

FIG. 1. — Il est fréquent de trouver lors de leur maturation, des pommes Golden présentant un nombre important de « taches lenticellaires ».

# RECHERCHES SUR LA MALADIE DES « TACHES LENTICELLAIRES » DE LA POMME GOLDEN (Campagne fruitière 1963-1964)

par

**Claude MOREAU**

*Maître de Recherches au C. N. R. S.*

**Mireille MOREAU**

*Maître de Conférences  
à la Faculté des Sciences de Rennes*

**Marie-Magdeleine CHOLLET**

*Maître de Recherches au C. N. R. S.*

**Gilbert BOMPEIX**

*Licencié ès Sciences*

---

La maladie des « taches lenticellaires » des pommes Golden est désormais malheureusement bien connue des arboriculteurs et entrepositaires français : en effet, elle cause, à la fin du stockage, des pertes souvent importantes, parfois très élevées ; le développement de la pourriture à partir de quelques lenticelles par fruit est foudroyant.

Couramment appelée « taches à *Gloeosporium* » par les praticiens, cette maladie relève en réalité, comme l'a bien établi Bondoux (1961, 1963), de plusieurs parasites. Outre le *Cylindrocarpon mali* (All.) Wr. (forme imparfaite du *Nectria galligena* Bres.), le *Phlyctaena vagabunda* Desm. (= *Gloeosporium album* Osterw.), le *Cryptosporiopsis malicorticis* (Cordl.) Nannf. (= *Gloeosporium perennans* Zeller et Childs),

forme imparfaite du *Pezicula malicorticis* (Jacks.) Nannf. (= *Neofabraea malicorticis* Jacks.), le *Colletotrichum fructigenum* (Berk.) Verssilj., (= *Gloeosporium fructigenum* Berk.), forme imparfaite du *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld et von Schrenk), qu'il a déjà signalés, nous avons, en deux saisons d'isolements systématiques à partir de taches lenticellaires de fruits aux origines géographiques très diverses, obtenu plusieurs autres espèces parmi lesquelles le *Phialophora atra* v. Beyma (= *P. malorum* (Kidd et Beaumont) Mc Colloch) notamment (Moreau, 1963) paraît avoir, sous certaines conditions, une incidence économique. Toutefois, lors de nos examens, c'est le *Phlyctaena vagabunda* Desm. qui causa en entrepôts les plus importants dommages.

Devant le développement spectaculaire, lors de la maturité des fruits, d'un parasite dont tous les auteurs (Wilkinson, 1942, 1943, 1945 ; Corke, 1955 ; Edney, 1956 ; Bondoux, 1961 ; Hamer, 1962) sont d'accord pour situer la contamination par spores au verger, c'est-à-dire de nombreux mois auparavant, se pose un problème phytopathologique.

Quels sont les termes de l'infestation ? Pourquoi l'incubation est-elle si longue ? Nous avons, par hypothèse, pensé que l'état des pommes lors de la cueillette, ne permettait pas soit la germination des spores, soit l'installation du jeune mycélium et que les fruits devenaient réceptifs à une période critique de leur conservation. C'est pourquoi il nous a paru intéressant, au cours d'un premier essai, de rechercher méthodiquement quels étaient les tout premiers symptômes morbides et à quelle date ils apparaissaient, parallèlement à l'état de maturation du fruit en fonction de conditions de conservation connues.

A cette intention l'expérience suivante a été réalisée.

## PRINCIPE DE L'EXPÉRIMENTATION

Afin d'homogénéiser autant que possible les résultats nous avons retenu :

— un lot de pommes Golden d'Ile de France présumées infectées, car issues d'un verger dont les fruits avaient présenté un haut taux d'infection par le *Phlyctaena vagabunda* lors de la précédente campagne ;

— le calibre moyen 20-22, car le nombre et la taille des lenticelles sont fonction de la grosseur relative du fruit ;

— trois températures :

2° C : température voisine des conditions réalisées en entrepôts frigorifiques ;

12° C : température moyenne des fruitiers ventilés ;

18° C : car nous pensions obtenir une maturation accélérée des fruits et provoquer par ce moyen, un diagnostic précoce de la maladie.

Les trois enceintes de conservation furent maintenues à 95 % d'humidité relative pendant toute la durée de l'expérimentation.

Des prélèvements ont été effectués régulièrement

— chaque semaine à 18°

— toutes les 2 semaines à 12°

— toutes les 3 semaines à 2°.

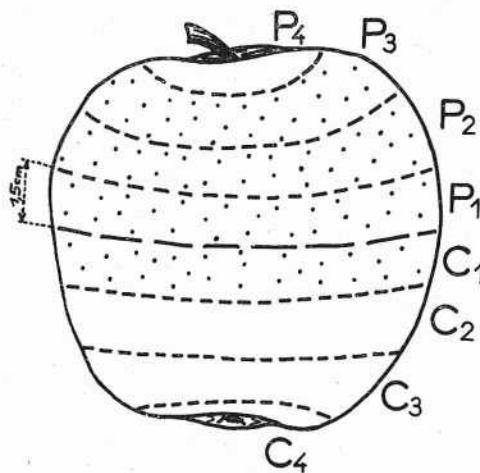
Chaque fois 10 fruits subissaient les examens suivants :

SCHÉMA N° I.

Schéma d'étude de la localisation des lenticelles à la surface d'une pomme (calibre 20-22).

Une ligne équatoriale sépare le fruit en une moitié avec pédoncule (P) et une moitié avec calice (C). La zone P<sub>1</sub> est définie par la ligne équatoriale et une parallèle située à 1,5 cm. Les zones P<sub>4</sub> et P<sub>3</sub> sont définies par des cercles ayant le pédoncule pour centre et respectivement 2,6 cm et 6 cm de diamètre. La zone P<sub>2</sub> est située entre les zones P<sub>1</sub> et P<sub>3</sub>. Les zones C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> sont définies d'une manière analogue.

En pointillés : zones de plus grande fréquence des « taches lenticellaires ».



1) *Dénombrement et répartition géographique des lenticelles ouvertes et fermées.*

a) Test Marcellin (1955).

Préalablement, des zones sont définies (cf. schéma). Immersion dans l'huile de paraffine Codex fluide, GIFRER BARBEZAT, séchage, poudrage avec de l'oxyde d'Aluminium neutre standardisé pour chromatographie MERK contenant 0,2 % de Soudan III.

b) Test au bleu de méthylène (Rosper, 1957).

2) *Perméabilité.*

a) A l'air et à l'hydrogène.

Application de l'effet Devaux ; Technique Marcellin (1958, 1960).

b) Évaluée par le test au bleu de méthylène.

Calcul de la surface des ostioles lenticellaires et des auréoles liées à la pénétration de la solution colorante : dessin à la chambre claire et pesée.

3) *Évaluation du poids sec* (après séjour à l'étuve à 85° jusqu'à poids constant).

4) *Évaluation du pH.*

5) *Mesure de l'acidité totale.*

Dosage sur 10 ml de jus ; l'acidité est exprimée en millilitres d'une solution  $\frac{N}{10}$  de NaOH.

Indicateur : rouge de méthyle.

6) *Extraction et dosage des glucides.*

a) Glucides solubles.

100 g de pommes sont traités successivement 5 fois par de l'éthanol à 90° bouillant, en présence de  $\text{CO}_3\text{Ca}$  ; les alcools d'extractions ont réunis et l'alcool est éliminé par distillation. Sur la solution restante, déféquée à l'extrait de Saturne, les sucres réducteurs sont dosés par la méthode de G. Bertrand. La teneur en sucres hydrolysables — dans le cas présent c'est le saccharose — est obtenue par dif-

férence entre la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu après et avant hydrolyse chlorhydrique (1 ml de  $\text{ClH}$  6 N dans 10 ml de solution à l'ébullition pendant 15 mn). Un entraînement chromatographique a, en outre, été réalisé sur chaque jus de pommes et les extraits alcooliques.

b) Glucides membranaires.

