

Le test Benlloch et ses applications

Méthode commode d'essais fongicides pour la protection des agrumes

par

Claude MOREAU

Docteur ès-Sciences.

*Au cours d'une visite à la Station de phytopathologie agricole de Madrid, M. Miguel Benlloch nous a présenté la technique qu'il utilisait dans les essais de fongicides pour la protection des agrumes en transports et entrepôts. Elle concerne la lutte contre les *Penicillium italicum* et *digitatum*, responsables des moisissures bleue et verte des agrumes et qui sont, de loin, les agents d'altérations les plus répandus dans nos régions. Nous avons appliqué cette méthode pendant plusieurs années et lui avons apporté quelques précisions.*

Le test Benlloch.

Le test décrit par Benlloch (1953-1954) reproduit, à l'échelle du laboratoire, les conditions usuelles d'utilisation des fongicides pour le traitement des agrumes. On sait que, dans les exploitations fruitières, les fruits fraîchement cueillis sont normalement lavés quelques minutes dans un bain, auquel on peut adjoindre un fongicide; ils sont ensuite triés, calibrés, éventuellement empaillotés, mis en caisses.

Nous pratiquons comme suit le test Benlloch :

A l'aide d'un scalpel, nous blessons le péricarpe de l'orange selon 4 à 5 lésions linéaires parallèles, d'environ 3 à 4 cm de longueur à 1 cm de distance les unes des autres puis des lésions semblables perpendiculaires aux premières. La scarification ainsi effectuée dessine un quadrillage qui affecte une large zone de l'écorce. La profondeur des lésions n'a pas de répercussions sur la suite du test; l'épaisseur relative des divers tissus est différente selon les variétés; il suffit de traverser épiderme et hypoderme pour atteindre les poches sécrétrices du flavedo: les cellules oléifères lésées laissent écouler l'huile essentielle qui permet la germination des spores de *Penicillium*.

Nous immergeons ensuite pendant 5 minutes ces

oranges blessées dans les solutions fongicides à tester à concentrations variées.

Les fruits sont alors séchés à l'air libre puis une suspension de spores de *Penicillium italicum* ou de *Penicillium digitatum* est pulvérisée sur la partie lésée à l'aide d'un micropulvérisateur en matière plastique.

Cette suspension est obtenue en versant 10 cm³ d'eau stérile dans un tube à essai d'une culture de *Penicillium* âgée de 15 jours, développée sur milieu de culture gélosé; après agitation le contenu liquide du tube est versé dans le pulvérisateur.

La teneur en spores de la suspension pulvérisée est évaluée; en outre, nous pulvérisons la surface d'un milieu nutritif gélosé en boîte de Pétri de la même façon que la surface des oranges et la germination des spores est ensuite contrôlée.

Les oranges témoins sont soumises au même processus mais ne sont pas immergées dans la solution fongicide.

Ces divers fruits sont disposés par 2 dans des seaux en verre, clos par une plaque de verre, dans lesquels un tampon d'ouate humide maintient un degré hygrométrique élevé. Le tout est placé dans une pièce à 18-20°.

Une étiquette mentionne, pour chaque seau, le traitement subi par les fruits.

Notation des résultats.

Pour faciliter l'utilisation du test Benloch, nous préconisons de suivre d'une manière plus précise l'évolution des pourritures. Dès 1954, M^{lle} Lauriol, dans le test qu'elle avait mis au point, avait reconnu l'utilité de distinguer des stades de développement de pourritures. Dans le test Benloch nous définissons ces stades d'après l'évolution de la pourriture sur les fruits témoins, en 10 jours à 20°, c'est-à-dire :

a) *Penicillium italicum*.

