

Quelques aspects physiologiques des relations hôte-parasite durant la conservation des pommes.

G. BOMPEIX*

QUELQUES ASPECTS PHYSIOLOGIQUES DES RELATIONS HÔTE-PARASITE DURANT LA CONSERVATION DES POMMES
G. BOMPEIX

Fruits, Jan. 1978, vol. 33, n°1, p. 22-26.

RESUME - Trois phases sont reconnues depuis le début de la croissance jusqu'à la sénescence des pommes en ce qui concerne leur sensibilité aux *Pezizula* spp. Dans la phase réfractaire, l'infection est impossible quelle que soit la méthode employée essentiellement à cause de la résistance à la macération des tissus et de la présence d'inhibiteurs pré et post-infectionnels. Durant la phase intermédiaire il est possible d'infecter les fruits artificiellement grâce à des blessures, des apports d'enzymes (dépolymérase pectinolytiques, protéases) de nutriments au niveau des lenticelles par des infiltrations lenticellaires. La phase de sensibilité permet l'installation naturelle des parasites par suite de l'absence d'inhibiteur post-infectionnel, de la chute des inhibiteurs pré-infectionnels et de la résistance à la macération (endo-PG et endo-PMG), de la synthèse accrue des enzymes de lyse des parois et de leur fonctionnement devenu optimal, de l'établissement enfin, d'une nutrition carbonée et surtout azotée suffisante.

Pour la plupart d'entre eux les parasites des pommes en conservation ne se développent pas immédiatement. C'est en particulier le cas des *Pezizula* spp. et de quelques autres champignons parmi lesquels on peut citer le *Cylindrocarpon mali*, le *Sphaeropsis malorum*, etc. Ils sont classés sous la rubrique des parasites dits latents.

En revanche d'autres parasites fongiques peuvent avoir un développement sans délai surtout sur une blessure ou un traumatisme quelconque, on les qualifie de parasites de blessures, car c'est là leur localisation la plus fréquente. Le plus souvent il s'agit du *Botrytis cinerea*, du *Penicillium expansum*, du *Rhizopus nigricans*. Ces parasites peuvent plus rarement se développer d'une manière retardée. En

outre les *Phytophthora* spp. apparaissent au moment de la récolte aussi bien que durant la conservation.

DYNAMIQUE DE LA MALADIE POUR LES PARASITES LATENTS DU TYPE *PEZIZULA* spp.

Tout d'abord, nous devons connaître avec précision, en quoi consiste le phénomène de latence d'un point de vue dynamique. S'agit-il du développement synchrone et brutal des lésions ou est-ce au contraire un phénomène progressif ?

Nous avons essayé d'apporter une réponse à cette première question. En effet, si nous apprécions l'évolution de la maladie non plus par le taux de fruits malades, mais par la dimension et le nombre de lésions, rangés par classes,

* - Université Paris VI, Pathologie végétale, T 53, 4 place Jussieu, 75230 Paris Cédex 05.

Communication présentée au Onzième Colloque de la Société française de Phytopathologie, Paris 18 mai 1976.

nous pouvons mieux établir le phénomène de latence d'un point de vue dynamique.

En outre, on peut comparer l'évolution pathogénique dans l'air (maturation) et en atmosphère contrôlée (maturation inhibée ou retardée). Les deux *Pezicula* ont la même vitesse de croissance *in vitro*, dans l'air et en atmosphère contrôlée. La vitesse de croissance dans les tissus de fruits est plus lente mais reste la même pour les deux types d'atmosphère pour des fruits dans le même état physiologique. Cependant, la vitesse de croissance du *P. malicorticis* dans le fruit s'accélère considérablement au cours de la maturation (air) tandis qu'elle reste stable en atmosphère contrôlée. Ce phénomène est beaucoup moins sensible pour le *P. alba* (BOMPEIX, 1978).

En résumé :

1) La latence est plus le fait du *P. alba* que du *P. malicorticis*. En effet, le *P. malicorticis*, contrairement au *P. alba*, peut se développer sur fruits immatures en atmosphère contrôlée.