Après le traitement ci-dessus, les 100 g de pommes sont traités pendant 4 h par 200 ml de  $\text{SO}_4\text{H}_2\text{N}$  bouillant. Après élimination de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  par la baryte, les sucres résultant de l'hydrolyse des hémicelluloses membranaires sont dosés par la méthode de G. Bertrand. Un entraînement chromatographique permet, en outre, de déterminer la nature et les proportions relatives des divers glucides.

7) *Recherche et identification de la flore des lenticelles.* Les Champignons y sont présents soit à l'état de spores, soit à l'état de fragments mycéliens peu reconnaissables. Des semis sur milieux nutritifs gélosés suivis d'une incubation à l'étuve sont nécessaires.

a) Champignons endémiques dans les loges lenticellaires.

Dissection de la lenticelle sous microscope stéréoscopique et prélèvement de la partie subérisée ou « fond de la lenticelle » pour ensemencement.

b) Champignons pathogènes installés dans les tissus sous-jacents.

Recherche sous microscope stéréoscopique de lenticelles présentant dans le parenchyme quelques cellules périlenticellaires brunes : prélèvement aseptique de ces cellules et semis. Ainsi, à partir d'une lenticelle, au début de l'attaque, il est possible d'opérer plusieurs prélèvements. Les prélèvements aseptiques dans les taches développées ne nécessitent évidemment pas de techniques particulières, mais nous verrons que ces taches n'apparaissent que plusieurs semaines après la détection des premières attaques.

## RÉSULTATS

### 1) DÉNOMBREMENT ET RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE DES LENTICELLES OUVERTES ET FERMÉES :

Le nombre total des lenticelles d'un fruit varie de 700 à 1 000 environ. Leur répartition est irrégulière ; leur densité croît approximativement du pédoncule vers l'œil de la pomme.

Le pourcentage de lenticelles « ouvertes » varie

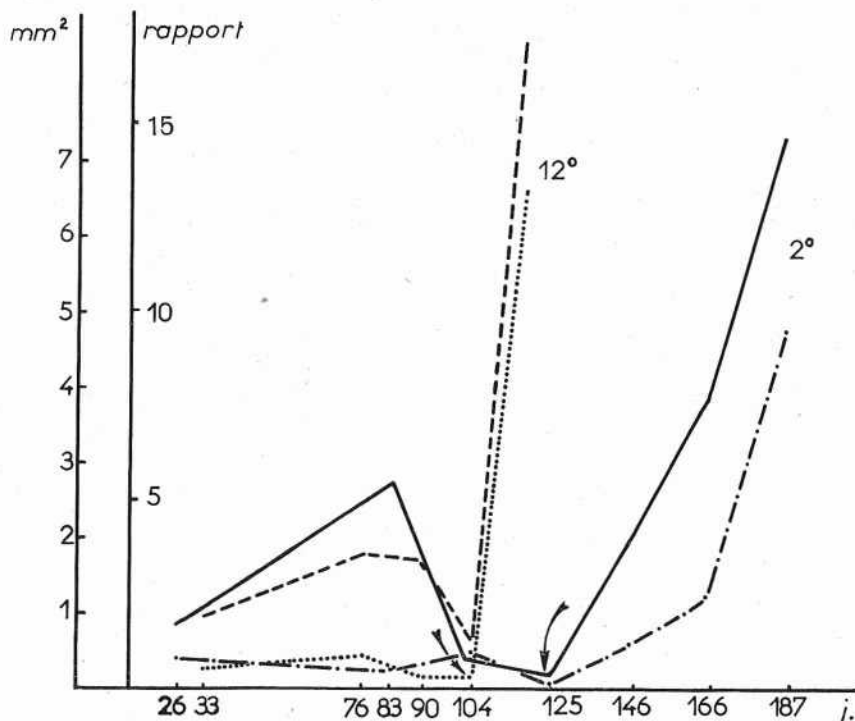
au cours du stockage, les résultats obtenus avec les 2 tests diffèrent en valeur absolue mais leurs variations sont comparables. (La plus grande mouillabilité de la cuticule cireuse pour l'huile explique les taux plus élevés observés avec le test Marcellin qu'avec la solution aqueuse de bleu de méthylène).

Ainsi, dans les zones  $C_1$ ,  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$  (zones de plus grande fréquence des taches lenticellaires) :

TABLEAU I.

Perméabilité à l'hydrogène  
(exprimée en ml/mn).

SEMAINES	18°	12°	2°
0	3,53	3,53	3,53
1	5,07	5,05	—
2	5,51	—	—
3	4,88	5,46	—
4	5,32	—	4,42
5	5,05	5,5	—
6	5,08	—	—
7	5,33	5,73	4,40
8	4,98	—	—
9	4,41	5,29	—
12	—	—	5,44
13	—	5,12	—
15	—	5,72	4,76
17	—	4,29	—
18	—	—	4,12
21	—	—	3,54
24	—	—	3,08
27	—	—	2,98



GRAPHIQUE I. — Évolution de la perméabilité aux gaz évaluée par le test au bleu de méthylène à 12° et à 2°. Zone P<sub>1</sub>.

En abscisses : nombre de jours de stockage,  
En ordonnées : surface moyenne des « auréoles colorées »  
(en millimètres carrés) et rapport moyen  $\frac{\text{surface auréole}}{\text{surface ostiole}}$ .

Le trait plein et le tiret se rapportent aux surfaces des auréoles respectivement à 2° et 12°, le trait mixte au rapport moyen à 2°, le pointillé au rapport moyen à 12°. Les flèches indiquent l'apparition des grosses taches de pourriture aux températures considérées.

a) selon le test Marcellin, et à 18° :

- pendant les 4 premières semaines, le taux se maintient très élevé (95 %),
- il s'effondre au cours de la semaine suivante (75 %) pour atteindre durant la 7<sup>e</sup> semaine sa valeur minimale (70 %),
- il amorce alors une remontée ;

b) selon le test au bleu de méthylène :

Les fruits conservés à 12° et à 2° présentent d'abord des variations peu significatives (entre 23 et 35 % de lenticelles « ouvertes ») et atteignent un minimum à 12° vers la 15<sup>e</sup> semaine (11,6 %) à 2° vers la 18<sup>e</sup> semaine (2,8 %) suivi dans les 2 cas immédiatement d'une augmentation considérable (plus de 50 %).

2) PERMÉABILITÉ :

a) A l'air et à l'hydrogène :

Les mesures de perméabilité à ces deux gaz croissent et décroissent évidemment de la même manière. Le tableau 1 indique les valeurs de perméabilité à l'hydrogène.

A 2° les valeurs obtenues sont dans l'ensemble, inférieures à celles obtenues à 12 et 18°.

b) Évaluée par le test au bleu de méthylène :

Le graphique n° 1 indique à 12 et à 2° C, l'évolution de la surface des « auréoles colorées » et le rapport moyen  $\frac{\text{surface auréole}}{\text{surface ostiole}}$  dans la zone P<sub>1</sub>.