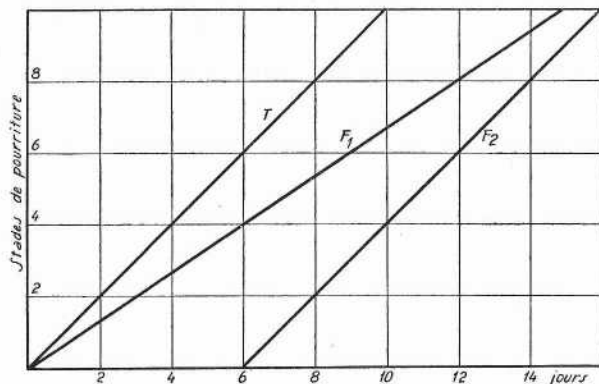
- 0 = fruit apparemment sain,
- 1 = début de ramollissement,
- 2 = tracé blanchâtre d'une partie du quadrillage,
- 3 = tracé blanchâtre de la totalité du quadrillage, bleu au centre de l'infection,
- 4 = tracé du quadrillage totalement bleu,
- 5 = début de développement d'une efflorescence blanche entre les lignes de blessure,
- 6 = efflorescence blanche couvrant toute la surface entre les lignes bleues,
- 7 = efflorescence blanche commençant à bleuir,
- 8 = totalité du quadrillage recouvert de fructifications bleues,
- 9 = plus de la moitié du fruit atteint,
- 10 = fruit complètement envahi.

b) *Penicillium digitatum*.

- 0 = fruit apparemment sain,
- 1 = début de ramollissement,

GRAPHIQUE 1. — Évolution des pourritures en fonction de la durée de conservation des fruits.

T = fruits témoins non traités.
 F₁ = fruits traités par un fongicide qui ralentit le développement des pourritures.
 F₂ = fruits traités par un fongicide à action retardatrice.



- 2 à 4 = développement plus ou moins étendu d'une efflorescence blanche.
- 5 à 7 = développement des fructifications vertes au centre de l'efflorescence blanche,
- 8 = totalité du quadrillage recouvert par le Champignon,
- 9 = plus de la moitié du fruit atteint,
- 10 = fruit complètement envahi.

Il est alors possible d'établir une courbe en portant en abscisses le nombre de jours, en ordonnées le stade de développement des pourritures. On compare aisément l'évolution des pourritures sur les fruits traités et sur les fruits témoins.

On met ainsi aisément en évidence (graph. 1) si un produit ralentit le développement des pourritures (sa courbe forme avec l'axe des abscisses un angle inférieur à celui du témoin), si un produit n'a qu'une action retardatrice sur l'apparition et le développement des symptômes (courbe parallèle à celle des témoins), etc...

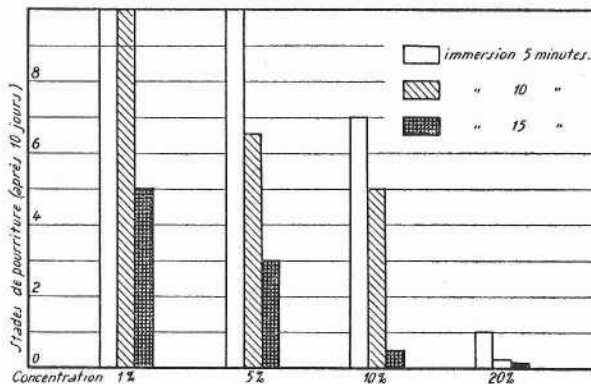
L'examen de telles courbes est précieux pour déterminer l'efficacité d'un fongicide.

Mise en évidence des qualités d'un fongicide par le test Benloch.

Nous avons défini par ailleurs (C. Moreau, Fruits, 1954) les qualités qui nous paraissent être essentielles pour un fongicide destiné à la protection des fruits dans les transports et en entrepôts. Nous avons recherché comment le test Benloch mettait en valeur ces diverses qualités.

a. *Pouvoir cicatrisant*. Le test habituel, tel que nous

GRAPHIQUE 2. — État d'évolution des pourritures au 10^e jour d'expérience en fonction de la concentration du fongicide et de la durée d'immersion des fruits.