2) L'évolution dynamique de la maladie dans l'air semble montrer une première éclosion de taches lenticellaires sur fruits verts à laquelle s'ajoute une deuxième éclosion de la maladie au moment de la maturation. Les taches lenticellaires n'apparaissent pas ainsi toutes en même temps. Le développement de la maladie n'est pas synchrone mais très progressif et s'effectue en deux temps.

Il semble donc que la maturation ne fait qu'accélérer un processus pathogène déjà en cours. Le *P. alba* étant plus sensible aux bas pH et aux inhibiteurs phénoliques, doté d'un arsenal enzymatique moins puissant, se développera plus tard, mais l'effet de la maturation n'en sera que plus spectaculaire (cf. *infra*).

3) Les inoculations réalisées soit par des suspensions de pycnospores, soit par des homogénats de mycélium frontal, fournissent les mêmes résultats (BOMPEIX, *loc. cit.*). Il ne paraît pas que la rupture de la phase latente soit due à une stimulation de la germination des pycnospores par l'acide abscissique (BORECKA et PIENAZEK, 1968). Dans les deux cas, il y a formation rapide d'un mycélium latent explorant les activités lenticellaires, en contact avec les cellules vivantes, mais momentanément ralenti sinon arrêté dans son développement.

MODALITES DE LA RESISTANCE DES FRUITS AUX AGENTS DE POURRITURE.

Le fruit évolue inexorablement vers la sénescence et perd certaines propriétés de résistance qu'il avait au début de la période de conservation et, bien entendu, avant la récolte. Quels sont les facteurs en cause ?

Une réaction type phytoalexine a pu être observée par SWINBURNE (1973) sur des fruits encore attachés à l'arbre, à l'encontre du *Cylindrocarpon mali* et d'autres parasites comme *P. malicorticis*. La phytoalexine produite est simplement de l'acide benzoïque. Outre cette réaction, la richesse en composés phénoliques divers (MACHEIX, 1968, 1970) et en acides organiques assure l'immunité vis-à-vis de la plupart des parasites fongiques, c'est la phase réfractaire pendant laquelle l'infection est impossible. Nous avons pu observer des réactions type anthocyaniques sur des fruits en conservation au niveau de jeunes lésions à *Pezicula*, mais sans effet apparent sur le grandissement des lésions. Sans négliger la possibilité de remaniement dans le pool des phénols au niveau même des lésions, remaniements qui pourraient passer inaperçus lors d'une analyse de toute la peau du fruit, il semble qu'à près de 0°C, ces réactions soient fortement amoindries et négligeables. Il est logique que la plupart des auteurs se soient préoccupés des phytoncides au cours de la conservation, c'est-à-dire, essentiellement des composés phénoliques préexistants à l'infection auxquels on peut joindre les acides organiques, dont l'acide malique est le principal représentant chez la pomme. Les phytoncides phénoliques sont avant tout l'acide chlorogénique et les leucoanthocyanes. Divers auteurs ont constaté la diminution progressive, au cours de la conservation, des concentrations en composés phénoliques et leur ont attribué le rôle de substances protectrices. Deux modes d'action sont possibles : par toxicité directe sur les champignons ou, indirectement, par exemple, en réprimant les activités enzymatiques des parasites.

Cependant, *in vitro*, ces composés phénoliques ne nous ont pas paru très actifs sur les parasites de pomme et l'on peut remarquer qu'il est possible d'inoculer sur blessures presque tous les parasites, y compris les *Pezicula*, au moment de la récolte et durant toute la phase intermédiaire. Ces phytoncides ne semblent donc pas bloquer le développement des parasites dans certaines conditions.

Nous définissons la phase intermédiaire comme un stade physiologique de l'évolution du fruit où, dans les conditions naturelles, les lésions à *Pezicula* n'apparaissent pas, mais que l'on peut obtenir par des artifices expérimentaux : addition d'enzymes ou de nutriments aux sites de pénétration, infiltrations lenticellaires, etc. (BOMPEIX, 1966, 1970, 1972).

