



**HAL**  
open science

# Les rayonnements UV-C : un moyen de lutte pour stimuler les défenses du fraisier et de la tomate en cours de culture et améliorer la qualité / conservation des fruits après récolte

Marine Forges

## ► To cite this version:

Marine Forges. Les rayonnements UV-C : un moyen de lutte pour stimuler les défenses du fraisier et de la tomate en cours de culture et améliorer la qualité / conservation des fruits après récolte. Autre [q-bio.OT]. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (UAPV), Avignon, FRA., 2018. Français. NNT : 2018AVIG0700 . tel-02791693v2

**HAL Id: tel-02791693**

**<https://theses.hal.science/tel-02791693v2>**

Submitted on 27 Mar 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse**  
Ecole Doctorale Sciences et Agrosociétés (ED 536)

Thèse

Spécialités : Sciences agronomiques et phytopathologie

**Les rayonnements UV-C, un moyen pour stimuler  
les défenses du fraisier et de la tomate en cours de  
culture et améliorer la qualité / conservation des  
fruits après récolte**

**Par : Marine FORGES**

Unité Mixte de Recherche Qualisud  
Laboratoire de Physiologie des Fruits et Légumes (UAPV)  
*Avignon*

Pathologie Végétale  
INRA  
*Montfavet*

**Soutenue le 29 novembre 2018 devant un jury composé de :**

---

Marie-France Corio-Costet	Directrice de recherche, INRA, Bordeaux	Rapporteur
Nathalie Gaveau	Maître de Conférences (HDR), URCA, Reims	Rapporteur
Olivier Faure	Maître de Conférences, MINES, Saint-Etienne	Examinateur
Laurent Urban	Professeur, UAPV, Avignon	Examinateur
Christophe Aubert	Ingénieur-docteur, CTIFL, Saint-Rémy-de-Provence	Invité
Marie Thérèse Charles	Chercheuse scientifique, CRDH, Canada	Encadrante
Florence Charles	Maître de Conférences, UAPV, Avignon	Encadrante
Marc Bardin	Directeur de recherche, INRA, Avignon	Directeur
Jawad Aarouf	Maître de Conférences (HC/HDR), UAPV, Avignon	Directeur



*« Nous devons avoir de la persévérance...  
... et surtout de la confiance en nous-mêmes. »*

Marie Curie



## Remerciements

C'est sûrement la partie du manuscrit la moins évidente à rédiger car j'ai tellement de personnes à remercier.

Mes premiers remerciements vont à mes directeurs de thèse Jawad Aarouf et Marc Bardin, ainsi qu'à mon encadrante de thèse Florence Charles. Ils m'ont offert la chance de réaliser cette thèse dans un cadre de vie merveilleux. Ces quelques années à vos côtés sont passées beaucoup trop vite à mon goût. Je ne vous remercierais jamais assez de tout votre enseignement et de votre investissement à mon égard. La confiance que vous m'avez accordée me touche encore.

Je suis aussi reconnaissante envers la SFR Tersys et envers l'ED 536 pour l'offre de bourse Perdiguier, le laboratoire Physiologie des Fruits et Légumes (UAPV, Avignon) et l'unité Pathologie Végétale (INRA, Montfavet). Je remercie également le CTIFL de Saint-Rémy-de-Provence et le CRDH de Saint-Jean-sur-Richelieu (Canada) de m'avoir accueillie dans leurs laboratoires afin de compléter de nombreuses analyses, ainsi que le Ciref pour l'obtention des plants de fraisier de qualité.

Je remercie également les membres du jury : Marie-France Corio-Costet, Nathalie Gaveau, Olivier Faure et Aubert Christophe qui ont accepté de juger mon travail. Merci pour le temps que vous m'avez accordé et votre intérêt pour ma thèse.

Mes remerciements vont également aux membres des comités de pilotage de thèse : Daniel Wipf, David Page, Christophe Aubert, Jean-Christophe Breitler, Laurent Urban et Raphaël Lugan, pour leurs précieux conseils et remarques. Les comités étaient des moments conviviaux et je vous remercie pour votre gentillesse.

Je remercie toute l'équipe de l'UAPV et de l'INRA d'Avignon pour tous les bons moments passés ensemble. Je n'ai pas envie que cela s'arrête, alors j'espère pouvoir partager encore de nombreux moments avec vous très prochainement.

Merci pour votre joie de vivre, votre bonne humeur et tous vos sourires. Merci à Sandrine, Véro, Florence L., Emmanuelle, M<sup>r</sup> Roux, Florian, Raphou, Francky, Mohamed, Félicie, Huguette. Merci à l'équipe des serres de l'INRA : Joël Berraud, Michel Pascal et Nathalie Truglio, pour leurs petites attentions apportées chaque jour aux fraisiers. Merci également à Jean-Marc Bastien et Frédéric Pascal pour leur aide précieuse dans la conception de l'enceinte UV-C.

Merci à tous les étudiants que j'ai eu la chance d'encadrer, c'était un véritable bonheur : Margot et Victoria Gozlan, Laura Record, Myriam Arrouche, Claire Hoarau, Noémie Quazzo Dit Watts, Nicolas D'Ivernois et tout particulièrement Nicolas Pascouau qui a fait un travail énorme lors de ma dernière année de thèse.

Je remercie tout particulièrement Marie Thérèse Charles et son équipe d'avoir fait de mon séjour au Canada un moment gravé dans mon cœur. Et un grand merci à Dominique Roussel pour sa bonne humeur à chaque instant et à Daniel Rolland pour ces magnifiques standards sans qui je n'aurais pu faire toutes ces analyses aromatiques.

A mes mentors et professeurs, Daniel Wipf et David Wendehenne, pour leur contribution pré-thèse. Merci d'avoir crus en moi et de m'avoir fait dépasser mes limites et surmonter mes peurs dans le but de réaliser une thèse qui je pensais m'était inaccessible. J'ai pris connaissance de certaines capacités dont je ne me croyais pas capable et j'ai su à chaque fois donner le meilleur de moi-même.

Je souhaite remercier tout particulièrement ma famille et mes amis. Vous m'avez offert plus que tout ce que je pouvais désirer et mériter, et vous jouez un rôle primaire et dominant dans ma vie. Je suis la femme que je suis aujourd'hui grâce à mes parents et toutes les valeurs qu'ils ont pu m'apporter et qu'ils m'apportent encore aujourd'hui. Je ne vous remercierais jamais assez pour tout l'amour que vous me portez. Merci à ma petite *Mamounette* et à mon grand *Papouney*.

Ma petite sœur Justine, mon amour pour toi dépasse les mots. Je suis la plus heureuse des grandes sœurs de t'avoir dans ma vie. Sois fière de ce que tu es, car moi je suis fière de toi. Un lien unique et magnifique nous unie, la Famille.

A mes tantes et oncles, à mes cousins et cousines, je suis tellement reconnaissante de tout l'amour et le soutien que vous m'avez toujours donné.

Mille mercis à mes amis d'avoir contribué à mon bonheur par votre présence et vos attentions au quotidien. Merci à Natacha, alias *Thérèse*. Merci à Laura et Mélissa, alias les *Hamousters*. Merci à Emilie et Célia, alias les *Suzies*. Merci à Jonathan, alias *Pampan*. Et merci à ma gang de chums québécois : Michel et Myriame pour votre gentillesse inconditionnelle, je vous porte dans mon cœur. N'importe qu'elle personne serait chanceuse d'avoir un seul d'entre vous dans son entourage et j'ai la chance de vous avoir tous auprès de moi. Nous avons partagé beaucoup d'excellents moments et c'est loin d'être fini ! Mais au-delà de tout ça, ce sont les personnes que vous êtes qui m'incitent à m'améliorer à chaque instant.

Je conclue mes remerciements avec toi, mon Petit Lion. Jamais je n'aurais pensé que ma vie aurait autant changée en si peu de temps. Lorsque je te regarde aujourd'hui, je me rends compte du chemin qu'on a parcouru chacun de notre côté, et surtout le chemin que nous avons décidé de prendre ensemble. Merci pour ton amour, merci pour ton soutien, merci de me donner le sourire chaque matin.

Je remercie toutes les personnes de mon entourage que je n'aurais pas citées et qui ont été présentes pour moi à chaque instant. Je ne vous oublie pas, mais vous êtes tellement nombreux que je pourrais écrire un livre rien que pour vous remercier de ce que vous avez été et ce que vous avez fait pour moi.

Avec tout mon amour et ma  
reconnaissance 

*Marine*





## Sommaire

REMERCIEMENTS .....	3
SOMMAIRE .....	7
LISTE DES ABREVIATIONS.....	14
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	21
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>39</b>
I. INTRODUCTION .....	40
1. <i>Contexte général</i> .....	40
2. <i>Mécanismes de défense des plantes contre les agents pathogènes</i> .....	42
a. Généralités .....	42
b. Résistance active .....	44
c. Reconnaissance de l'agent pathogène et transduction du signal.....	46
d. Réponse de défense .....	47
3. <i>Principaux agents pathogènes cryptogamiques du fraisier</i> .....	52
a. Botrytis cinerea .....	52
b. Podosphaera aphanis .....	56
c. Rhizopus .....	59
4. <i>Méthodes de protection des cultures contre les agents phytopathogènes</i> .....	61
a. Lutte chimique.....	61
b. Méthodes alternatives de protection.....	63
c. Lutte physique .....	67
5. <i>Utilisation de la lumière pour protéger les cultures contre les champignons phytopathogènes</i> .....	68
a. Description des rayonnements UV .....	68
b. Mode d'action des rayonnements UV .....	69
c. <i>Effet des rayonnements UV-C en post-récolte</i> .....	71
d. Effet des rayonnements UV-C en pré-récolte.....	75
II. PLAN DU TRAVAIL .....	77
1. <i>Problématique</i> .....	77
2. <i>Hypothèses de travail</i> .....	78
3. <i>Plan du manuscrit</i> .....	79
III. PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES REALISEES AU COURS DE LA THESE .....	82
1. <i>Articles publiés et soumis</i> .....	82
2. <i>Communications orales et posters</i> .....	83
<b>CHAPITRE I .....</b>	<b>86</b>

<b>IMPACT DES RADIATIONS UV-C SUR LA SENSIBILITE DE TROIS VARIETES DE FRAISIERS (FRAGARIA X ANANASSA) CONTRE BOTRYTIS CINEREA .....</b>	<b>86</b>
I.    MODELE VEGETAL : LE FRAISIER .....	87
II.   IMPACT OF UV-C RADIATION ON THE SENSITIVITY OF THREE STRAWBERRY PLANT CULTIVARS ( <i>FRAGARIA X ANANASSA</i> ) AGAINST <i>BOTRYTIS CINEREA</i> .....	89
1. <i>Abstract</i> .....	89
2. <i>Introduction</i> .....	90
3. <i>Material and methods</i> .....	93
a.   Plant material .....	93
b.   UV-C treatment of plants .....	94
c.   Chlorophyll a fluorescence .....	96
d.   Determination of soluble and related phenolic compounds in non-treated leaves .....	98
e.   PAL activity .....	99
f.   Production of <i>B. cinerea</i> and leaf inoculation .....	99
g.   Histological examination: penetration zone of the pathogen in leaves .....	100
h.   Statistical analysis.....	101
4. <i>Results</i> .....	101
a.   Sensitivity level of three strawberry cultivars to <i>B. cinerea</i> .....	101
b.   Impact of UV-C on sensitivity level of strawberry plants against <i>B. cinerea</i> .....	104
5. <i>Discussion</i> .....	113
6. <i>Acknowledgments</i> .....	116
<b>CHAPITRE II .....</b>	<b>118</b>
<b>IMPACT DES RADIATIONS UV-C SUR LA SENSIBILITE DES FRAISES A <i>BOTRYTIS CINEREA</i> ET LEUR QUALITE EN POST-RECOLTE .....</b>	<b>118</b>
I.    QUALITE ET CONSERVATION DES FRUITS .....	119
1. <i>La qualité en post-récolte</i> .....	119
a.   Attributs de qualité .....	119
2. <i>La fraise</i> .....	122
3. <i>Objectifs de travail</i> .....	124
II.   MATERIEL ET METHODES.....	125
1. <i>Modèle végétal et culture</i> .....	125
2. <i>Traitements UV-C et conservation</i> .....	125
3. <i>Modèle fongique et tests pathologiques</i> .....	129
4. <i>Mesure de la couleur des fruits</i> .....	129
5. <i>Mesure de la fermeté des fruits</i> .....	130

6.	<i>Tests gustatifs</i> .....	131
7.	<i>Mesure de l'acidité titrable</i> .....	131
8.	<i>Matière sèche soluble</i> .....	131
9.	<i>Dosage de la vitamine C</i> .....	132
10.	<i>Dosages des sucres et acides organiques</i> .....	133
11.	<i>Dosages des polyphénols</i> .....	134
12.	<i>Dosages des composés volatils</i> .....	135
13.	<i>Analyses statistiques</i> .....	136
III.	RESULTATS ET DISCUSSION .....	137
1.	<i>Sensibilité des fruits</i> .....	137
2.	<i>Evolution de la qualité des fruits</i> .....	141
IV.	CONCLUSION .....	155
<b>CHAPITRE III</b> .....		<b>157</b>
<b>IMPACT DES RADIATIONS UV-C APPLIQUEES EN PRE-RECOLTE SUR LA SENSIBILITE DU FRAISIER A DIFFERENTS AGENTS PATHOGENES ET SUR LA QUALITE/CONSERVATION DES FRUITS EN POST-RECOLTE</b> .....		<b>157</b>
I.	LIEN PRE-POST RECOLTE .....	158
1.	<i>Abstract</i> .....	158
2.	<i>Introduction</i> .....	159
II.	MATERIAL AND METHODS .....	161
1.	<i>Plant material</i> .....	161
2.	<i>UV-C treatments</i> .....	161
3.	<i>Chlorophyll a fluorescence</i> .....	162
4.	<i>Plant growth and production phase</i> .....	163
5.	<i>Fungus material and pathological tests on leaves and fruits</i> .....	163
6.	<i>Quality analysis of fruits during postharvest storage</i> .....	164
7.	<i>Statistics</i> .....	165
III.	RESULTS .....	166
1.	<i>Impact of UV-C treatments on strawberry plant development</i> .....	166
2.	<i>Impact of UV-C treatments on strawberry fruit development</i> .....	169
3.	<i>Impact of UV-C treatments on strawberry sensitivity (leaves and fruits) to B. cinerea</i> 173	
4.	<i>Impact of UV-C treatments on strawberry sensitivity (leaves and fruits) to natural infections</i> .....	175

5.	<i>Impact of UV-C treatments on fruit quality</i> .....	178
IV.	DISCUSSION.....	181
<b>CHAPITRE IV</b> .....		<b>186</b>
<b>IMPACT DES RADIATIONS UV-C EN PRE-RECOLTE SUR LA SENSIBILITE DES PLANTS DE TOMATE A BOTRYTIS CINEREA ET SUR LA QUALITE/CONSERVATION DES FRUITS EN POST-RECOLTE</b> .....		<b>186</b>
I.	MODELE VEGETAL : LA TOMATE .....	187
1.	<i>La plante</i> .....	187
2.	<i>Le fruit</i> .....	188
3.	<i>Sensibilité à Botrytis cinerea</i> .....	190
II.	MATERIEL ET METHODES.....	192
1.	<i>Modèle végétal</i> .....	192
2.	<i>Traitements UV-C</i> .....	192
3.	<i>Modèle fongique et inoculation</i> .....	194
4.	<i>Estimation de la croissance végétale</i> .....	195
5.	<i>Conservation des fruits</i> .....	196
III.	RESULTATS .....	200
1.	<i>Impact des rayonnements UV-C sur les fruits de tomate en post-récolte</i> .....	200
2.	<i>Impact des rayonnements UV-C appliqués en cours de culture sur la plante et les fruits de tomate</i> .....	202
IV.	DISCUSSION.....	213
<b>CHAPITRE V</b> .....		<b>220</b>
<b>IMPACT DES RADIATIONS UV-C COMBINEES A DES AGENTS DE LUTTE BIOLOGIQUE SUR LA SENSIBILITE DU FRAISIER A BOTRYTIS CINEREA</b> .....		<b>220</b>
I.	LUTTE BIOLOGIQUE .....	221
1.	<i>Contexte</i> .....	221
2.	<i>Principe de la lutte biologique</i> .....	222
3.	<i>Agents de lutte biologique utilisés dans cette étude</i> .....	223
a.	Sérénade® : Bacillus subtilis.....	223
b.	Prestop® : Gliocladium catenulatum .....	223
II.	RESULTATS ET INTERPRETATION .....	224
1.	<i>Abstract</i> .....	224
2.	<i>Introduction</i> .....	225
3.	<i>Material and methods</i> .....	226

a.	UV-C treatments.....	226
b.	Estimation of phyllosphere microbial population .....	226
c.	Biocontrol agents .....	227
d.	Assessing susceptibility of strawberry leaves to <i>B. cinerea</i> .....	227
4.	<i>Results and discussion</i> .....	228
a.	Impact of UV-C radiation on phyllosphere microflora.....	228
b.	Impact of UV-C radiation combined with biocontrol agents on <i>B. cinerea</i> development ...	229
5.	<i>Conclusions and perspectives</i> .....	231
6.	<i>Aknowledgments</i> .....	231
<b>CHAPITRE VI</b> .....		<b>233</b>
<b>DISCUSSION, CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....		<b>233</b>
I.	DISCUSSION GENERALE .....	234
1.	<i>Effets des rayonnements UV-C sur la croissance, la floraison et la sensibilité des plants de fraisier et de tomate</i> .....	238
2.	<i>Impact des rayonnements UV-C appliqués en pré-récolte ou en post-récolte sur la conservation des fruits</i> .....	241
3.	<i>Impact combiné des rayonnements UV-C et des agents de lutte biologique</i> .....	245
II.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	247
<b>ANNEXES</b> .....		<b>255</b>
ANNEXE 1 : FABRICATION D'UNE ENCEINTE UV-C .....		256
1.	<i>Résumé</i> .....	256
2.	<i>Introduction</i> .....	257
3.	<i>Construction de l'enceinte</i> .....	257
4.	<i>Mesures de l'intensité des rayonnements UV-C des lampes</i> .....	263
5.	<i>Résultats</i> .....	264
a.	Spectres lumineux des lampes UV-C .....	264
b.	Homogénéité du rayonnement UV-C à l'intérieur de l'enceinte .....	265
c.	Mesure du temps d'exposition des plantes aux rayons UV-C .....	266
6.	<i>Conclusion et perspectives</i> .....	268
7.	<i>Remerciements</i> .....	269
ANNEXE 2 : PARAMETRE DE FLUORESCENCE DE LA CHLOROPHYLLE A .....		270
ANNEXE 3 : DOSAGES BIOCHIMIQUES DES FRAISES .....		272
ANNEXE 4 : UV-C ET LAITUE .....		302
1.	<i>Abstract</i> .....	302

2.	<i>Introduction</i> .....	303
3.	<i>Material and methods</i> .....	305
a.	Production of plant material and UV-C treatment .....	305
b.	Measurements of chlorophyll a fluorescence using the Handy PEA .....	306
c.	Epidermal cells microscopy observations .....	307
d.	Chlorophyll and carotenoid contents .....	307
e.	Lipid peroxidation .....	307
f.	Determination of total phenolic compounds .....	308
g.	Phenylalanine ammonia lyase activity .....	308
h.	Antioxidant enzyme activities .....	309
i.	Pathogen culture and inoculation tests on leaves .....	310
j.	Histopathological study .....	310
k.	Statistical analyses .....	311
4.	<i>Results</i> .....	311
a.	Identification of a non-deleterious dose of UV-C .....	311
b.	Resistance to <i>B. cinerea</i> after irradiation with UV-C .....	314
c.	Physiological plant responses of four successive doses of UV-C radiation .....	317
5.	<i>Discussion</i> .....	319
ANNEXE 5 : UV-C ET TOMATE .....		323
1.	<i>Summary</i> .....	323
2.	<i>Introduction</i> .....	324
3.	<i>Material and methods</i> .....	326
a.	Plant material .....	326
b.	UV-C treatment of plants .....	326
c.	Chlorophyll a fluorescence .....	326
d.	Chlorophyll and carotenoid contents .....	327
e.	Lipid peroxidation .....	327
f.	Determination of total phenolic compounds .....	328
g.	Phenylalanine ammonia lyase activity and Antioxidant enzyme activities .....	328
h.	Pathogen culture and inoculation tests on leaves .....	329
i.	Histopathological study .....	330
j.	Statistical analyses .....	330
4.	<i>Results and discussion</i> .....	331
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....		<b>338</b>
RESUME .....		401
ABSTRACT .....		401





## Liste des abréviations

### A

---

<b>AA</b>	Acide ascorbique
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ABA</b>	Acide abscissique
<b>ANOVA</b>	Analyse des variances
<b>APX</b>	Ascorbate peroxydase
<b>ATP</b>	Adénosine tri-phosphate
<b>AUDPC</b>	Aera under disease progression curve
<b>AUFC</b>	Aera under fluorescence curve
<b>Avr</b>	Produit des gènes d'avirulence

### C

---

<b>C*</b>	Chroma
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcium
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Chlorure de calcium
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CHS</b>	Chalcone synthase
<b>CIREF</b>	Centre interrégional de recherche et d'expérimentation de la fraise
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Chlore
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>CTIFL</b>	Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes
<b>CWSZ</b>	Cell wall stacking zone

---

**D**

---

<b>DAMP</b>	Damage-associated molecular pattern
<b>DHA</b>	Acide déhydroascorbique
<b>DTPA</b>	Diethylenetriaminopentacetic acid
<b>DTT</b>	Dithiotreitol
<b>DW</b>	Dry weight

**E**

---

<b>εM</b>	Extinction coefficient
<b>EI</b>	Ionisation électronique
<b>ETI</b>	Effector-triggered immunity

**F**

---

<b>F0</b>	Première valeur de fluorescence fiable
<b>FAO</b>	Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
<b>Fm</b>	Fluorescence maximale
<b>Fv</b>	Fluorescence maximale variable
<b>Fv/F0</b>	Rendement quantique de la photochimie primaire du photosystème II
<b>Fv/Fm</b>	Indicateur de stress

**G**

---

<b>GA</b>	Gallic acid
<b>GAE</b>	Gallic acid equivalent
<b>GC-MS</b>	Gaz Chromatography-Mass Spectrometry
<b>GR</b>	Glutathione reductase

## H

---

<b>H<sup>+</sup></b>	Proton
<b>H°</b>	Hue
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography

## I

---

<b>INRS</b>	Institut national de recherche et sécurité
<b>IR</b>	Infrarouge
<b>ISR</b>	Résistance systémique induite

## J

---

<b>JA</b>	Acide jasmonique
-----------	------------------

## K

---

<b>K<sup>+</sup></b>	Potassium
<b>K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonate de potassium

## M

---

<b>MAMP</b>	Microbe-associated molecular pattern
<b>MDA</b>	Malondialdehyde
<b>MDHAR</b>	Monodehydroascorbate reductase
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>MF</b>	Fresh material

**MPA** Acide métaphosphorique

## N

---

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** Carbonate de sodium

**NaHCO<sub>3</sub>** Bicarbonate de sodium

**NBT** Tetrazolium nitroblue

**(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** Sulfate d'ammonium

**NKT** Newman-Keuls test

**NO** Monoxyde d'azote

## O

---

**OEC** Complexe évoluant en oxygène

**OILB** Organisation internationale de la lutte biologique et intégrée

## P

---

**PAL** Phénylalanine ammonia-lyase

**PAMP** Pathogen-associated molecular pattern

**PAS** Periodic acid-Schiff's reagent

**PDA** Potato-dextrose agar

**PI** Indice de performance

**POD** Peroxydase

**PPO** Polyphenol oxydase

**PR** Pathogenesis-related

**PRR** Pattern recognition receptor

**PSII** Photosystème II

**PTI** PAMP-triggered immunity

## Q

---

<b>Q<sub>A</sub></b>	Plastoquinone A
<b>Q<sub>il</sub></b>	Quinone outside inhibitors
<b>Q<sub>io</sub></b>	Quinone inside inhibitors

## R

---

<b>R</b>	Produit des gènes de résistance
<b>RC/ABS</b>	Densité des centres de réaction sur la base de la chlorophylle
<b>RH</b>	Réponse hypersensible
<b>ROS</b>	Reactive oxygen species

## S

---

<b>SA</b>	Acide salicylique
<b>SAM</b>	S-adenosylméthionine
<b>SAR</b>	Résistance systémique acquise
<b>SDP</b>	Stimulateurs de défense des plantes
<b>Sm</b>	Aire normalisée
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>SSC</b>	Matière sèche soluble
<b>SST</b>	Solides solubles totaux

## T

---

<b>TA</b>	Acidité titrable
<b>TBA</b>	Thiobarbituric acid
<b>TCA</b>	Trichloroacetic acid
<b>TCEP</b>	Tris(2-carboxyethyl)phosphine
<b>Tr</b>	Temps de rétention
<b>TSA</b>	Gélose trypto-caséine soja

## U

---

<b>UPLC</b>	Ultra Performance Liquid Chromatography
<b>USDA</b>	United States Department of Agriculture
<b>UV</b>	Ultraviolets

## V

---

<b>V<sub>k</sub>/V<sub>j</sub></b>	Tracé temporel des valeurs de la variable relative de fluorescence où l'étape K se produit
------------------------------------	--



## Table des illustrations

- Figure 1 : Représentation schématique des mécanismes de défense des plantes. L'attaque du pathogène est perçue via des MAMP (*microbe-associated molecular pattern*), DAMP (*damage-associated molecular pattern*) issus de la dégradation de la paroi végétale ou des effecteurs. Les MAMP et les DAMP sont reconnus par des récepteurs de reconnaissance spécifique de profil PRR (*pattern recognition receptor*), induisant la résistance basale PTI (*PAMP-triggered immunity*). Les effecteurs injectés dans la cellule concourent à l'inactivation de la PTI. Ils peuvent toutefois être reconnus par les protéines de résistance R, qui déclenchent alors la résistance spécifique ETI (*effector-triggered immunity*). L'activation des défenses implique des processus de signalisation cellulaire caractérisés par des flux d'ions dont le  $\text{Ca}^{2+}$  (*calcium*) jouant le rôle de messenger secondaire, une production de NO (*monoxyde d'azote*), l'activation de protéines kinases ainsi que des phytohormones (Astier *et al.*, 2012). 45
- Figure 2 : Cycle de développement de *B. cinerea*. Le cycle de développement est montré sous la forme d'un cycle de développement asexué du champignon (Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon). 54
- Figure 3 : Maladie provoquée par *B. cinerea* sur les fraisiers. Le champignon *B. cinerea* est responsable de la pourriture grise. A) Symptômes foliaires sur les plants de fraisier : tâches nécrotiques. B) Symptômes sur les fraises : pourriture des fruits (images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon et Physiologie des Fruits et Légumes, UAPV). 55
- Figure 4 : Symptômes d'oïdium provoqués par *Podosphaera aphanis* sur fraisier. A) Symptômes foliaires sur les feuilles : taches blanches poudreuses. B) Symptômes sur les fruits : duvet blanc (images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon). 57
- Figure 5 : Cycle biologique de l'agent de l'oïdium, *P. aphanis*. Le cycle de développement est montré sur fraisier (infection naturelle obtenue sous abris, images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon). 58
- Figure 6 : Symptômes sur fruits causés par *Rhizopus*. Le développement du champignon se fait rapidement sur fruits matures (University of Edinburgh). 59



- 
- Figure 7 : Cycle de développement des champignons du genre *Rhizopus*. Ce champignon est un organisme saprophyte, c'est-à-dire qu'il tire sa subsistance de la matière organique en décomposition, ou vit au dépens d'un hôte sans provoquer de maladie (Biology of Plants, Seventh Edition). 60**
- Figure 8 : Spectre de la lumière blanche. Parmi ce spectre lumineux, on retrouve les UV-C à des longueurs d'onde très courtes. 69**
- Figure 9 : Représentation simplifiée des effets de la lumière UV-C sur les cellules végétales. Les rayonnements UV-C causent des dommages sur les molécules d'ADN, les protéines et les membranes, et inhibent le fonctionnement des mitochondries et des chloroplastes. Tous ces dégâts sont le résultat de la production de ROS qui impacte négativement l'intégrité des molécules d'ADN, des protéines et des membranes, ainsi que le fonctionnement des mitochondries et des chloroplastes. Les effets directs et indirects des rayonnements UV-C sont représentés, ainsi que les effets réparateurs de la lumière visible (Urban *et al.*, 2016). 71**
- Figure 10 : Résumé des effets attendus des doses UV-C dites hormiques. Les rayonnements UV-C peuvent avoir des effets bénéfiques à la fois sur la plante et sur les organes récoltés grâce à une stimulation des voies métaboliques (Urban *et al.*, 2016). 79**
- Figure 11 : Le fraisier. Le fraisier fait partie de la famille de Rosacées. A) Mode de reproduction asexué du fraisier (phase végétative) : développement de stolons. B) Phase reproductive du fraisier : apparition des fleurs. C) Fructification du fraisier : développement des fraises avec un différentiel de maturation (images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon). 88**
- Figure 12 : Article accepté dans un journal scientifique concernant la pré-culture. Cet article a été soumis en 2018 dans le journal Scientia Horticulturae. 89**
- Figure 13: Spectral density of UV-C lamps, DSP tube UV-C, OSRAM HNL, 24 W. The test window for testing the homogeneity of the emitted radiation had the following dimensions: 310 x 260 nm. Radiation is homogenous over the entire emissive surface of the lamp. Only the significant peaks that carry 99 % of the radiated optical power were reported. UV-C peaks**

---

at 252 and 254 nm carried out 64 % of the power, peaks at 280 nm and 315 nm carried out 5.7 % of the power, peak at 365 nm carried out 5 % of the power. The reminder was transported by the visible part of radiation emitted by the lamp: 25.3 % (purple / blue / green). 95

**Figure 14: Penetration of *B. cinerea* in different cell layers of leaves of three cultivars of strawberry plant (Cirafine, Charlotte, Candiss). Histological study was conducted 24 h after inoculation with Bc21 on detached leaves. Mycelial plugs were placed on either the main rib or on the leaf limb. A) Bc21 penetration level in cell layers of leaves either at the central rib or on the leaf limb by histology method. Lowercase letters show significant differences between the three varieties of strawberry plants when leaves were inoculated on the main vein (standard errors). Uppercase letters indicate significant differences between the three varieties of strawberry plants when leaves were inoculated outside of the main vein (standard errors). B) Pictures taken by light microscopy. Penetration of Bc21 in cell layers of strawberry leaves which were inoculated on the leaf limbs. 103**

**Figure 15: Content of phenolic-related compounds in leaves of three cultivars of strawberry plants (Cirafine, Charlotte, Candiss) before and after inoculation with *B. cinerea*. Detached leaves of the three varieties of strawberry plants were inoculated with mycelial plugs of *B. cinerea* (Bc21 strain). The non-necrotic portion of each leaves were recovered in order to dose phenolic compounds, at 24 h and 48 h post inoculation. Lowercase letters show significant differences between the three controls (NKT, p-value < 0.05). The (\*) correspond to significant differences between the control group and the inoculated group in each strawberry cultivar (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 104**

**Figure 16: Sensitivity level of strawberry plants to *B. cinerea* after different UV-C treatments. Three strawberry cultivars (Cirafine, Charlotte, Candiss) and two strains of *B. cinerea* (Bc1 and Bc21) were tested. The protection rate is calculated according to the difference of sensitivity between the control and plants which are treated by UV-C radiation: when the protection rate is in red it means that leaves are more sensitive and in contrast, when the protection rate is in green it means that leaves are less sensitive than the control group. A) Sensitivity of strawberry plants to Bc1 and Bc21 after a single application of UV-C radiation. B) Sensitivity of strawberry plants to Bc1 and Bc21 after a double application of UV-C radiation. C) Sensitivity of strawberry plants to Bc1 and Bc21 after four UV-C applications**

(each two days), named 4 x UV-C dose. The (\*) show significant differences between the inoculated leaves and control (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 106

Figure 17: Foliar symptoms after UV-C treatment. Leaf symptoms are visible: darkening (color "lawyer"). A) Top side of strawberry leaf (Cirafine and Charlotte). B) Bottom of strawberry leaf (Cirafine and Charlotte). C) Strawberry leaf without symptoms (Candiss). 107

Figure 18: Soluble phenolic content and PAL activity in leaves of three cultivars of strawberry plants (Cirafine, Charlotte, Candiss). Measurements were carried out before plants receive different UV-C treatment. A) Amount of soluble phenolic compounds in strawberry leaves. B) Activity of PAL in strawberry leaves. Lowercase letters show significant differences between the three varieties of strawberry plants (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 108

Figure 19: Sensitivity level of Candiss with two strains of *B. cinerea* after UV-C treatments. Plants were treated with UV-C radiation at different doses each two days during one week. Pathological tests are performed on separate leaves and inoculation was done by filing mycelial implants on the main rib of each leaves. Sensitivity level is correlated with symptom development and therefore disease development: calculating the AUDPC. Plants grew on different seasons (three experimental repetitions): A) Spring (R1). B) Summer (R2). C) Autumn (R3). The (\*) shows significant differences between the inoculated leaves and control (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 109

Figure 20: Parameters of chlorophyll fluorescence a (OJIP method) of leaves of three cultivars of strawberry plants (Cirafine, Charlotte, Candiss) after UV-C applications. Plants were treated with UV-C at different doses and different application frequencies. Fluorescence of chlorophyll a were measured on 25 leaves per treatment modality. Data represent the ratio between values of AUFC obtained on UV-C treated plants and on untreated plants, in percentage. A color scale was applied, ranging from red (strong negative effect of UV-C) to green (strong positive effect of UV-C). A) Single application of UV-C radiation. B) Double application of UV-C radiation. C) Four UV-C applications (4 x UV-C) every two days. The values being marked in bold and are underlined represent a significant difference between plants treated with UV-C and controls plants (NKT, p-value < 0.05). 112

Figure 21: Effect of season on Chlorophyll fluorescence a of Candiss leaves after 4x UV-C applications. Plants were treated with UV-C radiation at different doses each two days during one week and at different seasons (three experimental repetitions). Fluorescence of chlorophyll a was measured on 25 leaves per UV-C treatment. Here are represented the values of AUFC: data represent the percentage difference between treated plants to UV-C radiation and untreated plants (corresponding to our control group). A color scale was applied, ranging from red (strong negative effect of UV-C treatment on the physiological state of treated plants) to green (strong positive effect of UV-C treatment on the physiological state of treated plants) to highlight important differences. A) Spring (R1). B) Summer (R2). C) Autumn (R3). The values being marked in bold and are underlined represent a significant difference between plants treated with UV-C and controls plants (NKT, p-value < 0.05). 113

Figure 22 : Traitement UV-C des fraises. Deux étages de lampes UV-C sont séparés par un étage composé d'une plaque en quartz. 126

Figure 23 : Frises chronologiques de l'expérimentation sur l'impact des rayonnements UV-C appliqués sur les fraises en post-récolte. Les fruits sont récoltés à maturité commerciale (rouge ferme) puis ont été traités aux UV-C. Des tests pathologiques et de qualité ont été réalisés et des codes ont été mis en place pour avoir des équivalences entre temps post-récolte (R), temps d'inoculation (I), temps post-UV-C (U). 129

Figure 24 : Espace couleur L\*a\*b\* (Minolta). L\* indique la clarté, tandis que a\* et b\* sont les coordonnées de chromacité. Dans ce diagramme, a\* et b\* indiquent la direction des couleurs : +a\* va vers le rouge, -a\* vers le vert, +b\* vers le jaune, et -b\* vers le bleu. Le centre du diagramme est achromatique. Au fur et à mesure que les valeurs a\* et b\* augmentent, et que l'on s'éloigne du centre, la saturation augmente. 130

Figure 25 : Niveau de sensibilité des fraises à *B. cinerea* après traitements UV-C en post-récolte. Les fraises ont été récoltées à maturité commerciale (rouge ferme) puis traitées aux UV-C. Les tests pathologiques (inoculation avec *B. cinerea*, souche Bc1 et suivi sur 4 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des fraises à ce pathogène suite aux traitements UV-C. A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2). Les tests statistiques ont été réalisées (erreurs standards, NKT, p-value < 0,05). 137

---

**Figure 26 : Niveau de sensibilité des fraises à *Rhizopus* après traitements UV-C et 4 jours de conservation à 20°C. Les fraises ont été récoltées à maturité commerciale (rouge ferme) puis traitées aux rayonnements UV-C. Des infections spontanées se sont produites lors de la conservation des fruits : ce sont des infections naturelles de type *Rhizopus*. Le nombre de fruits infectés a donc été calculé après quatre jours de conservation. A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2). Les (\*) indiquent les différences significatives entre le groupe non traité aux rayonnements UV-C et les groupes traités aux rayonnements UV-C (erreurs standards, test de Chi<sup>2</sup>, p-value < 0,05). 139**

**Figure 27 : Différence de couleur des fraises au cours de la conservation suite aux traitements UV-C. Ici sont représentées les différences de couleur entre le dernier jour de conservation (R4) et le jour de récolte (R0). A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2). Les tests statistiques ont été réalisés (erreurs standards, NKT, p-value = 0,05). 141**

**Figure 28 : Tests gustatifs à l'aveugle des fraises traitées ou non aux rayonnements UV-C. Les tests gustatifs ont été faits un jour après la récolte et les traitements UV-C. Ces tests gustatifs se sont réalisés à l'aveugle avec un panel de 30 dégustateurs. A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2). 143**

**Figure 29 : Teneurs en sucres dans les fraises au cours de leur conservation. Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). A) Teneur en saccharose. B) Teneur en glucose. C) Teneur en fructose. Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C à un temps de conservation donné (2 et 4 jours ; erreurs standards, ANOVA, p-value < 0,05). 148**

**Figure 30 : Teneurs en acides organiques dans les fraises au cours de leur conservation (2 et 4 jours). Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). A) Teneur en acide malique. B) Teneur en acide citrique. Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2 (erreurs standards, ANOVA, p < 0,05). 149**

---

**Figure 31 :** Teneur en vitamine C dans les fraises au cours de leur conservation. Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). A) Teneur en acide ascorbique (forme réduite). B) Teneur en acide déhydroascorbique (forme oxydée). C) Teneur en vitamine C totale. Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C à un temps de conservation donné (2 et 4 jours ; erreurs standards, ANOVA, p-value < 0,05). 151

**Figure 32 :** Teneurs en composés phénoliques totaux (A) et teneurs en composés organiques volatils totaux (B) dans les fraises au cours de leur conservation. Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C à un temps de conservation donné (2 et 4 jours ; erreurs standards, ANOVA, p-value < 0,05). 154

**Figure 33 :** Article soumis traitant du le lien pré-post récolte. Cet article va être soumis au journal Post-Harvest Biology and Technology. 158

**Figure 34:** Number of leaves per plant before UV-C treatments (S0) and after UV-C treatments, at harvest (S7), and measurement of leaf area at harvest. "T" corresponds to the control group (without UV-C treatment), "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering, "Ap" corresponds to UV-C treatment realized after flowering and "Pdt" corresponds to UV-C treatment realized throughout the crop. (A) Count of leaves was done few hours before the first UV-C treatments, after 15 days of plant growth (S0) and at harvest (S7), after the successive UV-C treatments. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities just before the first UV-C treatment (standard errors, Newman-Keuls, p < 0.05). The letters in upper case indicate significant differences identified between modalities at the harvest day, after the application of the totality of UV-C treatment (standard errors, Newman-Keuls, p < 0.05). (B) Leaf surface was measured at harvest day. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 167

Figure 35: Relative fluorescence of chlorophyll a of strawberry plant at the harvest day. The group "Av" corresponds to UV-C treatment before flowering, the group "Ap" corresponds to UV-C treatment after flowering and the group "Pdt" corresponds to UV-C treatment during all cultivation phase. Values represented AUFC (*Area Under Fluorescence Curve*) values: data represent difference percentages between each group treated with UV-C and the control group having no undergone any UV-C treatment. A color scale is provided, ranging from red (negative effect of UV-C radiation) to green (positive effect of UV-C radiation). Values in bold and underlined mean significant difference (NKT, p-value < 0.05).

168

Figure 36: Number of flowers and buds per plant on non-treated and on UV-C treated plants. Strawberry plants were treated after 15 days of cultivation with a UV-C dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. "T" corresponds to the control group without UV-C treatment, "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering and "Pdt" corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation. One week after the first UV-C treatment, the number of flowers (A) and the number of buds (B) per strawberry plant were counted. Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

169

Figure 37: Mean number of green fruits produced per strawberry plant during the cultivation. "T" corresponds to the control group (without UV-C treatment), "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering, "Ap" corresponds to UV-C treatment applied after flowering and "Pdt" corresponds to UV-C treatment applied during all cultivation phase. Count was made during 6 weeks just after flowering (post-flowering weeks = F). Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

170

Figure 38: Number of ripped fruits per strawberry plant at harvest. The harvest day was carried out one week after the last UV-C treatment with UV-C dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. "T" corresponds to the control group (without UV-C treatment). "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering and strawberry plants belonging this modality received only one UV-C dose (1.70 kJ/m<sup>2</sup>). "Ap" corresponds to UV-C treatment applied after flowering and strawberry plants belonging to this modality received 5 doses of UV-C radiations (in total 8.50 kJ/m<sup>2</sup>). "Pdt" corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation and strawberry plants belonging to this modality received 6 doses of UV-C radiations (in total

10.20 kJ/m<sup>2</sup>). Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 171

Figure 39: Weight of strawberry fruit at harvest. The harvest day was carried out one week after the last UV-C treatment. "T" corresponds to the control group (without UV-C treatment). "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering and strawberry plants belonging this modality received only one UV-C dose (1.70 kJ/m<sup>2</sup>). "Ap" corresponds to UV-C treatment applied after flowering and strawberry plants belonging to this modality received 5 doses of UV-C radiations (in total 8.50 kJ/m<sup>2</sup>). "Pdt" corresponds to UV-C treatment applied during all cultivation phase and strawberry plants belonging to this modality received 6 doses of UV-C radiations (in total 10.20 kJ/m<sup>2</sup>). Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 172

Figure 40: Susceptibility of strawberry leaves to *B. cinerea*. "T" corresponds to the control group (without UV-C treatment), "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering, "Ap" corresponds to UV-C treatment realized after flowering and "Pdt" corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation. Inoculations were made after UV-C treatments by depositing a mycelial plug of *B. cinerea* on the main vein of detached leaves. Surface of necrosis was measured daily for 6 days in order to calculate the AUDPC. Percentages indicated in red or green correspond to percentage of protection of strawberry plants against *B. cinerea* compared to the control group. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value < 0.01). 173

Figure 41: Susceptibility of strawberry fruits to *B. cinerea*. "T" corresponds to the control group (without UV-C treatment), "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering, "Ap" corresponds to UV-C treatment applied after flowering and "Pdt" corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation process. All strawberry fruits were harvested at commercial maturity and inoculation was carried out by depositing a drop of spore suspension of *B. cinerea* dosed at 10<sup>6</sup> spore/mL, after wounding the tip of the fruit. Measurement of necrosis width was done daily for 4 days in order to calculate AUDPC. Percentages indicated in red correspond to sensitivity rate of strawberry fruits compared to the control group. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value = 0.05). 174



---

**Figure 42: Susceptibility of strawberry leaves to powdery mildew. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment during all cultivation phase. Amount of leaves with symptoms was estimated by appearance of powdery and whitish leaf spots. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value < 0.0001). 175**

**Figure 43: Percentage of plants with fruits naturally infected by *Botrytis cinerea*. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation process. The presence or absence of *B. cinerea* on strawberry fruit was evaluated and the percentage of infected fruits was calculated. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors,  $\text{Khi}^2$  test, p-value < 0.05). 176**

**Figure 44: Susceptibility of strawberry fruits to *Rhizopus* sp. during fruit storage at 21°C. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation process. All ripe fruits were harvested and then stored for 5 days at 21 °C in the dark. A follow-up of fruits infected with *Rhizopus* sp. was carried out every day and the percentage of infected fruits was calculated. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 177**

**Figure 45: Evolution of color and firmness of strawberry stored at 21 °C during 4 days. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during cultivation. (A) Color measurements were carried out with a colorimeter. Values  $L^*a^*b^*$  have been reported. The (\*) shows statistical differences between modalities (NKT, p-value < 0.05). (B) Firmness measurements were carried out thanks to penetration probe. No statistical difference was found (standard errors, NKT, p-value < 0.05). 179**

- Figure 46: Consumer preferences for strawberry fruits. Sensory tests were conducted one day after harvest of all ripe fruits. A panel of 30 consumers tasted fruits by blind tests. "T" corresponds to the control group (without UV-C treatment), "Av" corresponds to UV-C treatment realized before flowering, "Ap" corresponds to UV-C treatment realized after flowering and "Pdt" corresponds to UV-C treatment applied during cultivation. 180
- Figure 47 : Développement et croissance des plants de tomate. Les plants de tomate peuvent avoir une croissance indéterminée ou déterminée en structure de buisson. Les plants de tomate possèdent des inflorescences donnant des grappes de fruits. 188
- Figure 48 : Structure du fruit de tomate en coupe longitudinale. Les tomates sont des fruits charnus. 190
- Figure 49 : Développement de *B. cinerea* sur tomate. Responsable de la pourriture grise, ce champignon nécrotrophe provoque des dégâts considérables sur la plante entière incluant les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits. 191
- Figure 50 : Chambre de traitement UV-C. Les fruits de tomate sont placés dans la chambre de traitement puis le plafond contenant les lampes UV-C a été placé à 70 cm des fruits pendant le traitement. Le traitement UV-C est automatisé par le biais d'une plateforme et d'un logiciel reliés à la chambre et au radiomètre de mesure. 193
- Figure 51 : Traitements UV-C des plants de tomate sous serre. Un portique contenant 6 lampes UV-C se déplace automatiquement le long des plants de tomate pour délivrer une dose UV-C choisie de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>. 194
- Figure 52 : Niveau de sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea* après un traitement UV-C en post-récolte. Les tomates ont été récoltées à maturité commerciale puis ont été traitées avec une dose UV-C de 3,70 kJ/m<sup>2</sup>. Les tests pathologiques (inoculation avec BcB et suivi des lésions pendant 7 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des fruits de tomate à ce pathogène suite aux traitements UV-C. A) Vitesse de croissance du champignon *B. cinerea*. B) AUDPC correspondant au développement de la maladie. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre les groupes contrôles et les groupes traités aux UV-C (erreurs standards, NKT, p-value < 0,05). 200

Figure 53 : Conservation des fruits de tomate après une application d'UV-C en post-récolte. Les fruits ont été récoltés à maturité commerciale puis mis en conservation dans une chambre de stockage à une température de 14 °C et dans l'obscurité. Des mesures ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. A) Suivi du poids des fruits de tomate pendant la conservation. B) et C) Suivis de l'évolution de la couleur des fruits de tomate pendant la conservation. Les tests statistiques ont été réalisés à p-value < 0,05 (erreurs standards, NKT). 201

Figure 54 : Courbes de réponse à la lumière après l'application de traitements UV-C. Les plants ont été traités aux rayonnements UV-C tous les 4 jours. Les mesures ont été réalisées sur 3 feuilles par plants (30 feuilles au total). A) Après le premier traitement UV-C (dose d'UV-C de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>). B) Après le second traitement UV-C (dose cumulée d'UV-C de 0,40 kJ/m<sup>2</sup>). C) Après le troisième traitement UV-C (dose cumulée d'UV-C de 0,60 kJ/m<sup>2</sup>). D) Après le quatrième traitement UV-C (dose cumulée d'UV-C de 0,80 kJ/m<sup>2</sup>). 203

Figure 55 : Estimation de la croissance végétale des plants de tomate après des traitements successifs d'UV-C. Les mesures ont été réalisées à la fin de l'expérimentation, c'est-à-dire à récolte de la troisième grappe de fruits. Les plants avaient alors reçu 22 applications d'UV-C de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>, menant à une dose cumulée d'UV-C de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>. A) Hauteur des plants de tomate. B) Surface des feuilles de tomate. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,01). 204

Figure 56 : Niveau de sensibilité des feuilles de tomate à *B. cinerea* après l'application de traitements UV-C successifs en cours de culture. Le niveau de sensibilité des feuilles a été estimé à la fin de l'expérimentation, c'est-à-dire après la récolte de la troisième grappe de fruits. Les plants ont reçu une dose cumulée d'UV-C de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>, soit 22 traitements UV-C. Les tests pathologiques (inoculation avec BcB et suivi des lésions pendant 7 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des feuilles de tomate à *B. cinerea* suite aux traitements UV-C. A) AUDPC correspondant au développement de la maladie. B) Photo des lésions provoquées par BcB sur feuilles. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,01). 205

Figure 57 : Récolte des fruits de tomate au cours du temps. Les fruits de tomate ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé »). A) Récolte de la deuxième grappe. B) Récolte de la troisième grappe. 206

Figure 58 : Niveau de sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea* après l'application successive de doses UV-C en cours de culture. Les tomates ont été récoltées au stade 4 de maturité (stade « rosé »). Les tests pathologiques (inoculation avec BcB et suivi des lésions pendant 7 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea* suite à l'application de rayonnements UV-C sur les plantes. A) AUDPC correspondant au développement de la maladie sur les fruits de la grappe 2 (dose UV-C cumulée de 3,8 kJ/m<sup>2</sup>, soit 19 traitements UV-C). B) AUDPC correspondant au développement de la maladie sur les fruits de la grappe 3 (dose UV-C cumulée de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>, soit 22 traitements UV-C). Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05). 207

Figure 59 : Suivi du poids des fruits de tomate après des applications successives d'UV-C sur les plants en cours de culture. Les fruits ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé ») puis ont été entreposés à 14 °C et dans l'obscurité pendant 21 jours. Des mesures du poids de chaque fruit de tomate ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. A) Grappe 2. B) Grappe 3. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05). 208

Figure 60 : Suivi de la couleur des fruits de tomate après des applications successives d'UV-C sur les plants en cours de culture. Les fruits ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé ») puis mis en conservation dans une chambre de stockage à une température de 14 °C et dans l'obscurité. Des mesures de la couleur de chaque fruit de tomate ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. Le Hue H° et le Chroma C\* ont ensuite été calculés à partir des L\*a\*b\* mesurés. A) Grappe 2. B) Grappe 3. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05). 209

Figure 61 : Teneur en solides solubles totaux (SST, Brix) et mesure de l'acidité des fruits de tomate en cours de conservation. Les fruits ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé ») puis mis en conservation dans une chambre de stockage à une température de 14 °C et

- dans l'obscurité. Des mesures ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. Les mesures réalisées sur la grappe 2 et la grappe 3 ont été combinées. A) Sucrosité. B) Acidité totale. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05). 210
- Figure 62 : Article défendu au congrès IOBC-WPRS en 2018. 224
- Figure 63: Number of microbial colonies recovered from leaf imprints on two nutritive media (PDA and TSA) after successive UV-C treatments of the whole strawberry plants. Plants were treated with UV-C radiation 4 times every two days at two different doses (0.85 and 1.70 kJ/m<sup>2</sup>) and untreated plants were used as control (T). Colonies were numbered 3 days after inoculation. The error bars show the standard error of the mean. Lower case letters indicate significant differences identified between different modalities tested on PDA medium and in upper case for modalities tested on TSA medium (standard error, NKT, p-value < 0.05). 229
- Figure 64: Susceptibility of strawberry leaves to *B. cinerea* after UV-C radiation at high dose (HD, 4 × 1.70 kJ/m<sup>2</sup>) and at low dose (LD, 4 × 0.85 kJ/m<sup>2</sup>), after biocontrol treatment (Serenade, Prestop), and after the combination of UV-C radiation and biocontrol treatments. The error bars show the standard error of the mean. Letters indicate significant differences identified between the different treatments (standard error, NKT, p-value < 0.05). 230
- Figure 65 : Schéma récapitulatif des travaux menés au cours de la thèse. L'hypothèse de départ était qu'il est possible d'améliorer la sensibilité des plantes à *B. cinerea* par l'application de rayonnements UV-C en cours de culture et améliorer la qualité des fruits en post-récolte. Ce schéma synthétise les principaux résultats obtenus ainsi que les points de questionnement et les perspectives. 238
- Figure 66 : Effet stimulant de la lumière UV-C sur les défenses des plantes. Représentation simplifiée des hypothèses concernant les effets directs et indirects de la lumière UV-C sur la machinerie des défenses des plantes. 248

<b>Figure 67 : Article de méthodologie. Frédéric Pascal et Marine Forges ont contribué de la même manière dans ce travail. Cet article a été publié dans le Cahier Technique de l'INRA en 2018.</b>	<b>256</b>
<b>Figure 68 : Enceinte en cours de construction. Les tôles en inox sont revêtues d'un film plastique qui protège de l'oxydation, et qui sera retiré au dernier moment. On aperçoit également le support des lampes et des ballasts. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).</b>	<b>258</b>
<b>Figure 69 : Étagère amovible permettant d'ajuster la distance entre les plantes et les lampes UV-C. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).</b>	<b>259</b>
<b>Figure 70 : Châssis support des lampes et des ballasts. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).</b>	<b>260</b>
<b>Figure 71 : Passage du câble électrique souple au travers de l'axe central de rotation des lampes. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).</b>	<b>261</b>
<b>Figure 72 : Manivelle et loquets maintenant la position. On voit également le contact électrique de sécurité. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).</b>	<b>262</b>
<b>Figure 73 : Contacts de sécurité des portes et du loquet de maintien. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).</b>	<b>262</b>
<b>Figure 74 : Mesure de l'intensité des rayonnements UV-C. A) Photomètre/radiomètre SOLAR LIGHT PMA 2100 utilisé pour réaliser les mesures des rayonnements. B) Capteur PMA-2122 (UV Germicidal Detector) utilisé. (Photos Marine Forges, INRA PACA et Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse).</b>	<b>263</b>
<b>Figure 75 : Schéma du positionnement du capteur à UV-C germicide sur la plateforme de traitement lumineux.</b>	<b>264</b>
<b>Figure 76 : Spectre lumineux des lampes UV-C utilisées.</b>	<b>265</b>
<b>Figure 77 : Intensité lumineuse induite par les lampes UV-C sur les 28 mesures réalisées à l'intérieur de l'enceinte.</b>	<b>266</b>

- 
- Figure 78 : Perte de l'intensité lumineuse des lampes UV-C au cours du temps. Les mesures sont effectuées sur les 15 points de la zone de traitement UV-C. 268
- Figure 79 : Article de résultats UV-C/laitue. Pre-harvest hormetic doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.) to *Botrytis cinerea* L. 302
- Figure 80: Effect of different doses of UV-C radiation on maximum quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm and Fv/F0), on the performance index (PI) and its components of leaves after a single exposure to UV-C radiation. Bars represent standard errors (n = 20). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05). 312
- Figure 81: Effect of different doses of UV-C radiation on the cellular organization of the epidermis of leaves (S: stomata; pc: cell wall) after a single exposure to UV-C radiation. 313
- Figure 82: Effect of different doses of UV-C on the amount of (a) chlorophyll a (Chl a) chlorophyll b (Chl b), total chlorophyll (Chla+b), total carotenoids and (b) membrane lipid peroxidation (MDA: malondialdehyde) of leaves after a single exposure to UV-C radiation. Bars represent standard errors (n = 5). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05). 314
- Figure 83: Effect of UV-C irradiation on lesion diameters (mm) on the leaves of lettuce. Plants exposed to a single and different doses of UV-C (0 kJ/m<sup>2</sup>, 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 0.70 kJ/m<sup>2</sup>) and inoculated by *B. cinerea*, 48 hours after UV-C treatment. Bars represent standard errors (n = 15). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05). 315
- Figure 84: Effect of UV-C irradiation on lesion diameters (mm) on the leaves of lettuce. Plants exposed to four successive UV-C doses (each dose is equal to 0.85 kJ/m<sup>2</sup>) and inoculated by *B. cinerea*, 48 hours after UV-C treatment. Bars represent standard errors (n = 15). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05). 316
- Figure 85 : Article de résultats UV-C et tomate. 323

---

**Figure 86: (A) Relative differences in chlorophyll fluorescence parameters in plants UV-C treated when compared to the control (the differences are significant for figures highlighted in italics and underlined,  $n = 15$ ). (B) Malondialdehyde concentrations (MDA), (C) evolution of pigment content in plants treated with different doses of UV-C, then inoculated after 48 hours with *B. cinerea*. Data represent  $\pm$  standard errors ( $n = 5$ ) and different letters represent significant differences between treatments according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ).** 333

**Figure 87: Enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX). Data represent  $\pm$  standard errors ( $n = 5$ ) and different letters represent significant differences between treatments according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ).** 334

**Figure 88: (A) Necrotic surfaces of leaflets exposed to different doses of UV-C after inoculation (after 48 hours). (B) Penetration of the pathogen into different cell layers. Bars in figures 3A and 3B represent standard errors ( $n = 15$ ). Different letters show the significant differences between treatments according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ). (C, D) Microscopic observations of control plants ( $0 \text{ kJ/m}^2$ ) and UV-C treated plants ( $0.85 \text{ kJ/m}^2$ ), 24 hours after inoculation, Bars =  $100 \mu\text{m}$ .** 335

**Figure 89: Activity of the PAL (A) and content of phenolic compounds (B), in control and treated plants, inoculated after 48 hours by *B. cinerea*. Bars represent standard errors ( $n = 5$ ). Different letters show the significant differences between treatments according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ).** 336





Synthèse bibliographique

## I. Introduction

### 1. Contexte général

Certains organismes fongiques sont très dommageables pour les cultures végétales mais aussi pour la conservation des produits d'origine végétale en post-récolte. La stratégie la plus utilisée pour contrôler le développement de maladies dû à des champignons pathogènes est l'utilisation de fongicides. Cependant, ces fongicides ont un fort impact négatif sur l'environnement ainsi que sur la santé humaine (Legard *et al.*, 2005 ; Lizcano, 2007). De plus, leur utilisation fréquente peut mener à un développement de résistances de l'agent pathogène vis-à-vis des composés actifs (Russell, 1995 ; Komarek *et al.*, 2010; Corio-Costet, 2012). Aujourd'hui, les restrictions réglementaires vis-à-vis des fongicides imposent de trouver des solutions non polluantes et durables. Il y a désormais un consensus autour de l'idée que nous devons réduire de 50 % l'usage des pesticides avant 2025 (Plan Ecophyto, 2025). Dans ce cadre, se développent des produits à base de SDP (*stimulateurs de défense des plantes*) ayant un spectre d'action plus ou moins large vis-à-vis des agents pathogènes (Butault *et al.*, 2010). Au niveau commercial, seules des solutions d'origine chimique ou biologique sont actuellement proposées. Bien que ces SDP répondent à une demande forte à la fois des producteurs et des consommateurs dans le but d'une agriculture en adéquation avec l'environnement, leur utilisation est souvent freinée par une efficacité souvent jugée aléatoire du fait par exemple d'une stabilité insuffisante des produits, de formulations non optimisées ou d'une sensibilité aux conditions climatiques (guide méthodologique d'évaluation des SDP, Elicitra). Les méthodes physiques telles que la lutte thermique, lutte pneumatique ou lutte mécanique, pouvant aussi induire des mécanismes de défense, sont encore peu utilisées à ce jour. Parmi elles, la lumière pourrait représenter une alternative prometteuse.

La lumière est un régulateur important des interactions plante-pathogène *via* des photorécepteurs et des voies de signalisation (Jenkins, 2009 ; Magerøy *et al.*, 2010 ; Demkura et Ballaré, 2012). L'utilisation des rayonnements lumineux apparaît donc comme une méthode alternative, novatrice et non polluante pour stimuler les défenses des plantes (Darras *et al.*, 2015 ; Vasquez *et al.*, 2017), et pour améliorer la qualité des produits après récolte (Charles *et al.*, 2008a-d ; Ouhibi *et al.*, 2015a,b). Ces mêmes méthodes peuvent également être utilisées dans le but de diminuer le gaspillage alimentaire lié aux pertes de production pendant les étapes de production, de conservation, de transport et d'étalage pour la vente des fruits.

La lumière visible produite par le soleil peut être décomposée en plusieurs radiations électromagnétiques telles que les rayonnements visibles, les IR (*rayonnements infrarouges*) ou les UV (*rayonnements ultraviolets*). L'ozone stratosphérique agit comme un véritable filtre puisqu'elle absorbe la quasi-totalité des UV-B (dont la longueur d'onde varie entre 280 nm et 315 nm) et bloque totalement les UV-C (dont la longueur d'onde est inférieure à 280 nm). Les rayonnements UV-B sont largement étudiés dans le cadre de la stimulation des défenses de plantes (Jordan, 2002). Plus précisément, les radiations UV-B augmentent la résistance des plantes contre les agents pathogènes des plantes (Gunasekera *et al.*, 1997 ; Gunasekera et Paul, 2007 ; Kuhlmann et Müller, 2010 ; Ballaré, 2011 ; Demkura et Ballaré, 2012). Une partie de la résistance peut être attribuée à la synthèse de métabolites suite aux radiations, comme par exemple des composés phénoliques et des composés impliqués dans les réponses de défense des plantes dépendantes de la voie du JA (*acide jasmonique* ; Ballaré *et al.*, 1996 ; Rousseaux *et al.*, 1998 ; Izaguirre *et al.*, 2003 ; Foggo *et al.*, 2007 ; Kuhlmann et Müller, 2010). Malheureusement, exploiter les UV-B pose des problèmes concrets. En général une exposition prolongée est requise pour être efficace et les expositions prolongées sont difficiles à mettre en place dans la pratique. C'est dans ce sens que l'idée d'exploiter les UV-C est née car étant fortement énergétiques, il nécessite des temps de traitements plus courts et donc plus faciles à gérer dans le cas d'une application sur le terrain.

L'objectif de la thèse est de tester, sur fraisier et tomate, l'hypothèse selon laquelle il est possible de diminuer la sensibilité des plantes à des champignons pathogènes et d'améliorer la qualité ainsi que le potentiel de conservation des fruits, par l'application de rayonnements UV-C à des doses non délétères sur les feuilles et/ou sur les fruits en pré-récolte ou post-récolte. Les objectifs de ma thèse ont donc été de :

- (1) déterminer des doses d'UV-C non délétères pour la plante et capables d'induire une résistance aux agents pathogènes,
- (2) d'identifier les mécanismes physiologiques, biochimiques et cytologiques impliqués dans la résistance induite par les rayonnements UV-C,
- (3) d'évaluer la compatibilité entre des traitements à base de rayonnements UV-C et des traitements avec des agents de lutte biologique pour améliorer l'efficacité de protection des plantes contre les agents pathogènes.

## 2. Mécanismes de défense des plantes contre les agents pathogènes

### *a. Généralités*

Tout au long de leur cycle de vie, les plantes sont soumises à des stress abiotiques incluant par exemple le stress thermique, le stress hydrique ou encore le stress nutritionnel. Les organes végétaux, à la fois souterrains et aériens, peuvent aussi être soumis à des stress biotiques puisqu'ils sont continuellement exposés à une multitude de microorganismes pouvant inclure des viroïdes, virus, bactéries, champignons et oomycètes (Zeng *et al.*, 2006). Les interactions entre plantes et microorganismes sont caractérisées par leur diversité, leur degré de dépendance avec l'hôte ainsi que leurs conséquences phytosanitaires. Les plantes développent des stratégies pour faire face à ces stress. Au cours de l'évolution, seules les plantes capables de mettre en place des mécanismes de défense leur permettant de percevoir

le milieu extérieur et de répondre à ses modulations par une réponse biologique adaptée ont perduré par sélection naturelle.

Chaque plante possède une variété de moyens de défense constitutifs. Ainsi, malgré la diversité d'agents pathogènes auxquels les plantes peuvent être confrontées, les barrières physiques et chimiques préformées mises en place par les plantes au cours de l'évolution constituent un véritable obstacle pour le développement d'agents pathogènes. On parle alors de défenses passives (Thordal-Christensen, 2003).

Parmi toutes les barrières constitutives présentes chez les plantes, la cuticule est probablement la structure de protection la plus efficace. Composée de cutine, un polymère insoluble intimement imbriqué dans un réseau de cires (Jeffree, 1996), la cuticule est hydrophobe. La plupart des champignons pathogènes ont acquis la capacité de traverser cet obstacle au moyen d'enzymes spécifiques que l'on nomme cutinases (Iwasaki et Hioki, 1988). Les autres barrières structurales susceptibles de contrer la progression d'un agent pathogène sont représentées par les trichomes (poils qui tapissent la surface d'un organe végétal), les épines (prolongement de la partie ligneuse des plantes) et les aiguillons (piquants, pouvant se détacher, qui naissent de l'écorce ou de l'épiderme de certaines plantes). En parallèle, les barrières chimiques constitutives sont fabriquées continuellement, même en l'absence d'agents pathogènes. Au sein de ces molécules, appelées phytoanticipines, sont regroupés les composés phénoliques, les alcaloïdes, les lactones, les saponines, les glycosides cyanogéniques et les huiles.

Cependant, cette première ligne de défense peut être contournée par les agents pathogènes. Dans ce cas, la résistance passive n'est plus suffisante. L'interaction entre l'agent pathogène et son hôte est dite compatible et dans ce cas-là, la plante est considérée comme sensible. Dans une telle association, les microorganismes infectent une plante sensible afin d'avoir accès à une large source de nutriments : certains microorganismes vont dégrader les cellules végétales afin de récupérer le contenu cellulaire (nous parlons d'interactions nécrotrophiques), d'autres microorganismes ont un développement intercellulaire et prélèvent les

nutriments par la voie apoplastique (nous parlons d'interactions parasites endophytiques) et un ensemble de microorganismes colonisent la cellule végétale vivante par la voie intracellulaire (nous parlons d'interactions biotrophiques ; Paszkowski, 2006).

Pour lutter contre ces attaques d'agents pathogènes, les plantes disposent d'autres systèmes de défense activés par leur perception. Ces défenses, constituant l'immunité innée chez les plantes (Jones et Dangl, 2006 ; Chisholm *et al.*, 2006), impliquent des événements cellulaires complexes conduisant à une résistance active vis-à-vis des micro-organismes pathogènes.

### *b. Résistance active*

Deux types de résistances actives sont généralement définies : la résistance basale et la résistance spécifique (Iriti et Faoro, 2007 ; Dodds et Rathjen, 2010 ; Conrath, 2011 ; Figure 1).

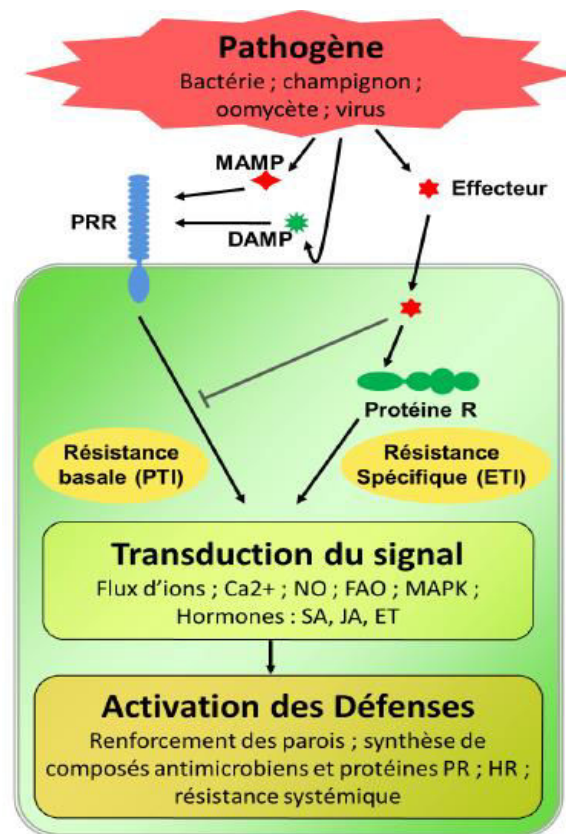


Figure 1 : Représentation schématique des mécanismes de défense des plantes.

L'attaque du pathogène est perçue via des MAMP (*microbe-associated molecular pattern*), DAMP (*damage-associated molecular pattern*) issus de la dégradation de la paroi végétale ou des effecteurs. Les MAMP et les DAMP sont reconnus par des récepteurs de reconnaissance spécifique de profil PRR (*pattern recognition receptor*), induisant la résistance basale PTI (*PAMP-triggered immunity*). Les effecteurs injectés dans la cellule concourent à l'inactivation de la PTI. Ils peuvent toutefois être reconnus par les protéines de résistance R, qui déclenchent alors la résistance spécifique ETI (*effector-triggered immunity*). L'activation des défenses implique des processus de signalisation cellulaire caractérisés par des flux d'ions dont le  $Ca^{2+}$  (*calcium*) jouant le rôle de messager secondaire, une production de NO (*monoxyde d'azote*), l'activation de protéines kinases ainsi que des phytohormones (Astier *et al.*, 2012).



La résistance basale, ou PTI (*PAMP-triggered immunity*), est non spécifique et elle est impliquée lors d'interaction entre un grand nombre de plantes et des agents pathogènes. Elle est déclenchée par la reconnaissance de molécules appelées communément éliciteurs de réactions de défense qui peuvent être des DAMP (*damage-associated molecular pattern*), des PAMP (*pathogen-associated molecular patterns*) ou des MAMP (*microbe-associated molecular patterns*).

La PTI constitue un premier niveau de défense. Cependant, certains agents pathogènes parviennent à contourner la PTI *via* la production d'effecteurs codés par des gènes d'avirulence (*Avr*). Un second niveau de défense, l'ETI (*effector-triggered immunity*) peut alors être mis en place par la plante. Cette résistance, dite spécifique, implique la reconnaissance moléculaire des effecteurs par des protéines codées par des gènes de résistance (*R*). Selon le concept gène pour gène (Flor, 1971), les plantes hôtes possèdent le gène *R* correspondant aux gènes *Avr* du pathogène. Une perte ou une altération de l'un de ces deux gènes conduit à la maladie (réaction compatible). Au contraire, la reconnaissance du produit du gène *Avr* par la protéine *R* initie une cascade d'événements cellulaires conduisant à la résistance (réaction incompatible). L'ETI pourra de nouveau être détournée par l'agent pathogène *via* la production de nouveaux effecteurs que la plante reconnaitra ensuite *via* la sélection de nouvelles protéines *R*. Ce mécanisme s'inscrit dans un processus de co-évolution des plantes et des agents pathogènes, ces derniers contournant les barrières immunitaires des plantes qui mettent à leur tour en place de nouvelles réponses spécifiques (Jones et Dangl, 2006).

### *c. Reconnaissance de l'agent pathogène et transduction du signal*

L'agent pathogène est reconnu *via* des récepteurs de reconnaissance spécifiques de type PRR (*pattern recognition receptor*), présentant des similarités de structure avec les récepteurs Toll-like exprimés dans les cellules animales (Hayashi *et al.*, 2001), et déclenchent alors une cascade de signalisation, appelée également transduction du signal, permettant la mise en place d'une réponse de

défense adaptée (Nürnberger et Scheel, 2001 ; Zipfel, 2008). Les mécanismes de défense des plantes résultent de processus de signalisation finement régulés. Ces processus, essentiel à la survie de la plante, mettent en avant l'utilisation de nombreux messagers secondaires dès les premières minutes de l'interaction entre l'agent pathogène et son hôte (Nürnberger et Scheel, 2001).

Ainsi, il existe des signaux primaires et des signaux secondaires qui régissent la transduction. Les signaux primaires rassemblent des métabolites qui sont directement impliqués dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'une cellule. Ce type de signaux a généralement une fonction physiologique dans l'organisme, c'est-à-dire une fonction intrinsèque. Les métabolites primaires regroupent les acides aminés, les lipides, les carbohydrates et les acides nucléiques. Inversement, les signaux secondaires rassemblent des métabolites qui ne sont pas directement impliqués dans ces processus physiologiques fondamentaux pour l'organisme. Les métabolites secondaires sont principalement des flux d'ions à travers la membrane plasmique : il est possible de retrouver du  $\text{Ca}^{2+}$  (*calcium*) et des  $\text{H}^+$  (*protons*), mais également du  $\text{K}^+$  (*potassium*) et du  $\text{Cl}^-$  (*chlore*).

Ces mouvements d'ions déclenchent une dépolarisation membranaire, dont l'amplitude et la durée dépendent de l'éliciteur (Garcia-Brugger *et al.*, 2006). Puis une activation de l'expression des gènes de défense aboutit à la synthèse de nombreuses protéines créant alors un environnement instable pour l'agent pathogène, cette dernière étape correspond à la réponse biologique.

#### *d. Réponse de défense*

Les voies de signalisation cellulaires activées dans les cellules végétales suite à la reconnaissance des micro-organismes pathogènes conduisent à l'expression des défenses de la plante. L'induction de ces défenses implique une reprogrammation de l'expression de certains gènes, notamment les gènes de défense. Cette modulation de l'expression génique, en partie commune à la PTI et

à l'ETI (Tsuda et Katagiri, 2010), concerne principalement des gènes codant des protéines PR (*pathogenesis-related*), des protéines associées au renforcement des parois cellulaires, à la biosynthèse de composés antimicrobiens et à la mise en place de la RH (*réponse hypersensible*).

#### Renforcement de la paroi cellulaire

La première ligne de défense contre les agressions causées par des agents pathogènes est formée par l'ensemble des barrières physiques de la plante, en particulier la cuticule et la paroi du végétal. Ces barrières physiques permettent le blocage du développement et la neutralisation de l'agent pathogène.

La cuticule, formée de cutine et de cires, protège la surface des parties aériennes de la plante.

La paroi pecto-cellulosique protège chaque cellule végétale. Après reconnaissance de l'agent pathogène, un renforcement de la paroi au site d'infection est observé. Ce renforcement consiste en une réorganisation structurale et chimique de la paroi *via* le dépôt de molécules nouvellement synthétisées. Une accumulation de lignine, subérine, callose ou de glycoprotéines contribue à la rigidification de la paroi et permet de stopper le développement de nombreux agents pathogènes (Lepoivre, 2003 ; Duhoux et Nicole, 2004 ; Ahn *et al.*, 2007 ; Huckelhoven, 2007 ; Trouvelot *et al.*, 2008). Ces dépôts peuvent se limiter au point de pénétration de l'hyphe et former une papille, ou constituer une encapsulation complète des structures étrangères. En plus de ces dépôts, nous observons une accumulation de composés phénoliques toxiques (Lherminier *et al.*, 2003) ainsi que le recrutement de protéines chargées d'inhiber les enzymes hydrolytiques sécrétées par l'agent pathogène en vue de détruire la paroi végétale (De Lorenzo et Ferrari, 2002).

Généralement, ces défenses induites après infection constituent un obstacle suffisant pour la protection des plantes contre l'attaque de pathogènes. Cependant, certains micro-organismes parviennent parfois à s'affranchir de ces barrières physiques, en infectant la plante par des ouvertures naturelles telles que les stomates

ou une blessure, ou encore *via* l'action d'enzymes hydrolytiques permettant la dégradation de la cuticule ou de la paroi cellulaire.

#### Synthèse de composés antimicrobiens

En plus du renforcement pariétal, les réponses de défense se caractérisent par la production de composés toxiques directement dirigés contre le micro-organisme pathogène. Ces composés, de natures variées, synthétisés suite à une infection ou une élicitation, sont regroupés sous le terme de phytoalexines (Hammerschmidt, 1999). La phytoalexine la plus caractéristique d'*Arabidopsis thaliana* est la camalexine. Elle confère à la plante une résistance contre certaines souches de *Pseudomonas syringae* et *Botrytis cinerea* (Glazebrook et Ausubel, 1994).

#### Production de protéines liées à la pathogenèse

Les protéines PR sont produites en réponse à l'attaque par de nombreux agents pathogènes chez un grand nombre d'espèces végétales comme la tomate, le tabac, le persil, l'orge ou encore *A. thaliana*. L'expression des gènes correspondants est sous le contrôle des phytohormones SA (*acide salicylique*), JA et/ou éthylène (Van Loon *et al.*, 2006). Les protéines PR possèdent des rôles biologiques différents et ont été classées en 17 familles selon leurs propriétés biochimiques (Edreva, 2002). La plupart possèdent des propriétés antimicrobiennes et agissent au travers d'activités hydrolytiques, se traduisant par la dégradation de la paroi du pathogène ou par une toxicité vis-à-vis de l'agent pathogène. C'est le cas des  $\beta$ -1,3-glucanases (PR-2), des chitinases (PR-3, -4, -8 et -11), des endoprotéases (PR-7), ou encore des défensines (PR-12), thionines (PR-13) et de certaines protéines de transfert de lipides (PR-14). Selon leur classe, elles ciblent les oomycètes, les virus, les nématodes et les insectes herbivores. D'autres jouent un rôle dans la signalisation ou le renforcement de la paroi végétale (Van Loon *et al.*, 2006).

### Réponse par hypersensibilité

La RH (*réponse par hypersensibilité*) est un mécanisme naturel de défense induite chez les plantes contre les agents pathogènes, traduisant une réaction de résistance localisée. C'est une forme de mort cellulaire programmée. Cette réaction de sensibilité exacerbée des cellules est de forte intensité et de courte durée. Elle est le résultat d'un processus actif contrôlé génétiquement entraînant la mort programmée d'un nombre limité de cellules hôtes entourant le site d'infection et entraînant l'apparition de lésions macroscopiques ou microscopiques quelques heures après le début de l'infection (Heath, 2000). La RH aurait pour but le confinement de l'agent pathogène au niveau du site d'infection en réduisant l'accès aux nutriments disponibles (Greenberg et Yao, 2004). Cette stratégie s'avère appropriée lors d'une infection par un agent pathogène biotrophe ou hémibiotrophe, qui nécessite des cellules vivantes de l'hôte pour se développer (Glazebrook, 2005). En revanche, la RH favoriserait le développement de pathogènes nécrotrophes, qui se nourrissent de tissus morts, tels que le champignon *B. cinerea* (Govrin et Levine, 2000).

### Réponse par potentialisation ou amorçage

L'efficacité des défenses de la plante dépend, en plus de la reconnaissance de l'agent pathogène, de la rapidité et de l'intensité des réponses cellulaires conduisant à la résistance (Conrath *et al.*, 2006). L'application de certains composés, ou d'un premier stress, peut conduire à un état physiologique dans lequel la plante pourra mobiliser ses mécanismes de défense plus efficacement lors d'un stress ultérieur, identique ou non au premier. Ce phénomène est appelé potentialisation / amorçage, ou « priming » (Conrath *et al.*, 2002).

