

Impact des méthodes d'application sur l'efficacité d'un traitement à base de *Pichia anomala* souche K contre les maladies de post-récolte des pommes

JIJAKLI M. H., DICKBURT C., DE CLERCQ D. et LEPOIVRE P.

Unité de Phytopathologie, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Passage des Déportés, 2, 5030 Gembloux, Belgique.

Pichia anomala souche K a été sélectionnée pour son activité de protection élevée et stable vis-à-vis de *Botrytis cinerea* et *Penicillium expansum* sur pommes 'Golden Delicious' en conditions contrôlées (Jijakli *et al.*, 1999). L'utilisation d'un seul antagoniste s'est souvent avérée insuffisante pour obtenir un niveau de protection stable et reproductible en conditions commerciales. A cet égard, l'étude des mécanismes d'action qui sous-tendent les propriétés antagonistes pourrait aboutir à une formulation plus rationnelle renforçant ces mécanismes et stabilisant l'activité antagoniste (critère de robustesse de la protection). Ainsi, le rôle d'exo- β -1,3-glucanases produites par *P. anomala* souche K a été précédemment étudié (Jijakli *et al.*, 1998). Ces enzymes hydrolytiques sont connus pour leurs propriétés de dégradation des parois de champignons. Une activité exo- β -1,3-glucanase (vraisemblablement due à une enzyme purifiée à partir de surnageant de culture de la souche K) a été mise en évidence sur pommes en présence de la souche K. La présence de parois de *B. cinerea* (contenant principalement des glucanes et de la chitine) a permis d'augmenter à la fois l'activité exo- β -1,3-glucanase *in situ* et la protection des pommes par la souche K vis-à-vis de cet agent pathogène. Basés sur ces travaux, plusieurs molécules de β -1,3-glucanes (HCT, YGT ou HGT) ont été testées en combinaison avec la souche K. En conditions contrôlées, la combinaison de la souche K (10^5 ufc/ml) et de l'YGT a permis d'obtenir un niveau de protection similaire à celui apporté par le traitement avec la seule souche K utilisée à une concentration 100 fois plus élevée (Dickburt *et al.*, 2001). Afin de poursuivre ces travaux, nos objectifs ont été (1) de déterminer l'efficacité d'une composition incluant la souche K et l'YGT en conditions proches de la pratique et (2) d'évaluer les densités de populations de cette souche antagoniste en fonction des méthodes de leur application.

Tous les traitements à base de la souche K consistaient en une suspension de celle-ci (produite en masse sous forme de poudre mouillable par le Centre Wallon de Bio-Industrie, Ulg, Liège, Belgique) à la concentration de 10^7 ufc/ml additionnée de 2 g/l de β -1,3-glucanes (YGT) et de 20 g/l de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Les traitements de pré-récolte avec la souche K ont été réalisés en verger soit par pulvérisation (1000l/ha) soit par nébulisation (300l/ha) 12, 5 ou 2 jours avant récolte. A la récolte, les fruits ont été blessés (4 blessures par fruit). Les traitements de post-récolte ont été effectués le jour suivant par trempage des fruits. Puis, l'ensemble des fruits a été inoculé avec une suspension mixte de *B. cinerea* (10^6 spores/ml) et *P. expansum* (10^5 spores/ml) et stocké en frigo traditionnel à 1°C après être restés pendant 48h sous humidité relative élevée à 20°C. Après 15 jours de stockage en frigo, les fruits ont été incubés dans une chambre à 15°C pendant un mois puis à 20°C jusqu'à l'observation (62 jours après récolte). Pour chaque agent pathogène et pour chaque traitement, les fruits ont été classés selon la sévérité des infections (classe 1 = lésions < à 20 mm, classe 2 = lésions > à 20 mm) et un indice de sévérité d'infection TH a été calculé [TH = (nombre de lésions appartenant à la classe 1 + 2 X nombre de lésions appartenant à la classe 2) / nombre total de fruits].

Le niveau global des contaminations détectées dans les lots témoins (non traités mais inoculés) était relativement élevé, la plupart des infections étaient néanmoins dues à *P. expansum* (TH = 53). Le nombre de fruits infectés par *B. cinerea* restant plus réduit (TH = 15). Vis-à-vis de *B. cinerea*, les niveaux d'infection les plus faibles ont été enregistrés pour les lots de pommes ayant

subi un traitement avec la souche K, 2 jours avant récolte (par pulvérisation, TH = 6,4) ou 12 jours avant récolte (par pulvérisation avec un TH de 6,7 ou nébulisation avec un TH de 7,6). Le traitement à base de la souche K par pulvérisation 12j avant récolte a offert le meilleur niveau de protection vis-à-vis de *P. expansum* avec un TH de 5, cette valeur étant similaire au niveau de protection obtenu par l'utilisation des traitements chimiques standards en pré-récolte (application du Bavistin, du Phytocap, du Sumico et de l'Euparen respectivement 30, 24, 13 et 6 jours avant récolte) mais significativement différente du TH obtenu chez le témoin non traité et inoculé. Les applications de la souche K réalisées 5 ou 2j avant récolte ont donné une réduction similaire de l'infection due à *P. expansum*; néanmoins, cette réduction était moindre par rapport à celle obtenue grâce aux applications 12j avant récolte. Pour ces traitements de pré-récolte, les densités de populations de la souche K, juste après la récolte des fruits, atteignaient au moins 10^4 ufc/cm² de surface de pomme. A l'opposé, lorsque la souche K a été appliquée en post-récolte, aucune protection significative n'a été observée. Ce manque d'efficacité s'accompagnait d'un faible niveau de la population de l'antagoniste ($< 5 \cdot 10^2$ ufc/ml). Ces résultats suggèrent qu'une densité minimale de la population de la souche K (10^4 ufc/cm²) est requise juste après récolte pour assurer une protection adéquate des fruits. Les résultats d'une deuxième année d'essai seront présentés et l'impact des méthodes d'application, de la formulation et du climat sur l'efficacité et la densité de population de la souche K sera discuté.

Références

- DICKBURT C., LEPOIVRE P., JIJAKLI M. H. 2001. Beta-1,3-glucans and galacturonic acid enhanced the antagonistic activity of yeasts against apples postharvest rots. *Phytopathology*, S23
- JIJAKLI M. H., LEPOIVRE P. 1998. Characterization of an Exo- β -1,3-glucanase Produced by *Pichia anomala* Strain K, Antagonist of *Botrytis cinerea* on Apples. *Phytopathology* **88**, 335-343.
- JIJAKLI M. H., LEPOIVRE P., GREVESSE C. 1999. Yeast Species for Biocontrol of Apple Postharvest Diseases : an Encouraging Case of Study for Practical Use. In : *Biotechnological Approaches in Biocontrol of Plant Pathogens*, Kluwer Academic, New York, USA, 31-49.