

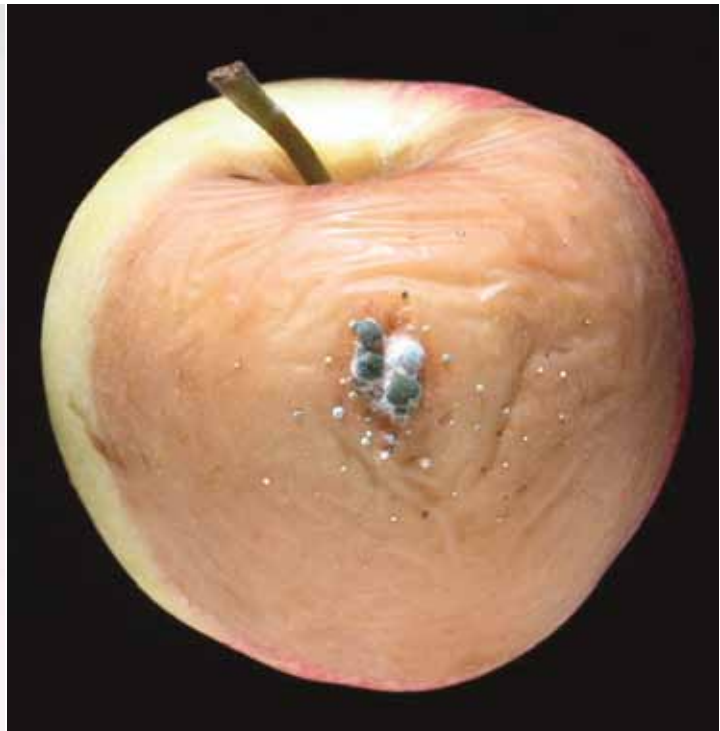
Conservation des fruits à pépins biologiques

Dominique FLEURY¹, Cyrielle COUTANT¹, Pegah Cheikhrahet² et François LEFORT²

¹Ecole d'ingénieurs de Changins (EIC), 1260 Nyon

²Haute école du paysage, d'ingénierie et d'architecture (hepia), 1202 Genève

Renseignements: Dominique Fleury, e-mail: Dominique.Fleury@eichangins.ch, tél. +41 22 363 40 43



Dégâts de *Gloeosporium sp.* (à gauche) et de *Penicillium sp.* (à droite) sur la variété Gala.

Introduction

La conservation après récolte des fruits à pépins est une étape cruciale, souvent difficile, pour les producteurs en agriculture biologique. Selon les années et les variétés, les dégâts des maladies de conservation peuvent atteindre 25% chez les entrepositaires, même dans les pays développés (El-Ghaouth *et al.* 2004; Droby 2006; Zhu 2006; Singh et Sharma 2007; Janisiewicz et Korsten 2002). Sur la pomme, plus de 90 espèces de champignons ont été décrites comme responsables de dégâts de conservation (Leibinger *et al.* 1997). Le manque de fongicides efficaces en production fruitière biologique constitue un réel problème (Jönsson *et al.* 2010).

En Suisse, les arboriculteurs bio utilisent du soufre (S) et du cuivre (Cu) pour protéger leurs fruits à pépins des maladies fongiques, y compris des maladies de conservation. D'autres alternatives pourraient cependant s'avérer utiles (Janisiewicz et Korsten 2002, Mari

et al. 2007) et, parmi elles, l'utilisation d'agents biologiques de contrôle (ABC), antagonistes des bactéries et champignons responsables des dégâts de conservation. Plusieurs ABC sont déjà commercialisés comme antagonistes de maladies des plantes cultivées (Cook 2000; Thakore 2006; Berg 2009).