### Résistance systémique acquise

Les mécanismes de défense mis en place ne se limitent pas à la proximité du site d'infection. La SAR (*réponse systémique acquise*) est une forme de résistance généralisée qui s'établit dans toutes les cellules saines de la plante après une infection par un agent pathogène (Sticher *et al.*, 1997). Elle permet la protection

de la plante contre des attaques ultérieures de bioagresseurs. Cet état, proche de l'immunité animale, apparaît quelques heures après la reconnaissance plante-pathogène et est effective pendant plusieurs semaines (Maleck *et al.*, 2000 ; Durrant et Dong, 2004). De plus, une augmentation de l'expression des gènes codant certaines protéines PR est observée lors de la SAR, participant au maintien de l'état de résistance de la plante (Maleck *et al.*, 2000 ; Durrant et Dong, 2004). Elle implique la diffusion du signal aux cellules saines à l'aide de messagers secondaires (Benhamou, 2009). Le rôle des messagers secondaires est principalement attribué à des phytohormones comme l'éthylène, le SA, le JA ou encore l'ABA (*acide abscissique*). Ces composés, qui sont le résultat de l'activation des gènes précoces, jouent un rôle dans l'induction de la SAR en activant à leur tour des gènes de défense tardifs et la production d'une diversité de composés issus du métabolisme secondaire, comme des protéines de défense et divers phytoalexines (Ryals *et al.*, 1996 ; Benhamou, 2009). Ces molécules et particulièrement les petites molécules phénoliques ont aussi un rôle antimicrobien direct.

#### Résistance systémique induite

Certaines interactions bénéfiques entre les plantes et des rhizobactéries ou des mycorhizes conduisent à la mise en place de l'ISR (*résistance systémique induite* ; Van Loon *et al.*, 1998 ; Pozo et Azcon-Aguilar, 2007). L'ISR confère une meilleure résistance à la plante lors d'attaques ultérieures par des agents pathogènes (Pieterse *et al.*, 1996). Cette résistance utilise des voies de signalisation en partie différentes de la SAR puisqu'elle est régulée par le JA et l'éthylène, et ne dépend pas du SA (Van der Ent *et al.*, 2009). L'ISR induit une modulation de l'expression de gènes, majoritairement impliqués dans la défense ou la régulation de la transcription, au niveau des racines chez *A. thaliana* (Verhagen *et al.*, 2004). De plus, l'ISR induit une potentialisation systémique des défenses de la plante, caractérisées lors d'une infection ultérieure par une augmentation de l'expression génique et un dépôt de callose et de pectine au niveau des feuilles (Cordier *et al.*, 1998 ; Verhagen *et al.*, 2004).

### 3. Principaux agents pathogènes cryptogamiques du fraisier

#### *a. Botrytis cinerea*

À la frontière du saprophytisme et du parasitisme, le champignon phytopathogène ubiquiste *B. cinerea* est un microorganisme polyphage de la famille des Ascomycètes qui cause d'énormes dégâts en agriculture. La maladie causée par cet agent pathogène est communément appelée « pourriture grise » et est économiquement redoutable et importante car ce champignon attaque plus de 1400 espèces de plantes (Elad *et al.*, 2016). Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance économique en culture sous serre ou en plein champ sur cultures maraîchères, viticoles et horticoles, comme par exemple : le raisin, la pomme, la poire, la cerise, la fraise et le kiwi en production fruitière. *B. cinerea* attaque aussi l'aubergine, la carotte, la laitue, le concombre, le poivron, la tomate, la courgette en production légumière ou des plantes ornementales comme la rose, le gerbera ou le cyclamen. Que cela soit en pré-récolte ou en post-récolte, la pourriture grise engendre des pertes importantes de rendement (Gullino, 1992).

Cet agent pathogène peut entraîner la destruction partielle ou totale de la plante hôte, et dans certains cas de la récolte. En cultures sous abris, les risques d'attaque par ce champignon pathogène sont permanents sur, par exemple, la tomate, le poivron, la laitue ou la fraise (Jarvis, 1992). Pour combattre la maladie, l'utilisation de fongicides entraîne des coûts financiers importants. Le marché mondial des produits de contrôle de *B. cinerea* est estimé à 15-25 millions de dollars par an (Elad et Stewart, 2004).

Au cours de son cycle biologique (Figure 2), *B. cinerea* peut produire du mycélium, des spores asexuées ou conidies, des spores sexuées ou ascospores ainsi que des sclérotés. Le mycélium de *B. cinerea* comprend des filaments articulés, grisâtres ou olivâtres, cylindriques, quelquefois vésiculeux au niveau de la cloison médiane, dont le diamètre varie considérablement suivant les conditions de

développement des hyphes. Lorsque le mycélium est au stade de fructification, il produit des ensembles de conidiophores grisâtres. Parfois, ce mode de multiplication peut disparaître et laisser place à une prolifération mycélienne blanche qui correspond à l'élongation d'hyphes grêles, hyalins qui se répandent sous forme de "toile" (Viennot-Bourgin, 1965). Le mycélium peut se conserver dans les débris de plantes des cultures précédentes.

Lorsque les conditions deviennent favorables, *B. cinerea* fructifie pour donner des conidies pouvant germer sur de très nombreux substrats. Le développement des conidies se manifeste par la production de conidiophores dressés en touffes souvent étendues, constituant un feutrage intense gris. Les conidies prennent une part importante dans la dissémination du champignon. Ces dernières sont produites dès le printemps dans le cas de culture en plein champ. En revanche, elles peuvent être produites en continu, selon les conditions climatiques, dans le cas de cultures sous abris par exemple. Leur libération est favorisée par un climat humide, puis elles sont transportées par le vent, la pluie et les insectes (Holz *et al.*, 2007).

Lorsque les conditions deviennent défavorables au développement de mycélium et de conidies, des sclérotés se forment. Ils sont constitués par du mycélium agrégé blanchâtre. En vieillissant, ils durcissent et deviennent noirâtres. Ils sont composés d'un cortex de cellules épaisses formant une mince barrière de cellules pseudo-parenchymateuses et d'une large medulla centrale composée d'hyphes filamenteux (Coley-Smith, 1980). Au printemps, les sclérotés peuvent germer et produire du mycélium ou des conidies. Ils peuvent également être à l'origine de la formation des apothécies (Coley-Smith et Cooke, 1971).



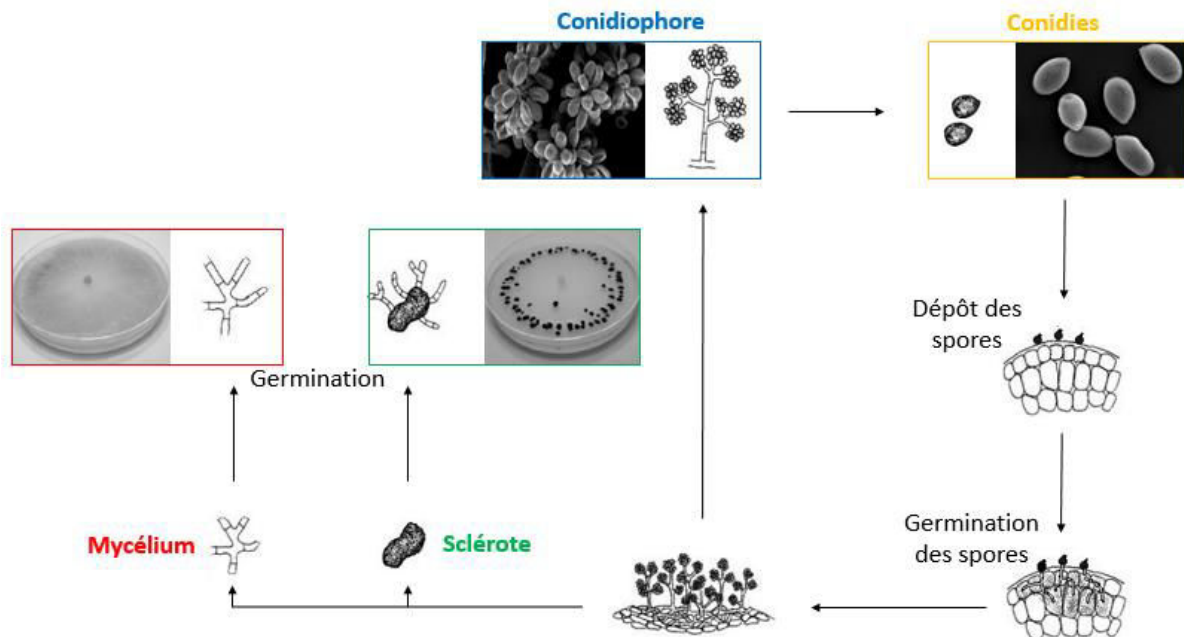
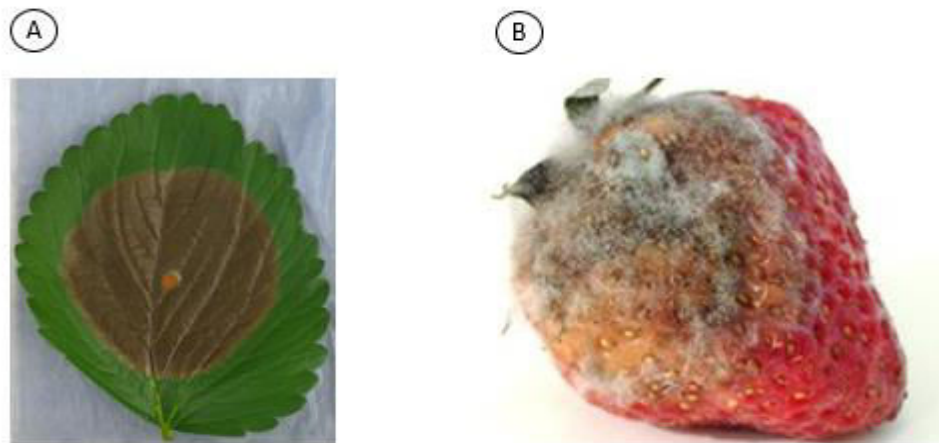


Figure 2 : Cycle de développement de *B. cinerea*. Le cycle de développement est montré sous la forme d'un cycle de développement asexué du champignon (Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon).

Pour *B. cinerea*, différents facteurs interviennent dans les premiers stades d'infection, dans le développement de la maladie et dans la sporulation du champignon (Yunis *et al.*, 1990). Ces facteurs peuvent être soit d'origines environnementales comme la température ou l'humidité relative soit dépendantes de la plante (stade de développement de la plante et conditions de culture).

Du fait du peu de réserves énergétiques endogènes présentes dans ces conidies, *B. cinerea* a besoin d'une source exogène de nutriments pour se développer (Yoder et Whalen, 1975 ; Kosuge et Hewitt, 1964). Les nutriments sont nécessaires à la germination des spores, au développement du mycélium, et à la formation des appressoria (Li *et al.*, 2004). Les éléments nutritifs requis pour l'infection peuvent être fournis par exemple sous forme de glucose *in planta* ou de milieu PDA *in vitro* (*extrait de pomme de terre - dextrose agar*), ou par une blessure au point d'inoculation. La concentration des éléments nutritifs influence la capacité de *B. cinerea* à provoquer la pourriture des tissus (Yoder et Whalen, 1975 ; Doehlemann *et al.*, 2005 ; Doehlemann, 2006 ; Figure 3).



**Figure 3 : Maladie provoquée par *B. cinerea* sur les fraisiers.** Le champignon *B. cinerea* est responsable de la pourriture grise. A) Symptômes foliaires sur les plants de fraisier : taches nécrotiques. B) Symptômes sur les fraises : pourriture des fruits (images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon et Physiologie des Fruits et Légumes, UAPV).

L'ensemble des isolats naturels de *B. cinerea* ne présente pas le même niveau d'agressivité sur une même plante hôte (Decognet *et al.*, 2009). Dans nos laboratoires (Unité de Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon), la souche Bc1

(souche isolée de tomate) est plus agressive que la souche Bc21 (souche isolée du fraisier) sur plusieurs espèces végétales testées (tomate, fraise, laitue, melon).

### *b. Podosphaera aphanis*

*Podosphaera aphanis* est un champignon filamenteux de la famille des Ascomycètes. Il est responsable de la maladie appelée plus communément « oïdium » ou « blanc » et est considérée comme la maladie la plus fréquente depuis une dizaine d'années sur le fraisier cultivé sous abris. Comme la majorité des oïdiums, ce champignon pathogène a un spectre d'hôtes très étroit puisqu'il se développe uniquement sur le fraisier cultivé (*Fragaria x ananassa*) et des espèces comme *F. vesca*, *F. chiloensis* ou *F. virginiana*. Il peut provoquer jusqu'à 50 % de perte de production en fruits.

C'est un parasite obligatoire qui engendre des taches blanches poudreuses au niveau des feuilles, que cela soit sur la face supérieure ou la face inférieure des feuilles (Figure 4). Les jeunes feuilles encore fermées ou juste ouvertes sont les plus sensibles à l'oïdium. Les taches poudreuses sporulantes continuent de croître jusqu'à recouvrir entièrement la surface foliaire. Le plus souvent, le développement de la maladie se généralise à l'ensemble de la plante, incluant les stolons, les bourgeons, les fleurs (infection par les sépales, étamines, pistil engendrant une mauvaise pollinisation) et donc les fruits (infection par les akènes). Lorsque l'Automne arrive, les conditions étant défavorables pour le développement du champignon, des petits points noirs issus de la reproduction sexuée, appelés cléistothèces, apparaissent uniquement au niveau de la surface inférieure des feuilles.

En cas de fortes attaques, le champignon provoque l'enroulement du limbe vers le haut, donnant ainsi une forme de cuillère à la feuille, qui fait alors apparaître la face inférieure avec le mycélium. En fin d'évolution de la maladie, un

rougissement du limbe peut survenir de même que des nécroses ocres accompagnées de mycélium non sporulant peuvent apparaître sur la face inférieure.

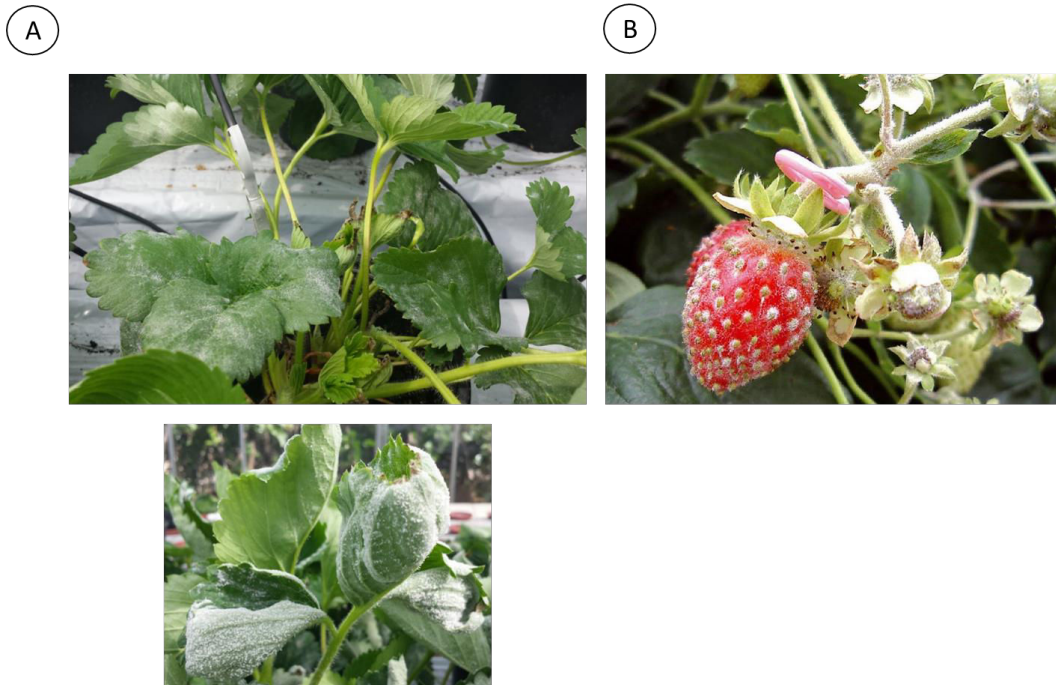


Figure 4 : Symptômes d'oïdium provoqués par *Podosphaera aphanis* sur fraisier.

A) Symptômes foliaires sur les feuilles : taches blanches poudreuses. B) Symptômes sur les fruits : duvet blanc (images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon).

Le cycle biologique de *P. aphanis* est scindé en deux parties (Figure 5):

- Phase anamorphe haploïde correspondant à la reproduction asexuée du champignon, pendant laquelle des conidies sont produites.
- Phase téléomorphe correspondant à la reproduction sexuée, pendant laquelle sont formées les cléistothèces.

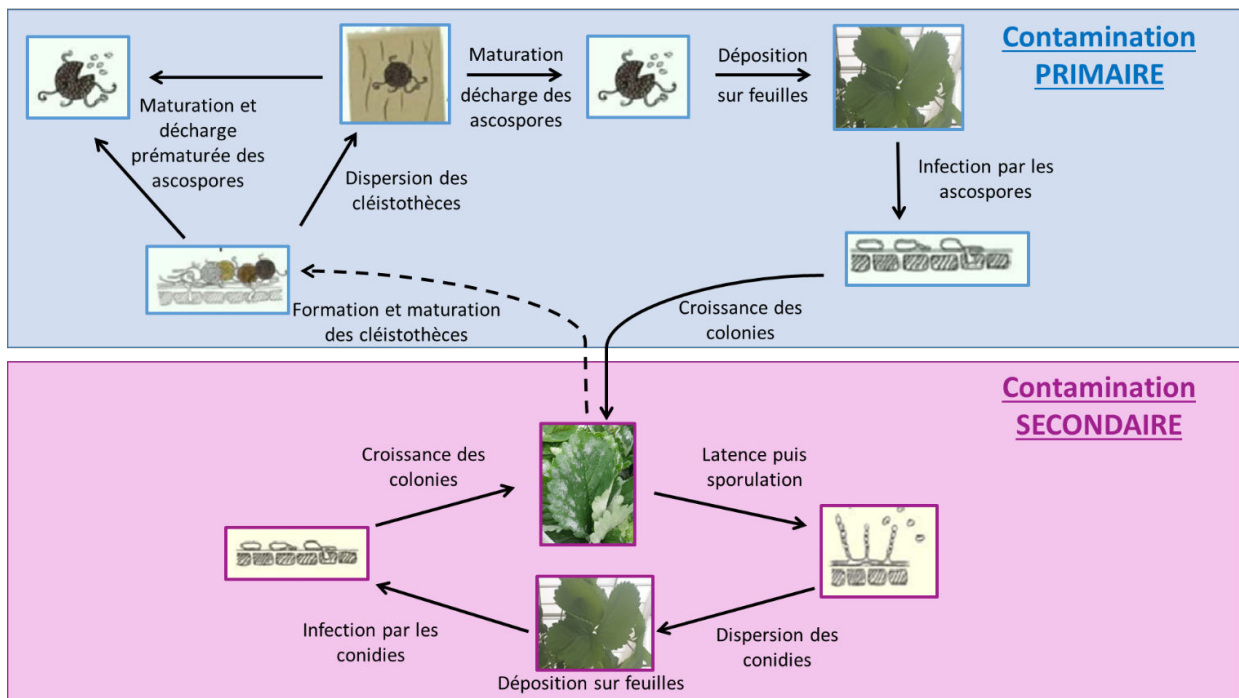


Figure 5 : Cycle biologique de l'agent de l'oïdium, *P. aphanis*. Le cycle de développement est montré sur fraisier (infection naturelle obtenue sous abris, images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon).

Au bout de 4 jours en conditions optimales (entre 20 et 25°C avec une humidité relative élevée), des conidiophores apparaissent sur le mycélium et produisent les conidies. L'initiation de l'infection se fait *via* le contact d'une conidie (ou ascospore) avec une feuille de fraisier. Dans des conditions favorables, la conidie germe après 6 heures de contact et développe un tube germinatif. L'infection se produit 24 heures après avec l'émission de nombreuses excroissances plates, appelées appressoria ; et 48 heures plus tard, des suçoirs (ou haustoria) de forme globulaire se développent en traversant la paroi cellulaire afin de puiser les ressources nutritionnelles, nécessaires au développement de *P. aphanis*. Le développement de l'agent pathogène se fait par ramification des hyphes puis sporulation jusqu'à voir à l'œil nu l'apparition d'un duvet blanc feutré.

La reproduction sexuée se fait par fusion des noyaux de deux cellules de deux hyphes haploïdes compatibles. Cette étape donne naissance à un caryogame diploïde éphémère qui va se diviser en 8 ascospores par un processus de méiose. Ces ascospores vont être contenues dans un asque, lui-même à l'intérieur du cléistothèce qui permet normalement la conservation des asques pendant l'hiver. Ceux-ci sont libérés, après la déchirure du cléistothèce, au printemps. Le rôle de conservation hivernale attribué aux cléistothèces est encore incertain dans le cas du fraisier car ils sont présents en faible quantité et les ascospores ne paraissent pas viables. Les ascospores germent de la même manière que les conidies.

### *c. Rhizopus*

*Rhizopus* est un champignon filamenteux saprophyte appartenant au groupe des Zygomycètes. Il se développe rapidement sur des fruits en dégradation. Le mycélium du champignon envahit les tissus et une moisissure blanchâtre à grisâtre se développent rapidement. Par la suite, les tissus infectés se liquéfient engendrant la pourriture molle du fruit (Figure 6).



Figure 6 : Symptômes sur fruits causés par *Rhizopus*. Le développement du champignon se fait rapidement sur fruits matures (University of Edinburgh).

Le cycle biologique de *Rhizopus* se déroule en trois parties (Figure 7) :

- Une phase végétative par fragmentation du mycélium.
- Une phase asexuée lorsque les conditions sont favorables (température allant de 23 à 28°C et une humidité élevée). Les sporangiospores en contact avec une matrice germent pour permettre le développement du champignon sur son hôte.
- Une phase sexuée lorsque les conditions deviennent défavorables (températures basses ou manque de nutriments). C'est une reproduction isogame qui fonctionne par la fusion de deux gamètes similaires provenant de deux souches différentes provoquant la formation d'un tube de fécondation appelé un zygosporange. Leur fusion forme une zygospore noire et globuleuse, qui pourra germer par la suite pour redémarrer un cycle biologique.

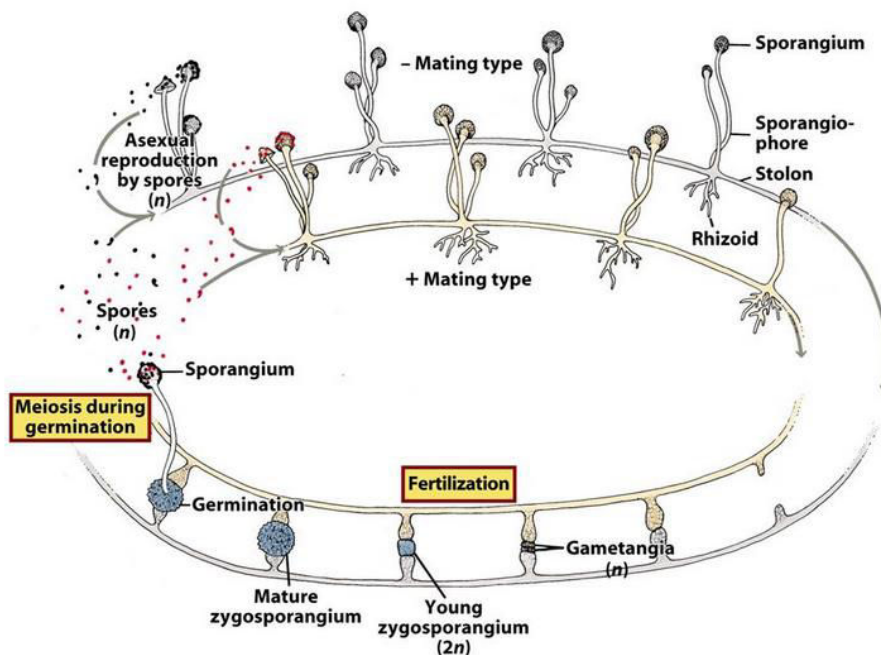


Figure 14-11  
Biology of Plants, Seventh Edition  
© 2005 W.H. Freeman and Company

Figure 7 : Cycle de développement des champignons du genre *Rhizopus*. Ce champignon est un organisme saprophyte, c'est-à-dire qu'il tire sa subsistance de la matière organique en décomposition, ou vit au dépens d'un hôte sans provoquer de maladie (Biology of Plants, Seventh Edition).

#### 4. Méthodes de protection des cultures contre les agents phytopathogènes

Le contrôle des agents phytopathogènes est complexe du fait de la diversité de leur biologie et de leurs interactions avec les plantes. De ce fait, les attaques de pathogènes peuvent provoquer des maladies ayant un impact majeur sur les productions agricoles, donnant lieu à des enjeux économiques et phytosanitaires. Pour contrôler ces maladies, les produits phytosanitaires chimiques tels que les fongicides contre les champignons pathogènes, sont encore largement utilisés. Néanmoins, les directives Européennes récemment mises en pratique par les gouvernements visent à limiter l'utilisation des produits phytosanitaires. En outre, depuis quelques années, nous assistons à une diminution constante des substances actives disponibles du fait de leur toxicité mais aussi à cause des phénomènes de résistance des bio-agresseurs aux matières actives (Russel, 1995 ; Leroux *et al.*, 2002 ; Corio-Costet, 2012).

##### *a. Lutte chimique*

La lutte chimique reste l'outil principal de contrôle des maladies et des ravageurs dans les cultures. La lutte chimique consiste généralement à pulvériser des fongicides qui ont un effet curatif lorsque les conditions sont favorables et que le risque de contamination est fort. Il est conseillé d'utiliser des composés pénétrants ou systémiques en combinaison avec des fongicides de contact pour une efficacité optimal (Gisi, 2002).

Il existe de nombreux autres fongicides ayant des modes d'action différents. Tout d'abord, les fongicides ayant un mode d'action multi-site sont polyvalents et affectent divers processus cellulaires tels que la respiration, la perméabilité ou la division cellulaire. Les fongicides inhibent généralement la germination des spores et sont principalement utilisé en prévention de la maladie. Ensuite, il existe également des fongicides uni-sites ayant un spectre d'action



spécifique. Ils sont généralement pénétrants (translaminaires ou systémiques) et peuvent être utilisés à la fois en préventif et en curatif. Parmi ces fongicides uni-sites, nous pouvons retrouver ceux interférant sur la biosynthèse de la paroi végétale ayant pour cible la cellulose synthase (Blum *et al.*, 2010). D'autres fongicides, tels que les QoI (*quinone outside inhibitors*), inhibent l'oxydation de la coenzyme Q située à la surface externe du cytochrome b, sur le complexe III des chaînes respiratoires des mitochondries. En lien avec ce dernier, il existe également les Qil (*quinone inside inhibitors*) qui inhibent l'oxydation de la coenzyme Q situé, cette fois-ci, à la surface interne du cytochrome b.

Contre les champignons phytopathogènes, il existe par exemple des fongicides homologués à large spectre de bioagresseurs (comme par exemple Signum® ; Rovral® ; Aquaflo® en France), comme des fongicides très spécifiques contre une espèce fongique particulière, comme par exemple Scala® ou Cyprodinil® contre *B. cinerea* (Elad *et al.*, 2004 ; Couderchet, 2003). Ces fongicides peuvent être constitués de plusieurs matières actives ayant chacune des propriétés et des modes d'action différents. Par exemple, Signum® est composé de deux matières actives aux propriétés complémentaires. La pyroclostroline inhibe la respiration mitochondriale et donc bloque la production d'ATP (*adénosine triphosphate*), indispensable aux fonctions vitales du champignon (Karadimos *et al.*, 2005 ; Khana et Smith, 2005). Cette molécule active est associée en mélange avec du boscalid qui bloque la dégradation de l'ATP (Avenot *et al.*, 2009).

L'utilisation des pesticides dans la lutte contre les bioagresseurs génère énormément d'inconvénients qui ne sont malheureusement pas toujours compensés par leur efficacité. En effet, l'emploi répété des substances actives peut entraîner l'apparition et l'extension rapide de souches d'agents pathogènes résistantes (Veloukas *et al.*, 2011 ; Corio-Costet, 2012).

### *b. Méthodes alternatives de protection*

Il existe des méthodes alternatives à la lutte chimique qui peuvent être efficaces sans polluer ni affecter la santé humaine mais qui restent cependant très peu utilisées. La plupart de ces méthodes présentent encore parfois une efficacité trop aléatoire et restent moins efficaces que la lutte chimique.

Cependant, dans le souci d'une agriculture plus durable et en adéquation avec l'environnement, ces méthodes alternatives de protection représentent des solutions prometteuses après avoir identifié leur optimisation d'application.

#### Pratiques culturelles

La prophylaxie en matière de protection des végétaux représente l'ensemble des mesures pouvant être conseillées afin de prévenir ou défavoriser l'installation d'un organisme nuisible et son développement dommageable sur un territoire déterminé (Bernard et Bugaret, 2002). En résumé, des moyens directs (combattre l'organisme pathogène) et indirects (minimiser le développement de l'agent pathogène) sont utilisés.

Ces mesures consistent par exemple en une meilleure gestion de l'humidité et de la température autour des végétaux, à maîtriser l'entrée et l'accumulation d'inoculum (Elad et Shtienberg, 1995), à nettoyer les structures (serres), les équipements (caisses, petits outils) et le matériel agricole (rinçage des roues de tracteur), mais aussi en éliminant les plantes malades, les foyers de ravageurs et les déchets de cultures. Pareillement, une planification des rotations et des assolements permet de limiter les épidémies (Navarrete *et al.*, 2010).

#### Nutrition

En plus de l'oxygène, du dioxyde de carbone et de l'eau, les plantes ont besoin de plusieurs éléments minéraux pour une nutrition adéquate (Mengel *et al.*, 2001). Une carence dans l'un de ces éléments minéraux réduit la croissance des plantes et le rendement des cultures. Les plantes acquièrent généralement leurs éléments minéraux à partir du sol. L'état nutritionnel de la plante peut déterminer

sa sensibilité ou sa résistance aux maladies. La colonisation des plantes par des agents pathogènes nécessite l'utilisation efficace des ressources disponibles dans les tissus hôtes (Snoeiijers *et al.*, 2000).

#### Phytohormones et éliciteurs

Les réponses de défense des plantes peuvent, au moins partiellement, être induites par l'utilisation de molécules d'origine végétale ou microbienne. Deux classes se distinguent en fonction du signal qu'elles miment lors d'une interaction plante-pathogène : les inducteurs chimiques des voies de signalisation et les éliciteurs perçus par les plantes.

Les inducteurs chimiques sont, le plus souvent, des phytohormones impliquées dans la mise en place de réponses de défense, telle que le SA, le JA ou encore l'éthylène (Glazebrook, 2005 ; Lorenzo et Solano, 2005 ; Broekaert *et al.*, 2006 ; Loake et Grant, 2007 ; Balby et Devoto, 2008). Il existe une corrélation étroite entre l'ampleur et la vitesse de leur apparition dans une cellule végétale et le blocage du développement des agents pathogènes (Kobayashi *et al.*, 1995). Ces phytohormones peuvent être utilisées pour stimuler les réponses immunitaires et protéger les plantes contre des attaques d'agents pathogènes. Plus récemment, ces études ont été complétées par la découverte de la participation d'autres phytohormones, initialement connues pour leur implication dans le développement, à la mise en place des réponses adaptatives des plantes à des stress biotiques et abiotiques (Pieterse *et al.*, 2009). C'est le cas, par exemple, des brassinostéroïdes, des auxines, des gibbérellines, des cytokinines et de l'ABA. Les mécanismes moléculaires régissant l'implication de ces phytohormones dans les voies de signalisation de défense des plantes demeurent peu connus (Bari et Jones, 2009). Chacune d'entre elles déclencherait des voies de signalisation spécifiques, bien qu'une interdépendance entre ces voies soit clairement établie (Pieterse *et al.*, 2009). Ainsi, la spécificité de réponse découlerait d'une balance hormonale caractéristique d'un pathosystème donné (Thomma *et al.*, 2001). La signalisation dépendante de la production de SA est généralement associée à l'attaque d'agents

pathogènes biotrophes ou hémibiotrophes, alors que la signalisation dépendante du JA ou de l'éthylène est associée aux réponses de défense induites contre des agents pathogènes nécrotrophes se nourrissant de tissus morts (Glazebrook, 2005). Ces voies contribuent à la régulation de l'expression de gènes de défense propres à chacune, qui se traduit par la mise en place des réponses de défense (Bari et Jones, 2009 ; Pieterse *et al.*, 2009).

Les éliciteurs sont de nature chimique variée : peptidique, lipidique ou oligosaccharidique (Nürnberger *et al.*, 2004 ; Boller et Felix, 2009). Ils incluent des molécules d'origine microbienne, en particulier des constituants structuraux, mais également d'origine végétale. Ces derniers correspondent généralement à des produits issus de la dégradation des parois par des enzymes hydrolytiques libérées par l'agent pathogène ou l'hôte et appelés DAMP (Lotze *et al.*, 2007 ; Boller et Felix, 2009). Les éliciteurs sont reconnus par des récepteurs des cellules végétales appelés PRR (Zipfel, 2008).

### Protection biologique

L'objectif de la protection biologique n'est pas de stopper totalement les maladies, mais plutôt de réguler leur progression de manière à les maintenir en-dessous d'un seuil acceptable. La définition officielle par l'OILB (*Organisation Internationale de la Lutte Biologique et intégrée*) stipule que la protection biologique est « l'utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs ». Cette méthode vise donc à identifier des insectes auxiliaires ou des microorganismes efficaces et à optimiser leur utilisation afin de lutter contre des espèces invasives et contre des organismes pathogènes. Le principe de la protection biologique est basé sur l'exploitation par l'homme à son profit d'une relation naturelle entre deux êtres vivants :

- La cible (de la protection) est un organisme indésirable, pathogène ou ravageur d'une plante cultivée, mauvaise herbe, etc.
- L'agent de protection (ou auxiliaire dans le cas des ravageurs) est un organisme différent, le plus souvent un parasite (ou parasitoïde), un prédateur ou

un agent pathogène du premier, qui le tue à plus ou moins brève échéance, éventuellement en s'en nourrissant, ou tout au moins qui limite son développement. Cette définition est actuellement élargie à tous les produits ou extraits d'origine végétale ou animale et aux composés minéraux.

Les composés minéraux et organiques peuvent être utilisés comme fongicides d'origine naturelle pour le contrôle des agents pathogènes des plantes (Tripathi et Dubey, 2004). Plusieurs sels comme le chlorure de calcium ( $CaCl_2$ ), le carbonate de potassium ( $K_2CO_3$ ), le bicarbonate de sodium ( $NaHCO_3$ ) et le carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) peuvent réduire la croissance mycélienne de *B. cinerea in vitro* sur un milieu glucose-agar (Nigro *et al.*, 2006) ainsi que sur baies de raisin (Nigro *et al.*, 2006). Le chitosan qui est une forme soluble de la chitine et ses dérivés et est utilisé contre *B. cinerea* en protection post-récolte par l'induction des mécanismes de résistance des fruits (El-Ghaouth *et al.*, 1997).

Le contrôle des bioagresseurs par des extraits végétaux (biopesticides) a longtemps été réalisé de manière traditionnelle et donc leur utilisation a longtemps reposé sur des bases empiriques.

### Lutte génétique

La lutte génétique repose sur la sélection naturelle ou assistée de variétés de plantes suffisamment résistantes pour assurer un contrôle durable des populations pathogènes ou ravageurs. L'introduction des gènes de résistance dans des variétés sensibles aux bioagresseurs est un moyen efficace et une méthode respectueuse de l'environnement pour la gestion de ces parasites. Par contre des gènes de résistance ne sont pas présents dans toutes les espèces végétales et vis-à-vis de tous les bioagresseurs. Par exemple, d'après Dik et Wubben (2004) il n'existe aucune variété commerciale résistante à la pourriture grise pour l'ensemble des cultures attaquées par le champignon.

### *c. Lutte physique*

La lutte physique repose sur l'utilisation d'outils ou de matériaux dans le but de lutter directement contre le développement d'agents pathogènes. Elle peut être divisée en quatre grands groupes.

#### Lutte mécanique

La lutte mécanique consiste à utiliser des outils pour éliminer les adventices (travail du sol, désherbage ou encore fauche) ou à utiliser des outils contre les ravageurs (filets, pellicule plastique ou pièges ; Cervek, 2012 ; La Luciole, 2015).

#### Lutte pneumatique

La lutte pneumatique consiste en l'utilisation de système pneumatique combinant les courants d'air et une aspiration puissante ou une aspersion avec de l'eau sous pression des organes qui permet d'éliminer la majorité des individus nuisibles présents sur les plantes cultivées (Khelifi *et al.*, 2000). L'efficacité de la méthode est fonction de la culture en termes d'espèces et de stade de développement par exemple, mais dépend également des conditions climatiques.

#### Lutte thermique

La lutte thermique consiste à causer des blessures internes aux agents pathogènes par le biais d'un échauffement létal ou par diminution de la température en dessous d'un point de congélation (Lague *et al.*, 1999). Dans ce cas précis, il est nécessaire d'identifier les seuils de tolérance et les niveaux de sensibilité thermique des agents pathogènes, mais aussi de la culture à protéger dans le but de ne pas l'endommager.

## 5. Utilisation de la lumière pour protéger les cultures contre les champignons phytopathogènes

La lumière est l'un des facteurs environnementaux les plus importants qui régule la photosynthèse, la croissance et le développement des plantes (Smith, 1982). Les rayons électromagnétiques, et plus précisément les rayonnements UV, sont impliqués dans diverses réponses morphologiques, physiologiques, biochimiques et génétiques des plantes.

### *a. Description des rayonnements UV*

Les rayonnements UV sont des rayonnements électromagnétiques dont le domaine spectral s'étend de 100 à 400 nm (Figure 8), dans la gamme des rayonnements optiques invisibles pour l'œil humain. Trois types de rayonnements UV ont été distingués selon leurs activités biologiques et leur pouvoir de pénétration dans la peau. Ils correspondent à trois plages de longueur d'ondes (Bintsis *et al.*, 2000) : les UV-A, de longueurs d'ondes 315 à 400 nm, représentent 95 % des rayons UV qui atteignent la surface de la terre ; les UV-B, de longueurs d'ondes 280 à 315 nm, sont, en grande partie, arrêtés par la couche d'ozone, mais les 5 % qui la franchissent sont responsables de dommages à court terme, tels que les coups de soleil ; les UV-C, de longueurs d'ondes 100 à 280 nm, sont les plus dangereux car les plus énergétiques, mais ils sont absorbés en totalité par la couche d'ozone.

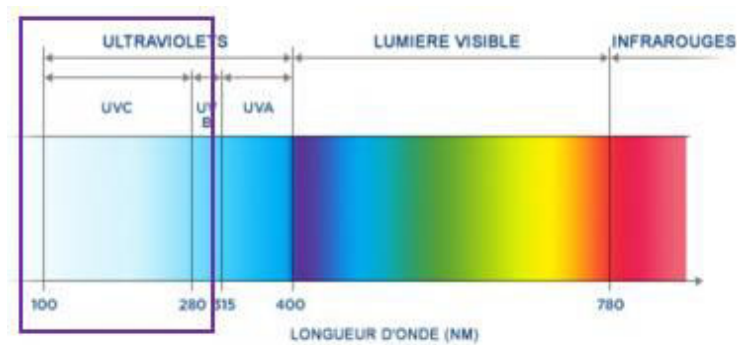


Figure 8 : **Spectre de la lumière blanche.** Parmi ce spectre lumineux, on retrouve les UV-C à des longueurs d'onde très courtes.

Les rayonnements UV-C peuvent aussi être générés par des sources artificielles et la dose ou fluence produite dépend de la puissance des lampes et du temps d'exposition (Houghton *et al.*, 2001). Quoiqu'elles constituent un composant mineur du spectre solaire, l'intérêt accordé à l'étude des effets de ces radiations sur les plantes prend de plus en plus d'ampleur.

### *b. Mode d'action des rayonnements UV*

Les rayonnements UV ont des effets délétères sur les microorganismes. En effet, l'absorption directe des rayonnements UV par les doubles liaisons conjuguées carbone-carbone dans les protéines et les acides nucléiques peut se traduire par des changements structuraux de l'ADN (*acide désoxyribonucléique*) qui sont responsables des effets antimicrobiens des rayonnements UV (Bintsis *et al.*, 2000 ; Farkas, 1998 ; Jay *et al.*, 2005 ; Rosenstein et Ducore, 1983 ; Tyrell, 1973). Les flux ioniques anormaux, l'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire et la dépolarisation membranaire ont été aussi observées sous l'effet des rayonnements UV-B (Wuytack *et al.*, 2003). Alors que les effets délétères des rayonnements UV sur les micro-organismes sont connus (Bintsis *et al.*, 2000 ; Jay *et al.*, 2005), les effets spécifiques de chaque rayonnement UV (A, B et C) et leur mode d'action ne sont pas encore complètement élucidés. Dans une récente revue,



Santos *et al.* (2013) montre que les rayonnements UV-C sont généralement plus efficaces pour la destruction des bactéries et à des doses plus faibles que les UV-A et UV-B.

De plus, les effets sur les organismes vivants sont fonction des doses appliquées. A fortes doses, les rayonnements UV peuvent avoir des conséquences néfastes. Les UV-B et les UV-C peuvent générer un stress oxydatif (Costa *et al.*, 2002 ; Petit *et al.*, 2009) et la formation de ROS (*espèces réactives de l'oxygène*) qui peuvent altérer les lipides membranaires (Mandal et Chatterjee, 1980 ; Gutteridge et Halliwell, 1990 ; Ait Barka *et al.*, 2000a), les pigments, les protéines (Meffert *et al.*, 1976) et même les acides nucléiques des plantes (Dai *et al.*, 1997 ; Balestrazzi *et al.*, 2010 ; Saxena *et al.*, 2011). Des dommages peuvent ainsi être observés au niveau des chloroplastes, des mitochondries et des membranes (Figure 9).

Il existe des observations montrant que le PSII (*photosystème II*) subit des dégâts entre 250 et 260 nm où les plastoquinones oxydées absorbent (Vass *et al.*, 2005), et donc sont détruites par la lumière UV-C (Bishop, 1961 ; Shanvit et Avron, 1963). Les UV-B et les UV-C causent également des dégâts au niveau des thylakoïdes (Bornman *et al.*, 1983). Il a été démontré sur les feuilles de betterave sucrière que la lumière UV-C peut entraîner un manque d'intégrité des thylakoïdes lors de l'accumulation de l'amidon. De la même manière, Mantai *et al.* (1970) ont démontré que l'inhibition de la photosynthèse par la lumière UV-C est due à une perturbation de l'intégrité des membranes lamellaires qui engendre une perte de l'activité du PSII et les réactions qui y sont associées. Plus récemment, Wituszynska *et al.* (2015) ont démontré que la lumière UV-C cause des dégâts sur les chloroplastes chez *A. thaliana* et déclenche l'apoptose des cellules du mésophylle. En plus des chloroplastes, les mitochondries sont également touchées par la lumière UV-C par perte du potentiel transmembranaire, changements de la distribution membranaire et production de ROS (Gao *et al.*, 2008).

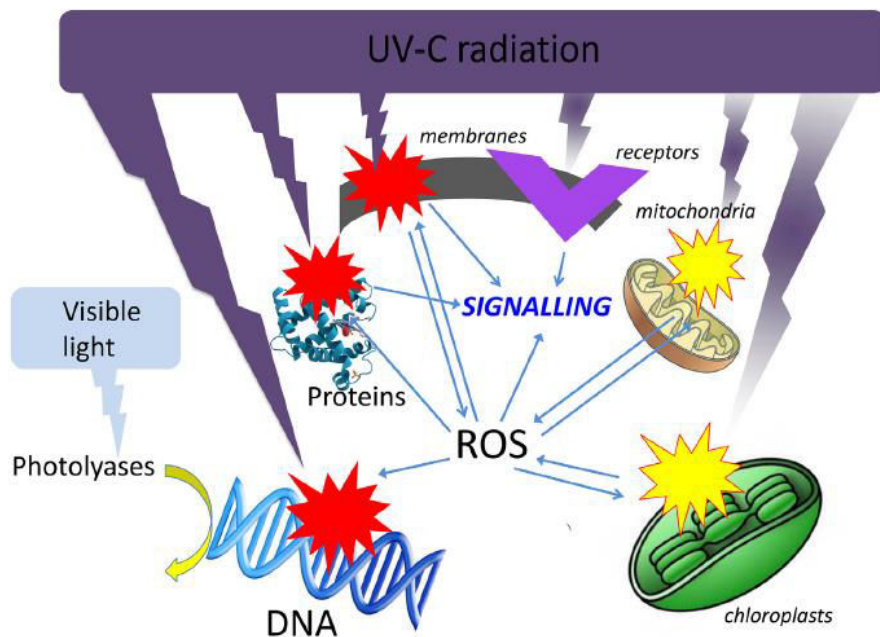


Figure 9 : Représentation simplifiée des effets de la lumière UV-C sur les cellules végétales. Les rayonnements UV-C causent des dommages sur les molécules d'ADN, les protéines et les membranes, et inhibent le fonctionnement des mitochondries et des chloroplastes. Tous ces dégâts sont le résultat de la production de ROS qui impacte négativement l'intégrité des molécules d'ADN, des protéines et des membranes, ainsi que le fonctionnement des mitochondries et des chloroplastes. Les effets directs et indirects des rayonnements UV-C sont représentés, ainsi que les effets réparateurs de la lumière visible (Urban *et al.*, 2016).

### c. Effet des rayonnements UV-C en post-récolte

Les rayonnements UV-C sont couramment utilisés expérimentalement à des fins de décontamination / désinfection en post-récolte (Liu *et al.*, 1993 ; Lu *et al.*, 1987 ; Maharaj, 1995 ; Mercier *et al.*, 2001 ; Mercier et Arul, 1993 ; Siddiqui *et al.*,

2011 ; Stevens *et al.*, 1990 ; Wilson *et al.*, 1997). Ces rayonnements peuvent agir directement en causant le retard de croissance des microorganismes (Allende et Arte, 2003 ; Gomez-Lopez *et al.*, 2007) et/ou induire des phénomènes de résistance (Tableau 1). Dans ce dernier cas, nous parlons d'effet hormétique, c'est-à-dire une réponse du végétal permettant de réduire la contamination suite à l'application de doses faibles et non délétères d'UV-C (Droby *et al.*, 2009).

**Tableau 1 : Effets des rayonnements UV-C sur la résistance des fruits et légumes en post-récolte.** Les rayonnements UV-C, appliqués à de faibles doses, ont un impact sur la résistance de nombreuses espèces végétales en post-récolte.

Espèces végétales	Pathogènes	Références
Tomate	<i>Alternaria alternata</i>	Liu et al, 1993
	<i>Botrytis cinerea</i>	Charles <i>et al.</i> , 2008a-d
Carotte	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Mercier <i>et al.</i> , 2000
Poivron	<i>Botrytis cinerea</i>	Mercier <i>et al.</i> , 2001
Patate douce	<i>Rhizopus stolonifer</i>	Stevens <i>et al.</i> , 1990
Citron	<i>Penicillium digitatum</i>	Ben-Yehoshua, 1992
Pomme	<i>Alternaria sp.</i>	Lu <i>et al.</i> , 1991
Pêche	<i>Monilinia fructicola</i>	Stevens <i>et al.</i> , 1998
Laitue	<i>Botrytis cinerea</i>	Ouhibi <i>et al.</i> , 2014a,b
Pamplemousse	<i>Penicillium digitatum</i>	D'hallewin <i>et al.</i> , 2000
Raisin	<i>Botrytis cinerea</i>	Nigro <i>et al.</i> , 1998
Fraise	<i>Botrytis cinerea</i>	Nigro <i>et al.</i> , 2000

Au niveau des végétaux, les expositions modérées aux rayonnements UV-C permettent le retard de la maturation et de la sénescence et donc la diminution des maladies en post-récolte (Ben-Yehoshua et Mercier, 2005 ; Shama et Alderson, 2005 ; Charles et Arul, 2007). En ce qui concerne la respiration et la synthèse d'éthylène, les effets des rayonnements UV-C sont contrastés. Les rayonnements UV-C induisent à la fois une augmentation de la production d'éthylène dans les

fruits et un retard de la maturation (Tiecher *et al.*, 2013). Dans les pêches, les rayonnements UV-C retardent également la maturation, mais dans ce cas, avec un effet inhibiteur sur la production d'éthylène (Stevens *et al.*, 1998). Dans une étude portant sur les tomates traitées aux rayonnements UV-C (Maharaj *et al.*, 1999), le pic initial de CO<sub>2</sub> (*dioxyde de carbone*) a été associé à un pic d'éthylène. Au niveau du métabolisme secondaire, les rayonnements UV-C ont un effet stimulateur. Les rayonnements UV-C induisent, par exemple, la synthèse des composés phénoliques (Jenkins, 2009). Ces composés jouent un rôle majeur dans la photoprotection des plantes en raison de leur propriété antioxydante (Agati *et al.*, 2013 ; Carbonell-Bejerano *et al.*, 2014 ; Park et Kim, 2015 ; Rivera-Pastrana *et al.*, 2014 ; Tiecher *et al.*, 2013). L'enzyme PAL (*phénylalanine ammonia-lyase*) catalyse la conversion de la L-phénylalanine en acide trans-cinnamique dans la voie des phénylpropanoïdes qui, avec la voie des shikimates, sont à l'origine de tous les composés phénoliques. Chez la fraise, les rayonnements UV-C induisent une activité PAL associée à l'éthylène ce qui entraînent une augmentation de la teneur en composés phénoliques (Nigro *et al.*, 2000). Parmi tous les composés phénoliques, les traitements UV-C stimulent la synthèse de flavonoïdes, dont les anthocyanines et les tanins qui sont dérivés de l'acide p-coumarique de la voie des phénylpropanoïdes *via* l'action de la CHS (*chalcone synthase*). Tiecher *et al.* (2013) ont démontré que les rayonnements UV-C régulent à la hausse la CHS et augmentent les transcrits de la flavonol synthase, qui catalyse la synthèse des flavonols. Les stilbènes, comme le resvératrol sont aussi des composés phénoliques qui s'accumulent après une exposition aux rayonnements UV-C chez les baies de raisin par exemple (Cantos *et al.*, 2000 ; Krasnow et Murphy, 2004 ; Poiroux-Gonord *et al.*, 2010). Chez la tomate, le contenu en caroténoïdes est augmenté suite à l'application de rayonnements UV-C (Bravo *et al.*, 2013).

Les traitements UV-C améliorent ainsi la capacité antioxydante des fraises (Erkan *et al.*, 2008) et des tomates (Jagadeesh *et al.*, 2011). L'amélioration de cette capacité antioxydante des fruits permet de mieux gérer les dégâts oxydatifs associés à la production de ROS. Cette capacité antioxydante est aussi reliée à des effets

enzymatiques, par exemple, chez la fraise, les rayonnements UV-C augmentent l'activité de la glutathione peroxydase, la glutathione réductase, la SOD (*superoxyde dismutase*), l'ascorbate peroxydase, la guaiacol peroxydase, la monodéhydroascorbate réductase et la déhydroascorbate réductase (Erkan *et al.*, 2008). De plus, des composés impliqués dans la maturation et la conservation, tels que les polyamines, sont augmentés suite à des traitements aux rayonnements UV-C (Hollosoy, 2002 ; Tiecher *et al.*, 2013).

Enfin, les rayonnements UV-C ralentissent la perte de fermeté, principal facteur de qualité des fruits charnus tels que les tomates (Maharaj *et al.*, 1999), les pêches (Yang *et al.*, 2014) et les fraises (Pombo *et al.*, 2009). Ce ralentissement peut être relié à une diminution de l'activité d'enzymes et de protéines impliquées dans le démantèlement de la paroi cellulaire. Pombo *et al.* (2009) ont démontré que l'application d'une dose de 4,1 kJ/m<sup>2</sup> sur fraises maintenait la fermeté en réduisant l'expression d'un lot de gènes impliqués dans la dégradation de la paroi cellulaire (expansines, polygalacturonases, endoglucanases et pectine méthylestérases). Liu *et al.* (2011) ont analysé l'expression des gènes lors des premiers stades de stockage des fruits de tomate traités à une dose UV-C de 4 kJ/m<sup>2</sup>. Ils ont démontré une régulation à la hausse des gènes impliqués dans la transduction du signal, les réponses de défense et le métabolisme oxydatif. Dans cette même étude, les gènes liés au démantèlement de la paroi cellulaire, à la photosynthèse et au métabolisme des lipides sont, à l'inverse, régulés à la baisse. Toutes ces observations récentes suggèrent que les rayonnements UV-C peuvent être exploités pour stimuler la production de composés phytochimiques favorisant la santé ou stimulant les mécanismes d'adaptation aux stress biotiques et abiotiques.

Au niveau de la résistance aux agents pathogènes, Charles *et al.* (2008a-d) ont observé qu'un traitement UV-C à une dose de 3,70 kJ/m<sup>2</sup> des fruits de tomate induisait une résistance à *B. cinerea*. Une partie de la résistance observée a été attribuée à l'accumulation de composés phénoliques tels que la lignine et la subérine jouant le rôle de barrière contre le développement du pathogène.

L'augmentation de la résistance des plantes à *B. cinerea* peut également être due à l'induction de la synthèse de substances toxiques pour les agents pathogènes comme les phytoalexines (Charles *et al.*, 2008a-d ; Windram *et al.*, 2012). En outre, les rayonnements UV-C stimulent la transcription de gènes importants impliqués dans la défense tels que les gènes codant pour la PAL, la chitinase ou encore la  $\beta$ -1,3-glucanase (El Ghaouth *et al.*, 2003).

En résumé, de nombreuses études ont été menées sur l'impact des UV-C au stade post-récolte mais peu d'informations sont disponibles sur l'application des UV-C directement sur les plantes (Darras *et al.*, 2015 ; Kunz *et al.*, 2008 ; Severo *et al.*, 2016 ; Xie *et al.*, 2016).

#### *d. Effet des rayonnements UV-C en pré-récolte*

En général, les études portant sur l'impact des rayonnements UV sur les plantes se sont focalisées principalement sur les rayonnements UV-B. Les rayonnements UV-B sont capables d'affecter de manière disproportionnée les processus métaboliques chez les animaux, l'homme, les plantes et les microorganismes. Chez les plantes, les rayonnements UV-B peuvent interférer avec la croissance, le développement, la photosynthèse, la floraison, la pollinisation et la transpiration (Roetzema *et al.*, 1997). Les publications relatant l'effet de ces rayonnements sur la production des plantes sont encore rares. Cependant, Phoenix *et al.* (2003) ont souligné une augmentation de la production de fruits comme les myrtilles ou les airelles rouges.

Outre ces effets, les rayonnements UV-B induisent des modifications morphologiques au niveau de la feuille (Roetzema *et al.*, 1997). Par exemple, l'enroulement des feuilles, afin de réduire la surface foliaire touchée par ces rayonnements, est observé à des faibles doses d'UV-B (Greenberg *et al.*, 1996). L'épaississement de la feuille est une autre stratégie de protection qui peut être accompagnée d'une redistribution de la chlorophylle au niveau de la surface adaxiale (Day et Vogelmann, 1995). Il a été mis en évidence que les rayonnements

UV-B stimulaient la biosynthèse des pigments foliaires (chlorophylles et caroténoïdes), ce qui a permis à Campos *et al.* (1991) de leur attribuer une fonction photo-protectrice.

L'une des découvertes importantes est que les voies de signalisation en réponse aux rayonnements UV-B et aux attaques de certains bioagresseurs sont largement partagées (Stratmann, 2003). Des preuves significatives ont émergé au cours des dernières années, indiquant que la lumière, par l'intermédiaire de photorécepteurs spécifiques, peut être un modulateur important de voies de signalisation hormonales impliquées dans la défense des plantes (Ballare, 2011 ; Kazan et Manners, 2011). Le dernier à avoir été identifié et décrit est UVR8 (résistance aux UV LOCUS 8 ; Rizzini *et al.*, 2011 ; Christie *et al.*, 2012 ; Di *et al.*, 2012 ; Jenkins, 2014). Parmi les processus influencés par les rayonnements UV-B et impliqués dans la résistance, nous retrouvons l'accumulation de composés phénoliques de protection et l'accroissement du JA et du SA (Rousseaux *et al.*, 1998 ; Mazza *et al.*, 1999 ; Stratmann, 2003 ; Izaguirre *et al.*, 2007 ; Kuhlmann et Müller, 2009 ; Demkura *et al.*, 2010 ; Gunasekera et Paul, 2007 ; Kunz *et al.*, 2008 ; Demkura et Ballaré, 2012).

Malheureusement, exploiter les radiations UV-B pose des problèmes concrets. En général une exposition prolongée est requise pour être efficace, difficiles à imposer dans la pratique. C'est face à ce constat que l'idée d'exploiter les rayonnements UV-C est née. Les rayonnements UV-C étant plus énergétiques, les temps de traitements sont beaucoup plus courts.

## II. Plan du travail

### 1. Problématique

De manière générale, les contraintes abiotiques ou biotiques peuvent modifier le développement et la croissance de la plante et des fruits, donc affecter le rendement. Un stress apparaissant pendant la phase végétative peut avoir des effets moindres sur le rendement qu'un stress apparaissant pendant la phase reproductive (Craufurd et Wheeler, 2009). De même, la réponse de la plante peut varier fortement en fonction de l'intensité du stress (Niinemets, 2010) et des stress modérés peuvent stimuler la résistance de la plante à des stress plus sévères tels que l'attaque d'agents pathogènes (Bruce *et al.*, 2007).

Les modèles d'étude travaillés sont le fraisier et la tomate. Le fraisier et la tomate sont des cultures sensibles à de nombreux agents pathogènes. Le fraisier produit un fruit très fragile qui se consomme quelques jours après la récolte. La fraise est donc sujet à des gaspillages importants et donc à de fortes pertes économiques. Les pertes sont globalement estimées entre 15 et 20 % sachant que les  $\frac{3}{4}$  des fraises sont perdus avant la récolte ou lors des étapes de conditionnement avant la mise en marché et le quart restant provient des pertes durant les étapes de commercialisation (Fusions 2014, Interfel 2015). Le fruit de la tomate peut également être sujet à diverses atteintes liées par exemple à des agents pathogènes. Une solution pour la conservation de ces fruits doit être apportée afin de limiter ce gaspillage alimentaire. L'intérêt de travailler sur ces deux modèles végétaux est de comparer des faux fruits non climactériques (fraises) et des fruits charnus climactérique (tomates).

L'objet de cette étude est d'exploiter les rayonnements UV-C dans le but de diminuer la sensibilité de la plante à des stress biotiques, tout en favorisant la qualité et la conservation des fruits. Pour cela il est nécessaire de mieux comprendre et



quantifier les processus impliqués dans la réponse à un stress provoqué par les rayonnements UV-C.

## 2. Hypothèses de travail

L'objectif général de la thèse est d'évaluer l'effet de rayonnements UV-C sur la sensibilité à des agents pathogènes, la physiologie des plantes et la conservation des fruits (Figure 10). Le travail porte principalement sur l'étude du fraisier et de ses fruits. Une étude en parallèle a été menée sur tomate dans le but de valider les résultats obtenus sur fraise et de voir s'il est possible de généraliser les effets observés.

Plusieurs questions ont orienté ce travail :

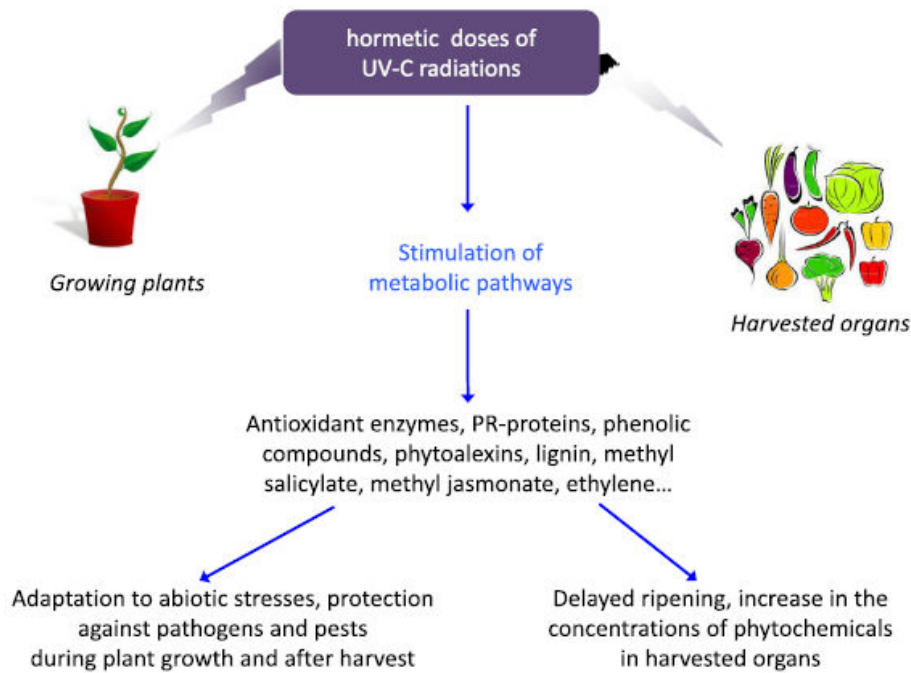
(i) Le niveau de sensibilité des plants de fraisier et de tomate vis-à-vis d'agents pathogènes cryptogamiques majeurs de ces cultures peut-il être réduit par l'application de rayonnements UV-C sur les feuilles des plantes en cours de culture ?

(ii) La sensibilité des fruits après récolte vis-à-vis d'agents pathogènes peut-il être réduit par l'application de rayonnements UV-C en cours de culture ?

(iii) Existe-t-il un lien entre le traitement UV-C réalisé en pré-récolte et la qualité des fruits ainsi que leur sensibilité à des agents pathogènes après récolte ?

(iv) La qualité sensorielle, la qualité nutritionnelle et la qualité sanitaire des fruits sont-elles modifiées par des traitements UV-C sur les fruits en post-récolte ?

(v) L'effet de désinfection des feuilles par les rayonnements UV-C peut-il permettre d'améliorer l'efficacité protectrice d'agents de lutte biologique microbiens ?



**Figure 10 : Résumé des effets attendus des doses UV-C dites hormiques.** Les rayonnements UV-C peuvent avoir des effets bénéfiques à la fois sur la plante et sur les organes récoltés grâce à une stimulation des voies métaboliques (Urban *et al.*, 2016).

### 3. Plan du manuscrit

Le manuscrit début par une synthèse bibliographique et est ensuite organisé en 6 chapitres au total dont 5 de résultats.

Le chapitre I porte sur l'impact des rayonnements UV-C sur la sensibilité de trois variétés de fraisier (*Fragaria x ananassa*, Candiss / Charlotte / Cirafine) à *B. cinerea*. Les fraisiers sont traités à différentes doses d'UV-C ainsi que différentes fréquences d'application afin d'identifier le(s) dose(s) non délétère(s), ou doses hormétiques. Des tests d'inoculation sur feuilles détachées sont réalisés dans le but d'identifier un différentiel de sensibilité entre les trois cultivars. Des données histologiques et biochimiques ont permis d'appuyer les différences de sensibilité

observées. Cette étude a également été réalisée au cours de trois saisons de cultures différentes. Des données de fluorescence de la chlorophylle ont permis de donner des pistes d'explication sur ces variations de sensibilité. En parallèle, des tests sur l'étude de la systémie du traitement par le signal lumineux ont été également abordés.

Le chapitre II porte sur l'évaluation de l'effet de traitements UV-C en post-récolte. Différents paramètres ont été évalués sur les fraises de la variété Candiss : le niveau de sensibilité à *B. cinerea*, la capacité de conservation et la qualité organoleptique et la qualité nutritionnelle. Ainsi de nombreux tests ont été réalisés sur les fraises : inoculation de *B. cinerea*, capacité de conservation à différentes températures, mesures physiques (fermeté, couleur, acidité titrable, fraction en saccharose, teneur en eau) et mesures chimiques (polyphénols, vitamine C, sucres, acides organiques et profils aromatiques).

Le chapitre III porte sur l'impact des rayonnements UV-C appliqués en pré-récolte sur la conservation / qualité des fraises après récolte. L'objectif est d'analyser s'il existe un lien entre les traitements UV-C appliqués en pré-récolte et la qualité / sensibilité des fruits en post-récolte. Les rayonnements UV-C transmettent-ils le signal induit par la lumière de la plante aux fruits ? Pour cela, différentes fréquences d'application des rayonnements UV-C ont été testées pendant la phase de culture du fraisier. De nombreuses mesures ont été réalisées sur les plantes (mesure de fluorescence de la chlorophylle a des feuilles, niveau de sensibilité des feuilles à *B. cinerea*, nombre de fleurs produites) et sur les fruits (nombre de fruits produits et niveau de maturité, sensibilité à *B. cinerea*, capacité de conservation, fermeté, couleur).

Le chapitre IV porte sur l'impact des rayonnements UV-C appliqués en pré-récolte sur la conservation / qualité des tomates après récolte. Cette étude a été réalisée dans le but de valider les résultats obtenus sur fraisier sur un autre modèle végétal à savoir la tomate. Ce travail a été réalisé au Canada dans le cadre d'un échange de 6 mois au CRDH de Saint-Jean-sur-Richelieu au sein de l'équipe Physiologie Post-récolte dirigée par Marie Thérèse Charles. L'exploitation des résultats a permis de comparer les deux études menées à partir d'un faux fruit non

climactérique comme la fraise ou à partir de la tomate qui est un fruit charnu climactérique.

Le chapitre V porte sur l'impact de traitements UV-C sur l'efficacité d'applications foliaires d'agents de lutte biologique vis-à-vis de *B. cinerea* sur fraisier. Dans ce cas, les fraisiers ont été traités aux rayonnements UV-C et/ou avec des agents de lutte biologique (*Bacillus subtilis* et *Gliocladium catenulatum*) et le développement de la maladie a été quantifiée.

Enfin le chapitre VI est consacré à la synthèse de l'ensemble des résultats et aux perspectives.

### III. Publications et communications scientifiques réalisées au cours de la thèse

#### 1. Articles publiés et soumis

**Vasquez H., Ouhibi C., Lizzi Y., Azzouz N., Forges M., Bardin M., Nicot Phillipe, Urban L., Aarrouf J.** (2017). Pre-harvest doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.) to *Botrytis cinerea* L. *Scientia Horticulturae*, 222, 32-39.

**Pascal F., Forges M., Bastien J.M., Charles F., Aarrouf J., Bardin M.** (2018). Fabrication d'une enceinte UV-C pour le traitement des plantes. *Cahier des techniques INRA*, Chapitre 93, Article 1.

**Forges M., Charles F., Pascal M., Aarrouf J., Bardin M.** (2018). Impact of UV-C radiation combined with biocontrol agents on the susceptibility of strawberry plants to *Botrytis cinerea*. *Biological and integrated control of plant pathogens*, IOBC-WPRS Bulletin, 133, 86-90.

**Forges M., Vasquez H., Charles F., Sari D.C., Urban L., Lizzi Y., Bardin M., Aarrouf J.** (2018). Impact of UV-C radiation on the sensitivity of three strawberry plant cultivars (*Fragaria x ananassa*) against *Botrytis cinerea*. *Scientia Horticulturae*, 240, 603-613.

**Vasquez H., Ouhibi C., Forges M., Ledermann L., Lizzi Y., Urban L., Aarrouf J.** (2018). Hormic doses of UV-C light applied to growing tomato plants decrease their susceptibility towards *Botrytis cinerea*. *Fruits*, in submission.

**Forges M., Bardin M., Aarrouf J., Charles F.** (2018). Impact of UV-C radiation applied during strawberry cultivation on the strawberry sensitivity and quality of the fruit. *Postharvest*, in submission.

## 2. Communications orales et posters

**Forges M.** (2016). Impact des rayonnements UV-C sur la protection du fraisier en cours de culture et l'amélioration de la qualité/conservation des fruits contre *Botrytis cinerea*. Journée 70 ans de l'INRA, 17 juin 2016, Avignon, France.

**Forges M., Vàsquez H., Charles F., Urban L., Lizzi Y., Bardin M., Aarrouf J.** (2016). Impact of UV-C radiations on sensitivity of three strawberry (*Fragaria x ananassa*) cultivars against *B. cinerea*. Colloque 8ème Journées des Doctorants SPE, 29-30 Juin et 1er Juillet 2016, Toulouse, France.

**Forges M.** (2017). Envie de fraises de bonne qualité ? Faites les bronzer ! Concours Ma Thèse en 180 secondes, 28 avril 2017, Marseille, France.

**Forges M.** (2017). La nécessaire biodiversité des fruits et légumes. Rencontre enseignants et chercheurs (INRA), 18 mai 2017, Montfavet, France.

**Vàsquez H., Ouhibi C., Lizzi Y., Azzouz N., Forges M., Bardin M., Nicot P., Urban L., Aarrouf J.** (2017). Pre-harvest hormetic doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves to *Botrytis cinerea*. 12th EFPP and 10th SFP congress, from 29 May to 2 July 2017, Dunkerque, France.

**Forges M., Vàsquez H., Charles F., Urban L., Lizzi Y., Bardin M., Aarrouf J.** (2017). Impact of UV-C radiations of strawberry plants on its sensitivity to *Botrytis cinerea*. 12th EFPP and 10th SFP congress, from 29 May to 2 July 2017, Dunkerque, France.

**Forges M., Charles F., Urban L., Bardin M., Aarrouf J.** (2017). Impact of UV-C radiations on sensitivity strawberry to *Botrytis cinerea* and improvement of strawberry quality. Colloque 9ème Journée des Doctorants SPE, du 20 au 22 Juin 2017, Montpellier, France.

**Forges M., Charles F., Urban L., Bardin M., Aarrouf J.** (2017). Impact of UV-C radiations on sensitivity strawberry to *Botrytis cinerea* and improvement of strawberry quality. 1ère édition des Doctorama Qualisud, 26 Juin 2017, Montpellier, France.

**Forges M., Charles F., Aarrouf J., Bardin M.** (2018). Effet de traitements UV-C sur la protection du fraisier et des fruits après récolte contre différents agents pathogènes. 12ème Rencontres de Phytopathologie et Mycologie, 15 au 19 Janvier, Aussois, France.

**Forges M., Charles F., Pascal M., Aarrouf J., Bardin M.** (2018). Impact of UV-C radiation combined with biocontrol agents on the susceptibility of strawberry plants to *Botrytis cinerea*. XV IOBC-WPRS meeting, from 23 to 26 April, Lleida, Spain.

**Forges M. et Schilling M.** (2018). Les rayonnements UV-C et leurs applications en agronomie. Un doctorant à ma table, Café des Sciences, 16 Mai, Avignon, France.

**Forges M.** (2018). Les rayonnements UV-C, un moyen pour stimuler les défenses du fraisier et de la tomate en cours de culture et améliorer la qualité / conservation des fruits après récolte. Journée Scientifique ED 536, 14 Mai, Avignon, France.

**Forges M.** (2018). Impact of UV-C radiations on tomato plant sensitivity to *Botrytis cinerea* and improvement of fruit conservation and their quality in post-harvest. Colloque 10ème Journée des Doctorants SPE, du 27 au 29 Juin 2018, Nice, France.





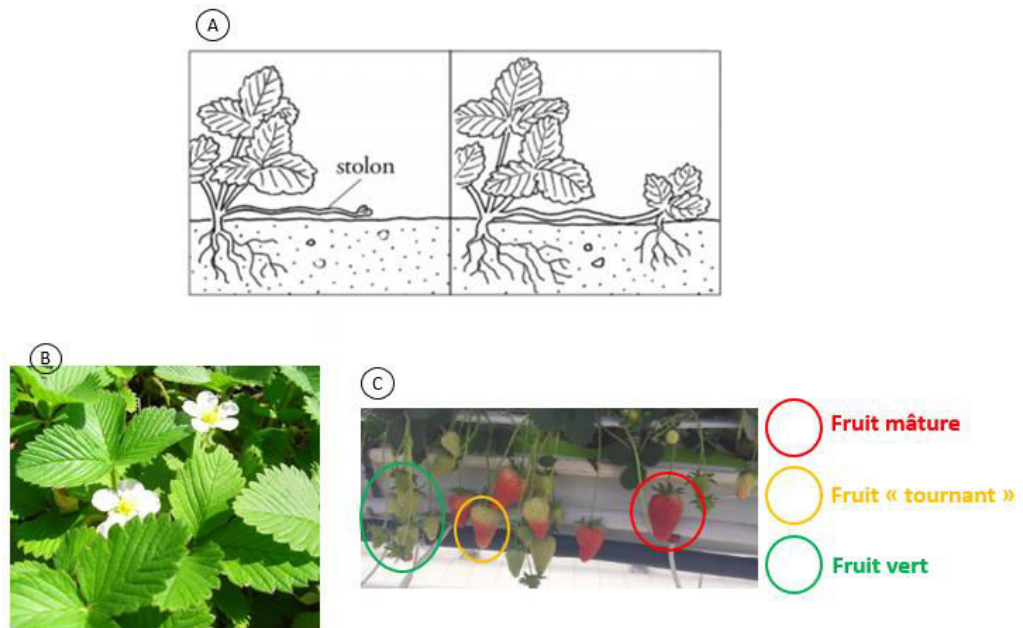
## Chapitre I

Impact des radiations UV-C sur la  
sensibilité de trois variétés de  
fraisiers (*Fragaria x ananassa*)  
contre *Botrytis cinerea*

## I. Modèle végétal : le fraisier

Le fraisier appartient à la famille des Rosacées. *Fragaria x ananassa* est une espèce hybride interspécifique octoploïde à laquelle appartiennent toutes les variétés actuellement cultivées. La création de cet hybride est due à un explorateur français nommé Amédée-François Frézier (1682 - 1773) qui a importé du Chili 5 plantes de *F. chiloensis* pour sa grande taille des fruits et des plantes de *F. virginiana* (identifiés en Amérique du Nord). Au début des années 1700, le croisement entre *F. virginiana* (mâle) avec *F. chiloensis* (femelle) en France a conduit à la production d'hybrides qui allaient être connus sous le nom d'ananas, progéniteurs du fraisier moderne, *Fragaria x ananassa* Duch.

Les fraisiers sont des plantes vivaces qui se propagent *via* des stolons (Figure 11). Les feuilles sont trifoliées et se développent à partir de la « couronne » (tige réduite dans le cœur de la plante). Les fleurs sont généralement blanches. Il existe quelques espèces à fleurs roses telles que la variété Toscana. Les fleurs possèdent 25 à 30 étamines jaunes et 50 à 500 pistils surélevés sur un réceptacle jaune conique. La fleur est habituellement hermaphrodite, et n'a donc pas besoin de pollinisation croisée.



**Figure 11 : Le fraisier.** Le fraisier fait partie de la famille de Rosacées. A) Mode de reproduction asexué du fraisier (phase végétative) : développement de stolons. B) Phase reproductive du fraisier : apparition des fleurs. C) Fructification du fraisier : développement des fraises avec un différentiel de maturation (images personnelles, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon).

Le climat joue un rôle fondamental dans la croissance du fraisier puisque selon la saison, l'état de la plante diffère (Risser et Navatel, 1997). En effet, en été, les plants ont plutôt une croissance végétative. Lorsque l'automne arrive, les températures diminuent et cela initie la floraison et c'est au printemps que la phase de fructification commence.

Ce premier chapitre de thèse est rédigé sous forme d'articles : le premier de méthodologie (Annexe 1) et le second de résultats.

## II. Impact of UV-C radiation on the sensitivity of three strawberry plant cultivars (*Fragaria x ananassa*) against *Botrytis cinerea*

Cette partie est présentée sous la forme d'un article de résultats accepté dans le journal *Scientia horticulturae* en 2018 (Figure 12).



Figure 12 : Article accepté dans un journal scientifique concernant la pré-culture. Cet article a été soumis en 2018 dans le journal *Scientia Horticulturae*.

### 1. Abstract

Several studies suggest that UV-C radiation, known for its disinfecting effect, may also stimulate plant defenses. The objective of this study is to reduce the sensitivity of strawberry plants (*Fragaria x ananassa*) to *Botrytis cinerea* by application of non-deleterious doses of highly energetic UV-C light (254 nm) on leaves. Preliminary tests were carried out on strawberry plants: Cirafine, Charlotte and Candiss, to optimize the doses of UV-C to apply on plants and to test the sensitivity of these three cultivars to *B. cinerea*. The three cultivars showed

different levels of susceptibility to *B. cinerea*: Cirafine was the most resistant followed by Charlotte and Candiss being the most sensitive. These observations were supported by histological examination and phenol levels in the leaves that indicated deeper penetration of *B. cinerea* into Candiss. Nine variations of treatments were applied to the plants, which were composed of varying UV-C doses and differing application frequencies. The treatment of UV-C applied at 0.85 and 1.70 kJ/m<sup>2</sup>, four times every second day (p-value = 0.05), were shown to have a significant increase, around 25 %, in the protection of Candiss against Bc1 strain of *B. cinerea*. Our observations show that exposing strawberry plants (Candiss) to low repeated doses of UV-C could improve their resistance against gray mold, while avoiding any apparent negative effects to the plants.

Keywords: UV-C radiations, strawberry, *Botrytis cinerea*, plant defense

## 2. Introduction

The cultivated strawberry *Fragaria x ananassa* is one of the most important fruit crops worldwide. It is ranked first within berry crops with a worldwide fruit yield of 4.1 million tons per year (Flachowsky *et al.*, 2011). Strawberries are produced in more than 70 countries and organic fruit production is becoming increasingly important (Wilbois *et al.*, 2012).

Pathogen development on host plants, especially on plants producing edible fruits, has a major impact on agricultural production giving rise at once economical issue and phytosanitary issue. Several diseases can be particularly damaging for strawberry production, and among these, gray mold is a major concern for growers. Gray mold is an airborne disease, caused by the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. The disease is difficult to control because the fungus can infect the plant as well as the fruits (Williamson *et al.*, 2007). *B. cinerea* can also cause partial or total destruction of the host plant and its products like fruit, in pre- or post-harvest (Gullino, 1992). The most common and effective strategy to control gray mold is

the application of fungicides. Unfortunately, the frequent use of fungicides can lead to the development of pathogen resistance (Fillinger and Walker, 2015). In addition, the excessive use of fungicides can have a negative impact on the environment as well as on human health, requiring the development of environmentally-friendly alternatives.

Therefore, there is a growing interest in alternative methods that could enable the stimulation of plants defense mechanisms, based on the use of biotic or abiotic factors (Conrath, 2009). Unlike chemical products, abiotic mechanisms for pathogen control, such as light radiation, have been sparsely studied. Outside the visible light, infra-red light (*IR*) or ultraviolet light (*UV*) have specific properties which are exploited in agricultural sector and food industries. UV light corresponds to electromagnetic irradiations produced by the sun or by an artificial source. Three types of UV irradiations, corresponding to three ranges of wavelength, are distinguished according to their energy and biological activities. UV-A (315–400 nm) that are less energetic represent 95% of UV irradiations that arrive on earth surface, UV-B (280–315) that are moderately energetic are largely stopped by the ozone layer and UV-C (100–280 nm) that are the most energetic but they are integrally absorbed by the ozone layer.