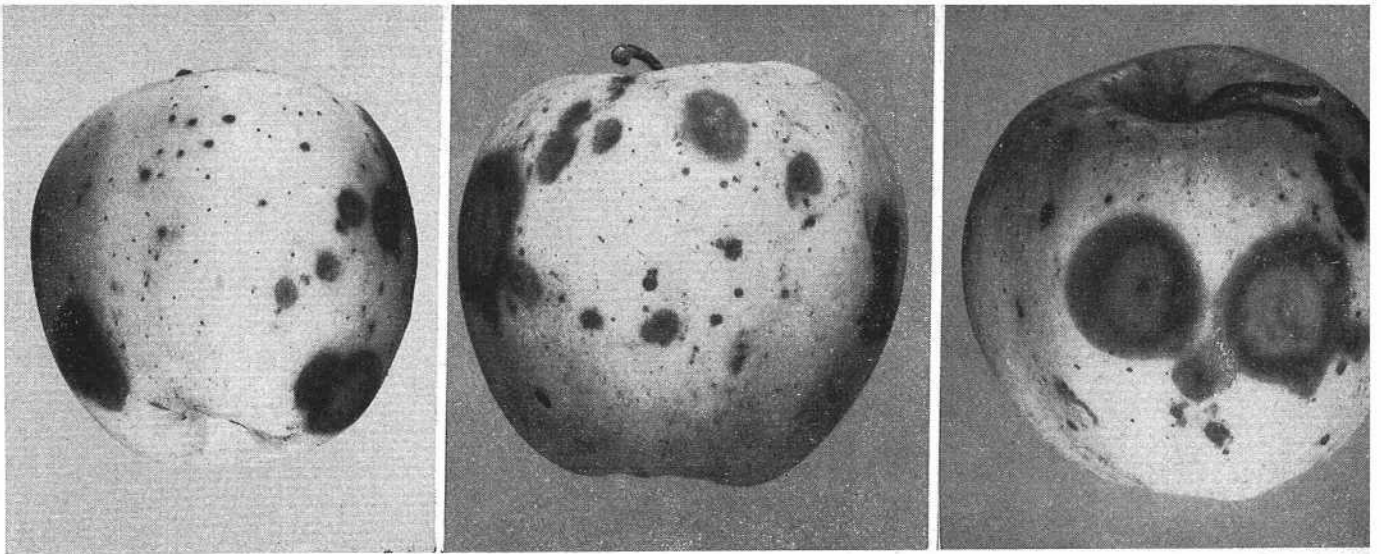


FIG. 2 à 4. — Taches de pourritures lenticellaires (divers stades). La lenticelle contaminée s'observe au centre de plusieurs d'entre elles. Les symptômes externes, provoqués pourtant par plusieurs parasites, sont si voisins, qu'il est difficile de reconnaître le responsable au seul examen des lésions.

On observe une soudaine augmentation de ces 2 valeurs à partir de la 15<sup>e</sup> semaine pour 12° et de la 18<sup>e</sup> pour 2°.

### 3) ÉVOLUTION DES POIDS SECS :

Au cours du 1<sup>er</sup> mois de stockage, et pour les 3 températures nous assistons à une augmentation des poids secs, plus marquée à 18° (de 13,8 à 16,25 %). Dès lors les 3 courbes divergent légèrement

à 18° : du 27<sup>e</sup> au 40<sup>e</sup> jour, le poids sec diminue, puis augmente à nouveau légèrement ;

à 12° : il diminue régulièrement jusqu'en fin d'expérience (12 %) ;

à 2° : le poids sec reste pratiquement constant.

### 4) ÉVOLUTION DU pH :

Quelle que soit la température de conservation, le pH évolue très lentement de 3,2 à 4,2.

TABLEAU 2.

Acidité totale (exprimée en ml NaOH  $\frac{N}{10}$  pour 10 ml de jus).

SEMAINES	18°	12°	2°
0	6,9	6,9	6,9
2	4,8	6,9	6,9
3	3,4	7,0	6,8
7	1,7	3,8	5,2
11	1,4	2,5	3,8
14	—	1,7	3,3
24	—	—	1,9

### 5) ÉVOLUTION DE L'ACIDITÉ TOTALE :

Les résultats figurant au tableau n° 2 et au graphique 7 montrent que l'acidité totale observée en fin d'expérience est d'autant plus élevée que la température est plus basse.

### 6) ÉVOLUTION DES GLUCIDES :

A : Les hémicelluloses membranaires.

a) Le tableau 3 montre les valeurs les plus caractéristiques des taux des hémicelluloses au cours de la maturation des fruits. Ils s'abaissent très fortement au cours des 4 premières semaines, toutefois plus lentement à 2°.

b) L'étude chromatographique des produits d'hydrolyse membranaire indique que les pommes Golden contiennent en plus ou moins grande abondance

TABLEAU 3.

Evolution des hémicelluloses (exprimée en grammes pour 1 000 g de poids frais).

SEMAINES	18°	12°	2°
0	16,2	16,2	16,2
2	4,9	7,0	10,0
3	3,1	1,4	5,4
7	2,0	2,1	3,1
11	2,6	2,2	1,9
14	—	0,8	1,5
27	—	—	0,1

(ce que nous symboliserons par des +) les sucres suivants :

arabinose : ++++++

xylose : +++++

galactose : ++

rhamnose : traces

un sucre non identifié situé sur les chromatogrammes sous le rhamnose.

c) La chromatographie des jus et extraits alcooliques, permet de trouver, outre du glucose, fructose et saccharose dans tous les cas, des sucres résultant de la dégradation des hémicelluloses.

Ainsi, dans les premières séries de pommes étudiées, outre du xylose, sont présents un peu de galactose et de rhamnose alors que seul le xylose reste présent dans les séries ayant subi les plus longues conservations.

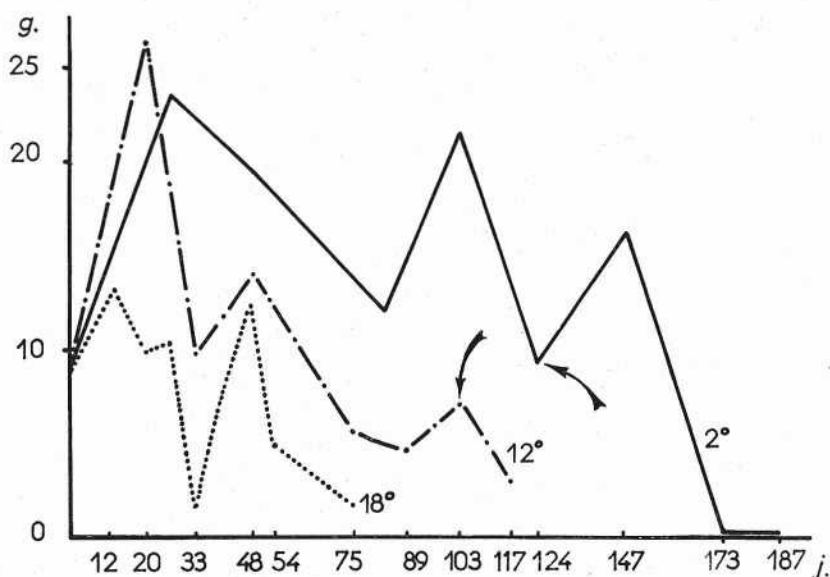
Il apparaît donc que les galactanes et les xylanes s'hydrolysent dès le début de la conservation mais que le galactose disparaît bientôt alors que le xylose reste abondant jusqu'à la fin dans le jus des fruits. Les arabanes, très abondants dans les hémicelluloses membranaires (cf. b), doivent être moins fragiles puisqu'on ne décèle pas d'arabinose dans les jus de pomme, alors que l'arabinose constitue l'essentiel des produits d'hydrolyse membranaire dans toutes les séries d'analyses.