Contre les maladies de conservation, les ABC peuvent être appliqués soit au verger avant la récolte, soit sur les fruits cueillis juste avant la mise en conservation. De nombreuses études existent sur cette dernière solution (Sharma *et al.* 2009), qui semble pratique et efficace. Il en existe en revanche relativement peu sur l'utilisation des ABC avant récolte, qui pourtant pourrait constituer une réelle alternative aux fongicides chimiques (Ippolito et Nigro 2000; Spadaro et Gullino 2004; Janisiewicz et Korsten 2002; Ippolito *et al.* 2004; Irtwange 2006). En effet, la plupart des maladies de conservation sont induites par des pathogènes vivants comme des saprophytes sur différents organes de

l'arbre. L'application d'ABC au verger permet une colonisation précoce de la surface des fruits; ceux-ci sont ainsi protégés des infections préalablement établies (Ippolito et Nigro 2000). Les blessures occasionnées lors de la récolte peuvent alors, elles aussi, être colonisées et protégées.

Dans cette étude, six ABC [*Pseudomonas syringae* souche ESC-10 (Bio Save 10LP), *P. fluorescens* Pf1 (Biofi-tac), *P. viridiflava*, *Bacillus subtilis* (Serenade WP), *Cryptococcus albidus* (Yield Plus) et *Gliocladium catenulatum* (Prestop Mix)] ont été appliqués pour diminuer les dégâts de conservation sur deux variétés de pommes (Gala + Topaz) et une de poire (Beurré Bosc) en production biologique. Tous ces ABC sont déjà connus pour leurs propriétés antagonistes, mais peu d'entre eux ont été testés avant récolte pour réduire l'incidence des maladies lors de la conservation des fruits à pépins.

Matériel et méthodes

Souches d'ABC

Les inoculums de *P. fluorescens* (Pf) et *P. viridiflava* (Pv) provenaient de cultures concentrées dans un milieu de base liquide. Les suspensions utilisées pour les traitements en plein champ avaient été produites 48 heures auparavant. Un litre de ces suspensions (108 cfu/ml ou cfu/g) était versé dans une cruche en plastique de 25 litres dans un milieu favorisant leur développement (sucrose, extrait de levure et eau distillée). Le tout était agité durant 24 heures à une température ambiante de 22 °C. Pour les autres ABC utilisés dans cette étude [*P. syringae* (Ps), *B. Subtilis* (Bs), *C. albidus* (Ca) et *G. Catenulatum* (Gc)], les recommandations du fabricant ont été suivies. Les suspensions ont été faites juste avant l'application, à une même concentration de 10⁸ cfu/ml ou cfu/g.

Résumé ■ Après des essais concluants menés en laboratoire, six souches d'agents biologiques de contrôle (ABC) ont été examinées sur leur efficacité contre les maladies post-récolte des fruits à pépins. Ces souches ont été testées en verger biologique sur deux variétés de pommes et une variété de poire, avec des résultats très variables. La diversité des champignons identifiés à la sortie des chambres à atmosphère contrôlée dépend fortement des souches utilisées. Une récolte soigneuse permet de maintenir la qualité des fruits au déstockage.

Vergers

En 2009, des tests en plein champ ont été réalisés dans deux vergers biologiques situés en Valais (Suisse). Tous les arbres fruitiers étaient homogènes (âge et portegreffe) et conduits de manière identique (taille, éclaircissage et fumure). Sur les parcelles d'essai, tous les traitements fongicides (Cu + S) ont été stoppés une semaine avant les tests.

Traitements expérimentaux

Les six ABC ont été appliqués à trois différentes périodes: un mois, deux semaines et un jour avant la récolte. Trois variantes ont été testées sur des arbres pris aléatoirement dans le verger. Chaque variante de traitement comprenait trois arbres consécutifs avec trois répétitions. Un arbre «tampon» était utilisé pour séparer chaque traitement et répétition, et aussi pour éviter toute contamination par un autre ABC. Le témoin était formé de six répétitions d'arbres non traités (tabl.1). Les applications ont été réalisées à l'atomiseur (fig.1) à raison de 800 l/ha et calculées respectivement pour une densité de 1700 et 2300 arbres/ha pour Gala, Beurré Bosc et Topaz.

