly centred on the acquisition and incubation periods (5 to 38 days).

VI. — CONTROL OF THE DISEASE

At the present time in Florida, as G. H. Gwin explained in introduction and H. M. Donselman during this session, man is beginning to gain some mastery over the plague which is Lethal Yellowing thanks to antibiotic treatments (terramycine). Research on these injections is still going on, and R. E. MacCoy showed that can be given in the leaf base and have the same curative and preventive effect as injections in the trunk. This system has the advantage of avoiding the slight deterioration of the trunk which occurs after several injections.

But as J. Tully explained several times during the course of the meeting, this method of treatment is not really under control as yet, and one or two questions have to be answered: At the rates generally applied, are all MLO in a treated tree killed? Might we not develop dangerously resistant strains? Moreover, the direct application of this method of control is not yet feasible in Jamaica or in the African countries which suffer from the disease.

In Jamaica and Africa, the brightest hope resides in the performance trials planted in the past few years to find varieties with at least the same qualities as Jamaican Tall or West African Tall, but resistant to Lethal Yellowing.

In Jamaica (D. H. Romney) about 500 000 Malay Dwarf and Maypan (F_1 hybrid of Malay Dwarf \times Panama Tall) are planted each year, because they have shown a very high degree of resistance to the disease. But their cultivation requires much more attention and greater precautions than that of the Talls: the mother trees must be of pure origin, the selection of nuts must be rigorous, the maintenance of the seed bed must be impeccable and the culling in the nursery severe.

In Florida (H. M. Donselman, W. Theobald), the Malay Dwarf were also tried out, and 750 000 nuts were introduced in 5 years. But because of cultivation requirements and the exceptionally hard winter of 1976, it is estimated that only about 250 000 remain, replacing the Talls which succumbed to disease. There is, however, a general movement toward introducing Jamaican Maypan which is more vigorous, and the Florida Division of Forestry hopes to produce these hybrids within a few years. Other varieties such as Panama Tall and Fiji Dwarf and their hybrid are also under consideration.

The problem of replacements in Florida is a rather particular one. In this region we have a « tourist » problem, requiring that the tropical atmosphere of the countryside of southern Florida be protected; coconut and other palms are the symbol of this atmosphere. Thus the coconuts (Jamaica Tall) must be replaced, as well as many other ornamental palms such as *Veitchia merrillii*, which is often found in front yards. To do this, a performance trial of 120 species of new palms is being set up.

The disadvantage of these performance trials is the length of time one has to wait before being able to pronounce on the resistance of the varieties tested. It would appear to be absolutely necessary to find a technique for shortening this period.

According to H. C. Harries, a preliminary choice could already be made in favor of the Dwarfs, for while there are several independent levels of resistance, for example resistance to the vector then resistance to the MLO's, it can be thought that the Dwarfs have maximum resistance, and maintain it from generation to generation thanks to their self-pollination. He goes on to say that the Malayan Dwarf and other continental varieties from South-East Asia surely represent types which have been selected in the course of time for their products and their disease resistance in general. The Jamaica Tall would be the original type having evolved independently on an island. But while the situation in Jamaica and in Africa has been conducive to such an evolution of the disease — virtually one sole species without a resistance factor, grown over large areas — it did not appear until long after the introduction of coconuts into the Western hemisphere, and one wonders if another host — a primary host — of Lethal Yellowing might not exist.

Last, F. W. Howard presented the preliminary results of another control trial: insecticides. These were carried out only on *Veitchia merrillii*, with 1-Diazinon AG 500 (13 ml/10 l), and 2. — Cygon 400 (26.4 ml/10 l), applied twice a week for ten months. The *Haplaxius crudus* population was checked throughout the trial, which showed a slight positive effect of Diazinon. At the end of the ten-month period, however, there were as many trees affected by yellowing among those treated as among the controls.

VII. — NEW PROBLEMS IN OIL PALM AND COCONUT CULTIVATION

Having invaded many Caribbean islands, and having reached Florida, Lethal Yellowing has perhaps not finished its advance in America.

J. B. Carpenter reported the appearance in California of a new mortal disease of date palms and other species of *Phoenix*, the nature and evolution of which greatly resembles those of Lethal Yellowing. A more complete study will reveal exactly whether this is a new focus of infection or another disease.

In Africa, the disease, as we have seen in Ghana, is still developing, but so far it appeared to be restricted to West Africa, on the Gulf of Guinea. Now, however, there are reports of coconut palms in southern Tanzania with the same symptoms as those of Kaincope disease and many have died. Of course it will take more and more thorough examinations to establish whether or not this wilt is exactly the same as that of Kaincope or Kribi disease (K. G. Steiner).