Cependant, étant donné la disparition de la presque totalité des hémicelluloses à la fin des essais, il faut tout de même admettre que les arabanes sont hydrolysées ; peut-être sont-elles utilisées à mesure ?

#### B : Le saccharose et les glucides réducteurs :

Les graphiques nos 2 et 3 fournissent l'évolution de ces deux groupes de glucides au cours de l'expérimentation. Le saccharose reste égal ou supérieur à ce qu'il était au début des essais durant le 1<sup>er</sup> mois à 18°, 2 mois à 12° et 4 mois à 2°. Pendant ce temps, les hémicelluloses, en effet, sont hydrolysées dans les fruits.

Les glucides réducteurs figurés sur



GRAPHIQUE 2. — Évolution du saccharose au cours de la maturation des pommes Golden à 18°, 12°, 2°.

En abscisses : nombre de jours de stockage.

En ordonnées : poids de saccharose en grammes pour 1000 g de poids frais.

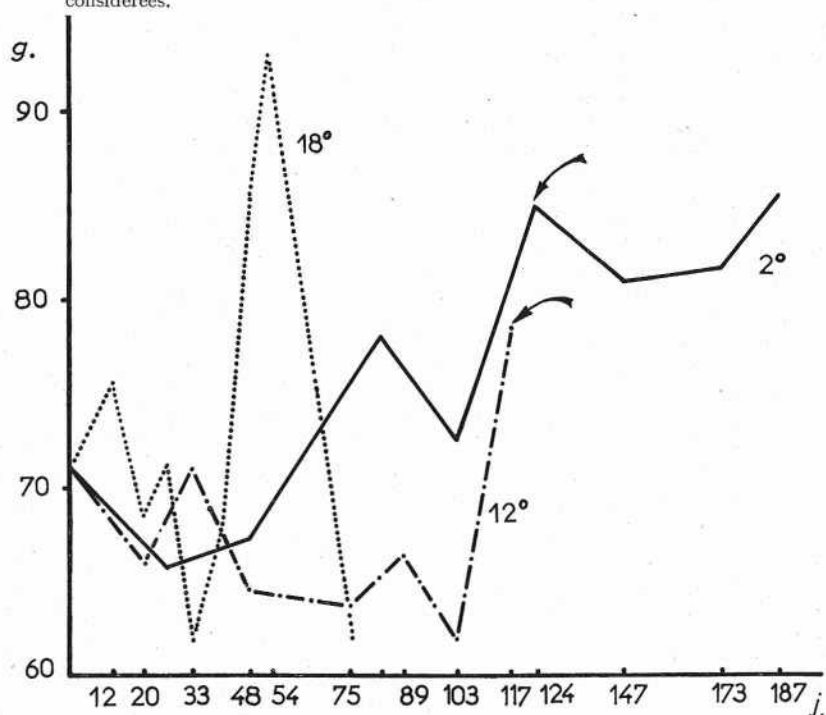
Les flèches indiquent l'apparition des grosses taches de pourriture aux températures considérées.

GRAPHIQUE 3. — Évolution des glucides réducteurs (essentiellement glucose, fructose et xylose) au cours de la maturation des pommes Golden à 18°, 12°, 2°.

En abscisses : nombre de jours de stockage.

En ordonnées : poids de glucides réducteurs en grammes pour 1000 g de poids frais.

Les flèches indiquent l'apparition des grosses taches de pourriture aux températures considérées.



le graphique 3 sont essentiellement constitués de glucose, de fructose et de xylose ; au cours de la conservation l'accroissement du taux de ces glucides correspond d'abord à l'hydrolyse des hémicelluloses, suivie de celle du saccharose.

7) FLORE MYCOLOGIQUE DES LENTICELLES :

a) *Champignons endémiques dans les loges lenticellaires.*

Avant l'entrée en cellules conditionnées, 35 % des lenticelles mises en culture présentent déjà des Champignons.

— A 18° c'est 50 % dès la 2<sup>e</sup> semaine, 85 % à la 3<sup>e</sup> semaine et 100 % des lenticelles à partir de la 4<sup>e</sup> qui recèlent un ou plusieurs Champignons.

— A 12°, l'évolution est presque aussi rapide : 90 % à la 4<sup>e</sup> semaine, mais la totalité de l'invasion des lenticelles par un ou plusieurs Champignons ne sera atteinte que lors de la 17<sup>e</sup> semaine.

— A 2°, longtemps le nombre de lenticelles envahi est plus faible : 38 % après 4 semaines et 65 % à la 15<sup>e</sup> semaine.

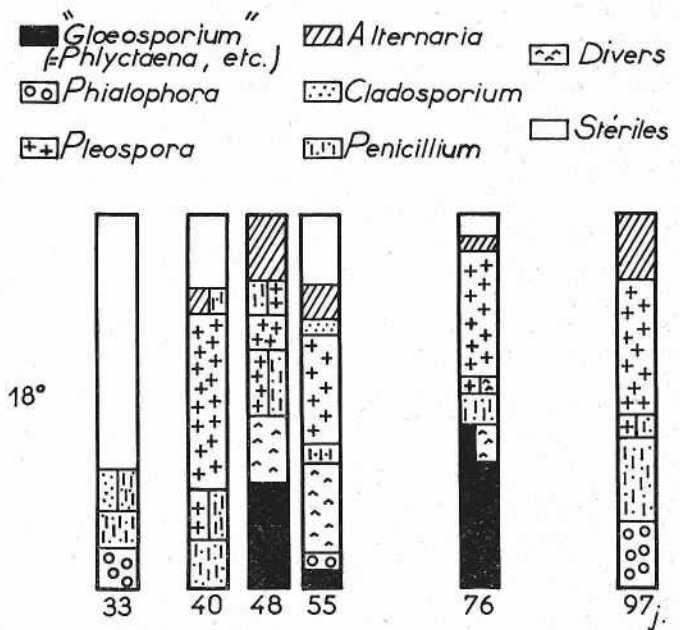
La nature des Champignons recensés et l'évolution des flores est dépendante de la température.

— Dans le lot initial, des *Alternaria* sont présents dans la moitié des lenticelles atteintes, des *Penicillium* et l'*Aureobasidium pullulans* se partageant l'autre moitié.

— A 18° l'*Aureobasidium* et les *Alternaria* régressent, le premier rapidement, au bénéfice des *Penicillium* dont l'extension est telle que dès la 6<sup>e</sup> semaine ils sont présents dans toutes les lenti-

celles pouvant y cohabiter avec le *Pleospora herbarum*, des *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Epicoccum*, etc.