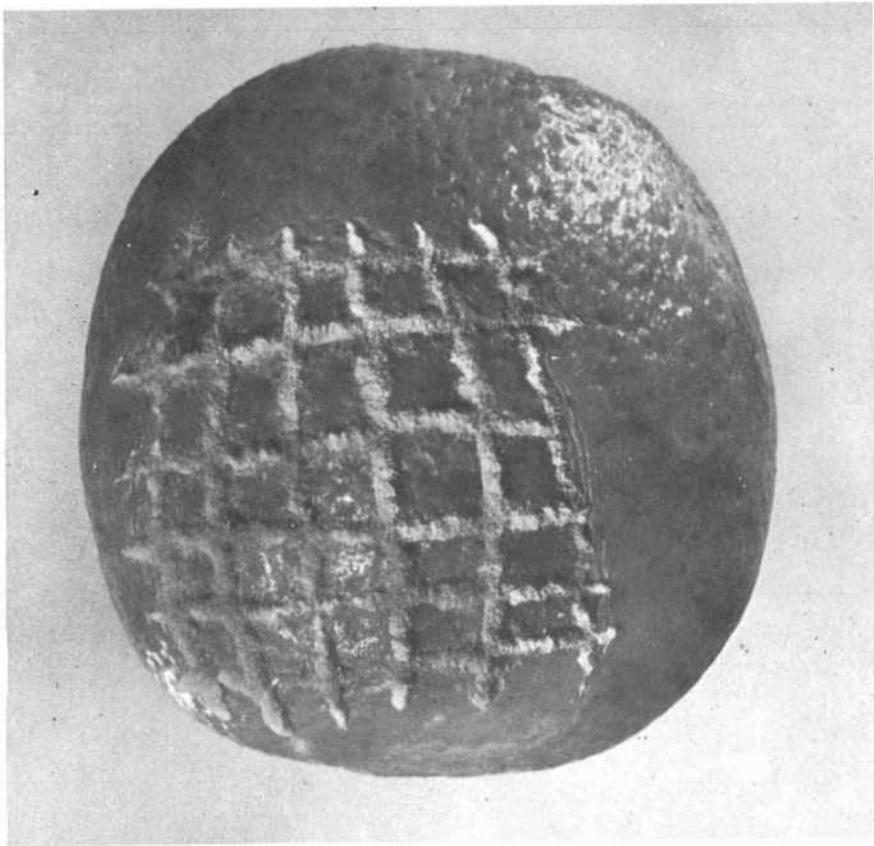


FIG. 1. — Test Benloch appliqué au *Penicillium italicum*. Évolution des témoins.
Stade 4. (Photo Renée Haccard.)

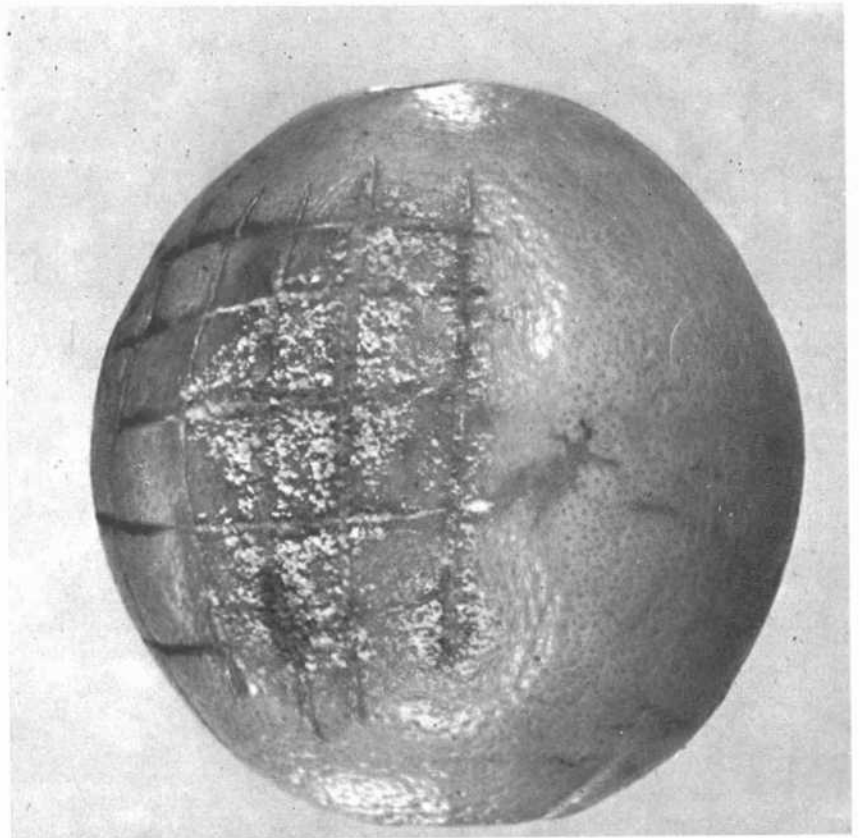


FIG. 2. — Test Benloch appliqué au *Penicillium italicum*. Évolution des témoins.
Stade 5. (Photo Renée Haccard.)