Previous studies have shown that light is an important regulator of plant-pathogen interactions (Demkura and Ballare, 2012; Jenkins, 2009; Magerøy *et al.*, 2010). In response to a sudden exposure to high light intensity or to UV light, plants respond by producing reactive oxygen species (*ROS*) that play a role in plant defenses against pests and diseases. Similarly the rapid accumulation of ROS at the pathogen attack site is toxic to pathogens directly (Lamb and Dixon, 1997) and can trigger signaling pathways that are responsible for the activation of other defense mechanisms (Dat *et al.*, 2000; Grant and Loake, 2000). Part of these resistances can be attributed to changes in plant tissue metabolites induced by UV-B radiations, which include accumulation of protective phenolic compounds and enhancement of jasmonic acid dependent defense responses (Ballare *et al.*, 1996; Demkura *et al.*, 2010; Foggo *et al.*, 2007; Izaguirre *et al.*, 2003, 2007; Kuhlmann and Müller, 2009; Mazza *et al.*, 1999; Rousseaux *et al.*, 1998). Indeed, UV-B radiations stimulates

transcription of defense genes, including those encoding for phenylalanine ammonia-lyase (*PAL*) and chalcone synthase, two key-enzymes controlling the synthesis of defence-related phenolic compounds, as well as pathogenesis-related proteins such as chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase (El Ghaouth *et al.*, 2003; Bonomelli *et al.*, 2004; Borie *et al.*, 2004).

There is however a major problem associated with UV-B light: it is generally effective only when delivered over rather extensive periods of time because of its lower photon energy, typically several hours or days. It is often difficult to consider exploiting UV-B light in practical terms. Hence the idea to using UV-C light which is capable to supply large amounts of energy in a very short period of time. The lethal effect of UV-C light has been exploited successfully to control postharvest diseases, thus extending shelf-life of fruits and vegetables (Liu *et al.*, 2011; Maharaj *et al.*, 1999; Mercier *et al.*, 2001; Mercier *et al.*, 1993a; Siddiqui *et al.*, 2011). Previous studies have also defined hormetic doses that can stimulate plant defense without entailing negative side effects on the stored plant organs like fruits (Charles *et al.*, 2008a-d; Charles *et al.*, 2009; Ouhibi *et al.*, 2015a,b; Pataro *et al.*, 2015; Pinheiro *et al.*, 2015; Sari *et al.*, 2016; Mohamed *et al.*, 2017). Numerous studies have tested different UV-C doses in order to find hormetic dose and doses were in the range of 0.125–9 kJ/m<sup>2</sup> (Pombo *et al.*, 2011; Ouhibi *et al.*, 2015a,b; Vasquez *et al.*, 2017). Moreover, UV-C radiation stimulates production of pathogenesis-related proteins that play a significant role in plant defense such as chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase in strawberry leaves infected by *Colletotrichum acutatum* or in fruit infected by *B. cinerea* (Casado-Díaz *et al.*, 2006; Jin *et al.*, 2017). If a large number of studies have shown that UV-C radiation elicits defense responses in fruits, few studies have worked on treating plants during their growth. Treating *Arabidopsis*, *Pelargonium* or *Lettuce* plants during their growth with UV-C induces reduction of infection by *Hyaloperono sporoparasitica* and *B. cinerea* (Kunz *et al.*, 2008; Darras *et al.*, 2015; Vasquez *et al.*, 2017). Xie *et al.* (2016) have shown that UV-C treatment applied in pre-harvest caused no leaf damage at the cumulative dose of 3.6 kJ/m<sup>2</sup>, and fruits tend to be firmer and in some

case redder. Unfortunately, there is still a lack of literature on crops destined for human consumption (Vasquez *et al.*, 2017).

The objective of this study was to research the impact of non-damaging doses of UV-C radiation in strawberry plant on the sensitivity to *B. cinerea*. It was carried out on three strawberry cultivars (Cirafine, Charlotte and Candiss) and two strain of *B. cinerea* (Bc1 and Bc21). We proceeded in two steps. First, we tested the basal level of sensitivity of the three strawberry cultivars against *B. cinerea* by evaluating lesion development of the pathogen (histological experiment) and by measuring phenols content. Secondly, we tested the effect of single and repeated non-deleterious doses of UV-C radiation on lesion development of *B. cinerea* on leaves.

### 3. Material and methods

#### *a. Plant material*

Three cultivars of strawberry plants were used: Cirafine, Charlotte and Candiss. These cultivars have been developed and were provided by CIREF (*Centre interrégional de recherche et d'expérimentation de la fraise*, Dourville, France) as “frigo” plant and all have red fruits. Candiss corresponds to non-remontant plants, Charlotte and Cirafine are remontant plants.

Strawberry plants were transplanted in pots containing a horticulture compost mix (TS4 type, Klasmann and Deimann) in a glasshouse. The plants were fertilized with a standard commercial nutrient solution (Soluvég Parme, NPK 16-6-27 + 3 MgO + OE, Angibaud Derome) with a drip irrigation system (one dripper per pot) at a frequency adapted to the climatic demand. For each repetition, plants were randomly distributed and were grown for 2 months before treatment.

Three batches of plants were produced in 2016 to provide independent repetitions of the whole study. The first repetition (R1) was carried out in spring (from January to April 2016) with mean temperatures of 22.5 °C during the day and

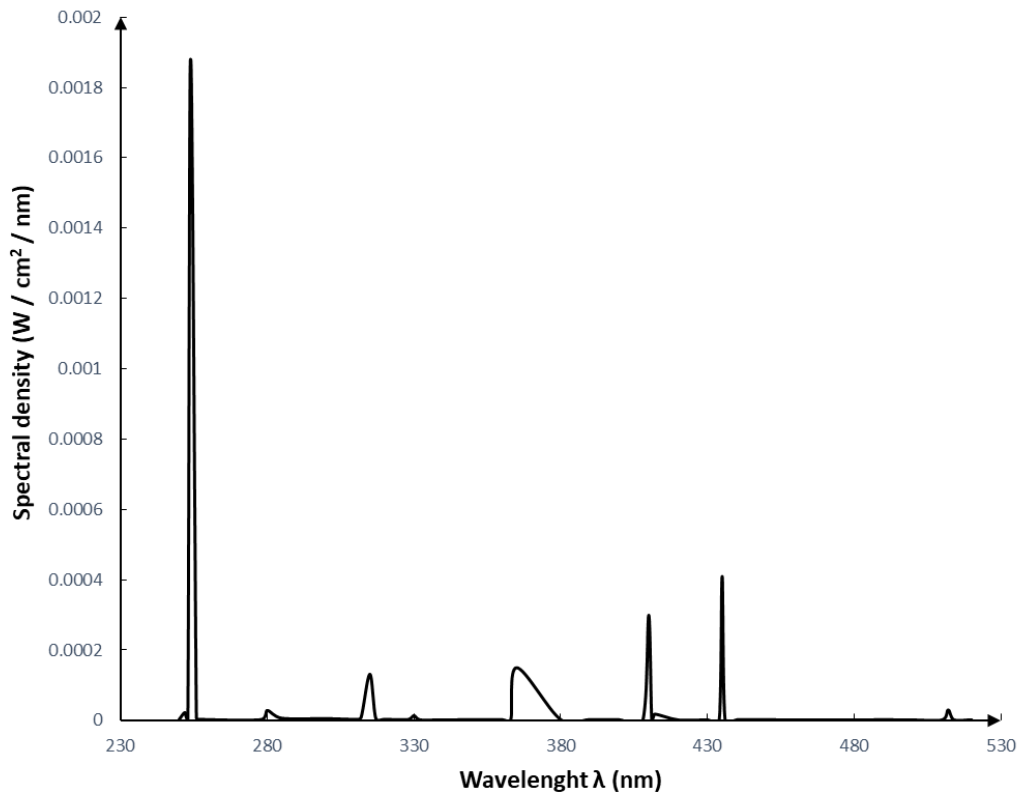


13.5 °C during the night throughout the period of plant growth. The second repetition (R2) was carried out in summer (from April to June 2016) with mean temperatures of 27.0 °C during the day and 14.9 °C during the night. The third repetition (R3) was carried out in autumn (from August to October 2016) with mean temperatures of 27.2 °C during the day and 16.7 °C during the night.

### *b. UV-C treatment of plants*

A closed box having a ceiling light with 9 UV-C lamps (DSP tube UV-C, OSRAM HNL, 24 W) of 254 nm (Figure 13) was used to treat strawberry plants with UV-C radiation (Pascal *et al.*, 2018). Four plants were processed at the same time in the box at a distance of 40 cm from the UV-C lamps (Pascal *et al.*, 2018). Several doses and application frequencies were tested during a week (Ouhibi *et al.*, 2015a,b ; Vasquez *et al.*, 2017):

- a single application of UV-C at 0.40, 0.85 or 1.70 kJ/m<sup>2</sup>,
- a double application of UV-C at an interval of two days between each application at either 0.40 + 0.60 kJ/m<sup>2</sup> or 0.85 + 1.30 kJ/m<sup>2</sup>,
- four successive applications of UV-C, every two days, at 0.40, 0.85 or 1.70 kJ/m<sup>2</sup>.



**Figure 13: Spectral density of UV-C lamps, DSP tube UV-C, OSRAM HNL, 24 W.** The test window for testing the homogeneity of the emitted radiation had the following dimensions: 310 x 260 nm. Radiation is homogenous over the entire emissive surface of the lamp. Only the significant peaks that carry 99 % of the radiated optical power were reported. UV-C peaks at 252 and 254 nm carried out 64 % of the power, peaks at 280 nm and 315 nm carried out 5.7 % of the power, peak at 365 nm carried out 5 % of the power. The reminder was transported by the visible part of radiation emitted by the lamp: 25.3 % (purple / blue / green).

The calculated UV-C dose applied on the plants depended on the fluence of the UV lamps and on the exposure time (Houghton *et al.*, 2001). Light intensity measurements were performed with a radiometer positioned at 40 cm from the ceiling light and time of plant exposure to UV-C was calculated through the measurement of light intensity at a given time. The duration of UV-C radiation required was 49 sec to obtain a final dose of 0.40 kJ/m<sup>2</sup>, 1 min and 13 sec to obtain 0.60 kJ/m<sup>2</sup>, 1 min and 44 sec to obtain 0.85 kJ/m<sup>2</sup>, 2 min and 39 sec to obtain 1.30

kJ/m<sup>2</sup> and 3 min and 28 sec to obtain 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. Strawberry plants without any UV-C treatments were used as control. To avoid the photo-reactivation of white light (Mercier *et al.*, 2001), plants were placed in the dark for 15 hours after each UV-C treatment.

### *c. Chlorophyll a fluorescence*

In order to characterize the impacts of UV-C treatment on the plant photosystem, the chlorophyll a fluorescence was measured (Annexe 2; Stirbet and Govindjee, 2011). The parameters of chlorophyll a fluorescence derived from measurements were made with a fluorometer (Pocket-PEA). A light pulse was sent on leaves after they underwent a dark adaptation for 30 min with clamps placed on the leaf limb. All measurements were made every morning on non-senescent and fully developed leaves. This period of dark adaptation enables the electron acceptor of PSII to be re-oxidized gradually until all of PSII reaction centers are able to redo photochemistry (Stirbet and Govindjee, 2011). This allows for the quantification of the flow of electrons that takes place in the photosynthetic machinery. The measurements were performed by a 1 sec induction period in which the leaves were illuminated at a light intensity of 3000 mol/m<sup>2</sup>/s.

Recorded fluorescence parameters were (Annexe 2):

- the minimal fluorescence when all reaction centers are open (F<sub>0</sub> correspond to the *first reliable fluorescence value* after the onset of actinic illumination),
- S<sub>m</sub>, assumed to be proportional to the number of reduction and oxidation of one Q<sub>A</sub> molecule (corresponding to *primary quinone acceptors*) until F<sub>m</sub> is reached, and therefore, related to the number of electron carriers per electron transport chain as well as an indicator of the size of the plastoquinone pool (Yordanov *et al.*, 2008). The plastoquinone pool decreased due to stress (Bishop, 1961; Shavit and Avron, 1963),

- the maximum quantum yield of PSII ( $F_v/F_m$ , where  $F_m$  is the *maximal fluorescence* value and  $F_v = F_m - F_0$ , corresponding to the *maximal variable chlorophyll fluorescence*), and it is widely used to assess stress in plants,
- the maximum primary yield of photochemistry of the PSII ( $F_v/F_0$ ). This parameter is an indicator of the energy trapping probability (Krause and Weis, 1991).
- the performance index (*PI*) of Strasser *et al.*, (2000), which is a multi-parametric expression of three independent steps contributing to photosynthesis, namely  $RC/ABS$ ,  $F_v/F_0$  and  $(1-V_j)/V_j$ .  $RC/ABS$  is an indicator of the size of the chlorophyll antenna serving reaction center whereas  $(1-V_j)/V_j$  is an indicator of the performance due to the conversion of excitation energy to photosynthetic electron transport. *PI* is considered more sensitive and discriminating than the stress indicator  $F_v/F_m$  (Thach *et al.*, 2007),
- $V_k/V_j$  correspond to the time plot of the values of relative variable fluorescence where the *K* step occurs in *OKJIP* transient where step *K* corresponds to a threshold around 300  $\mu$ s which appears only in certain conditions of stress (like heat).

Fluorescence measurements were made on 25 leaves per treatment after each UV-C treatment (after 12 h). The area under the curve of induction of the fluorescence of chlorophyll a (*AUFC*) was computed to investigate changes due to UV-C treatment in the photosynthetic machinery.

---

*d. Determination of soluble and related phenolic compounds in non-treated leaves*

To determine the amount of soluble-phenolic compounds, five samples of non-treated strawberry leaves per cultivar were ground using a mortar and pestle cooled in liquid nitrogen. For each sample, 1 g of fresh material was supplemented with 20 ml ethanol 70 % and then crushed again for 1 min with an Ultraturrax. After stirring in the dark for 30 min, the sample was filtered on a Buchner funnel under vacuum and the filtrate was made up to 50 ml.

Assays were made by Folin-Ciocalteu method described by Swain and Hillis with modifications according to Marigo (1973), where the color development is proportional to phenols content. The amount of phenolic-related compounds was performed with respect to a gallic acid standard curve measured at 760 nm.

Thanks to residues from previous extractions, phenolic-related compounds were extracted. Two consecutive extractions with 70 % methanol followed by an additional extraction with 80 % acetone and 3 other extractions at the end with pure acetone were done. Each extraction step was performed with 6 mL of solvent and the supernatant was systematically removed. The final residue was dried at room temperature and stored at -20 °C.

Related phenol compounds were extracted from 40 mg of dried-leaves in which 5 ml of sodium hydroxide 4 N previously bubbled in liquid nitrogen was added. The extract was then incubated 1 hour at 121 °C and the pH adjusted to 2 with hydrochloric acid 8 N and centrifuged at 5000 g for 5 min and at 4 °C. The pellet was discarded and the supernatant was stored at 4 °C in the dark until assays of phenolic-related compounds were realized.

*e. PAL activity*

PAL activity was assessed on the leaves of the three cultivars of strawberry plants. PAL activity was measured as described by Siriphanich and Kader (1985). The extraction was done from 200 mg of dry matter (freeze-dried leaves). The extract was mixed with 4 mL of borate buffer 1 M (pH 8.6) containing 5 mM of 2-mercaptoethanol and 0.40 mM of polyvinylpyrrolidone. Then the mixture was centrifuged at 12000 g for 20 min at 4 °C. The supernatant containing PAL was collected.

To quantify PAL activity, the reaction mixture consisted of the enzyme extract (0.5 ml) and borate buffer 0.1 M (pH 8.6) containing 5 mM of 2-mercaptoethanol and 0.1 M of phenylalanine. After 1 h of incubation at 30 °C, 400 µL of 28 % trichloroacetic acid was added to the mixture to precipitate proteins. After spending 5 min room temperature, the mixture was centrifuged at 12000 g for 20 min at 4 °C. PAL activity was measured by spectrometry at 290 nm to detect cinnamic acid as a product and expressed as nmole of cinnamic acid per hour per mg fresh weight.

*f. Production of B. cinerea and leaf inoculation*

Two strains of *B. cinerea* were used in this study: strain Bc1 that had a high level of aggressiveness on strawberry leaves, and strain Bc21 that had a medium level of aggressiveness (Bardin *et al.*, 2013). Strains were grown 3 days on PDA (*Potato Dextrose Agar*, 39 g/L, Sigma-Aldrich) in a growth chamber (21°C, 14 hours of photoperiod at 114 µmol.s<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>) and mycelial plug of 5 mm diameter taken from the growing margin of the culture were used as inoculum.

Tests on detached strawberry leaves were performed 48 h after the last UV-C treatment. Two leaves per plant were collected from 5 plants and the 10 detached leaves were placed on moistened filter paper in 5 transparent polystyrene boxes (2 leaves / box) and inoculated with the mycelium plug in the center of the leaf.

Following inoculation the detached leaves were placed in a growth chamber (21°C, 14 hours of photoperiod at 114  $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ). Detached leaves were photographed every day from day 3 to day 6 after inoculation and the lesion areas were assessed with “Image J” software (US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). The tests were performed in triplicates (R1 / R2 / R3).

The area under the disease progress curve (*AUDPC*) was calculated to determine the level of sensitivity of the strawberry plants. To compare the protection induced in the leaves by the different UV-C treatments, a protection index was computed as follows:

$$\text{Protection (\%)} = 100 \times (\text{AUDPC}_{\text{untreated}} - \text{AUDPC}_{\text{UV-C treated}}) / \text{AUDPC}_{\text{untreated}}$$

*g. Histological examination: penetration zone of the pathogen in leaves*

Thirty detached leaves of each cultivar of strawberry plants were inoculated with Bc21, by depositing mycelial plugs (5 mm in diameter) excised from the growing margin of a three day-old PDA cultures, on the main vein and its vicinity of the detached leaves. Leaf fragments of about 1 cm<sup>2</sup> were taken from the infected areas of the leaves 24 h after inoculation using a sterile razor blade. Fragments were immediately immersed in a mixture of paraformaldehyde (4 %), glutaraldehyde (1 %) and caffeine (1 %) supplemented with a drop of tween 80 for 24 h to stabilize the leaf cells. During stabilization, vacuum was applied several times in order to facilitate penetration of the fixing agent into tissue. Samples were then rinsed thoroughly with distilled water and gradually dehydrated by a graded ethanol series (25, 50, 70, 85, 95 and 100 %). Leaf fragments were then impregnated into a mixture (1:1) of absolute ethanol and synthetic resin (Technovit 7100 kit Kulzer) overnight and then in pure resin for 24 h. Then, they were included in the same resin to which a curing agent was added to initiate polymerization at room temperature. After polymerization, blocks were cut with an automatic retraction microtome (Supercut 2065 Jung-Kulzer, Leica) equipped with a blade, and specimens of 3  $\mu\text{m}$  of thickness were made sequentially. Resin tapes containing section samples were

then carefully layered. Specimens were placed on microscope slides and blades and then dried on a hot plate before being subjected to a reactive double staining Schiff/Naphthol Blue Black. Double staining has the advantage of coloring polysaccharide products in pink and protein in blue. Stained sections were mounted between slide and coverslip in Acrytol before being observed using a light microscope (Leica DM 2000) equipped with a digital camera (DFX 100). The penetration zone of *B. cinerea* in each leaf was examined by microscope and rated as follows: 1 = presence of mycelium of *B. cinerea* in the cuticle; 2 = presence of mycelium under epidermis; and 3 = presence of mycelium in the parenchyma. An average rate of penetration was then calculated by the examination of 30 samples per strawberry cultivar.

#### *h. Statistical analysis*

All statistical analyzes were performed with Statistica software (Statsoft Inc., Tulsa, USA). Firstly, analysis of data normality was performed using Shapiro-Wilks normality test. If the data was normal (p-value > 0.05), an analysis of variance (*ANOVA*) was then performed. In the case of significant effect of the tested factor, a comparison of mean was realized thanks to Duncan test or Newman-Keuls test (*NKT*). However, if the data was not found to be Gaussian (Shapiro-Wilks normality test, p-value < 0.05), a non-parametric analysis of variance (Kruskal-Wallis test) was performed.

## 4. Results

### *a. Sensitivity level of three strawberry cultivars to B. cinerea*

The three cultivars of strawberry were inoculated with *B. cinerea* Bc21 in three separate replicate experiments, R1, R2 and R3. A significant difference in the

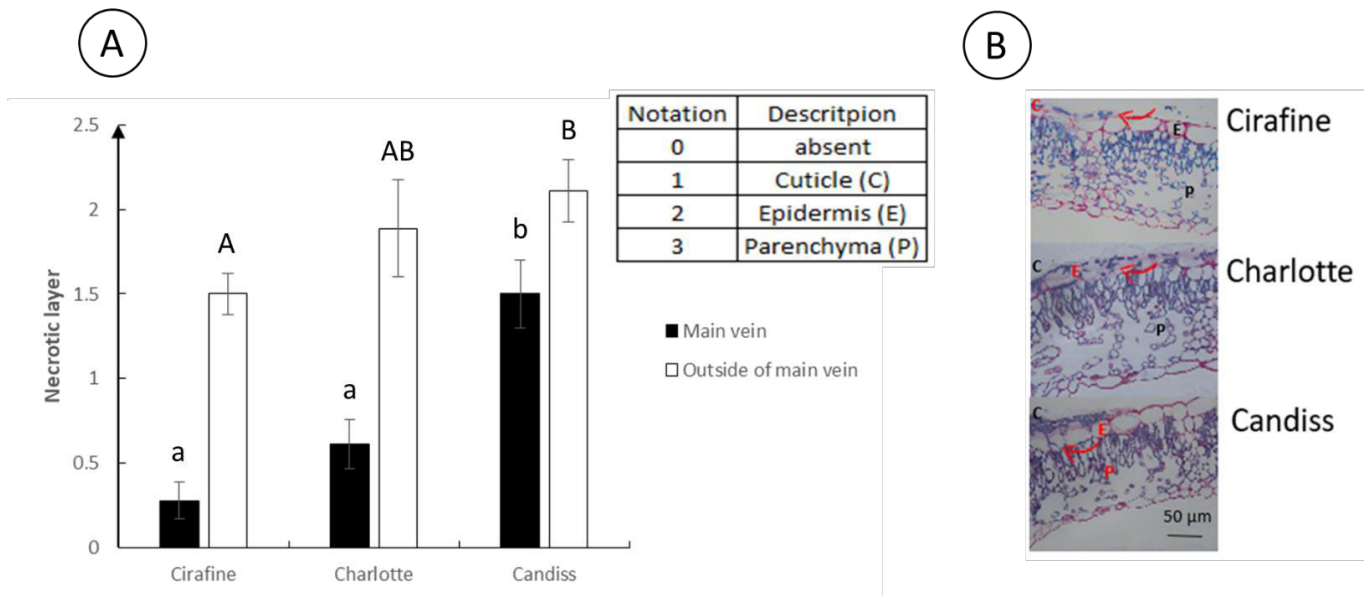


sensitivity of the three strawberry cultivars to *B. cinerea* was observed for experiments R1 and R3 (ANOVA on AUDPC values, p-value < 0.1; Table 2). Candiss appeared to be the most sensitive cultivar, whereas Cirafine was the least sensitive.

**Table 2: Sensitivity level of the three strawberry cultivars Cirafine, Charlotte and Candiss to the strain Bc21 of *B. cinerea*.** Pathological tests were performed on detached leaves. The values represent the average AUDPC calculated between the 3rd and the 6th day after inoculation. To test a varietal effect on the sensitivity to *B. cinerea*, ANOVA was performed for each independent repetition of the test. Different letters within a column show significant differences between the three varieties of strawberry plants for each independent repetition (NKT, p-value < 0.05).

	Bc21		
	R1	R2	R3
Cirafine	11.1 <b>b</b>	22.6 <b>a</b>	12.7 <b>b</b>
Charlotte	13.6 <b>ab</b>	23.7 <b>a</b>	15.4 <b>ab</b>
Candiss	18.3 <b>a</b>	29.9 <b>a</b>	20.0 <b>a</b>
<i>P</i> =	0.04	0.06	0.02

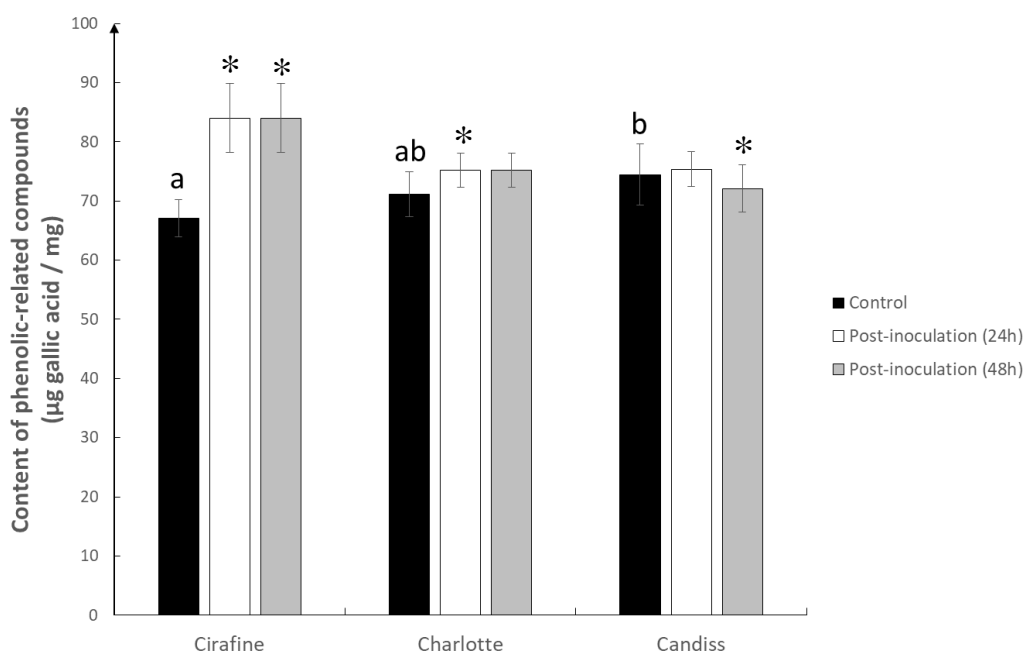
To understand differences of sensitivity of strawberry cultivars, a histological study was conducted and the level of penetration of *B. cinerea* on leaves was determined 24 h after inoculation on or in the vicinity of the main rib of leaflets. Histological observations confirmed differences in the sensitivity of the three cultivars. Penetration of *B. cinerea*, at main rib or its vicinity, was deeper in Candiss which was the most sensitive cultivar than in Charlotte and Cirafine (Figure 14-A). In Cirafine leaves, *B. cinerea* was under the cuticle and under the epiderma for Charlotte leaves. The leaf anatomy was, however, comparable between strawberry cultivars (Figure 14-B); and an upper epidermis, a palisade parenchyma, spongy parenchyma and a lower epidermis were observed for all cultivars.



**Figure 14: Penetration of *B. cinerea* in different cell layers of leaves of three cultivars of strawberry plant (Cirafine, Charlotte, Candiss).** Histological study was conducted 24 h after inoculation with Bc21 on detached leaves. Mycelial plugs were placed on either the main rib or on the leaf limb. A) Bc21 penetration level in cell layers of leaves either at the central rib or on the leaf limb by histology method. Lowercase letters show significant differences between the three varieties of strawberry plants when leaves were inoculated on the main vein (standard errors). Uppercase letters indicate significant differences between the three varieties of strawberry plants when leaves were inoculated outside of the main vein (standard errors). B) Pictures taken by light microscopy. Penetration of Bc21 in cell layers of strawberry leaves which were inoculated on the leaf limbs.

To explain differences of penetration by *B. cinerea* in leaves, we hypothesized the differences in the resistance of the plants could be attributable to the phenolic compounds reinforcing the cell wall. Quantitative analysis of phenolic-related compounds in leaves revealed that Candiss had a slightly higher concentration of phenolic compounds than Cirafine before inoculation by *B. cinerea* (Figure 15). Unlike the other cultivars, the concentration of phenolic

compounds increased significantly in Cirafine 24 h and 48 h after inoculation (Figure 15).



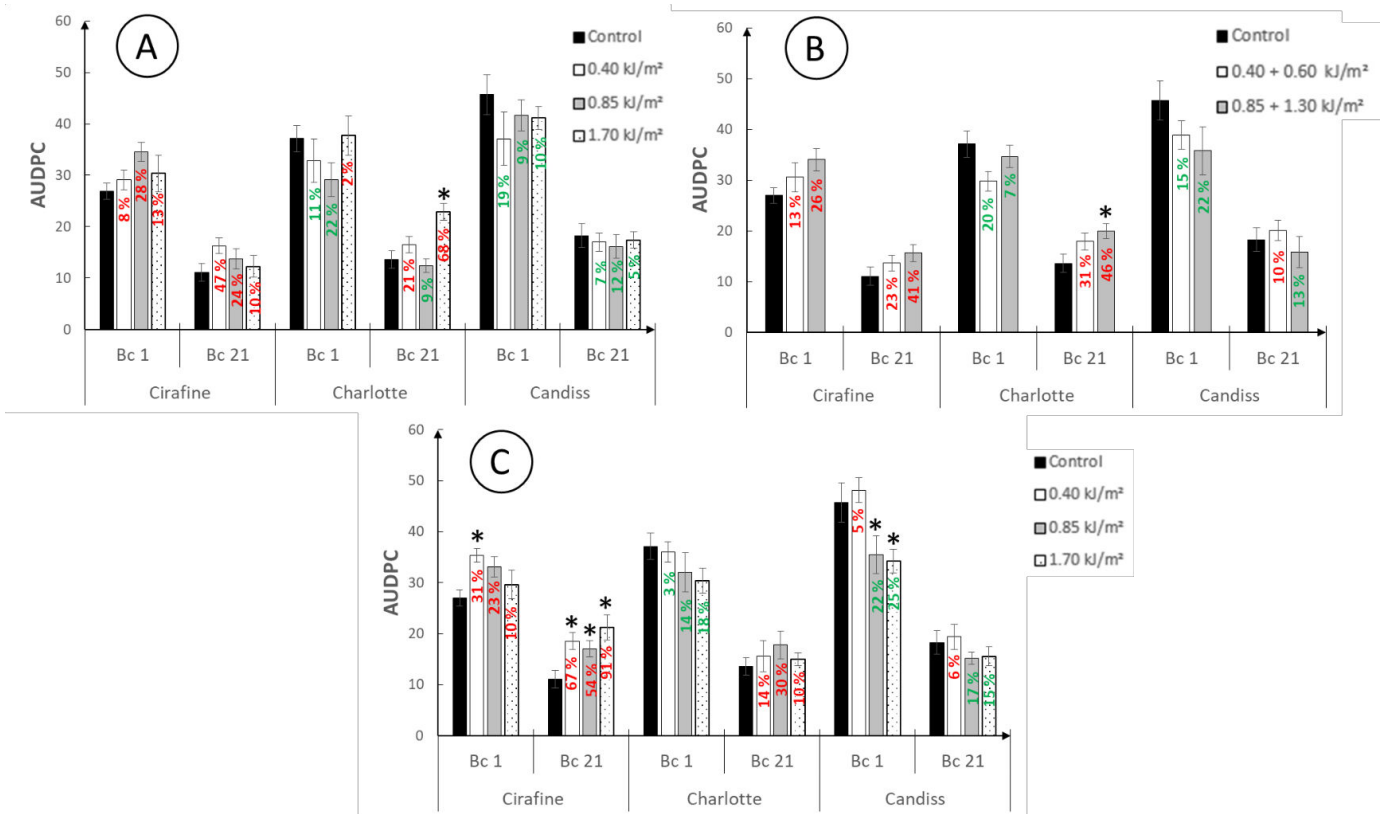
**Figure 15:** Content of phenolic-related compounds in leaves of three cultivars of strawberry plants (Cirafine, Charlotte, Candiss) before and after inoculation with *B. cinerea*. Detached leaves of the three varieties of strawberry plants were inoculated with mycelial plugs of *B. cinerea* (Bc21 strain). The non-necrotic portion of each leaves were recovered in order to dose phenolic compounds, at 24 h and 48 h post inoculation. Lowercase letters show significant differences between the three controls (NKT, p-value < 0.05). The (\*) correspond to significant differences between the control group and the inoculated group in each strawberry cultivar (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

### *b. Impact of UV-C on sensitivity level of strawberry plants against B. cinerea*

Strawberry plants from the three cultivars Cirafine, Charlotte and Candiss were treated with various UV-C doses with different timing of application. After

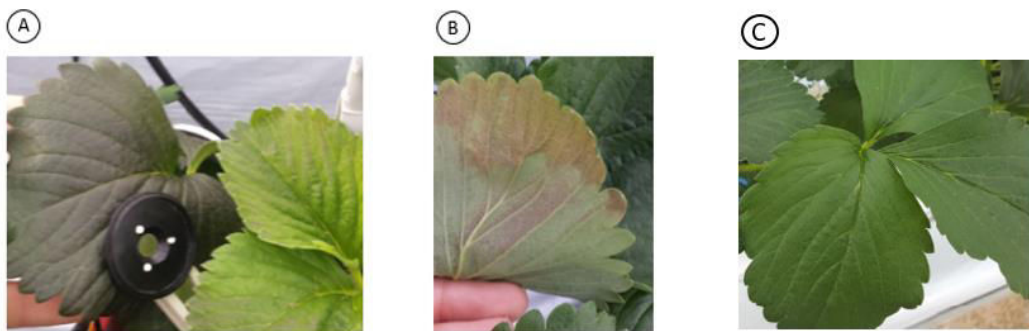
receiving a single or double application of UV-C (at 48 h intervals), an overall increase in the susceptibility of Cirafine to *B. cinerea* and a slight decrease in the susceptibility of Candiss at the highest UV-C doses were observed (Figures 16-A and 16-B). These results were generally similar regardless of the *B. cinerea* strain tested (Bc1 or Bc21).

When strawberry plants received four successive UV-C treatments at various doses every two days, an increase in the susceptibility of Cirafine to both strains of *B. cinerea* and a decrease in the susceptibility of Charlotte (3 % to 18 %) and Candiss (15 % to 27 %) was observed (Figure 16-C). This decrease in susceptibility was statistically significant only for Candiss treated with UV-C radiation at 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 1.70 kJ/m<sup>2</sup> and inoculated with Bc1.

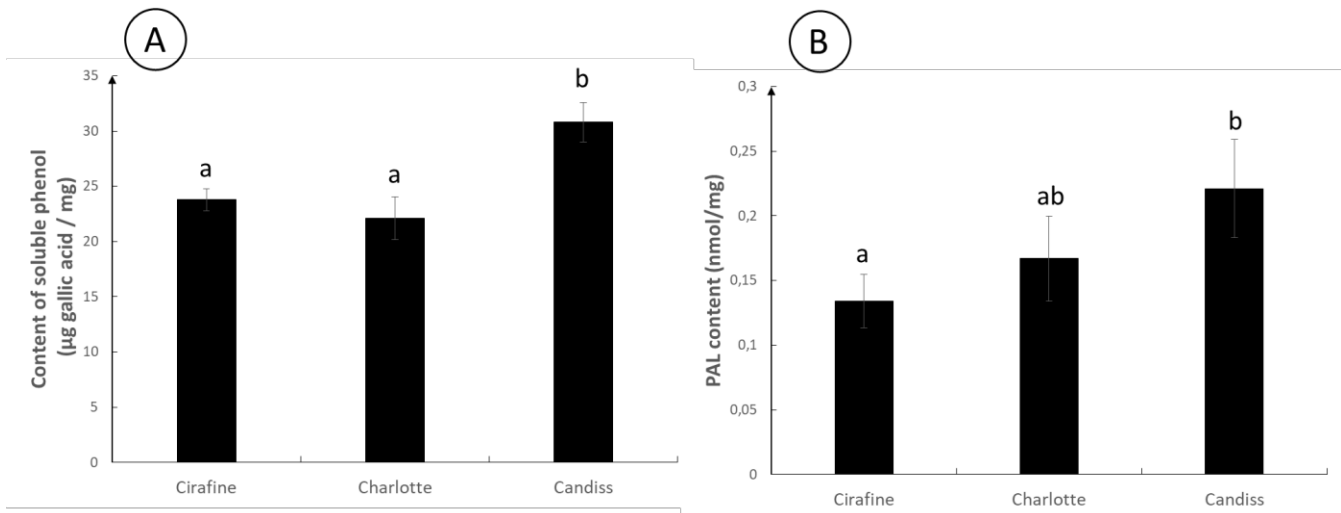


**Figure 16: Sensitivity level of strawberry plants to *B. cinerea* after different UV-C treatments.** Three strawberry cultivars (Cirafine, Charlotte, Candiss) and two strains of *B. cinerea* (Bc1 and Bc21) were tested. The protection rate is calculated according to the difference of sensitivity between the control and plants which are treated by UV-C radiation: when the protection rate is in red it means that leaves are more sensitive and in contrast, when the protection rate is in green it means that leaves are less sensitive than the control group. A) Sensitivity of strawberry plants to Bc1 and Bc21 after a single application of UV-C radiation. B) Sensitivity of strawberry plants to Bc1 and Bc21 after a double application of UV-C radiation. C) Sensitivity of strawberry plants to Bc1 and Bc21 after four UV-C applications (each two days), named 4 x UV-C dose. The (\*) show significant differences between the inoculated leaves and control (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

After successive exposures to UV-C radiation, Charlotte and Cirafine had the strongest oxidation symptoms on both the top (Figure 17-A) and the lower (Figure 17-B) surfaces of leaves while Candiss had no symptoms (Figure 17-C). In order to see the antioxidant composition of leaves for the three strawberry cultivars, measurements of soluble phenolics were made on leaves before UV-C treatment. Larger amount of soluble phenolic compounds were found in Candiss leaves compared to other cultivars (Figure 18-A). The presence of a higher amount of phenolic compounds in Candiss leaves correlated to increased PAL activity than in Cirafine and Charlotte (Figure 18-B).

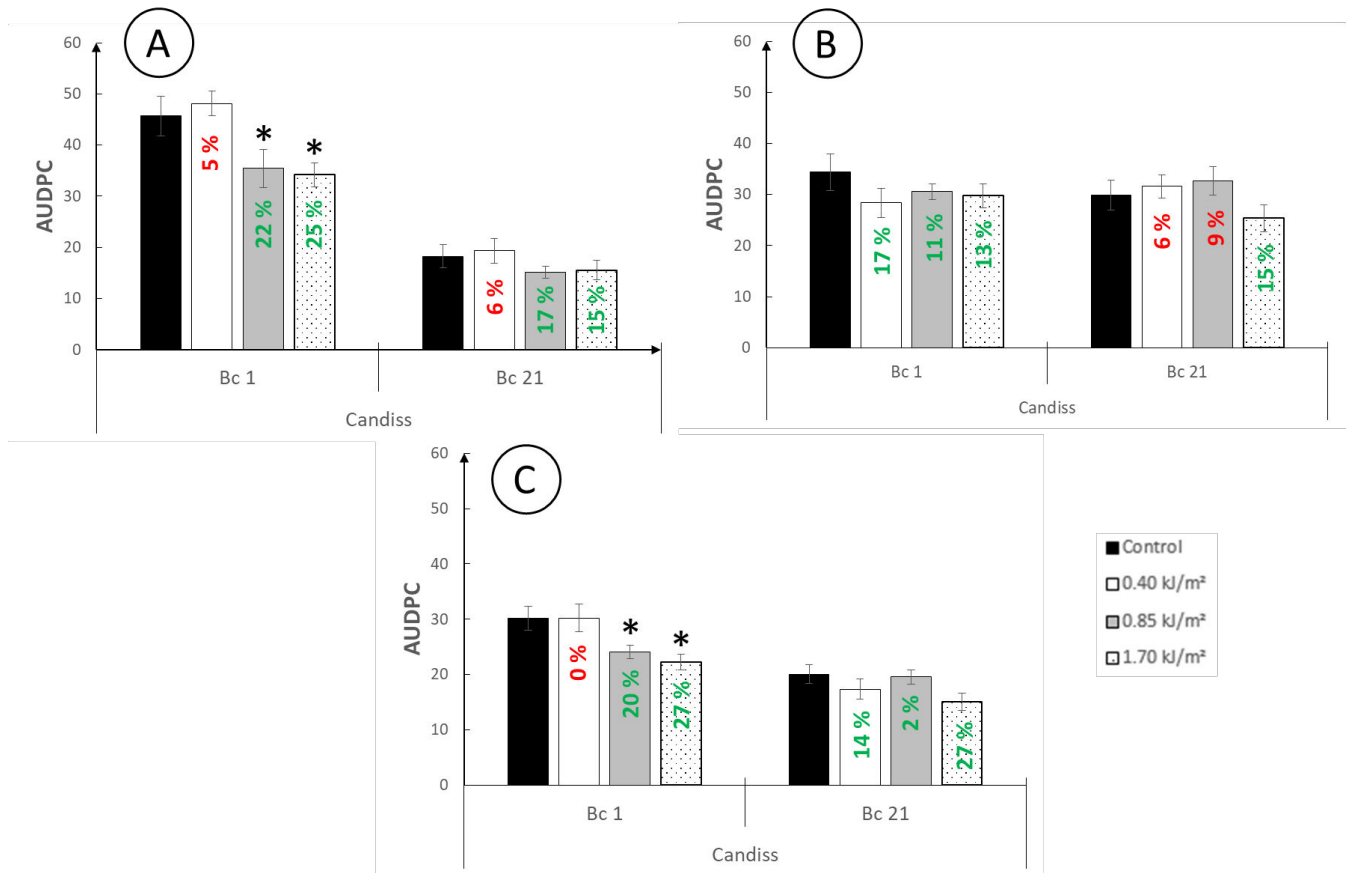


**Figure 17: Foliar symptoms after UV-C treatment.** Leaf symptoms are visible: darkening (color "lawyer"). A) Top side of strawberry leaf (Cirafine and Charlotte). B) Bottom of strawberry leaf (Cirafine and Charlotte). C) Strawberry leaf without symptoms (Candiss).



**Figure 18:** Soluble phenolic content and PAL activity in leaves of three cultivars of strawberry plants (Cirafine, Charlotte, Candiss). Measurements were carried out before plants receive different UV-C treatment. A) Amount of soluble phenolic compounds in strawberry leaves. B) Activity of PAL in strawberry leaves. Lowercase letters show significant differences between the three varieties of strawberry plants (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

Two additional experiments were carried out from April to June 2016 (R2) and from August to October 2016 (R3) to evaluate the level of sensitivity of Candiss that has undergone four successive UV-C treatments against *B. cinerea* (Bc21). These experiments showed similar trends than the first experiment (R1), performed from January to March 2016 (Figure 19). The decrease of the sensitivity level of the plant against Bc1 was shown in Figure 19. Except for the R2 experiment, the reduction in sensitivity against Bc1 after treatment with UV-C radiations was statistically significant (p-value < 0.05).



**Figure 19: Sensitivity level of Candiss with two strains of *B. cinerea* after UV-C treatments.** Plants were treated with UV-C radiation at different doses each two days during one week. Pathological tests are performed on separate leaves and inoculation was done by filing mycelial implants on the main rib of each leaves. Sensitivity level is correlated with symptom development and therefore disease development: calculating the AUDPC. Plants grew on different seasons (three experimental repetitions): A) Spring (R1). B) Summer (R2). C) Autumn (R3). The (\*) shows significant differences between the inoculated leaves and control (standard errors, NKT, p-value < 0.05).



---

*c. impact of UV-C on chlorophyll  
fluorescence parameters*

Chlorophyll fluorescence parameters (Annexe 2) were derived from the analysis of maximal fluorescence induction curves with the objective of assessing whether UV-C treatments had damaging effects on leaves or disturbing effects on energy or electron fluxes in or around photosystem PSII.

Some evidence for damaging effects were observed on Charlotte at high doses of UV-C treatments (Figures 20-B and 20-C) as shown by the decrease in the normalized area of the fluorescence induction curve ( $S_m$ ). In the 0.85 + 1.30 kJ/m<sup>2</sup> UV-C treatment, the decrease in  $S_m$  was accompanied by a substantial increase in all parameters of energy or electron fluxes ( $x/RC$ ) expressed on an active PSII reaction center basis (Figure 20-B). The  $V_k/V_j$  ratio decreased in Candiss at 4 x 0.40 kJ/m<sup>2</sup>, at 4 x 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and at 4 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> (Figure 20-C) and in Cirafine at 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and at 4 x 0.40 kJ/m<sup>2</sup> (Figures 20-A and 20-C).

Other evidence for damaging effects were found in Cirafine at 0.40 + 0.60 kJ/m<sup>2</sup> and at 0.85 + 1.30 kJ/m<sup>2</sup>, as assessed by substantial decreases in both  $S_m$  and  $V_k/V_j$  (Figure 20-B), and in Cirafine at 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and at 4 x 0.40 kJ/m<sup>2</sup>, as assessed by decreases in  $V_k/V_j$ . Damaging effects in Cirafine were accompanied by changes in energy and electron transport in PSII which were especially marked at 0.85 kJ/m<sup>2</sup> although PI was not negatively affected (Figure 20-A).

Decreases in the PI (Srivastava and Strasser, 1999; Stirbet and Govindjee, 2011; Strasser and Srivastava, 1995; Strasser *et al.*, 2004) were observed in Charlotte at 4 x 0.40 kJ/m<sup>2</sup>, at 4 x 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and at 4 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> (Figure 20-C) and in Cirafine at 0.40 + 0.60 kJ/m<sup>2</sup> and at 0.85 + 1.30 kJ/m<sup>2</sup> (Figure 20-B). For Charlotte at the 4 x 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and the 4 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> treatments, the decrease could be attributable to the decrease in  $F_v/F_0$  (Figure 20-C), which is an indicator of trapping probability. For Cirafine, at the 0.40 + 0.60 kJ/m<sup>2</sup> and the 0.85 + 1.30 kJ/m<sup>2</sup> treatments, the decrease in PI could be attributable to the decrease in  $(1 - V_j)/V_j$ ,

which is an indicator of the performance of conversion of excitation energy to photosynthetic electron transport (Figure 20-B).

The damaging effects of the 4 x 0.40, the 4 x 0.85 and the 4 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> treatments in Candiss, as assessed by the observed decreases in  $V_k/V_j$  (Figure 21-C or Figure 21-A), appear to be very dependent on the season since they were absent in the summer (Figure 21-B) as well as in the autumn (Figure 21-C). Similarly, the negative spring effects of these treatments on the electron transport flux from  $Q_A$  to  $Q_B$  per PSII,  $E_{t0}/RC$ , on the electron transport flux until PSI,  $RE_0/RC$ , or on the efficiency of electron transfer from  $Q_B$  until PSI acceptors,  $(1 - V_I)/(1 - V_J)$ , were not apparent in the summer as well as autumn. There were even positive effects observed in plants resulting from treatments in the autumn, notably for the 4 x 0.40 kJ/m<sup>2</sup> dose, on  $(1 - V_J)/V_J$  and therefore, on PI; on  $RE_0/RC$  as well as on  $(1 - V_I)/(1 - V_J)$  (Figure 21-C).

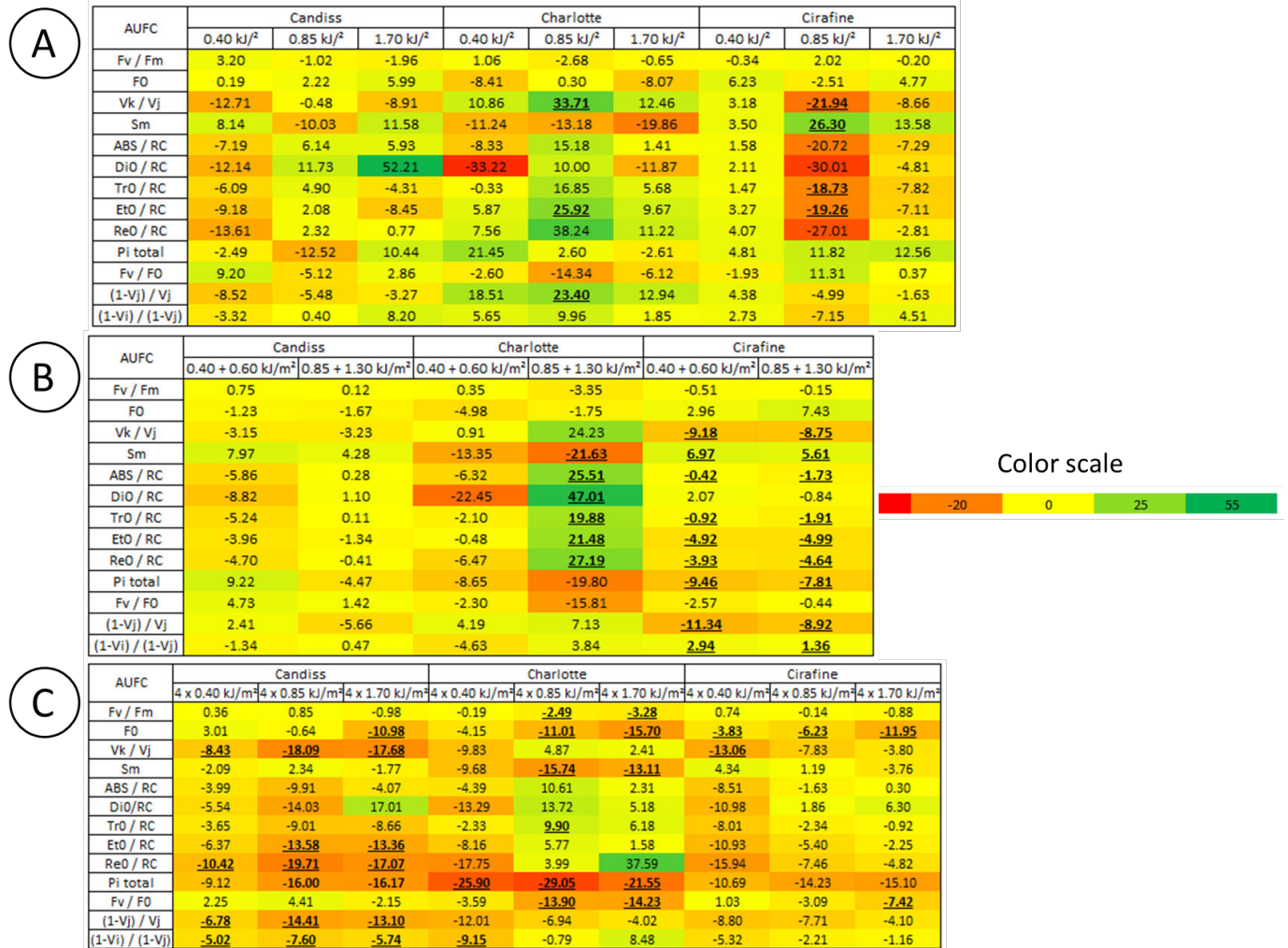
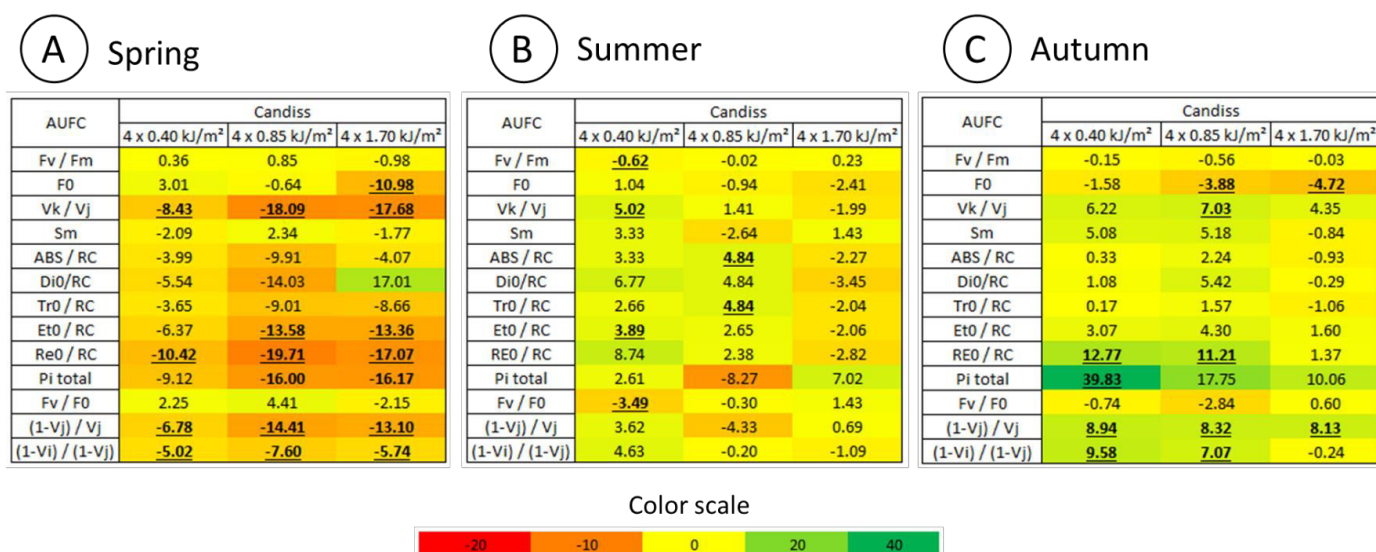


Figure 20: Parameters of chlorophyll fluorescence a (OJIP method) of leaves of three cultivars of strawberry plants (Cirafine, Charlotte, Candiss) after UV-C applications. Plants were treated with UV-C at different doses and different application frequencies. Fluorescence of chlorophyll a were measured on 25 leaves per treatment modality. Data represent the ratio between values of AUFC obtained on UV-C treated plants and on untreated plants, in percentage. A color scale was applied, ranging from red (strong negative effect of UV-C) to green (strong positive effect of UV-C). A) Single application of UV-C radiation. B) Double application of UV-C radiation. C) Four UV-C applications (4 x UV-C) every two days. The values being marked in bold and are underlined represent a significant difference between plants treated with UV-C and controls plants (NKT, p-value < 0.05).



**Figure 21: Effect of season on Chlorophyll fluorescence a of Candiss leaves after 4x UV-C applications.** Plants were treated with UV-C radiation at different doses each two days during one week and at different seasons (three experimental repetitions). Fluorescence of chlorophyll a was measured on 25 leaves per UV-C treatment. Here are represented the values of AUFC: data represent the percentage difference between treated plants to UV-C radiation and untreated plants (corresponding to our control group). A color scale was applied, ranging from red (strong negative effect of UV-C treatment on the physiological state of treated plants) to green (strong positive effect of UV-C treatment on the physiological state of treated plants) to highlight important differences. A) Spring (R1). B) Summer (R2). C) Autumn (R3). The values being marked in bold and are underlined represent a significant difference between plants treated with UV-C and controls plants (NKT, p-value < 0.05).

## 5. Discussion

Our results suggest that the reaction level of strawberry plants to UV-C depends on its basic resistance level to *B. cinerea*. The three strawberry cultivars used in this work (Cirafine, Charlotte and Candiss) had different susceptibility

levels to *B. cinerea*. We demonstrated first that Cirafine was the most resistant while Candiss was the most sensitive and Charlotte had a moderate resistance. These findings are supported by the observation that penetration of *B. cinerea* was deeper in Candiss with concomitant higher phenolic level in the leaves after inoculation. We showed that the level of phenols linked to cell wall increased by 15 % in Cirafine leaves 24 h and 48 h after inoculation contrary to Charlotte and Candiss, which were most susceptible to *B. cinerea*. In the host-*B. cinerea* systems, structural barriers of the epidermis serve as a line of defense (Jarvis, 1980; Elad, 1997).

In addition, the current study highlights that the treatment of strawberry plants with UV-C radiation during cultivation can modify their level of sensitivity to *B. cinerea*. Thus application of UV-C tends to reduce, almost systematically, the level of *B. cinerea* infection on Candiss, the most sensitive cultivar. However, this beneficial effect is only significant at the doses of 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 1.70 kJ/m<sup>2</sup> applied on strawberry plants every two days for one week. On the contrary, the application of UV-C radiation on Cirafine tends to increase its sensitivity to *B. cinerea* even though this effect was not always significant. Cirafine leaves seemed less protected against UV-C radiation than Candiss leaves. This hypothesis seems plausible in our work because we found larger amounts of soluble phenolic compounds and PAL activity in Candiss leaves compared to Cirafine leaves after UV-C treatment. It is known that soluble phenolic compounds absorb UV radiation thereby reducing the adverse effects they can have on the physiological status of plants. Phenolic compounds play a major role in photoprotection of plants due to their UV screening and antioxidant properties (Agati *et al.*, 2013; Carbonell-Bejerano *et al.*, 2014; Park and Kim, 2015; Rivera-Pastrana *et al.*, 2014; Tiecher *et al.*, 2013). In the case of Charlotte, the UV-C effect was intermediate between Candiss and Cirafine.

These results suggest that UV-C treatment applied on strawberry plants should be defined for each cultivar in order to know if the UV-C treatment is beneficial (increase in resistance level) or deleterious (increase sensitivity level). Previous studies have shown that the optimum dose of UV-C to achieve beneficial effects in postharvest crops is dependent on the plant species (Mercier *et al.*, 1993b;

Baka *et al.*, 1999; Maharaj *et al.*, 1999; Mercier *et al.*, 2001). We have demonstrated in this study that the effect of UV-C applied on the plant is dependent on the cultivar within a plant species. To our knowledge this is the only study that shows the impact of the plant cultivar on the efficacy of UV-C treatment. Two cultivars of *Pelargonium x hortorum* have been tested in a previous study, where UV-C treatment reduced the sensitivity to *B. cinerea* by 47 % with both cultivars (Darras *et al.*, 2015). Several authors have observed a biochemical production of secondary metabolites via the shikimic pathway is strongly enhanced by UV-C irradiation (Charles *et al.*, 2008d) and mainly related to significant increases in PAL activity (El-Ghaouth *et al.*, 2003; Lemoine *et al.*, 2007; Pombo *et al.*, 2011; Vasquez *et al.*, 2017) and/or other defense related-enzymes such as SOD, catalase (*CAT*), peroxidase (*POD*), polyphenol oxidase (*PPO*) and ascorbate peroxidase (*APX*) (Kim *et al.*, 2007; Tang *et al.*, 2010; Rai *et al.*, 2011; Darras *et al.*, 2012; Vasquez *et al.*, 2017). It is clear that the synthesis of phenolic compounds plays a role in plant resistance to pathogens.

Chlorophyll fluorescence-based indicators of damage and PI data show that with the exception of the 0.85 kJ/m<sup>2</sup> treatment for Cirafine, single dose of UV-C in the 0.40 to 1.70 kJ/m<sup>2</sup> range was not harmful and generally speaking not even disturbing. The picture becomes different for the 0.40 + 0.60 and the 0.85 + 1.30 kJ/m<sup>2</sup> doses. Whereas Candiss shows no sign of damage or downregulation, Charlotte at 0.85 + 1.30 kJ/m<sup>2</sup> and Cirafine at both doses seemed to have consequences. Even though not always significant, the UV-C effect was increasingly damaging with 4 x 0.40, 4 x 0.85 and 4 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> doses, which resulted in decreases in either  $V_k/V_j$  or  $S_m$  in all cultivars, and impact negatively PI. It must be emphasized, however, that the negative effects of these doses are strongly season-dependent. Season has a marked effect on plants which can lead to differences in behavior when attacking a pathogen or when a light stress is present like UV-C radiation. Plants grow under different climatic conditions depending on the season, which can cause physiological changes such as the structure of the leaf taking for example the thickness of the cuticle acting as a physical barrier slowing more or less the installation of the pathogen at the infection site. Negative effects

were not observed with the treatments either in the summer or in the autumn, but they exerted even positive effects, especially with the 4 x 0.40 kJ/m<sup>2</sup> dose. The ratio  $V_k/V_j$  decreased in Candiss and in Cirafine. It suggested that these treatments resulted in either a decrease in the functional antenna size (Yusuf *et al.*, 2010) or OEC (*oxygen evolving complex*) inactivation/damage (Kalachanis and Manetas, 2010). Season is a major factor to influence plant physiology. The light intensity is a parameter to be taken into account because it is a regulator of photosynthesis and it is strongly linked to the fluorescence of chlorophyll a.

During this work, one of major challenges was to find a dose that was both effective against the targeted pathogen and harmless for plants. Consequently, we have applied a range of dose of UV-C radiation based on previous results obtained on various plant species (Casati and Walbot, 2004, Frohnmeyer and Staiger, 2003; Vasquez *et al.*, 2017). However, a wider range of treatment modalities (doses x frequencies of application) deserve to be evaluated in future studies to identify potentially beneficial treatment modes for all strawberry cultivars. Moreover, Xie *et al.* (2015) had shown that strawberry cultivar and growing season played a more important role than UV-C treatment concerning fruit phenolic metabolism. Therefore, it is most likely that the variations in the sun radiation affected growth and physiological parameters. Our study raises fundamental points to be taken into consideration during treatments using UV-C: there are differences since UV-C treatments seem more effective in decreasing susceptibility of Candiss towards Bc1 in both spring and autumn, whereas susceptibility to damaging effects of UV-C treatments seems to be maximal in the spring, and progressively decreasing thereafter.

## 6. Acknowledgments

This paper was supported by the Federative Structure Tersys. The authors thank Ciref to give us strawberry plants. The authors thank Joël Béraud and Michel Pascal for their help in greenhouse.





## Chapitre II

Impact des radiations UV-C sur la  
sensibilité des fraises à *Botrytis*  
*cinerea* et leur qualité en post-  
récolte

## I. Qualité et conservation des fruits

### 1. La qualité en post-récolte

La qualité des fruits frais relie étroitement plusieurs paramètres tels que la texture, la couleur ou encore la saveur (Kader, 2002). Le consommateur est à la recherche d'un fruit de haute qualité ayant également de forts bénéfices sur la santé. Cependant, chaque consommateur a ses propres préférences et juge la qualité d'un fruit frais selon ses propres critères et sa propre orientation de consommation (Shewleft, 1999). En effet, chaque consommateur utilise l'ensemble de ses propres sens pour déterminer la qualité d'un fruit : la vue, l'odorat, le goût, le toucher et dans certain cas l'ouïe. Dans ce cas, pour étudier et contrôler la qualité des fruits, il faut pouvoir mesurer les attributs liés à la qualité et pouvoir les standardiser. Ainsi la qualité d'un fruit est souvent définie comme la mesure d'un certain nombre de critères pour déterminer la pertinence de la qualité d'un fruit à être consommé comme un fruit frais ou stocké pendant une période déterminée sans qu'il y ait de détériorations. La qualité d'un fruit peut alors être complexe car elle met en avant de nombreux paramètres faisant partis des attributs sensoriels (aspect, texture, goût et arôme), les valeurs nutritives, les constituants chimiques, les propriétés mécaniques et fonctionnelles mais également les défauts des fruits et leur contamination (Kallio *et al.*, 2000 ; Wang *et al.*, 2003 ; El Hadi *et al.*, 2013).

#### *a. Attributs de qualité*

Les fruits possèdent des tissus qui évoluent au cours du temps et sont donc sujets à des changements de qualité après récolte. La qualité des produits frais regroupe trois grands points, à savoir :

i) la qualité sensorielle incluant par exemple l'arôme, la fermeté et la couleur,

ii) la qualité sanitaire incluant la détérioration des tissus par des microorganismes naturels ou pathogènes,

iii) la qualité nutritionnelle incluant la teneur en composés bioactifs.

A l'achat, le consommateur juge la qualité d'un fruit tout d'abord par son apparence et sa fermeté. Suite à cet achat, les attributs liés à la qualité vis-à-vis du consommateur évoluent : la qualité est alors essentiellement basée sur la texture et la saveur des fruits avec une problématique de conservation.

#### Critère visuel de qualité : l'apparence

L'apparence est l'un des principaux facteurs que le consommateur utilise pour évaluer la qualité des fruits (Kays, 1999). Les critères visuels conjoints à l'apparence sont nombreux. Ils incluent la taille, la forme, la couleur, la brillance et l'absence de pourriture. La taille d'un fruit est issue de la division cellulaire et de l'expansion des cellules, dépendant elles-mêmes des flux d'eau et de carbone jouant un rôle majeur dans le métabolisme du fruit. Le consommateur est à la recherche du fruit attrayant de part son apparence et c'est pour cette raison que ce critère est l'un des facteurs les plus importants : le fruit doit être sans défauts apparents (plaie, brunissement, déformation). Le brunissement des fruits est le frein majeur dans le choix des consommateurs car sa qualité est alors réduite (Shewfelt, 1986).

#### Critère physique de qualité : la texture

Le consommateur choisit ensuite ses fruits selon le toucher (souvent pour avoir une idée de son stade de mûrissement). Le critère de texture le plus important est la fermeté mais également le croquant du fruit, et savoir s'il contient beaucoup de jus ou non. C'est souvent par la fermeté d'un fruit que le consommateur associe la fraîcheur du fruit en question (Bourne, 2002 ; Fillion et Kilcast, 2002 ; Szczesniak, 1998). La texture des fruits peut largement impacter la qualité organoleptique, ainsi que la saveur et l'arôme. La texture des fruits évolue au cours du temps et est liée à des processus enzymatiques. La texture des fruits n'est pas seulement importante pour les critères de consommation mais également pour leur capacité de conservation. Par exemple, les fruits à chair molle ne peuvent pas être

---

transportés à longue distance sans dommages et pertes à cause des blessures physiques. Leur temps de conservation est ainsi considérablement réduit. Le ramollissement des tissus associé à la perte en eau et à la perte d'intégrité des membranes ainsi que la perte du jus peuvent être les premières causes de la perte de qualité des fruits les rendant non commercialisables car non consommables.

#### Critère gustatif de qualité : la saveur

La saveur est un critère essentiel pour la gustation puisqu'elle fait intervenir tous les paramètres de goût. Les critères relatifs à la saveur incluent la douceur, l'acidité, l'astringence, l'amertume, l'arôme ainsi que les saveurs désagréables en bouche. La saveur implique la perception de goûts et d'arômes particuliers mettant en jeu des composés spécifiques. Pour déterminer les critères de goût, il faut avant tout connaître les préférences des consommateurs. Les composés primaires tels que les sucres solubles (monosaccharides et disaccharides) et les acides organiques déterminent la qualité gustative des fruits (Nora *et al.*, 2012 ; Keutgen et Pawelzik, 2007) ainsi que la teneur en composés volatils qui confèrent un arôme typique à chaque fruit pouvant orienter le consommateur. L'arôme d'un fruit est donc un critère fondamental pour définir la qualité organoleptique d'un fruit.

#### Critère nutritionnel de qualité : les effets « santé »

La consommation de fruits frais joue un rôle considérable sur la nutrition. Certains composés secondaires synthétisés au cours de l'adaptation et de la résistance de la plante au stress ont aussi un intérêt micronutritionnel comme les vitamines (vitamine C, vitamine A, vitamine B6, thiamine, niacine) ou les composés antioxydants (Atkinson *et al.*, 2011). Cette source de micronutriments rassemble les éléments ayant une forte « valeur santé » ou un intérêt aromatique. Les fruits sont également source de minéraux et de fibres. Outre l'importance des fruits comme source de micronutriments, il existe un intérêt fort pour la consommation des fruits dans le but de réduire les risques liés à certaines maladies telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires, et plus généralement, les pathologies dégénératives (Knekt *et al.*, 1996, 1997 ; Yi *et al.*, 2006 ; Wang et Lin,

2000 ; Meyers *et al.*, 2003 ; Kaur et Kapoor, 2001). Parmi tous les fruits consommés, les fruits rouges ont montré des propriétés anticarcérogénique et antimutagénique (Seeram *et al.*, 2006). Ces propriétés sont présentes lors de la mise en place de nombreux mécanismes mettant en jeu différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques (Seeram *et al.*, 2006).

#### Critère sanitaire de qualité : la non-contamination

Pendant la phase de conservation, il y a souvent apparition d'infections inévitables provoquant le développement de maladies pour aboutir au final à la mort des tissus végétaux. Parmi les microorganismes infectant les fruits, on retrouve les bactéries, les champignons et les levures. L'apparition et le développement de ces microorganismes naturels dépendent des fruits et de leur maturité, de la saison, des conditions dans lesquelles ont poussées les plantes et les conditions de conservation des produits (Francis *et al.*, 1999).

## 2. La fraise

Les fruits peuvent être divisés en deux grands groupes (Brady, 1987) : les fruits non-climactériques qui ne sont pas capables de continuer leur processus de maturation une fois qu'ils sont séparés de la plante, et les fruits climactériques qui peuvent continuer leur maturation après récolte. Le premier groupe compte les fruits comme la fraise ou les fruits appartenant au groupe des agrumes tels que le citron, le melon ou la mandarine. Les fruits appartenant à ce premier groupe produisent peu ou pas d'éthylène. Par conséquent, les fruits doivent être récoltés lorsqu'ils sont complètement mûrs pour assurer une bonne qualité. Le deuxième groupe inclue la tomate, la pomme, le kiwi, la banane ou encore la mangue. Les fruits appartenant à ce deuxième groupe produisent une quantité plus importante d'éthylène capable de stimuler les processus de maturation.

La fraise est un fruit non-climactérique typique, et il est également l'un des fruits les plus populaires dans le monde entier, très apprécié par les consommateurs. La production mondiale de fraises est d'environ 2,5 millions de tonnes. En Europe, la France fait partie des principaux pays producteurs (6<sup>ème</sup> rang en 2015).

La fraise est un « faux » fruit, puisque la partie comestible est d'origine non-ovarienne. En effet, la partie charnue consommée est représentée par le développement du réceptacle floral convexe après fécondation des ovules. Les « vrais » fruits de la fraise sont représentés par les akènes retrouvés à la surface du fruit. Les akènes sont des fruits secs indéhiscents.

Les fraises représentent une source importante de nutriments et leur consommation peut jouer un rôle non négligeable dans la réduction des maladies cardio-vasculaires et des pathologies dégénératives (Bidlack, 1996 ; Doumet *et al.*, 2011). La qualité de la fraise et la préférence des consommateurs sont déterminés par des paramètres tels que la taille et la fermeté des fruits, des niveaux de sucres solubles, l'acidité ainsi que la teneur en composés volatils qui affectent la saveur et l'arôme (Kallio *et al.*, 2000 ; El Hadi *et al.*, 2013). Un équilibre basé sur une teneur en sucre élevée et une acidité relativement élevée donne toute sa saveur à la fraise : le but est souvent de créer des variétés de fraisier produisant des fruits ayant un bon équilibre entre douceur et acidité (Keutgen et Pawelzik, 2007). Le glucose, le fructose et le saccharose sont les sucres les plus importants pour la qualité sensorielle des fraises, ce qui représente 99 % de la teneur en glucides totaux (Pérez *et al.*, 1997), tandis que l'acide citrique et l'acide malique sont les acides organiques les plus retrouvés dans les fraises (Montero *et al.*, 1996). De plus, la fraise est aussi très riche en antioxydants tels que les vitamines C et B9, les flavonoïdes ou encore l'acide ellagique (Meyers *et al.*, 2003 ; Erkan *et al.*, 2008). En plus de leurs effets antioxydants bénéfiques sur la santé, les fraises sont reconnues comme étant d'excellentes sources en fibres alimentaires (Sturm *et al.*, 2003). Cependant, la composition phytochimique de ces fruits varie selon les espèces, les conditions environnementales et les pratiques culturales (Häkkinen et Törrönen, 2000 ; Jin *et al.*, 2011), les stades développementaux (Severo *et al.*, 2011) mais aussi selon les traitements post-récolte (Erkan *et al.*, 2008 ; Allende *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2014).

Après la récolte, les fraises se dégradent rapidement de par leur fragilité et du fait de contaminations microbiennes. *B. cinerea* est responsable de la pourriture grise des fraises et fait des ravages lors des récoltes. Les pertes peuvent atteindre 15 à 20 % uniquement dû à la présence de *B. cinerea* lors de la récolte. Le marché mondial des produits de contrôle de *B. cinerea* est estimé à 15-25 millions de dollars par an (Elad et Stewart, 2004). De plus, une fois récoltées, les fraises sont susceptibles d'être infectées par *B. cinerea* en post-récolte : 1 fraise sur 4 est infectée. Par contact, les fraises pourrissent en seulement 3 jours à température ambiante.

### 3. Objectifs de travail

La réduction des pertes et gaspillages est un enjeu majeur aussi bien au niveau économique, qu'écologique, social ou encore éthique. Les consommateurs étant de plus en plus sensibles et critiques concernant l'utilisation d'additifs synthétiques pour conserver les fruits. De nombreuses études se sont intéressées aux effets de stress abiotiques appliqués sur les fruits en post-récolte et les résultats ont montré des effets sur l'augmentation de la durée de vie des fruits. Ainsi, l'utilisation des stress abiotiques pourrait être une solution alternative et durable. Ce chapitre présente les effets des traitements UV-C appliqués en post-récolte sur la qualité des fraises.

---

## II. Matériel et méthodes

### 1. Modèle végétal et culture

La production des fruits a été réalisée au CTIFL de Balandran (*Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes*) dans les conditions suivantes :

- Plantation des trayplants de la variété Candiss, le 1<sup>er</sup> mars 2017.
- Culture en bacs sous serre.
- Substrat : mélange de tourbe 60 % et d'écorce de pin 40 % (S6/16 Dumona).
- Système de ferti-irrigation automatique par goutte à goutte.
- Photopériode :
  - Départ de végétation : 10 °C nuit et 12 °C jour.
  - En végétation jusqu'à la floraison : 10 °C nuit et 16 °C jour.
  - A la floraison : 10 °C nuit et 14 °C jour.
  - Pendant la maturation des fruits : 10 °C nuit et 14 °C jour.
- Deux récoltes des fruits à maturité commerciale (rouge ferme) :
  - Première récolte : le 03 mai 2017 (environ 600 fruits).
  - Deuxième récolte : le 10 mai 2017 (environ 600 fruits).

### 2. Traitements UV-C et conservation

Après récolte, les fraises sont transportées au laboratoire et traitées le même jour dans une enceinte UV-C. Cette enceinte contient deux plafonds lumineux de 5 lampes UV-C à 254 nm (lampes UV-C basse pression, Osram HNL, 24 W) séparés par une plaque en quartz (Figure 22). La fluence est calculée comme précédemment en multipliant le temps de traitement par la moyenne des intensités lumineuses des deux plafonds. Les fraises sont ensuite disposées dans des alvéoles et conservées dans des boîtes non hermétiques, à l'obscurité et à 21 °C.





Figure 22 : **Traitement UV-C des fraises.** Deux étages de lampes UV-C sont séparés par un étage composé d'une plaque en quartz.

Une seule dose UV-C a été sélectionnée pour réaliser ces expérimentations, à savoir  $1,70 \text{ kJ/m}^2$  correspondant à un temps de traitement de 1 min 17 sec avec une distance de 20 cm entre les lampes UV-C et les fruits à traiter.

Pour chaque modalité, trois répétitions des traitements sur 9 fruits ont été réalisés. Différentes modalités de traitement ont été testées (Figure 23) :

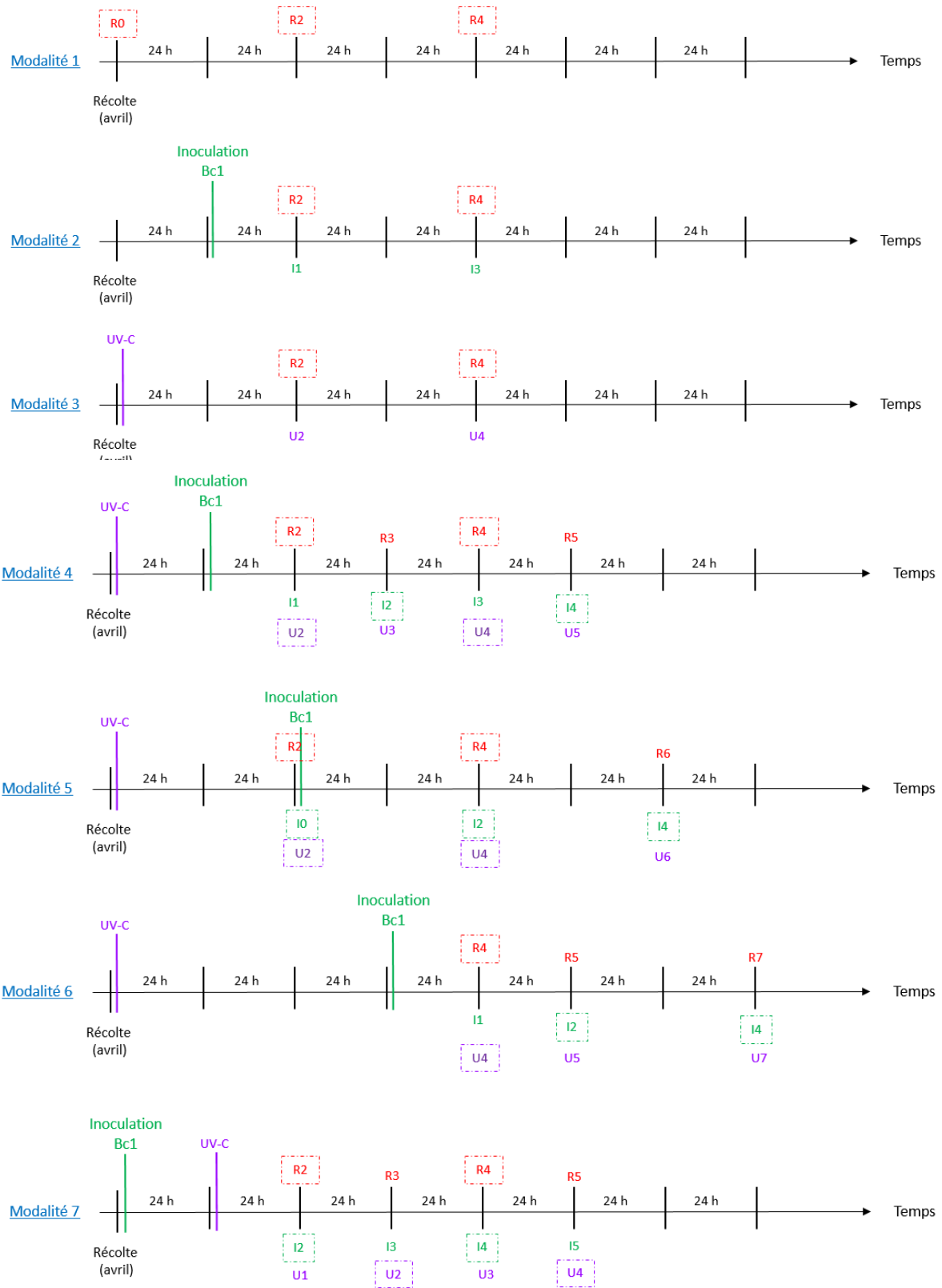
- Modalité 1 : pas d'application des rayonnements UV-C, pas d'inoculation avec Bc1 (groupe contrôle).
- Modalité 2 : pas d'application des rayonnements UV-C mais les fruits sont inoculés avec Bc1 (groupe contrôle négatif).
- Modalité 3 : application des rayonnements UV-C uniquement (pas d'inoculation avec Bc1).
- Modalité 4 : application des rayonnements UV-C puis inoculation avec Bc1 24 h après (test de l'effet hormétique des rayonnements UV-C).