— A 12°, la flore est plus variée, vraisemblablement d'ailleurs parce que le taux des *Penicillium* s'accroît beaucoup moins vite et qu'il ne dépasse pas 70 % des lenticelles en fin d'expérience. Le pourcen-

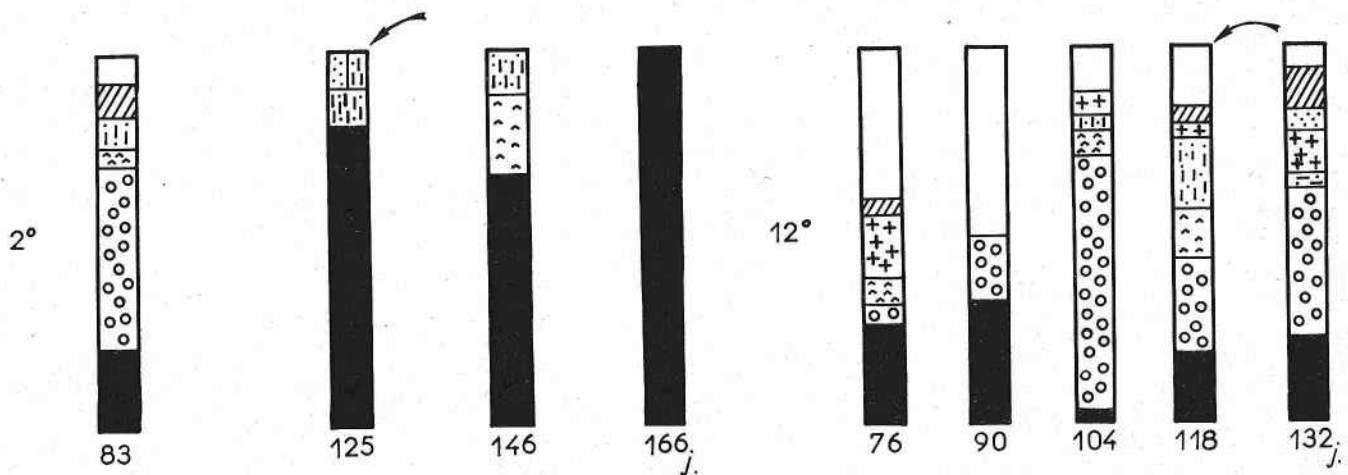


GRAPHIQUES 4-5-6. — Évolution des Champignons recensés dans les parenchymes périlenticellaires altérés à diverses étapes de la maturation des pommes Golden respectivement à 18°, 12°, 2°.

En abscisses : nombre de jours de stockage.

En ordonnées : importance relative des divers Champignons.

Les flèches indiquent l'apparition des grosses taches de pourriture à 'Gloeosporium' aux températures considérées.



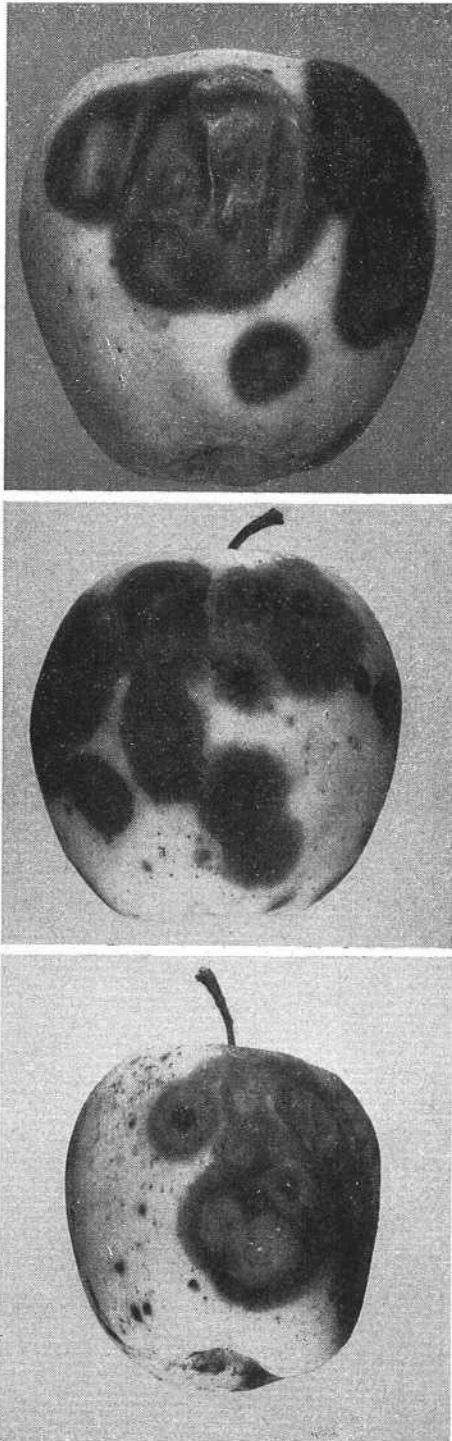


FIG. 5 à 7. — Plusieurs taches lenticellaires, se développant simultanément sur un même fruit, entrent en coalescence ; la région nécrosée s'affaisse. Quelques fructifications apparaissent.

tage de lenticelles infectées par les *Alternaria* demeure sensiblement le même que dans le lot de départ ; les *Cladosporium* et l'*Aureobasidium* se maintiennent pendant les 7 premières semaines ; le *Pleospora herbarum* est isolé régulièrement à partir de la 5<sup>e</sup> semaine ; le *Trichoderma viride*, des *Cephalosporium* apparaissent sporadiquement. Durant la 13<sup>e</sup> semaine sont observées deux espèces particulièrement intéressantes : le *Phialophora atra* et le *Phlyctaena vagabunda*.

— A 2<sup>o</sup>, à la 15<sup>e</sup> semaine, le *Penicillium* n'envahit que 40 % des lenticelles ; aussi les espèces recensées à 12<sup>o</sup> bien qu'avec un plus faible taux d'occupation sont-elles retrouvées. Le *Phialophora atra* est observé à la 4<sup>e</sup> semaine et le *Phlyctaena vagabunda* à la 7<sup>e</sup>.

#### b) Champignons isolés des parenchymes périlenticellaires.

Les graphiques nos 4-6 indiquent le pourcentage respectif des divers Champignons recensés dans les parenchymes périlenticellaires altérés.

Dès qu'une lenticelle présente un brunissement des cellules parenchymateuses sous-jacentes, lorsque l'on fait plusieurs prélèvements (il en a été pratiqué 3 à 12 par tache lenticellaire), les cultures ne révèlent pratiquement qu'une seule espèce fongique. On notera sur le graphique les rares cas (à 18<sup>o</sup>) où plusieurs Champignons cohabitent dans les mêmes tissus traumatisés.

Par contre il n'est pas impossible d'observer deux Champignons différents dans deux taches lenticellaires voisines.

Il apparaît sur le graphique un certain nombre de lenticelles supposées malades et cependant stériles. Plusieurs explications vraisemblables peuvent être proposées :

— lors du recensement des lenticelles « tachées », sous microscope stéréoscopique, l'éclairage rasant rend difficile la distinction entre cellules brunies par subérisation naturelle ou par réaction pathologique ;

— le brunissement de certaines lenticelles paraît physiologique ;

— les prélèvements aseptiques sont souvent très petits ; certains jeunes fragments mycéliens traumatisés et trop peu denses sont alors incapables de continuer leur croissance après transfert sur milieu nutritif ;

— certaines cellulesensemencées ont subi une action nécrogène à distance sans qu'elles soient encore envahies par un mycélium pathogène (ce fait a été vérifié par des prélèvements dans de jeunes taches à *Phlyctaena*, à des distances croissantes du point initial d'infection).

Plusieurs des Champignons communs dans les loges lenticellaires pénètrent et traumatisent les parenchymes sous-jacents. Il en est ainsi des *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium* ; en général le nombre de taches liées aux attaques de ces Champignons est faible et elles ne donnent que rarement lieu au développement d'une pourriture importante.

Par contre les graphiques 4-6 montrent nettement trois Cham-



pignons régulièrement recensés dans les lenticelles et qui, selon les conditions de température, donneront lieu au développement de taches plus ou moins importantes :

— A 18°, le *Pleospora herbarum* est le parasite qui cause le plus grand nombre de taches, elles apparaissent la 6<sup>e</sup> semaine et ne causent de pourriture qu'à la 14<sup>e</sup> semaine. Le *Phialophora atra* est recensé sporadiquement dès la 5<sup>e</sup> semaine et le *Phlyctaena vagabunda* dès la 7<sup>e</sup>, mais ces deux Champignons ne provoquent pas dans ces conditions, de grandes taches lenticellaires.