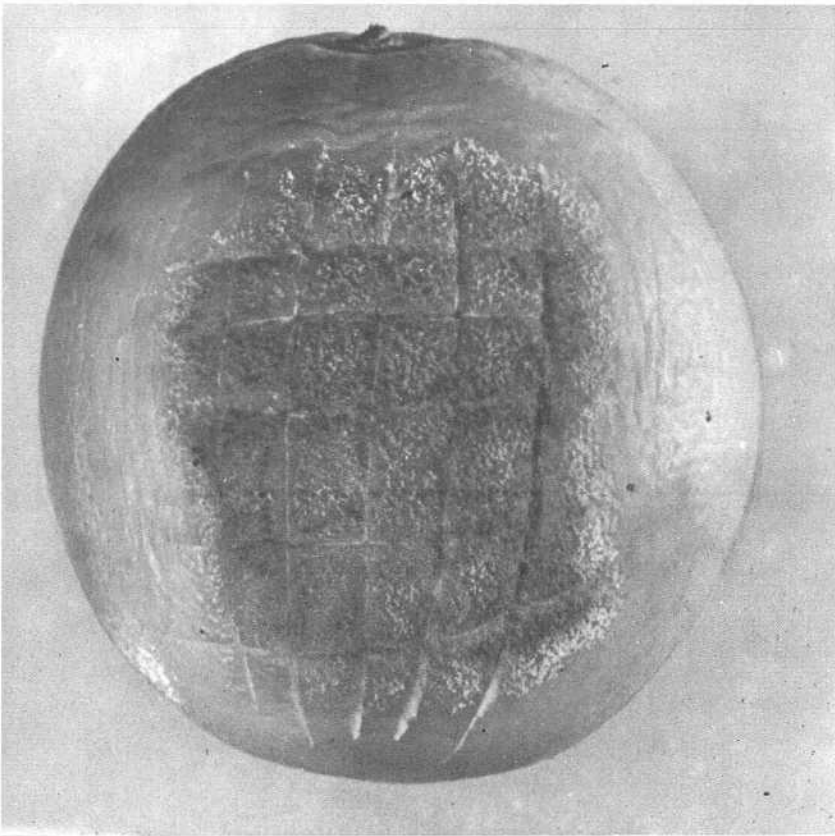


FIG. 3. — Test Benloch appliqué au *Penicillium italicum*. Évolution des témoins. Stade 7. (Photo Renée Haccard.)