- Modalité 5 : application des rayonnements UV-C puis inoculation avec Bc1 48 h après (test de l'effet hormétique des rayonnements UV-C).
- Modalité 6 : application des rayonnements UV-C puis inoculation avec Bc1 72 h après (test de l'effet hormétique des rayonnements UV-C).
- Modalité 7 : les fraises ont d'abord été inoculées avec Bc1 puis traitées aux UV-C 24 h après (test de l'effet germicide des rayonnements UV-C).

A cause des différentes modalités et différents temps de traitement et temps d'inoculation, il était difficile de raisonner avec un seul paramètre pour l'ensemble des modalités de traitement. Nous avons donc raisonné en termes de temps de récolte, de temps d'inoculation et de temps de traitement aux rayonnements UV-C. Nous avons mis en place un code et des équivalences entre les différentes modalités de traitement :

- Temps post-récolte : R.
- Temps post-inoculation : I.
- Temps post-traitement aux rayonnements UV-C : U.

Impact des radiations UV-C sur la sensibilité des fraises à *Botrytis cinerea* et leur qualité en post-récolte



---

Figure 23 : Frises chronologiques de l'expérimentation sur l'impact des rayonnements UV-C appliqués sur les fraises en post-récolte. Les fruits sont récoltés à maturité commerciale (rouge ferme) puis ont été traités aux UV-C. Des tests pathologiques et de qualité ont été réalisés et des codes ont été mis en place pour avoir des équivalences entre temps post-récolte (R), temps d'inoculation (I), temps post-UV-C (U).

### 3. Modèle fongique et tests pathologiques

Les inoculations ont été réalisées avec *B. cinerea* (souche Bc1, Pathologie Végétale, INRA PACA Avignon) par dépôt de suspension de spores à  $10^6$  spores/mL (goutte de 10  $\mu$ L). Pour chaque récolte, 18 fruits par modalité ont été inoculés. Les fruits ont été inoculés par blessure sur la pointe du fruit. Les fruits ont ensuite été conservés dans une chambre à 21 °C avec une humidité relative de 60 %, et dans des boîtes en plastique fermées. Le suivi du développement de la maladie se fait par des prises de photos pendant les 5 jours suivant l'inoculation : le nombre de fruits contaminés est calculé et des mesures de surface de lésion sur fruit sont effectuées grâce au logiciel ImageJ.

Nous avons aussi calculé le nombre de fruits touchés par le champignon *Rhizopus* suite à une attaque naturelle.

### 4. Mesure de la couleur des fruits

La couleur des fruits a été mesurée sur la partie bombée au centre de la fraise grâce à un chromamètre (CR-2000, Minolta). Pour chaque récolte, la couleur de 18 fruits par modalité a été mesurée. L'appareil a été calibré avec une plaque blanche de référence et les paramètres  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$  ont été mesurés (Figure 24). La mesure de la couleur des fruits a été réalisée pour chaque temps de conservation testé dans cette étude. Les résultats sont présentés par le calcul du Delta couleur qui

correspond à la différence des paramètres de couleur entre le dernier et le premier jour de conservation.

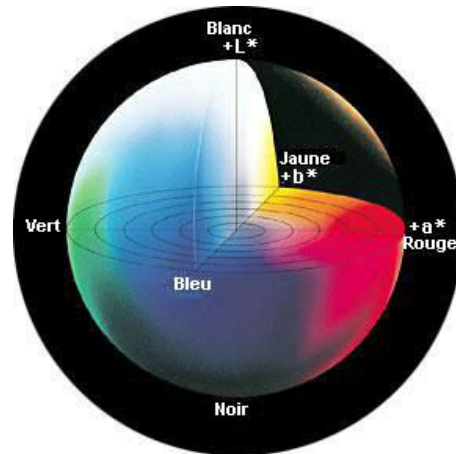


Figure 24 : Espace couleur  $L^*a^*b^*$  (Minolta).  $L^*$  indique la clarté, tandis que  $a^*$  et  $b^*$  sont les coordonnées de chromacité. Dans ce diagramme,  $a^*$  et  $b^*$  indiquent la direction des couleurs :  $+a^*$  va vers le rouge,  $-a^*$  vers le vert,  $+b^*$  vers le jaune, et  $-b^*$  vers le bleu. Le centre du diagramme est achromatique. Au fur et à mesure que les valeurs  $a^*$  et  $b^*$  augmentent, et que l'on s'éloigne du centre, la saturation augmente.

## 5. Mesure de la fermeté des fruits

La fermeté des fruits a été réalisée sur la partie bombée au centre de la fraise grâce à une sonde de pénétration (de 5 mm de diamètre, Penefel) pour chaque temps de conservation testé. Pour chaque récolte, la fermeté de 18 fruits par modalité a été mesurée.

---

## 6. Tests gustatifs

Afin d'évaluer les préférences des consommateurs, des tests gustatifs ont été réalisés sur les fraises récoltées aux deux dates (R1 et R2 donnant deux répétitions expérimentales). Les tests gustatifs ont été réalisés par un panel non entraîné dans nos laboratoires.

Pour chaque récolte, un panel de 30 consommateurs composé d'hommes et de femmes (différents pour R1 et R2) a dégusté des fraises traitées aux rayonnements UV-C et des fraises non traitées. Les consommateurs ont dégusté à l'aveugle et ont indiqué leur préférence grâce à des critères gustatifs (comme l'acidité, la sucrosité ou la texture en bouche, l'odeur).

## 7. Mesure de l'acidité titrable

Chaque échantillon dosé a été réalisé en triplicat. Le dosage de l'acidité tritable (*TA*) a été réalisé à partir de 15 g de poudre, provenant du broyage de 6 fruits. Après décongélation, le jus de fruit obtenu a été centrifugé à 21000 g pendant 5 min à température ambiante (Sigma 4K15). Au final, 30 mL d'eau ultrapure ont été ajoutées à 5 g de jus extrait. La solution a été ajustée à un pH de 8,1 avec 0,1 N de NaOH par l'intervention d'un titrateur automatique (Titroline 7000, Schott SI Analytics TW alpha plus, Mainz, Germany). Les résultats ont été exprimés en g/L d'acide tartarique.

## 8. Matière sèche soluble

Chaque échantillon dosé a été réalisé en triplicat. La teneur en matière sèche soluble (*SSC*) a été réalisée à partir de 15 g de poudre, provenant du broyage de 6 fruits. Après décongélation, le jus de fruit obtenu a été centrifugé à 21000 g pendant

5 min à température ambiante (Sigma 4K15). Au final, 30 mL d'eau ultrapure ont été ajoutées à 5g de jus extrait. Pour finir, la SSC a été déterminée à partir d'un réfractomètre digital (Atago PR-32, Ltd., Tokyo, Japan). Du jus des fraises a été déposé et les valeurs ont été exprimées en °Brix.

## 9. Dosage de la vitamine C

Chaque échantillon dosé a été réalisé en triplicat. Le dosage de la vitamine C a été réalisé à partir de 1 g de poudre provenant de 6 fruits broyés à l'azote liquide a été homogénéisé dans 19 mL d'acide métaphosphorique (MPA 2 %) grâce à l'Ultra-Turrax (T25, Ika) pendant 1 min à une vitesse de 20000 tours/min. Le surnageant de chaque échantillon a ensuite été filtré (filtre RC 0,2 µ Phenex, Phenomex).

La teneur en acide ascorbique (AA) a été déterminée par une injection directe en HPLC (*high performance liquid chromatography*) à partir de 500 µL d'extrait dans 500 µL de MPA 2 %. Un système Acquity UPLC H-Class (Waters, Milford, MA, USA) a été utilisé avec un détecteur à photodiode (Acquity PDA eλ, 210 nm) et un détecteur à indice réfractif (Acquity RI, 34 °C) connectés en série. Un volume de 10 µL de chaque échantillon a été injecté à l'aide d'un gestionnaire d'échantillons sur une colonne dont la température a été réglée à 27 °C (300 mm x 7,8 mm, i.d. ionexclusion Rezex ROA-Organic H<sup>+</sup>, Phenomenex). Le flux de la phase mobile (5,10<sup>-4</sup>N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) était de 0,4 mL/min.

La teneur en vitamine C totale a été déterminée par HPLC après 3 h de réduction de 500 µL d'extrait dans 500 µL de TCEP (*tris(2-carboxyethyl)phosphine*, 10 mM) dans du MPA 2 %, sous agitation à température ambiante et dans l'obscurité.

L'acide déhydroascorbique (DHA) a ensuite été calculé en soustrayant la teneur en AA déterminée en absence d'agent réducteur à la teneur totale en vitamine C. Un chromatographe à phase liquide a été utilisé (Varian ProStar 230) avec un

détecteur de type photodiode (Varian PDA detector 330, 245 nm). 10 µL de chaque extrait ont été injectés dans une colonne C18 (250 mm x 4,6 mm, 25 °C, Supelcosil, Sigma-Aldrich). Le flux de la phase mobile (0,2 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH ajusté à 3,0 avec du H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) était de 1 mL/min. L'identification a été réalisée par comparaison des temps de rétention (*Tr*) des composés dosés et des standards. La quantification des composés a été réalisée à partir des courbes de calibration basées sur des teneurs différentes de standards (0,5 – 5 mg/L).

### 10. Dosages des sucres et acides organiques

Chaque échantillon dosé a été réalisé en triplicat. Les teneurs en sucres (glucose, fructose et saccharose) et en acides organiques (acide malique et acide citrique) ont été déterminées simultanément par HPLC. La préparation des échantillons s'est réalisée avec 1 g de poudre, provenant de 6 fruits broyés à l'azote liquide, dans 19 mL d'eau ultrapure (RC 0,2 µm Phenex, Phenomenex, Le Pecq, France). Les échantillons ont ensuite été homogénéisés et broyés finement à l'Ultra-Turrax (T25, Ika) pendant 1 min à une vitesse de 20000 tours/min. Après centrifugation à 14000 g pendant 10 min à 4°C (Sigma 4K15), le surnageant a été filtré (filtre RC 0,2 µm Phenex, Phenomex).

Les filtrats ont ensuite été directement injectés dans l'HPLC (dans les mêmes conditions que pour le dosage de la vitamine C). Les identifications ont été réalisées par la comparaison des *Tr* de chaque molécule avec ceux des standards utilisés. La quantification de chaque composé a été réalisée à partir des courbes de calibration basées sur des teneurs différentes de standards : saccharose (1-10 g/L),



---

glucose (40-120 g/L), fructose (40-120 g/L) ; acide malique (0,5-1 g/L), acide tartarique (2-10 g/L).

### 11. Dosages des polyphénols

Chaque échantillon dosé a été réalisé en triplicat. Les échantillons ont été préparés à partir de 4 g de poudre, provenant de 6 fruits broyés à l'azote liquide, dans 20 mL d'un mélange de solvant : MeOH (*méthanol*) / H<sub>2</sub>O (*eau*) / acide formique (60:38:2, v/v/v). Les échantillons ont été ensuite homogénéisés grâce à l'Ultra-Turrax (T25, Ika) pendant 1 min à une vitesse de 20000 tours/minute. Puis les échantillons ont été centrifugés à 10000 g pendant 5 min à 4 °C (Sigma 4K15). A l'aide d'un évaporateur-concentrateur à azote (Horizon Technology, Interchim), 10 mL du surnageant ont été concentrés par séchage sous haute pression. Après avoir ajouté 1 mL du mélange MeOH/acide formique (95:5, v/v) dans les échantillons concentrés, les extraits sont filtrés (filtre RC 0,2 µm Phenex, Phenomex) puis le surnageant, contenant la phase phénolique, a été directement injecté dans l'UPLC (*ultra performance liquid chromatography*).

La séparation et la caractérisation des composés phénoliques ont été réalisées *via* une UPLC (Acquity, Waters) équipée d'un détecteur de type photodiode (détection à 280, 330 et 520 nm) et d'une colonne HSS TS3 (100 mm x 2,1 mm, 45 °C, Acquity, Waters). L'UPLC était équipée d'un détecteur de photodiode (Acquity PDA) et un détecteur à fluorescence (Acquity FLR) connectés en série. Le détecteur à photodiode a été placé à 255 nm pour les flavonols, 280 nm pour les flavanols, 320 nm pour les acides hydroxycinnamic et 520 nm pour les anthocyanines. Pour les stilbènes, le détecteur à fluorescence a été placé à 308 nm pour l'excitation des molécules et 380 nm pour l'émission des molécules. La température des colonnes a été réglée à 45 °C. Un système binaire de solvant a été utilisé à un flux de 0,4 mL/min avec le solvant A (H<sub>2</sub>O/acide formique, 98,5:1,5, v/v) et le solvant B (méthanol). Le gradient d'élution était le suivant : 0-6 min, 1-

21 % B, 6-14,5 min, 21-70 % B, 14,5-19 min, isocratique 95 %, 19-24 min, isocratique 1 % B. Le volume de l'injection était de 1  $\mu$ L. L'identification des composés a été faite à partir des Tr de chaque molécule et de leur spectre UV de 200 à 600 nm (en comparaison avec les valeurs des standards).

## 12. Dosages des composés volatils

Chaque échantillon dosé a été réalisé en triplicat. La méthode de micro-extraction liquide-liquide a été utilisée : 10 g de poudre, provenant du broyage à l'azote liquide d'un lot de 6 fraises, ont été homogénéisés dans 30 mL de solution saturée en sulfate d'ammonium ( $(NH_4)_2SO_4$ ) et 100  $\mu$ L de 4-nonanol à 254,6 ppm (standard interne) grâce à l'Ultra-Turrax (T25, Ika) pendant 1 min à 20000 tours/min. Les échantillons ont ensuite été mis en contact avec 30 mL de dichlorométhane et ont été agités pendant 10 min. A l'issue, les échantillons ont été centrifugés à 10000 g pendant 5 min à 4°C (Sigma 4K15). La phase organique, se trouvant dans le culot, a été récoltée et conservée. Une deuxième extraction avec du dichlorométhane a été réalisée de la même manière. Les extraits ont ensuite été filtrés et concentrés pendant 1 h à 38 °C *via* un évaporateur-concentrateur à l'azote (Horizon Technology, Interchim).

Pour séparer les composés volatils, les extraits ont été par la suite injectés dans une GC-MS (*gaz chromatography-mass spectrometry*, Perkin Elmer, Clarus SQ 8T). La séparation des composés volatils s'est réalisée grâce à un chromatographe à phase gazeuse (Varian 3800 GC-FID) équipé d'une colonne capillaire Rtx-Wax (30 m x 0,25 mm, Restek). Le flux d'hydrogène était de 1 mL/min. La température était de 40 °C pendant 3 min puis programmée à 250 °C à raison de 5 °C /min et cette température a été conservée pendant 15 min. Les injections de 1  $\mu$ L ont été réalisées à 220 °C à l'aide d'un échantillonneur automatique CombiPAL équipé d'un rack de refroidissement Peltier à 4 °C (CTC

---

Analytics AG, Zwingen, Switzerland). Les teneurs en composés volatils ont été exprimées en équivalence du talon interne utilisé (4-nonanol).

Pour l'identification des composés volatils, un spectromètre de masse à piège d'ions a été également utilisé en association à la spectrométrie gazeuse (Clarus 680 GC associé à SQ8-C MS, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) équipés de la même colonne que pour l'identification des composés volatils. Les injections (1  $\mu$ L) ont été faites à 220 °C à l'aide d'un échantillonneur automatique (Perkin-Elmer). Les spectres de masse ont été balayés dans la plage m/z 30-350 amu à des intervalles de 1 sec, avec une énergie d'ionisation électronique (*EI*) de 70 eV et une source ionisante à 220 °C. La température de la ligne de transfert a été réglée à 250 °C. Pour finir, les identifications de chaque composé volatil ont été effectuées par la comparaison des indices de rétention linéaires et les spectres de masse EI avec des composés de référence.

### 13. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à partir du logiciel Statistica. Des premiers tests d'analyse de normalité des données ont été réalisés : test de Shapiro. Puis des analyses de variances (ANOVA) ont été réalisées. Si les données suivaient une loi normale, alors des tests de comparaison de moyenne étaient réalisés comme le test de Duncan ou Newman-Keuls (*NKT*). Au contraire, si les données n'étaient pas gaussiennes alors des tests non paramétriques de comparaison de moyennes étaient réalisés comme le test de Kruskal-Wallis. Pour chacun des tests, une contrainte de p-value < 0,05 a été déterminée.

### III. Résultats et discussion

#### 1. Sensibilité des fruits

Afin d'estimer l'effet des traitements UV-C en post-récolte sur la sensibilité des fraises, des tests pathologiques avec *B. cinerea* ont été réalisés (Figure 25).

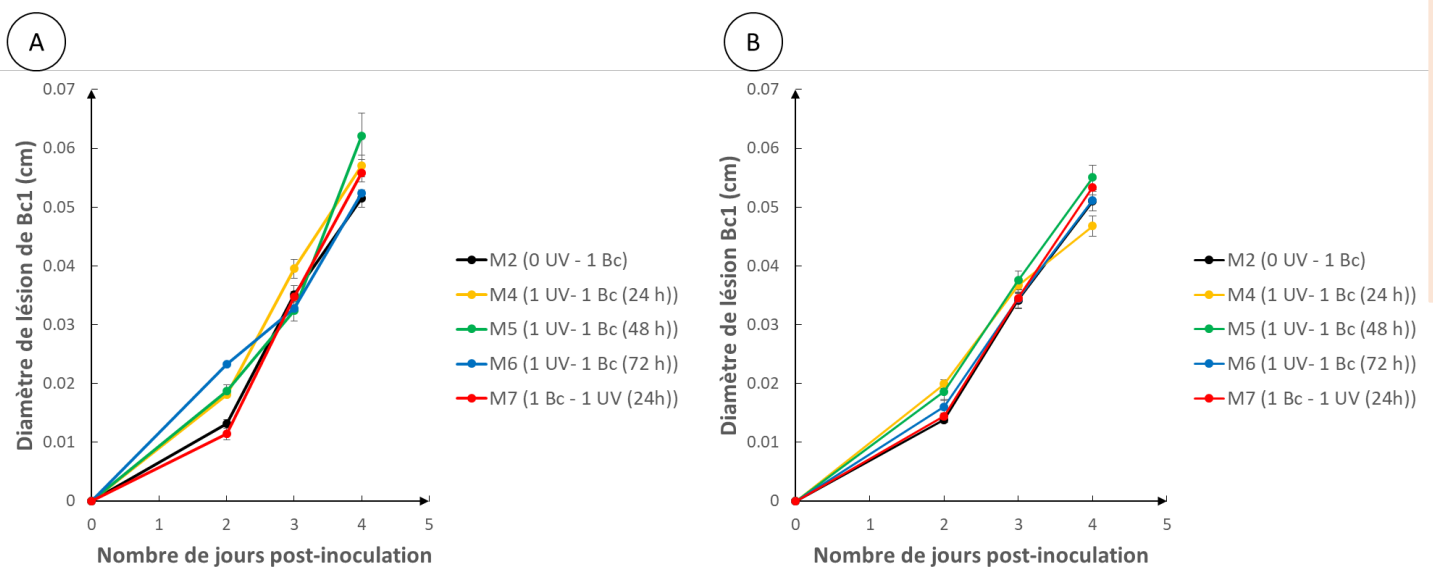
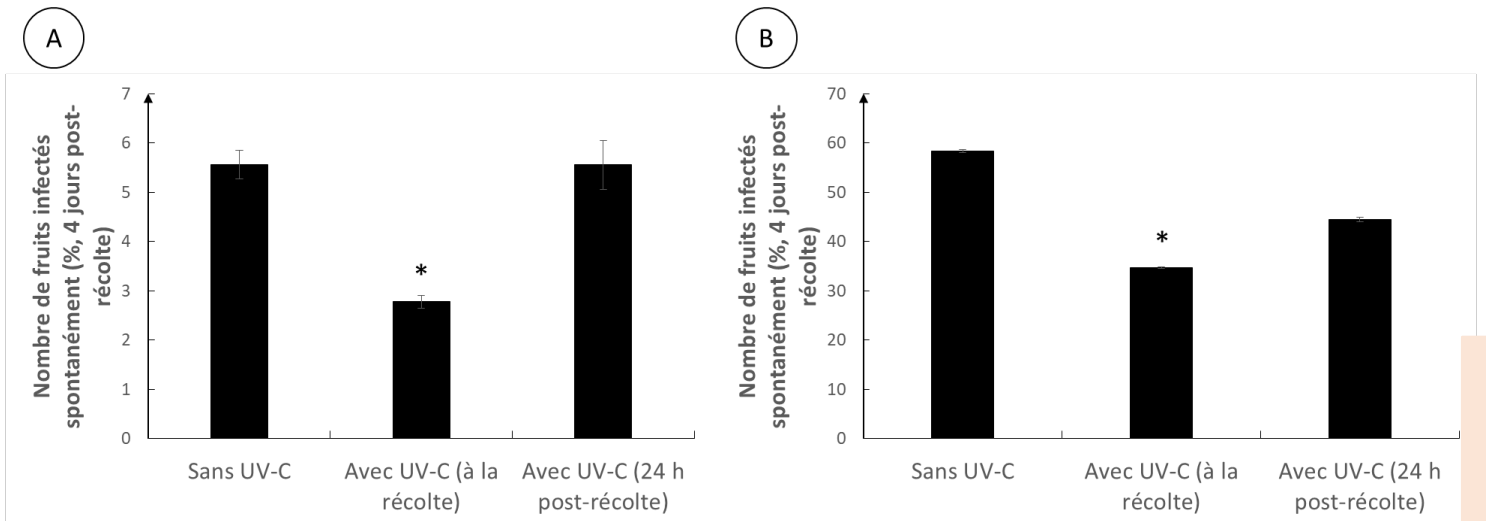


Figure 25 : Niveau de sensibilité des fraises à *B. cinerea* après traitements UV-C en post-récolte. Les fraises ont été récoltées à maturité commerciale (rouge ferme) puis traitées aux UV-C. Les tests pathologiques (inoculation avec *B. cinerea*, souche Bc1 et suivi sur 4 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des fraises à ce pathogène suite aux traitements UV-C. A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2). Les tests statistiques ont été réalisées (erreurs standards, NKT, p-value < 0,05).

Avec ces premiers résultats, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet des rayonnements UV-C sur le développement de *B. cinerea* sur les fruits en post-récolte car il n'y a aucune différence significative entre les traitements UV-C effectués en post-récolte sur les fruits et le groupe contrôle, que cela soit sur la

première récolte (R1, Figure 25-A) ou la seconde récolte (R2, Figure 25-B). Ce résultat est en contradiction avec de nombreuses études précédentes menées sur la stimulation des défenses des fruits et légumes par les rayonnements UV-C (Liu *et al.*, 1993 ; Mercier *et al.*, 2001 ; Siddiqui *et al.*, 2011 ; Stevens *et al.*, 1998 ; Wilson *et al.* 1997 ; Charles *et al.*, 2008a-d ; Jin *et al.*, 2017). Nous pensons que la méthode d'inoculation utilisée pour infecter les fraises est beaucoup trop invasive et ne permettrait pas d'identifier les différences potentielles de sensibilité car *B. cinerea* se développe beaucoup trop rapidement sur les fraises, et notamment du à leur teneur élevée en sucres et à leur chair fragile que nous avons blessée lors de l'inoculation.

Cependant les résultats deviennent plus intéressants lorsqu'on prête attention aux infections naturelles survenues sur les fruits pendant leur conservation en chambre climatique (Figure 26). En effet, les fruits ont été naturellement contaminés par un champignon de genre *Rhizopus*.



**Figure 26 :** Niveau de sensibilité des fraises à *Rhizopus* après traitements UV-C et 4 jours de conservation à 20°C. Les fraises ont été récoltées à maturité commerciale (rouge ferme) puis traitées aux rayonnements UV-C. Des infections spontanées se sont produites lors de la conservation des fruits : ce sont des infections naturelles de type *Rhizopus*. Le nombre de fruits infectés a donc été calculé après quatre jours de conservation. A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2). Les (\*) indiquent les différences significatives entre le groupe non traité aux rayonnements UV-C et les groupes traités aux rayonnements UV-C (erreurs standards, test de Chi<sup>2</sup>, p-value < 0,05).

Ici, quelque soit la date de récolte (répétitions expérimentales : Figure 26-A pour R1 et Figure 26-B pour R2), les traitements UV-C réduisent le développement de *Rhizopus*. Ce résultat est en accord avec les résultats obtenus par Stevens *et al.* (1997) qui ont démontré que des traitements hormétiques UV-C réduisaient le développement de *Rhizopus* chez la tomate et la patate douce. De plus, l'effet des UV-C sur la réduction du développement du champignon *Rhizopus* sur les fraises est plus fort lorsque les rayonnements UV-C sont appliqués le jour même de la récolte plutôt que 24 h après récolte puisque le nombre de fruits infectés est diminué de moitié.

Ainsi nous avons démontré que les rayonnements UV-C réduisaient le développement de *Rhizopus* mais pas celui de *B. cinerea*. Nous pensons que cela peut provenir de notre méthode d'inoculation trop agressive contrairement à la contamination naturelle. Les rayonnements UV-C auraient un effet germicide sur la surface des fruits en détruisant partiellement *Rhizopus*. Nous pensons aussi que la dose 1,70 kJ/m<sup>2</sup>, utilisée dans cet essai, a un impact plus fort sur les champignons saprophytes (*Rhizopus*) plutôt que les champignons nécrotrophes (*B. cinerea*). Il serait alors intéressant de tester plusieurs doses et fréquences d'application, tout en modifiant la méthode d'inoculation, afin de vérifier si on peut déclencher les mécanismes de défenses des fruits avant une attaque de *B. cinerea*.

2. Evolution de la qualité des fruits

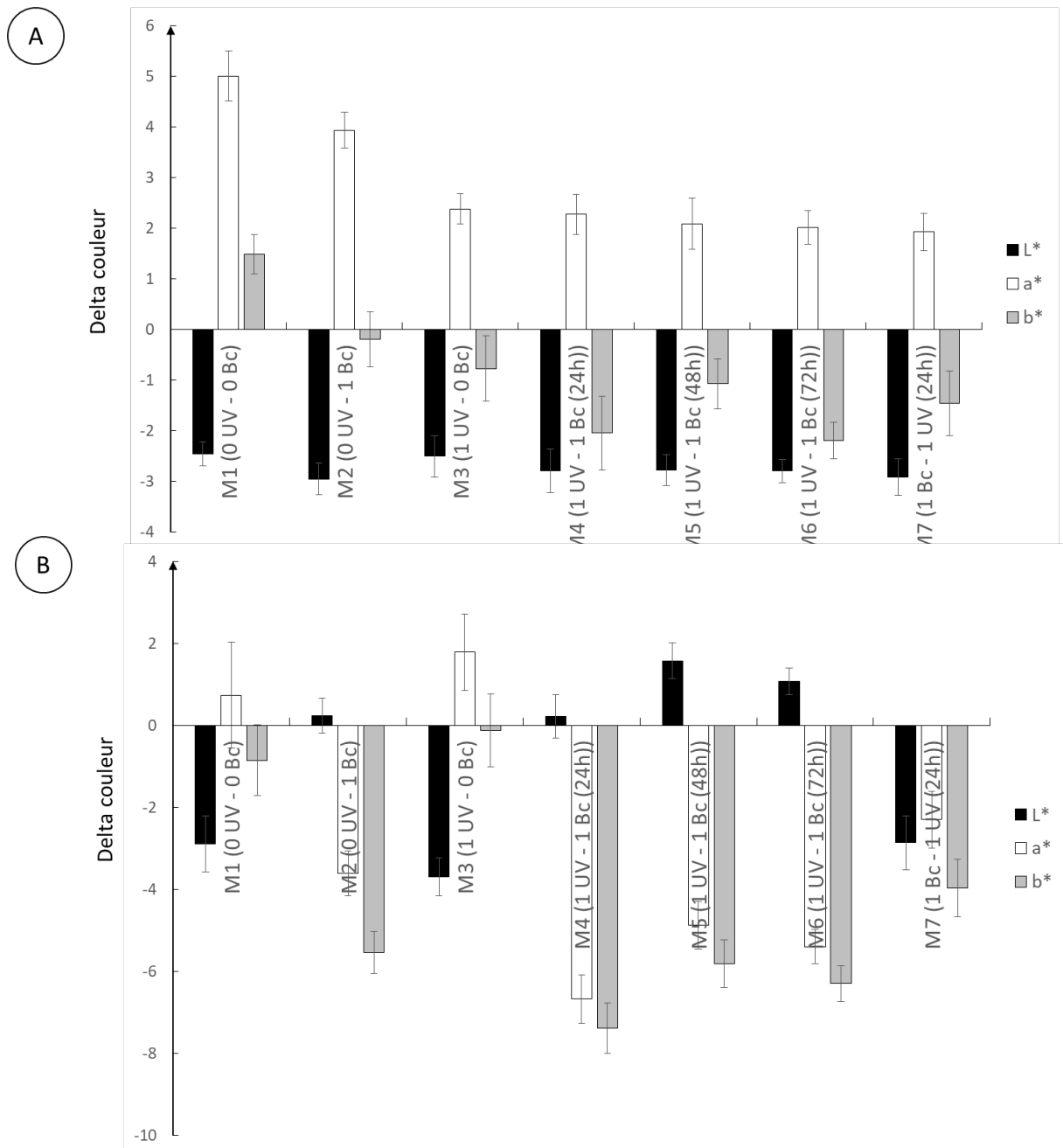


Figure 27 : Différence de couleur des fraises au cours de la conservation suite aux traitements UV-C. Ici sont représentées les différences de couleur entre le dernier jour de conservation (R4) et le jour de récolte (R0). A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2). Les tests statistiques ont été réalisés (erreurs standards, NKT, p-value = 0,05).



Le paramètre  $a^*$  est un indicateur de l'intensité du rouge des fruits. Il est donc intéressant pour contrôler l'évolution de la maturation des fruits. Cependant, quel que soit la récolte (Figure 27-A pour R1 et Figure 27-B pour R2), nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives du paramètre  $a^*$  entre les modalités de traitement, ni pour les paramètres mesurés  $L^*$  et  $b^*$ . Il est bien établi que la maturation des fruits est un phénomène très complexe impliquant de nombreux mécanismes physiologiques dont le fonctionnement dépend des conditions environnementales mais aussi des espèces végétales. La couleur rouge des fruits, donnée principalement par le paramètre  $a^*$ , est en lien avec la teneur en anthocyanines (Dong *et al.* 1995). Xie *et al.* (2015) ont cependant rapporté que les traitements UV-C appliqués en cours de culture sur les fraisiers n'avaient pas d'impact sur la teneur en anthocyanines des fraises. Inversement, Severo *et al.* (2015) ont montré une augmentation de la teneur en anthocyanines après que les fraises aient été traitées aux rayonnements UV-C. Les rayonnements UV-C n'ont donc pas d'effet sur la couleur des fruits, que cela soit positif ou négatif. Nous aurions pu penser que les traitements UV-C ramollissent les fruits et les brunissent du fait d'un échappement de chaleur pendant les traitements.

Afin d'évaluer la qualité des fraises récoltées dans cette étude, nous avons réalisés des tests gustatifs après 1 jour de conservation à 20 °C (Figure 28). Il existe un équilibre étroit entre l'activation des mécanismes de défenses et la phase de production des fruits dû aux ressources carbonées limitées. Un processus est souvent activé ou stimulé au détriment de l'autre. De ce point de vue, il est alors important de surveiller la qualité des fraises lorsque nous essayons, en parallèle de stimuler leurs mécanismes de défense pour lutter efficacement contre les agents pathogènes. Il faut trouver l'équilibre optimal.

Nous remarquons que les résultats sont similaires pour la dégustation des fraises provenant à la fois de la récolte R1 (Figure 28-A) et de la récolte R2 (Figure 28-B). Nous observons une nette préférence des consommateurs pour les fraises ayant été traitées aux rayonnements UV-C (à hauteur de 90 %). D'après les sondages, la préférence de goût était due majoritairement à fraises plus sucrées. En

effet, le goût des fraises est influencé par un certains nombres de composants, y compris les sucres et les acides organiques. Ces deux composants sont des paramètres majeurs qui influencent les propriétés organoleptiques des fruits (Silva *et al.*, 2002 ; Bordonada et Terry, 2010).

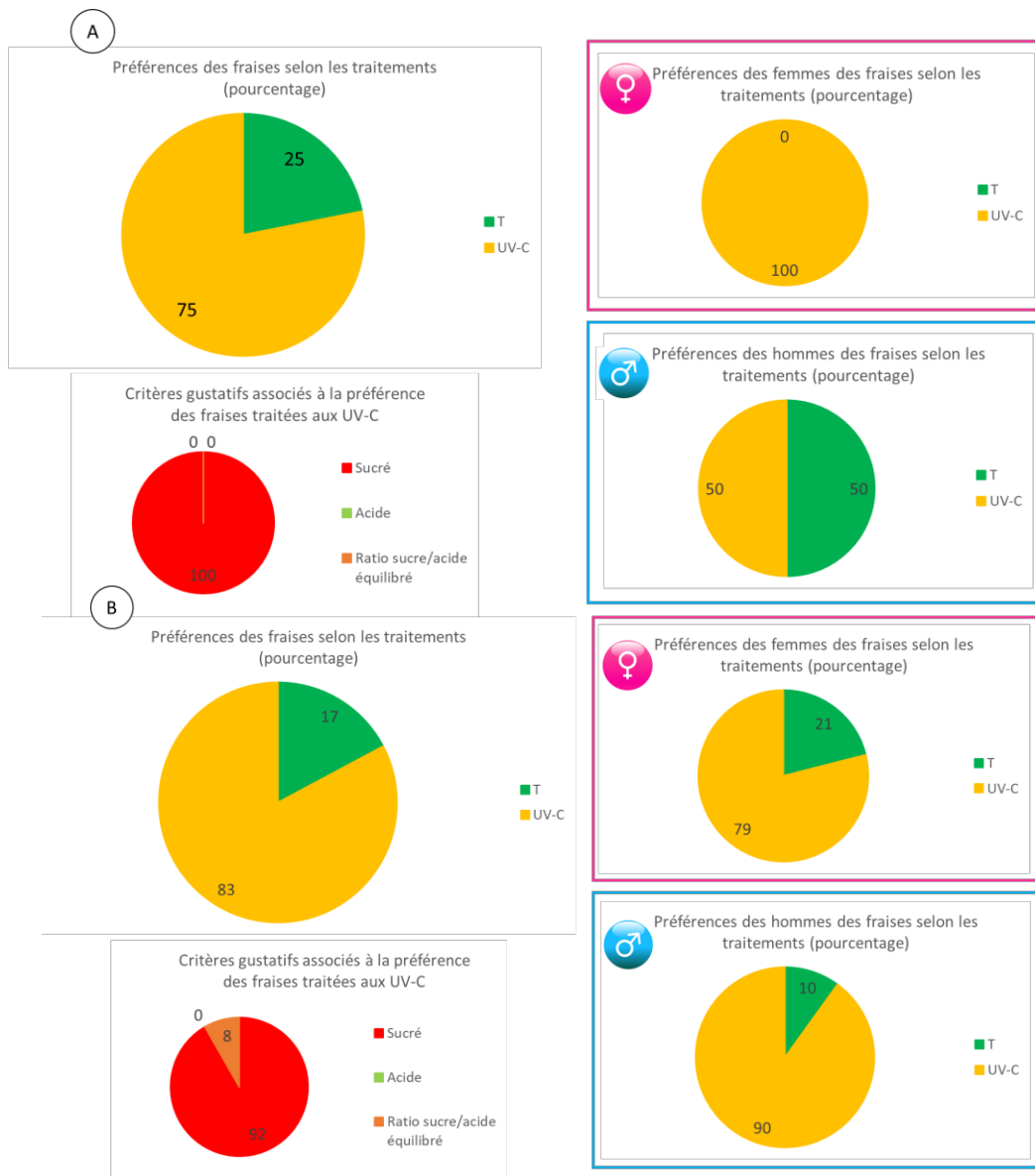


Figure 28 : Tests gustatifs à l'aveugle des fraises traitées ou non aux rayonnements UV-C. Les tests gustatifs ont été faits un jour après la récolte et les traitements UV-C. Ces tests gustatifs se sont réalisés à l'aveugle avec un panel de 30 dégustateurs. A) Première récolte (R1). B) Deuxième récolte (R2).

Suite à ces données, nous avons décidé d'analyser plus finement la composition biochimique des fruits pour deux modalités, à savoir le groupe contrôle (M1) et le groupe traité aux rayonnements UV-C (M3).

Ainsi, nous n'avons démontré aucune différence significative de la matière sèche, la matière sèche soluble et l'acidité titrable entre le groupe traité aux rayonnements UV-C et le groupe contrôle au cours de la conservation des fruits (Tableau 3). Cependant, dans d'autres études, il a été démontré que l'acidité titrable des tomates traitées, à une dose UV-C de 3,7 kJ/m<sup>2</sup>, était plus élevée que l'acidité titrable mesurée dans des tomates non traitées (Ait-Barka *et al.*, 2000a-b).

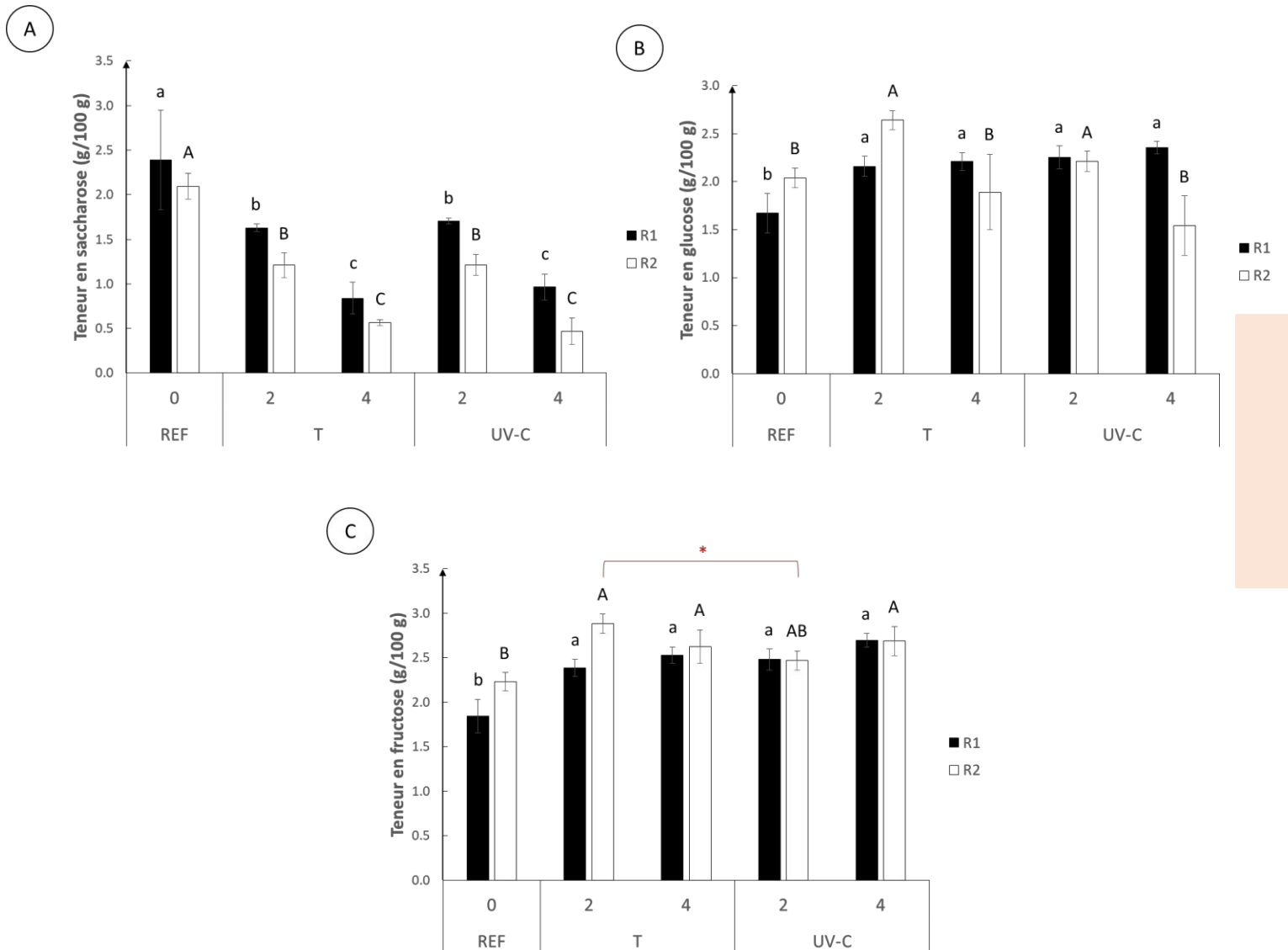
**Tableau 3 : Mesures de base pour le suivi de la maturation des fruits en post-récolte.** Les fraises ont été broyées par lot de 6 à l'azote liquide. Le tableau ci-dessous regroupe les données pour les deux récoltes (R1 et R2). Les (\*) en rouge correspondent aux différences significatives entre les modalités (\* = p-value < 0,05 ; \*\* = p-value < 0,01 ; \*\*\* = p-value < 0,001) et les lettres minuscules en bleu correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits et celles en majuscules correspondent aux différences significatives entre les modalités pour un temps de conservation donné (erreurs standards, ANOVA, p < 0,05).

Code	Composé	A la récolte	Modalités	Temps de conservation en post-récolte		Signif
				2 jours	4 jours	
	<b>%</b>					
MS	Matière sèche	9,98 ± 0,57	M1	10,25	10,03	ns
			M3	10,53	10,33	ns
			Signif	ns	Ns	
	<b>% Brix</b>					
IR	Matière sèche soluble	8,74 ± 0,56	M1	9,10	8,37	ns
			M3	9,36	9,14	ns
			Signif	ns	ns	
	<b>Meq/100g</b>					

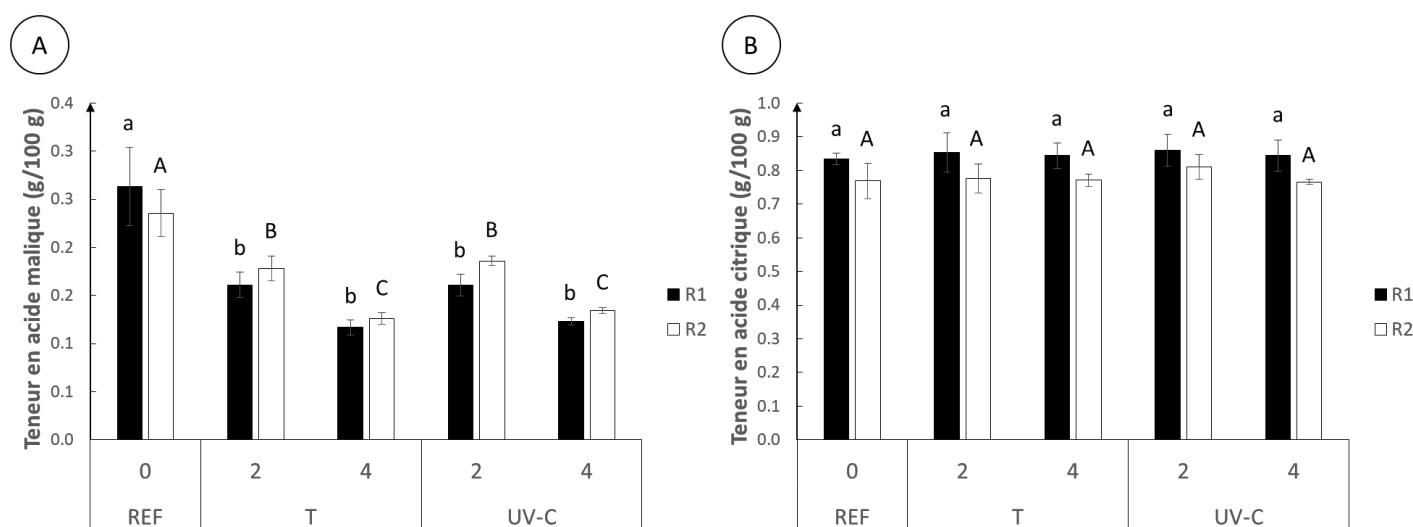
Code	Composé	A la récolte	Temps de conservation en post-récolte			Signif
			Modalités	2 jours	4 jours	
AT	Acidité titrable	14,09 ± 0,53	M1	13,99	12,67	ns
			M3	13,25	12,96	ns
			Signif	ns	ns	
MS	Matière sèche	10,01 ± 0,28	M1	10,51	9,33	ns
			M3	9,71	9,85	ns
			Signif	ns	ns	
IR	Matière sèche soluble	9,03 ± 0,25	M1	9,34	7,90	ns
			M3	8,54	7,86	ns
			Signif	ns	ns	
AT	Acidité titrable	12,83 ± 0,53	M1	11,65	12,93	ns
			M3	12,59	13,08	ns
			Signif	ns	ns	

Nous avons ensuite réalisé des dosages de composés primaires tels que les sucres regroupant le saccharose, le fructose et le glucose (Figure 29). Que cela soit pour le groupe contrôle ou le groupe traité aux rayonnements UV-C, la teneur en saccharose diminue au cours de la conservation des fruits (Figure 29-A), alors que la teneur en glucose (Figure 29-B) et la teneur en fructose (Figure 29-C) augmentent. Ces changements de teneurs en sucres au cours de la conservation des fruits indiquent une maturation normale : une diminution du saccharose en faveur du glucose et fructose. Les glucides dominants sont le fructose et le glucose (Mikulic-Petkovsek, 2012 ; Schwieterman, 2014). Nous avons pu identifier une seule différence significative entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C. Cette différence intervient uniquement lors du deuxième jour de conservation et nous observons une légère diminution de la teneur en fructose dans le groupe traité aux rayonnements UV-C, comparativement au groupe contrôle à ce même temps de conservation (Figure 29-C).

En parallèle des mesures de la teneur en sucres, la teneur en acides organiques ont également été réalisées pour les deux récoltes de fruits R1 et R2 (Figure 30). La note acidulée des fraises est due à la présence plus ou moins importante d'acide citrique et d'acide malique (Mikulic-Petkovsek, 2012).



**Figure 29 : Teneurs en sucres dans les fraises au cours de leur conservation.** Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). A) Teneur en saccharose. B) Teneur en glucose. C) Teneur en fructose. Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C à un temps de conservation donné (2 et 4 jours ; erreurs standards, ANOVA, p-value < 0,05).



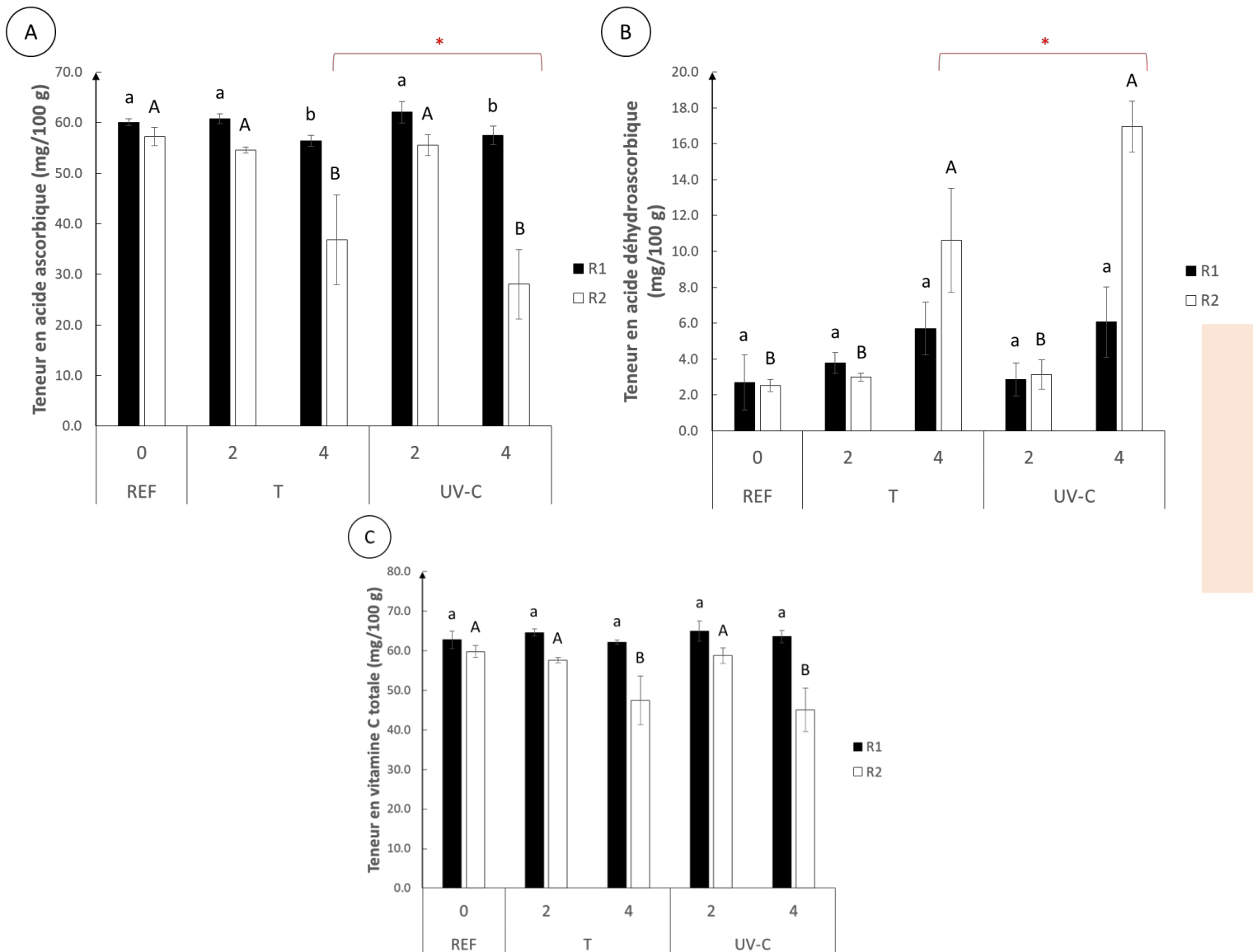
**Figure 30 : Teneurs en acides organiques dans les fraises au cours de leur conservation (2 et 4 jours).** Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). A) Teneur en acide malique. B) Teneur en acide citrique. Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2 (erreurs standards, ANOVA,  $p < 0,05$ ).

La teneur en acide malique diminue au cours de la conservation des fruits quelque soit le groupe (Figure 30-A). En parallèle, la teneur en acide citrique reste constante au cours de la conservation des fruits à la fois pour le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (figure 30-B). Au cours de la conservation, cette diminution de la teneur en acides est en accord avec une maturation normale du fruit (Carlen *et al.*, 2005).

Par la suite, la teneur en vitamine C a été dosée (Figure 31). Tout d'abord, la teneur en vitamine C est cohérente avec les teneurs retrouvées normalement dans les fraises à savoir entre 60 et 65 mg/100 g de fruits (Table de composition nutritionnelle des aliments Ciquel (2017) - ANSES). La teneur en acide ascorbique, qui correspond à la forme réduite de la vitamine C, diminue pendant la conservation quelque soit le groupe (Figure 31-A). En ce qui concerne la teneur en acide



déhydroascorbique, qui représente la forme oxydée de la vitamine C, quelque soit le groupe, elle augmente pendant la conservation (Figure 31-B). Il est alors normal de constater que la teneur en vitamine C totale reste constante pendant la conservation des fruits, et ce quelque soit le groupe (contrôle ou UV-C ; Figure 31-C). Severo *et al.* (2015) ont montré une augmentation de teneur en AA après 4 jours de conservation. Il aurait été donc intéressant de réaliser des dosages de vitamine C 4 jours après conservation dans notre étude. Cependant, la présence de *Rhizopus* ne nous a pas permis de continuer plus longtemps la conservation des fraises. Outre cette contamination spontanée et naturelle, il est connu que les stress, qu'ils soient biotiques ou abiotiques, peuvent interférer avec la biosynthèse de la vitamine C (Cordenunsi *et al.*, 2005). En effet, ce composé est un antioxydant naturel impliqué dans de nombreux processus métaboliques se déroulant pendant la maturation du fruit et la sénescence. Ainsi, dans certain cas, une teneur en vitamine C peu variable ou diminuée peut être corrélée avec un stress oxydatif fort provoqué par les traitements UV-C (Aharoni *et al.*, 2000 ; Cordenunsi *et al.*, 2005).



**Figure 31 : Teneur en vitamine C dans les fraises au cours de leur conservation.** Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). A) Teneur en acide ascorbique (forme réduite). B) Teneur en acide déhydroascorbique (forme oxydée). C) Teneur en vitamine C totale. Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C à un temps de conservation donné (2 et 4 jours ; erreurs standards, ANOVA, p-value < 0,05).

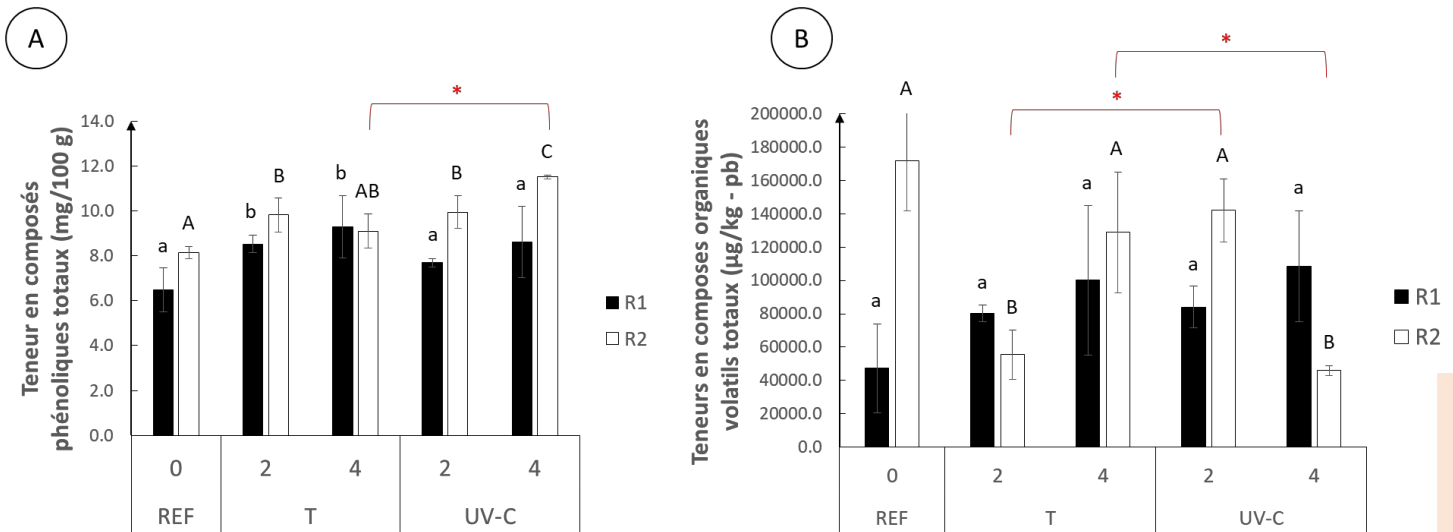
Pour finir, les composés phénoliques et aromatiques sont des paramètres à prendre en compte lorsque nous étudions l'évolution de la maturation des fruits lors de leur conservation. Des études précédentes ont pris en compte ces paramètres pour étudier le rôle des composés phénoliques comme étant à la fois des composés bénéfiques pour la résistance des fruits et des composés bénéfiques pour la santé. Il a été démontré que les rayonnements UV-C, appliqués à des doses hormétiques, permettaient la stimulation du métabolisme secondaire et donc l'accumulation de métabolites secondaires, notamment des composés phénoliques (Poiroux-Gonord *et al.*, 2010). Nous avons donc réalisés des dosages des composés phénoliques individuels et des composés aromatiques pour les deux récoltes (R1 et R2).

En ce qui concerne les composés phénoliques totaux (issus du dosage des composés phénoliques individuels), nous n'avons pas pu mettre en avant de différences majeures entre les fraises appartenant au groupe contrôle et celles traitées aux rayonnements UV-C (Figure 32-A). Ces résultats sont en désaccord avec une étude menée par Severo *et al.* (2015) qui ont démontré que la teneur totale en composés phénoliques était plus élevée dans les fruits traités aux rayonnements UV-C. Cependant, dans cette étude, la méthode de dosage au réactif de Folin a été utilisée et est moins discriminante que les méthodes de dosages individuels utilisés dans notre étude (UPLC). De plus, les dosages des composés phénoliques ont été réalisés après 6 jours de conservation comparé à 4 jours pour notre étude. Il aurait alors été intéressant de réaliser nos dosages pendant 1 semaine de conservation. Cependant, nous avons noté une forte présence du champignon *Rhizopus* dans la récolte R2. La présence de ce champignon a perturbé la conservation des fruits. De ce fait, en comparant les deux récoltes, nous observons des teneurs en composés phénoliques plus élevées dans la récolte R2.

L'arôme des fraises est constitué d'un mélange complexe d'esters, d'aldéhydes, d'alcools et de composés soufrés (Mishra, 2014). Nous n'avons pas mis en avant de différence significative des composés organiques volatils (Figure 32-B) entre les fraises traitées aux rayonnements UV-C et celles non traitées. L'arôme principal retrouvé dans les fraises est le furanéol. Dans notre étude, ce composé aromatique est également largement retrouvé dans les deux récoltes mais

sans différences significatives entre les fraises appartenant au groupe contrôle et celles traitées aux rayonnements UV-C. Cependant, Severo *et al.* (2015) ont montré une production plus importante d'esters volatils dans les fruits ayant été traités aux rayonnements UV-C. Il a également été démontré que la teneur des arômes évoluait différemment lors de la maturation. En effet, la teneur des arômes augmente avec la maturation du fruit : un fruit rouge (maturité commerciale) a généralement des teneurs en composés aromatiques deux fois plus élevées que celles des fraises au stade « fruits rouge 3/4 » (Forney *et al.*, 2000 ; Azodanlou *et al.*, 2004 ; Carlen *et al.*, 2005). Il est alors important de prendre en compte à la fois les traitements UV-C appliqués sur les fruits mais aussi et surtout les stades de maturité des fraises lors de l'application de ces traitements. Toutefois, et de manière surprenante dans notre étude, nous avons également identifié des composés aromatiques étant associés à des notes de prunus et plus précisément de pêche et ce à des teneurs élevées pour des fruits rouges.

L'ensemble des résultats concernant les dosages des composés d'intérêt dans les fraises sont restitués dans l'Annexe 3 pour les deux récoltes de fruits réalisées.



**Figure 32 :** Teneurs en composés phénoliques totaux (A) et teneurs en composés organiques volatils totaux (B) dans les fraises au cours de leur conservation. Les fraises ont été broyées par lot de 6 pour chaque récolte (R1 et R2). Les lettres minuscules correspondent aux différences significatives au sein d'une modalité pendant la conservation des fruits de R1 et celles en majuscules pour R2. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C à un temps de conservation donné (2 et 4 jours ; erreurs standards, ANOVA, p-value < 0,05).

## IV. Conclusion

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à l'impact des rayonnements UV-C appliqués en post-récolte sur la sensibilité et la qualité des fraises durant leur conservation. Nous avons démontré que les traitements UV-C ne dégradent pas la qualité des fraises pendant leur conservation. La fraise est un fruit très fragile et a donc une durée de vie courte, notamment du à la présence de champignons qui dégradent les fruits. Dans notre étude, les traitements UV-C permettent également de lutter efficacement contre des champignons présents en post-récolte tels que *Rhizopus*.

Ainsi les traitements UV-C semblent être prometteurs dans la protection des fraises contre des infections naturelles en post-récolte. De plus, ces mêmes traitements UV-C ne dégradent pas physiquement le produit ni les composés d'intérêt recherchés par les consommateurs.



## Chapitre III

Impact des radiations UV-C  
appliquées en pré-récolte sur la  
sensibilité du fraisier à différents  
agents pathogènes et sur la  
qualité/conservation des fruits en  
post-récolte



## I. Lien pré-post récolte

Ce chapitre est rédigé sous la forme d'un article scientifique, soumis dans le journal « Post-harvest Biology and Technology » (Figure 33).

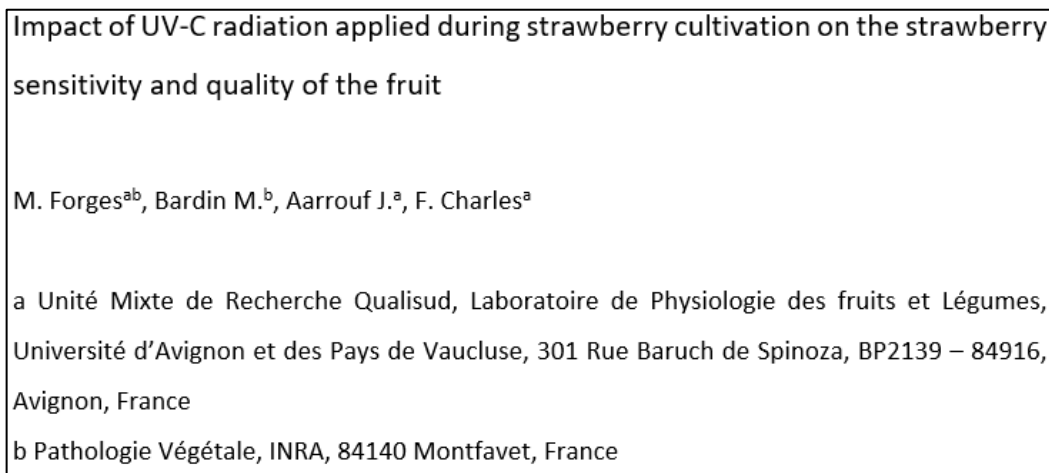


Figure 33 : Article soumis traitant du lien pré-post récolte. Cet article va être soumis au journal Post-Harvest Biology and Technology.

### 1. Abstract

Applications of UV-C radiation have proven very efficient in reducing the development of diseases in many species including strawberry (*Fragaria x ananassa*). Several studies suggest that UV-C radiation is effective not only because of its disinfecting effect but also because it may stimulate plant defenses. This study involved to apply UV-C radiation during strawberry cultivation and to evaluate its impact on the plant growth, the quality of the produced fruits and the susceptibility to major plant diseases during the plant cultivation and during the fruit storage. UV-C treatments have an impact on the flowering initiation, on the fruit development and on its conservation. Flowering occurs earlier for UV-C treated plant and consequently more fruits are produced at harvest despite a slight

decrease in leaf area. UV-C treatments did not improve the shelf life but did not alter the physical integrity of strawberry fruits. A strong decrease in sensitivity of leaves to powdery mildew and fruits to *Rhizopus* was also noticed for the UV-C treated plants.

Keywords: strawberry, UV-C, pre-post-harvest, phytopathology, quality

## 2. Introduction

Strawberry is a very popular fruit appreciated by consumers because of its sensory characteristics. Moreover, strawberries are one of the richest source of natural antioxydants and thus it has a high beneficial power on human health (Hannum, 2004). However, many microorganisms, including fungi, are very damaging for plant crops and also for the storage of plant products in post-harvest. Yields can be largely affected by these fungal attacks and strawberries are subjected to rapid degradation affecting fruit flavor (Perkins-Veazie, 1995). Restrictions on the use of synthetic fungicides make it necessary to find alternative phytosanitary solutions wich aim more at stimulating plant defense or their organs rather than destroying infectious agent. Among these solutions, physical methods applied before or after harvest can improve the resistance of plants to pathogens and can increase the synthesis of vitamins, micronutrients and secondary metabolites of fruit (Poiroux-Gonord *et al.*, 2010). Among these physical methods, application of non-deleterious low doses of ultraviolet-C (UV-C) radiation on fruits and vegetables during cultivation or post-harvest creates a moderate oxidative stress in plants that can increase the resistance to phytopathogenic agents (Charles *et al.*, 2008; Ouhibi *et al.*, 2015a,b; Vasquez *et al.*, 2017) and improve the nutritional quality of the product (Mercier *et al.*, 2001). For instance, it can induce partial resistance to the plant pathogenic fungus *Botrytis cinerea* on carrots, lettuce and tomatoes in postharvest (Charles *et al.*, 2008; Mercier *et al.*, 1993a,b; Ouhibi *et al.*, 2015a,b).

Application of UV-C radiation on plant organs induces defense mechanisms, increasing for instance the chitinase content in mango and peach, or increasing key enzymes such as SOD (*Superoxide Dismutase*) or PAL (*Phenylalanine Ammonia-Lyase*) (El-Ghaouth *et al.*, 2003; Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2014). UV-C radiation applied in post-harvest also induces secondary metabolite modifications in mango, grapes and peaches compared to non-treated fruits (Freitas *et al.*, 2015; Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2004; Gonzalez-Aliguar *et al.*, 2001). UV-C treatments applied in post-harvest on strawberries have shown an increase of chitinase, PAL and antioxidant compounds (Erkan *et al.*, 2008; Mohammadi *et al.*, 2012; Pombo *et al.*, 2011). In addition to these compounds, UV-C radiation on strawberry fruits in post-harvest also causes variations in the activation of genes involved in the firmness of fruit thus allowing an improvement in the shelf life and in the production of volatile compounds giving strongly aromatic fruits (Severo *et al.*, 2015). These volatile compounds thus bring a taste interest and also play a role in the defenses of plants against pathogen.

In post-harvest, UV-C treatments are widely studied. However, very few studies have been carried out to evaluate the link between the treatment of plants during its cultivation with UV-C radiation and the quality of fruits produced. In general, studies on UV-C treatments applied during plant growth are focused on their impact on the resistance of plant vegetative organs to pathogens (Obande *et al.*, 2011). However, it is important to verify that the improvement of plant resistance by UV-C treatments does not negatively impact the yield or the quality of fruits at the harvest.

In this work, we applied UV-C radiation (254 nm) on strawberry plants during their cultivation. The aim of this study was to evaluate the effect of these UV-C treatments (i) on the resistance of leaves and of fruits to the major plant pathogens of strawberry, (ii) on the vegetative growth and the yield of the plants and (iii) on the quality of strawberry fruits after harvest.

## II. Material and methods

### 1. Plant material

The Candiss cultivar was created by the Ciref (*centre inter-régional de recherche et d'expérimentation de la fraise*). This strawberry cultivar is a non-remontant plant with very aromatic fruits easily recognizable thanks to its very characteristic conical shape and marked golden achenes. This experiment was carried out twice: one in 2017 and another one in 2018.

Strawberry plants (300 "trayplants", supplied by the Martailac nursery, Sainte-Marthe, France) were placed in a greenhouse pot at the end of February 2017/2018 (INRA, Montfavet, France) in a mixture of substrate: 60 % compost of TS3 type (Code of Practice) with fine granulometry and 40 % of pine bark. Fertilization and irrigation were done daily by metering pumps and drip. All seedlings were randomized and were grown for 3 months (from planting to harvesting the first commercially mature fruits).

The fruits were harvested at the beginning of May 2017/2018 when they reached the stage of commercial maturity.

### 2. UV-C treatments

The device used during treatments is an UV-C enclosure with a luminous ceiling with 9 UV-C lamps (DSP UV-C tube, OSRAM HNL, 24 W). The measurement of spectrum (by an UV sensor, OSI UV-20 TO-8 photodiode) confirmed a major peak at 254 nm. Four plants were processed at the same time in the box at a distance of 40 cm from the UV-C lamps.

The dose rate was calculated with light intensity and exposure time. Light intensity measurements were performed with a radiometer positioned at 40 cm from the ceiling light.

The UV-C dose selected was 1.70 kJ/m<sup>2</sup> (*ie* a treatment time of 4 min 08 sec). Strawberry plants were treated once a week. Several mode of application were tested:

- Before flowering “Av” (1 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> = 1.70 kJ/m<sup>2</sup>),
- After flowering “Ap” (5 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> = 8.50 kJ/m<sup>2</sup>),
- During all the growth “Pdt” (6 x 1.70 kJ/m<sup>2</sup> = 10.20 kJ/m<sup>2</sup>).

Strawberry plants without any UV-C treatment were the control group “T”. There were 47 strawberry plants per modality. Following each irradiation, the treated plants were kept in the dark during 6 hours.

### 3. Chlorophyll a fluorescence

In order to characterize the impacts of UV-C treatments on photosystems, chlorophyll a fluorescence was measured and parameters of the OJIP method were calculated (Annexe 2; Sirbet and Govindge, 2011). The objective was to identify the frequency of application of UV-C that was not deleterious for the plant.

The chlorophyll a fluorescence was measured each harvest day, with a fluorimeter (Pocket-PEA). All measurements were made every morning on non-senescent and fully developed leaves. A highlight pulse (3000 μmol/m<sup>2</sup>/s) was sent on leaves after they underwent a dark adaptation for 30 min with clamps placed on the leaf limb. This period of dark adaptation allowed the electron acceptor of photosystem II (*PSII*) to be re-oxidized gradually until all of PSII reaction centers are able to redo photochemistry. This allows for the quantification of the flow of electrons that takes place in the photosynthetic machinery.

#### 4. Plant growth and production phase

In order to characterize the strawberry plant growth, the number of leaves before the first UV-C treatment (*ie* 15 days after planting the trayplants) and at harvest (after 8 weeks of growth) was counted at harvest, leaf area was also measured.

For the fruit production phase, counting of buds, flowers and green/turning/mature fruits was carried out each week (from flowering to harvest day, which gives an enumeration of 6 consecutive weeks). These data gave information about the impact of UV-C treatments on flowering, on fruit production and on plant yield at harvest.

#### 5. Fungus material and pathological tests on leaves and fruits

*Botrytis cinerea* (strain Bc1) was used in this study to artificially inoculate leaves and fruits. For pathological tests on leaves, strains were grown 3 days on PDA medium (*Potato Dextrose Agar*, 39 g/L, Sigma-Aldrich) and at 21°C (16 h of day and 8 h in dark). Mycelial plug of 0.5 cm diameter were used as inoculum and deposited on the central veins of leaves. Lesions are monitored for one week by taking pictures and measuring lesion areas with ImageJ software. The area under the disease progress curve (*AUDPC*) was calculated to determine the level of sensitivity of the strawberry plants.

Fruits were inoculated by a spore suspension of Bc1 at 10<sup>6</sup> spores/mL. 10 µL was spot inoculated into wounds on the epidermal surface. The inoculated fruits were stored in plastic boxes at 21°C and 60 % of relative humidity. The disease development was estimated by counting the number of contaminated fruits and by taking pictures for 5 days after inoculation and calculated the fruit lesion area by using ImageJ software.

A natural powdery mildew infection occurred during the fruit production in the greenhouse a few days before mature fruits were harvested. As a result, the total number of leaves and the number of leaves with visible symptoms of powdery mildew were counted and the percentage of infected leaves per plant was computed. In addition, a natural infection with *B. cinerea* and with *Rhizopus* sp. occurred during the postharvest storage of fruits. Therefore, the number of fruits affected by these fungi was counted and the percentage of infected fruits was computed.

## 6. Quality analysis of fruits during postharvest storage

Firmness and color of fruits were estimated after harvest (D0) and after 2 and 4 days of storage at 21°C.

Fruit firmness was carried out on the domed part of strawberry thanks to a penetration probe (5 mm diameter). The force required for the probe to penetrate the fruit was measured by a Penefel texture analyser (Setop Giraud-Technologie, France). Firmness was reported as force in newtons (N).

Fruit color was measured thanks to a chromameter (CR-400, Minolta). The apparatus was calibrated with a white reference plate and the parameters L\*, a\* and b\* were measured.

In order to evaluate consumer preferences, taste tests were carried out on harvested strawberry fruits. A panel of 30 consumers tasted strawberry fruits from plants undergoing the various UV-C treatments tested. Consumers tasted blind and had to indicate their preferences and taste criteria (such as acidity, sweetness or texture in the mouth).

## 7. Statistics

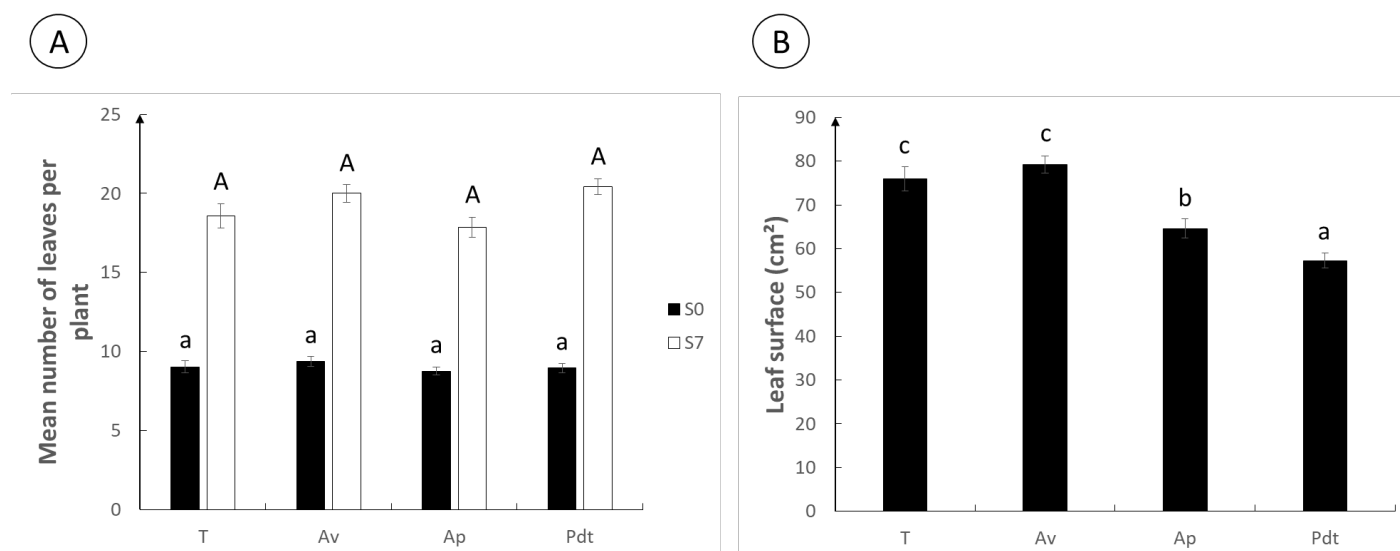
All statistical analyzes were performed with the software Statistica. Firstly, analysis of data normality were performed using Shapiro test. If the data were normal, an analysis of variance (*ANOVA*) was performed. In the case of significant effect of the test factor, a comparison of mean were made thanks to Duncan test or Newman-Keuls test (*NKT*). On the contrary, if data were not Gaussian, non-parametric tests were used such as Kruskal-Wallis test. For each test, a constraint of p-value < 0.05 was provided.



### III. Results

#### 1. Impact of UV-C treatments on strawberry plant development

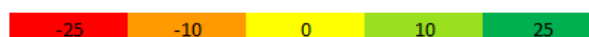
In order to evaluate the effect of UV-C treatment on the vegetative growth of the strawberry plants, the number of leaves before the first UV-C treatment and at harvest, 8 weeks after plantation, was counted. Plant growth was homogeneous before the first UV-C treatment (Figure 34-A). At harvest, no significant difference in the number of leaves was observed. However, leaf area was significantly smaller in the plants treated after flowering (Ap and Pdt) compared to the non-treated plants (T) and the plants treated once before flowering (Av) (Figure 34-B).



**Figure 34: Number of leaves per plant before UV-C treatments (S0) and after UV-C treatments, at harvest (S7), and measurement of leaf area at harvest.** “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment realized throughout the crop. (A) Count of leaves was done few hours before the first UV-C treatments, after 15 days of plant growth (S0) and at harvest (S7), after the successive UV-C treatments. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities just before the first UV-C treatment (standard errors, Newman-Keuls,  $p < 0.05$ ). The letters in upper case indicate significant differences identified between modalities at the harvest day, after the application of the totality of UV-C treatment (standard errors, Newman-Keuls,  $p < 0.05$ ). (B) Leaf surface was measured at harvest day. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT,  $p$ -value  $< 0.05$ ).

The fluorescence of chlorophyll a was measured in order to verify that UV-C treatments are not harmful for the proper functioning of the plant's photosystem (Figure 35). Here, we show that the successive application of UV-C doses did not cause any major damage to the photosynthetic apparatus of strawberry plants. Looking more closely, we can observe that the measured parameters associated with the fluorescence of chlorophyll a increased for plants treated before flowering (Av) and decreased for plants treated after flowering (Ap) or during the cultivation (Pdt), compared to the non-treated group (T).