Nous avons dosé les composés phénoliques sur des fruits évoluant soit dans l'air avec de nombreuses lésions, soit dans l'atmosphère contrôlée sans aucune, ou avec très peu de lésions (BOMPEIX, BOUSQUET, 1974). Les résultats montrent que les composés phénoliques évoluent d'une manière quasiment égale dans l'air et en atmosphère contrôlée et ne peuvent donc pas être tenus pour des inhibiteurs directs de la pathogénèse. En revanche, le pH évolue d'une manière très différente, partant d'une valeur de 2,8-3,0, il passe dans l'air à 4,0 puis 4,5-5,0 sur des fruits sénescents.

Or, entre 3,0 et 4,5, les composés phénoliques perdent, pour certains d'entre eux, la possibilité d'inhiber ou de ralentir la croissance mycélienne (cas de l'acide chlorogénique). En atmosphère contrôlée, le pH reste très bas comparé à la conservation dans l'air.

Donc, l'acidité joue ici un rôle indirect. Voyons maintenant éventuellement son activité directement à l'encontre des parasites. Pour cela nous cultivons les parasites sur un milieu contenant comme seule source de carbone de l'acide malique à pH 2,0-3,0-4,0-5,0 et nous déposons des explantats d'épaisseur variable de 2,5, 5 et 10 mm, obtenus sur un milieu neutre, de façon à créer entre le mycélium et le milieu une zone à gradient d'acidité (chaque explantat malgré son épaisseur variable contient la même quantité d'éléments nutritifs neutres, glucose et extrait de malt).

Comme il était logique de le penser les parasites de blessures résistent aux pH 2,0 sur lesquels ils peuvent croître avec seulement un léger ralentissement. Les *Pezizula* ne peuvent envahir que difficilement et directement un milieu à pH 3,0, sauf si l'explantat est épais. Cela explique très bien d'ailleurs pourquoi une blessure permet également le développement, dès la récolte, des *Pezizula* puisque la blessure réalisera cette sorte de zone tampon à gradient que nous avons réalisé ici expérimentalement (BOMPEIX, 1977).

Conformément à ce que l'on observe souvent, le *S. malorum* exige un pH encore plus élevé et va apparaître, comme d'autres parasites, tout à fait en fin de conservation. Ainsi, durant la phase intermédiaire jusqu'à la phase de sensibilité (période naturelle d'apparition des lésions) la résistance est due en majeure partie au bas pH des fruits, agissant directement sur les parasites et indirectement en modulant l'activité des composés phénoliques. Mais le pH agit aussi sur l'activité des enzymes de lyse des parois. En effet, tous ces parasites sont essentiellement intercellulaires et nous avons montré, avec nos collaborateurs, qu'ils sécrètent une gamme très étendue d'enzymes (BAYAAH, 1973 ; BOMPEIX et POIRET, 1974 ; BOMPEIX, 1971, 1972). Ces enzymes voient leur activité varier considérablement avec le pH et là se pose un problème non encore

résolu pour les cellules végétales : quel est le pH dans les différents compartiments cellulaires et notamment intrapariétal, et comment ce pH varie-t-il ?

Il existe un phénomène général pour tous les parasites des fruits, c'est l'accroissement considérable de l'activité de ces enzymes entre les pH 3,0 et 4,5 ce qui va dans le sens du parasitisme.

En outre, selon l'environnement biochimique et physique du parasite, les enzymes produites diffèrent qualitativement et quantitativement, il y a de nombreuses preuves dans d'autres systèmes hôte-parasite relevés par ALBERSHEIM et al. (1969). Dans le cas des parasites de fruits, la nature et la quantité d'enzymes obtenues varient considérablement selon les conditions suivantes : *in vivo* (fruit infecté), *in vitro* (milieu de culture synthétique, ou avec parois végétales comme source de carbone, sur cultures de tissus de pommes).