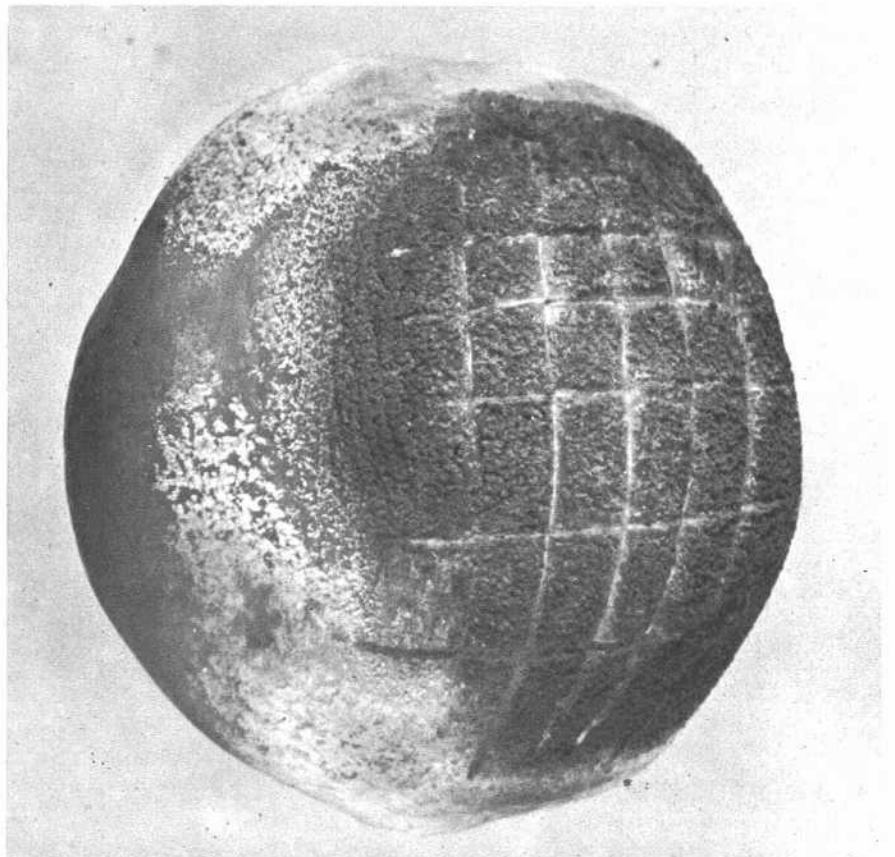


FIG. 4. — Test Benloch appliqué au *Penicillium italicum*. Évolution des témoins. Stade 9. (Photo Renée Haccard.)

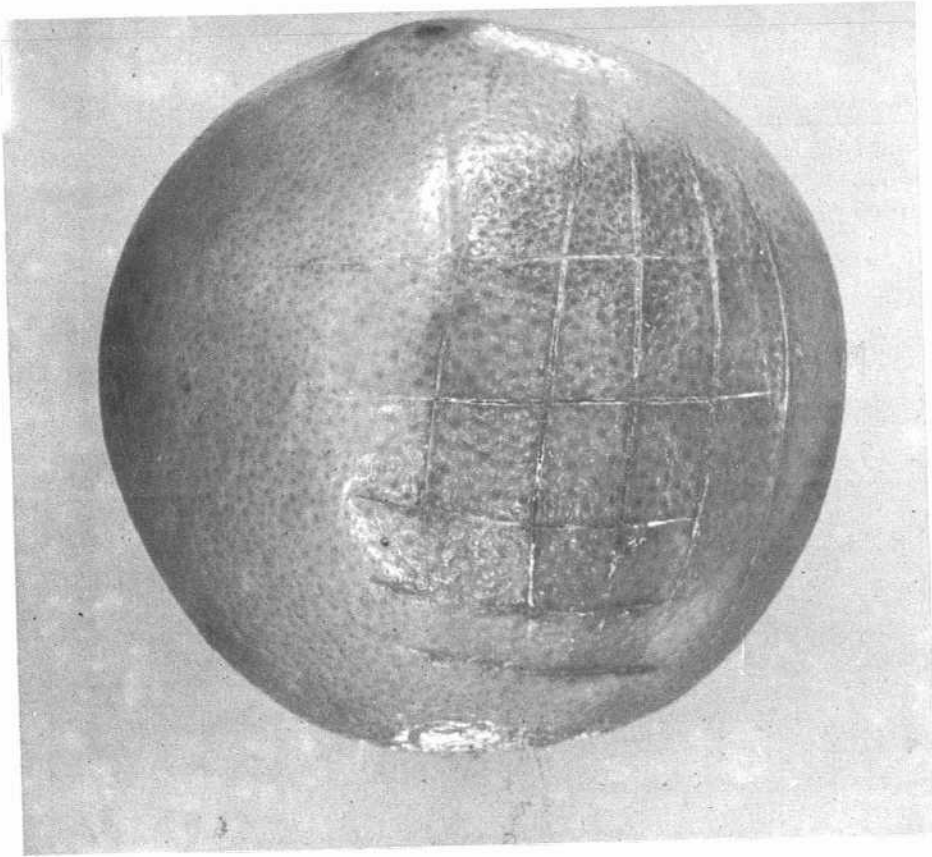


FIG. 5. — Test Benloch appliqué au *Penicillium digitatum*. Évolution des témoins. Stade 1. (Photo Renée Haccard.)