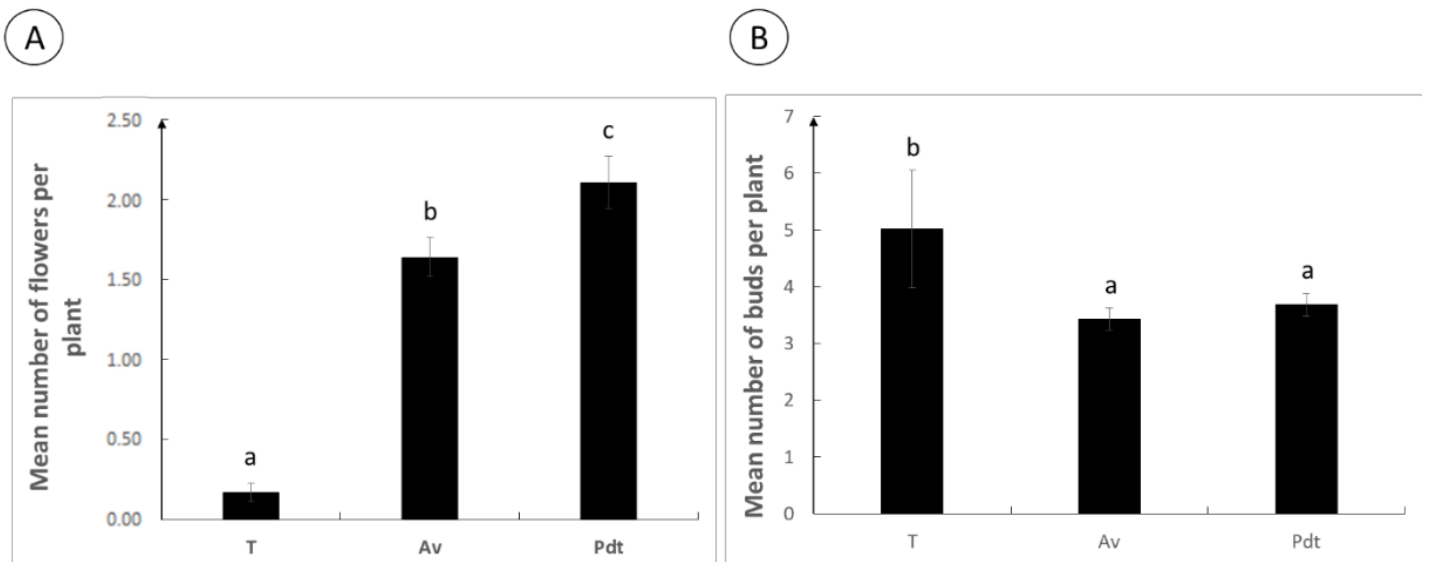
AUFC	Av	Ap	Pdt
Area	<b>21.63</b>	-16.86	-11.90
F0	0.95	<b>-11.64</b>	<b>-10.57</b>
Fm	-0.18	<b>-13.01</b>	<b>-15.81</b>
Fv	-0.40	<b>-13.28</b>	<b>-16.83</b>
F0 / Fm	1.56	1.71	<b>6.38</b>
Fv / Fm	-0.30	-0.33	<b>-1.24</b>
Fv / F0	-1.35	-1.83	<b>-7.15</b>
Sm	<b>14.85</b>	-4.82	5.53
N	10.91	-10.79	-0.22
ABS / RC	<b>-5.15</b>	<b>-6.08</b>	<b>-4.09</b>
Di0 / RC	-3.69	-4.06	1.77
TR0 / RC	<b>-5.43</b>	<b>-6.48</b>	<b>-5.24</b>
Et0 / RC	<b>-7.58</b>	<b>-7.09</b>	<b>-4.89</b>
Re0 / RC	<b>-4.16</b>	<b>-10.54</b>	<b>-4.83</b>
Pi total	7.08	-1.60	-1.52
(1-Vi) / (1-Vj)	<b>3.23</b>	<b>-3.48</b>	0.20
1 - (F4/Fm)	<b>-2.97</b>	-0.78	-0.90
Vk / Vj	<b>-9.66</b>	<b>-7.60</b>	<b>-4.29</b>



**Figure 35: Relative fluorescence of chlorophyll a of strawberry plant at the harvest day.** The group “Av” corresponds to UV-C treatment before flowering, the group “Ap” corresponds to UV-C treatment after flowering and the group “Pdt” corresponds to UV-C treatment during all cultivation phase. Values represented AUFC (*Area Under Fluorescence Curve*) values: data represent difference percentages between each group treated with UV-C and the control group having no undergone any UV-C treatment. A color scale is provided, ranging from red (negative effect of UV-C radiation) to green (positive effect of UV-C radiation). Values in bold and underlined mean significant difference (NKT, p-value < 0.05).

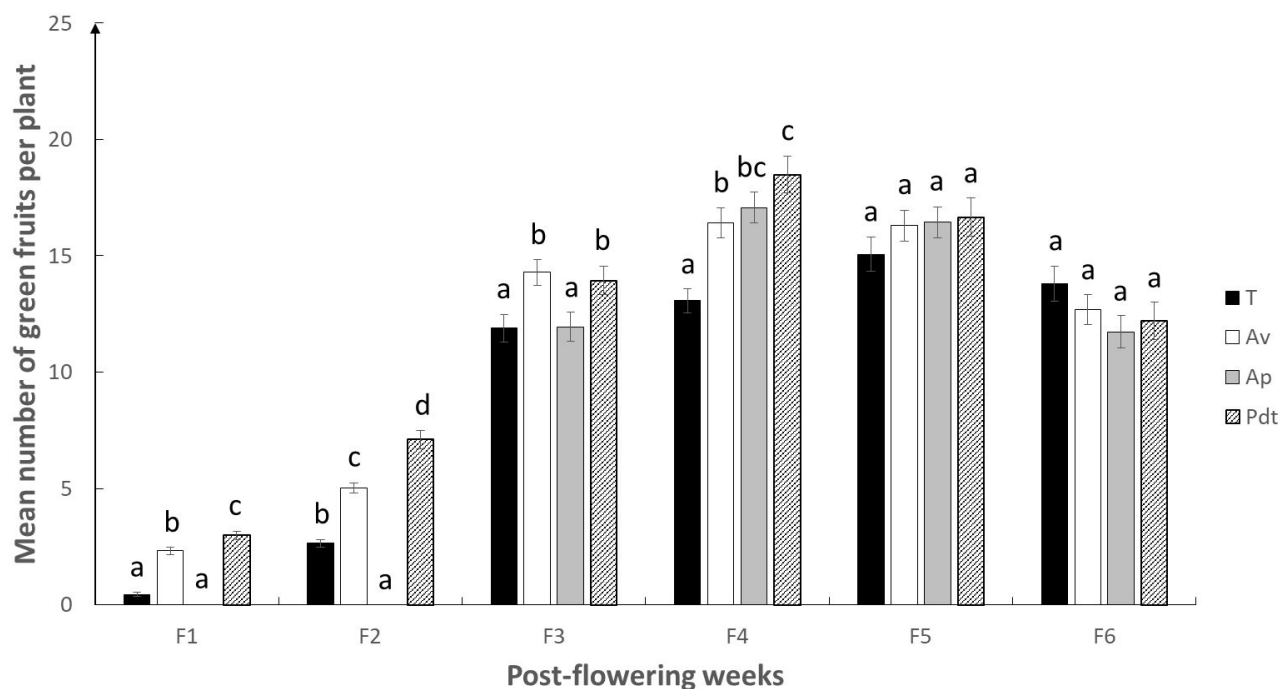
## 2. Impact of UV-C treatments on strawberry fruit development

The number of flowers was significantly higher for strawberry plants that have received UV-C treatment (1.5 to 2 flowers per plant depending on the treatment), compared to the plants that have not been treated with UV-C (0.25 flowers per plant for the control) (Figure 36-A). Conversely, at the same time, the number of buds was significantly lower in the UV-C treated plants compared to the non-treated plants. It suggests that buds have turned into flowers for the treated plants (Figure 36-B).



**Figure 36: Number of flowers and buds per plant on non-treated and on UV-C treated plants.** Strawberry plants were treated after 15 days of cultivation with a UV-C dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. “T” corresponds to the control group without UV-C treatment, “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation. One week after the first UV-C treatment, the number of flowers (A) and the number of buds (B) per strawberry plant were counted. Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

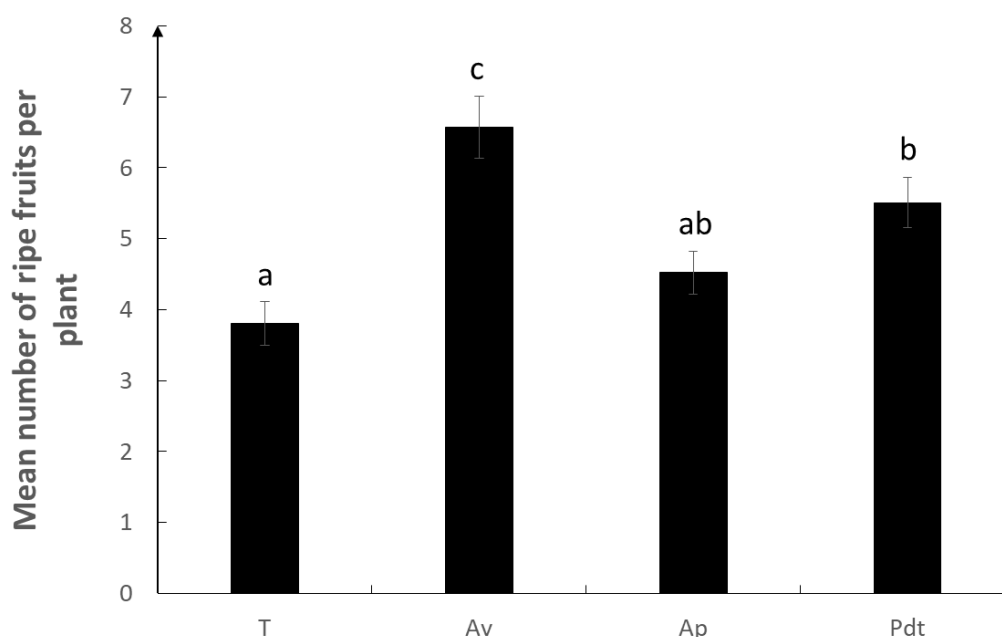
Subsequently, green fruits were counted each week until harvest (Figure 37). The number of green fruits per plant was greater in plants that have received UV-C treatments (Av and Pdt modalities) compared to non-treated plants (T), up to 4 weeks after the end of flowering. From 5 weeks after the end of flowering, the number of green fruits produced per plant is similar in all modalities.



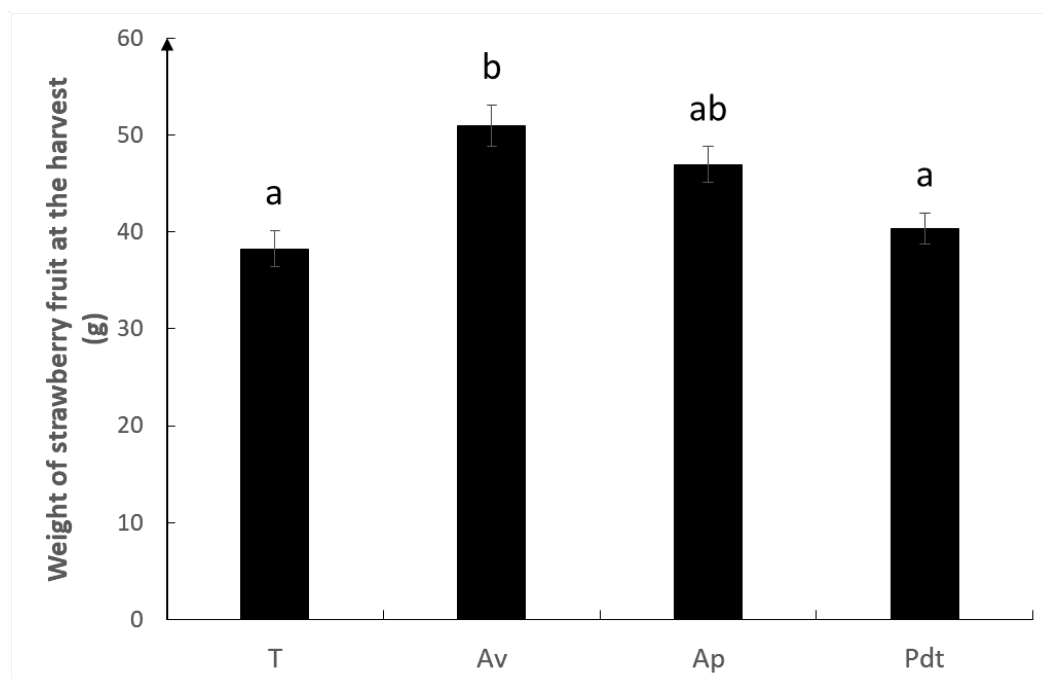
**Figure 37: Mean number of green fruits produced per strawberry plant during the cultivation.** “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment applied after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all cultivation phase. Count was made during 6 weeks just after flowering (post-flowering weeks = F). Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

Yield was estimated by counting the number of ripe fruits per plant at the day of harvest (Figure 38). The amount of ripe fruits was significantly higher for

the plants treated with UV-C before flowering (Av) or during all the cultivation process (Pdt) compared to the non-treated plants (T). The number of mature fruits produced is even twice as large as on the control group. Moreover, UV-C treatment realized before flowering (Av) increased significantly the weight of fruit compared to the non-treated plants (T) and the plants treated after flowering (Ap) (Figure 39). It suggests that the treatment of strawberry plants before flowering has an effect on the development of their fruits.



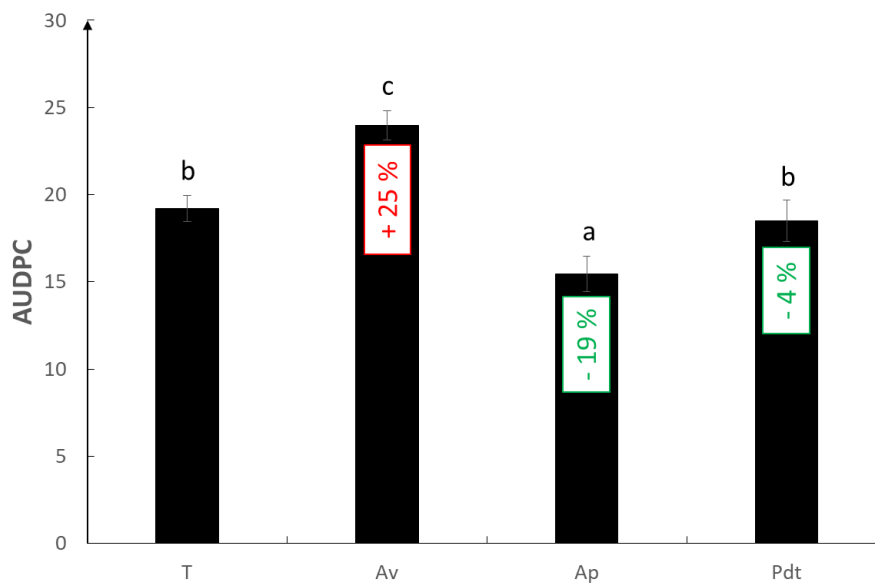
**Figure 38: Number of ripped fruits per strawberry plant at harvest.** The harvest day was carried out one week after the last UV-C treatment with UV-C dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment). “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering and strawberry plants belonging to this modality received only one UV-C dose (1.70 kJ/m<sup>2</sup>). “Ap” corresponds to UV-C treatment applied after flowering and strawberry plants belonging to this modality received 5 doses of UV-C radiations (in total 8.50 kJ/m<sup>2</sup>). “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation and strawberry plants belonging to this modality received 6 doses of UV-C radiations (in total 10.20 kJ/m<sup>2</sup>). Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05).



**Figure 39: Weight of strawberry fruit at harvest.** The harvest day was carried out one week after the last UV-C treatment. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment). “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering and strawberry plants belonging to this modality received only one UV-C dose (1.70 kJ/m<sup>2</sup>). “Ap” corresponds to UV-C treatment applied after flowering and strawberry plants belonging to this modality received 5 doses of UV-C radiations (in total 8.50 kJ/m<sup>2</sup>). “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all cultivation phase and strawberry plants belonging to this modality received 6 doses of UV-C radiations (in total 10.20 kJ/m<sup>2</sup>). Lower case letters indicate significant differences between different modalities tested (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

### 3. Impact of UV-C treatments on strawberry sensitivity (leaves and fruits) to *B. cinerea*

Pathogenicity tests of *B. cinerea* on detached leaves of strawberry collected at harvest revealed a significant reduction in the susceptibility to the plant pathogen (19 %) for the plants that have been treated with UV-C after flowering (Ap). For plants treated before flowering, the sensitivity against *B. cinerea* significantly increased by 25 % compared to the non-treated control plants (Figure 40).



**Figure 40: Susceptibility of strawberry leaves to *B. cinerea*.** “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation. Inoculations were made after UV-C treatments by depositing a mycelial plug of *B. cinerea* on the main vein of detached leaves. Surface of necrosis was measured daily for 6 days in order to calculate the AUDPC. Percentages indicated in red or green correspond to percentage of protection of strawberry plants against *B. cinerea* compared to the control group. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value < 0.01).



The test of sensitivity of strawberry fruits to *B. cinerea* revealed no difference between fruits collected from UV-C treated or from non-treated plants (Figure 41).

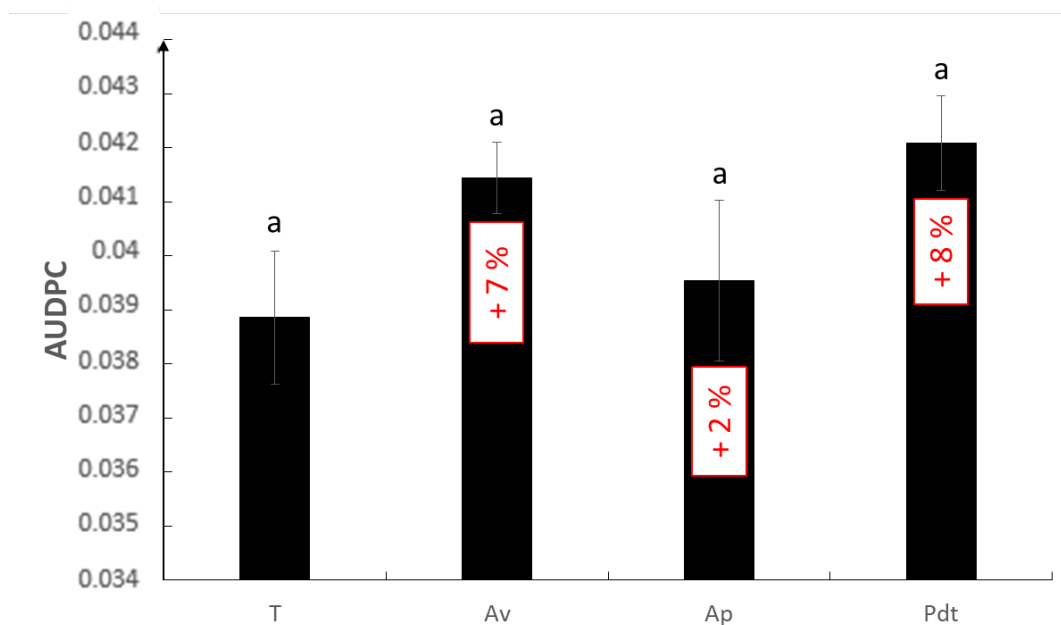


Figure 41: **Susceptibility of strawberry fruits to *B. cinerea*.** “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment applied after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation process. All strawberry fruits were harvested at commercial maturity and inoculation was carried out by depositing a drop of spore suspension of *B. cinerea* dosed at  $10^6$  spore/mL, after wounding the tip of the fruit. Measurement of necrosis width was done daily for 4 days in order to calculate AUDPC. Percentages indicated in red correspond to sensitivity rate of strawberry fruits compared to the control group. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value = 0.05).

#### 4. Impact of UV-C treatments on strawberry sensitivity (leaves and fruits) to natural infections

Natural and spontaneous powdery mildew infection (*Podosphaera aphanis*) occurred a few days before harvest. We evaluated the level of strawberry resistance against this biotroph by counting attacked leaves (Figure 42). UV-C treatment, whatever the time of application significantly decreased by 51 %, 59 % and 75 % the susceptibility of strawberry plants against the powdery mildew in Av, Ap and Pdt treatments respectively.

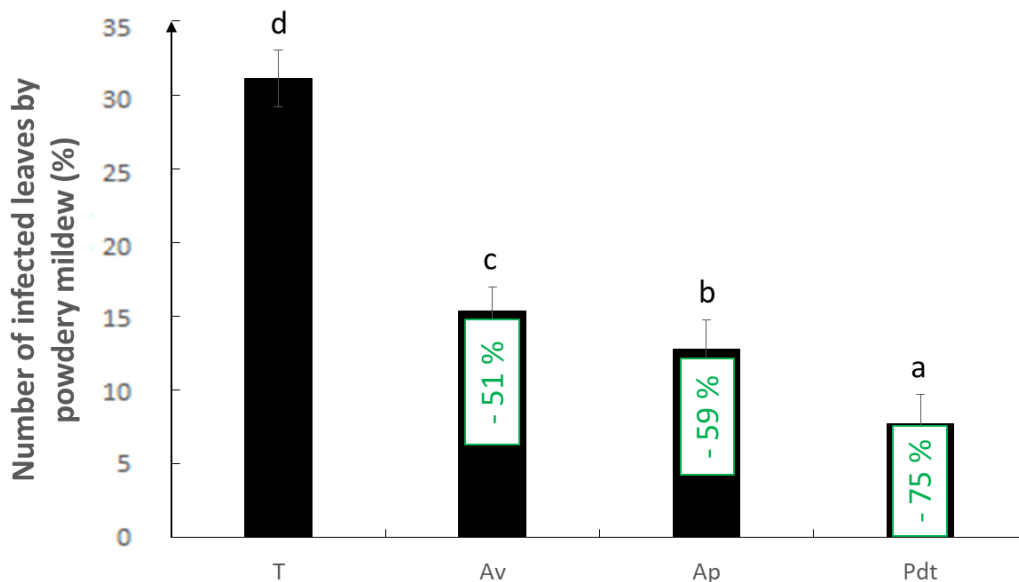
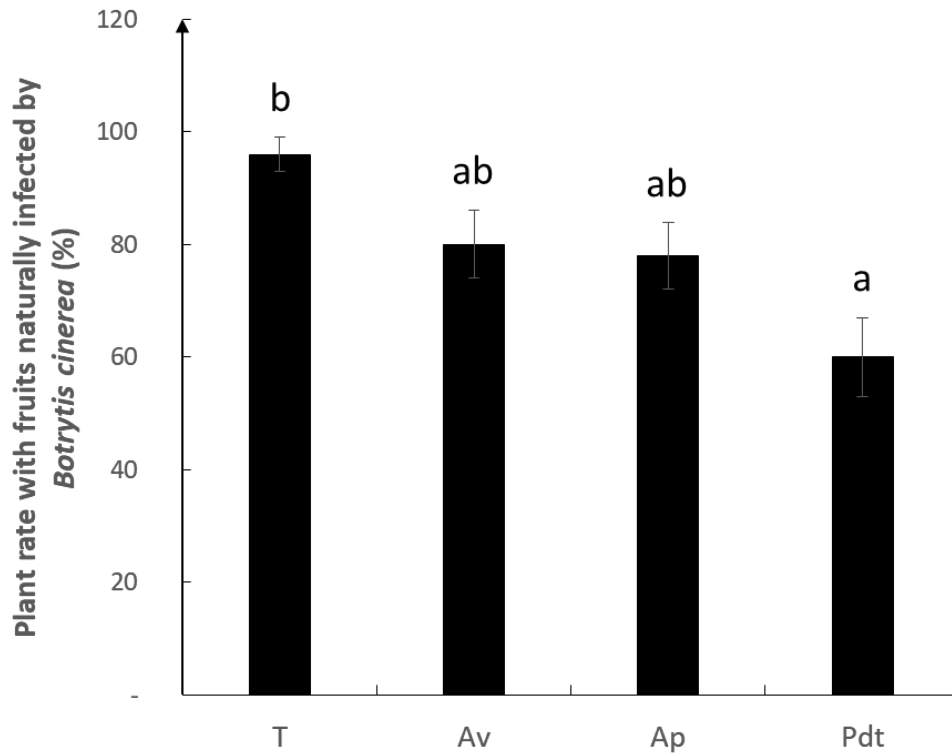


Figure 42: Susceptibility of strawberry leaves to powdery mildew. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment during all cultivation phase. Amount of leaves with symptoms was estimated by appearance of powdery and whitish leaf spots. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value < 0.0001).

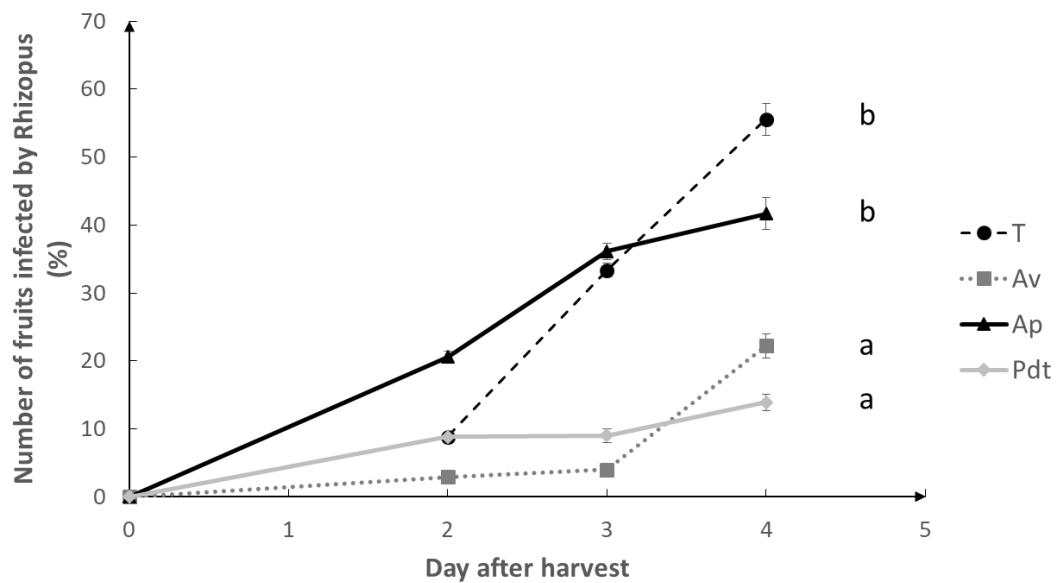
At the harvest, some strawberry fruits were infected naturally by *B. cinerea* (Figure 43). Strawberry plants treated with UV-C had less infected strawberry fruits, suggesting that UV-C treatments have an impact on the sensitivity of strawberry fruit at the harvest.



**Figure 43:** Percentage of plants with fruits naturally infected by *Botrytis cinerea*. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation process. The presence or absence of *B. cinerea* on strawberry fruit was evaluated and the percentage of infected fruits was calculated. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors,  $\text{Khi}^2$  test,  $p\text{-value} < 0.05$ ).

Moreover, during the storage at 21°C, strawberry fruits were also naturally infected by *Rhizopus* sp. (Figure 44).

The results showed a decrease in the sensitivity of strawberry fruits to *Rhizopus* when UV-C radiation were applied before flowering and during the course of plant cultivation.

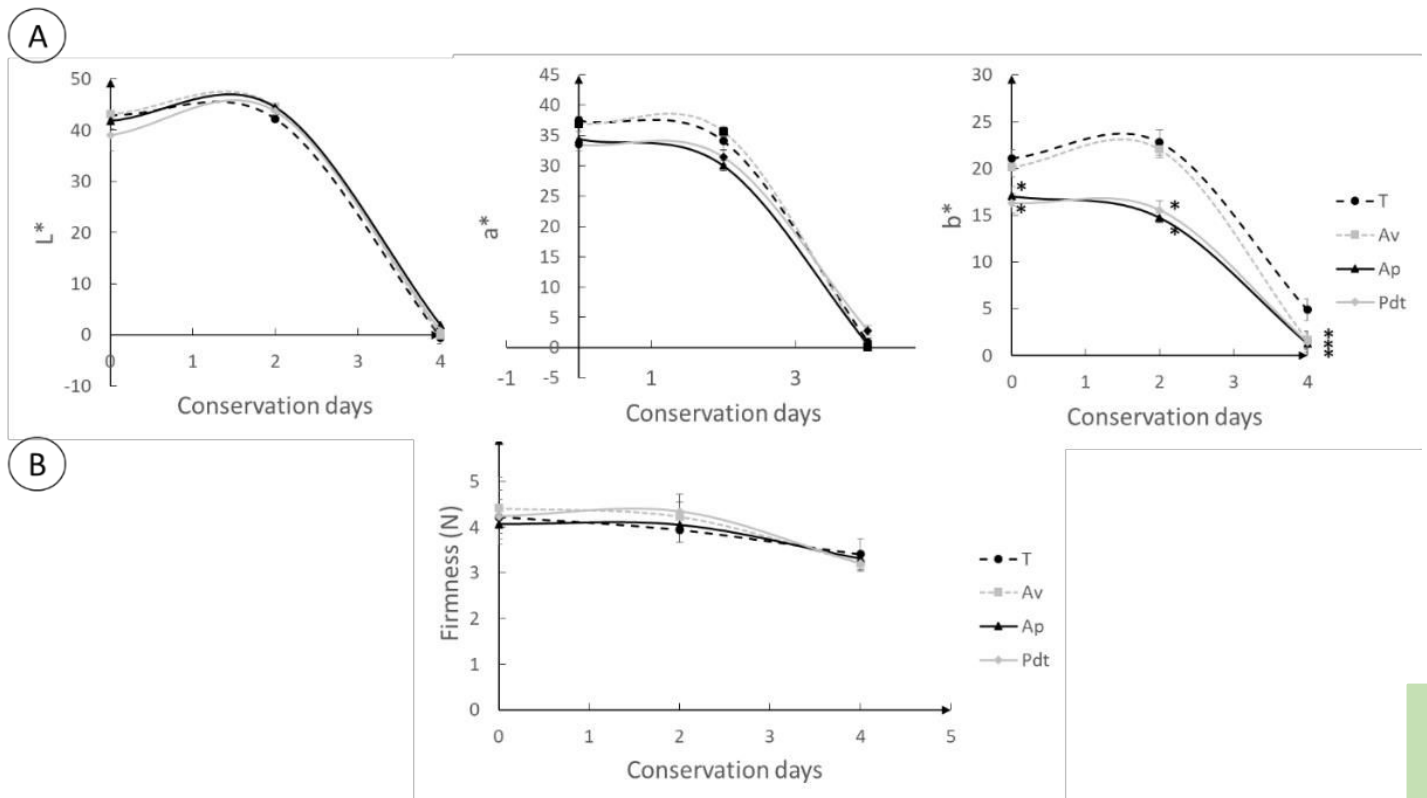


**Figure 44: Susceptibility of strawberry fruits to *Rhizopus* sp. during fruit storage at 21°C.** “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during all the cultivation process. All ripe fruits were harvested and then stored for 5 days at 21 °C in the dark. A follow-up of fruits infected with *Rhizopus* sp. was carried out every day and the percentage of infected fruits was calculated. Lower case letters indicate significant differences identified between modalities (standard errors, NKT, p-value < 0.05).

### 5. Impact of UV-C treatments on fruit quality

The color and the firmness of strawberry fruits were analyzed (Figure 45). During the storage, all samples (control and treated) showed the same behavior: strawberry became less bright ( $L^*$  values decreased, Figure 45-A) and lose their intense red color ( $a^*$  and  $b^*$  values decreased, Figure 45-A). A significant difference was observed for the  $b^*$  value, showing that plants treated after flowering and during all the cultivation phase induced fruits with a more brown color.

The firmness lightly decreased during the storage for all the samples (Figure 45-B).



**Figure 45: Evolution of color and firmness of strawberry stored at 21 °C during 4 days.** “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during cultivation. (A) Color measurements were carried out with a colorimeter. Values  $L^*a^*b^*$  have been reported. The (\*) shows statistical differences between modalities (NKT,  $p$ -value < 0.05). (B) Firmness measurements were carried out thanks to penetration probe. No statistical difference was found (standard errors, NKT,  $p$ -value < 0.05).

Sensory evaluation was carried out by conducting blind tests (Figure 46). The panel appreciated in the same way both control (47 %) and all UV-C treated fruits (53 %).

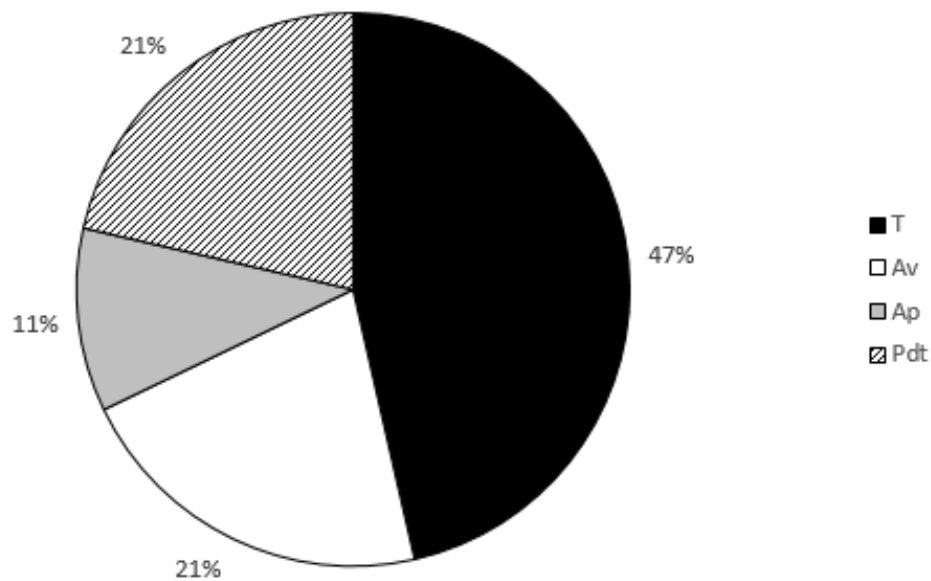


Figure 46: Consumer preferences for strawberry fruits. Sensory tests were conducted one day after harvest of all ripe fruits. A panel of 30 consumers tasted fruits by blind tests. “T” corresponds to the control group (without UV-C treatment), “Av” corresponds to UV-C treatment realized before flowering, “Ap” corresponds to UV-C treatment realized after flowering and “Pdt” corresponds to UV-C treatment applied during cultivation.

## IV. Discussion

This study investigated the impact of UV-C treatment applied during the cultivation of strawberry on the plant growth, the sensitivity of leaves and fruits to major plant pathogens and the fruit quality after harvest.

One striking result concerns the rate of flowering of strawberry plants between non-treated and UV-C treated plants. Flowering occurred earlier when strawberry plants receive UV-C treatments. This fact is consistent with two studies conducted by Darras *et al.* (2012 and 2015), which demonstrated that the application of short UV-C radiation improved flowering and even increased the biomass of geranium plants. Early flowering was also observed in strawberry treated by low-dose of UV-C in pre-harvest and this could be related to change in phytohormone profile (Xu *et al.*, 2017). There is a potential link between fruits yield, quality parameters and phytohormonal changes in preharvest UV-C strawberry (Xu *et al.*, 2017). If flowering happens earlier, the production cycle can be done faster as shown in our study. Thus, larger amounts of ripe fruit at harvest, especially for the strawberry plants treated before flowering, have been observed. Indeed, strawberry fruits continue their maturation process so the green fruits will give turning fruits. Strawberry fruit amount decreasing slightly suggests that a new initiation of flowering took place giving a new cycle of ripening of fruits produced. These results confirm that UV-C radiation can induce a high irradiance response that encourages plant growth or development of fruit (Taiz and Zeiger, 1998).

Crop quality is correlated with the accumulation of direct or indirect solar radiation, which is absorbed by the leaves and is dependent on the total area and number of leaves (Marcelis *et al.*, 1998). In this study, we did not highlight significant differences in the number of leaves per plant between non-treated and UV-C treated plants.

A slight decrease in leaf area was observed for plants treated with UV-C. This result was in line with the work of Darras *et al.* (2012). It suggests that UV-C



radiation was powerful enough to give maximum benefits and plant does not need to expand its leaf area in order to capture more light radiation.

In addition, the analysis of chlorophyll a fluorescence makes it possible to apprehend the potential damage caused by repeated and successive UV-C treatments. And in this study, we demonstrated that successive UV-C dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup> did not damage the photosynthesis pathway. But, these same data may indicate that the repetition of UV-C treatments may improve the desired effect of UV-C radiation, that is to say the stimulation of plant defenses. Indeed, we saw that plants treated during the cultivation (Pdt) were less sensitive than the group treated before flowering (Av) having received a single dose of UV-C. The solution would be to find a threshold application to improve plant resistance without damaging the photosynthetic system of plants.

Leaves and fruits of strawberry are very sensitive to pathogens causing considerable damage. A large number of previous studies have demonstrated that UV-C radiation applied in postharvest elicits plant defense responses (Terry and Joyce, 2004). This study investigated the impact of pre-harvest UV-C treatment on the susceptibility of strawberry plants and fruits. During the growth, UV-C treatment applied after flowering significantly decreased by 19 % the susceptibility of the strawberry leaves to *B. cinerea*. Plants treated with UV-C radiations greatly reduced the susceptibility of strawberry plants to powdery mildew (from 51 to 75 % of protection). These results demonstrated that UV-C treatments induced both a direct germicidal effect on the fungus and also an hormetic effect. Indeed, the decrease of susceptibility in strawberry plants treated by UV-C after flowering and during all the cultivation phase indicated that UV-C treatments had a direct germicidal effect on the fungus. The decrease in the susceptibility of strawberry plants that have received UV-C only before flowering demonstrated the hormetic response of the plant, it means the stimulation of a beneficial plant response.

Plants treated with UV-C had significantly less naturally infected fruits to *Rhizopus* sp. and *B. cinerea*, demonstrating a potential link between pre- and post-harvest. However, after inoculation, we could not observe the effect of UV-C

treatments on the development of *B. cinerea*. The inoculation method of the fruit could be too invasive so that *B. cinerea* grows too quickly on strawberry fruits, and we could not identify potential differences in susceptibility. Indeed, due to the high sugar content and the fragile flesh, strawberry fruits are a good vector for contamination.

The sensory and physical quality of strawberry fruits were followed after harvest and during 4 days of storage at 21 °C. Color and firmness are widely used to monitor post-harvest fruit quality and are very well known to be involved in complex maturation processes and therefore in many physiological mechanisms (Gunniss *et al.*, 2009). UV-C treatments did not alter the physical integrity of strawberry fruits, and did not improve the shelf life. In this study, there was no difference of firmness change between fruits control and from plants treated by UV-C (from 1.7 to 10.20 kJ/m<sup>2</sup>). This result is in contradiction with a previous study (Xie *et al.*, 2016) that showed that UV-C treatments (3.6 kJ/m<sup>2</sup>) improved the firmness of post-harvest strawberry fruits after preharvest treatment. They also indicated that cultivar and season played a more important role in influencing fruit quality than pre-harvest UV-C treatment. When treatment are applied after flowering and during all the cultivation phase, strawberries were browner. Other studies have shown that UV-C radiation applied to plants during their cultivation had an impact on the color of post-harvest strawberry fruits. Xie *et al.* (2016), have observed a significantly higher value for a\*, the redness. In the case of strawberry fruits, this parameters generally indicates an increase in the anthocyanin content and is therefore a marker of the progress of ripening of fruit. However, Xie *et al.* (2015) didn't observe any effect of pre-harvest UV-C on anthocyanin content in strawberry fruits. Obande *et al.* (2011) demonstrated a delay in the red color of tomato fruit when UV-C treatments are applied to crops emphasizing the contrasted results for color.

We also conducted blind tests with a panel of 30 consumers to estimate the sensorial quality of fruits. This study highlighted that UV-C treatment during pre-harvest did not change the taste of fruits compared to the control.

To conclude, pre-harvest UV-C treatments had a significant effect on growth and quality crop of strawberry plants and reduce the natural infections of pathogens such as powdery mildew on leaves. The impact on fruit quality on post-harvest was not significant but there was a significant reduction of natural infection, such as *Rhizopus* sp. on fruits in post-harvest.

However, it is difficult to find only one UV-C treatment which can be optimal for all parameters measured such as resistance of plant or fruit, or fruit quality. Indeed, if we look at plant growth and fruit production, it is better to apply UV-C treatments before flowering to increase flowering and plant yield. If we look at the results obtained on the pathological tests with *B. cinerea*, it is better to apply UV-C after flowering to reduce the susceptibility of leaves.

Besides, UV-C treatments applied in pre-harvest seem to be promising in terms of crop quality but further evaluation are needed to find optimal UV-C treatments that can have also an impact on strawberry fruits.



## Chapitre IV

Impact des radiations UV-C en pré-récolte sur la sensibilité des plants de tomate à *Botrytis cinerea* et sur la qualité/conservation des fruits en post-récolte

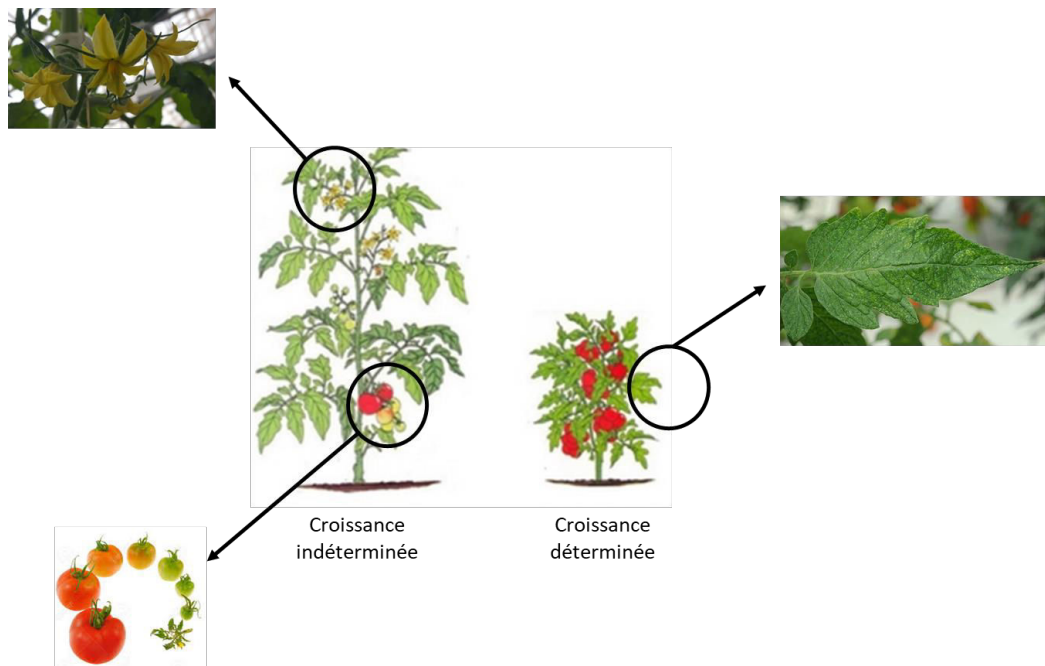
## I. Modèle végétal : la tomate

### 1. La plante

La tomate (*Solanum lycopersicum* L.) appartient à la famille des solanacées qui regroupe plus de 3000 espèces. La tomate est une plante herbacée pérenne (dans des conditions climatiques adaptées) mais elle est cultivée comme une plante annuelle. Originaires des Andes péruviennes, la tomate a vraisemblablement été domestiquée pour la première fois au Mexique, puis sa culture s'est développée en Europe suite à l'arrivée des « conquistadores » (Petit, 2013).

Le développement végétatif (Figure 47) se caractérise par une architecture sympodiale (par « étage »). Selon le modèle de croissance de la plante, les tomates peuvent être classées en deux grands groupes selon le schéma de développement de la tige principale. Nous parlons de plante à croissance indéterminée ou déterminée (Atherton et Harris, 1986). Chez les variétés à croissance déterminée, la fonction végétative sur chaque tige s'arrête précocement (entre le premier et le cinquième bouquet). Chaque tige se terminant par un bouquet floral, la croissance continue sur les drageons auxiliaires faisant penser à la structure d'un buisson. Pour les variétés à croissance indéterminée, la plante produit une tige unique qui continue de croître lorsque les branches latérales sont supprimées. La plante peut donc croître indéfiniment. Ainsi, sur une même plante, des fruits d'âges différents coexistent en fonction des sympodes et sur un même bouquet. En effet, les fleurs de tomate (hermaphrodites et autofécondes) sont regroupées en inflorescence formant des grappes. De manière générale, les plantes à croissance déterminée sont utilisées dans les systèmes de culture au champ pour la production de tomates d'industrie et celles à croissance indéterminée sous serre pour la production de fruits frais.

La tomate possède sur ses feuilles et sur ses tiges des trichomes, qui sont des poils glandulaires sécrétant des substances de défenses (acylglycérols, sesquiterpènes) vis-à-vis d'un grand nombre de ravageurs et de maladies.



**Figure 47 : Développement et croissance des plants de tomate.** Les plants de tomate peuvent avoir une croissance indéterminée ou déterminée en structure de buisson. Les plants de tomate possèdent des inflorescences donnant des grappes de fruits.

Si la plupart des cultures de tomates se pratiquent en plein champ, la production sous des serres en verre ou des tunnels recouverts de bâches en plastique est de plus en plus courante pour l'approvisionnement des marchés en fruits frais. Les cultures de tomates sous serre peuvent être maintenues pour une durée de 11 mois, contrairement aux cultures en plein champ qui durent 5 mois.

## 2. Le fruit

La tomate est l'un des fruits les plus importants dans le monde. C'est en fait le légume le plus cultivé et le deuxième pour la consommation humaine (FAO,

---

*organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture*, 2012). Elle contribue à la nutrition (Schuch, 1994) et à la santé humaine de par sa richesse en minéraux, vitamines, acides organiques, acides aminés et antioxydants tels que les caroténoïdes (Krinsky et Johnson, 2005). Il existe un large choix de variétés pouvant être utilisées dans de nombreux programme de sélection. Cette richesse perdue au bénéfice d'un productivisme accrue, revient à l'ordre du jour de par la demande des consommateurs.

Le fruit de la tomate est climactérique. La tomate est une baie composée d'un péricarpe charnu et une pulpe (placenta) qui renferme les graines (Figure 48). Son développement peut être subdivisé en trois phases (Gillaspy *et al.*, 1993). La première correspond à la phase de division cellulaire. Elle peut être plus ou moins longue, de 10 à 15 jours pour les variétés de type cerise et de 20 à 25 jours pour les variétés à gros calibre. Cette phase se caractérise par une importante activité mitotique notamment dans le péricarpe. La division cellulaire est suivie de l'expansion cellulaire et du développement de l'embryon contenu dans les graines allant de 25 à 30 jours selon les fruits. Pendant l'expansion cellulaire, l'importation des ressources carbonées est maximale et induit une entrée massive d'eau dans les cellules stimulant l'expansion de celles-ci. A la fin de l'expansion cellulaire, les graines sont arrivées à maturité et le fruit a quasiment atteint sa taille maximale, il est dit « vert mature ». La dernière phase de développement consiste en la maturation des fruits, déclenchée par une augmentation de la respiration du fruit et une augmentation de la synthèse d'éthylène. Cette phase dure 10 jours environ. Elle débute avec le changement de couleur du fruit passant par le stade « cassant », c'est-à-dire que le fruit a une couleur moitié verte et moitié orange. Puis les chloroplastes sont transformés en chromoplastes jusqu'à atteindre une couleur rouge uniforme, en raison de la forte présence de lycopène. Pendant la maturation, la teneur en sucres, acides et composés volatils du péricarpe varient généralement au profit d'un enrichissement en sucres, une diminution des acides et une augmentation de la synthèse des composés volatils aromatiques.



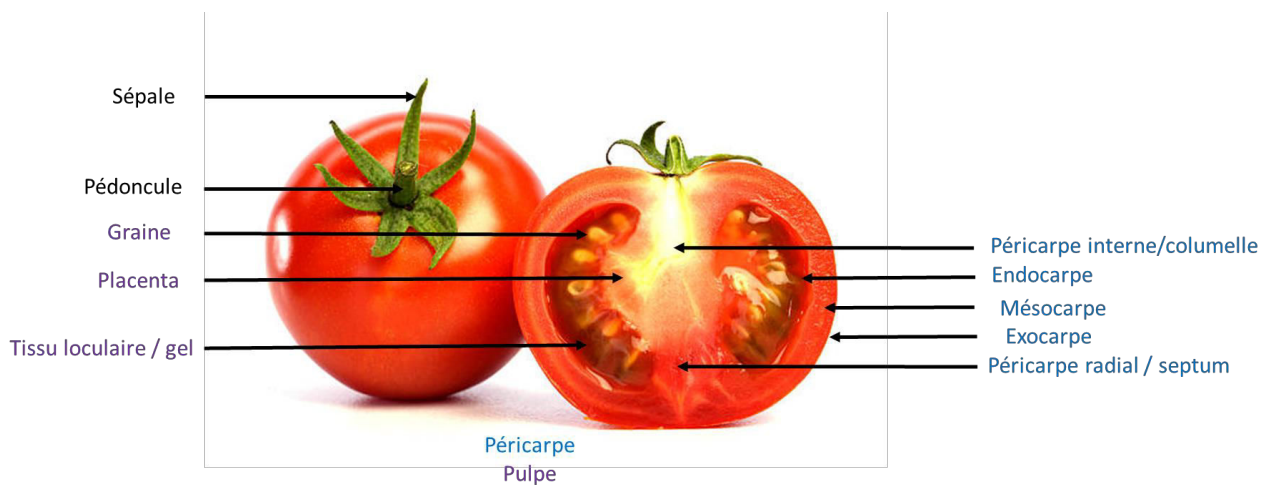


Figure 48 : Structure du fruit de tomate en coupe longitudinale. Les tomates sont des fruits charnus.

### 3. Sensibilité à *Botrytis cinerea*

La moisissure grise, causée par *B. cinerea*, est une maladie présente dans les cultures de tomate sous abris. Les symptômes observables sur fleurs, fruits, tiges, et feuilles se traduisent généralement par un pourrissement des tissus infectés, suivi par l'apparition d'un feutrage gris due à une production importante de spores (Figure 49 ; Sommer *et al.*, 1992). *B. cinerea* peut entraîner des pertes de rendement importantes en affaiblissant les plantes et en les détruisant (Williamson *et al.*, 2007). De plus, il n'existe pas de fongicide chimique homologué en post-récolte (Mari *et al.*, 1996) pour réduire les pertes causées par cette moisissure. La protection des plantes en cours de culture et la protection des fruits en post-récolte se font en général par l'application en pré-récolte de fongicide synthétique.



Figure 49 : Développement de *B. cinerea* sur tomate. Responsable de la pourriture grise, ce champignon nécrotrophe provoque des dégâts considérables sur la plante entière incluant les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits.

Les mêmes hypothèses testées sur fraisiers dans les chapitres précédents sont étudiées dans ce chapitre. Nous souhaitons tester l'hypothèse qu'il est possible de diminuer la sensibilité de la tomate (organe végétatif et fruits) à *B. cinerea* par l'application de doses hormétiques de rayonnements UV-C. Ces traitements UV-C sont appliqués soit en post-récolte soit en cours de culture des plants. En parallèle de l'étude du niveau de sensibilité de la tomate, nous nous sommes également intéressés à l'impact de ces traitements UV-C sur la qualité et la conservation des fruits en post-récolte.

## II. Matériel et méthodes

### 1. Modèle végétal

Les plants de tomate étudiés dans ce chapitre appartiennent à la variété Trust. Les graines ont été semées en octobre 2017 dans un substrat riche (ProMix : tourbe de mousse de sphaigne (65 – 75 %), perlite, chaux, mycorhizes). Au total, 20 plants de tomate ont été sélectionnés et placés sous serre en verre : une rangée comptant 10 plants de tomate correspondait au groupe contrôle non traité aux rayonnements UV-C et une deuxième rangée comptant également 10 plants de tomate correspondait au groupe traité aux rayonnements UV-C.

### 2. Traitements UV-C

Deux types de traitements UV-C ont été testés : le premier a été appliqué en post-récolte et le second en cours de culture.

Pour le traitement UV-C en post-récolte, les fruits de tomate ont été traités sur la face supérieure à une dose UV-C de 3,70 kJ/m<sup>2</sup>. Cette dose a été choisie en prenant en compte les travaux menés par Maharaj *et al.* (1999) qui ont démontré que cette dose UV-C permettait de prolonger la durée de vie des fruits. La dose a été administrée sur des fruits placés dans une chambre de croissance (Convicon, PGC20, Manitoba, Canada). Cette chambre a été modifiée (Figure 50) par l'ajout au plafond d'un jeu de 3 lampes UV-C fluorescentes germicides (160 W) avec un pic d'émission à 254 nm (Clean Light Inc., Vineland Station, ON, Canada). L'intensité lumineuse a été mesurée avec un radiomètre portable (UV-C Digital Radiometer, UVP, Inc., San Gabriel, Canada). Après le traitement, les fruits ont été laissés dans la chambre à l'obscurité pendant 4 h à température ambiante.

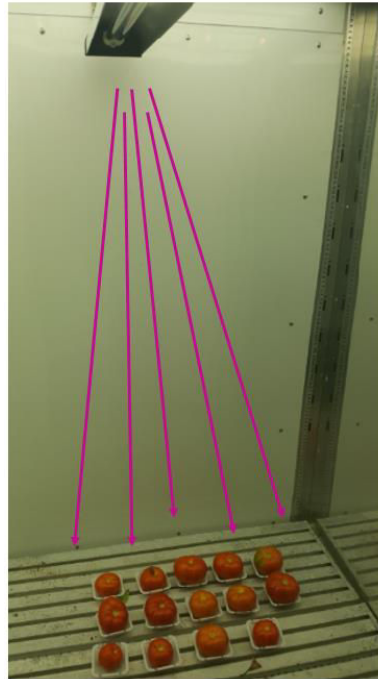


Figure 50 : **Chambre de traitement UV-C.** Les fruits de tomate sont placés dans la chambre de traitement puis le plafond contenant les lampes UV-C a été placé à 70 cm des fruits pendant le traitement. Le traitement UV-C est automatisé par le biais d'une plateforme et d'un logiciel reliés à la chambre et au radiomètre de mesure.

Pour les traitements UV-C appliqués en cours de culture, les plants de tomate ont été traités avec la dose UV-C de 0,20 kJ/m<sup>2</sup> (sélectionnée grâce à des tests réalisés au préalable) juste après la floraison du premier bouquet. Le système de traitement est différent de celui utilisé pour les traitements en post-récolte. En effet, dans ce cas, c'est un portique lumineux doté de 6 lampes UV-C de 135 W modèle GIA843T6LCA/HO/CB-0P6 (UV Superstore Inc., Poultney, VT) qui se déplace tout au long des plants (Figure 51). C'est un traitement automatisé qui se déroule pendant la nuit et qui dure 30 sec pour administrer une dose UV-C de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>. Les plants de tomate sont traités tous les 4 jours à la dose UV-C choisie jusqu'à la récolte des grappes de tomate.



Figure 51 : Traitements UV-C des plants de tomate sous serre. Un portique contenant 6 lampes UV-C se déplace automatiquement le long des plants de tomate pour délivrer une dose UV-C choisie de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>.

### 3. Modèle fongique et inoculation

*B. cinerea* a été isolé de feuilles de tomate infectées puis a été stocké dans un sol stérile à 4 °C. Cet isolat a été utilisé comme source d'inoculum initial. Les spores ont ensuite été conservées dans un tampon glycérolé à -4 °C. Nous avons nommé cette souche BcB en raison d'une première isolation du champignon qui n'a pas fonctionné.

Pour les inoculations réalisées sur les feuilles de tomate, la souche BcB a étéensemencée 3 jours avant l'inoculation. Lors de l'inoculation, les feuilles de tomate détachées ont été placées dans des boîtes en plexiglas sur un papier absorbant humide afin de créer une humidité relative élevée. Les feuilles ont été

inoculées par le dépôt d'un implant mycélien de 0,5 cm de diamètre centré sur la feuille au niveau de la nervure centrale. Les feuilles sont ensuite placées dans un incubateur à 21 °C et une photopériode de 14 h de jour et 10 h de nuit. La surface des lésions a été suivie pendant 7 jours et mesurée grâce au logiciel Image J. Par la suite, l'AUDPC a été calculée pour estimer la sensibilité des feuilles de tomate à BcB.

Pour les inoculations réalisées sur les fruits de tomate, la souche BcB a été ensemencée 15 jours avant la date d'inoculation afin que le champignon sporule. Le jour de l'inoculation, une suspension de spores à  $10^6$  spores/mL a été préparée. Les fruits ont ensuite été inoculés avec 1 mL de cette suspension de spores. Les fruits de tomate ont été entreposés dans des boîtes de conservation (bac blanc de semis et couvercle transparent) à 14 °C dans l'obscurité. La surface des lésions a été suivie pendant 7 jours et mesurée grâce au logiciel Image J et l'AUDPC a été calculée pour estimer la sensibilité des fruits de tomate à BcB.

#### 4. Estimation de la croissance végétale

Après les 4 premiers traitements UV-C, des mesures de l'activité photosynthétique en fonction de la courbe de réponse à la lumière des plants de tomate ont été réalisées. Les mesures ont été prises *via* un analyseur à gaz IR (LICOR 6400, Li-Cor, Lincoln, USA) en condition de lumière saturante (Tableau 4).

Impact des radiations UV-C sur la sensibilité des plants de tomate à *Botrytis cinerea* en cours de culture et impact sur la qualité/conservation des fruits en post-récolte

**Tableau 4 : Conditions de mesure de l'activité photosynthétique.** Les mesures ont été réalisées avec un analyseur à gaz IR (LICOR) après les 4 premiers traitements UV-C (Lightsource = 6400-40 FLUO, LCF-0364) sur les feuilles externes à mi-hauteur des plants de tomate.

Paramètres		Condition
T block	Température de la tête de mesure	20°C
Blue ABS	Absorbance des feuilles dans le bleu	0,93
Red ABS	Absorbance des feuilles dans le rouge	0,85
A dark	Photosynthèse dans le noir	-1 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
PS2/1	Fraction de photons	0,5
CO <sub>2</sub> S	CO <sub>2</sub> de l'échantillon	390 ppm
CO <sub>2</sub> R	CO <sub>2</sub> de référence	410 ppm
Flow	Débit	250 $\mu\text{mol}/\text{s}$
Blue	Lumière bleue	10 %

A la fin de l'expérimentation, la hauteur des plants ainsi que la surface des feuilles ont été mesurées.

## 5. Conservation des fruits

Les fruits des grappes 1, 2 et 3 ont été récoltés au stade 4 de maturité, selon la charte de classification des fruits et légumes USDA (*United States Department of Agriculture*). Les fruits de la grappe 1, récoltés uniquement des plants témoins (groupe contrôle non traité aux rayonnements UV-C), ont été utilisés dans le cadre de l'étude de l'impact des UV-C appliqués en post-récolte. Tandis que les fruits des grappes 2 et des grappes 3, du groupe témoin ainsi que ceux traités aux rayonnements UV-C, ont été utilisés pour étudier l'impact des rayonnements UV-C appliqués en cours de culture sur la sensibilité des fruits et leur qualité en post-

récolte. Les fruits ont été récoltés puis placés individuellement dans des barquettes en plastique et mis en conservation dans un entrepôt à 14 °C dans l'obscurité.

### Mesure du poids et de la couleur des fruits de tomate

A chaque temps de conservation (J0, J3, J7 et J21), les fruits sont pesés et leur couleur est mesurée *via* un chromamètre (CR-2000, Minolta). L'appareil a été calibré avec une plaque blanche de référence et les paramètres  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$  ont été mesurés. Une mesure plus appropriée de la couleur (McGuire, 1992) des fruits de tomate peut être obtenue par le calcul du  $C^*$  (*Chroma*) qui décrit le degré de saturation du gris vers une teinte pure et de l'angle  $H^\circ$  (*Hue*) qui décrit les teintes (rouge, orange, jaune, vert, etc.). Ces deux indices nous renseignent sur l'évolution de la couleur des fruits de tomate au cours du processus de maturation et d'entreposage telle qu'affectée par les traitements aux UV-C.

### Mesure de l'acidité des fruits de tomate

La préparation des échantillons pour mesurer l'acidité s'est réalisée à partir de 15 g de fruits congelés (échantillon composite) et réduits en poudre. Après décongélation et centrifugation à 21000 g pendant 5 min à 4°C, le surnageant est recueilli. A 5 g d'extrait, 30 mL d'eau ultrapure est ajoutée et l'acidité est mesurée avec un pHmètre (AR25 Fisher Scientific). La mesure de l'acidité a été réalisée pour tous les échantillons (chaque modalité avec chaque temps de conservation).

### Solides solubles totaux

La teneur en SST (*solides solubles totaux*) a été déterminée à l'aide d'un réfractomètre digital (Atago PR-32). Du jus provenant des tomates a été déposé et les valeurs sont mesurées en °Brix. La teneur en SSC a été réalisée pour tous les échantillons (chaque modalité avec chaque temps de conservation).

### Teneur en composés phénoliques

Les échantillons correspondent à un échantillonnage composite réunissant 3 tomates dans le but d'avoir assez de matière. Les échantillons à extraire ont été



préparés à partir de 4 g de poudre, dans 20 mL d'un mélange de solvant : MeOH/H<sub>2</sub>O/acide formique (60:38:2, v/v/v). Les échantillons ont été ensuite homogénéisés à l'Ultra-Turrax (T25, Ika) pendant 1 min à une vitesse de 20 000 tours/minute. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 10000 g pendant 5 min à 4 °C (Sorvall, Biofuge stratos, rotor Thermo Scientific 3057). A l'aide d'un évaporateur-concentrateur à azote (Horizon Technology, Interchim), 10 mL du surnageant ont été concentrés par séchage. Les culots secs sont dissous dans 1 mL d'un mélange MeOH/acide formique (95:5, v/v), filtrés (filtre 0,2 µm Pall corporation 4567). Ces extraits contenant les composés phénoliques ont été directement injectés dans l'UPLC.

La séparation et la caractérisation des composés phénoliques ont été réalisées à l'aide d'une UPLC H-Class system (Waters Acquity, Waters Corp., Milford, USA) équipée d'un moniteur quaternaire à solvant, d'un moniteur à échantillon, d'une colonne et d'un détecteur PDA. Une colonne Waters Acquity UPLC Cortecs C18 (150 mm x 2,1 mm ; 1,6 µm) combinée avec une pré-colonne Waters UPLC Cortecs VanGuard C18 (5 mm x 2,1 mm ; 6 µm) a été utilisée pour l'analyse des échantillons. Le logiciel MassLynx 4.1 a été utilisé pour l'acquisition des données.

Les analyses ont été réalisées par un gradient d'élution. La phase mobile correspondait à de l'eau acidifiée (1 % d'acide formique ; solvant A) et de méthanol acidifié (1 % d'acide formique ; solvant B). Un gradient linéaire était de 1 à 5 min : 85-70 % de solvants A-B, suivi par un mélange isocratique pendant 2 min, puis 70-20 % de solvants A-B de nouveau en 2 min, et maintien du mélange pendant 3 min ; 20-0 % en 1 min et maintien pendant 2 min avant de retourner aux conditions initiales (85 % du solvant A) en 1 min et maintenu pendant 10 min. Le flux de la phase mobile était de 0,216 mL/min. Le volume d'injection était de 2 µL et les pics ont été détectés entre 210 et 750 nm.

Les composés dans chaque échantillon ont été identifiés et quantifiés par la comparaison de leur Tr et de leur spectre avec ceux de standards externes. Les données ont été rassemblées dans le logiciel TargetLynx et rapportées au microgramme par gramme de poids frais (µg/g poids frais).

### Dosages des composés volatils

Les dosages des composés volatils des tomates ont été réalisés par GC-MS avec des fibres SPME. Les échantillons ont été préparés à partir de 0,25 g de poudre de fraises (échantillon composite : broyage d'un lot de 6 fraises à l'azote liquide) homogénéisés avec 3 mL d'eau distillée et 2 mL de solution NaCl saturée à température ambiante. 5 mL du mélange ont été prélevés puis les échantillons ont été chauffés pendant 50 min à 60 °C sous agitation magnétique. La seringue contenant le filtre SPME (Supelco, Carboxen, PDMS 57300-U) a été placée dans les tubes afin de débiter l'adsorption des composés volatils présents dans chaque échantillon.

Les échantillons ont ensuite été analysés par GC-MS (Agilent Technologies, en mode EI). La colonne utilisée était une DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Chaque échantillon a été injecté manuellement. La désorption dure 1,5 min. La phase mobile était constituée d'hélium avec un débit de 1 mL/min. La programmation du four était de 50 °C pour 1 min et augmentait jusqu'à 200 °C à une vitesse de 4 °C/min. La température de la source du MS était de 230 °C, celle de la ligne de transfert était de 280 °C et celle des quadrupoles était de 150 °C.

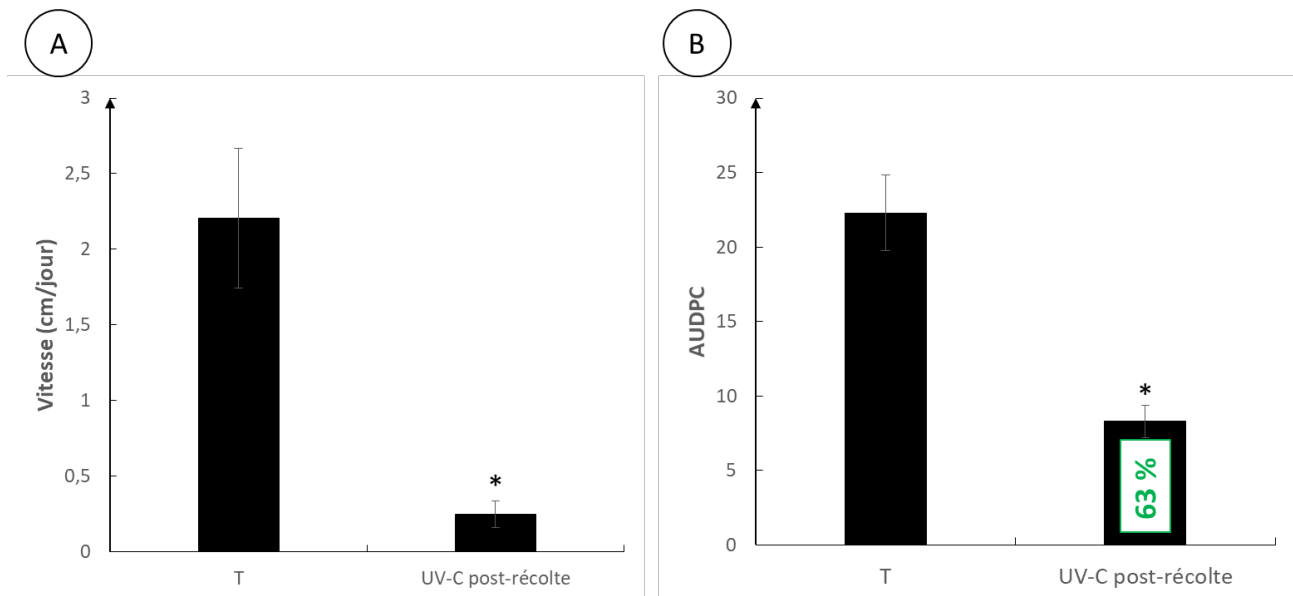
### Statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à partir du logiciel Statistica. Des premiers tests d'analyse de normalité des données ont été réalisés : test de Shapiro. Si les données suivaient une loi normale, alors des tests de comparaison de moyenne étaient réalisés comme le test de Duncan ou Newman-Keuls (*NKT*). Au contraire, si les données n'étaient pas gaussiennes alors des tests non paramétriques de comparaison de moyennes étaient réalisés comme le test de Kruskal-Wallis. Pour chacun des tests, une contrainte de p-value < 0,05 était appliquée.

### III. Résultats

#### 1. Impact des rayonnements UV-C sur les fruits de tomate en post-récolte

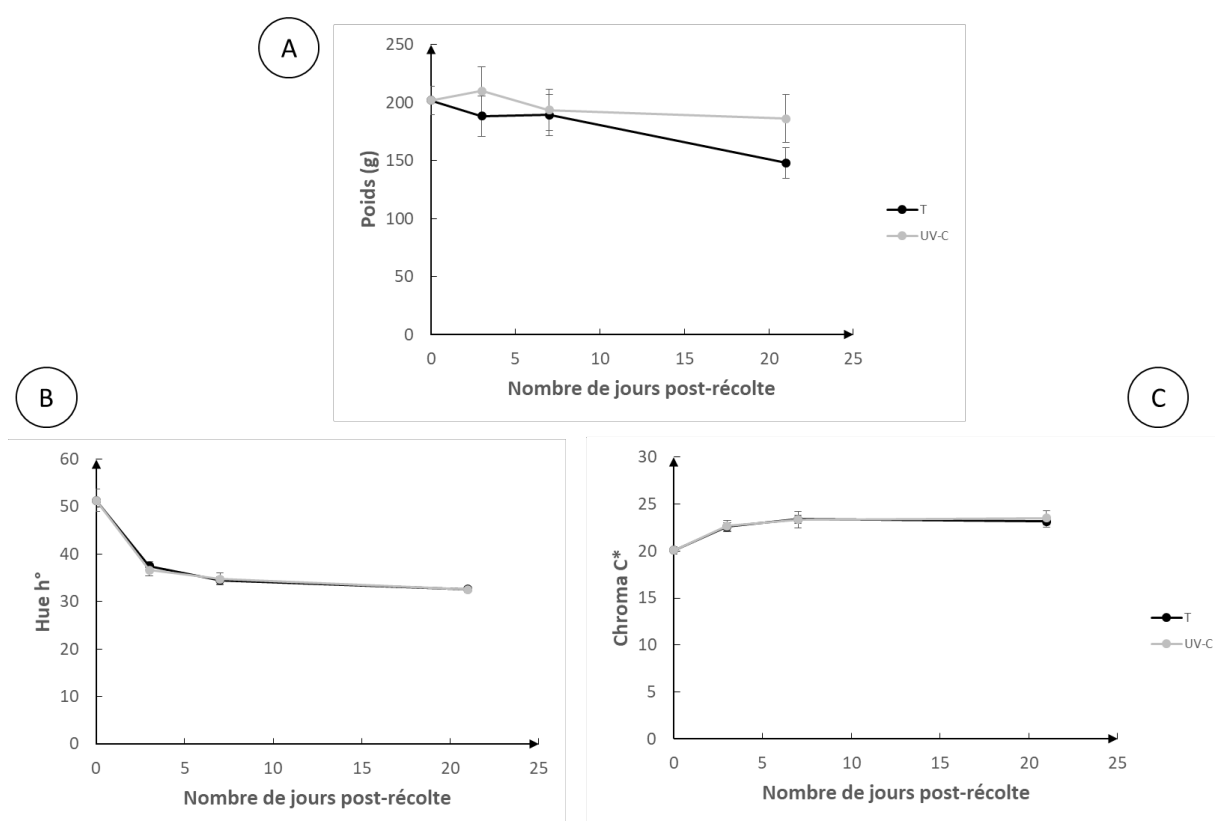
Afin d'estimer l'effet des traitements UV-C en post-récolte sur la sensibilité des fruits de tomate à la maladie, des tests pathologiques avec *B. cinerea* ont été réalisés (Figure 52).



**Figure 52 :** Niveau de sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea* après un traitement UV-C en post-récolte. Les tomates ont été récoltées à maturité commerciale puis ont été traitées avec une dose UV-C de 3,70 kJ/m<sup>2</sup>. Les tests pathologiques (inoculation avec BcB et suivi des lésions pendant 7 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des fruits de tomate à ce pathogène suite aux traitements UV-C. A) Vitesse de croissance du champignon *B. cinerea*. B) AUDPC correspondant au développement de la maladie. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre les groupes contrôles et les groupes traités aux UV-C (erreurs standards, NKT, p-value < 0,05).

Ici, nous démontrons qu'avec l'application unique de la dose UV-C de 3,70 kJ/m<sup>2</sup> sur la face supérieure des fruits de tomate, nous réduisons de 63 % leur sensibilité à *B. cinerea* (Figure 52-B). Le champignon n'arrive pas à s'installer sur le fruit et son développement est vite ralenti (Figure 52-A).

En parallèle à la mesure de la sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea*, l'évolution de certains paramètres associés à la qualité lors du stockage a été analysée (Figure 53).

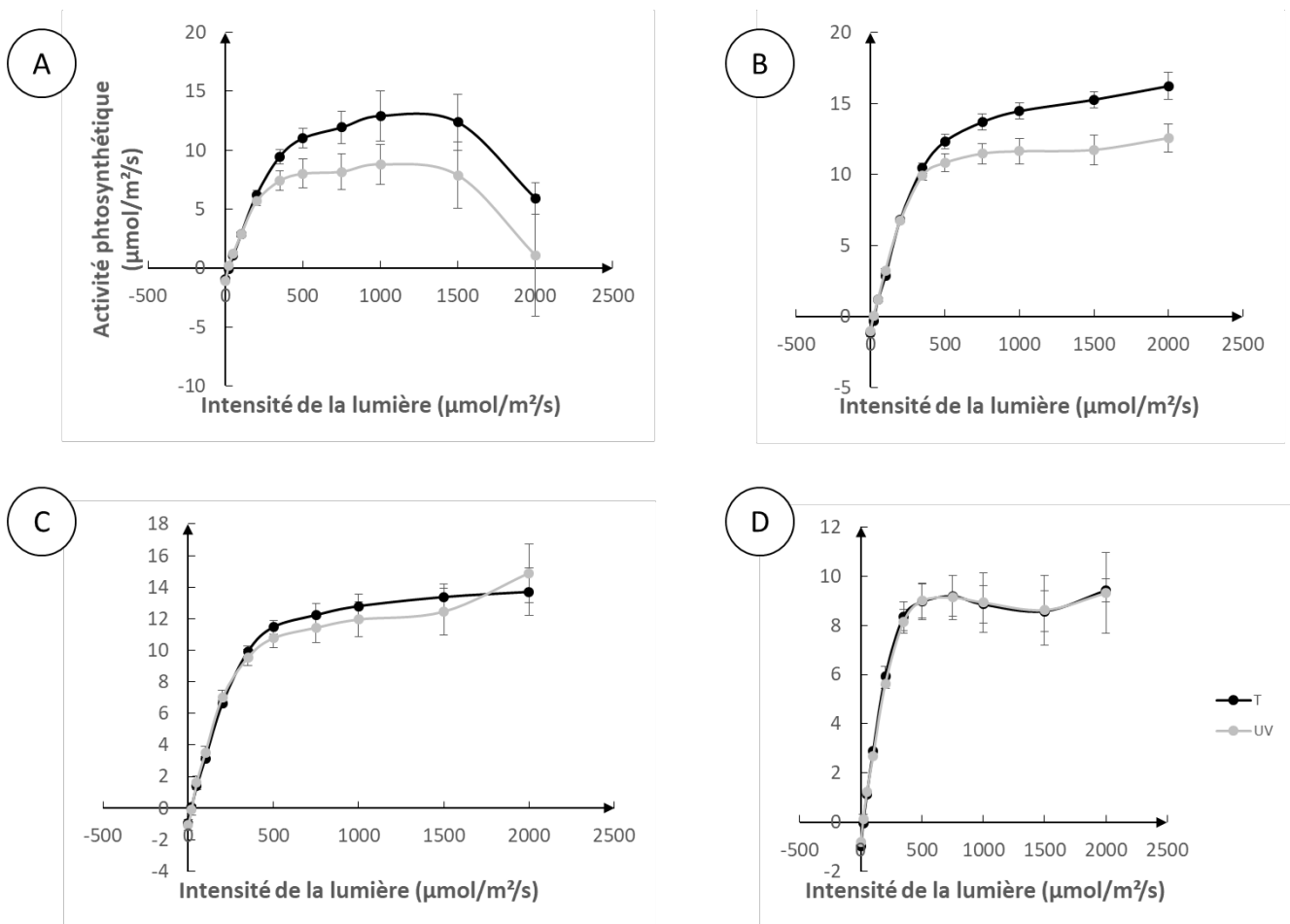


**Figure 53 : Conservation des fruits de tomate après une application d'UV-C en post-récolte.** Les fruits ont été récoltés à maturité commerciale puis mis en conservation dans une chambre de stockage à une température de 14 °C et dans l'obscurité. Des mesures ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. A) Suivi du poids des fruits de tomate pendant la conservation. B) et C) Suivis de l'évolution de la couleur des fruits de tomate pendant la conservation. Les tests statistiques ont été réalisés à p-value < 0,05 (erreurs standards, NKT).

L'évolution du poids et de la couleur des fruits de tomate se fait de la même manière pour les fruits appartenant au groupe contrôle et les fruits qui ont été traités aux rayonnements UV-C. Nous n'avons pas mis en avant de différences statistiques entre les deux groupes étudiés. Au cours de leur conservation, le poids des fruits de tomate diminue de 5 % pour le groupe contrôle non traité (T) et de 3 % pour le groupe traité aux rayonnements UV-C, ce qui correspond principalement à une perte en eau (Figure 53-A). En ce qui concerne la couleur des fruits, dans les deux cas, le Hue  $h^\circ$  diminue de 36 % entre le jour de la récolte et après 21 de jours de stockage (Figure 53-B) tandis que le Chroma  $C^*$  augmente de 17 % (Figure 53-C) jusqu'à atteindre un plateau, signifiant que la maturité des fruits de tomate est atteinte (couleur rouge vive brillante).

## 2. Impact des rayonnements UV-C appliqués en cours de culture sur la plante et les fruits de tomate

Afin d'identifier l'impact des rayonnements UV-C sur l'activité photosynthétique, la réponse à la lumière des plants de tomate suite aux 4 premiers traitements UV-C a été mesurée (Figure 54).

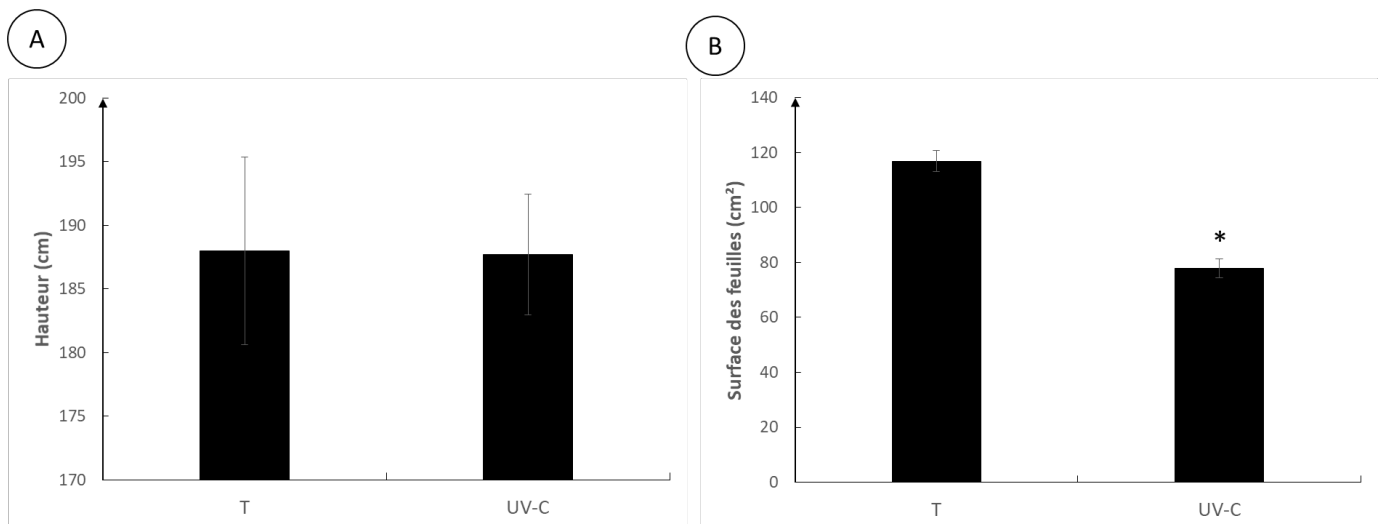
Impact des radiations UV-C sur la sensibilité des plants de tomate à *Botrytis cinerea* en cours de culture et impact sur la qualité/conservation des fruits en post-récolte

**Figure 54 :** Courbes de réponse à la lumière après l'application de traitements UV-C. Les plants ont été traités aux rayonnements UV-C tous les 4 jours. Les mesures ont été réalisées sur 3 feuilles par plants (30 feuilles au total). A) Après le premier traitement UV-C (dose d'UV-C de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>). B) Après le second traitement UV-C (dose cumulée d'UV-C de 0,40 kJ/m<sup>2</sup>). C) Après le troisième traitement UV-C (dose cumulée d'UV-C de 0,60 kJ/m<sup>2</sup>). D) Après le quatrième traitement UV-C (dose cumulée d'UV-C de 0,80 kJ/m<sup>2</sup>).