De plus, dans le cas des organes végétaux conservés comme les pommes, nous pensons qu'un facteur a été négligé. En effet, la plupart des travaux portent sur le métabolisme glucidique ; or les pommes sont pauvres en azote total et contiennent rarement plus de 80 mg/100 g (poids frais) avec très peu d'acides aminés libres. Ces derniers sont indispensables pour que les parasites fabriquent leurs propres enzymes de dégradation attaquant :

- les protéines de l'hôte (parois et membranes, cytoplasme).
- les polysaccharides des parois.

La quantité de nutriments azotés disponibles dans le cas des pommes pourrait représenter un facteur limitant du développement des parasites.

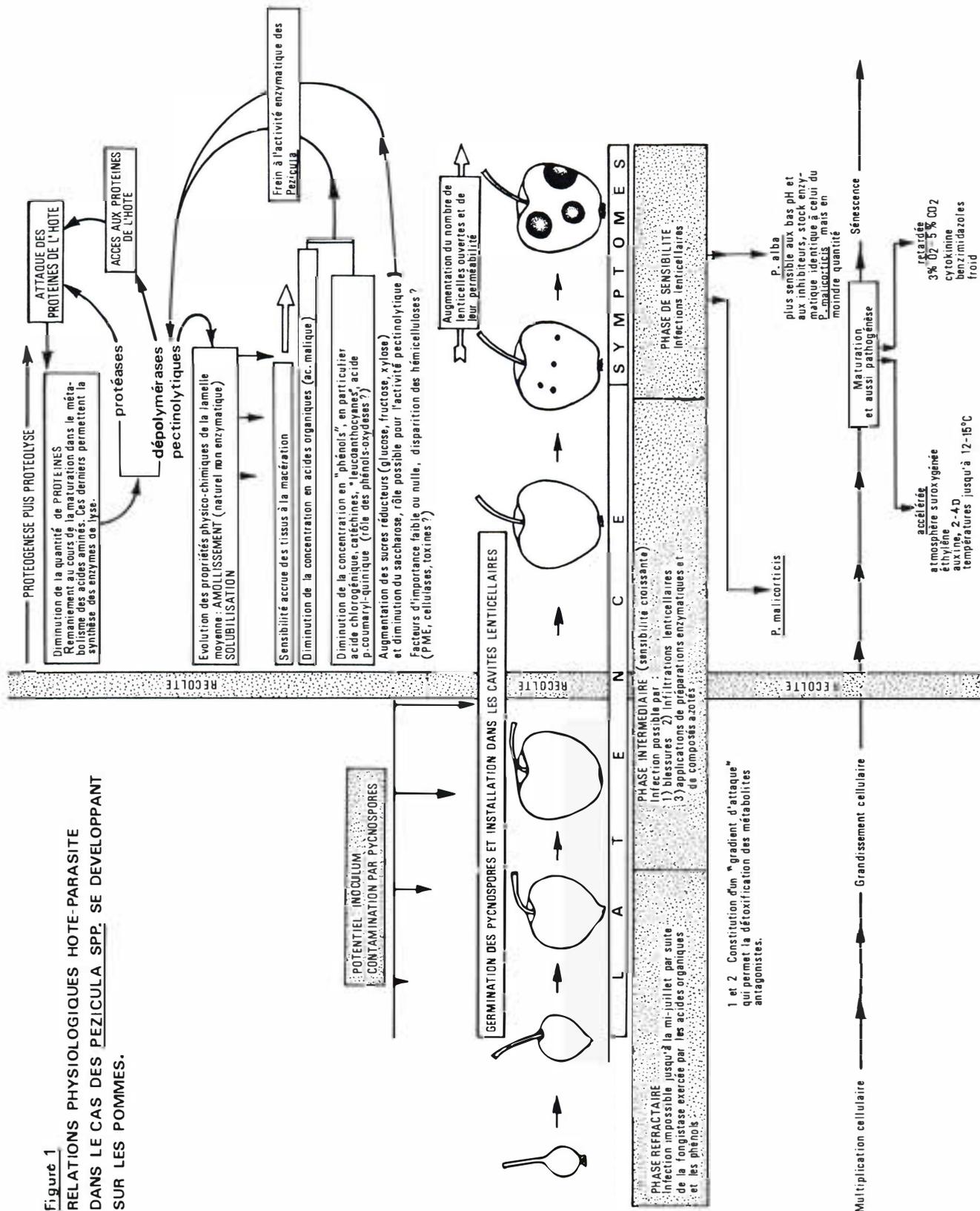
Dans le cas particulier des *Pezizula*, on peut constater une très forte différence d'activité protéolytique entre les deux espèces testées ici, sur trois protéines différentes, par la méthode de diffusion sur disque de gélose (tableau 1).