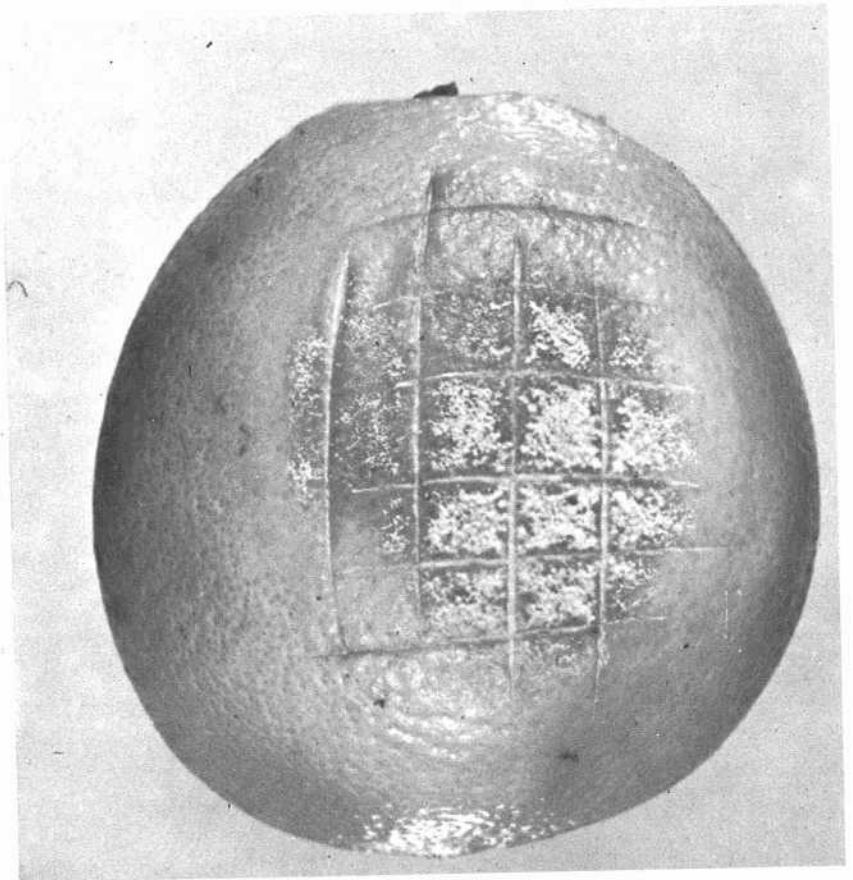


FIG. 6. — Test Benloch appliqué au *Penicillium digitatum*. Évolution des témoins. Stade 4. (Photo Renée Haccard.)