— A 12° la majorité des petites taches lenticel-

laires, au cours de la 11<sup>e</sup> semaine, est causée par le *Phialophora atra* et le *Phlyctaena vagabunda*, mais ce dernier, seul, provoquera dès la 17<sup>e</sup> semaine la formation de grosses taches typiques de pourriture.

— A 2° le *Phialophora atra* et le *Phlyctaena vagabunda* apparaissent à la 12<sup>e</sup> semaine, mais dès la 18<sup>e</sup>, celui-ci sera l'auteur de grosses taches. Il importe d'ailleurs de souligner qu'à cette température, durant les 10 semaines suivantes, nous pourrions recenser des taches à *Phlyctaena* à tous les stades de développement, beaucoup plus rarement à *Colletotrichum fructigenum* et à *Cryptosporiopsis malicorticis*.

## DISCUSSION

1° Le lot expérimenté était faiblement contaminé par le *Phlyctaena*.

2° Dans les conditions expérimentales, les grosses taches de pourriture que provoque ce Champignon sont apparues le 117<sup>e</sup> jour à 12°, le 125<sup>e</sup> jour à 2° ; il n'en est pas apparu à 18° bien que le lot initial ait été homogène.

3° Grâce à la microdissection, le *Phlyctaena* a été cultivé à partir de lenticelles issues des 3 enceintes, d'autant plus tôt d'ailleurs que la température était plus élevée :

dès le 48<sup>e</sup> jour à 18°  
le 76<sup>e</sup> jour à 12°  
le 83<sup>e</sup> jour à 2°.

Le *Phlyctaena* était donc bien présent dans les 3 enceintes et la température est un facteur déterminant de la formation des grosses taches lenticellaires à *Phlyctaena*.

4° Les prélèvements extérieurs qui ont permis le recensement de la flore lenticellaire n'ont laissé que rarement s'extérioriser le *Phlyctaena*. Plusieurs critiques apparaissent à cette technique :

a) Dans les entrepôts industriels et dans les lots les plus contaminés, il n'y a toujours qu'un petit nombre de taches lenticellaires par fruit comparé au nombre total de lenticelles :

le plus souvent 1 à 5 par fruit, soit 94 à 99 % de lenticelles saines, ou du moins qui ne seront pas le siège de développement du *Phlyctaena*. Dans ces conditions les chances de prélever avant tout symp-

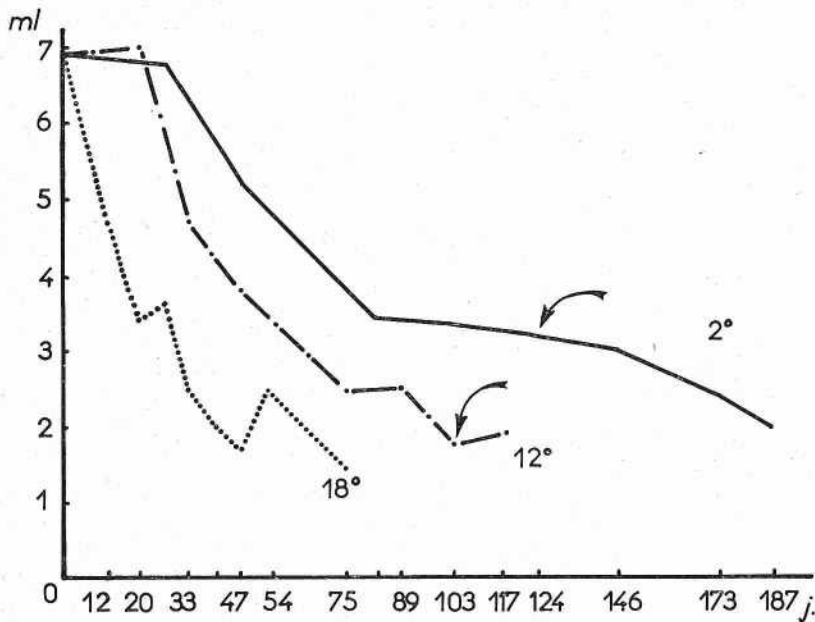
tôme morbide une lenticelle contenant des spores de *Phlyctaena* sur un fruit sont très faibles.

b) Nous avons vérifié *in vitro* que la germination de spores du *Phlyctaena* est facile dans l'eau, même assez rapide, mais que sa croissance est très lente (rappelons qu'en 30 jours, à 16°, le diamètre moyen des cultures atteint 35 mm mais qu'à 3° il est moitié moindre) (Moreau et Vuong, 1964).

Il en résulte que le parasite, même présent à l'état de spores dans une des lenticelles ensemencées, peut échapper au recensement, la présence d'autres Champignons très prolifiques, à croissance rapide *in vitro* et hautement compétitifs, supprimant ou masquant son développement dans les boîtes de culture.

Aussi la technique des prélèvements extérieurs ne permet-elle pas d'obtenir très tôt après la cueillette, une image fidèle du taux réel d'infection des lots par les parasites lenticellaires. Elle reflète plutôt la flore de surface (cf. MOREAU, 1960) ; la lenticelle apparaît alors peu différente du reste de la surface du fruit.

5° La plupart des examens effectués sur les pommes ont fourni des résultats et permis de dresser des courbes conformes à ce qui déjà est bien connu (ASKEW, 1935). C'est pourquoi nous ne les avons pas rapportés au complet ; leur seul intérêt est de nous faire connaître quelques aspects de la maturation des fruits, parallèlement à leur étude pathologique, afin de rechercher les corrélations possibles. Certains semblent n'en pas présenter (notamment poids sec, pH) ; d'autres au contraire offrent des accidents de



GRAPHIQUE 7. — Évolution de l'acidité totale au cours de la maturation des pommes Golden à 18°, 12°, 2°.

En abscisses : nombre de jours de stockage.

En ordonnées : millilitres de NaOH  $\frac{N}{10}$  pour 10 ml de jus.

Les flèches indiquent l'apparition des grosses taches de pourriture aux températures considérées.

courbes à des moments qui apparaissent critiques pour l'évolution pathologique du fruit :

A 18°, la première observation des parasites lenticellaires (surtout le *Pleospora*) correspond à un effondrement important du nombre de lenticelles « ouvertes », celle du *Phlyctaena* au minimum de la courbe. Les grosses taches à *Phlyctaena* (tant à 12° qu'à 2°) apparaissent peu après ce minimum, lors de l'augmentation considérable du nombre de lenticelles « ouvertes » liée vraisemblablement à la sénescence du fruit.

A 12° et 18° la perméabilité à l'hydrogène reste longtemps égale ou supérieure à 5 ml/mn ; par contre, à 2°, elle est très longue à atteindre cette valeur pour s'abaisser rapidement ; la détection du *Phlyctaena* s'observe en même temps que l'abaissement de la perméabilité.

La surface des auréoles colorées (perméabilité au bleu de méthylène) et le rapport de cette surface à celle de l'ostiole de la lenticelle correspondante, présentent un accroissement brutal à 12° et à 2°. La cause en est physiologique bien que l'attaque par un mycélium pathogène puisse amplifier le phénomène ; au même moment, apparaissent les premières grosses taches de pourriture dans les lenticelles contaminées.

Les courbes d'acidité totale (cf. graph. 7) après une chute brutale, semblent se stabiliser momentanément à des niveaux d'autant plus élevés que la température est plus basse. L'établissement de cette

stabilisation coïncide avec les premiers recensements du *Phlyctaena*.