Tableau 1 | Modalités de traitement

Variétés	Variante 3 (3 traitements)	Variante 2 (2 traitements)	Variante 1 (1 traitement)	Date de récolte 2010
Gala	29 juillet + 19 août + 26 août	19 août + 26 août	26 août	27 août
Beurrée Bosc	29 juillet + 19 août + 9 septembre	19 août + 9 septembre	9 septembre	10 septembre
Topaz	20 août + 1 ^{er} septembre + 17 septembre	1 ^{er} septembre + 17 septembre	17 septembre	18 septembre

Récolte

Les pommes et les poires de chaque répétition ont été cueillies à maturité commerciale, le jour suivant le dernier traitement. Les fruits étaient récoltés de façon aléatoire sur chaque arbre et déposés dans des caisses en plastique (± 8 kg). Entre deux variantes, le personnel devait se désinfecter les mains avec une solution d'alcool. Après la récolte, les caisses ont été immédiatement déposées dans des chambres à atmosphère contrôlée ($T = 0,5-1^\circ\text{C}$, $\text{HR} = 92-95\%$, $\text{CO}_2 = 1,5-3\%$, $\text{O}_2 = 1-2\%$) d'Agroscope Changins-Wädenswil (ACW), à Conthey (VS).

Contrôle des fruits

Durant la période de conservation, de janvier à juin, trois contrôles ont été effectués pour chaque variété (tabl. 2). Ces contrôles consistaient à vérifier les fruits directement à la sortie des chambres climatisées et après sept jours («shelf life» à 20°C). Les fruits pourris étaient mis de côté dans un sac de plastique, pour isoler les pathogènes responsables.



Figure 1 | Traitement biologique avec des antagonistes à l'atomiseur (photo V. Echnard).

Tableau 2 | Nombre de jours où les fruits sont restés en atmosphère contrôlée avant les décomptes des dégâts observés

Variétés	1 ^{ère} sortie	2 ^e sortie	3 ^e sortie
Gala	159	225	251
Topaz	145	210	256
Beurrée Bosc	134	162	202

Isolation et identification des pathogènes

Un morceau ($0,5\text{ cm}^2$) des tissus infectés était déposé dans une boîte de Petri, contenant un milieu d'agar additionné d'ampicilline (100 mg/l) et mis à incuber pendant 48 heures à 26°C . Après l'incubation, 100 mg du mycélium pathogène ont été mis en suspension dans 2 ml d'eau distillée, pour l'amplification de l'ADN du pathogène après un Master Mix et un programme PCR.

Résultats et discussion

Les résultats de cet essai donnent une indication plus concrète sur la sensibilité des variétés aux dégâts de conservation: Beurré Bosc est la plus touchée, suivie par Gala et Topaz. Cette dernière paraît ici correspondre à son profil de «variété moins sensible aux pathogènes fongiques», avec 6% de fruits pourris dans le témoin non traité à la fin de la période de conservation, contre environ 13% pour les témoins Gala et Bosc (fig. 2a à 2c).