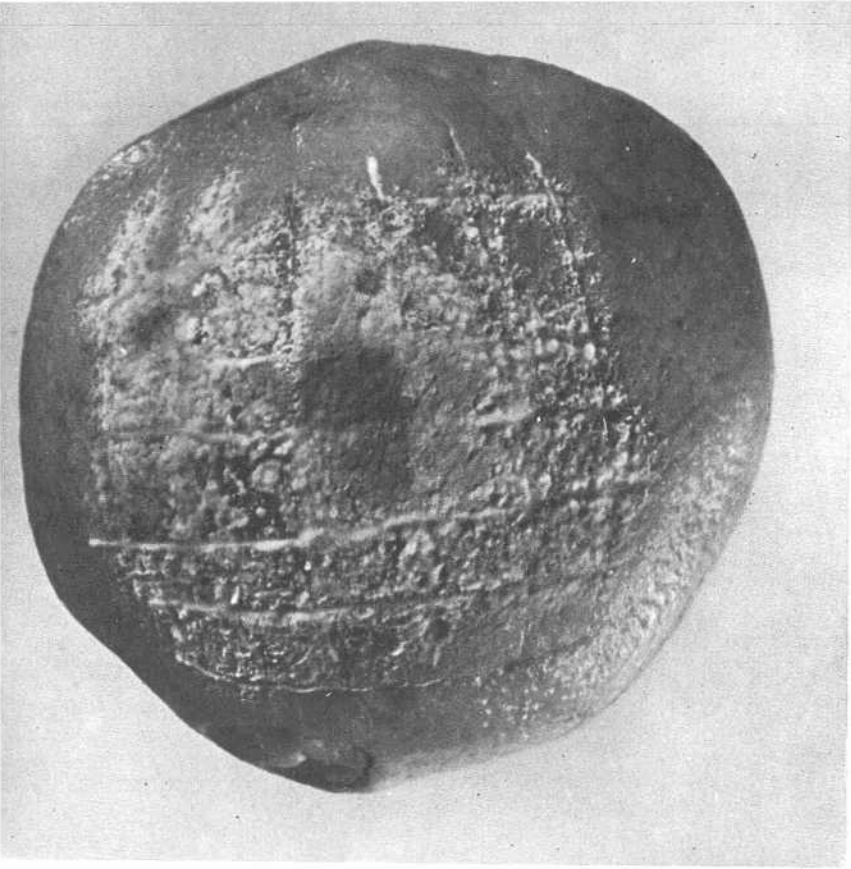


FIG. 7. — Test Benloch appliqué au *Penicillium digitatum*. Évolution des témoins. Stade 8. (Photo Renée Haccard.)

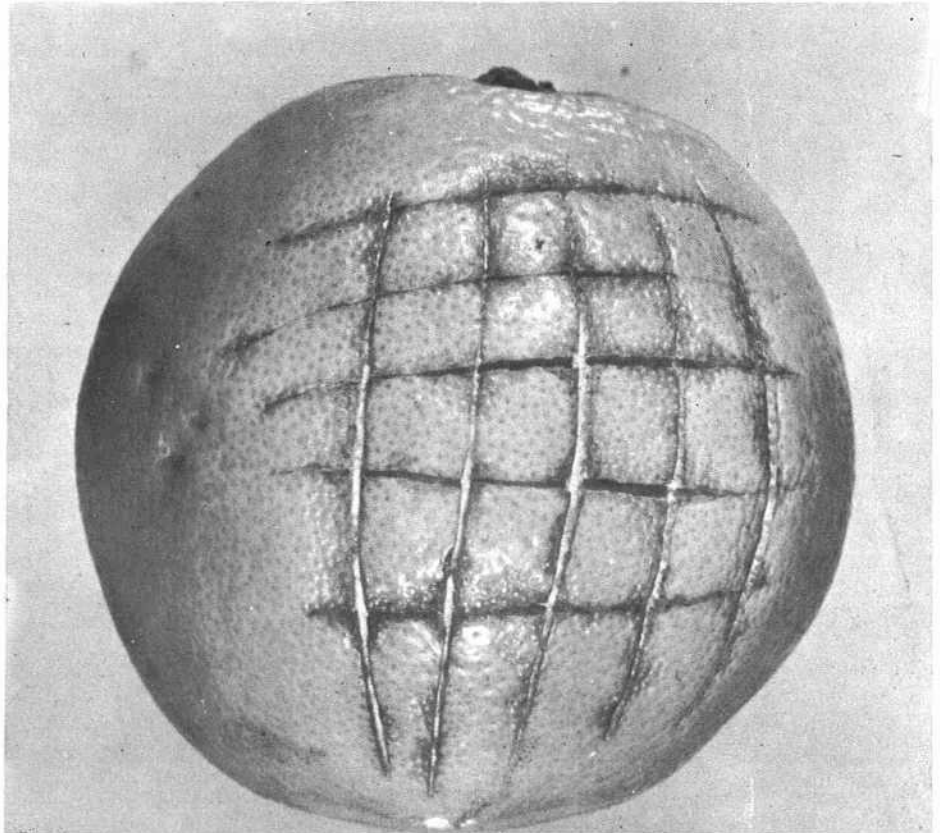


FIG. 8. — Orange traitée par un fongicide efficace, soumise depuis 10 jours au test Benloch. Remarquer la cicatrisation des blessures. (Photo Renée Haccard.)

l'avons décrit, comporte successivement : blessure, traitement, infection. Il met surtout en évidence le pouvoir de cicatrisation du produit testé. La pénétration des Champignons n'étant possible qu'après blessure, si on « cautérise » la blessure avant l'infection, l'infestation ne peut se produire. Si un produit est efficace dans ces conditions de laboratoire, il sera efficace dans les conditions normales d'utilisation, pour inhiber une infection pendant le conditionnement pour des fruits blessés au cours de la cueillette.