Une deuxième observation est la rôle stimulant de la pathogénèse obtenu par des protéases bactériennes ou fongiques au niveau des sites de pénétration. Une troisième

TABLEAU 1 - Activités protéolytiques des *Pezizula* spp. sur trois protéines (caséine, soja, gélatine). Les chiffres indiquent le diamètre moyen des zones de lyses, en mm (KHARE et BOMPEIX, 1976) avec l'écart-type sur 12, 18, 23 ou 24 mesures selon le cas. Les différences d'activités protéolytiques sont hautement significatives.

	pH 5,0			pH 8,0		
	caséine	soja	gélatine	caséine	soja	gélatine
<i>P. alba</i>	±	$20,65 \pm 1,54$ (23)	$21,95 \pm 1,04$ (24)	$12,62 \pm 1,58$ (24)	$14,29 \pm 1,23$ (24)	$21,95 \pm 0,95$ (24)
<i>P. malicorticis</i>	$11,08 \pm 0,79$ (12)	$26,23 \pm 1,70$ (18)	$26,11 \pm 0,90$ (18)	$16,16 \pm 0,70$ (18)	$17,94 \pm 0,73$ (18)	$25,66 \pm 1,02$ (18)

Figure 1
RELATIONS PHYSIOLOGIQUES HOTE-PARASITE
DANS LE CAS DES PEZICULA SPP. SE DEVELOPPANT
SUR LES POMMES.



voie a été de constater la stimulation considérable de la pathogénèse apportée par des acides aminés purs. Presque tous les acides aminés (on en a essayé plus de 20) produisent une forte stimulation ; parmi les plus efficaces, on peut relever : l'acide glutamique, les amino-acides soufrés, l'hydroxyproline.

Ces différents résultats apportent des preuves convergentes sur l'importance de la nutrition azotée dans les interactions hôte-parasite et le rôle, sans doute majeur, que jouent les enzymes protéolytiques à cette occasion.

Comme les autres enzymes, les protéases des *Pezizula* subissent un accroissement considérable d'activité entre les pH 3,0 et 4,5.

L'accessibilité aux protéines de l'hôte, en outre, doit être rendue plus facile par l'évolution et la destruction des polysaccharides.

CONCLUSION

La perte de résistance des fruits, phénomène complexe, peut maintenant être expliquée d'une manière plus précise. Les différents facteurs évoqués n'agissent pas indépendamment les uns des autres et, d'autre part, n'ont pas la même importance relative tout au long de la vie du fruit.