Les plants de tomate traités aux rayonnements UV-C réagissent très rapidement puisque dès l'application de la première dose d'UV-C, l'activité photosynthétique des plants de tomate traités aux rayonnements UV-C diminue de 32 % (Figure 54-A). Cette diminution de l'activité photosynthétique observée préalablement persiste après l'application de la deuxième dose d'UV-C (Figure 54-

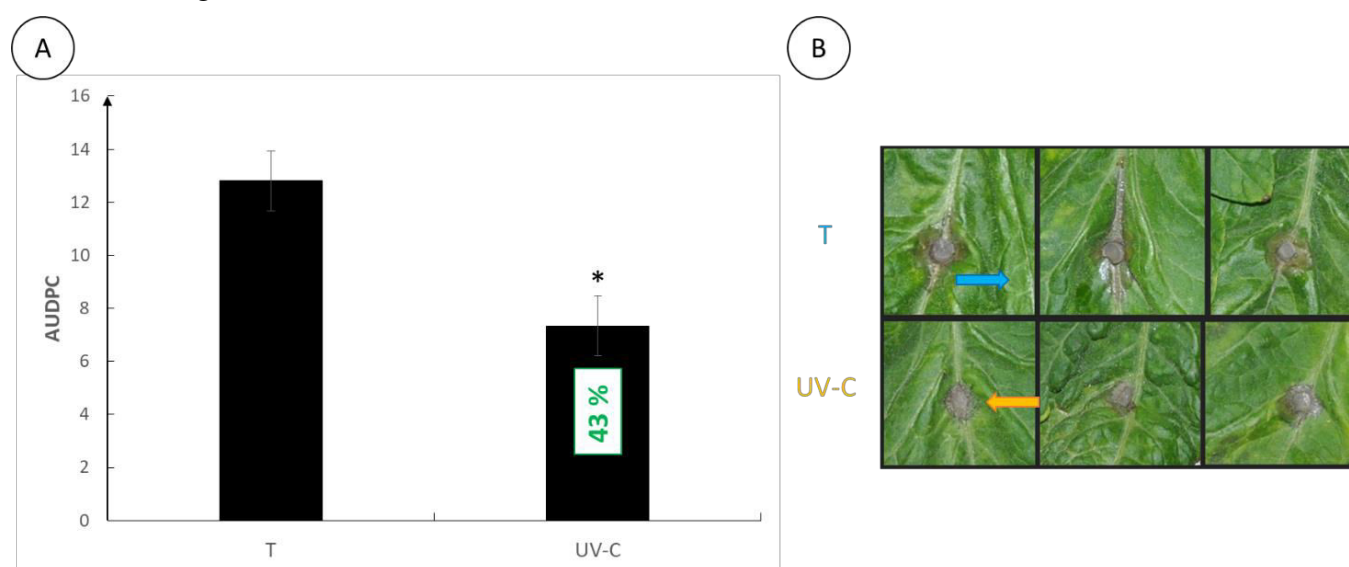
B). Ce n'est qu'à partir du troisième traitement UV-C que l'activité photosynthétique des plants de tomate traités aux rayonnements UV-C revient au même niveau que celle du groupe contrôle non traité (Figure 54-C). L'activité photosynthétique des plants de tomate est identique à partir de l'application du quatrième traitement UV-C et demeure stable pour les deux groupes testés (Figure 54-D).

A la fin de l'expérimentation, des mesures physiques des plants de tomate ont été réalisées dans le but d'estimer la croissance végétale pendant les traitements UV-C (Figure 55).



**Figure 55 :** Estimation de la croissance végétale des plants de tomate après des traitements successifs d'UV-C. Les mesures ont été réalisées à la fin de l'expérimentation, c'est-à-dire à récolte de la troisième grappe de fruits. Les plants avaient alors reçu 22 applications d'UV-C de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>, menant à une dose cumulée d'UV-C de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>. A) Hauteur des plants de tomate. B) Surface des feuilles de tomate. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,01).

A la fin de l'expérimentation, les plants de tomate traités aux rayonnements UV-C ont reçu une dose cumulée de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>. Dans le but d'étudier l'impact des rayonnements UV-C sur l'état des plants, la hauteur de chaque plant ainsi que la surface des feuilles ont été prises en compte. Suite à l'application successive de 22 doses d'UV-C, la hauteur des plants est identique pour les deux groupes testés, à savoir 188 cm pour les plants non traités (T) et 187,7 cm pour les plants de tomate traités aux rayonnements UV-C (Figure 55-A). Cependant, les feuilles issues des plants de tomate traités aux rayonnements UV-C ont des surfaces plus petites (Figure 55-B).



**Figure 56 :** Niveau de sensibilité des feuilles de tomate à *B. cinerea* après l'application de traitements UV-C successifs en cours de culture. Le niveau de sensibilité des feuilles a été estimé à la fin de l'expérimentation, c'est-à-dire après la récolte de la troisième grappe de fruits. Les plants ont reçu une dose cumulée d'UV-C de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>, soit 22 traitements UV-C. Les tests pathologiques (inoculation avec BcB et suivi des lésions pendant 7 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des feuilles de tomate à *B. cinerea* suite aux traitements UV-C. A) AUDPC correspondant au développement de la maladie. B) Photo des lésions provoquées par BcB sur feuilles. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,01).



Des tests pathologiques avec *B. cinerea* ont ensuite été conduits sur des feuilles de tomate isolées le jour de la récolte de la troisième grappe de fruits (Figure 56). Une diminution significative de 43 % de la sensibilité des feuilles de tomate a été observée pour les plants qui ont été traités aux rayonnements UV-C (Figure 56-A). Lorsque nous regardons plus attentivement les lésions engendrées sur les feuilles de tomate (Figure 56-B), nous remarquons que *B. cinerea* a tendance à s'épandre sur les feuilles du groupe contrôle tandis que chez le groupe traité aux rayonnements UV-C, le champignon a tendance à rester au niveau de l'implant mycélien. Sur certaines feuilles traitées aux rayonnements UV-C, *B. cinerea* a tendance à sporuler rapidement sur l'implant mycélien.

En plus de l'étude des rayonnements UV-C appliqués sur les plants de tomate en culture, nous nous sommes intéressés à l'impact que pouvaient avoir ces mêmes traitements UV-C sur les fruits (Figure 57).

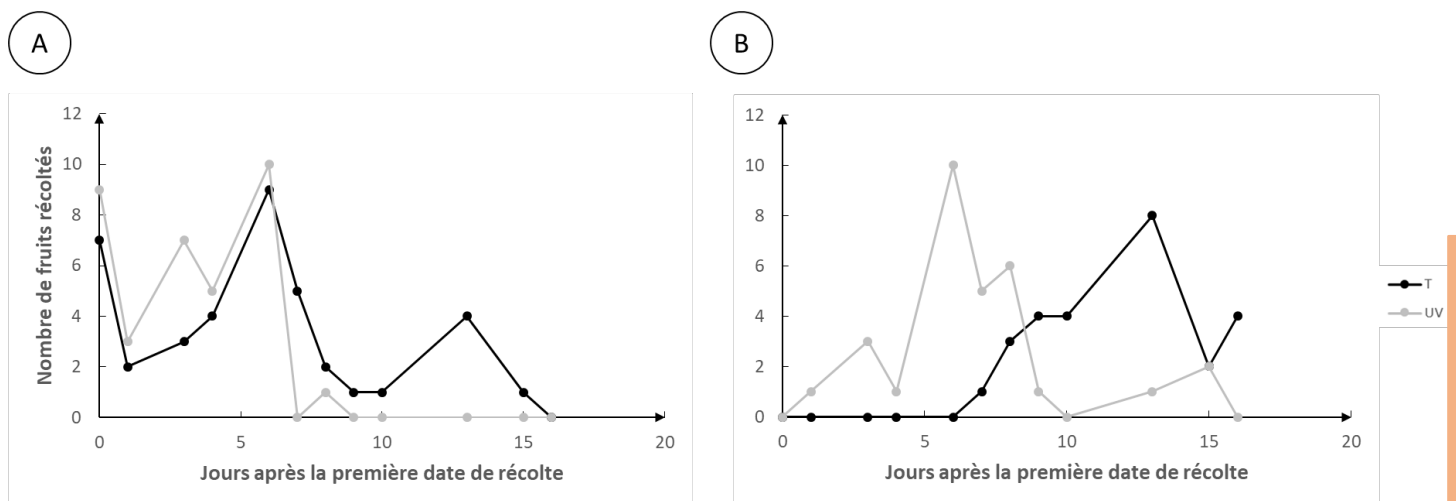
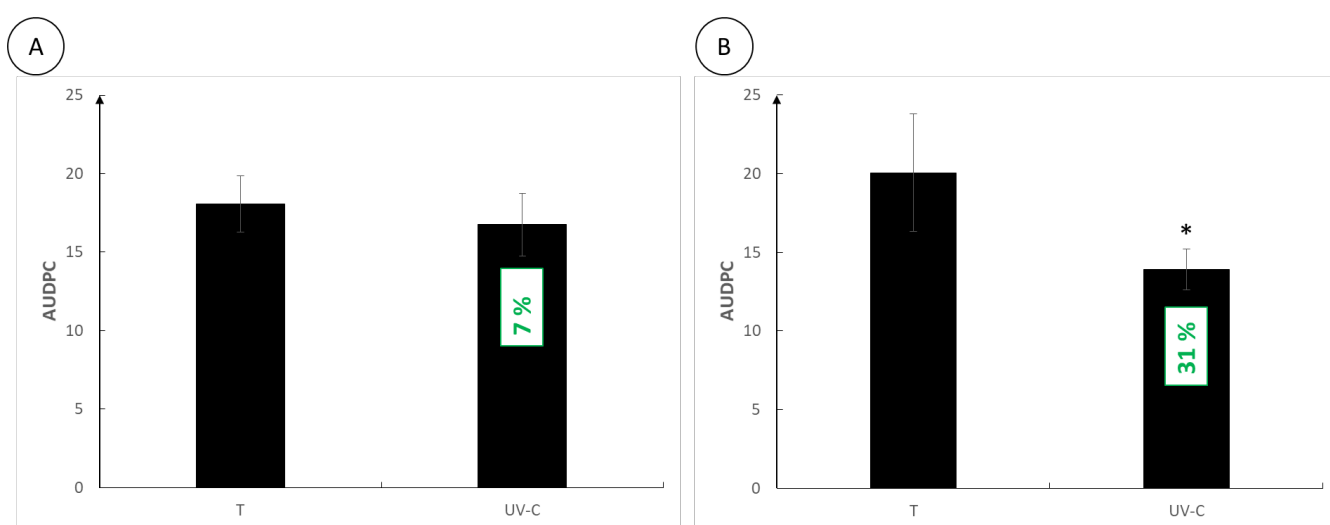


Figure 57 : Récolte des fruits de tomate au cours du temps. Les fruits de tomate ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé »). A) Récolte de la deuxième grappe. B) Récolte de la troisième grappe.

En premier lieu, nous avons récoltés les fruits de la grappe 2 et la grappe 3 lorsqu'ils arrivaient au stade 4 de maturité. Ne murissant pas en même temps, nous

les avons récoltées au fur et à mesure. De ce fait, nous avons pu mettre en avant une maturation précoce des fruits de tomate de la grappe 3 traités aux rayonnements UV-C (Figure 57-B). Cette précocité a également été observée pour la grappe 2 mais de façon moins prononcée. En effet, nous observons un premier pic de récolte aux alentours du cinquième jour (Figure 57-A).

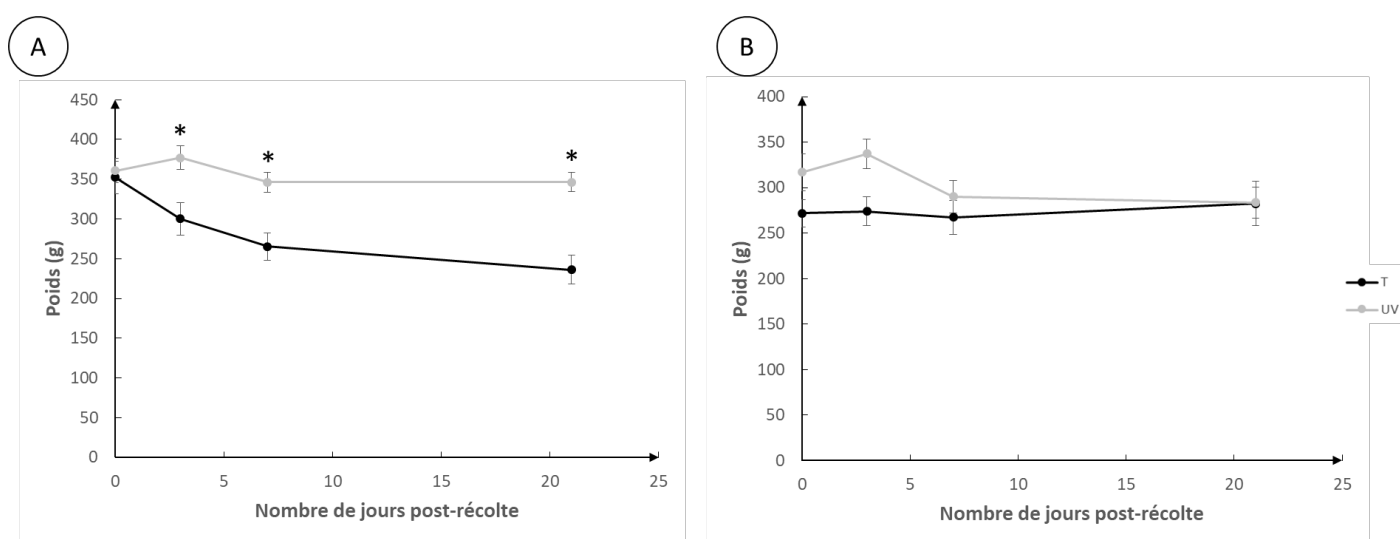
Comme pour les plantes de tomate, nous nous sommes également intéressés à la sensibilité des fruits à *B. cinerea* grâce à des tests pathologiques (Figure 58).



**Figure 58 : Niveau de sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea* après l'application successive de doses UV-C en cours de culture.** Les tomates ont été récoltées au stade 4 de maturité (stade « rosé »). Les tests pathologiques (inoculation avec BcB et suivi des lésions pendant 7 jours) permettent d'évaluer le niveau de sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea* suite à l'application de rayonnements UV-C sur les plantes. A) AUDPC correspondant au développement de la maladie sur les fruits de la grappe 2 (dose UV-C cumulée de 3,8 kJ/m<sup>2</sup>, soit 19 traitements UV-C). B) AUDPC correspondant au développement de la maladie sur les fruits de la grappe 3 (dose UV-C cumulée de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>, soit 22 traitements UV-C). Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05).

Nous n'avons pas observé de différence significative pour la grappe 2 (Figure 58-A). Cependant, les faits sont différents pour la grappe 3 qui a subi des doses d'UV-C supplémentaires par rapport à la grappe 2. En effet, une diminution significative de sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea* de 31 % est observée lorsque les plants ont été traités aux rayonnements UV-C (Figure 58-B).

En parallèle des tests pathologiques sur fruits de tomate, leur évolution de maturation au cours de la conservation a été prise en compte.



**Figure 59 : Suivi du poids des fruits de tomate après des applications successives d'UV-C sur les plants en cours de culture.** Les fruits ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé ») puis ont été entreposés à 14 °C et dans l'obscurité pendant 21 jours. Des mesures du poids de chaque fruit de tomate ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. A) Grappe 2. B) Grappe 3. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05).

Tout d'abord, nous avons suivi le poids des fruits de tomate pendant leur conservation (Figure 59). Le poids des fruits de tomate reste stable jusqu'à diminuer légèrement au cours de la conservation. Cependant, les fruits de tomate issus de plants traités aux rayonnements UV-C ont un poids significativement plus élevé

dans la grappe 2 (Figure 59-A) ce qui indiquerait une perte en eau moins importante pendant le temps de stockage. En effet, les tomates issues des plants non traités aux rayonnements UV-C ont une perte de poids globale de 4 % au bout de 21 jours de stockage, contrairement aux tomates issues des plants traités aux rayonnements UV-C qui ont une perte de poids de seulement 2 %. Cette observation n'est pas retrouvée pour la grappe 3 (Figure 59-B).

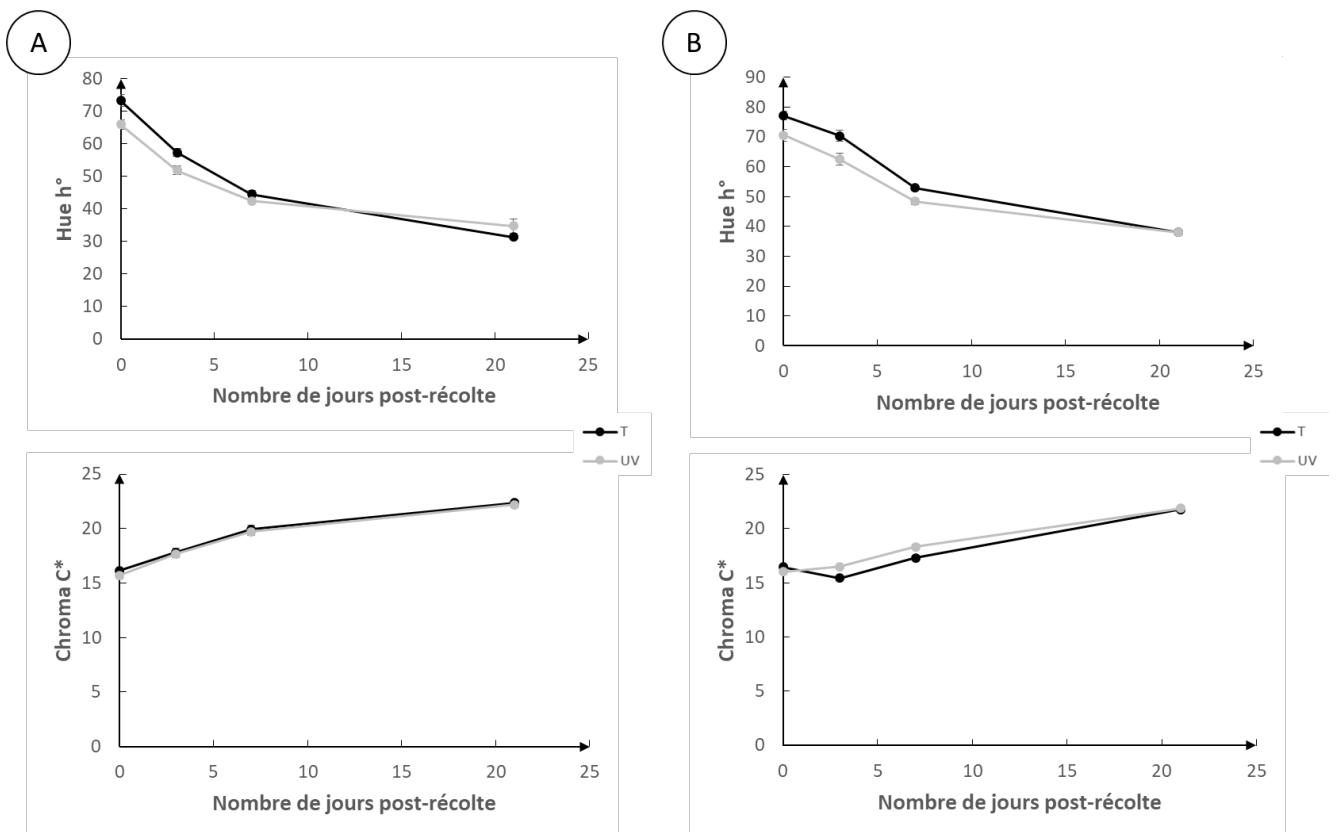
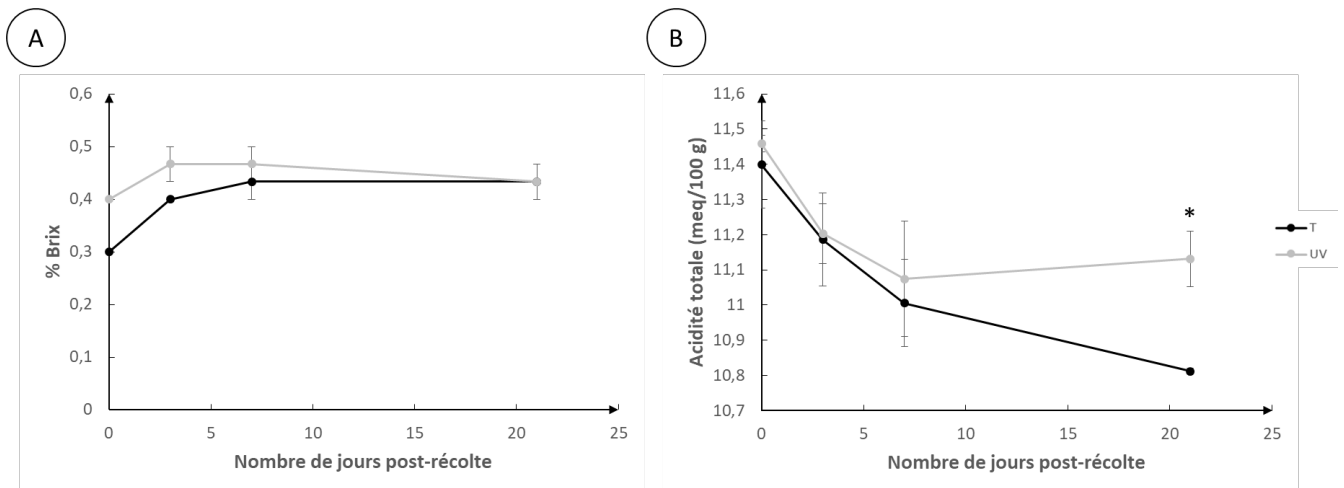


Figure 60 : Suivi de la couleur des fruits de tomate après des applications successives d'UV-C sur les plants en cours de culture. Les fruits ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé ») puis mis en conservation dans une chambre de stockage à une température de 14 °C et dans l'obscurité. Des mesures de la couleur de chaque fruit de tomate ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. Le Hue H° et le Chroma C\* ont ensuite été calculés à partir des L\*a\*b\* mesurés. A) Grappe 2. B) Grappe 3. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05).

Par la suite, la couleur des fruits de tomate a été analysée lors de la conservation (Figure 60). Aucune différence significative à la fois pour la grappe 2 (Figure 60-A) et la grappe 3 (Figure 60-B) n'a été observée. Les fruits de tomate évoluent de la même manière : le H° diminue tandis que le C\* augmente indiquant l'apparition d'une couleur rouge de plus en plus intense au cours de la conservation.



**Figure 61 : Teneur en solides solubles totaux (SST, Brix) et mesure de l'acidité des fruits de tomate en cours de conservation.** Les fruits ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé ») puis mis en conservation dans une chambre de stockage à une température de 14 °C et dans l'obscurité. Des mesures ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. Les mesures réalisées sur la grappe 2 et la grappe 3 ont été combinées. A) Sucrosité. B) Acidité totale. Les (\*) correspondent aux différences significatives entre le groupe contrôle et le groupe traité aux rayonnements UV-C (erreurs standard, NKT, p-value < 0,05).

Aucune différence significative n'est observée pour la teneur en sucre dans les fruits de tomate (Figure 61-A). Toutefois, les fruits de tomate issus des plants traités aux rayonnements UV-C sont plus acides au cours de leur conservation et de leur maturation (Figure 61-B).

Impact des radiations UV-C sur la sensibilité des plants de tomate à *Botrytis cinerea* en cours de culture et impact sur la qualité/conservation des fruits en post-récolte

**Tableau 5 : Dosage des composés phénoliques des fruits de tomate lors de la conservation.** Les fruits ont été récoltés au stade 4 de maturité (stade « rosé ») puis mis en conservation dans une chambre de stockage à une température de 14 °C et dans l'obscurité. Des mesures ont été réalisées à J0, J3, J7 et J21. Les dosages ont été réalisés via la technique de l'UPLC et les valeurs sont exprimées en µg/g de poids frais. Les lettres en rouge montrent les différences significatives au sein d'un même groupe pendant la conservation (NKT, p-value < 0,05). Les cases rosées représentent les différences significatives entre les deux groupes testés pour chaque temps de conservation (NKT, p-value < 0,05).

(µg/g de poids frais)		Jours de conservation			
		J0	J3	J7	J21
Acide coumarique	T	9,12 c	12,46 b	15,66 a	14,66 a
	UV-C	9,23 a	8,09 a	9,12 a	6,07 b
Acide déydrophaséique	T	2,11 b	3,70 a	3,77 a	4,28 a
	UV-C	2,44 c	3,04 ab	2,79 b	3,26 a
Naringénine	T	3,49 b	6,69 b	36,20 a	15,28 b
	UV-C	0,67 b	20,34 a	20,41 a	10,50 a
Rutine hexaside	T	0,22 c	0,38 c	1,19 a	0,74 b
	UV-C	0,63 c	1,91 a	1,33 b	1,74 a
Rutine pentoside	T	3,04 b	3,35 b	3,38 b	12,14 a
	UV-C	5,51 c	10,18 a	7,97 b	6,18 c
Rutine	T	13,60 a	12,40 a	14,49 a	15,91 a
	UV-C	9,17 b	13,62 a	1,21 ab	10,14 b
Acide chlorogénique	T	16,28 a	14,74 a	12,70 b	3,52 c
	UV-C	21,78 a	15,19 b	10,05 c	2,62 d

En dernier lieu, des dosages de composés phénoliques ont été réalisés (Tableau 5). De manière générale, la teneur en composés phénoliques augmente au cours de la conservation quelque soit le groupe (groupe contrôle non traité et groupe traité aux rayonnements UV-C). A un temps de conservation donné, nous remarquons des différences significatives entre le groupe contrôle non traité et le groupe traité aux rayonnements UV-C. Dans certains cas, la teneur en composés phénoliques des fruits appartenant au groupe contrôle non traité est plus élevée que la teneur en composés phénoliques des fruits appartenant au groupe traité aux rayonnements UV-C. C'est le cas, par exemple, de l'acide coumarique : après 3 jours de conservation, la teneur en acide coumarique est plus élevée chez le groupe contrôle non traité ( $J3 = 12,46 \mu\text{g/g}$  de poids frais) que chez le groupe traité aux rayonnements UV-C ( $J3 = 8,09 \mu\text{g/g}$  de poids frais). Dans certains cas, nous observons le phénomène inverse. La teneur en acide chlorogénique est plus élevée dans le groupe traité aux rayonnements UV-C après récolte ( $J0 = 21,78 \mu\text{g/g}$  de poids frais) que le groupe contrôle non traité ( $J0 = 16,28 \mu\text{g/g}$  de poids frais).

Concernant le dosage des arômes, nous n'avons pas pu mettre en avant de différences significatives entre le groupe contrôle non traité et le groupe traité aux UV-C (résultats non montrés ici).

## IV. Discussion

Ce chapitre visait à étudier i) l'effet des rayonnements UV-C appliqués en pré-récolte sur les paramètres associés à la croissance et à la résistance des organes végétatifs à *B. cinerea*, et ii) l'effet des rayonnements UV-C en pré-récolte et en post-récolte sur la qualité et la résistance des fruits de tomate à *B. cinerea*.

Commençons par l'impact des rayonnements UV-C sur les plants de tomate pendant leur culture. Nous avons démontré que les plants de tomate réagissaient aux traitements UV-C. En effet, l'activité photosynthétique des plants de tomate diminue dès l'application du premier traitement UV-C à une dose de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>. Cette diminution perdure après l'application du deuxième traitement UV-C à 0,20 kJ/m<sup>2</sup>. Cependant, à partir du troisième traitement UV-C à cette même dose, l'activité photosynthétique des plants de tomate se stabilise au même niveau que le groupe contrôle n'ayant subi aucun traitement UV-C. Ceci pourrait expliquer que les plants de tomate s'adaptent aux rayonnements lumineux. Les plantes utilisent l'énergie de la lumière pour effectuer la photosynthèse au sein des chloroplastes. Cependant, ces chloroplastes peuvent être altérés par les rayonnements UV. Le photorécepteur UVR8 est requis pour la perception et la transduction du signal des UV-B. Récemment, il a été démontré que ce récepteur à la lumière UV facilitait l'acclimatation des plantes au stress lumineux (Gruber *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2018).

De plus, l'application des rayonnements UV-C sur la plante a un impact sur l'efficacité de la photosynthèse par la réduction du taux d'assimilation du CO<sub>2</sub>, de l'ouverture de stomates et la concentration intracellulaire en CO<sub>2</sub> (Oliveira *et al.*, 2016). Le paramètre de mesure de la fluorescence de la chlorophylle a, Fv/Fm, permet de confirmer cette perte d'efficacité de la photosynthèse. Les feuilles de fraisiers traités aux UV-C pendant leur phase de culture ont un Fv/Fm plus bas ainsi qu'une diminution de la teneur en matière sèche des feuilles (Annexe 4 ; Oliveira *et al.*, 2016). En réalité, l'accumulation des transcrits du gène *LhcIIb-1* (complexe de collecte de la lumière pour la photosynthèse) diminue dans les feuilles et les fruits du fraisier lorsqu'ils sont traités aux rayonnements UV-C, ce qui confirme



l'impact négatif de ce stress abiotique sur la photosynthèse (Oliveira *et al.*, 2016). En effet, il a été démontré que les plantes exposées à des stress abiotiques ont une teneur en ROS élevée, qui en retour peut causer une photoinhibition de la photosynthèse (Gurunani *et al.*, 2015). Face à cela, les surfaces des feuilles traitées aux rayonnements UV-C étaient plus petites que le groupe contrôle non traité. Il a été démontré que les radiations UV-B induisent des modifications morphologiques au niveau de la feuille et au niveau de la plante entière (Rozema *et al.*, 1997). Par exemple, l'enroulement des feuilles, afin de réduire la surface foliaire touchée par ces rayonnements, est une réponse photo-morphogénique que nous observons à des doses faibles d'UV-B (Greenberg *et al.*, 1996). L'épaississement de la feuille est une autre stratégie de protection qui peut être accompagnée d'une redistribution de la chlorophylle de sa surface adaxiale (Day et Vogelmann, 1995). Les feuilles pourraient alors être plus petites mais plus épaisses. Ce fait pourrait également être relié à la diminution de l'activité photosynthétique mesurée. Si pour certains auteurs, comme Krizek *et al.* (1998), l'effet des rayonnements UV sur la production de la matière fraîche et sur le nombre de feuilles pourrait être dû aux dommages occasionnés au niveau de la machinerie photosynthétique, pour d'autres, nous parlerons plutôt de synthèse de composés pendant le stress. Selon Tsormpatsidis *et al.* (2007), la biosynthèse des anthocyanes, absorbant dans le spectre de la photosynthèse, serait à l'origine d'une réduction de la capacité photosynthétique des feuilles, et donc de leur croissance. La plante perçoit le stress lumineux provoqué par les traitements UV-C successifs et met alors en place des mécanismes de défense au détriment de sa propre croissance. Il existe une balance entre la croissance et la mise en place des défenses des plantes. En effet, une production de plus en plus importante de métabolites secondaires pour lutter contre les stress agirait en compétition directe avec la croissance de la plante pour l'assimilation du carbone. D'un point de vue énergétique, les plants ne peuvent pas être sur tous les fronts et doivent utiliser leur ressource énergétique limitée à bon escient. Nous parlons alors d'homéostasie qui permet de réguler en permanence l'utilisation des ressources énergétiques de la plante. Cet état d'équilibre intérieur de la plante face à des modifications du milieu extérieur permet donc de favoriser la croissance des

plantes ou leur défense face aux modifications du milieu extérieur. Cette hypothèse est en partie vérifiée par le fait que la sensibilité des plants de tomate à *B. cinerea* diminue de 43 % après l'application de 22 doses d'UV-C successives de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>, menant à une dose d'UV-C cumulée de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>. La diminution de la sensibilité des plants de tomate à *B. cinerea* suite à l'application de traitements UV-C différents a également été démontrée dans notre laboratoire chez la laitue et la tomate (Annexes 2 et 3). De plus, lorsque nous prêtons plus d'attention à la manière dont *B. cinerea* se développe sur la surface des feuilles, nous remarquons que le champignon a tendance à rester au niveau de l'implant mycélien sur les feuilles traitées aux rayonnements UV-C. *B. cinerea* n'arrivant pas à s'installer et se développer sur les feuilles traitées aux rayonnements UV-C, ce dernier sporule indiquant qu'il est en mode de survie (mode de conservation par la production de spores et dissémination pour la survie de l'espèce). Les feuilles de tomate possèdent des trichomes à leur surface. Ces trichomes sont riches en métabolites secondaires et jouent un rôle clé dans la résistance aux agents pathogènes. En accord avec Calo *et al.* (2006), les trichomes contiennent des composés antimicrobiens pouvant réduire la croissance de *B. cinerea* chez *A. thaliana*. Les trichomes ont la capacité de sécréter des exudats ayant une activité antifongique (Lai *et al.*, 2000). Ainsi, nous pouvons penser que l'induction de la résistance des plants de tomate est probablement due au relargage de métabolites secondaires sur la surface des feuilles traitées aux rayonnements UV-C ou à des modifications structurales comme l'apposition de cire. Dans l'étude menée en Annexe 5, nous avons démontré que les filaments mycéliens de *B. cinerea* présents à la surface des feuilles traitées aux rayonnements UV-C sont moins vigoureux. Ceci pourrait alors expliquer leur pénétration faible dans le parenchyme foliaire. Dans la plupart des cas, les barrières structurales au niveau de l'épiderme jouent le rôle de première ligne de défense contre *B. cinerea* (Jarvis, 1980 ; Elad, 1997), alors que la production de phytoalexines et les réponses associées à la synthèse du JA et de l'éthylène sont induites successivement et jouent un rôle équivalent dans le ralentissement du développement du champignon (Jarvis, 1980 ; Stratmann, 2003). L'initiation de l'infection de *B. cinerea* stimule la production de lignine et de subérine au site

---

d'infection pour rendre les cellules de la paroi plus rigides dans le but de réduire la colonisation du champignon (Darras *et al.*, 2006).

Dans cette même étude, nous nous sommes intéressés à l'impact que pouvait avoir les traitements UV-C appliqués en cours de culture sur les fruits de tomate produits. Tout d'abord, nous avons remarqué que les traitements UV-C permettaient d'atteindre le stade 4 de maturité (stade « rosé ») plus rapidement sur la grappe 3. Nous pouvons alors parler de précocité de maturation. Bacci *et al.* (1999) ont démontré que les traitements UV-C engendraient un rougissement plus précoce des tomates en comparaison avec le groupe contrôle non traité. Dans cette même étude, la précocité de la maturation des tomates était accompagnée d'une réduction de la taille des fruits. Ce fait n'a pas été observé dans nos expérimentations. Comme les plants de tomate, les fruits issus de plants traités aux rayonnements UV-C ont une sensibilité diminuée de 31 % face à *B. cinerea*. Ce constat est observé uniquement pour la grappe 3 dont les plants ont subi une dose d'UV-C supplémentaire (dose cumulée de 4,4 kJ/m<sup>2</sup>, soit 22 traitements UV-C successifs) que la grappe 2 (dose cumulée de 3,8 kJ/m<sup>2</sup>, soit 19 traitements UV-C successifs). Les fruits provenant de plants traités aux rayonnements UV-C pendant la phase de culture sont moins susceptibles à *B. cinerea* sûrement dû à une accumulation des transcrits de gènes codant pour des réponses de défense tels que *PR-1* (protéine liée à la pathogénèse) et  *$\beta$ -1,3-Gluc* ( $\beta$ -glucanase) (Oliveira *et al.*, 2016).

Le but de cette étude était d'avoir des fruits de tomate moins sensibles à *B. cinerea* grâce à l'application de doses hormétiques d'UV-C mais également des fruits ayant une bonne conservation en post-récolte. Les fruits de tomate issus des plants traités aux UV-C avaient une perte en eau plus lente. L'évolution de la couleur est l'un des paramètres utilisés pour évaluer la progression de la maturation des fruits. Cependant, aucune différence n'a été observée concernant l'évolution de la couleur des fruits. Ce résultat est en désaccord avec les travaux menés par Obande *et al.* (2011) qui ont démontré que les fruits de tomate traités aux rayonnements UV-C en cours de culture avaient un retard pour atteindre le stade de

maturité rouge. Il est bien établi que la maturation des fruits est un phénomène très complexe impliquant de nombreux mécanismes physiologiques dont le fonctionnement dépend des conditions environnementales mais aussi des espèces végétales. La couleur rouge des fruits est donnée principalement par le paramètre  $a^*$  et est en lien avec la teneur en lycopène (Dong *et al.* 1995). Xie *et al.* (2015) ont rapporté que les traitements UV-C appliqués en cours de culture sur les fraisiers n'avaient pas d'impact sur la teneur en anthocyanines des fraises. Dans notre étude, nous avons également mesuré l'acidité des fruits. Les fruits de tomate issus des plants traités aux rayonnements UV-C étaient généralement plus acides. Ce résultat fait écho aux études menées par Ait-Barka *et al.* (2000a,b) qui avaient démontré que les fraises traitées aux rayonnements UV-C en post-récolte avaient une TA plus élevée. Similairement, Lu *et al.* (1991) ont rapporté une TA plus élevée et un pH plus faible chez les pêches et les pommes traitées aux rayonnements UV-C. Cet effet sur l'acidité des fruits peut être plus ou moins contrasté car Shin *et al.* (2012) n'a pas montré d'impact significatif sur les fraises alors que Charles *et al.* (2016) ont montré une TA plus élevée et un pH plus élevé chez les fruits de tomate traités aux rayonnements UV-C. Cette acidité élevée peut être un lien direct avec la diminution de la sensibilité des fruits de tomate à *B. cinerea*. En effet, *B. cinerea* a besoin de sucres pour son installation et son développement sur les fruits. Or en ayant des fruits de tomate plus acides, les conditions d'installation pour *B. cinerea* ne sont pas optimales. Un autre élément à prendre en compte serait sûrement la teneur en composés phénoliques dans les fruits qui pourraient être en partie responsable de la résistance observée des fruits à *B. cinerea*. Nous pouvons également supposer que l'augmentation de la résistance des fruits associée aux traitements UV-C peut être en lien étroit avec la biosynthèse de phytoalexines (Charles *et al.*, 2008a-d ; Windram *et al.*, 2012). Stevens *et al.* (1998) ont trouvé des teneurs en  $\alpha$ -tomatine, un glycoalcaloïde préformé ayant un rôle d'antifongique, dans les tomates traitées aux rayonnements UV-C et qui ont de ce fait développé une résistance à *Rhizopus stolonifer*. Dans le but de comprendre cette diminution de sensibilité des fruits de tomate, nous avons réalisé des dosages de composés phénoliques. Seule la teneur en rutine et ses dérivés est augmentée dans les fruits

de tomate issus des plants traités aux rayonnements UV-C. La rutine est un antioxydant faisant parti de la famille des flavonoïdes et est chimiquement très proche de la quercétine. Cet antioxydant pourrait participer à la résistance des fruits de tomate face à *B. cinerea*.

En parallèle, nous avons également démontré qu'il était possible de diminuer la sensibilité des fruits de tomate de 63 % après l'application d'une seule dose d'UV-C de 3,70 kJ/m<sup>2</sup> en post-récolte. D'après les travaux menés par Charles *et al.* (2008a-d), la résistance à *B. cinerea* des fruits de tomate traités aux rayonnements UV-C seraient due à la formation de barrières structurales (CWSZ, *cell wall stacking zone*). Cependant, dans ces mêmes études menées par Charles *et al.* (2008a-d), une augmentation de la sensibilité à *B. cinerea* avait été observée dans les premières heures après le traitement UV-C post-récolte. Cette différence peut être due à l'intensité du traitement et non pas uniquement à la dose UV-C prise en compte dans chaque étude. En effet, Côté *et al.* (2013) ont démontré qu'au-delà de la dose totale administrée aux fruits, l'intensité du rayonnement est un facteur clé pouvant affecter l'efficacité des traitements. Une application des traitements UV-C à haute intensité peut entraîner des réactions oxydatives et des altérations des fruits favorisant alors la sensibilité du fruit. Il serait alors intéressant de déterminer les intensités maximales tolérées par les fruits dans le but d'optimiser les traitements UV-C et avoir les effets souhaités.

La maturité à la récolte est le facteur le plus important déterminant la durée de vie d'un fruit ainsi que sa qualité au court de sa conservation. Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'amélioration ni de détérioration des fruits de tomate en post-récolte suite à l'application de rayonnements UV-C directement sur les fruits. Il serait intéressant de réaliser des études à différents stades de maturité des fruits puisque Charles *et al.* 2009 ont étudié l'impact des UV-C sur la maturation des fruits de tomate lorsqu'elles étaient récoltées au stade vert.



## Chapitre V

Impact des radiations UV-C  
combinées à des agents de lutte  
biologique sur la sensibilité du  
fraisier à *Botrytis cinerea*

## I. Lutte biologique

### 1. Contexte

La protection biologique contre *B. cinerea* à l'aide de microorganismes antagonistes, tels que les champignons filamenteux, les levures et les bactéries, a été intensivement étudiée au cours des dernières décennies (Droby *et al.*, 2009 ; Elmer et Reglinski, 2006 ; Janisiewicz, 1998 ; Mari *et al.*, 2003 ; Paulitz et Belanger, 2001 ; Van Lenteren, 2000). Le contrôle biologique est également, en plus des rayonnements UV-C, une stratégie prometteuse pour lutter contre les agents pathogènes (Boff *et al.*, 2002 ; Card *et al.*, 2009 ; Cota *et al.*, 2009 ; Sutton *et al.*, 1997 ; Swadling et Jeffries, 1996) et contre *B. cinerea* en particulier (Nicot *et al.*, 2016). Des études ont démontré que le champignon *Microdochium dimerum*, souche L13, avait une bonne efficacité pour protéger les plaies d'effeuillage et les feuilles des plants de tomate contre les attaques de *B. cinerea* en culture sous abris (Bardin *et al.*, 2008 ; Nicot *et al.*, 2003). Un certain nombre de levures (dont *Pichia* et *Rhodotorula*) et de bactéries (dont *Bacillus* et *Pseudomonas*) ont également été signalées pour leur efficacité dans le contrôle de *B. cinerea* en post-récolte (Buck et Jeffers, 2004 ; De Meyer et Hofte, 1997 ; Elad *et al.*, 1994 ; Guetsky *et al.*, 2002).

Pour une efficacité maximale de protection des végétaux et dans le cas d'une gestion intégrée des maladies post-récolte, la combinaison de méthodes physiques (comme les traitements aux rayonnements UV-C) avec un agent de lutte biologique à l'aide de microorganismes antagonistes, a montré une meilleure efficacité de protection contre des maladies post-récolte des fruits, par rapport à un traitement seul (Janisiewicz et Conway 2010).

Nous émettons l'hypothèse que les traitements UV-C appliqués à la surface des feuilles de fraisier, en plus de leur effet inducteur des résistances de la fraise contre *B. cinerea*, pourraient favoriser l'accueil d'agents de lutte biologique



microbien en diminuant la quantité de microorganismes originellement présents sur les feuilles et en limitant ainsi la compétition avec ces microorganismes. Par leur action de désinfection de surface les rayonnements UV-C permettraient ainsi aux agents de lutte biologique de s'installer sur la feuille et donc de favoriser leur efficacité protectrice contre *B. cinerea*.

## 2. Principe de la lutte biologique

Nous parlons d'antibiose lorsque l'organisme antagoniste produit des métabolites secondaires toxiques pour l'agent pathogène cible. Des substances responsables de l'antibiose ont pu être caractérisées chez des souches appartenant à diverses espèces d'agents de lutte biologique (notamment *B. subtilis*, *Serratia plymuthica*, *P. fluorescens*), et les gènes impliqués dans la production de certaines de ces substances ont été identifiés (Duffy *et al.*, 2003 ; Raaijmakers *et al.*, 2002).

Nous parlons d'hyperparasitisme lorsque l'antagoniste est un parasite qui reconnaît spécifiquement sa cible. Il pénètre dans les cellules hôtes et entraîne sa destruction *via* la colonisation de ses organes. *Coniothyrium minitans* est par exemple un champignon hyperparasite de *Sclerotinia sclerotiorum*, capable de produire des enzymes dégradant les parois cellulaires de l'agent pathogène, telles que des chitinases ou des  $\beta$ -1,3-glucanases (Whipps et Gerlagh, 1992).

D'autres mécanismes d'action sont impliqués dans l'efficacité protectrice d'agents de lutte biologique, comme par exemple la compétition nutritive. Le champignon *B. cinerea* est très sensible à l'absence de nutriments : il a, par exemple, besoin de nutriments d'origine extérieure pour assurer la germination de ses spores (Elad, 1996). Certains microorganismes (bactéries, levures, champignons filamenteux) peuvent ainsi inhiber la germination des conidies de cet agent pathogène *via* la compétition pour des éléments nutritifs comme l'azote, le carbone, ou des macro-éléments ou micro-éléments présents dans le milieu (Blakeman et Fokkema, 1982 ; Elad et Stewart, 2004 ; Filonow, 1998). Le champignon antagoniste *Trichoderma harzianum*, souche T39, inhibe aussi la germination des

---

conidies de *B. cinerea* en rentrant en compétition pour les nutriments à des stades précoces de l'interaction (Zimand *et al.*, 1996).

### 3. Agents de lutte biologique utilisés dans cette étude

#### *a. Sérénade® : Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* est une bactérie GRAM-positif que nous retrouvons habituellement dans le sol et qui est ubiquitaire. Sérénade® (Bayer CropScience) est une préparation à base de la souche QST 713 de *B. subtilis*. Cette bactérie, en plus d'un effet direct antagoniste, confère une activité de stimulation des défenses des plantes à large spectre (données produit : [www.bayer-agri.fr/produits/fiche/fongicides-serenade-max/](http://www.bayer-agri.fr/produits/fiche/fongicides-serenade-max/)). Sérénade n'est pas homologuée en France sur fraisier mais a montré une efficacité intéressante sur cette plante contre *B. cinerea* (Nicot *et al.*, 2013).

#### *b. Prestop® : Gliocladium catenulatum*

*G. catenulatum* est un champignon naturellement présent dans certains sols. Ce champignon a une action antagoniste directe vis-à-vis de *B. cinerea* (données produit : [www.lallemandplantcare.com/products/prestop-hpm/](http://www.lallemandplantcare.com/products/prestop-hpm/)). Le produit Prestop® (Lallemand) préparé à base de ce champignon est homologué en France pour contrôler la pourriture grise sur fraisier (<https://ephy.anses.fr/>).

## II. Résultats et interprétation

Ce chapitre est rédigé sous la forme d'un article soumis lors du congrès IOBC-WPRS en 2018 (Figure 62).

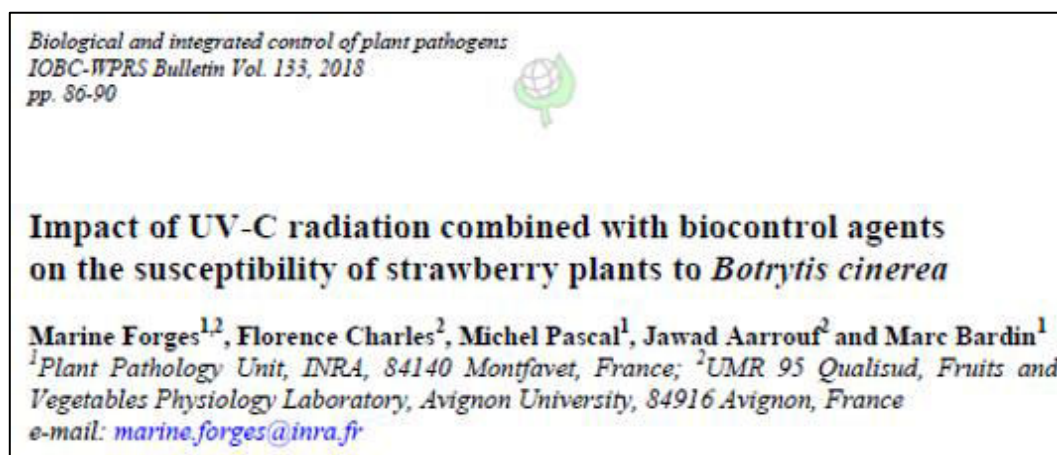


Figure 62 : Article défendu au congrès IOBC-WPRS en 2018.

### 1. Abstract

In order to enhance biocontrol efficacy against plant diseases, the combination of different control methods together with a given biocontrol agent can be achieved. In this study we have tested the effect of combining UV-C radiation with the application of biocontrol agents (*Bacillus subtilis* and *Gliocladium catenulatum* based products) against *Botrytis cinerea* on strawberry. We hypothesize that UV-C radiation applied on plants previously to biocontrol treatment, in addition to its induced resistance effect, will somehow disinfect leaves thus limiting the competition of inoculated biocontrol agents with the phyllosphere microorganisms and then promoting its development and its efficacy. We have shown that, despite the confirmed germicidal effect of UV-C radiation, this treatment applied on plants before treatment with biocontrol agent has no effect on

the level of efficacy of the biocontrol agents or even it tends to lower their efficacy. Work is in progress to understand mechanisms involved and to evaluate the effect of this combination of treatments on other plant species.

## 2. Introduction

Several microorganism-based products are now registered worldwide to control *Botrytis cinerea* on various crops, including strawberry (Nicot *et al.*, 2016). However, the efficacy of biocontrol agents is generally considered as insufficient or inconsistent in field conditions thus promoting their use as components of an integrated disease management scheme. Increased biocontrol efficacy may then be achieved by combining various methods of protection.

Pre- or post-harvest treatment of plants or fruits with UV-C radiation has proven to be a promising tool for controlling plant pathogens. Results suggested for instance that UV-C treatment induced disease resistance against *B. cinerea* in lettuce (Vasquez *et al.*, 2017), in pepper (Mercier *et al.*, 2001) or in strawberry fruit (Jin *et al.*, 2017). Combination of UV-C treatment with biocontrol agents has so far been successfully tested for the treatment of post-harvest diseases (Huang *et al.*, 2015; Janisiewicz and Conway, 2010).

In this study, the objective was to evaluate the protective effect of the combination of UV-C radiation and biocontrol agents (*Bacillus subtilis* and *Gliocladium catenulatum* based products), both delivered on whole strawberry plants, against the development of *B. cinerea* on leaves. We hypothesize that UV-C radiation applied on the plants, in addition to its induced resistance effect, reduces the amount of microorganisms naturally existing on leaves, thus limiting the competition of the inoculated biocontrol agents with the phyllosphere microorganisms and then promoting its development and its efficacy.

### 3. Material and methods

#### *a. UV-C treatments*

The device used for the plant treatments with UV-C is a closed box having a ceiling light with 9 UV-C lamps (DSP tube UV-C, OSRAM HNL, 24 W) of 254 nm. Strawberry plants are placed in the box at 40 cm from UV-C lamps. UV-C dose calculation is done through measurements of light intensity at a given time, performed with a radiometer positioned at 40 cm from the ceiling light. The duration of UV-C radiation is 1 min and 44 sec to obtain 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 3 min and 28 sec to obtain 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. Plants were treated with UV-C radiation four times every other day. The last UV-C treatment was realized 2 days before inoculation of *B. cinerea*. Strawberry plants without any UV-C treatments were used as control. Four plants are processed at the same time in the box. To avoid the restorative effect of white light (Mercier *et al.*, 2001), plants are placed in the dark for 15 hours after each UV-C treatment.

#### *b. Estimation of phyllosphere microbial population*

In order to estimate the total number of microorganisms (fungi and bacteria) present on leaves, upper-leaflet imprints (three leaflets per modality and medium) were realized on PDA medium (*Potato Dextrose Agar*, 39 g/L, Sigma-Aldrich) and on TSA medium (*Tryptic Soy Agar*, 40 g/L, Sigma-Aldrich). Colonies were numbered on both nutritive media after three days of incubation at 21 °C (14 hours of photoperiod at 114 µmol/s/m<sup>2</sup>). UV-C treated plants were compared to the non-treated control plants.

### *c. Biocontrol agents*

The biocontrol agents tested were the fungus *Gliocladium catenulatum* (Prestop®, Lallemand) registered in France on strawberry against *B. cinerea* (<https://ephy.anses.fr/>), and prepared at a concentration of 1 % (m/V), and the bacterium *Bacillus subtilis* QST713 (Serenade®, Bayer CropScience) used at 8 g/L. This bacterium-based product has proved to be effective on strawberry leaves against *B. cinerea* (Nicot *et al.*, 2013). Plants were sprayed once with a suspension of the commercialized product until run-off 2 days before inoculation. In the case of treatment combination, biocontrol agent was applied 4 hours after the last UV-C treatment.

### *d. Assessing susceptibility of strawberry leaves to B. cinerea*

The strain Bc1 of *B. cinerea* was used throughout this study. It was grown 3 days on PDA medium in a growth chamber (21 °C, 14 hours of photoperiod at 114 µmol/s/m<sup>2</sup>) and mycelial plugs of 5 mm diameter taken from the growing margin of the culture were used as inoculum.

To evaluate the susceptibility of strawberry leaves, a test on detached-leaflets was realized. To this end, leaves were detached and leaflets were placed on moistened filter paper in transparent polystyrene boxes and inoculated with a mycelium plug in the center of the leaflet. Following inoculation with Bc1, leaflets were then placed in a growth chamber (21 °C, 14 hours of photoperiod at 114 µmol/s/m<sup>2</sup>). Leaflets were photographed every day between the third and the seventh days after inoculation and lesion areas were assessed with Image J software. The rate of lesion development (cm<sup>2</sup>/day) was calculated between the 3rd and the 6th day for each leaf. The area under the disease progress curve (AUDPC) was also calculated to determine the level of susceptibility of the strawberry plants. To compare the protection induced to the leaves by the different treatments realized, a protection index was computed as:

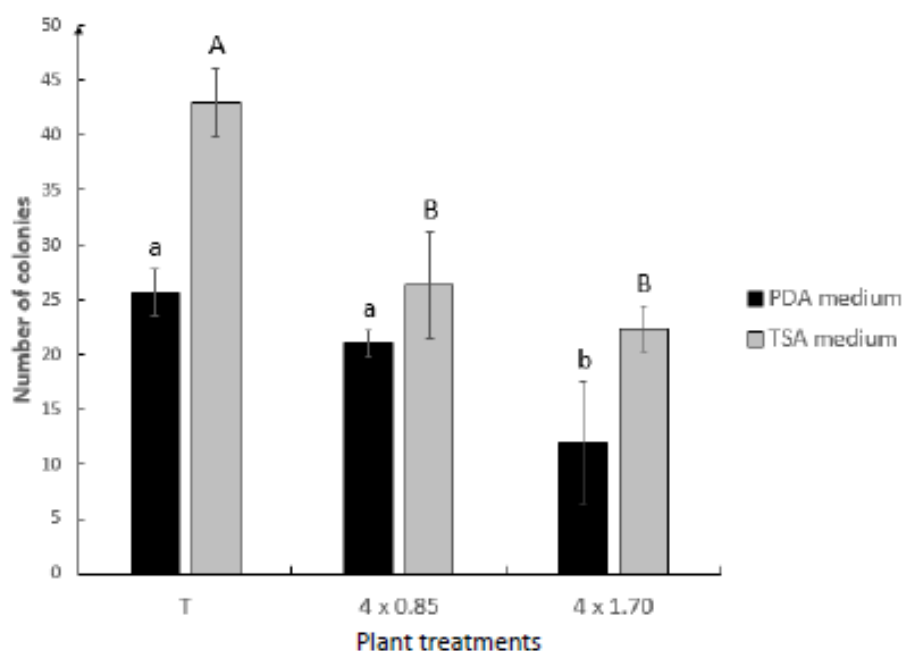
---

$$\% \text{ Protection} = 100 \times (\text{AUDPC}_{\text{untreated}} - \text{AUDPC}_{\text{treated}}) / \text{AUDPC}_{\text{untreated}}$$

#### 4. Results and discussion

##### *a. Impact of UV-C radiation on phyllosphere microflora*

After successive UV-C radiation of the plants, a decrease in the total number of microbial colonies (bacteria and fungi) was observed on both nutritive media PDA and TSA in a dose-dependent manner (ANOVA, p-value < 0.05; Figure 63). This suggests that UV-C radiation has a direct germicidal effect on phyllosphere microorganisms, thus partially degrading a part of the indigenous microbial community present on strawberry leaves.



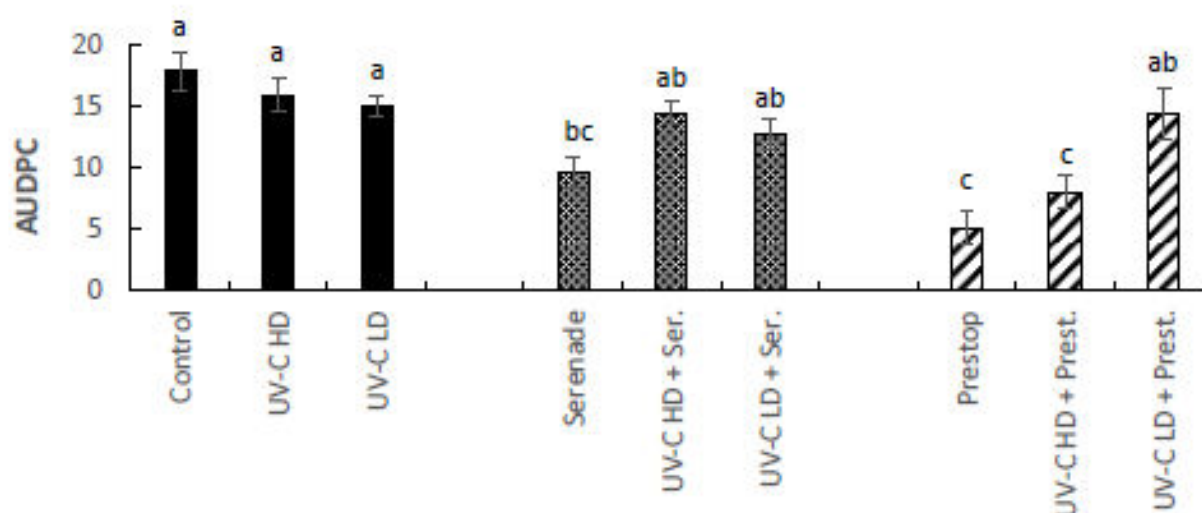
**Figure 63:** Number of microbial colonies recovered from leaf imprints on two nutritive media (PDA and TSA) after successive UV-C treatments of the whole strawberry plants. Plants were treated with UV-C radiation 4 times every two days at two different doses (0.85 and 1.70 kJ/m<sup>2</sup>) and untreated plants were used as control (T). Colonies were numbered 3 days after inoculation. The error bars show the standard error of the mean. Lower case letters indicate significant differences identified between different modalities tested on PDA medium and in upper case for modalities tested on TSA medium (standard error, NKT, p-value < 0.05).

*b. Impact of UV-C radiation combined with biocontrol agents on *B. cinerea* development*

A significant treatment effect was observed on the rate of lesion development (ANOVA, p-value < 0.0001) or on AUDPC values (Figure 64; ANOVA, p-value < 0.0001). UV-C radiation on the whole plant provides a slight but non-significant protection of the leaves towards *B. cinerea* (11 % and 16 %,



respectively for 1.70 and 0.85 kJ/m<sup>2</sup>). Protective efficacy against *B. cinerea* on strawberry leaves with Serenade and Prestop applied alone reaches 47 % and 72 %, respectively. The combination of both treatment (UV-C + biocontrol agent) provides a protective efficacy against *B. cinerea* of 19 % and 29 % with Serenade for 1.70 and 0.85 kJ/m<sup>2</sup> of UV-C radiation delivered on the plants, respectively. It provides a protective efficacy of 55 % and 20 % with Prestop, for 1.70 and 0.85 kJ/m<sup>2</sup> of UV-C radiation delivered, respectively. Therefore, UV-C treatments carried out before the biocontrol treatment did not increase the protection efficacy provided by the biocontrol agent. Rather, it systematically reduced the protective efficacy of the biocontrol agent used alone even if this effect was not always significant.



**Figure 64:** Susceptibility of strawberry leaves to *B. cinerea* after UV-C radiation at high dose (HD, 4 × 1.70 kJ/m<sup>2</sup>) and at low dose (LD, 4 × 0.85 kJ/m<sup>2</sup>), after biocontrol treatment (Serenade, Prestop), and after the combination of UV-C radiation and biocontrol treatments. The error bars show the standard error of the mean. Letters indicate significant differences identified between the different treatments (standard error, NKT, p-value < 0.05).

## 5. Conclusions and perspectives

In the present study, we evaluated the impact of UV-C radiation combined with biological control agents on the susceptibility of strawberry plants to *B. cinerea*.

In most cases, UV-C radiation applied on the plants before the treatment with a biocontrol agent has no significant effect on its efficacy. In one case it significantly lowers the level of efficacy of the biocontrol agent. It suggests that UV-C treatment, despite its germicidal effect on the phyllosphere microflora, does not favor the installation and the efficacy of the biocontrol agent. Different hypothesis may explain these results. Firstly, UV-C radiation applied on the plants induce the synthesis of antimicrobial defense metabolisms such as phytoalexins (Marti *et al.*, 2014) that may have a direct effect on the installation of the biocontrol agents. Secondly the degradation of the superficial tissues of the plant due to UV-C treatment may prevent a proper installation of the biocontrol agents. Microscopic observations and metabolomics studies will be carried out to test these hypotheses.

To determine whether this phenomenon is universal, the combination of the two treatments will be tested on other plant species and against other plant pathogens.

## 6. Acknowledgments

A PhD scholarship was provided by the TERSYS Research Federation (University of Avignon, France) for Marine Forges. Research on plant biology depends heavily on the cultivation of plants under experimental conditions that are controlled, monitored and repeatable. For ensuring a perfect plant production, the contribution of the Plant Production and Environmental Management Service of the Plant Pathology Research Unit is greatly appreciated.



## Chapitre VI

Discussion, conclusion et  
perspectives

## I. Discussion générale

Initialement les rayonnements UV-C étaient couramment utilisés du fait de leur pouvoir germicide sur les microorganismes (Paul et Gwynn-Jones, 2003). Ce pouvoir de désinfection est très intéressant mais peut, cependant, être nocif pour les plantes.

En effet, le développement de la vie des plantes terrestres est possible grâce au développement de la couche d'ozone qui joue le rôle d'un écran vis-à-vis des rayonnements solaires UV au niveau de la stratosphère. Ce filtre absorbe les rayonnements de type UV-B (dont la longueur d'onde varie entre 280 nm et 315 nm) et surtout, ceux de type UV-C (dont la longueur d'onde est inférieure à 280 nm). Les longueurs d'ondes associées à ces rayonnements sont biologiquement actives et plus énergétiques, mais elles sont aussi les plus agressives dues à la destruction de la couche d'ozone qui laisse passer plus de rayonnements.

L'intérêt porté à l'étude des effets des rayonnements UV sur les plantes prend de plus en plus d'ampleur, étant donné les effets néfastes qu'ils peuvent occasionner sur la physiologie des plantes et, par conséquent, sur leur croissance et leur développement. En effet, les rayonnements UV-C entraînent, à des doses délétères, un dysfonctionnement du PSII, site primordial du déroulement des processus photosynthétiques, par l'altération du complexe oxydatif de l'eau (DeLong et Steffen, 1997). Ils peuvent également induire une diminution de la teneur en chlorophylle et de l'activité de la rubisco, ce qui provoque un ralentissement de l'activité photosynthétique (Jordan *et al.*, 1992) dont découle un rendement agricole médiocre. Une autre manifestation de l'exposition des tissus végétaux à ces doses d'UV est la production d'espèces oxygénées hautement réactives ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{HO}\cdot$ ) qui attaquent les macromolécules et les membranes cellulaires (Arnott et Murphy, 1991).

Outre ces effets négatifs, les rayonnements UV-C peuvent exercer des effets protecteurs vis-à-vis de stress biotiques et abiotiques que subissent les plantes. Ainsi, ils peuvent être mis à profit pour stimuler les réactions de défense des produits horticoles vis-à-vis des agents pathogènes présents en post-récolte (Urban *et al.*, 2016, 2018). De plus, les traitements aux rayonnements UV-C peuvent être exploités pour augmenter la durée de conservation des fruits et légumes (Urban *et al.*, 2016, 2018). Un traitement post-récolte de certains fruits et légumes permet également d'accroître leur teneur en composés bioactifs bénéfiques pour la santé humaine (Urban *et al.*, 2016, 2018).

Tout au long de ces trois années de thèse, nous nous sommes intéressés à la stimulation des réactions de défense des plantes par des rayonnements UV-C et l'évolution de la qualité des fruits. Ces travaux ont été menés sur deux espèces végétales : le fraiser et la tomate. Nous avons donc étudié l'effet des rayonnements UV-C lorsqu'ils étaient appliqués avant récolte ou après récolte sur i) le niveau de sensibilité des plantes et de leurs fruits vis-à-vis de différents agents pathogènes, ii) la qualité des fruits en post-récolte, et iii) l'efficacité protectrice d'agents de biocontrôle vis-à-vis de *B. cinerea*.

L'un de nos principaux défis dans la présente étude était de trouver des doses d'UV-C à la fois efficaces pour induire une résistance du fraiser et de la tomate vis-à-vis de différents agents pathogènes, sans qu'elles ne soient délétères pour les plants, tout en améliorant la qualité de leurs fruits. Nous avons exploité les données de la littérature (Urban *et al.*, 2016, 2018) pour définir les doses d'UV-C que nous avons sélectionnées pour nos essais. Les rayonnements UV-C sont très souvent utilisés dans l'agroalimentaire pour leur effet germicide et donc pour contrôler le développement de maladies sur les fruits en post-récolte et ainsi pour augmenter leur durée de vie (Liu *et al.*, 1993 ; Lu *et al.*, 1987 ; Maharaj, 1995 ; Mercier *et al.*, 2001 ; Mercier et Arul, 1993 ; Siddiqui *et al.*, 2011 ; Stevens *et al.*, 1990 ; Wilson *et al.*, 1997 ; Terry et Joyce, 2004). Récemment, des études menées dans notre laboratoire ont montré que l'application d'UV-C à des doses faibles (de l'ordre de

1,0 kJ/m<sup>2</sup>) peut aussi stimuler des réactions biologiques. Ces doses sont appelées doses hormétiques car elles ont les bénéfices attendus, c'est-à-dire qu'elles permettent de réduire la présence de l'agent infectieux par l'activation de mécanismes de défense des plants / fruits, tout en ne dégradant pas ces derniers. Vasquez *et al.* (2017) ont ainsi démontré que des plantes de laitue traitées à des doses non délétères d'UV-C manifestent une diminution de leur sensibilité à *B. cinerea*. La stratégie de stimulation des défenses des plantes par les rayonnements UV-C en vue de lutter efficacement contre un agent pathogène pourrait peut être revenir à étudier le phénomène de « priming ». Les stress spécifiques et modérés subis par les plantes avec des rayonnements UV-C peuvent les aider à mieux tolérer d'autres formes de stress ultérieurs tels que l'attaque d'agents pathogènes (Beckers et Conrath, 2007). Le « priming » ou la potentialisation est donc la préparation de la plante à un état physiologique qui permet à la plante d'induire plus vite et/ou plus intensément ses mécanismes de défense lorsqu'elle est soumise à un stress biotique ou abiotique (Conrath *et al.*, 2006). C'est avec cette hypothèse que nous avons orienté nos idées de travail. Les travaux menés et les résultats obtenus dans cette thèse sont synthétisés dans la Figure 65.

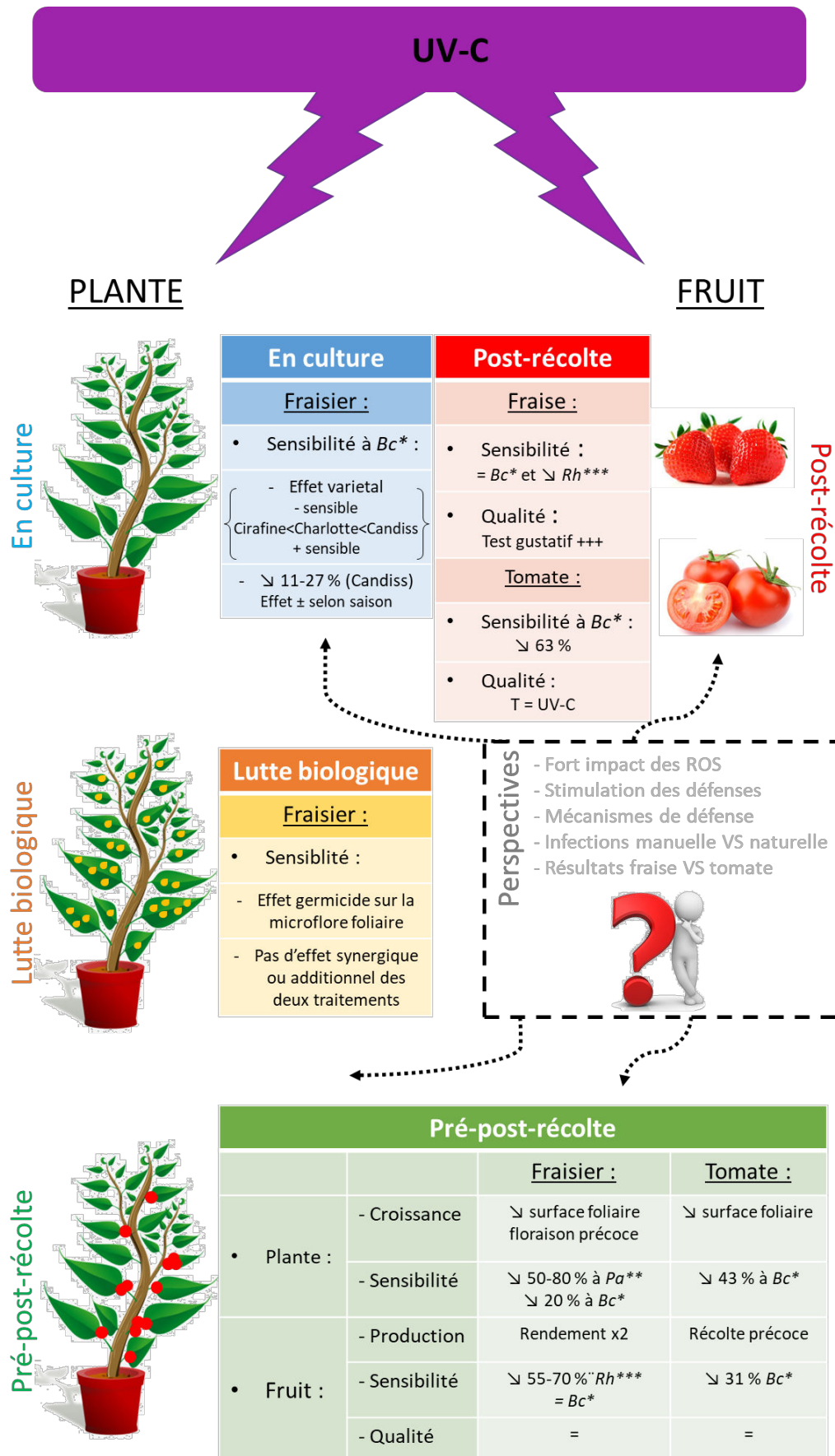




Figure 65 : Schéma récapitulatif des travaux menés au cours de la thèse.

L'hypothèse de départ était qu'il est possible d'améliorer la sensibilité des plantes à *B. cinerea* par l'application de rayonnements UV-C en cours de culture et améliorer la qualité des fruits en post-récolte. Ce schéma synthétise les principaux résultats obtenus ainsi que les points de questionnement et les perspectives.

### 1. Effets des rayonnements UV-C sur la croissance, la floraison et la sensibilité des plants de fraisier et de tomate

Au début de la thèse, l'un des principaux défis consistait à trouver une dose UV-C permettant à la plante de se défendre efficacement contre les agents pathogènes. Par conséquent, nous avons appliqué une gamme de doses de rayonnements UV-C sur la base de résultats antérieurs obtenus sur diverses espèces végétales (Casati et Walbot, 2004 ; Frohnmeyer et Staiger, 2003 ; Vasquez *et al.*, 2017 ; Urban *et al.*, 2016, 2018). Nous avons démontré que les traitements utilisant de faibles doses d'UV-C (allant de 0,20 kJ/m<sup>2</sup> à 1,70 kJ/m<sup>2</sup>) diminuent la sensibilité à *B. cinerea* de 20 % à 40 % chez le fraisier et la tomate. Ces résultats sont conformes avec ceux obtenus sur la laitue par Vasquez *et al.* (2017) vis-à-vis de *B. cinerea*. Cependant, la dose et la fréquence d'application des rayonnements UV-C sont différentes selon les espèces végétales pour avoir un même pourcentage d'efficacité. La différence de réceptivité des plantes aux rayonnements UV-C est donc liée à l'espèce végétale. Nous avons de plus montré au cours de cette étude qu'il peut également être lié au niveau de résistance de base des plantes aux agents pathogènes. Nos résultats sur fraisier suggèrent ainsi que parmi les trois variétés utilisées (Cirafine, Charlotte et Candiss), celle présentant le niveau de sensibilité de base le plus élevé vis-à-vis de *B. cinerea* est celle qui réagit le plus fortement aux rayonnements UV-C (à savoir Candiss) en induisant une moindre sensibilité à l'agent pathogène. La variété Cirafine était la plus résistante, alors que la variété

Candiss était la plus sensible et que la variété Charlotte présentait une résistance intermédiaire. Ces constatations sont étayées par des observations cytologiques qui démontent que la pénétration de *B. cinerea* est plus profonde chez la variété Candiss. Ce comportement peut être relié à la teneur en phénols liés à la paroi cellulaire. Il est connu que lors de l'interaction plante / *B. cinerea*, les barrières structurelles de l'épiderme servent de ligne de défense (Jarvis, 1980 ; Elad, 1997). Dans nos essais, après inoculation, les phénols liés aux parois augmentent de 15 % dans les feuilles de la variété Cirafine contrairement aux variétés Charlotte et Candiss, qui étaient les plus sensibles à *B. cinerea*. Dans ce cas, l'effet bénéfique des rayonnements UV-C est significatif aux doses de 0,85 kJ/m<sup>2</sup> et 1,70 kJ/m<sup>2</sup> appliquées sur les fraisiers tous les deux jours pendant une semaine. Au contraire, l'application de ces rayonnements UV-C sur la variété Cirafine (variété la plus résistante) n'a pas d'effet sur sa sensibilité à *B. cinerea* ou même dans certaines conditions, elle tend à accroître sa sensibilité à cet agent pathogène. Ces résultats suggèrent que la dose et le mode d'application d'un traitement UV-C doit être défini pour chaque espèce végétale et chaque variété afin de définir un effet bénéfique (augmentation du niveau de résistance) et non délétère (augmentation de la sensibilité). Des études antérieures ont également montré aussi que la dose optimale d'UV-C pour obtenir des effets bénéfiques dans les cultures dépend des espèces végétales (Mercier *et al.*, 1993b ; Baka *et al.*, 1999 ; Maharaj *et al.*, 1999 ; Mercier *et al.*, 2001). À notre connaissance, il existe peu d'études montrant l'impact de la variété de plante sur l'efficacité du traitement aux rayonnements UV-C. Deux variétés de *Pelargonium x hortorum* ont été testées dans une étude antérieure, où le traitement avec des rayonnements UV-C réduisait la sensibilité à *B. cinerea* de 47 % pour les deux cultivars (Darras *et al.*, 2015).

Les plantes sont souvent soumises à différents agents pathogènes dans leur environnement. Une diminution de la sensibilité des fraisiers traités aux rayonnements UV-C allant de 50 à 80 % vis-à-vis de l'agent de l'oïdium a été observée. Dans ce cas, les traitements UV-C pourraient avoir à la fois un effet germicide et un effet de stimulation de défense des plantes. Les traitements UV-C dispensés après la floraison et pendant toute la culture peuvent agir directement sur

les champignons qui peuvent contaminer les plants lors de toute la période de croissance. Par contre, le traitement unique avant floraison (c'est-à-dire 6 semaines avant récolte) et induisant une diminution de la sensibilité des feuilles de fraisier, met en évidence une stimulation des défenses de la plante par les rayonnements UV-C et qui perdure dans le temps.

La capacité des plantes à mobiliser des ressources pour se défendre ne dépend pas seulement de l'activation de gènes de défense, elle dépend aussi de la disponibilité des précurseurs de composés de défense qui est déterminée par le bilan de carbone et les relations sources-puits. La plante mobilisera davantage de métabolites pour se défendre au détriment de sa croissance. D'autres traitements (doses x fréquences d'application) mériteraient d'être évalués dans des futures études pour identifier des modes de traitement potentiellement bénéfiques pour un grand nombre d'espèces végétales et de variétés de plantes sans altérer leur croissance ni leur rendement.

Dans notre étude portant sur la tomate et de fraisier, nous avons observé une légère diminution de la surface foliaire après des traitements successifs de rayonnements UV-C. Nous avons également observé une diminution de l'activité photosynthétique des plants de tomate après l'application du premier traitement UV-C à une dose de 0,20 kJ/m<sup>2</sup>, suggérant un impact direct des rayonnements UV-C sur la physiologie de la plante. Cependant, après le troisième traitement UV-C, l'activité photosynthétique des plants de tomate traités aux rayonnements UV-C et des plants non traités étaient similaires, mettant en évidence un phénomène d'acclimatation des plantes. Chez les plants de fraisier, l'examen des indicateurs de dommages à base de fluorescence chlorophyllienne, dont les données sur les indices de performance photosynthétique, montrent qu'une dose unique d'UV-C, dans l'intervalle 0,40 - 1,70 kJ/m<sup>2</sup>, n'est pas nocive. Effet intéressant, la floraison a été plus précoce lorsque les plants de fraisiers ont reçu des traitements UV-C. Ce résultat est conforme à deux études menées par Darras *et al.* (2012 et 2015), qui ont démontré que l'application des rayonnements UV-C stimule la floraison et

augmente la biomasse des plantes de géranium. Si la floraison est précoce, le cycle de production peut être effectué plus rapidement et donne plus de fruits mûrs à la récolte. Dans cette étude, nous avons observé que le rendement en fruits mûrs était plus élevé chez les fraisiers ayant reçu les rayonnements UV-C. Il en est de même chez la tomate puisque nous avons récolté les fruits de tomate issus des plants traités aux rayonnements UV-C plus tôt que ceux des plants de tomate non traités. Nos résultats sont en adéquation avec les résultats obtenus par Xu *et al.* (2017) qui ont également observé un rendement en fraises plus élevé lorsque les plants ont été traités aux rayonnements UV-C, sans qu'il n'y ait de différence significative en terme de poids des fruits. Cependant, dans une étude récente, le rendement en fruits a été diminué d'environ 20 % chez le fraisier suite à l'application de rayonnements UV-C à une dose de 0,50 kJ/m<sup>2</sup> (Oliveira *et al.*, 2016). Selon Tikkanen *et al.* (2014), lorsque l'énergie lumineuse absorbée par les pigments du PSII est plus élevée que l'énergie consommée, des dommages peuvent être engendrés comme une diminution de la production de fruits. Nous pouvons suggérer que les rayonnements UV-C sont suffisamment puissants pour stimuler l'initiation florale sans que la plante n'ait besoin d'étendre sa surface foliaire pour capter davantage de radiations lumineuses. Etant limitées, les sources de carbone générées par la photosynthèse doivent être utilisées à bon escient. Ici, la production des fruits est privilégiée au détriment de la croissance végétative.