Bien que le taux d'hémicelluloses s'abaisse rapidement, il reste relativement élevé au cours du premier mois et aucune altération des lenticelles n'est observée quelle que soit la température. Seuls les Champignons à développement superficiel sont alors détectés. Il nous paraît utile de vérifier ultérieurement le rôle éventuel des hémicelluloses dans l'évolution pathologique des fruits.

Les courbes d'évolution des glucides réducteurs et du saccharose sont très différentes selon les températures envisagées. Les corrélations soupçonnées seront peut-être vérifiées par l'étude *in vitro* du métabolisme glucidique des Champignons parasites en fonction de la température.

6° Dans l'ensemble, les phénomènes de maturation paraissent plus proches à 12° et 2° d'une part (bien qu'un peu décalés dans le temps) qu'à 12° et 18° d'autre part. L'évolution pathologique du fruit confirme cette observation. On ne peut donc proposer un test commode de diagnostic précoce de la maladie sur échantillons issus de lots douteux par maturation accélérée à 18°.

7° Si la plus basse température retarde un peu l'apparition des premiers symptômes, le temps écoulé entre ceux-ci et l'apparition des grosses taches de pourriture est, dans cette expérience, constant (voisin de 40 jours à 12° et à 2°). Il semble que l'infestation soit sensible au jeu des températures mais que

le processus pathologique, une fois déclenché, se poursuivre inéluctablement.

Ainsi le caractère foudroyant que prend la maladie, dès qu'apparaissent les premières taches de pourri-

tures en entrepôts frigorifiques, s'expliquerait peut-être par un état réceptif de la pomme, privée à un moment donné de barrières mécaniques et de tout autre moyen de défense.

## EXPÉRIENCES ANNEXES EN ENTREPOTS

### Expérience n° 1.

L'une d'entre elles mérite d'être soulignée car elle concerne des fruits provenant de 4 vergers différents ( $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$ ,  $V_4$ ), tous de la même région géographique que les fruits utilisés dans l'expérimentation principale.

Un lot homogène de pommes Golden provenant de chacun des vergers a été partagé en trois ;

a) 1/3 des fruits, laissé dans les conditions ambiantes, a été examiné un mois environ après la cueillette (fin novembre) ;

b) 1/3 après 3 mois de conservation en fruitier ventilé (fin janvier).

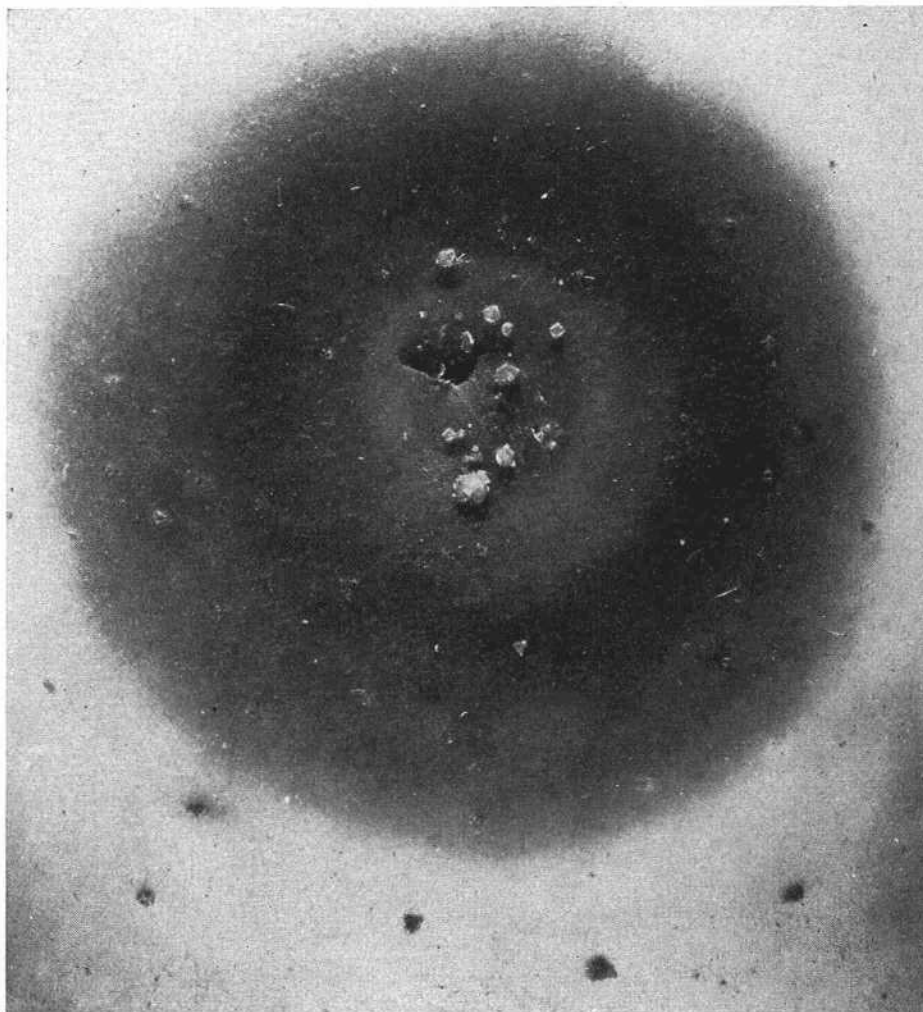


FIG. 8. — Détail d'une tache déjà très développée; le parasite (ici le *Colletotrichum fructigenum*) a formé ses acervules au centre. Les petites taches noires sont aussi des lenticelles parasitées.

c) 1/3 après 4 mois de séjour en frigorifique à 2° (fin février).

En a), aucune lenticelle soupçonnée malade n'a été observée ; la flore recensée à l'extérieur des pommes ne comporte que des espèces endémiques banales.

En b) et c), nous constatons que les 4 lots, bien que placés dans les mêmes enceintes et ayant subi des conditions semblables de conservation, ont évolué différemment selon leur origine ; ce qui milite une fois de plus pour une contamination des lots avant la cueillette.

Le tableau n° 4 indique les résultats obtenus en laboratoire sur échantillons pour les deux vergers considérés alors respectivement comme le moins et le plus contaminé ; il établit la comparaison avec le comportement ultérieur de l'ensemble de ces deux lots en entrepôt frigorifique.

Les pronostics de laboratoire se sont révélés satisfaisants pour les fruits des vergers examinés, sauf pour V<sub>3</sub>. En entrepôt, ce lot n'a pas présenté de taches de pourriture, or nos examens de janvier et de février le montraient pourtant contaminé (41,4 lenticelles présumées malades par fruit, dont 10,3 atteintes de « *Gloeosporium* »). Le diagnostic de contamination de ce lot a même pu être confirmé au laboratoire à deux reprises par la conservation prolongée, 3 mois à 2°, sous polyéthylène, de fruits issus des contrôles a) et c). Dans ces conditions d'humidité saturante,

le développement des lésions est d'ailleurs favorisé (SPENCER et WILKINSON, 1960). En fait, la contradiction n'est qu'apparente, ces fruits furent vendus après 95 jours de stockage à 2° et nous avons montré plus haut précisément qu'à cette température, les taches de pourriture se développaient vers le 125<sup>e</sup> jour ! La vente avait donc précédé d'un mois la formation des taches.

#### Expérience n° 2.

Sur des pommes d'une autre origine géographique, conservées sous hangar, reçues en décembre, on pouvait voir de petites auréoles rouges très typiques centrées sur quelques lenticelles. A la dissection, on observa que plusieurs cellules parenchymateuses centrales étaient nécrosées, tandis que celles de la périphérie présentaient un pigment rouge.