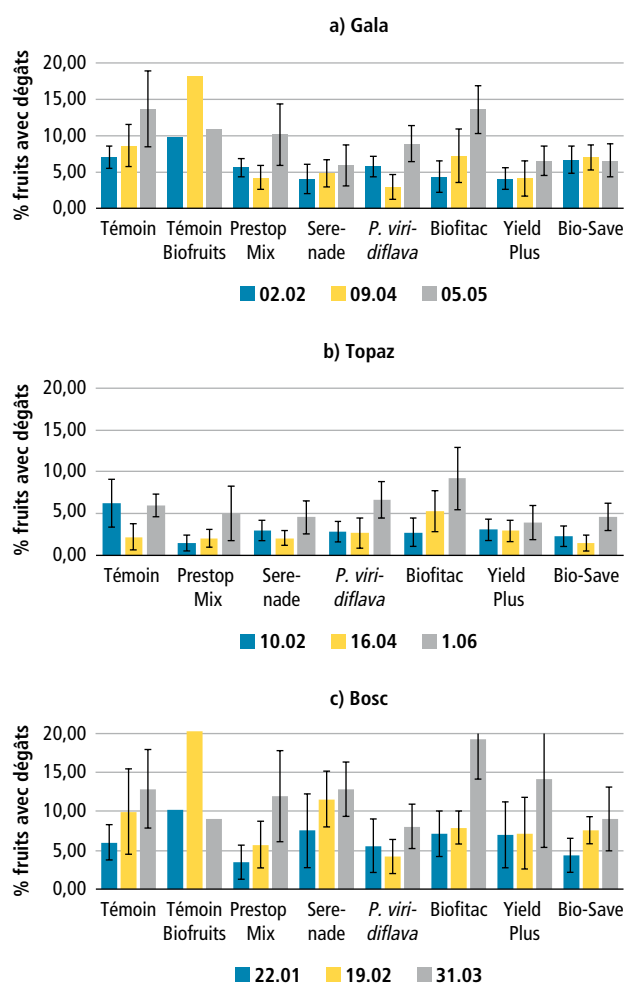


Figure 2 | Evolution du taux de fruits présentant des dégâts lors des trois déstockages ($n = 210$ fruits).

Pour la plupart des modalités de chaque variété, le taux de dégâts s'accroît logiquement au cours du stockage. Les trois contrôles réalisés sur chaque variété montrent que les fruits traités avec un des six ABC ne montrent jamais significativement moins de dégâts que le témoin non traité ($p > 0,1$).

Globalement, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les variantes ou entre les produits testés (fig. 3a à 3f). Avec les ABC Bio-Save et *P. viridiflava*, les trois variantes d'application ont systématiquement réduit le taux de fruits pourris par rapport au témoin non traité, mais pas de manière significative ($p > 0,1$). D'autre part, contrairement aux prévi-

sions, la variante 3 n'a pas permis de réduire davantage le taux de pourriture que les autres: aucune variante n'a été significativement plus efficace.

Plusieurs cueilleurs ont participé à la récolte des fruits, avec un soin variable. L'importance du soin apporté au travail de récolte a montré son impact sur la qualité sanitaire des fruits en conservation: en appuyant les doigts exagérément sur les fruits, des microfissures sur l'épiderme se sont créées. Mêmes observations lorsque le pédoncule est tiré trop fort; de nombreux fruits présentaient une pourriture partant de la cavité pédonculaire. Chez l'arboriculteur, un fruit mal cueilli qui pourrit contaminera ceux qui se trouvent en contact avec lui. ➤