Dans la phase réfractaire, il y a impossibilité d'infecter les fruits quelle que soit la méthode employée. Dans la phase intermédiaire, outre les phénomènes explicités par la figure 1, SCHULZ (1976) ajoute une diminution de perméabilité cellulaire sous l'influence des *Pezizula* spp. Ces parasites provoquent en quelque sorte à leur niveau un défaut de nutrition. Cette observation apporte une preuve supplémentaire qu'aux phytoncides (composés phénoliques et acides organiques), il faut ajouter un aspect nutritionnel. La maturation provoque la perte de résistance mécanique des parois, l'effondrement du taux des divers phytoncides et, en même temps, permet une nutrition azotée et carbonée suffisante pour que la croissance mycélienne intercellulaire soit assurée durant la phase de sensibilité.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERSHEIM (P.), JONES (T.M.), ENGLISH (D. Patricia). 1969. Biochemistry of the Cell Wall in Relation to Infective Processes. *Ann. Rev. Phytopath.*, 7, p. 171-194.
- BAYA AH (B.). 1973. Etude physio-pathologique de l'infection fongique des pommes par les parasites de blessures et les parasites latents. *These Dr. Ing.*, Univ. Paris VI, 92 p.
- BOMPEIX (G.). 1966. Comment limiter les pertes en entreposage liées aux taches lenticellaires des pommes Golden. *Rev. Gen. Froid*, 10, p. 1385-1390.
1970. Activités cellulolytiques et pectinolytiques dans les tissus de mésocarpe de pomme en culture *in vitro* en présence de *Gloeosporium* spp. *C.R. Acad. Sc.*, 271, p. 369-399.
1970. Intervention des facteurs nutritionnels dans le développement *in vivo* des parasites latents du type *Gloeosporium* spp. *C.R. Acad. Sc.*, 271, p. 1623-1626.
1971. Activités enzymatiques *in vivo* et pouvoir pathogène des *Pezizula* spp. parasites des pommes. *Communic. Soc. Fr. Phytopath.* 14 oct. *Ann. Phytopath.*, 4, p. 528.
1972. Recherches sur la biologie du *Pezizula alba* GUTH. *Thèse de Doct. ès Sc. Univ. Paris VI*, 232 p.
1977. Analyse du rôle de l'acide malique en tant que phytoncide. Recherche d'un modèle expérimental *in vitro*. Travaux dédiés à G. VIENNOT-BOURGIN. *Soc. Fr. Phytopathol.*, p. 27-46.
1978. The comparative Development of *Pezizula alba* and *P. mali-corticis* on Apples and *in vitro* (Air and Controlled Atmosphere). *Phytopath. Z.* (sous presse).
- BOMPEIX (G.) et BOUSQUET (J.F.). 1974. Les composés phénoliques dans la résistance des pommes à l'infection par les *Pezizula mali-corticis* et *P. alba*. *Fruits*, 29, p. 693-696.
- BOMPEIX (G.) et POIRET (B.). 1974. Production d'enzymes pectinolytiques et cellulolytiques, de protéase et de xylanase par le *Sphaeropsis malorum* PECK. cultivé sur parois végétales. *C.R. Acad. Sc.*, 279, p. 275-278.
- BORECKA (H.) et PIENIAZEK (J.). 1968. Synthetic abscisic acid and natural abscisic acid extracted from fleshy fruits as factors stimulating the germination of spores of pathogenic fungi. *First Intern. Cong. Plant Path. (Abstracts p. 19) juillet*.
- KHARE (K.B.) et BOMPEIX (G.). 1976. Activités protéolytiques des *Sclerotinia sclerotiorum* et *S. minor* : Rôle possible dans la pathogénèse. *Rev. Mycol.*, 40, p. 65-84.
- MACHEIX (J.J.). 1968. Quelques observations sur les composés phénoliques des pommes : recherches préliminaires à une étude particulière de l'acide chlorogénique. *Fruits*, 23 (1), p. 1320.
1970. Présence dans les pommes de plusieurs dérivés de l'acide paracoumarique. *C.R. Acad. Sc.*, 272, 8, p. 1097-1100.
1970. Rôle de divers facteurs intervenant dans le brunissement enzymatique des pommes pendant la croissance. *Physiol. végét.*, 8, 4, p. 585-602.
- SCHULZ (F.A.). 1976. Some physiological and biochemical aspects of the action mechanism of fungal parasites during fruit storage. Maladies des org. vég. isolés en cours de conservation. *Coll. Soc. Fr. Phytopath.*, Paris, 18 mai *Fruits*, Jan. 1978, vol. 33, n 1, p.
- SWINBURNE (T.R.). 1973. The resistance of immature Bramleys's seedlings apples to rotting by *Nectria galligena* BRES. in Fungal Pathogenicity and the Plant's Response. p. 365-382. London-New York, Academic Press.