Still another unknown malady has been reported in the Tanga region near Kenya, which kills coconut trees in about two years. The preliminary electron microscope examinations have discovered *rickettsia* type elements not only in the phloem but also in the parenchyma. The relationship between these organisms and the malady remains to be defined (K. G. Steiner).

These last two examples illustrate how useful the session on « Diagnosis » was, particularly when several diseases are present in an area at once. Another example was provided by Ghana (E. A. Addison), where together with Cape St. Paul Wilt, another fairly serious wilt attacks coconuts : Hart Rot.

Among the new problems in coconut palm cultivation is another type of wilt, which has taken on large proportions in the northern part of South America (Peru, Ecuador, Colombia and Surinam) and in Trinidad, and possibly in other Caribbean islands where various types of infections as yet unclassified are spreading.

In Surinam, coconuts are suffering from Hart Rot. This is not, in fact, a new problem ; this malady has existed there for nearly 70 years. What is new about it is that no known phytopathogenic organism can be linked to it : no MLO, no « Rickettsialike organism » virus, fungus, nor bacteria. Only flagellate intraphloemic protozoa, from 12 to 22 microns long, and *Trypanosomatidae*, probably of the *phytomonas* genus, have been observed on the sick coconut trees (M. V. Parthasarathy).

These organisms are observable under an optic microscope in phase contrast, in fresh longitudinal sections of the sieve tubes. They appear to be insensitive to several different antibiotics : penicillin, streptomycine, oxytetracycline, tryparamide, and boneril in 3 p. 100 concentrations.

In Colombia, Ecuador and Peru there is a much more recent problem which appeared for the first time in 1963 in

Colombia. Here we have a brusque wilting of the oil palm *Elaeis guineensis* known as « Marchitez sorpressiva » which has caused great losses on the industrial plantations. In the three countries, there is a specific association between the wilt and a flagellate protozoa, probably a *phytomonas*, about 20 μ long and intraphloemic, observed under both electron and optic microscopes. These organisms appear to be identical in their morphology and ultrastructure to those of Hart Rot of the coconut.

The first culture trials showed that it is fairly easy to keep these protozoa alive in a medium principally based on coconut milk, but re-seeding seems more difficult ! (M. Dollet).

D. L. Thomas was able to confirm the presence of these protozoa in the oil palm inflorescences in Ecuador under an electron microscope.

As a matter of fact, Hart Rot and Marchitez may merely be two symptoms of the same disease differing because of the very nature of the two host plants. *Phytomonas* have also been found to be associated with an oil palm wilt in Surinam, and with a wilt affecting a wild palm, *Mazmiliana marina* Drude (M. V. Parthasarathy).

In Trinidad similar flagellate protozoa have been observed in sick coconuts (H. Waters). This unknown wilt is known locally as Cedros Wilt, and has killed off many coconuts during the past two years. These same organisms have been found in the roots of coffee trees growing near affected coconut palms.

The strictly intraphloemic localization observed by various persons makes G. Martinez-Lopez' paper fairly inexplicable. He claims to have transmitted the disease mechanically by injecting raw sap from sick palms into the trunks of healthy ones. Moreover he reports experimental transmission of the disease in the field (without using either cages or insect-proof shelters) through *Haplaxius pallidus* (Cixiidae) : the disease appeared in thirteen trees out of 100 contaminated by the insects between three and eight months after the experiment, as opposed to two among the controls. In our opinion it is difficult to find a significant difference between 2 and 13 in a region where the disease is widespread and in an experiment conducted without insect-proof isolation.

Fortunately it has been established since 1965 that regular insecticide treatments (Endrin) are very effective in combating Marchitez in the oil palm.

It remains to demonstrate that these flagellate protozoa are indeed the pathogenic agents of the malady, and to find the vector.

In Surinam flagellate protozoa have been observed in the intestines of *Pentalominae* found near coconut trees, but for the moment it cannot be stated that these are parasites of the insect such as those so well known in *Hemiptera*, or whether they correspond to those of the coconut trees (W. O. Van Slobbe).

CONCLUSION

It is seen that the meeting was most fruitful, both in the papers presented and in the discussions at the end of each session, wherein the ideas and questions of the various participants, coconut specialists and others were many. It was unanimously agreed that top priority be given in the research

to the isolation and culture of the MLO's — which must precede any progress toward the determination of the etiology of this disease, and which will facilitate the discovery of the vector and production of resistant varieties, all of which were judged to be high priority.