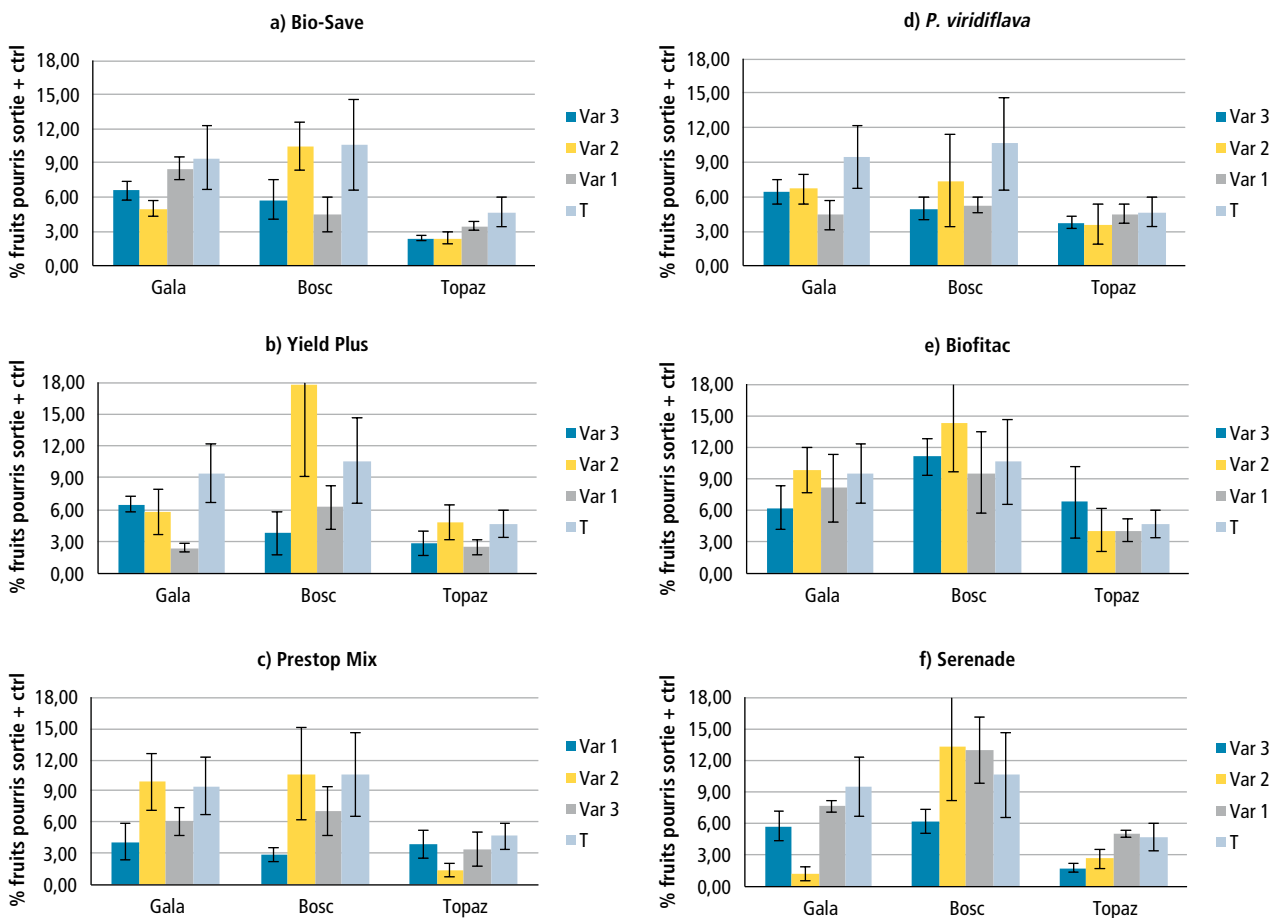


Figure 3 | Taux de fruits avec dégâts selon l'ABC, variante par variante (n = 315 fruits).