Les prélèvements aseptiques effectués dans la zone nécrosée révélèrent fidèlement le *Phlyctaena* ; par contre ceux de la zone périphérique colorée restèrent stériles, matérialisant une action à distance ; cette remarque n'implique pas que le *Phlyctaena* soit obligatoirement associé à une réaction colorée.

Les fruits du même verger conservés cette fois en entrepôt frigorifique, présentèrent dès la fin janvier, un taux élevé de pourriture, apportant une confirmation *a posteriori* à notre diagnostic.

TABLEAU 4.

Comparaison des résultats obtenus en laboratoire (en janvier) et du comportement en entrepôt (en mars) de deux lots de pommes Golden.

Origine	EXAMENS DE LABORATOIRE				Comportement en entrepôt
	1	2	3	4	
V <sub>1</sub>	0,5	4,4	0 à 11	1,8	Très bonne conservation
V <sub>4</sub>	7	55,8	4 à 112	35,2	Très mauvaise conservation (1)

Examens de laboratoire :

- 1 = lenticelles présumées malades : en % moyen par fruit
- 2 = lenticelles présumées malades : nombre moyen par fruit
- 3 = lenticelles présumées malades : valeurs limites par fruit
- 4 = lenticelles présumées malades et effectivement atteintes par un *Gloeosporium* (nombre moyen).

(1) De 5 à 30 % de pertes selon la date de la vente.

## CONCLUSIONS

Parmi les divers Champignons responsables des « taches lenticellaires » de la pomme Golden, le *Phlyctaena vagabunda* Desm. (= *Gloeosporium album* Osterw.) est apparu, selon nos observations, comme le plus fréquent dans les conditions habituelles de conservation des fruits.

A 12° et 2°, 40 jours avant l'apparition des grosses taches de pourriture, le parasite a été cultivé à partir de quelques cellules nécrosées. Par le jeu des températures, il a été possible de détecter la maladie dès la 7<sup>e</sup> semaine de maturation alors même que les symptômes morbides ne se déclaraient que la 18<sup>e</sup> semaine à 2°.

Les vergers dont nous avons utilisé les fruits dans ces expérimentations sont régulièrement soignés et les traitements chimiques fréquents et variés qu'ils ont reçus au cours de l'année, et tout particulièrement des 2 mois précédant la cueillette, ont paru sans résultat à l'encontre de cette maladie. (Les tableaux de traitement des 4 vergers de l'expérience annexe 1, dont on sait l'évolution différente des fruits, étaient très comparables.) Une étude de la biologie des Champignons pathogènes est indispensable pour comprendre les processus de contamination et d'infestation, en rapport avec le développement et la maturation des pommes et pour rechercher une méthode de lutte.

(Laboratoire de Biologie Végétale,  
Collège Scientifique Universitaire, Brest  
et Laboratoire de Physiologie végétale,  
Faculté libre des Sciences, Lille).

Ce travail a été réalisé avec l'aide du Fonds National de Développement de la Recherche Scientifique. Il nous est agréable de remercier le Professeur R. ULRICH qui a bien voulu nous autoriser à utiliser certaines installations du Laboratoire de Biologie Végétale de la Station expérimentale du Froid de Bellevue, M. MARCELLIN qui par sa connaissance de la physiologie des pommes et M. GAC par sa connaissance des problèmes physiques d'entreposage, nous ont utilement aidés à élaborer cette expérimentation, M. PAULIN qui nous a conseillés pour le montage des enceintes conditionnées, M<sup>me</sup> DUBOIS qui a réalisé les mesures de perméabilité aux gaz, M<sup>me</sup> HACCARD qui a effectué les photographies illustrant ce mémoire, les Coopératives et Sociétés fruitières qui nous ont fourni le matériel d'étude.

## BIBLIOGRAPHIE

- ASKEW (H. O.). — Changes in the chemical composition of developing apples. *Jour. Pom. and Hort. Sci.*, t. XIII, p. 232-246, 1935.
- BONDoux (P.). — Les pourritures se développant à partir des lenticelles sur des pommes. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, t. XLV, p. 407-412, 1961.
- BONDoux (P.). — Les principales maladies cryptogamiques des poires et des pommes en conservation. *Bull. techn. Inf. Ing. Serv. Agr.*, n° 179, p. 235-249, 1963.
- CORKE (A. T. K.). — Bitter rot apples. I. Branch inoculations with *Gloeosporium perennans* and *G. album*. *Rep. Agric. hort. Res. Stn. Bristol*, 1954, p. 164, 1955.
- EDNEY (K. L.). — The rotting of apples by *Gloeosporium perennans* Zeller et Childs. *Ann. appl. Biol.*, t. XLIV, p. 113-128, 1956.
- HAMER (P. S.). — Review of ten years team work on *Gloeosporium*. *Grower*, t. LVIII, p. 734-735, 738-782, 1962.
- KIENHOLZ (J. R.). — Comparative study of the apple anthracnose and perennial canker fungi. *J. Agric. Res.*, t. LIX, p. 635, 1939.
- KRAPF (B.). — Anatomische Untersuchungen der Apfelhaut. *Schweiz. Z. Obst- u. Weinb.*, t. LXX, p. 333-340, 1961.
- MARCELLIN (P.). — Repérage des lenticelles perméables aux gaz à la surface d'un fruit. *C. R. Acad. Sci.*, t. CCXL, p. 108-111, 1955.
- MARCELLIN (P.). — Voies et mécanismes des échanges gazeux des fruits. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, t. IV, p. 17-25, 1958.
- MARCELLIN (P.). — Étude expérimentale de la diffusion de l'air et du gaz carbonique à travers les fruits (effet Devaux). *Rev. Gén. Bot.*, t. LXVII, p. 1-13, 1960.
- MOREAU (C.). — Morphologie comparée de quelques *Phialophora* et variations du *P. cinerescens* (Wt.) van Beyma. *Rev. de Mycol.*, t. XXVIII, p. 260-276, 1963.
- MOREAU (C.) et MOREAU (M.). — Les efflorescences mycéliennes sur fruits. *Fruits*, t. XV, p. 239-241, 1960.
- MOREAU (C.) et VUONG HUU HAI. — Étude sur la croissance du *Phlyctaena vagabunda* Desm. à diverses températures. *Rev. de Mycol.*, 1964 (en cours de parution).
- ROSPER (A.). — Recherches sur le développement du fruit chez quelques variétés du poirier (*Pirus communis* L.), et du pommier (*Pirus Malus* L.). *Thèse Fac. Sci. Paris*, 94 p., ronéot., 8 avr. 1957.
- SPENCER (D. M.) et WILKINSON (E. H.). — Further experimental work on the control of *Gloeosporium* in the store. *Plant Pathology*, t. IX, p. 49-51, 1960.
- WILKINSON (E. H.). — Die back and canker of apple branches caused by a *Gloeosporium* species. *Gdn's Chron.*, t. CXI, p. 269, 1942.
- WILKINSON (E. H.). — Bitter rot of apples caused by *Gloeosporium album* Osterw. with special reference to the variety Allington Pippin. *Rep. Agric. hort. Res. Stn. Bristol*, p. 81, 1943.
- WILKINSON (E. H.). — Observations on the perennial canker fungus *Gloeosporium perennans* Zeller and Childs. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, t. XXVIII, p. 77, 1945.
- WILKINSON (E. H.). — Perennial canker of apple trees in England. *Gdn's Chron.*, t. CXIV, p. 159, 1943 et *J. Pomol.*, t. XXI, p. 180, 1945.