Tel qu'il est, ce test ne fournit aucune indication valable pour des fruits blessés ou infectés à d'autres époques. Que l'on modifie la durée ou l'ordre des opérations du test Benloch et l'on possédera des indications sur les autres qualités du fongicide expérimenté.

b. *Pouvoir pénétrant.* Certains produits nécessitent une longue immersion pour traverser les couches externes du péricarpe. Ils ne sont efficaces qu'après un séjour des fruits de plusieurs minutes dans une solution d'une concentration déterminée. Il est possible de traduire sur un graphique (graph. 2) l'évolution des pourritures en fonction de la concentration du fongicide et de la durée d'immersion des fruits.

c. *Activité résiduelle.* Sans modifier l'ordre normal des opérations du test Benloch (blessure-traitement-infection), on peut savoir si le produit testé a une activité résiduelle. Par exemple, entre le traitement et l'infection peuvent s'écouler plusieurs heures ou même plusieurs jours. De nouvelles courbes d'évolution des pourritures sont dressées dans chaque cas. L'influence du rinçage des fruits à l'eau aussitôt après le traitement, ou plus tard, peut de même être étudiée.

d. *Inhibition d'infections anciennes.* Inversant l'ordre des opérations, il est possible de déterminer avec précision la durée maximum s'écoulant entre l'infection et le traitement pour que celui-ci soit efficace : on blesse un fruit, on l'infecte et on attend 1 heure,

2 heures... plusieurs jours avant d'effectuer le traitement. Généralement, on note une action fongicide quand l'immersion des fruits est effectuée dans les quelques heures qui suivent l'infection, une action fongistatique si on attend quelques jours pour effectuer le traitement, aucune action si l'infection est déjà très développée. Là encore, l'action fongistatique peut souvent être augmentée par un accroissement de la durée d'immersion.

e. *Protection contre des blessures et infections tardives.* Il est intéressant de savoir si un traitement effectué lors du conditionnement protège préventivement les fruits au cours du transport ou de l'entreposage, même si les fruits sont blessés. On suit donc l'ordre suivant : traitement-blessure-infection et on peut laisser s'écouler un temps plus ou moins long entre le traitement et les deux autres opérations.

Ainsi, dès le laboratoire, par le jeu des diverses opérations du test Benloch, pourra-t-on connaître les qualités d'efficacité d'un fongicide.

Pour être strictement comparables tous ces essais doivent être faits avec la même variété d'agrumes, cueillis depuis le même nombre de jours et conservés dans les mêmes conditions depuis cette époque. On a intérêt à utiliser des fruits fraîchement récoltés, à péricarpe bien turgescent.

Le test Benloch est donc une méthode commode d'essais fongicides pour la protection des agrumes. Nous recommandons son utilisation après avoir expérimenté les tests classiques sur les *Penicillium* entretenus en culture pure, soit essais de germination des spores (test Mc Callan, 1947), soit essais portant sur la phase linéaire de croissance du Champignon (test Moreau, 1959).

(Laboratoire de Cryptogamie,
Muséum National d'Histoire naturelle, Paris).

BIBLIOGRAPHIE

- BENLOCH, M. — Un método de ensayo de los desinfectantes contra los mohos de la naranja (*Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*). *Bol. Patol. veg. Entom. agr.*, t. XX, p. 181-192, 1953-1954.
- LAURIOL, F. — Les traitements chimiques des *Penicillium* des agrumes. *Fruits*, t. IX, fasc. I, p. 3-15, 1954.
- MC. CALLAN, S. E. A. — Bioassay of agricultural fungicides. *Agr. Chem.*, t. II, p. 31-34, 1947.

- MOREAU, C. — Le problème de la protection des agrumes dans les transports et en entrepôts. *Fruits*, t. IX, fasc. 2, p. 51-59, 1954.
- MOREAU, C. et M. — Technique simple de comparaison du pouvoir fongicide de diverses substances. Mesure de l'action répressive sur la phase linéaire de croissance. *Rev. de Mycol.*, t. XXIV, fasc. 1, p. 59-64, 1959.