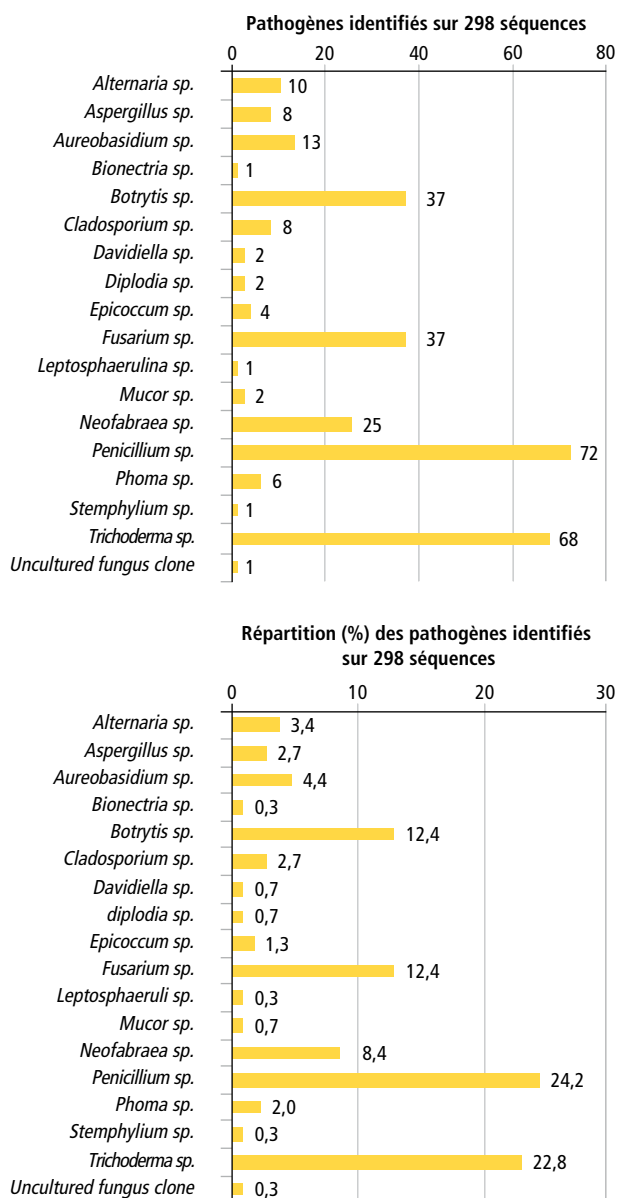


Figure 4 | Diversité totale des microorganismes identifiés à partir d'isolement de lésions de pourriture.

L'identification génétique des microorganismes isolés des lésions de pourriture sur fruits montre une prévalence de certains d'entre eux. Sur un total de 298, 87 isolats ont été séquencés. Les pathogènes de post-récolte détectés dans les lésions sont par ordre d'importance *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Fusarium sp.* et *Botrytis sp.*, *Neofabraea sp.*, *Alternaria sp.* et enfin *Aspergillus sp.* (fig. 4). Ces genres sont responsables de 78% des lésions. Pour les trois variétés de fruits, il est intéressant de remarquer que la diversité des pathogènes est différente dans les variantes sans traitement et dans les vergers traités au cuivre et au soufre (fig. 5).

Conclusions

- L'étude de six agents biologiques de contrôle (ABC) sur l'incidence des maladies post-récolte des fruits à pépins n'a pas livré de différences significatives entre les six produits utilisés, ni permis de dégager des tendances intéressantes.
- Pourtant, les antagonistes utilisés lors de cette étude, préalablement testés en conditions *in vitro* sur milieu nutritif et par inoculation artificielle sur fruits blessés, avaient montré des résultats satisfaisants.
- La transposition des essais de laboratoire en plein champ n'a pas été concluante, y compris pour les produits déjà commercialisés.
- Concernant la diversité des espèces de champignons présents dans les lésions, l'identification menée dans cette étude apporte une donnée originale: les traitements effectués ont influencé la diversité de la flore fongique. La majorité des isolats proviennent d'espèces inconnues et non décrites, mais apparentées à des espèces pathogènes connues. ■

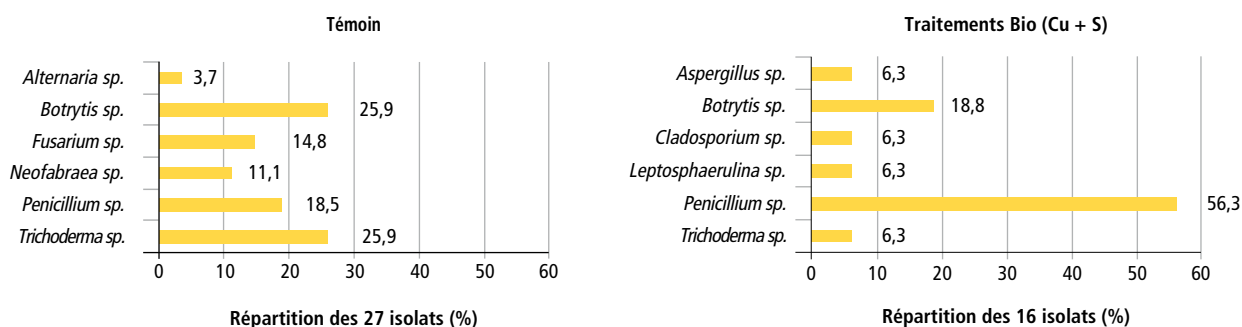


Figure 5 | Diversité des microorganismes identifiés à partir d'isolement de fruits pourris.

Summary**Storage of biological pome fruits**

Following positive trials in laboratory, six strains of biological control agents on pome fruits were evaluated in reducing post-harvest disease. These strains were tested in biological orchard on two apple and one pear varieties. Our experiment showed the variability of the results obtained in open field. The diversity of moulds at the exit of cold storage treatment is greatly influenced by the strains used during the application. A careful harvest of fruits stills the best practice to promote for a good quality at the end of the storage system.