## 2. Impact des rayonnements UV-C appliqués en pré-récolte ou en post-récolte sur la conservation des fruits

Notre seconde étude avait pour premier objectif d'examiner l'impact des rayonnements UV-C appliqués directement sur des fruits de fraisier et de tomate ; et pour second objectif, de tester l'hypothèse selon laquelle il est possible d'influencer l'état des défenses des fruits de fraisier et de tomate APRES récolte, et

donc leur qualité et leur potentiel de conservation, et cela en agissant AVANT récolte, en l'occurrence en stimulant la défense des fruits pendant la phase de culture par l'application de rayonnements UV-C sur les feuilles.

Lorsque les fruits du fraisier sont traités directement aux rayonnements UV-C après récolte, nous n'avons pas observé d'effet sur le développement de *B. cinerea* lorsqu'il était apporté manuellement. Pourtant, l'effet de stimulation des défenses des fraises traitées aux rayonnements UV-C a été clairement démontré dans notre travail lorsqu'il y a eu une contamination spontanée et naturelle par *Rhizopus* ou *B. cinerea*. La méthode d'inoculation artificielle du fruit pourrait être trop invasive et favorise ainsi le développement rapide de *B. cinerea* sur les fruits fragiles et riches en sucres. Ce résultat de stimulation des défenses des fraises par le traitement UV-C a été confirmé par le travail réalisé sur les fruits de tomate. Une diminution de la sensibilité à *B. cinerea* de 63 % a été enregistrée chez les fruits de tomate traités aux rayonnements UV-C puis inoculés. Ce résultat est en adéquation avec de précédentes études réalisées également sur tomate dans lesquelles il a été démontré que lorsque les rayonnements UV-C sont appliqués à des doses non délétères en post-récolte, ils permettent d'induire une résistance naturelle à *B. cinerea* (Mercier *et al.*, 1993 ; Charles *et al.*, 2008a-d ; Charles *et al.*, 2009). La diminution de la sensibilité devient plus marquée lorsque les fruits sont attaqués de manière spontanée et naturelle par des agents pathogènes. Ceci confirme notre hypothèse selon laquelle l'inoculation artificielle est plus agressive qu'une contamination naturelle.

Les mêmes observations ont été faites lorsque les traitements UV-C étaient appliqués en pré-récolte sur les feuilles de fraisier et des plants de tomate. Lorsque les fraises sont issues de plantes traitées aux rayonnements UV-C, nous n'avons pas observé d'effet sur le développement de *B. cinerea*. Cependant, l'effet de stimulation des défenses de ces fraises a été clairement démontré lorsqu'il y a eu une contamination spontanée par *Rhizopus* ou *B. cinerea* comme dans le cas des fraises traitées directement aux rayonnements UV-C. Ce résultat a été confirmé aussi par le travail réalisé sur la tomate. Une diminution de la sensibilité à *B. cinerea*

de 31 % a été enregistrée chez les fruits de tomate issus des plantes traitées aux rayonnements UV-C.

Si l'effet des rayonnements UV-C en post-récolte est connu dans la littérature, notre travail démontre pour la première fois l'impact des traitements UV-C en pré-récolte sur les fruits en post-récolte. La plante traitée aux rayonnements UV-C permet aux fruits de mieux réagir face à un agent pathogène après probablement perception d'un signal provenant de la plante.

En plus de l'effet SDP des rayonnements UV-C, ce travail démontre que les doses non délétères de ces rayonnements n'altèrent pas la qualité des fruits mais peut l'améliorer dans certaines conditions. L'équipe de Xie *et al.* (2016) a démontré que les traitements UV-C sur plantes (3,6 kJ/m<sup>2</sup>) améliorent la fermeté des fraises après récolte. En effet, lorsque nous avons traité directement les fraises avec les rayonnements UV-C, la perte de fermeté enregistrée est plus lente que pour celle des fruits non traités pendant leur conservation. L'inhibition de l'expression de gènes impliqués dans la dégradation de la paroi cellulaire peut expliquer ce maintien de la fermeté (Pan *et al.*, 2004 ; Pombo *et al.*, 2009 ; Severo *et al.*, 2015). Cependant, les fraises issues des plantes traitées aux rayonnements UV-C, il n'y avait pas de différence de changement de fermeté entre des fruits issus de fraisiers traités ou non avec des doses d'UV-C hormétique.

Outre la fermeté, la couleur est également un paramètre majeur pour suivre l'évolution de la maturation du fruit. Xie *et al.* (2016) ont observé une valeur significativement plus élevée pour le paramètre a\*, indice donnant la rougeur des fruits (plus le paramètre a\* est élevé, plus le fruit sera rouge). Cette augmentation de la couleur rouge des fruits signifie que la teneur en anthocyanines est plus forte (Severo *et al.*, 2016 ; Xie *et al.*, 2016). Dans notre travail sur la variété Candiss, lorsque le traitement est appliqué après la floraison et pendant toute la phase de culture, le seul attribut de couleur qui était significativement affecté par le traitement UV-C était la valeur b\*.

L'amélioration du goût et de la qualité nutritionnelle des fruits est devenue l'une des cibles prioritaires dans l'agriculture en plus d'un regain d'intérêt en ce qui

concerne les pratiques de cultures durables et respectueuses de l'environnement. Nous avons également effectué des tests en aveugle sur un panel de 30 consommateurs pour estimer la qualité sensorielle des fruits. Cette étude a montré que le traitement UV-C avant la récolte ne modifie pas le goût des fruits par rapport aux témoins. Cependant, les fraises qui ont été traitées directement par des rayonnements UV-C en post-récolte sont largement préférées par rapport aux fraises non traitées. Les consommateurs avaient préféré les fraises traitées aux rayonnements UV-C parce qu'elles semblaient plus sucrées. Cependant, nos analyses de composés primaires ou secondaires n'ont pas permis de mettre en avant des effets significatifs des traitements UV-C à la fois sur la fraise mais aussi sur la tomate. La formation des sucres et leur acheminement vers les fruits sont deux étapes déterminantes pour obtenir de bons fruits et répondre ainsi aux attentes des consommateurs. Cette étape du processus semble fortement influencée par le rapport feuille / fruit (Carlen *et al.*, 2005). Il semblerait que plus la surface foliaire disponible par quantité de fruits récoltés est élevée, plus la concentration en sucres des fruits est forte jusqu'à obtenir une concentration maximale en sucres. Cependant, nous avons vu plus tôt que les plants de fraisier et de tomate traités aux rayonnements UV-C avaient une surface foliaire plus petite que les plants n'ayant pas reçu de traitement. Malgré cette diminution de la surface foliaire, nous n'avons pas observé une diminution des sucres dans les fraises et les fruits de tomate issus de ces plants traités aux rayonnements UV-C. Nous n'avons observé aucune différence significative entre les fruits traités aux rayonnements UV-C et les fruits appartenant au groupe contrôle. Nous pourrions alors supposer que les teneurs en sucres sont augmentées avant récolte pour palier à cette diminution de la surface foliaire. Il serait intéressant de réaliser des études de métabolomique avec un nombre plus important d'échantillons pour dépasser la variabilité inter-individus et afin d'identifier les composés particuliers induits juste après les traitements UV-C. De plus, certains composés secondaires synthétisés au cours de l'adaptation et de la résistance de la plante au stress ont aussi un intérêt micronutritionnel comme les vitamines ou les composés antioxydants (constituant la "valeur santé" du fruit). Poiroux-Gonord *et al.* (2010) ont démontré qu'il était possible d'augmenter la

synthèse de vitamines et de micronutriments de type métabolites secondaires en agissant uniquement sur les facteurs environnementaux, avant ou après récolte.

### 3. Impact combiné des rayonnements UV-C et des agents de lutte biologique

L'obtention d'une résistance totale est un objectif difficile à atteindre avec seulement les rayonnements UV-C comme méthode de stimulation des défenses. Cette résistance est également difficile à atteindre avec l'utilisation d'agents de lutte biologique seuls. Ainsi, le contrôle biologique d'une maladie sur la base d'un seul mode d'action, peut entraîner une efficacité modérée et la combinaison de différents modes d'action est considérée comme une stratégie pour surmonter la variabilité dans le contrôle biologique des agents pathogènes (Elmer et Reglinski, 2006 ; Romanazzi *et al.*, 2016).

En conditions naturelles, les plantes sont souvent exposées à de multiples stress combinant des stress abiotiques et biotiques, ou bien des alternances de périodes de stress avec des périodes de récupération. Des études ont montré des similitudes concernant des mécanismes de réponse et d'adaptation de la plante aux différents types de stress abiotiques et/ou biotiques (Fujita *et al.*, 2006). Certaines stress ont des effets additifs qui peuvent être délétères pour le développement de la plante comme dans le cas d'un stress hydrique et d'un stress de chaleur (Mittler *et al.*, 2011). Cependant, la succession des stress abiotique et biotique peut avoir des effets positifs comme lors d'interactions entre un agent pathogène et un stress osmotique ou oxydatif (Wiese *et al.*, 2004). Pour améliorer la protection de la plante, nous avons donc évalué la combinaison de ces deux méthodes de protection sur fraisier vis-à-vis de *B. cinerea*.

Cependant, dans nos travaux, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet synergique ou même additif des deux traitements étudiés combinés à savoir



les rayonnements UV-C avec deux agents de lutte biologiques différents, *B. subtilis* (Sérénade®) et *G. catenulatum* (Prestop®). Malgré leurs modes d'action différents, la combinaison de ces traitements ne permet pas d'avoir une meilleure résistance des plants face à *B. cinerea*. Au contraire, il y a une réduction de l'efficacité de l'agent de lutte biologique chez les plantes exposées aux rayonnements UV-C. La réduction de l'efficacité du micro-organisme peut indiquer une interférence potentielle entre les deux traitements. Différentes hypothèses peuvent expliquer ces résultats. Premièrement, les rayonnements UV-C appliqués sur les plantes induisent la synthèse de métabolites de défense antimicrobiens tels que les phytoalexines (Marti *et al.*, 2014) qui pourraient avoir un effet direct sur l'installation des agents de lutte biologique sur la feuille. De plus, au cours de cette étude, nous avons démontré que le traitement des plantes par des rayonnements UV-C provoque une production de composés phénoliques et la synthèse de ROS. Il est tout à fait judicieux d'émettre l'hypothèse que ce stress oxydatif provoqué chez la plante par les traitements UV-C pourrait empêcher l'installation de l'agent de biocontrôle et par conséquent diminuer son efficacité. D'après Riesenman et Nicholson (2000), *B. subtilis* est très sensible à la production plus élevée de peroxyde d'hydrogène dans les plantes. Deuxièmement, l'altération superficielle des tissus en surface de la plante due aux traitements UV-C pourrait empêcher une installation correcte des agents de lutte biologique. Des observations microscopiques et des analyses biochimiques peuvent être réalisées pour répondre à ces hypothèses.

Pour résumé, les traitements UV-C, malgré leur effet germicide sur la microflore de la phyllosphère, ne favorisent pas l'efficacité protectrice des agents de lutte biologique testés contre *B. cinerea*. Ainsi combiner des traitements UV-C à des agents de lutte biologique nécessite davantage de recherche dans le but de comprendre l'interaction entre les deux méthodes afin d'améliorer l'efficacité de protection contre des agents pathogènes.

## II. Conclusion et perspectives

Il est de plus en plus évident que les rayonnements UV-C constituent un outil puissant pour stimuler les mécanismes d'adaptation des plantes aux contraintes biotiques et abiotiques. Ainsi, les perspectives agronomiques de la lumière UV-C deviennent suffisamment intéressantes pour inciter fortement les prochaines études à s'intéresser davantage à la compréhension des mécanismes de perception et de signalisation des rayonnements UV-C en relation avec la réaction de la plante aux bioagresseurs et les interactions avec d'autres facteurs environnementaux (Figure 66).

Le potentiel d'utilisation des rayonnements UV-C en pré-récolte mérite une évaluation plus poussée dans le but de diminuer la sensibilité de la plante et des fruits aux bioagresseurs et d'améliorer la qualité des fruits en post-récolte. Une perspective particulièrement intéressante serait par exemple de connaître la durée d'efficacité d'un traitement UV-C sur une plante : quelle durée d'efficacité à l'échelle de la vie de la plante ? Peut-on mesurer un effet sur la génération suivante ?

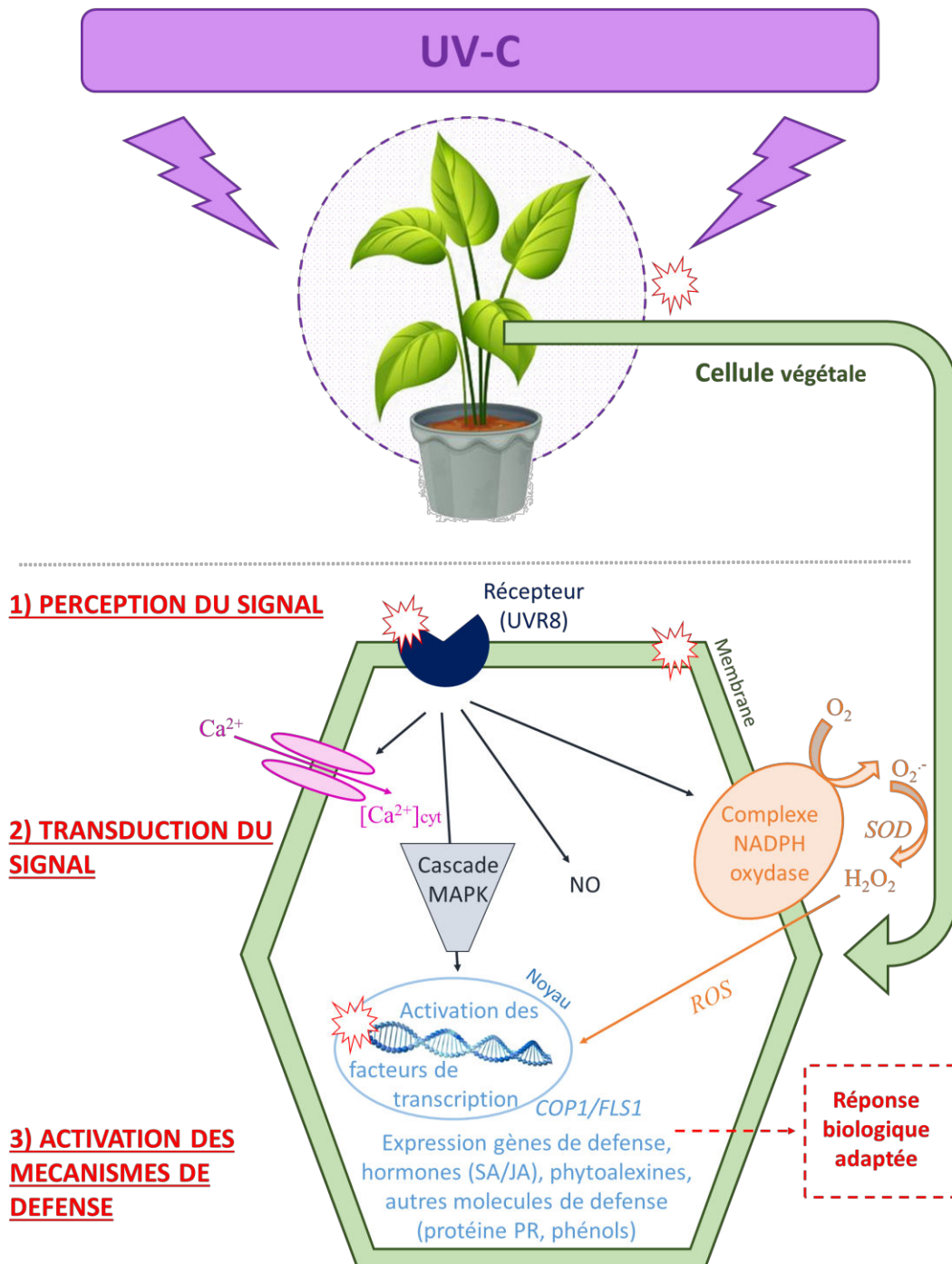


Figure 66 : Effet stimulant de la lumière UV-C sur les défenses des plantes. Représentation simplifiée des hypothèses concernant les effets directs et indirects de la lumière UV-C sur la machinerie des défenses des plantes.

Les mécanismes de perception et d'action des rayonnements UV-C sont encore mal connus. Cependant, l'existence d'effets biologiques positifs des rayonnements UV-C sur les plantes suggèrent l'existence de mécanismes de perception impliquant par la suite des voies de signalisation qui jouent un rôle dans le contrôle direct ou indirect des voies de défense des plantes. Il est certain, que les effets biologiques des rayonnements UV-C peuvent s'expliquer au moins partiellement par la production de ROS. Ces dernières ne sont forcément responsables de dégâts ou en tout cas de dégâts importants si elles ne s'accumulent pas excessivement (notamment lorsque les mécanismes antioxydants sont performants). Le stress oxydatif doit souvent être compris comme de la signalisation oxydative et est donc impliqué dans la régulation de nombreux processus physiologiques. Les rayonnements UV-C peuvent stimuler la production de ROS au niveau de la membrane par un effet stimulant sur l'activité de la NADPH oxydase (Urban *et al.*, 2016). Les ROS sont notamment impliquées dans le déclenchement et la régulation des voies métaboliques associées à la production de métabolites secondaires (Urban *et al.*, 2016). Même la peroxydation des lipides membranaires engendrée par les ROS (Gutteridge et Halliwell, 1990) et maîtrisée par la plante ne doit pas être vue uniquement comme un processus dangereux. Elle peut-être à l'origine d'une signalisation. Les produits de l'oxydation de l'acide linoléique servent de précurseurs à la synthèse du JA, une hormone de la famille des oxylipines qui joue un rôle majeur dans la réponse des plantes aux agents pathogènes (Browse, 2009). La démonstration formelle n'a pas été apportée jusqu'à présent mais ***nous pouvons raisonnablement faire l'hypothèse que l'effet de stimulation des défenses par les rayonnements UV-C passe par la production de ROS.***

Cette hypothèse n'exclut pas celle de l'existence de récepteurs aux rayonnements UV-C, spécifiques ou non (Gruber *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2018 ; Urban *et al.*, 2018). Les plantes se sont équipées, au cours de l'évolution, d'au moins 5 types de photorécepteurs qui leur permettent d'adapter leur croissance et leur développement aux conditions fluctuantes de lumière, en évitant ou en limitant

au maximum les dégâts (Thompson et Sancar, 2002). En plus des cryptochromes, des phototropines, des membres de la famille Zeirlupe et des phytochromes, la protéine UVR8 (UV RESISTANCE LOCUS 8) a été découverte comme étant un récepteur des rayonnements UV-B (Heijde et Ulm, 2012). En fait ce photorécepteur possède un spectre d'action qui déborde largement dans le domaine des rayonnements UV-C (Jiang *et al.*, 2012). ***Il serait certainement utile de tester l'hypothèse que le récepteur UVR8 est activé par les rayonnements UV-C.*** D'autre part, il ne serait pas étonnant que les rayonnements UV-B et les rayonnements UV-C partagent les mêmes récepteurs mais aussi les mêmes voies de signalisation puisque leurs effets biologiques semblent proches (Sheng *et al.*, 2018). Il faut donc s'appuyer sur la littérature scientifique des rayonnements UV-B pour tester ***l'hypothèse que les éléments clés de la cascade de signalisation en aval activés par les rayonnements UV-B sont aussi activés par les rayonnements UV-C,*** notamment les facteurs de transcription *COP1* et *MYBF1* qui sont impliqués dans la synthèse des flavonols à travers l'expression de *FLS1* et *bHLH* qui sont impliqués dans la synthèse des monoterpénoïdes (Carbonell-Bejerano *et al.*, 2014). Ces facteurs de transcription régulent l'expression des gènes associés à la protection contre les conditions d'éclairage stressantes (Favory *et al.*, 2009).

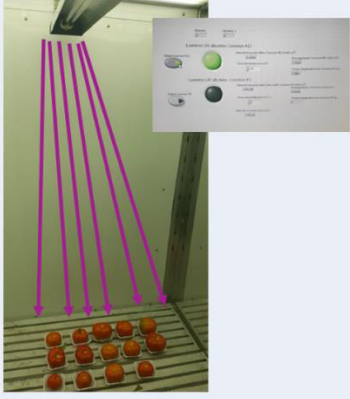
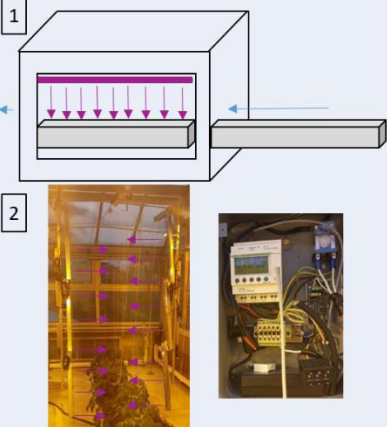

Il existe peu d'éléments de littérature sur les mécanismes de réaction des plantes en culture traitées aux rayonnements UV-C puis inoculées par des agents pathogènes (Urban *et al.*, 2016). Cependant, nous savons que les rayonnements UV-C stimulent notamment la synthèse de flavonoïdes, ce qui fait sens au regard de leur rôle d'écran chez les plantes dans la protection justement contre les rayonnements UV. Rivera-Pastrana *et al.* (2014) ont ainsi observé que l'augmentation des concentrations en flavonoïdes était la plus élevée dans l'exocarpe de la papaye. Parmi les autres composés qui s'accumulent fortement en conséquence à une exposition aux rayonnements UV-C, nous retrouvons les stilbènes, comme le resvératrol (Cantos *et al.*, 2000 ; Krasnow et Murphy, 2004). Cantos *et al.* (2000) ont exposé des grappes de raisin à des rayonnements UV-B et UV-C, puis les ont stockés à 15 °C. Il est admis aussi que beaucoup de ces composés phénoliques sont

des composés de défense contre des agresseurs. Dans nos études, les doses hormétiques d'UV-C appliquées sur les plantes de laitue et de fraisier ont provoqué des augmentations significatives de l'activité de la PAL et des composés phénoliques en relation avec une diminution de la sensibilité de ces plantes à *B. cinerea*. Des résultats similaires ont été obtenus par Charles *et al.* (2008) qui ont observé que le traitement des tomates en post-récolte à une dose de 3,70 kJ/m<sup>2</sup> induisait une résistance contre *B. cinerea*. La résistance observée avait été attribuée à l'accumulation de composés phénoliques sous forme de lignine et de subérine qui se déposent sur les parois et renforcent leur rôle de barrière mécanique contre le développement de l'agent pathogène. Les composés phénoliques à faible poids moléculaire peuvent aussi avoir des effets antifongiques directs. La production de composés toxiques pour les agents pathogènes, comme les phytoalexines, peuvent également expliquer la diminution de sensibilité sous l'effet des rayonnements UV-C (Charles *et al.*, 2008, Windram *et al.*, 2012). Ouhibi *et al.* (2015) ont observé que des plants de laitue traités aux rayonnements UV-C à une dose de 0,84 kJ/m<sup>2</sup> après récolte avaient une résistance accrue contre *B. cinerea* et *Sclerotinia minor*. Cette résistance accrue est corrélée à une plus forte accumulation de composés phénoliques. Par ailleurs, les rayonnements UV-C stimulent la transcription de gènes impliqués dans la défense des fruits en post-récolte, notamment ceux de la PAL qui est une enzyme de contrôle de la synthèse des composés phénoliques de défense, mais également ceux de protéines PR, comme la chitinase et la  $\beta$ -1,3-glucanase (El Ghaout *et al.*, 2003). Il serait intéressant d'utiliser la métabolomique, la protéomique, la métagénomique ou encore la transcriptomique pour étudier l'ensemble des voies pouvant être affectées par des traitements UV-C efficaces. Alors qu'il existe plusieurs études qui mettent en évidence l'expression de plusieurs gènes (gènes codant pour la  $\beta$ -1,3-glucanase, la chitinase, la protéine PR5-like) impliqués dans la qualité et la résistance en post-récolte (Liu *et al.*, 2011), les études réalisées en cours de culture sont très rares (Darras *et al.*, 2015 ; Kunz *et al.*, 2008 ; Severo *et al.*, 2016 ; Xie *et al.*, 2016) et ne s'intéressent pas à l'expression des gènes. ***Il serait donc intéressant d'analyser l'expression de ces gènes avant et après inoculation chez des plantes traitées aux rayonnements UV-C.***

L'ensemble de ces mécanismes de perception et signalisation des rayonnements UV-C engendre une régulation de l'expression génétique dans le but de créer une réponse de défense adaptée par le biais de synthèse de molécules associées à la défense des plantes telles que les composés phénoliques, les phytoalexines, les phytohormones et les protéines PR. L'activation des défenses implique également des processus de signalisation cellulaire caractérisés par des flux d'ions dont le  $\text{Ca}^{2+}$  (*calcium*) jouant le rôle de second messenger, une production de NO (*monoxyde d'azote*), l'activation de protéines kinases ainsi que des phytohormones (Astier *et al.*, 2012). L'étude plus approfondie de ces mécanismes de défense stimulés par les rayonnements UV-C devrait permettre de mieux cibler les traitements UV-C à appliquer sur chaque espèce végétale et d'optimiser encore les traitements UV-C en termes de dose, de fréquence d'application selon l'espèce végétale étudiée mais aussi en fonction de son stade de développement.

L'exploitation des rayonnements UV-C peut ainsi se révéler bénéfique pour les productions végétales, l'environnement et les consommateurs mais les expositions prolongées d'une minute et plus seront difficiles à imposer dans la pratique, sauf peut-être en serre. Le développement d'usages autres que la désinfection, impose donc de concevoir des procédés d'utilisation plus efficaces, c'est-à-dire permettant de délivrer les doses les plus élevées possibles, le plus rapidement possible, tout en minimisant les effets délétères éventuels. ***D'où l'idée d'exploiter les flashes d'UV-C pendant des temps beaucoup plus courts et plus faciles à gérer.*** Des études en cours de réalisation dans notre laboratoire privilégient cette solution (Tableau 6).

**Tableau 6 : Systèmes de traitement UV-C selon l'exploitation agricole utilisée.**  
 Différents modes de traitement UV-C peuvent être exploités dans le but de traiter un large nombre d'exploitations agricoles allant de la chambre de croissance au plein champ par l'utilisation des rayonnements UV-C (traitement conventionnel ou traitement en lumière pulsée).

Chambre de croissance	Serre	Plein champ
<p>Plafond lumineux amovible et système de traitement automatisé</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Passage des plantes dans un tunnel de traitement avec un système de gouttière et de déplacement automatisé</li> <li>- Portail de traitement qui se déplace le long des plantes</li> </ul>	<p>Utilisation d'un véhicule motorisé (tracteur, quad par exemple) munis de rampes de traitement</p>
		
<p>Cf. système utilisé pour les traitements UV-C en post-récolte (tomate, Canada)</p>	<p>Cf. système utilisé pour les traitements UV-C en pré-récolte (tomate, Canada)</p>	<p>Cf. système utilisé dans le laboratoire PFL (dans le cadre de la thèse de Loïc Ledermann)</p>





Annexes

## Annexe 1 : Fabrication d'une enceinte UV-C

Cette annexe 1 est présentée sous forme d'un article de méthodologie soumis au « Cahier des techniques de l'INRA » (Figure 67, version acceptée en 2018).

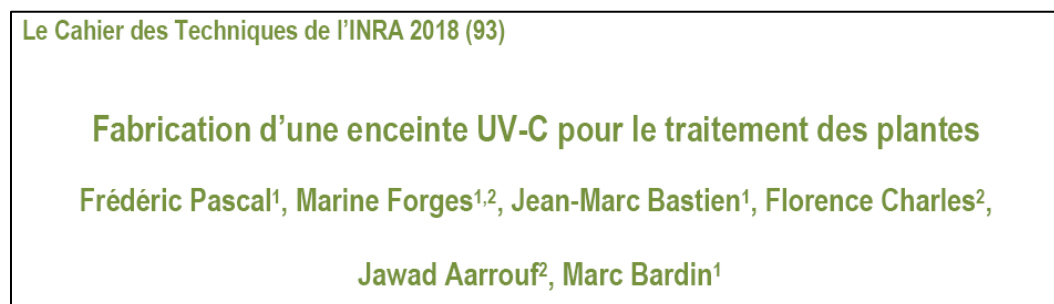


Figure 67 : **Article de méthodologie.** Frédéric Pascal et Marine Forges ont contribué de la même manière dans ce travail. Cet article a été publié dans le Cahier Technique de l'INRA en 2018.

### 1. Résumé

L'enceinte UV-C décrite dans cet article permet de traiter des lots de plantes avec des rayonnements ultraviolets C (UV-C) à très haute énergie. Cette enceinte est composée d'un plafond lumineux pivotant formé par neuf lampes UV-C ayant un pic à 254 nm, d'un plateau réglable en hauteur ainsi qu'un système de sécurité afin de protéger l'expérimentateur contre les rayonnements UV-C émis par les lampes. Cette enceinte permet de délivrer des doses précises d'UV-C, définies par un temps d'exposition mesuré en fonction de la puissance maximale des lampes. Elle est utilisée pour (1) estimer l'impact de ces rayonnements sur le photosystème des plantes et (2) déterminer leur effet sur la résistance induite vis à vis des agents phytopathogènes. La conception et la fabrication de l'enceinte UV-C a été l'occasion pour les membres de l'Atelier de l'Unité INRA Pathologie Végétale de partager leurs savoir-faire avec les chercheurs de l'Unité et ceux du Laboratoire Physiologie des Fruits et Légumes de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

Mots clés : rayonnement UV-C, traitements, plantes, agents pathogènes

---

## 2. Introduction

Des travaux de recherche ont été initiés depuis plusieurs années dans l'équipe de Physiologie des Fruits et Légumes (UMR Qualisud, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse) en collaboration avec l'Unité Pathologie Végétale (INRA PACA) pour évaluer la possibilité d'utiliser les rayonnements ultraviolets C (UV-C) comme outil de protection des plantes contre des agents pathogènes tels que *Botrytis cinerea* ou *Sclerotinia* sp. (Ouhibi *et al.*, 2015a,b ; Urban *et al.*, 2014, 2016, 2018 ; Vasquez *et al.*, 2017).

Les rayons UV-C sont des rayonnements électromagnétiques de très haute énergie dont le spectre de longueurs d'onde s'étend de 200 à 280 nm. Les rayonnements avec une longueur d'onde de 254 nm sont utilisés pour leurs propriétés germicides, en particulier bactéricides (Bank *et al.*, 1990). Ils agissent par dénaturation de l'ADN des micro-organismes. D'après une étude de l'INRS (*Institut national de recherche et sécurité*), les risques les plus importants d'une exposition humaine à ces rayons sont d'une part, les cancers de la peau et les mélanomes malins, et d'autres parts, les atteintes de la cornée et les risques de cataractes (Barlier-Salsi *et al.*, 1998).

Dans cet article, nous détaillons la construction d'une enceinte permettant de traiter les plantes avec des rayonnements UV-C à des doses optimisées et contrôlées. Cette enceinte a été construite en tenant compte des contraintes de sécurité liées à l'utilisation de tels rayonnements (enceinte entièrement fermée où les rayonnements sont confinés à l'intérieur) ainsi qu'aux besoins expérimentaux (traitements répétés de nombreux lots de plantes).

## 3. Construction de l'enceinte

L'enceinte est construite en contreplaqué de 20 mm, ces dimensions intérieures sont : longueur 1110 mm, largeur 485 mm, hauteur sous lampes 740 mm, hauteur totale 1150 mm. Les panneaux sont découpés puis vissés sur le champ des panneaux adjacents par des vis à bois en inox. Le fond arrière vissé assure la stabilité de l'ensemble. En-dessous de la cabine, trois chevrons de 50 mm x 70 mm sont vissés, cela permet au panneau du fond de ne pas appuyer directement sur la table de culture qui est souvent

humide et évite ainsi sa dégradation prématurée. Pour éviter l'absorption interne des rayons par le contreplaqué, une tôle en inox poli miroir de 1 mm d'épaisseur et d'une hauteur de 650 mm a été fixée sur tout le pourtour, sur les portes, ainsi qu'au-dessus des lampes UV-C. Les rayons sont ainsi reflétés de tous les côtés sans pertes d'efficacité, tout en gardant un environnement lumineux le plus homogène possible. Sur la partie avant, deux portes de 735 mm de hauteur et une imposte fixe viennent fermer l'ensemble (Figure 68).



**Figure 68 : Enceinte en cours de construction.** Les tôles en inox sont revêtues d'un film plastique qui protège de l'oxydation, et qui sera retiré au dernier moment. On aperçoit également le support des lampes et des ballasts. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

Afin de pouvoir utiliser l'enceinte avec différentes espèces végétales, une étagère de fond amovible permettant d'ajuster la hauteur des plantes par rapport aux lampes a été mise en place. Les plantes traitées aux UV-C doivent avoir leurs sommets à 30 cm de distance minimum des lampes pour éviter les brûlures des feuilles. La hauteur de l'étagère du fond est réglée en intercalant des cales de dimensions appropriées sous celle-ci (Figure 69).



**Figure 69 : Étagère amovible permettant d’ajuster la distance entre les plantes et les lampes UV-C. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).**

Afin de réaliser les traitements UV-C, nous avons construit un plafond lumineux permettant de travailler en toute sécurité. Les lampes UV-C que nous avons utilisées sont de la marque OSRAM® et de type PURITEC HNS L 24W 2G11. Les lampes sont montées sur des douilles 2G11 et sont alimentées par des ballasts électroniques de marque OSRAM® et de type QUICKTRONIC PROFESSIONAL QTP-DL 1 x 18-24. Elles sont au nombre de neuf pour couvrir toute la surface de l’enceinte. À l’allumage, les lampes nécessitent un temps minimum de 10 min pour atteindre leur puissance nominale et se stabiliser. Pour cette raison, nous avons mis en place un système de support de lampes rotatif qui permet :

- ✓ de laisser les lampes allumées durant tout le temps nécessaire à la réalisation de l’expérimentation, sans interruption entre chaque lot de plantes traitées ;
- ✓ d’introduire et de sortir les plantes de l’enceinte sans risque pour l’opérateur d’une exposition aux rayons UV-C ;
- ✓ de contrôler précisément le temps d’exposition des plantes.

Le châssis de support de lampes, réalisé en acier inoxydable, comprend deux rectangles réalisés en tubes de forme carrée de 20 mm de côté : un pour porter les lampes et l'autre pour les ballasts. Un tube carré de 30 mm est soudé au milieu entre les deux rectangles, il sert d'axe central et permet d'avoir un espace assurant une meilleure ventilation (Figure 70). Entre les lampes et les ballasts, une tôle en acier inoxydable de finition « miroir » a été fixée, ce qui permet de réfléchir les rayons des lampes et de protéger les ballasts d'un échauffement excessif. La rotation de l'ensemble d'un demi-tour selon un axe horizontal permet :

- ✓ quand les lampes sont tournées vers le bas d'exposer les plantes aux rayons UV-C ;
- ✓ quand les lampes sont tournées vers le haut d'introduire ou de sortir les plantes en toute sécurité.



Figure 70 : **Châssis support des lampes et des ballasts.** (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

L'alimentation électrique du dispositif se fait par un câble souple de type H07VV-F 3G2.5 qui passe à l'intérieur de l'axe central. Grâce à cela, la rotation d'un demi-tour sur plus d'un mètre ne pose aucune contrainte au câble (Figure 71).



**Figure 71 : Passage du câble électrique souple au travers de l'axe central de rotation des lampes.** (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

La rotation d'un demi-tour est assurée par un système simple de manivelle rendue solidaire du support des lampes par une clavette. Des loquets permettent de maintenir la manivelle dans la position voulue (Figure 72). Des contacts électriques de sécurité positionnés contre le bras de manivelle et sur chaque porte coupent l'alimentation électrique en cas d'ouverture inopinée des portes quand les lampes sont tournées vers le bas (Figure 73). L'opérateur est ainsi protégé de tout risque d'exposition aux rayonnements.





Figure 72 : **Manivelle et loquets maintenant la position.** On voit également le contact électrique de sécurité. (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).



Figure 73 : **Contacts de sécurité des portes et du loquet de maintien.** (Photo : Frédéric Pascal, INRA PACA).

#### 4. Mesures de l'intensité des rayonnements UV-C des lampes

Afin de déterminer le temps nécessaire à la stabilisation du rayonnement reçu au niveau des plantes et de pouvoir calculer exactement le temps d'exposition des plantes aux rayons correspondant à une dose d'UV-C souhaitée, des mesures des rayonnements émis par les lampes ont été réalisées. Pour cela, nous avons utilisé un photomètre/radiomètre SOLAR LIGHT PMA 2100 (Figure 74-A) équipé d'un capteur PMA-2122 (UV Germicidal Detector) (Figure 74-B).

Afin de vérifier l'homogénéité du rayonnement sur toute la surface de l'enceinte, le capteur a été placé à différents points de la plateforme (Figure 75). À chaque point, la mesure de l'intensité maximale du rayonnement reçu ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) est réalisée pendant 1 min.

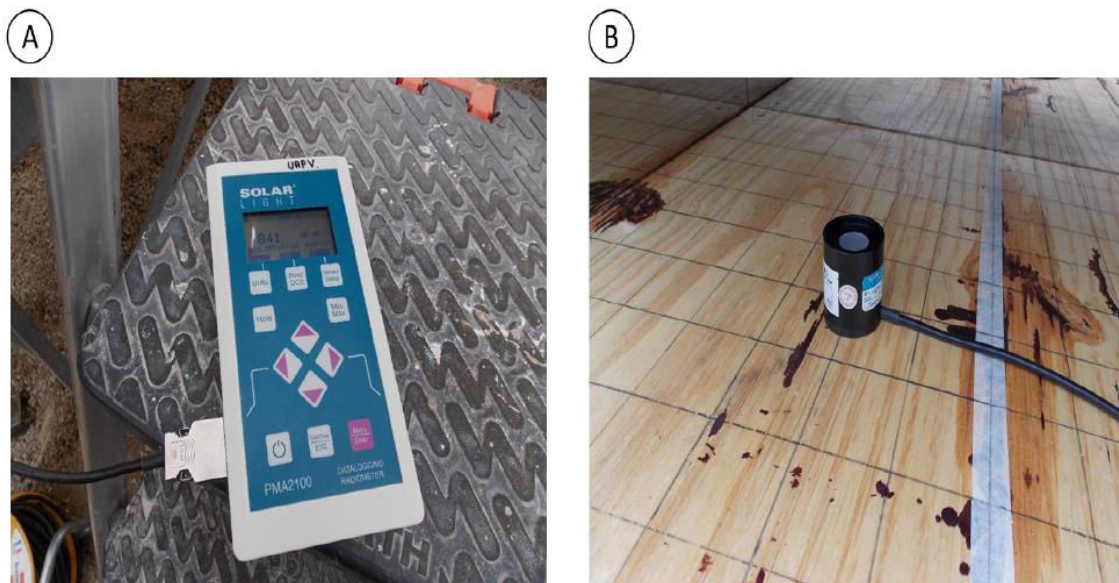


Figure 74 : Mesure de l'intensité des rayonnements UV-C. A) Photomètre/radiomètre SOLAR LIGHT PMA 2100 utilisé pour réaliser les mesures des rayonnements. B) Capteur PMA-2122 (UV Germicidal Detector) utilisé. (Photos Marine Forges, INRA PACA et Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse).

Pour estimer les temps de traitements correspondant aux doses d'UV-C souhaitées, l'intensité lumineuse reçue par le capteur PMA-2122 (en  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  et en

mJ/cm<sup>2</sup>) est mesurée pendant 1 min et convertie en kJ/m<sup>2</sup>. Les mesures sont effectuées sur plusieurs points de la zone de traitement (28 au total représentant l'ensemble de la surface de traitements UV-C). Ainsi pour chaque dose d'UV-C souhaitée pour les expérimentations, on peut calculer un temps de traitement associé.

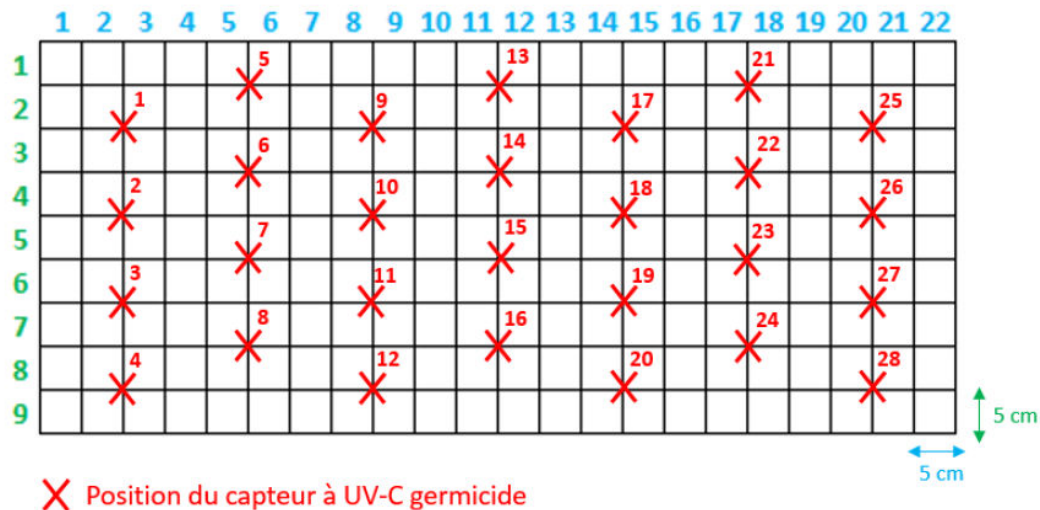


Figure 75 : Schéma du positionnement du capteur à UV-C germicide sur la plateforme de traitement lumineux.

## 5. Résultats

### a. Spectres lumineux des lampes UV-C

Le spectre lumineux des lampes UV-C utilisées a été mesuré avec un spectromètre et est présenté dans la Figure 76. Un pic étroit, caractéristique de ce rayonnement, est observé à 254 nm. On remarque également quelques autres rayonnements lumineux de types UV-A (de 320 à 400 nm) et UV-B (de 280 à 320 nm) mais de faible intensité par rapport à l'intensité du pic mesuré à 254 nm.

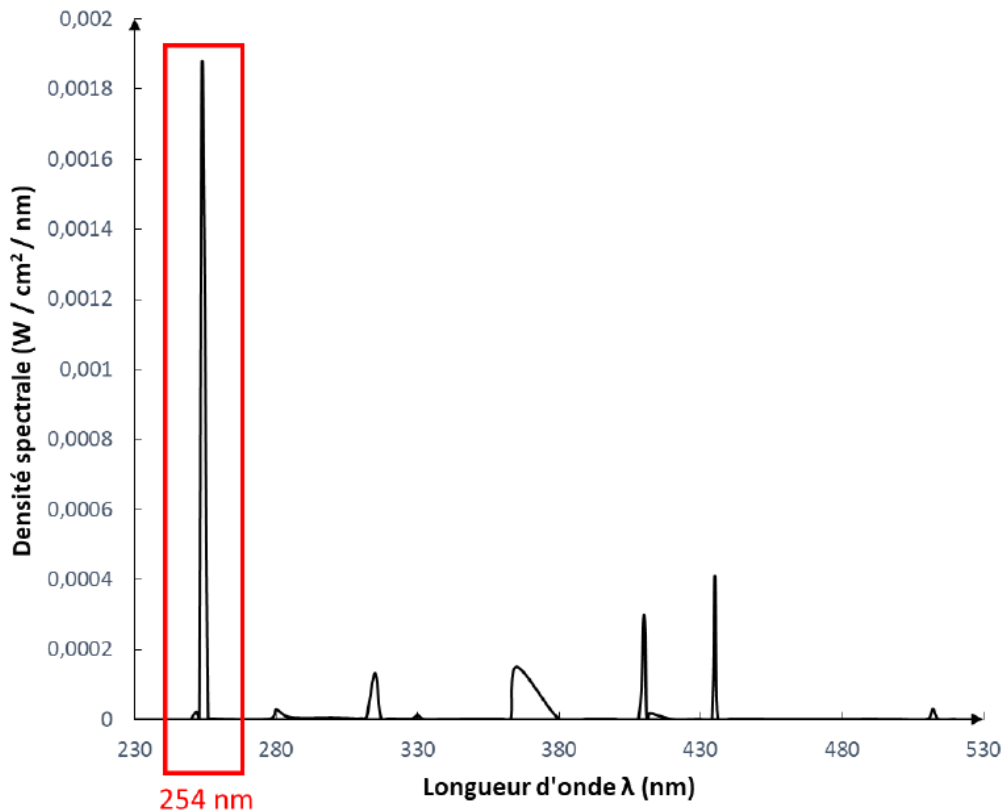


Figure 76 : Spectre lumineux des lampes UV-C utilisées.

*b. Homogénéité du rayonnement UV-C à l'intérieur de l'enceinte*

La distribution du rayonnement UV-C reçu au niveau de la surface de l'enceinte a montré que l'environnement lumineux n'est pas complètement homogène sur la plateforme de réception des plantes (Figure 77). En effet, l'intensité lumineuse est maximale au centre de la plateforme de traitement et diminue fortement lorsqu'on s'éloigne de cette zone. Cette cartographie permet donc d'identifier la zone centrale de l'enceinte comme zone où l'intensité des rayonnements UV-C est la plus forte. Dans cette zone, quatre points présentent un niveau d'intensité proche (entre 744 et 944  $\mu W/cm^2$ ). C'est sur ces quatre positions que seront placées les plantes soumises aux rayonnements UV-C.

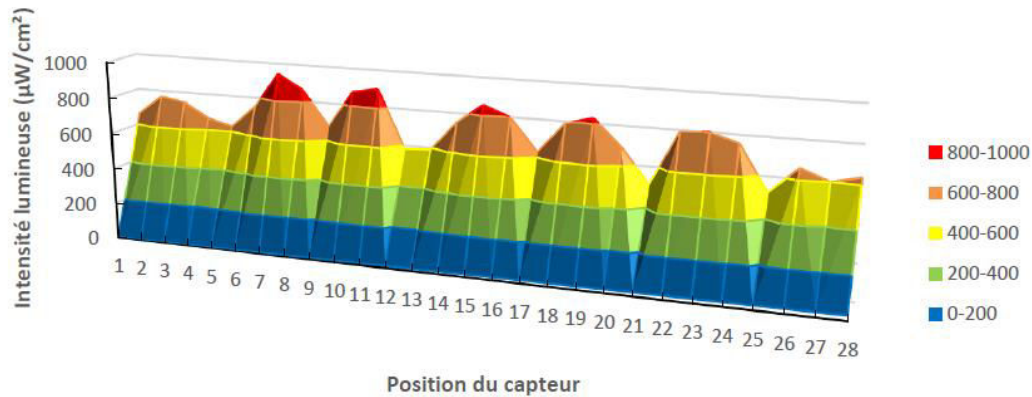


Figure 77 : Intensité lumineuse induite par les lampes UV-C sur les 28 mesures réalisées à l'intérieur de l'enceinte.

*c. Mesure du temps d'exposition des plantes aux rayons UV-C*

Le temps de traitement correspondant à une dose d'UV-C souhaitée est calculé grâce aux mesures effectuées sur la plateforme intérieure de réception des plantes dans l'enceinte. Sur les 28 points de mesures effectuées précédemment (Figure 75), seuls 15 points correspondant aux quatre zones où sont placées les plantes dans l'enceinte, sont conservés (Tableau 7). Plusieurs mesures (en général trois répétitions au minimum) sont réalisées dans chacune des zones. Les données du radiomètre en  $\text{mJ}/\text{cm}^2$  permettent alors de calculer le temps de traitement des plantes.

**Tableau 7 : Intensité lumineuse du plafond lumineux reçue sur la plateforme de l'enceinte UV-C mesurée pendant une minute et correspondance entre  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  et  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ .** Le capteur est placé dans l'enceinte sur 15 positions correspondant aux quatre zones où sont placées les plantes.

Position du capteur (selon Figure 9)	Zone de positionnement des plantes	Intensité lumineuse (pendant 1 min)		
		$\mu\text{W}/\text{cm}^2$	$\text{mJ}/\text{cm}^2$	Moyenne +/- ES ( $\text{mJ}/\text{cm}^2$ )
2	1	767	46,200	47,5 +/- 3,2
3	1	744	44,811	
6	1	751	42,132	
7	1	944	56,751	
8	2	863	52,007	50,9 +/- 2,0
10	2	874	52,491	
11	2	899	54,128	
14	2	750	45,081	
15	3	855	51,364	49,1 +/- 0,9
16	3	800	47,912	
18	3	791	47,505	
19	3	828	49,711	
22	4	794	47,790	47,1 +/- 0,9
23	4	802	48,320	
24	4	756	45,248	

Les valeurs de l'intensité lumineuse sont alors moyennées pour les 15 points mesurés. Par exemple dans le cas présenté dans le Tableau 7, la moyenne de l'intensité lumineuse reçue en 1 min de traitement dans l'enceinte est de  $48,82 \pm 1,06 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ . Selon les doses d'UV-C souhaitées, le temps nécessaire de traitement correspondant est calculé. Par exemple, pour traiter les plantes avec une dose de  $0,85 \text{ kJ}/\text{m}^2$ , les plantes seront exposées durant 1 min et 44 s aux UV-C dans l'enceinte.

L'intensité maximale des lampes UV-C est vérifiée avant chaque expérimentation pour ajuster le temps de traitement correspondant aux doses UV-C choisies. En effet, les fabricants de lampe garantissent une perte d'intensité lumineuse de 10 % sur les 8000 premières heures d'utilisation des lampes UV-C, mais au-delà le tube devient de plus en plus opaque engendrant des pertes d'intensité potentiellement plus importantes et non linéaires dans le temps. La Figure 78 met en évidence les pertes d'intensité lumineuse constatées au cours de trois campagnes de mesures réalisées dans l'enceinte. Dès la

deuxième campagne de mesures (après environ 20 h de fonctionnement des lampes, de mai à septembre) la perte d'intensité lumineuse est de 2 %. A la troisième campagne de mesures, la perte d'intensité lumineuse est de 15 % pour 40 h de fonctionnement des lampes. Cette perte d'intensité lumineuse est supérieure aux données du constructeur et à l'estimation réalisée suite aux premières mesures (environ 4 % de perte estimée). Il est donc nécessaire de vérifier l'intensité lumineuse avant chaque expérimentation dans le but de délivrer des doses précises sur les plantes.

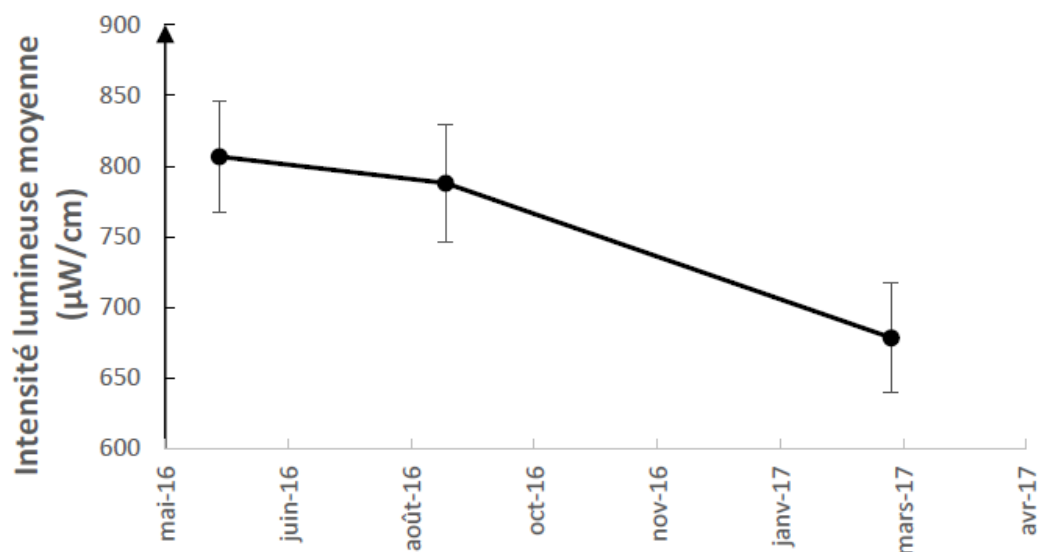


Figure 78 : Perte de l'intensité lumineuse des lampes UV-C au cours du temps. Les mesures sont effectuées sur les 15 points de la zone de traitement UV-C.

## 6. Conclusion et perspectives

L'enceinte construite permet de répondre aux objectifs fixés : traiter simultanément quatre plantes avec des rayonnements UV-C à des doses parfaitement contrôlées, en tenant compte des contraintes de sécurité liées à l'utilisation de tels rayonnements nocifs pour l'Homme. Une sécurité optimale d'utilisation pour l'expérimentateur est obtenue grâce au système de rotation du plafond lumineux. Ce système permet aussi de mesurer précisément la dose d'UV-C à appliquer sur les plantes (en mesurant le temps d'exposition).

Cette enceinte est maintenant opérationnelle et régulièrement utilisée dans le cadre d'une thèse de doctorat (2015-2018) visant à évaluer l'impact des rayonnements UV-C sur la sensibilité du fraisier (*Fragaria x ananassa*) aux deux agents pathogènes majeurs de cette culture, *Botrytis cinerea* et *Podosphaera aphanis*, respectivement responsables de la pourriture grise et de l'oïdium.

Elle a permis :

- ✓ d'évaluer l'impact des UV-C sur le photosystème des plantes et déterminer les doses d'UV-C non délétères pour la plante ;
- ✓ d'évaluer l'impact des traitements UV-C sur le niveau de sensibilité de la plante à des agents pathogènes cryptogamiques foliaires ;
- ✓ d'estimer l'effet de l'application des rayonnements UV-C sur la qualité et le potentiel de conservation des fruits.

Grâce à la plateforme mobile à l'intérieur de l'enceinte UV-C, d'autres plantes cultivées pourront être étudiées dans l'avenir, comme par exemple la tomate ou encore le melon. Ceci permettra de valider l'hypothèse que les espèces végétales ne réagissent pas de la même manière face aux traitements UV-C (Urban *et al.*, 2016). Dans cet objectif précis, il sera nécessaire de trouver des moyens d'améliorer l'homogénéité des rayonnements au niveau de la surface réceptrice, toujours dans le but d'optimiser la qualité des traitements UV-C réalisés sur les plantes.

## 7. Remerciements

Nous souhaitons remercier tout particulièrement Joël Béraud, responsable des installations expérimentales de l'Unité, ainsi que Michel Pascal pour leur aide précieuse dans le suivi des cultures sous serre.



## Annexe 2 : paramètre de fluorescence de la chlorophylle a

Tableau 8 : Paramètres utilisés pour l'analyse de la fluorescence transitoire de la chlorophylle a (OKJIP). Les paramètres et leurs utilisations sont répertoriés dans Stirbet and Govindjee (2011).

Paramètres	Formules	Description
<b>F0</b>	Première valeur de fluorescence de la courbe OJIP ( $F_{50 \mu s}$ )	Valeur de fluorescence après le premier flash lumineux
<b>Fm (Fp)</b>	Valeur de fluorescence au pic de la courbe OJIP	Valeur maximale sous lumière saturante
<b>Fk</b>	Fluorescence au niveau K (300 $\mu s$ , $F_{300 \mu s}$ )	Niveau souvent caché par le niveau O-J à cause de l'équilibre établi entre les réactions de transport d'électrons responsables du taux de fluorescence, le niveau K est considéré comme le résultat de la déviation de la balance établie normalement
<b>Fj</b>	Fluorescence au niveau J (2 ms, $F_{2 ms}$ )	
<b>Fv</b>	$Fv = Fm - F0$	Variable maximale de la fluorescence de la chlorophylle
<b>Fv / Fm</b>		Efficiencia maximale photochimique de la lumière du PSII
<b>Fv / F0</b>		Rendement quantique du PSII représentant la contribution au PI
<b>Sm</b>	Aire normalisée $Aire / Fv$	Energie nécessaire pour fermer tous les centres réactionnels
<b>N</b>	Nombre de rotation $N = SmM0 \times (1/Vj)$	Nombre de réductions de plastoquinone A entre $F_0$ et $Fm$
<b>Vk</b>	$Vk = (Fk - F0) / (Fm - F0)$	Fluorescence variable au niveau K
<b>Vk / Vj</b>	$Vk / Vj = (Fk - F0) / Fm - F0$	Valeurs de fluorescence variables fournies par le niveau K

$(1-V_j) / V_j$		Proportion des centres réactionnels fermés
$RC / ABS$	$RC / ABS = (RC/TR_0) \times (TR_0/ABS) = [(F_j - F_0) / 4(F_k - F_0)] \times F_v/F_m$	Densité des centres réactionnels sur la base de la chlorophylle
$J^{ABS}$		Taux d'absorption de photons par les antennes du PSII
$J^{DI}$		Taux de la dissipation d'énergie dans le PSII
$J^{TR}$		Taux de piégeage des électrons
$J_0^{ET2}$		Flux de transport d'électrons entre les plastoquinones
$J_0^{RE1}$		Flux de transport d'électrons jusqu'aux accepteurs primaires de PSI
$J_0^{TR} / J^{ABS}$	$J_0^{TR} / J^{ABS} = 1 - (F_0/F_m)$	Rendement quantique maximal de PSII
$J_0^{ET2} / J^{ABS}$	$J_0^{ET2} / J^{ABS} = 1 - (F_j/F_m)$	Rendement quantique du flux de transport d'électrons entre les plastoquinones
$J_0^{RE1} / J^{ABS}$	$J_0^{RE1} / J^{ABS} = 1 - (F_i/F_m)$	Rendement quantique du flux de transport d'électrons jusqu'aux accepteurs primaires de PSI
$J_0^{RE1} / J_0^{ET2}$	$J_0^{RE1} / J_0^{ET2} = (1-V_i) / (1-V_j)$	Efficiencia, probabilité qu'un électron est transféré vers les accepteurs d'électrons de PSI
$PI$		Indice de performance pour la conservation d'énergie

### Annexe 3 : dosages biochimiques des fraises

Dans cette annexe 3, l'ensemble des dosages biochimiques réalisés dans le Chapitre II de ce manuscrit (traitement des fraises avec les rayonnements UV-C après-récolte) est montré ci-dessous sous forme de tableau récapitulatif pour les deux récoltes traitées.

Tableau 9 : Teneurs en composés d'intérêt (R1). Les fraises ont été broyées par lot de 6 à l'azote liquide. Les composés d'intérêt ont été extraits puis quantifiés.

Code	Composé %	A la récolte	Modalités	Temps de conservation en post-récolte		Signif
				2 jours	4 jours	
MS	Matière sèche	9,98 ± 0,57	M1	10,25	10,03	ns
			M3	10,53	10,33	ns
			Signif	ns	ns	

		<b>% Brix</b>					
IR	Matière sèche soluble	8,74 ± 0,56		M1	9,10	8,37	ns
				M3	9,36	9,14	ns
				Signif	ns	ns	
		<b>Meq/100g</b>					
AT	Acidité titrable	14,09 ± 0,53		M1	13,99	12,67	ns
				M3	13,25	12,96	ns
				Signif	ns	ns	
		<b>Sucres g/100g</b>					
SAC	Saccharose	2,39 ± 0,32	a	M1	1,63 b	0,84 c	**
			a	M3	1,71 b	0,96 c	**
				Signif	ns	ns	
GLU	Glucose	1,67 ± 0,12	b	M1	2,16 a	2,21 a	**
			b	M3	2,26 a	2,36 a	**
				Signif	ns	ns	
FRUC	Fructose	1,84 ± 0,11	b	M1	2,39 a	2,53 a	**
				M3	2,48	2,69	***
				Signif	ns	ns	

SUC	Sucres totaux	5,91 ± 0,55		M1	6,17	5,58	ns
				M3	6,44	6,02	ns
				Signif	ns	ns	
SWEET	Pouvoir sucrant	6,82 ± 0,60		M1	7,35	6,85	ns
				M3	7,67	7,37	ns
				Signif	ns	ns	
<b>Acides organiques g/100g</b>							
MAL	Acide malique	0,26 ± 0,02	a	M1	0,16 b	0,12 b	**
				M3	0,16 b	0,12 b	**
				Signif	ns	ns	
CIT	Acide citrique	0,83 ± 0,01		M1	0,85	0,84	ns
				M3	0,86	0,84	ns
				Signif	ns	ns	
ACI	Acides organiques totaux	1,10 ± 0,03	a	M1	1,01 ab	0,96 c	*
				M3	1,02 ab	0,97 b	*
				Signif	ns	ns	
IR/AT	Acidité	0,62 ± 0,06		M1	0,65	0,66	ns
				M3	0,71	0,71	ns
				Signif	ns	ns	

S/A	Ratio sucres/acides organiques	5,42 ± 0,62		M1	6,10	5,81	ns
				M3	6,32	6,23	ns
				Signif	ns	ns	
<b>Vitamine C mg/100g</b>							
AA	Acide ascorbique	60,06 ± 0,39	a ab	M1	60,80 a	56,44 b	**
				M3	62,09 a	57,48 b	*
				Signif	ns	ns	
DHA	Acide déhydroascorbique	2,69 ± 0,89		M1	3,78	5,70	ns
				M3	2,87	6,06	ns
				Signif	ns	ns	
VITC	Vitamine C total	62,75 ± 1,26		M1	64,58	62,14	ns
				M3	64,96	63,54	ns
				Signif	ns	ns	
AA/DHA	Stress oxydant	32,72 ± 15,81		M1	16,35	10,33	ns
				M3	23,54	10,17	ns
				Signif	ns	ns	

Polyphénols mg/100g							
FO1	QUE 3 PENTOSIDE	0,41 ± 0,01		M1	0,35	0,45	ns
				M3	0,37	0,45	ns
				Signif	ns	ns	
FO2	QUE 3 GLUCU	0,38 ± 0,02		M1	0,35	0,37	ns
				M3	0,32	0,38	ns
				Signif	ns	ns	
FO3	KAE 3 GLUCU	0,05 ± 0,00		M1	0,04	0,05	ns
				M3	0,04	0,05	ns
				Signif	ns	ns	
FO4	KAE 3 GLU	0,08 ± 0,00	c	M1	0,10 ab	0,14 a	*
				M3	0,09	0,11	ns
				Signif	ns	ns	
FO5	KAE 3 acétylglucoside	0,08 ± 0,01	b	M1	0,11 a	0,12 a	*
				M3	0,09	0,12	ns
				Signif	ns	ns	
FO	Flavanols totaux	1,00 ± 0,02		M1	0,94	1,13	ns
				M3	0,92	1,10	ns
				Signif	ns	ns	

FA1	Trimère procyanine	0,28 ± 0,03	a	M1	0,79 b	1,19 cA	***		
					c	M3	0,69 b	0,86 a B	***
						Signif	ns	***	
FA2	Dimère procyanine	0,02 ± 0,00	c	M1	0,04 b	0,07 a	***		
					b	M3	0,05 a	0,07 a	**
						Signif	ns	ns	
FA3	Dimère procyanine B1	0,10 ± 0,01	a	M1	0,09	0,08	ns		
						M3	0,07 b	0,06 b	*
						Signif	ns	ns	
FA4	Catéchine	0,24 ± 0,03	a	M1	0,16 b	0,13 b	*		
					a	M3	0,14 b	0,08 b	**
						Signif	ns	ns	
FA	Flavanols totaux	0,63 ± 0,03	c	M1	1,07 b	1,47 aA	***		
					b	M3	0,94 a	1,07 a B	***
						Signif	ns	***	
HBA1	A gal 4 glu	0,03 ± 0,00	b	M1	0,08 a	0,08 a	**		
					b	M3	0,05 ab	0,07 a	*
						Signif	ns	ns	



HBA2	Acide ellagique	0,66 ± 0,00		M1	0,59	0,85	ns
				M3	0,64	0,89	ns
				Signif	ns	ns	
HBA	Acides hydroxybenzoïques totaux	0,69 ± 0,00		M1	0,67	0,93	ns
				M3	0,69	0,96	ns
				Signif	ns	ns	
HCA1	A cou glu 1	0,13 ± 0,03	b	M1	0,24 a	0,28 a	**
				M3	0,26 a	0,32 a	***
				Signif	ns	ns	
HCA2	A cou glu 2	0,07 ± 0,01		M1	0,07	0,08	ns
				M3	0,09	0,07	ns
				Signif	ns	ns	
HCA	Acides cinnamiques totaux	0,19 ± 0,03	b	M1	0,32 a	0,36 a	*
				M3	0,35 a	0,39 a	**
				Signif	ns	ns	
AN1	Cyanine-3-glucoside	0,10 ± 0,03		M1	0,14	0,13	ns
				M3	0,09	0,11	ns
				Signif	ns	ns	

AN2	PEL 3 GLU	3,37 ± 0,45		M1	4,61	4,53	ns
				M3	4,01	4,26	ns
				Signif	ns	ns	
AN3	PEL 3 acétylglucoside	0,37 ± 0,06	b	M1	0,57 a	0,57 a	*
				M3	0,51	0,50	ns
				Signif	ns	ns	
AN4	ANTHO 2	0,06 ± 0,01	b	M1	0,09	0,08	ns
				M3	0,09 ab	0,11 a	*
				Signif	ns	ns	
AN	Anthocyanines totales	3,90 ± 0,55		M1	5,41	5,31	ns
				M3	4,70	4,99	ns
				Signif	ns	ns	
DH1	PHL	0,06 ± 0,01		M1	0,08	0,07 B	ns
				M3	0,07	0,09 A	ns
				Signif	ns	*	
DH2	PHT	0,01 ± 0,00	b	M1	0,02 a	0,02 a	**
				M3	0,02 a a	0,03 a	**
				Signif	ns	ns	

DH	X	0,07 ± 0,01	c	M1	0,11 b	0,09 abB	*
				M3	0,09 ab	0,12 aA	*
				Signif	ns	*	
PP	Polyphénols totaux	6,48 ± 0,56	a	M1	8,52 b	9,29 b	*
				M3	7,69	8,62	ns
				Signif	ns	ns	
<b>Arômes µg/kg - ppb</b>							
C1	Hexanal	347,66 ± 40,40	b	M1	498,58 a	155,19 c	**
				M3	414,48 a	161,67 b	*
				Signif	ns	ns	
C2	(Z) 3-hexenal	405,34 ± 32,21	a	M1	304,68 b	29,07 c	***
				M3	254,46 b	45,64 c	***
				Signif	ns	ns	
C3	(E) 2-hexenal	1448,13 ± 182,04	a	M1	1064,63 a	370,92 b	**
				M3	776,82 b	367,40 b	**
				Signif	ns	ns	
CC	Aldéhydes totaux	2201,13 ± 190,60	a	M1	1867,89 a	555,18 b	***
				M3	1445,75 b	574,70 c	***
				Signif	ns	ns	

O1	Porpanol	0,00 ± 0,00		M1	0,00	0,00	ns	
				M3	0,00	34,81	ns	
				Signif	ns	ns		
O2	2-Me propanol	0,00 ± 0,00		M1	0,00	4,71	ns	
				M3	0,00	26,02	ns	
				Signif	ns	ns		
O3	Butanol	0,00 ± 0,00		M1	0,00	162,94	ns	
				M3	53,55	703,09	ns	
				Signif	ns	ns		
O4	2-Me butanol	0,00 ± 0,00		M1	0,00	9,79	ns	
				M3	0,00	63,89	ns	
				Signif	ns	ns		
O5	Alcool benzylique	246,32 ± 10,94	a	M1	119,57 b	304,14 a	**	
				ab	M3	89,62 b	406,86 a	*
					Signif	ns	ns	
O6	2-phényl éthanol	12,91 ± 2,80	ab	M1	5,78 b	18,84 a	*	
				ab	M3	4,14 b	40,23 a	*
					Signif	ns	ns	

O7	3-phényl propanol	0,00 ± 0,00		M1	0,00	7,83	ns
				M3	0,00	46,10	ns
				Signif	ns	ns	
ALC	Alcools totaux	259,23 ± 12,93		M1	125,34	508,25	ns
				M3	147,31	1320,99	ns
				Signif	ns	ns	
A1	Acide C2	164,79 ± 10,15		M1	129,80	180,68	ns
				M3	115,64	265,32	ns
				Signif	ns	ns	
A2	Acide 2-Me C3	688,02 ± 210,06	b	M1	1279,59 b	2357,23 a	*
				M3	1250,51 b	2421,37 a	*
				Signif	ns	ns	
A3	Acide C4	25321,58 ± 8907,15	b	M1	53661,62	60131,39	ns
				M3	59118,29 a	68473,15 a	*
				Signif	ns	ns	
A4	Acide 2-Me C4	1724,16 ± 474,01		M1	1977,45	3145,94	ns
				M3	1760,23	3047,82	ns
				Signif	ns	ns	

A5	Acide C6	10851,94 ± 3554,03		M1	6925,38	8427,19	ns
				M3	7218,83	8991,59	ns
				Signif	ns	ns	
A6	2-phényl éthanol	156,03 ± 33,38		M1	119,36	94,99	ns
				M3	70,66	87,49	ns
				Signif	ns	ns	
A7	Acide C9	135,82 ± 29,05	a	M1	109,89	59,91	ns
				M3	30,55 b	70,79 b	*
				Signif	ns	ns	
ACI	Acides totaux	39042,35 ± 13174,16		M1	64203,08	74397,33	ns
				M3	69564,71	83357,53	ns
				Signif	ns	ns	
E1	Et C4	10,92 ± 1,31		M1	6,78	13,15	ns
				M3	7,32	26,98	ns
				Signif	ns	ns	
E2	Bu C2	5,96 ± 1,28	b b	M1	20,94 ab	26,91 a	*
				M3	36,71 ab	68,15 a	*
				Signif	ns	ns	

E3	Me C6	445,77 ± 146,26		M1	446,57	353,49	ns
				M3	340,01	347,93	ns
				Signif	ns	ns	
E4	Me-2-OH C4	432,11 ± 70,51	a	M1	226,33	174,52	ns
				M3	139,22 b	89,93 b	**
				Signif	ns	ns	
E5	Me-3-OH C4	75,43 ± 5,17	b	M1	81,84 b	363,73 a	*
				M3	81,91 b	353,98 a	*
				Signif	ns	ns	
EST	Esters totaux	970,19 ± 219,88		M1	782,45	931,79	ns
				M3	605,17	886,98	ns
				Signif	ns	ns	
T1	LOF	41,56 ± 5,18	a	M1	17,13 b	6,79 b	**
				M3	11,98 b	12,21 b	***
				Signif	ns	ns	
T2	Linalol	53,37 ± 9,63	a	M1	22,59 b	11,34 b	**
				M3	18,76 b	10,86 b	**
				Signif	ns	ns	

TRP	Terpènes totaux	94,93 ± 6,72	a	M1	39,72 b	18,13 c	***
			a	M3	30,74 b	23,07 b	***
				Signif	ns	ns	
F1	DMF	218,75 ± 97,87	b	M1	1580,61 b	5564,63 a	***
			b	M3	1497,94 b	5817,53 a	**
				Signif	ns	ns	
F2	DHF	1187,72 ± 526,83	b	M1	4770,50 b	14144,45 a	*
			b	M3	4435,36 b	12645,83 a	**
				Signif	ns	ns	
FUR	Furanes totaux	1406,47 ± 624,52	b	M1	6351,11 b	19709,08 a	**
			b	M3	5933,30 b	18463,36 a	**
				Signif	ns	ns	
L1	G C10	2874,74 ± 1175,41		M1	6231,05	2109,14	ns
			b	M3	5585,45 a	1719,10 b	*
				Signif	ns	ns	
L2	G C12	328,47 ± 126,51		M1	508,29	189,60	ns
				M3	449,53	202,84	ns
				Signif	ns	ns	



LCT	Lactones totales	3203,21 ± 1299,89	b	M1	6739,34	2298,74	ns
				M3	6034,98 a	1921,95 b	*
				Signif	ns	ns	
D1	Acétoïne	40,12 ± 13,27	b	M1	49,46 b	261,67 a	*
				M3	64,29	672,82	ns
				Signif	ns	ns	
D2	Acétophénone	7,20 ± 0,99		M1	5,72	79,60	ns
				M3	5,99	105,94	ns
				Signif	ns	ns	
D3	Me nicotinate	28,16 ± 10,78	b	M1	178,38 b	1410,90 a	**
				M3	164,63 b	1218,56 a	**
				Signif	ns	ns	
DIV	Divers totaux	75,48 ± 24,22	b	M1	233,55 b	1752,16 a	***
				M3	234,91 b	1997,32 a	***
				Signif	ns	ns	
COV	Composés organiques volatils totaux	47252,99 ± 15485,72		M1	80342,49	100170,67	ns
				M3	83996,87	108545,90	ns
				Signif	ns	ns	

**Tableau 10 : Teneurs en composés d'intérêt (R2).** Les fraises ont été broyées par lot de 6 à l'azote liquide. Les composés d'intérêt ont été extraits puis quantifiés.