Key words: pome fruits, storage diseases, open field experiments, biological control agents.

Zusammenfassung**Erhaltung biologischer Kernfrüchte**

Infolge der überzeugenden geführten Laborversuche waren sechs Stämme biologischer Kontrollmitteln (BKM) auf Kernfrüchten geschätzt, um die Post-Erntekrankheiten zu vermindern. Diese Stämme waren im biologischen Obstanlagen auf zwei Apfel und eine Birnensorten getestet. Die in offene Felder erhaltenen Ergebnisse zeigten eine bemerkbare Variabilität. Die Vielfalt der Pilze identifiziert an der Ausgang der mit kontrollierter Atmosphäre Kammern ist von der Anwendung der verwendeten Stämme stark beeinflusst. Beim Verlassen dieser Kammern spielt die sorgfältige Ernte eine wichtige Rolle zur Gewährleistung der Fruchtqualität.

Riassunto**Conservazione dei frutti a granella biologici**

In seguito a prove conclusive, condotte in laboratorio, si è esaminato l'efficacia di sei ceppi di agenti biologici di controllo (ABC) contro le malattie postraccolta della frutta a granella. Questi ceppi sono stati testati in frutteti biologici su due varietà di mela e una varietà di pera, ottenendo risultati molto variabili. La diversità dei funghi identificati all'uscita delle camere ad atmosfera controllata è fortemente influenzata dai ceppi utilizzati. Un' accurata raccolta permette di mantenere la qualità dei frutti a fine conservazione.

Remerciements

Jean-Pierre Siegrist (ACW Conthey), Stéphane Dessimoz (BioFruit Vétroz), Olivier Schoupar, Jean-Luc Tschabold (FiBL), Daniel Brückner (El Changins) et Real-Tech (HES-SO) pour son financement.

Bibliographie

- Berg G., 2009. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **84**, 11–18.
- Cook R. J., 2000. Advances in plant health management in the 20th century. *Ann. Rev. Phytopathol.* **38**, 95–116.
- Droby S., 2006. Improving quality and safety of fresh fruit and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. *Acta Horticulturae* **709**, 45–51.
- El-Ghaouth A., Wilson C. L. & Wisniewski M. E., 2004. Biologically based alternatives to synthetic fungicides for the postharvest diseases of fruit and vegetables. Naqvi, S.A.M.H. (Ed.). *Diseases of Fruit and Vegetables*. Vol. 2. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 511–535.
- Ippolito A. & Nigro F., 2000. Impact of preharvest application of biocontrol agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Prot.* **19**, 723–725.
- Irtwange S., 2006. Application of biological control agents in pre- and postharvest operations. 1049 *Agri. Eng. Intl.* **8**, Invited Overview 3, A & M University Press, Texas.
- Jönsson Å., Nybom H. & Rumpunen K., 2010. Fungal Disease and Fruit Quality in an Apple Orchard Converted from Integrated Production to Organic Production. *J. Sust. Agric.* **34**, 15–37.
- Janisiewicz W. J. & Korsten L., 2002. Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits. *Ann. Rev. Phytopathol.* **40**, 411–441.
- Leibinger W., Breuker B., Hahn M. & Mendgen K., 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathol.* **87**, 1103–1110.
- Mari M., Neri F. & Bertolini P., 2007. Novel Approaches to Prevent and Control Postharvest Diseases of Fruit. *Stewart Postharvest Review*, 3: Article 4. Stewart Postharvest Solutions Ltd., London, UK.
- Singh D. & Sharma R. R., 2007. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biol. Contr.* **50**, 205–221.
- Spadaro D. & Gullino M. L., 2004. State of art and future perspectives of biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* **91**, 185–194.
- Thakore Y., 2006. The biopesticide market for global agricultural use. *Ind. Biotechnol.* **2**, 194–208.
- Zhu S. J., 2006. Non-chemical approaches to decay control in postharvest fruit. In: Nouredine B., Norio S. (Eds.). *Advances in Postharvest Technologies for Horticultural Crops*. Research Signpost, Trivandrum, India, 297–313.