Code	Composé	A la récolte	Temps de conservation en post-récolte			Signif
			Modalités	2 jours	4 jours	
	<b>%</b>					
MS	Matière sèche	10,01 ± 0,28	M1	10,51	9,33	ns
			M3	9,71	9,85	ns
			Signif	ns	ns	
	<b>% Brix</b>					
IR	Matière sèche soluble	9,03 ± 0,25	M1	9,34	7,90	ns
			M3	8,54	7,86	ns
			Signif	ns	ns	
	<b>Meq/100g</b>					
AT	Acidité titrable	12,83 ± 0,53	M1	11,65	12,93	ns
			M3	12,59	13,08	ns
			Signif	ns	ns	

		<b>Sucres g/100g</b>					
SAC	Saccharose	2,10 ± 0,08	a	M1	1,21 b	0,57 c	***
			a	M3	1,21 b	0,47 c	***
				Signif	ns	ns	
GLU	Glucose	2,04 ± 0,06	b	M1	2,64 a	1,89 b	*
			a	M3	2,21 a	1,54 b	*
				Signif	ns	ns	
FRUC	Fructose	2,23 ± 0,06	b	M1	2,88 aA	2,63 a	**
			b	M3	2,47 abB	2,69 a	*
				Signif	*	ns	
SUC	Sucres totaux	6,37 ± 0,14	a	M1	6,73 a	5,08 b	**
			a	M3	5,89 a	4,69 b	**
				Signif	ns	ns	
SWEET	Pouvoir sucrant	7,46 ± 0,17	a	M1	8,15 a	6,51 b	**
			a	M3	7,12 a	6,26 b	*
				Signif	ns	ns	

Acides organiques g/100g							
MAL	Acide malique	0,24 ± 0,01	a	M1	0,18 b	0,13 c	***
				M3	0,19 b	0,13 c	***
				Signif	ns	ns	
CIT	Acide citrique	0,77 ± 0,03		M1	0,78	0,77	ns
				M3	0,81	0,77	ns
				Signif	ns	ns	
ACI	Acides organiques totaux	1,00 ± 0,04		M1	0,95	0,90	ns
				M3	1,00	0,90	ns
				Signif	ns	ns	
IR/AT	Acidité	0,70 ± 0,01	b	M1	0,80 aA	0,61 a	**
				M3	0,68 aB	0,60 b	*
				Signif	*	ns	
S/A	Ratio sucres/acides organiques	6,35 ± 0,14	ab	M1	7,07 a	5,67 b	*
				M3	5,93	5,22	ns
				Signif	ns	ns	

<b>Vitamine C mg/100g</b>							
AA	Acide ascorbique	57,23 ± 1,05	a	M1	54,59 a	36,85 bA	**
			a	M3	55,61 a	28,07 bB	***
				Signif	ns	*	
DHA	Acide déhydroascorbique	2,53 ± 0,20	b	M1	3,00 b	10,62 aB	**
			b	M3	3,14 b	16,96 aA	***
				Signif	ns	***	
VITC	Vitamine C total	59,75 ± 0,88	a	M1	57,59 a	47,47 b	*
			a	M3	58,75 a	45,03 b	**
				Signif	ns	ns	
AA/DHA	Stress oxydant	22,97 ± 2,09	a	M1	18,26 a	3,85 b	***
			a	M3	18,65 a	1,69 b	**
				Signif	ns	ns	
<b>Polyphénols mg/100g</b>							
FO1	QUE 3 PENTOSIDE	0,20 ± 0,02	c	M1	0,33 b	0,50 aB	**
			c	M3	0,38 b	0,92 aA	***
				Signif	ns	***	

FO2	QUE 3 GLUCU	0,29 ± 0,01	b	M1	0,31 b	0,37 aB	*
				M3	0,33 b	0,63 aA	***
				Signif	ns	***	
FO3	KAE 3 GLUCU	0,03 ± 0,00	b	M1	0,04	0,05 B	ns
				M3	0,04 b	0,11 aA	**
				Signif	ns	***	
FO4	KAE 3 GLU	0,07 ± 0,00	c	M1	0,10 b	0,14 aB	***
				M3	0,12 b	0,26 aA	***
				Signif	ns	***	
FO5	KAE 3 acétylglucoside	0,08 ± 0,00	c	M1	0,12 b	0,13 aB	***
				M3	0,13 b	0,17 aA	***
				Signif	ns	***	
FO	Flavanols totaux	0,66 ± 0,02	c	M1	0,91 a	1,20 aB	**
				M3	0,99 b	2,09 aA	***
				Signif	ns	***	
FA1	Trimère procyanine	0,61 ± 0,03	b	M1	0,92 a	0,88 a	*
				M3	0,77 b	0,90 a	**
				Signif	ns	ns	

FA2	Dimère procyanine	0,04 ± 0,01	b	M1	0,07 a	0,03 b	**
				M3	0,05	0,03	ns
				Signif	ns	ns	
FA3	Dimère procyanine B1	0,09 ± 0,01		M1	0,09	0,06	ns
				M3	0,08	0,06	ns
				Signif	ns	ns	
FA4	Catéchine	0,14 ± 0,01	a	M1	0,09 b	0,09 b	*
				M3	0,10	0,11	ns
				Signif	ns	ns	
FA	Flavanols totaux	0,88 ± 0,04	b	M1	1,16	1,06	ns
				M3	1,01 ab	1,10 a	*
				Signif	ns	ns	
HBA1	A gal 4 glu	0,04 ± 0,00	b	M1	0,10 a	0,14 aB	**
				M3	0,12 b	0,21 aA	***
				Signif	ns	**	
HBA2	Acide ellagique	0,37 ± 0,03	c	M1	0,63 b	1,17 aB	***
				M3	0,72 b	2,17 aA	***
				Signif	ns	***	

HBA	Acides hydroxybenzoïques totaux	0,41 ± 0,03	c	M1	0,73 b	1,31 aB	***
				M3	0,84 b	2,37 aA	***
				Signif	ns	***	
HCA1	A cou glu 1	0,24 ± 0,01	b	M1	0,34 a	0,30 ab	*
				M3	0,32 a	0,26 b	*
				Signif	ns	ns	
HCA2	A cou glu 2	0,09 ± 0,00	a	M1	0,09 a	0,05 b	*
				M3	0,08 a	0,04 b	***
				Signif	ns	ns	
HCA	Acides cinnamiques totaux	0,32 ± 0,01	b	M1	0,43	0,35	ns
				M3	0,40 a	0,30 b	*
				Signif	ns	ns	
AN1	Cyanine-3-glucoside	0,08 ± 0,01		M1	0,12	0,09	ns
				M3	0,10	0,09	ns
				Signif	ns	ns	
AN2	PEL 3 GLU	4,96 ± 0,18	ab	M1	5,54 a	4,29 b	*
				M3	5,65 a	4,68 b	*
				Signif	ns	ns	



AN3	PEL 3 acétylglucoside	0,60 ± 0,02	b	M1	0,70	0,56	ns
				M3	0,71 a	0,63 b	*
				Signif	ns	ns	
AN4	ANTHO 2	0,10 ± 0,02		M1	0,10	0,12	ns
				M3	0,12	0,12	ns
				Signif	ns	ns	
AN	Anthocyanines totales	5,74 ± 0,21	b	M1	6,46	5,05	ns
				M3	6,57 a	5,51 b	*
				Signif	ns	ns	
DH1	PHL	0,11 ± 0,01		M1	0,10	0,10	ns
				M3	0,11	0,10	ns
				Signif	ns	ns	
DH2	PHT	0,02 ± 0,00	b	M1	0,03 a	0,03 a	**
				M3	0,03 a	0,03 a	**
				Signif	ns	ns	
DH	X	0,13 ± 0,01		M1	0,13	0,13	ns
				M3	0,14	0,13	ns
				Signif	ns	ns	

PP	Polyphénols totaux	8,15 ± 0,16	b	M1	9,82 a	9,10 abB	*		
				Signif	c	M3	9,95 b	11,51 aA	***
					ns	*			
<b>Arômes µg/kg - ppb</b>									
C1	Hexanal	372,87 ± 19,13	b	M1	143,06 cB	830,71 aA	***		
				Signif	a	M3	378,08 aA	106,33 bB	***
					**	***			
C2	(Z) 3-hexenal	279,95 ± 25,86	a	M1	84,33 bB	232,82 aA	*		
				Signif	a	M3	182,88 aA	27,26 bB	**
					*	***			
C3	(E) 2-hexenal	880,96 ± 81,99	b	M1	345,22 cB	1383,77 aA	***		
				Signif	a	M3	879,28 aA	253,15 bB	**
					**	***			
CC	Aldéhydes totaux	1533,78 ± 75,30	b	M1	572,61 cB	2447,30 aA	***		
				Signif	a	M3	1440,25 aA	386,74 bB	***
					***	***			
O1	Porpanol	0,00 ± 0,00	b	M1	169,65 A	0,00 B	ns		
				Signif	M3	3,63 bB	508,53 aA	***	
					***	***			

O2	2-Me propanol	0,00 ± 0,00	b	M1	151,82 A	0,00 B	ns
				M3	0,00 bB	407,53 aA	***
				Signif	**	***	
O3	Butanol	25,26 ± 2,80	b	M1	2639,74 A	65,52 B	ns
				M3	42,06 bB	5198,81 aA	***
				Signif	**	***	
O4	2-Me butanol	0,00 ± 0,00	b	M1	429,25 A	0,00 B	ns
				M3	0,00 bB	1285,58 aA	***
				Signif	*	***	
O5	Alcool benzylique	239,19 ± 29,19	b	M1	945,67 aA	131,75 bB	*
				M3	116,63 bB	2119,84 aA	***
				Signif	**	***	
O6	2-phényl éthanol	14,06 ± 2,60	b	M1	124,30 A	8,27 B	ns
				M3	9,30 bB	313,47 aA	***
				Signif	**	***	
O7	3-phényl propanol	0,00 ± 0,00	b	M1	286,65	1,27 B	ns
				M3	0,00 b	472,91 aA	**
				Signif	ns	***	

ALC	Alcools totaux	278,52 ± 32,22	b	M1	4747,08 A	206,82 B	ns
				M3	171,62 bB	10306,66 aA	***
				Signif	**	***	
A1	Acide C2	189,08 ± 19,96	b	M1	1251,78 aA	202,46 bB	***
				M3	230,48 bB	1452,79 aA	***
				Signif	***	***	
A2	Acide 2-Me C3	2254,80 ± 355,19	a	M1	1487,70	2258,15 A	ns
				M3	2150,28 a	783,27 bB	*
				Signif	ns	*	
A3	Acide C4	117404,70 ± 15374,71	a	M1	25921,38 bB	100801,26 aA	**
				M3	111700,31 aA	12643,03 bB	***
				Signif	***	***	
A4	Acide 2-Me C4	4357,85 ± 654,51	a	M1	2288,01	2376,59	ns
				M3	2337,99 b	1431,40 b	**
				Signif	ns	ns	
A5	Acide C6	27199,04 ± 1682,54	a	M1	2270,97 b	5342,11 b	***
				M3	8304,37 b	837,22 c	***
				Signif	ns	ns	

A6	2-phényl éthanol	232,01 ± 33,86	a	M1	72,04 b	92,52 b	**
			a	M3	86,65 b	63,92 b	**
A7	Acide C9	112,39 ± 29,97		Signif	ns	ns	
				M1	57,84	85,64	ns
				M3	54,88	67,92	ns
ACI	Acides totaux	151749,87 ± 16792,56	a	M1	33349,72 bB	111158,73 aA	**
			a	M3	124864,95 aA	17279,55 bB	***
				Signif	**	**	
E1	Et C4	16,66 ± 3,32	b	M1	110,57 aA	9,68 bB	*
			b	M3	8,80 bB	211,26 aA	***
				Signif	**	***	
E2	Bu C2	11,84 ± 1,41	b	M1	223,08 aA	38,89 bB	*
			b	M3	28,04 bB	289,10 aA	***
				Signif	***	***	
E3	Me C6	515,90 ± 68,98	a	M1	183,40 b	185,25 b	*
			a	M3	258,26 b	79,18 c	**
				Signif	ns	ns	

E4	Me-2-OH C4	454,73 ± 57,75	a	M1	45,39 b	137,49 b	**
				M3	221,65 b	11,80 c	**
				Signif	ns	ns	
E5	Me-3-OH C4	202,89 ± 40,05	a	M1	328,96	169,88	ns
				M3	215,37	157,46	ns
				Signif	ns	ns	
EST	Esters totaux	1202,02 ± 97,68	a	M1	891,41 ab	541,18 b	*
				M3	732,12 b	748,81 b	*
				Signif	ns	ns	
T1	LOF	31,70 ± 1,42	a	M1	0,00 cB	9,76 b	***
				M3	12,90 bA	3,37 c	***
				Signif	*	ns	
T2	Linalol	46,62 ± 3,34	a	M1	5,29 b	8,87 b	***
				M3	11,00 b	3,84 b	***
				Signif	ns	ns	
TRP	Terpènes totaux	78,32 ± 2,29	a	M1	5,29 cB	18,62 b	***
				M3	23,90 bA	7,20 c	***
				Signif	*	ns	

F1	DMF	2197,02 ± 266,35		M1	4121,61	3873,01	ns
				M3	3367,71	3114,49	ns
				Signif	ns	ns	
F2	DHF	8105,58 ± 1103,85		M1	7677,43	7881,08	ns
				M3	8744,11	5710,41	ns
				Signif	ns	ns	
FUR	Furanes totaux	10302,60 ± 1360,58		M1	11799,04	11754,10	ns
				M3	12111,82	8824,90	ns
				Signif	ns	ns	
L1	G C10	5602,49 ± 624,59	a	M1	259,83 c	2159,99 b	***
			a	M3	2073,03 b	103,73 c	***
				Signif	ns	ns	
L2	G C12	447,70 ± 72,23	a	M1	23,69 b	164,50 b	**
			a	M3	145,77 b	10,22 b	***
				Signif	ns	ns	
LCT	Lactones totales	6050,19 ± 696,82	a	M1	283,52 c	2324,49 b	***
			a	M3	2218,79 b	113,95 c	***
				Signif	ns	ns	

D1	Acétoine	151,27 ± 29,72	b	M1	2943,61 aA	101,91 bB	*
				M3	142,95 bB	7056,29 aA	***
				Signif	***	***	
D2	Acétophénone	8,48 ± 1,09	a	M1	543,52 bA	8,27 aB	**
				M3	17,32 bB	1226,58 aA	***
				Signif	***	***	
D3	Me nicotinate	306,76 ± 92,34	a	M1	429,01	285,78	ns
				M3	399,18 a	99,52 b	*
				Signif	ns	ns	
DIV	Divers totaux	466,51 ± 110,65	a	M1	3916,13 bA	395,97 aB	**
				M3	559,44 bB	8382,39 aA	***
				Signif	***	***	
COV	Composés organiques volatils totaux	171661,81 ± 17403,85	a	M1	55564,79 bB	128847,20 aA	**
				M3	142122,90 aA	46050,22 bB	***
				Signif	**	*	



## Annexe 4 : UV-C et laitue

Cette annexe 4 est présentée sous forme d'un article de résultats accepté dans le Journal « Scientia Horticulturae » (Figure 79, version acceptée en 2017).



Pre-harvest hormetic doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.) to *Botrytis cinerea* L.



Hilariòn Vàsquez<sup>a</sup>, Chayma Ouhibi<sup>a,b</sup>, Yves Lizzi<sup>a</sup>, Nassera Azzouz<sup>a</sup>, Marine Forges<sup>a,c</sup>, Marc Bardin<sup>c</sup>, Philippe Nicot<sup>c</sup>, Laurent Urban<sup>a,\*</sup>, Jawad Aarouf<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire Physiologie des Fruits et Légumes (UMR Qualisud), Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, 301 Rue Baruch de Spinoza, 84916 Avignon, France  
<sup>b</sup> Unité de Physiologie et Biochimie de la Réponse des Plantes aux Contraintes Abiotiques, Département de Biologie, FST, Université Tunis El Manar, 1068 Tunis, Tunisia  
<sup>c</sup> Plant Pathology, INRA, F-84140 Montfavet, France

**Figure 79 : Article de résultats UV-C/laitue.** Pre-harvest hormetic doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.) to *Botrytis cinerea* L.

### 1. Abstract

Post-harvest applications of UV-C radiation have proven very efficient in reducing the development of post-harvest diseases in many species including lettuce (*Lactuca sativa* L.). Several studies suggest that UV-C radiation is effective not only because of its disinfecting effect but also because it may stimulate plant defenses. Pre-harvest treatment with UV-C radiation may thus offer an interesting potential for lettuce protection, provided that application doses are effective while excluding any harmful effects on the plants. Here we provide evidence that 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 1.70 kJ/m<sup>2</sup> represent doses of UV-C radiation that are not deleterious for lettuce plants. We used several criteria to evaluate the effect of UV-C radiation on the plant, including histological observations; the concentration of malondialdehyde, an indicator of membrane integrity, as well as

parameters derived from measurements of chlorophyll fluorescence, such as maximal efficiency of photosystem II (Fv/Fm) and the Performance Index of Strasser. We observed that a single dose of 0.85 kJ/m<sup>2</sup> slightly increased plant resistance to grey mould (*Botrytis cinerea* L.) while a single dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup> had the opposite effect. When a 0.85 kJ/m<sup>2</sup> dose was applied 4 times, at two-day intervals, there was an increase in the total phenol content of leaves, and in PAL, CAT, and MDAHR activities. Leaves inoculated 2 days after the latter UV-C treatment showed significantly decreased sensitivity (- 30%) when compared to the control.

Keywords: UV-C radiation, *Botrytis cinerea* L., *Lactuca sativa* L., photosystem II, membrane lipid peroxidation, plant resistance

## 2. Introduction

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is cultivated worldwide and is one of the green leafy vegetables most consumed in raw form for its good taste, low price, and high nutritive value, especially due to its vitamin, fiber, and mineral input to a diet. Several diseases can be particularly damaging for lettuce production. Some cause loss of quality with symptoms on leaves, while infection of young plants often results in plant mortality. Among diseases, grey mould caused by the fungus *Botrytis cinerea* is of major concern to growers. The most common and effective strategy to control grey mould is the application of fungicides (Barrière *et al.*, 2014). The use of these fungicides, however, can have a negative impact on the environment and human health. In addition, frequent use of fungicides can lead to the development of resistance (Russell, 1995; Komarek *et al.*, 2010). Thus, there are less and less active molecules officially authorized in the EU. There is thus a growing interest for innovative strategies based on the use of abiotic or biotic factors for stimulating plant natural defenses (Conrath, 2009). Light is an important regulator of the plant-pathogen interactions *via* distinct photoreceptors and signalling pathways (Jenkins, 2009; Magerøy *et al.*, 2010; Demkura and Ballare, 2012). In addition to the visible light, there are other electromagnetic radiations like infra-red light (*IR*) or ultraviolet light (*UV*). The UV portion of the electromagnetic spectrum includes long-wave UV-A radiations (315 - 400 nm), medium-wave UV-B radiations (280 - 315 nm),

and short-wave UV-C radiations (200 - 280 nm) (Barta *et al.*, 2004). UV-B radiation (280-320 nm) has been reported to increase plant resistance to leaf pathogens (Gunasekera and Paul, 2007; Kunz *et al.*, 2008; Ballare *et al.*, 1996; Kuhlmann and Müller, 2010; Demkura and Ballare, 2012). The resistance may be attributed to changes in plant tissue metabolites induced by UV-B radiation, which include accumulation of protective phenolic compounds and enhancement of jasmonic acid-dependent defense pathway (Rousseaux *et al.*, 1998; Mazza *et al.*, 1999; Izaguirre *et al.*, 2003; Foggo *et al.*, 2007; Izaguirre *et al.*, 2007; Kuhlmann and Müller, 2009; Demkura *et al.*, 2010; Ballare, 2011; Mazid *et al.*, 2011). In addition, UV-B radiation stimulates transcription of genes important for defense, including those encoding for phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase, two key-enzymes controlling the synthesis of defense-related phenolic compounds, as well as pathogenesis-related proteins such as chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase (El Ghaouth *et al.*, 2003; Bonomelli *et al.*, 2004; Borie *et al.*, 2004). Conversely, we may expect UV-C radiation to be the most effective (and potentially harmful) due to their high energy level. However, besides the fact that it provokes oxidative stress, little is known about the biological effects of UV-C radiation on vegetative bodies and the mechanisms responsible for the stimulation of plant defenses (Urban *et al.*, 2016). Exposure to UV-C radiation has been reported to reduce post-harvest decay of several species such as *Allium cepa* (Lu *et al.*, 1987), *Ipomea batatas* (Stevens *et al.*, 1990), *Daucus carota* (Mercier *et al.*, 1993a,b) and *Solanum lycopersicum* (Charles *et al.*, 2008a,b; Scott *et al.*, 2016). Mercier *et al.* (2001) showed that the control of disease in bell pepper was obtained through induction of disease resistance rather than by fruit surface disinfection. Based on what is known about UV-B radiation and the induction of disease resistance in post-harvest crops by UV-C, it can reasonably be hypothesized that UV-C radiation could also exert an additional positive effect, indirectly by stimulating the resistance of plants against bio-aggressors. A large number of previously published works have shown that UV-C irradiation elicit defense responses in harvested horticultural crops (Charles *et al.*, 2008a-c). The induction of disease resistance in post-harvest crops in response to UV-C appears to involve the elicitation and accumulation of phytoalexins (Ben-Yehoshua *et al.*, 1992; Mercier *et al.*, 1993b; Sarig *et al.*, 1997; Charles *et al.*, 2008a), the ultra-structural modification of the epicarp leading to the formation of physical barriers (Charles *et al.*, 2008b), the reinforcement of the cell walls by phenolic compounds, lignin and suberin (Charles *et al.*, 2008c), and the enhancement of constitutive and inducible  $\beta$ -1,3-glucanases and chitinases (Charles *et al.*, 2009).

We have recently shown that lettuce plants treated with a low dose of UV-C after harvest show increased resistance against *B. cinerea* and *Sclerotinia minor* (Ouhibi *et al.*, 2015a,b). Surprisingly, observations about the effect of UV-C radiation against pathogens by stimulating natural plant defences during their growth are extremely scarce (Kunz *et al.*, 2008; Darras *et al.*, 2015). These authors observed that treating *Arabidopsis* or *Pelargonium* plants with UV-C radiation induces reduction of infection by *Hyaloperonospora parasitica* and *B. cinerea*, respectively. There is still a lack of references on crops destined for human consumption. Moreover the effect of intermittent exposures to UV-C has never been investigated so far.

Our objective is to test the hypothesis that non-damaging doses of UV-C radiation can be used to reduce lesions caused by *B. cinerea* L. in *Lactuca sativa* L. by stimulating their natural defenses. We proceeded in two steps: we, first, tested different doses of UV-C radiation to determine which doses are not deleterious. Secondly, we tested the effect of single and repeated non-deleterious doses of UV-C radiation on lesion development on inoculated leaves by *B. cinerea*.

### 3. Material and methods

#### *a. Production of plant material and UV-C treatment*

Romaine lettuce seeds (cv Duende, De Ruiters Seeds) were sown in 1 cm<sup>3</sup> rockwool cubes in a glasshouse. One week after sowing, the cubes, each containing one plantlet, were transferred into plastic pots (5 L) containing a commercial growing medium (Metro-Mix 350, Sun Gro, Canada). They were then grown for 3 or 4 weeks at a temperature of 24/16°C (day/night). Five-week-old seedlings were used to identify non-deleterious doses of UV-C, while 4-week-old seedlings were used for a dose/repetition trial. Three independent experiments were conducted, the first between October and November 2013 (Mean cumulated global energy per m<sup>2</sup> and per day is 7.4 MJ/m<sup>2</sup>), the second one between March and April 2014 (Mean cumulated global energy per m<sup>2</sup> and per day is 13.7 MJ/m<sup>2</sup>) and the third one between October and November 2015 (Mean cumulated global energy per m<sup>2</sup> and per day is 7.5 MJ/m<sup>2</sup>).

To determine non-deleterious doses, the seedlings were exposed to UV-C light (254 nm, Spectroline, Model ZQJ-254, output 300 mW.c/m<sup>2</sup>, USA) at a distance of 30 cm. The UV-C radiation dose was made to vary by modifying the duration of exposure. Light intensity measurements were performed with a radiometer (Data Logging Radiometer PMA 2100, Glenside, USA) positioned at 30 cm from the ceiling light. The duration of plant UV-C radiation are 1 min (which corresponded to a dose of 0.85 kJ/m<sup>2</sup>), 2 min (1.70 kJ/m<sup>2</sup>), 4 min (3.40 kJ/m<sup>2</sup>), and eventually 8 min (6.80 kJ/m<sup>2</sup>). In the second experiment, the 4-week-old seedlings were exposed for a period of 1 min every two days during one week, which represents a cumulated dose of 3.40 kJ/m<sup>2</sup>. In both trials, we used untreated plants as a control batch. To avoid the restorative effect of white light (Mercier *et al.*, 2001), All the UV-C treatments were initiated after sunset.

*b. Measurements of chlorophyll a fluorescence using the Handy PEA*

Chlorophyll a fluorescence was measured using a portable non-modulated Handy PEA fluorimeter (Plant Efficiency Analyser, Hansatech Instruments, Kings Lynn, UK). After adaptation of leaves to darkness, a single strong 1s light pulse (3500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}^1$ ) was applied with the help of three light-emitting diodes (650 nm). Recorded fluorescence parameters included: F<sub>0</sub> which represents the minimal fluorescence when all reaction centers are open, F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> which represents the maximum quantum yield of photosystem II (where F<sub>m</sub> is the maximal fluorescence value and F<sub>v</sub> = F<sub>m</sub> - F<sub>0</sub>), F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> is widely used to assess stress in plants. F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub> estimates the maximum primary yield of photochemistry of photosystem II, F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub> is an indicator of the energy trapping probability (Krause and Weiss, 1991). PI is the so-called performance index of Strasser (Strasser *et al.*, 2000). PI is a multi-parametric expression of three independent steps contributing to photosynthesis, namely RC/ABS, F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub> and (1-V<sub>j</sub>)/V<sub>j</sub>. RC/ABS is an indicator of the size of the chlorophyll antenna serving each reaction center whereas (1-V<sub>j</sub>)/V<sub>j</sub> is an indicator of the performance due to the conversion of excitation energy to photosynthetic electron transport. PI is considered as a much more sensitive and discriminating stress indicator than F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> (Thach *et al.*, 2007). Measurements of chlorophyll fluorescence were performed on 20 leaves per treatment (two leaves per plant).

### *c. Epidermal cells microscopy observations*

To determine the non-deleterious UV-C radiation dose, we assessed the visual appearance of the leaves 6 days after the different single UV-C treatments: 0.85 kJ/m<sup>2</sup>, 1.70 kJ/m<sup>2</sup>, 3.40 kJ/m<sup>2</sup> and 6.80 kJ/m<sup>2</sup>. We moreover removed the epidermal cells with fine forceps, treated them with Neu's reagent and observed them under an epifluorescence microscope (Leica DM 2000, Bannockburn, USA) equipped with a filter at 365 nm excitation and 420 nm emission to reveal phenolic compounds. Five plants were used for each dose and three leaves per plant were examined.

### *d. Chlorophyll and carotenoid contents*

Concentrations in chlorophylls a and b and total carotenoids were determined by extraction, using pure acetone (100 %) as a solvent. One hundred milligrams of frozen powdered leaves was incubated 15 min on ice. Then, they were centrifuged for 5 min at 15000 g and 4°C. Quantification of chlorophyll and carotenoids was performed immediately after extraction. Absorbance readings were made at 662 nm and 645 nm for chlorophyll pigments, and at 470 nm for carotenoids. The concentrations were calculated according to Lichtenthaler (1987). Measurements were performed on 5 plants per treatment (n = 5).

$$\text{Chlorophyll a} = (11,24 \times A_{662}) - (2,04 \times A_{645})$$

$$\text{Chlorophyll b} = (20,13 \times A_{645}) - (4,19 \times A_{662})$$

$$C_{X+C} = (1000 \times A_{470} - 1,9 \times \text{Chl}_a - 63,14 \times \text{Chl}_b) / 214$$

### *e. Lipid peroxidation*

Two hundred milligrams of frozen powdered leaves were homogenized in 10 mL of 0.1 % (w/v) trichloroacetic acid (TCA) and then centrifuged at 10000 g for 15 min. One mL of supernatant was then vortexed with 4 mL of 20 % (w/v) TCA containing 0.5 % (w/v) 2-thiobarbituric acid (TBA), and the solution was heated for 30 min at 95°C. The samples were cooled on ice for 5 min and centrifuged again for 15 min at 10000 g. Absorbance of the supernatant at 532 nm was corrected for non-specific absorbance by subtracting absorbance at 600 nm. Malondialdehyde (MDA) concentration was estimated

---

using  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  as the extinction coefficient (Heath and Packer, 1969). Assay was performed on 5 plants per treatment ( $n = 5$ ).

*f. Determination of total phenolic compounds*

One gram of fresh lettuce leaves was homogenized with 20 mL ethanol 70 % and then milled again for 1 min with an Ultraturrax. After stirring in the dark for 30 min, the sample was filtered on a Büchner pump and the supernatant was made up to 50 mL. During this step, total soluble phenolic compounds were extracted. Assays were done according to the method of Marigo (1973). The absorbance was read at 760 nm and the quantification of total phenols was made using a linear calibration curve obtained using extracted gallic acid (GA) standard at increasing concentrations (from 25 to 500  $\text{mg.L}^{-1}$ ). The polyphenol content was expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE) per gram of dry matter (mg AGE/g DW). Assay was performed on 5 plants per treatment ( $n = 5$ ).

*g. Phenylalanine ammonia lyase activity*

Phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity was measured as described by Siriphanich and Kader (1985). The extraction was done on 200 mg of frozen powdered leaves and powder was homogenized in cold with 4 mL of borate buffer 1 M (pH 8.6) containing 5 mM of 2-mercaptoethanol and 0.40 mM of polyvinylpyrrolidone. Then the mixture was centrifuged at 12000 g for 20 min at 4°C. To quantify PAL activity, the reaction mixture consisted in the enzyme extract (0.5 mL) and borate buffer 0.1 M (pH 8.6) containing 5 mM of 2-mercaptoethanol and 0.1 M of phenylalanine. After 1 h incubation at 30 °C, 400  $\mu\text{L}$  of 28 % trichloroacetic acid were added to the mixture to precipitate proteins. Then, the mixture was centrifuged at 12000 g for 20 min at 4°C after spending 5 min at room temperature. PAL activity was measured by spectrometry at 290 nm to detect cinnamic acid. The enzymatic activity was expressed as mmol of trans-cinnamic acid produced/h<sup>1</sup>.g<sup>1</sup> FW. Dosage was performed on 5 plants per treatment ( $n = 5$ ).

---

### *h. Antioxidant enzyme activities*

Four hundred milligram of frozen powdered leaves were homogenized in 4 mL of 100 mM potassium phosphate buffer, pH 7.8, containing 1 mM EDTA- $\text{Na}_2$ , 5 mM DTT, 15 mM  $\beta$ -mercaptoethanol and 10 % (wt/vol) polyclar AT. The homogenate was centrifuged at 15 000 g for 15 min and the supernatant was stored at 4°C.

Ascorbate peroxidase (APX) (EC 1.11.1.11) activity was measured according to (Nakano and Asada, 1981) by monitoring the decrease in absorbance at 285 nm at 25°C. The reaction mixture (3 mL) contained 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 0.16 mM ascorbate, 0.1 mM EDTA- $\text{Na}_2$ , and 3 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . The concentration of oxidized ascorbate was calculated by using extinction coefficient of  $2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . One unit of APX was defined as 1mmol/ml ascorbate oxidized/min.

Glutathione reductase (GR) (EC 1.6.4.2) activity was determined from the rate of NADPH oxidation measured by the change in absorbance at 340 nm at 25°C, following Foyer and Halliwell (1976). The reaction mixture (3 mL) contained 100 mM tris buffer (pH 7.8), 2 mM EDTA- $\text{Na}_2$ , 50  $\mu\text{M}$  NADPH, 0.5 mM GSSG and extract. GR activity was calculated using an extinction coefficient of  $6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Monodehydroascorbate reductase (MDHAR) (EC 1.6.5.4) activity was determined spectrophotometrically by measuring the reduction of absorbance at 340 nm according to the technique described by Begara-Morales *et al.* (2015).

The 1 mL assay mixture contained 50 mM TRIS-HCl (pH 7.8), 0.2 mM NADH, 1 mM ascorbate, and sample. The reaction was initiated by adding 0.2 U of ascorbate oxydase (EC 1.10.3.3 from Cucurbita; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO. USA) and the decrease in absorbance at 340 nm, due to NADH oxidation, was monitored. One mill unit of activity was defined as the amount of enzyme required oxidizing 1 nmol NADH  $\text{min}^{-1}$  at 25°C.

Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) activity was assayed in a mixture (3 mL) containing 100 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0), 6 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  and extract. At 25°C, the decomposition of  $\text{H}_2\text{O}_2$  was monitored at 240 nm (Cakmak and Marschner, 1992). CAT activity was calculated using an extinction coefficient of  $39.4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Each enzyme activity was assessed on 5 plants per treatment (n = 5).



---

i. *Pathogen culture and inoculation tests on leaves*

To assess the effect of UV-C radiation on the level of plant resistance to *B. cinerea*, we inoculated lettuce leaves with the strain SAS405. The inoculum was produced in three days on potato dextrose agar (39 g. L<sup>-1</sup> Difco, Detroit, USA) in a growth chamber (Heliofroid, Le Beausset, France) at 21 °C with a 14h/10h photoperiod. Two days after UV-C treatment, 15 leaves (3 leaves per plant) per treatment were detached, placed in plastic Petri dishes on moistened filter paper, and inoculated by depositing a mycelium plug, 5 mm in diameter. The Petri dishes were then placed in a growth chamber at 22/16°C and a photoperiod of 16h/8h. The leaves were photographed each 24 hours between three and seven days after inoculation and lesion areas were assessed with image analysis software (Image J, US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). The lesion areas were obtained by inoculating leaves with a mycelium plug of strains SAS405 of *B. cinerea* after exposing them to UV-C radiation. We therefore ensured that the effect of UV-C could not be attributed to a disinfecting effect.

j. *Histopathological study*

To study the penetration zone of pathogen in treated and untreated leaves, thirty leaves were inoculated with SAS405 by dropping mycelia implants on the main vein and nearby of the main vein. Leaf fragments of about 1 cm<sup>2</sup> were taken from the infected areas using a razor blade 24 hours after inoculation and were immersed in a cold fixative constituted by formalin-acetic acid-alcohol (1:1:8, v/v/v) during 48 hours at 4°C, rinsed in distilled water, and stored in 70 % ethanol until required. They were then dehydrated in an ethanol series and embedded in resin (Kit Technovit 7100, Wehrheim, Germany). Sections (5 µm thickness) were serially cutted using a Leica microtome, collected on microscope slides and allowed to dry. Slides with hypocotyl sections were stained with 0.5 % aqueous toluidine blue. Slides with root sections were stained to visualize polysaccharides and proteins using periodic acid-Schiff's reagent (PAS) and naphthol blue-black procedures, respectively (Aarouf *et al.*, 2008). The penetration zone of *B. cinerea* in each leaf was examined by a microscope (Optiphot-2, Nikon) observation and

rated as follows, 1: presence in the cuticle; 2: presence under the epidermis and 3: presence in the parenchyma. Means were calculated based on 30 samples per treatment.

### *k. Statistical analyses*

Data were analyzed using analysis of variance (*ANOVA*), followed by multiple comparisons of means with Duncan's test. The data were expressed as means  $\pm$  standard error and statistical significance was set at  $P < 0.05$ . All statistical analyses were performed using XLSTAT software (Addinsoft, Deutschland, Andernach, Germany).

## 4. Results

### *a. Identification of a non-deleterious dose of UV-C*

#### Parameters derived from chlorophyll fluorescence measurements

During the 6 days after UV-C treatments, the chlorophyll fluorescence parameters  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_0$  and PI of the lettuce seedlings varied depending on the doses of UV-C radiation (Figure 80). Decreases in all chlorophyll fluorescence parameters became significant four days after the UV-C treatments at the doses of 3.40 and 6.80  $\text{kJ/m}^2$ . Parameters increased again and reached levels comparable to the control at the 6<sup>th</sup> day, with the exception of the highest dose treatment (6.80  $\text{kJ/m}^2$ ).

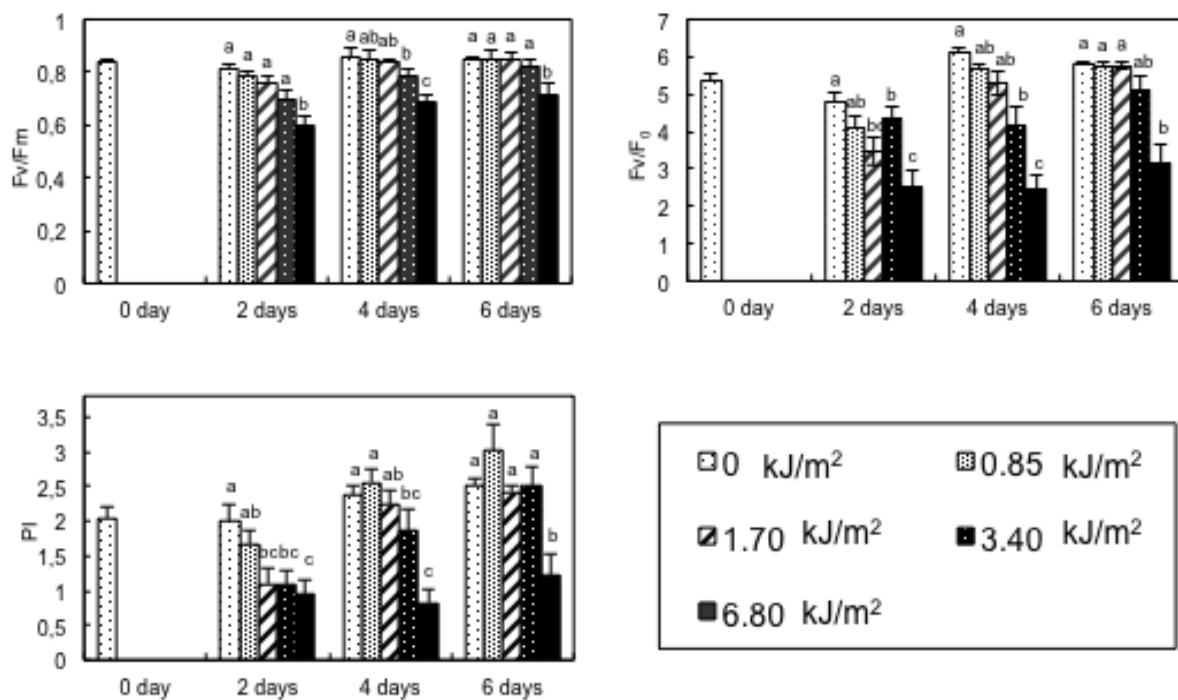
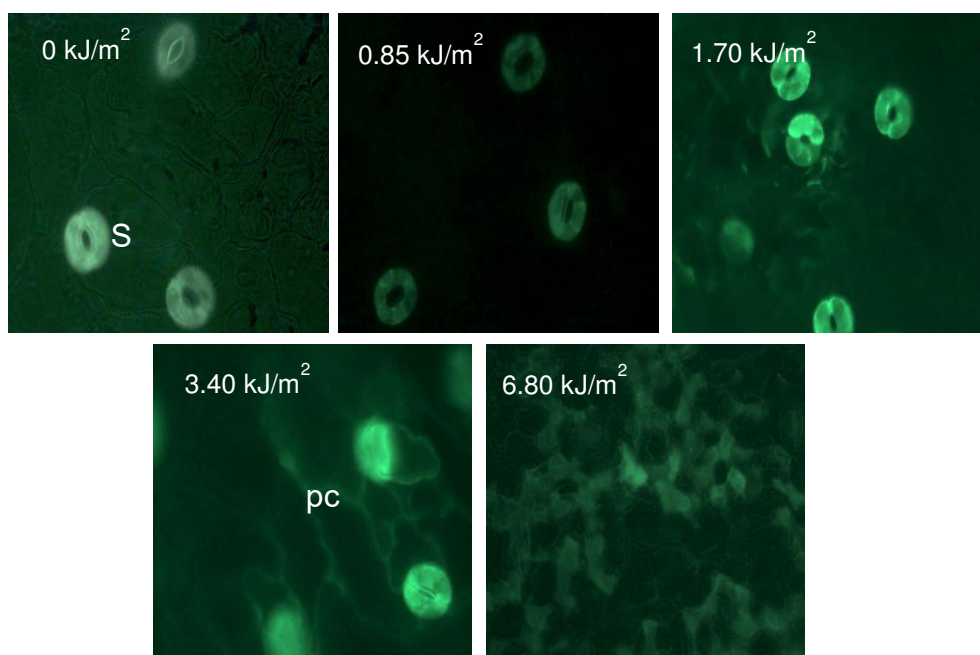


Figure 80: Effect of different doses of UV-C radiation on maximum quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm and Fv/F0), on the performance index (PI) and its components of leaves after a single exposure to UV-C radiation. Bars represent standard errors (n = 20). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05).

#### Microscopic observations of the epidermal cells

After the UV-C treatments, microscopic observations (Figure 81) revealed an increasing level in the fluorescence of the walls with increasing doses of UV-C irradiation, associated with a progressive alteration of epidermal cells and stomata. The 3.40 kJ/m<sup>2</sup> and 6.80 kJ/m<sup>2</sup> UV-C doses induced the highest levels of damage as indicated by the dissociation of cells.



**Figure 81: Effect of different doses of UV-C radiation on the cellular organization of the epidermis of leaves (S: stomata; pc: cell wall) after a single exposure to UV-C radiation.**

#### Determination of pigments and malondialdehyde

Six days after the UV-C treatments, we observed no differences in the concentrations of chlorophylls a and b and of total chlorophyll for the 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 1.70 kJ/m<sup>2</sup> doses when compared to the control (Figure 82). However, there was a decline in the amount of pigments in plants exposed to high doses of UV-C (3.40 kJ/m<sup>2</sup> and 6.80 kJ/m<sup>2</sup>).

Similarly, there was a significant decrease in the concentration of total carotenoids in plants exposed to high doses of UV-C (3.40 kJ/m<sup>2</sup> and 6.80 kJ/m<sup>2</sup>) when compared to the control (Figure 82). No significant decrease was observed at 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and at 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. There was an increase in the amount of MDA for UV-C doses of 3.40 and 6.80 kJ/m<sup>2</sup>, but this increase was significant only at the dose of 6.80 kJ/m<sup>2</sup> (Figure 82).

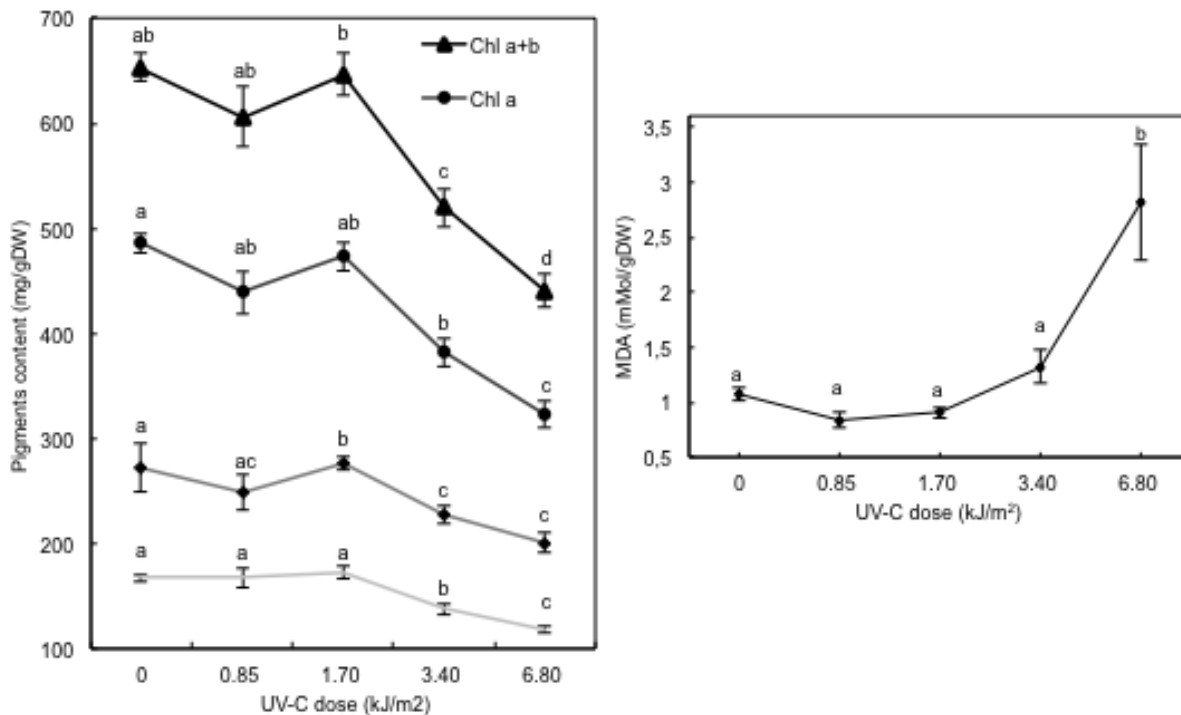


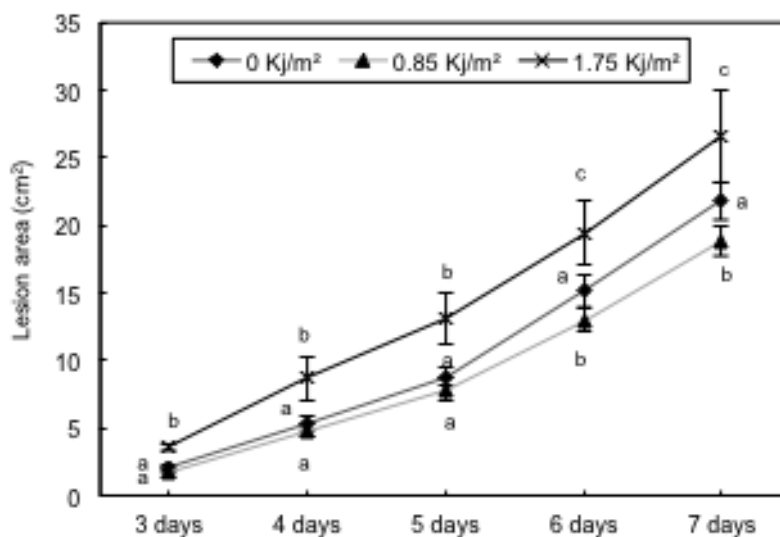
Figure 82: Effect of different doses of UV-C on the amount of (a) chlorophyll a (Chl a) chlorophyll b (Chl b), total chlorophyll (Chla+b), total carotenoids and (b) membrane lipid peroxidation (MDA: malondialdehyde) of leaves after a single exposure to UV-C radiation. Bars represent standard errors ( $n = 5$ ). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ).

### *b. Resistance to *B. cinerea* after irradiation with UV-C*

#### Effect of a single exposure to UV-C radiation

The leaves exposed to a UV-C dose of  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  presented 10-20% smaller lesions than those of the control plants between the 6<sup>th</sup> and the 7<sup>th</sup> day after inoculation (Figure 83). By contrast, lesions were significantly larger (by 21 % to 75 %) when the leaves were exposed to UV-C radiation at a dose of  $1.70 \text{ kJ/m}^2$ . We have thus demonstrated that the dose of  $1.70 \text{ kJ/m}^2$  increased the susceptibility of lettuce leaves to *B. cinerea* 48 h after exposure to UV-C radiation whereas the dose  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  slightly increased resistance.

Single doses of UV-C radiation of either 0.85 kJ/m<sup>2</sup> or 1.70 kJ/m<sup>2</sup> did not seem to provide any agronomic advantage, with 0.85 kJ/m<sup>2</sup> having a minor effect on disease resistance and 1.70 kJ/m<sup>2</sup> even increasing the susceptibility of lettuce to *B. cinerea*.



**Figure 83: Effect of UV-C irradiation on lesion diameters (mm) on the leaves of lettuce.** Plants exposed to a single and different doses of UV-C (0 kJ/m<sup>2</sup>, 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 0.70 kJ/m<sup>2</sup>) and inoculated by *B. cinerea*, 48 hours after UV-C treatment. Bars represent standard errors (n = 15). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05).

#### Effect of four successive exposures to UV-C radiation

We conducted a last experiment that consisted in applying four successive doses of 0.85 kJ/m<sup>2</sup> on 4-week-old seedlings. The UV-C treatments were applied at 48 h intervals and represented a total dose of 3.40 kJ/m<sup>2</sup>. Lettuce leaves inoculated with *B. cinerea* two days after the end of the UV-C treatments, presented 26 % and 33 % smaller lesions areas when compared to the control on the 3<sup>rd</sup> and the 7<sup>th</sup> days after inoculation respectively (Figure 84). The histological study confirms findings regarding susceptibility. Penetration of *B. cinerea* (Table 11), in the main rib or nearby, is deeper in untreated plants than in control plants.

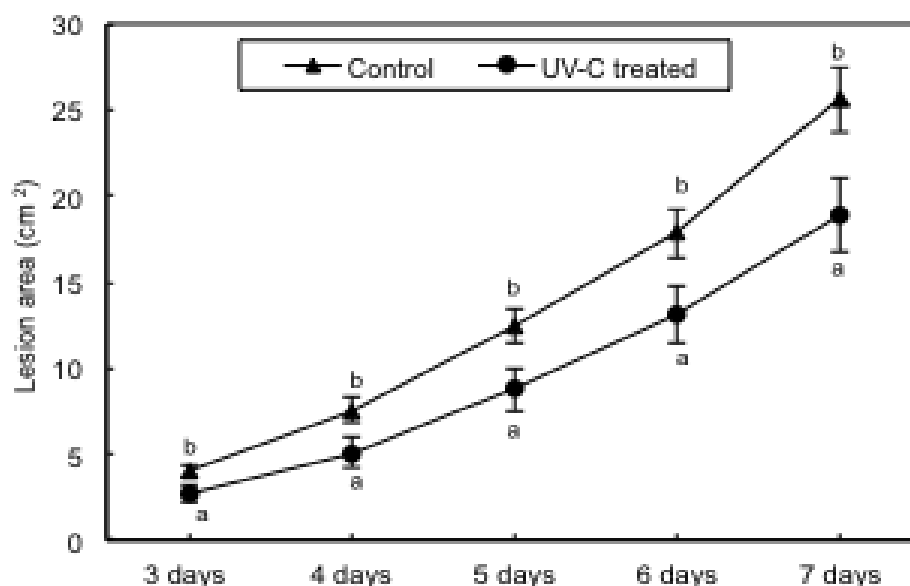


Figure 84: Effect of UV-C irradiation on lesion diameters (mm) on the leaves of lettuce. Plants exposed to four successive UV-C doses (each dose is equal to 0.85 kJ/m<sup>2</sup>) and inoculated by *B. cinerea*, 48 hours after UV-C treatment. Bars represent standard errors (n = 15). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05).

Table 11: Penetration of *B. cinerea* in different cell layers of lettuce leaves 24 h after inoculation. Mycelia implants were placed on or near the main rib of leaves. Penetration was assessed by histology and noted as follows: 0, absence of pathogen; 1, presence of pathogens under the cuticle; 2, presence of pathogens under the epidermis; 3, presence of pathogens in parenchyma. Data represent means  $\pm$  standard errors (n = 30). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05).

Treatments	On the rib		Next to the rib	
	Control	UV-C	Control	UV-C
Penetration index	1.45 $\pm$ 0,24	0.57 $\pm$ 0,07	1.87 $\pm$ 0,23	0.41 $\pm$ 0,10
p-value	0.002		0.0001	

*c. Physiological plant responses of four successive doses of UV-C radiation*

Parameters derived from chlorophyll fluorescence measurements

Two days after successive UV-C treatments, the maximum quantum yield of PSII (Fv/Fm) was found lower in leaves treated when compared to untreated control plants (Table 9). Similarly, the value of PI in the treated leaves appears low when compared to the control. This decrease can be attributed to a decrease in the light reactions of primary photochemistry (Fv/Fm). The density of active reaction centres on a chlorophyll basis (RC/ABS), and the dark reactions (1-Vj)/Vj remained similar to the control (Table 12).

**Table 12: Evolution of Fv/Fo, Fv/Fm, PI, RC/ABS and (1-Vj)/Vj of plant leaves exposed to four successive UV-C doses (each dose was equal to 0.85 kJ/m<sup>2</sup>). Data represent means ± standard errors (n = 20). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05).**

	Control	UV-C treatment	p-value
Fv/F0	6.067 <sup>a</sup> ±0.085	5.664 <sup>b</sup> ±0.096	0.009
Fv/Fm	0.858 <sup>a</sup> ±0.001	0.849 <sup>b</sup> ±0.002	0.007
PI	2.701 <sup>a</sup> ±0.106	2.363 <sup>b</sup> ±0.141	0.037
RC/ABS	0.815 <sup>a</sup> ±0.021	0.771 <sup>a</sup> ±0.035	0.147
(1-Vj)/Vj	0.545 <sup>a</sup> ±0.008	0.535 <sup>a</sup> ±0.013	0.381

Pigments, malondialdehyde, total phenols and enzymatic activities

Repeated exposure to a dose of 0.85 kJ/m<sup>2</sup> did not impact negatively the concentrations in total chlorophylls and total carotenoids (Table 13). Similarly, there was no significant difference in concentrations of MDA as a consequence of repeated exposure to UV-C radiation (Table 13). However, we observed an increase in total phenols content and PAL activity in plants treated with successive doses of



UV-C radiation compared to the control (Tables 13 and 14). The activities of SOD, GR and APX were not affected by the UV-C treatment. In contrast, CAT and MDAHR activities were increased (Table 14).

**Table 13: Effect of four successive doses of UV-C radiation on the amount of total chlorophyll (Chl a+b), total carotenoids, membrane lipid peroxidation (MDA: malondialdehyde), total phenolic (Tot Ph) and Phenylalanine lyase (PAL).** Data represent means  $\pm$  standard errors (n = 5) Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05).

	Control	UV-C treated	p-value
Chl T ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FM)	1265.5 <sup>a</sup> $\pm$ 189.1	1143.9 <sup>a</sup> $\pm$ 159.74	0.095
Car T ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FM)	271.62 <sup>a</sup> $\pm$ 31.22	245.55 <sup>a</sup> $\pm$ 39.91	0.210
MDA (nmol $\text{g}^{-1}$ FM)	4.90 <sup>a</sup> $\pm$ 0.80	4.10 <sup>a</sup> $\pm$ 0.42	0.322
PAL (mmol.h <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> FM)	11.05 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	16.60 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.001
Tot phe (mg EAG.g <sup>-1</sup> FM)	2.69 <sup>a</sup> $\pm$ 0.16	3.40 <sup>b</sup> $\pm$ 0.19	0,008

**Table 14: Effect of four successive doses of UV-C radiation on the activities of CAT, SOD, GR MDAHR and APX.** Bars represent standard errors (n = 5). Different letters indicate significant differences according to Duncan's test (p-value < 0.05).

	Control	UV-C treated	p-value
CAT (nmol.mg <sup>-1</sup> FM)	0.320 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.580 <sup>b</sup> $\pm$ 0.04	0.011
SOD (U.mg <sup>-1</sup> FM)	3.970 <sup>a</sup> $\pm$ 0.77	3.830 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	0.832
GR (nmol.mg <sup>-1</sup> FM)	15.07 <sup>a</sup> $\pm$ 2.15	13.17 <sup>a</sup> $\pm$ 1.03	0.285
MDAHR (mg.g <sup>-1</sup> FM)	17.06 <sup>a</sup> $\pm$ 1.33	21.26 <sup>b</sup> $\pm$ 1.01	0.028
APX (mg.g <sup>-1</sup> FM)	1.357 <sup>a</sup> $\pm$ 0.16	1.460 <sup>a</sup> $\pm$ 0.19	0.346

## 5. Discussion

The response of plants subjected to UV radiation depends on the rate, the duration, the dose and the wavelength of the UV treatment (Pontin *et al.*, 2010). UV-B irradiation has often been observed to induce resistance against pathogens in a number of plant species during growth (Gunasekera and Paul, 2007; Ballare, 2011; Kuhlmann and Müller, 2010; Demkura and Ballare, 2012). It is therefore tempting to exploit them as an alternative method to pesticides. But UV-B radiation requires lengthy periods of exposure to be effective, typically several days or even weeks. Hence the idea to use UV-C radiation treatments, which are able to supply large amounts of energy in a very short period of time. There is however a difficulty when dealing with UV-C radiation. UV-C radiation can be easily damaging and even lethal to plants, even more so than UV-B radiation. The lethal effect of relatively mild doses of UV-C radiation has been exploited successfully to control post-harvest diseases, thus extending the shelf life of fruits and vegetables (Lu *et al.*, 1987; Baka *et al.*, 1999; Mercier *et al.*, 1993a; Liu *et al.*, 1993; Wilson *et al.*, 1997; Mercier *et al.*, 2001; Charles *et al.*, 2008a; Siddiqui *et al.*, 2011). While illustrating the potent damaging effect of UV-C radiation, these studies at the same time demonstrate that it is possible to define doses, which deliver the desired effect without negative side effects on the stored plant organs.

Several studies even point out that UV-C radiation may stimulate the secondary metabolism, which is known to play a role in both the health benefits of harvested organs and defenses of plants (Poiroux-Gonord *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2015). Surprisingly, observations about the effect of UV-C radiation against pathogens during plant growth are extremely scarce (Urban *et al.*, 2016), with one study demonstrating that treatment of *Arabidopsis* plants with UV-C radiation induced resistance against the oomycete pathogen *Hyaloperonospora parasitica* (Kunz *et al.*, 2008). To our knowledge, the results presented here are the first to demonstrate a similar effect on a crop plant. They are also the first observations demonstrating a superior effect when doses are repeated at regular intervals of time.

One of our major challenges in the present study was to find a dose that is both effective against the targeted pathogen and harmless for plants. We exploited data from the literature to define the doses we selected for the trial. Mercier *et al.* (1993b and 2001) found that a dose as low as 0.88 kJ/m<sup>2</sup> was sufficient to induce resistance in stored carrots and bell peppers. Doses of 3.7 and 5.0 kJ/m<sup>2</sup> were found to be necessary to induce resistance in tomato (Maharaj *et al.*, 1999; Charles *et al.*, 2008a) and lemon (Ben-Yehoshua *et al.*, 1992), respectively. Doses ranging from 3.6 kJ/m<sup>2</sup> to 7.5 kJ/m<sup>2</sup> were effective in controlling natural infections in apple, peach, onion and sweet potato (Lu *et al.*, 1987; Stevens *et al.*, 1990).

Clearly the higher doses of UV-C radiation (3.40 kJ/m<sup>2</sup> or 6.80 kJ/m<sup>2</sup>) tested here were strongly damaging to lettuce, as shown by yellowing of leaves and destruction of epidermal cells. It has been repeatedly observed that exposure to abiotic or biotic stresses increase the production of reactive oxygen species (ROS) in plants (Ait-Barka *et al.*, 2000b; Mazid *et al.*, 2011; Miller *et al.*, 2007; Ballhorn *et al.*, 2009). When ROS are not scavenged effectively and accumulate, cytotoxic effects can be observed, including damage to membranes, proteins, chlorophylls and nucleic acids (Scandalios, 1997; Hollósy, 2002). In the present study, the high levels in MDA observed in leaves as a consequence of UV-C radiation at 3.40 kJ/m<sup>2</sup> and 6.80 kJ/m<sup>2</sup> suggest that oxidative stress was strong enough at these doses to damage membranes. UV-C radiation at 3.40 kJ/m<sup>2</sup> and 6.80 kJ/m<sup>2</sup> also affected the photosynthetic apparatus as shown by Fv/Fm, Fv/F0 and PI data.

Our observations are consistent with what is known about the potential damaging effect of both UV-B and UV-C radiation on the structure of thylakoids (Bornman *et al.*, 1983). While both high doses of UV-C radiation were undoubtedly damaging, the picture appears more contrasted for the two lower doses of 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. On one side the PI data suggest that 1.70 kJ/m<sup>2</sup> is a dose with negative effects (day 2), and on the other hand, neither MDA data nor visual and microscopic observations, pigment or Fv/Fm data were modified, knowing that the performance index (PI) is one of the most sensitive indicators of stresses in plants (Poiroux-Gonord *et al.*, 2013). Moreover the negative effect we observed on PI for the 1.70 kJ/m<sup>2</sup> treatment was reversible, since the parameter had recovered by day

4. At any rate, the lowest dose of UV-C radiation ( $0.85 \text{ kJ/m}^2$ ) did not affect any of the parameters of this trial, suggesting strongly that this dose is truly harmless. The impact difference on leaves physiology between the  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  and the  $1.70 \text{ kJ/m}^2$  treatments was slight. Hence, we carried out further experiments with both doses for the evaluation of infection severity.

According to our observations of lesion areas, submitting plants to a single low dose of  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  did not substantially increase the resistance of lettuce against *B. cinerea*, whereas the dose of  $1.70 \text{ kJ/m}^2$  increased its susceptibility, indicating the harmful effect of this higher dose. Thus, we examined the effect of the lower dose of  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  applied for times intermittently. This time we observed a substantial positive effect on lesion areas, which became apparent 3 days after inoculation and increased until the end of the trial, *i.e.* 7 days after inoculation. At that time, the reduction in lesion area had reached 33 % in the plants inoculated two days after the end of the UV-C treatment. This is in contrast to the observation of Mercier *et al.* (2001) on post-harvest bell pepper fruit, where two successive applications of UV-C dose of  $0.88 \text{ kJ/m}^2$  was less effective, suggesting differences in the response to UV-C between senescing plant bodies and growing vegetative bodies. Our new treatment depressed PI and even Fv/Fm and F0/Fm. However this latter negative effect was a very moderate one because repeated exposure to a dose of  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  did not affect pigments and MDA. The activities of CAT and MDAHR leaves of UV-C stressed plants were significantly stimulated compared to control plants. The induction of these enzymes coincided with stable concentrations of MDA in UV-C treated plants when compared to the control. Oxidative stress and low damage certainly play a role, suggesting the induction of defense mechanism, probably involving production of antioxidants and activation of antioxidative enzymes. Oxidative signaling has been shown to be involved in cross-talk responses (Fujita *et al.*, 2006) and in priming mechanisms. Our results clearly show that low and successive UV-C treatments are perceived by plants and have positive impact on the susceptibility of lettuce to *B. cinerea*. In this study, the successive UV-C doses applied on lettuce plants caused significant increases in PAL activity and total phenolics. The production of phenolic compounds such as lignin and suberin that

deposit on cell walls and serve as reinforced barriers against pathogen attack. UV-C induced ultrastructural modification of the tomato fruit epicarp, causing the formation of a zone of stacked cell walls which were later to be impregnated with lignin and suberin rendering cell walls less prone to degradation by hydrolytic enzymes secreted by *B. cinerea* (Charles *et al.*, 2008c,d) and the enhancement of fungal cell wall hydrolases in the plant tissue (Charles *et al.*, 2009). Most of the above mentioned defense-related compounds are involved in the line of defense against the necrotrophic fungus *B. cinerea* (Jarvis, 1980). Our results show a slower penetration of *B. cinerea* in the UV-C treated leaves compared to the control leaves. The observations we made of the stimulating effect on plant defenses of UV-C treatments applied before inoculation, are very encouraging. The agronomic perspectives of UV-C radiation are sufficiently exciting to provide a strong incentive for studies in the future aiming at improving our understanding of the mechanisms of UV-C perception and signalling in relationship with plant defenses. Our observations are encouraging: the potential for UV-C light to be at the origin of plant defences during their growth becomes more and more evident. However, little information is available about the effects of UV-C light on the mechanisms responsible for the stimulation of plant defences. Thus, a clear understanding of the way UV-C radiation are perceived by plants and translated to defense mechanisms is necessary, before the use of UV-C be recommended for field use.

## Annexe 5 : UV-C et tomate

Cette annexe 5 est présentée sous forme d'un article de résultats soumis au Journal « Fruits » (Figure 85).

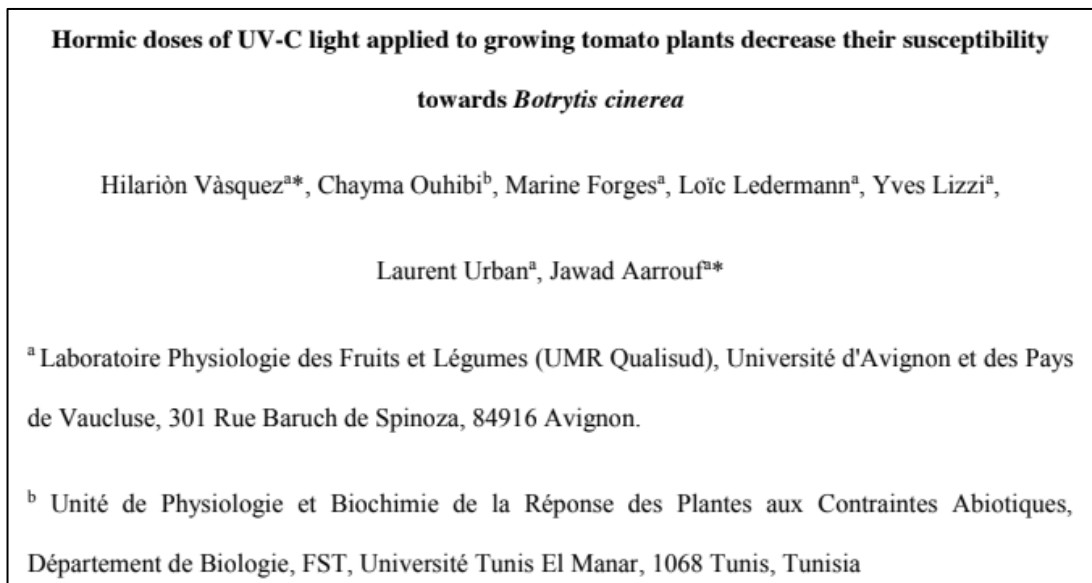


Figure 85 : Article de résultats UV-C et tomate.

### 1. Summary

UV-C light treatments have been shown to be very effective in reducing the development of diseases in several species, including tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Treatments during the cultivation of tomato plants with UV-C light can offer an interesting potential not only for its disinfecting effect but also because it can stimulate plant defenses (*SPD*) against diseases, provided that the applied doses are high enough to be effective and low enough to exclude any deleterious effect. The effects of UV-C light were evaluated by histological observations and biochemical analysis, including the concentration of malondialdehyde (*MDA*), an indicator of membrane integrity, as well as by

chlorophyll fluorescence parameters such as the maximum efficiency of the photosystem II ( $F_v/F_v$ ) and the Strasser performance index ( $PI$ ). In this work, treatments with single doses of  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  or  $1.70 \text{ kJ/m}^2$  of UV-C light were found to significantly increase the plants defences against *Botrytis cinerea* by reducing the affected leaf area by 51 % when compared to the control. This decrease in sensitivity is related to an increase in the activity of antioxidant enzymes such as glutathione reductase ( $GR$ ), catalase ( $CAT$ ) and ascorbate peroxidase ( $APX$ ).

Keywords: antioxidant enzymes, membrane lipid peroxidation, photosystem II, plant resistance, oxidative stress

## 2. Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) belongs to the Solanaceae botanical family. Native to the Andes, tomato was probably first domesticated in Mexico (Adhikari *et al.*, 2017). Tomato plants have an optimal temperature range for growth between  $16$  and  $27^\circ\text{C}$  (Mao *et al.*, 2014; Van Ploeg and Heuvelink, 2005). With high nutritional value, the tomato fruit provides a balanced source of antioxidants, including carotenoids, among which several are precursors of vitamins A. Lycopene, which was found to be involved in the protection of consumers against cardiovascular diseases, represents more than 80 % of the total carotenoids present in the fruit (Gondal *et al.*, 2012; Lenucci *et al.*, 2006). The tomato fruit is also rich in ascorbic acid and phenolic compounds. Besides carotenoids, they arguably contribute to counterbalance the harmful effects of free radicals, which are believed to be associated with many chronic diseases (Vásquez *et al.*, 2012).

Tomato is the second most consumed vegetable in the world after potato and is the most important in terms of commercial interest. It represents approximately 25 % of the area cultivated with vegetables and approximately 20 % of the world vegetable production, excluding potato (Hutin, 2011). The main tomato producing

countries are China, followed by India and the United States of America with a productivity of 13.2, 17.5 and 50 tons ha<sup>-1</sup>, respectively (Masho *et al.*, 2016). However, in terms of yield, the Netherlands is the world's leading country with a productivity of 130 tons ha<sup>-1</sup>. In average 15 phytosanitary treatments are applied to a typical tomato crop (Adhikari *et al.*, 2017). However, frequent use of the same active ingredients can lead to the development of resistances (Guimarães *et al.*, 2017). Despite the use of fungicides and of resistant hybrid varieties, disease control remains a major concern to growers. Among diseases affecting tomato, grey mould caused by *Botrytis cinerea* Pers., is at the origin of significant losses due to the weakening or generalized damage of plants (Irshad *et al.*, 2014).

There is a growing interest for innovative strategies based on the use of abiotic or biotic factors as stimulators the plant defenses (*SDP*) (Urban *et al.*, 2016). Very recently, UV light, and more specifically UV-C light has been reported to be capable of stimulating plant defenses against a large range of pathogens, arguably by stimulating the production of secondary metabolites, notably phenolic compounds endowed with antifungal properties (Muvunyi *et al.*, 2012; Urban *et al.*, 2018).

Consistent with this hypothesis, an increase was observed in PAL, phenylalanine ammonium lyase, a key enzyme of the biosynthetic pathway of phenolic compounds (Scott *et al.*, 2018). Besides, UV-C light was observed to favour resistance by triggering the formation and favouring the reinforcement of cell walls (Bacete *et al.*, 2018; Charles *et al.*, 2008). Most observations of the stimulating effect of UV-C light on plant defenses were made on harvested organs. Their effects on growing plants are extremely scarce (Urban *et al.*, 2016, 2018). Our objective was to test the hypothesis that hormetic doses of UV-C light can be used for *SDP* and reduce the lesions caused by *B. cinerea* L. during tomato cultivation.



### 3. Material and methods

#### *a. Plant material*

The plant material was produced in February 2017 and tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L.) of the variety 'Monalbo' were used. Germination trays containing moss peat (Klasmann TS3 Standard 425) were used for sowing and the development was carried out under glass (temperature: 24°C day, 16°C night, photoperiod: 16 hours light and 8 hours dark). The plants were then transplanted into 20 L pots, which contained the same type of substrate used for planting. Irrigation was carried out automatically twice a day, following evapotranspiration calculations, throughout the growing cycle.

#### *b. UV-C treatment of plants*

Plants to be treated were placed in a chamber equipped with 5 UV-C lamps (wavelength 254 nm, Spectroline, model ZQJ-254, output 300 mW/cm<sup>2</sup>, USA). They were placed at a distance of 30 cm to the top lamps. The UV-C irradiation was recorded by means of a spectroradiometer (Data Logging Radiometer PMA 2100, Glenside, USA) and doses were obtained by modifying the exposure time. We found that a period of exposure of 16 s gives a dose of 0.40 kJ/m<sup>2</sup>, a period of 31 s a dose of 0.85 kJ/m<sup>2</sup> and a period of 62 s a dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup>. Single treatments were performed 48 hours before inoculation. Non-treated plants served as a control.

#### *c. Chlorophyll a fluorescence*

We analysed energy and electron fluxes in and around photosystem II, using the approach developed by Strasser *et al.* (2000) as a mean to evaluate the impact of UV-C treatments on the photosynthetic machinery, notably potential damage (Ripoll *et al.*, 2016). A Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech

Instruments, Kings Lynn, UK) portable fluorometer was used to generate induction curves of maximal chlorophyll a fluorescence on leaves dark-adapted for 30 min (Strasser *et al.*, 2000). The flash of saturating light had an intensity of 3500  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

We notably calculated  $\text{PI}_{\text{ABS}}$ , the so-called Performance Index of Strasser (Strasser *et al.*, 2010).  $\text{PI}_{\text{ABS}}$ , is a multiparametric expression of three independent steps contributing to energy capture and conversion, namely  $\text{RC}/\text{ABS}$ ,  $\text{FV}/\text{F0}$  and  $(1-\text{V}_\text{J})/\text{V}_\text{J}$ . We also determined  $\text{F0}$ ,  $\text{Fm}$ ,  $\text{Fv}$ ,  $\text{Fv}/\text{Fm}$ ,  $\text{Sm}$ ,  $\text{N}$ ,  $\text{Vk}$ ,  $\text{Mo}$  and  $\text{PI}_{\text{ABStotal}}$  (see Ripoll *et al.*, 2016 and Urban *et al.*, 2017 for details). Measurements were performed before and after 48 hours of plant exposure to treatments. Measurements were made on 15 leaves per treatment.

#### *d. Chlorophyll and carotenoid contents*

The content of chlorophyll a and b and carotenoids were determined after extraction from 100 mg of fresh material (*MF*) in 1 ml of 100 % pure acetone (solvent). The samples were incubated for 15 min in the dark. They were then centrifuged at 4°C for 5 min at 15000 g. Absorbance readings were taken at 662 and 645 nm for chlorophyll pigments and 470 nm for carotenoids, after extraction using a Biochrom spectrophotometer, S6 lb. The chlorophyll was calculated using the Lichtenthaler formula (1987) and expressed as a function of the fresh weight of the previously weighed sample ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  of *MF*).

#### *e. Lipid peroxidation*

For the dosage of malondialdehyde (*MDA*), the leaves were ground, then 200 mg were mixed with 1 ml of trichloroacetic acid (*TCA*, 1 %) and then centrifuged at 4°C for 15 min at 15000 g. 0.5 ml of supernatant was immediately supplemented with 1 ml of thiobarbituric acid (0.5% of *TBA* prepared in 20 % of *TCA*). The samples were incubated for 30 min at 95°C and the reaction was stopped

by ice cooling for 30 min, butanol (at the same volume as the sample) was added to each sample. Two phases appear, the coloured phase was recovered and the absorbances were measured at 532 and 600 nm. After subtracting the non-specific absorbance reading at 600 nm, the concentration of MDA was calculated using its molar extinction coefficient ( $\epsilon$ M), equal to  $155 \text{ mM}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

*f. Determination of total phenolic compounds*

One gram of fresh lettuce leaves was homogenized with 20 mL ethanol 70 % and then milled again for 1 min with an Ultraturrax. After stirring in the dark for 30 min, the sample was filtered on a Büchner pump and the supernatant was made up to 50 mL. During this step, total soluble phenolic compounds were extracted. Assays were done according to the method of Marigo (1973). The absorbance was read at 760 nm and the quantification of total phenols was made using a linear calibration curve obtained using extracted gallic acid (GA) standard at increasing concentrations (from 25 to 500  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). The polyphenol content was expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE) per gram of dry matter (mg AGE/g DW). Assay was performed on 5 plants per treatment ( $n = 5$ ).

*g. Phenylalanine ammonia lyase activity and Antioxidant enzyme activities*

The activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL) was measured as described by Siriphanich and Kader (1985), measured by spectrometry at 290 nm and expressed in mmol of trans-cinamic acid produced by  $\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  MF. With regard to the activity of antioxidant enzymes, the first step was to extract over 400 mg of powdered leaves, homogenised in 4 ml of potassium phosphate buffer 100 mM (pH 7,8), containing 1 mM EDTA- $\text{Na}_2$ , 5 mM dithiotreitol (DTT), 15 mM  $\beta$ -mercaptoethanol and 10 % (% by weight) polychloride AT. The homogenized

product is centrifuged at 15000 g for 15 min. APX activity (EC 1.11.1.11) was measured in the supernatant extract according to Debnath *et al.*, (2018), following the decrease in absorbance at 285 nm at 25°C. The concentration of oxidized ascorbate was calculated using an  $\epsilon$ M of 2.8 mM.cm<sup>-1</sup>. An APX unit was defined as 1 mmol.mL<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> oxidized ascorbate. Glutathione reductase (*GR*, EC 1.6.4.2) was determined from the NADPH oxidation rate measured by the absorbance change at 340 nm at 25°C, used by Ahmad *et al.* (2018). GR activity was calculated using a  $\epsilon$ M of 6.2 mM.cm<sup>-1</sup>. Another of the enzymes analyzed was catalase (*CAT*, EC 1.11.1.6) used by Debnath *et al.*, (2018), through the decomposition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> measured at 240 nm. The activity was calculated with a  $\epsilon$ M of 39.4 mM.cm<sup>-1</sup>. Finally, superoxide dismutase (*SOD*, EC 1.15.1.1) was analysed using a reaction mixture containing 100  $\mu$ L of extract, 800  $\mu$ L of a solution containing (1 mM buffer of diethylenetriaminopentacetic acid (*DTPA*) pH 7.8, 1.25 units of *CAT*, 0.07 mM of tetrazolium nitroblue (*NBT*), 0.2 mM of xanthine and 100  $\mu$ L of 0.104 units of xanthine oxidase. A unit of *SOD* was defined as the amount of enzyme required to cause 50 % inhibition of the rate of reduction of TBN at 560 nm and 25°C. Each enzyme activity was evaluated on leaves of five plants per treatment (n = 5).

#### *h. Pathogen culture and inoculation tests on leaves*

For pathogen inoculation tests, the *B. cinerea* Bc21 strain is cultured from frozen spores, which were collected sterile and then placed in PDA medium for incubation in a phytotron between 48 and 72 hours at 20°C to promote fungal growth. Leaflets were then taken from the UV-C-treated plants as well as from control plants (untreated) and placed in culture boxes (made of clear polystyrene), containing a Joseph's paper and 2 sterile filter papers impregnated with 50 mL of distilled water. Each box contained 15 leaflets. A mycelial implant of the 5 mm diameter strain was placed in the centre of each leaflet. The boxes were then placed in a phytotron at a temperature of 22°C/16°C and a photoperiod of 16 hours/8 hours. After three days photos were taken to evaluate a potential resistance of the tomato

against *B. cinerea*, estimated by measuring the area in cm of the developed lesions (necrosis), using 'ImageJ' imaging software.

#### *i. Histopathological study*

The histopathological study was carried out by means of microscopic observations on 1 cm<sup>2</sup> leaflet fragments of leaves treated or not treated with UV-C, after 24 hours of inoculation with *B. cinerea*. These were fixed in a mixture of paraformaldehyde (4 %), glutaraldehyde (1 %) and caffeine (1 %) supplemented with a drop of Tween 80 for 24 hours. During fixation, vacuum was applied to facilitate the penetration of the fixative into the tissues. The samples were rinsed with distilled water and then gradually dehydrated with successive ethanol baths (25, 50, 70, 85, 95 and 100 %). The fragments were then impregnated in a mixture (1:1) of absolute ethanol and synthetic resin (Technovit 7100, Kulzer kit) for 12 hours and then in pure resin for 24 hours. They are then included in the same resin to which a hardener was added to induce their polymerization at room temperature. After polymerization, the obtained histoblocks were cut with a microtome (Leica Jung-Kulzer Supercut 2065). Producing series sections of 3 µm thick. The resin tapes with the sample sections were unfolded in a container of distilled water. They were then collected on slides and dried on a hot plate before being double stained with Schiff/Naphtol and Blue Black reagent. They were then viewed under an optical microscope (Leica DM 2000) equipped with a digital camera (DFX 100). The histological scale of penetration was rated as follows: 0, absence of pathogen; 1, presence below the cuticle; 2, presence below the epidermis; 3, presence in the parenchyma.

#### *j. Statistical analyses*

For statistical analyses, means were calculated from 5 to 15 replicates depending on the parameters. The effect of the different treatments was highlighted

in the ANOVA analysis of variance, using the non-parametric Kruskal-Wallis test, followed by multiple mean comparisons using the Duncan test with a significance level of  $\alpha = 0.05$ . All statistical analyses were performed using XLSTAT software in Microsoft Excel. The experiments were conducted twice at different times.

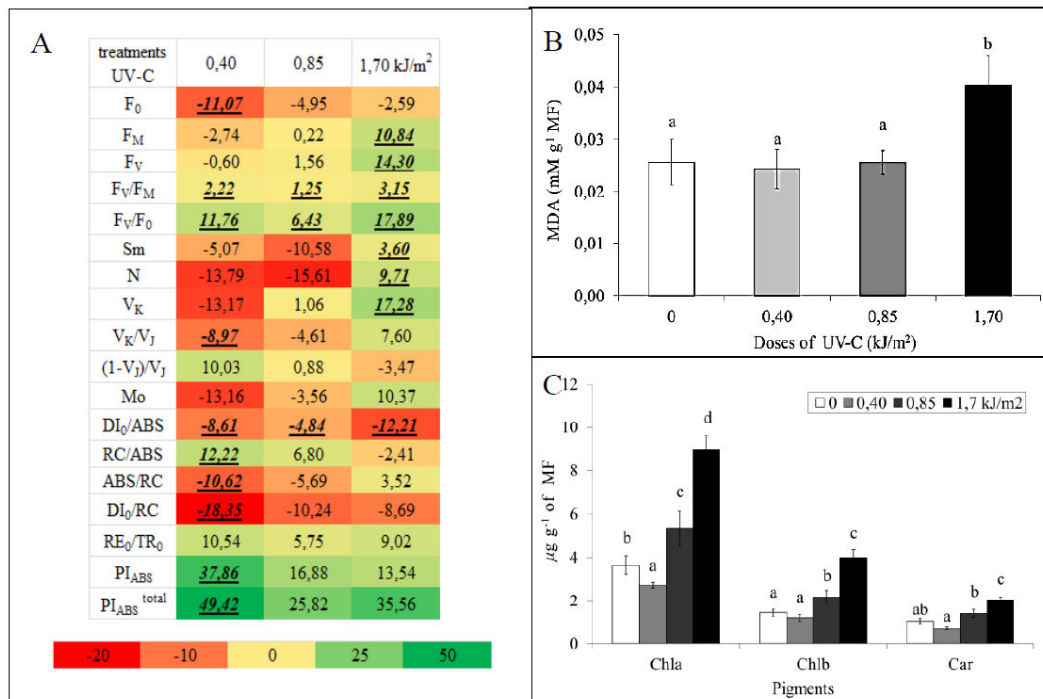
#### 4. Results and discussion

There was a small but significant increase in the maximum quantum efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ), for all the three doses of UV-C light when compared to the control (Figure 86-A). This increase in  $F_v/F_m$  is attributable to a decrease in minimal fluorescence ( $F_0$ ) for the 0.40 kJ/m<sup>2</sup> dose and to an increase in  $F_m$  for the 1.70 kJ/m<sup>2</sup> dose. A decrease in  $F_0$  may be due to the loss of functional continuity between photon collection and PSII energy processing (Hakala *et al.*, 2010). This decrease is often identified as an adaptive acclimatization process with low PSII regulation, as a protective mechanism that helps dissipation excess energy from the photosynthetic apparatus, increasing the flow of cyclic electrons around PSI (Hill and Ralph, 2005). Consistent with this view, there was for the 0.40 kJ/m<sup>2</sup> dose an increase in  $RE_0/TR_0$  and a decrease in  $DI_0/ABS$ . An increase in  $RE_0/TR_0$  may be an indicator of an increase in the cyclic electron flow, whereas a decrease in  $DI_0/ABS$  corresponds to a decrease in excess energy dissipation (Ripoll *et al.*, 2016).

The picture is completely different for the 1.70 kJ/m<sup>2</sup> dose. An increase in  $F_m$  is produced by the deployment of the entire cyclic electron transport chain (Stirbet *et al.*, 2012), which is consistent with the observed increase in  $RE_0/TR_0$ , and it should be reflected in an increase in the turnover rate, which was indeed the case since we observed an increase in both  $S_m$  and  $N$ . An increase in  $S_m$  or  $N$  indicates an increase in the number of reductions and oxidations of the QA molecules until  $F_m$  is reached, and is therefore related to an increase in the number of electron transporters or the proportion of electrons passing through the electron transport chain. In the 1.70 kJ/m<sup>2</sup> treatment, there was also an increase in  $V_k$ , the relative variable fluorescence at 300  $\mu s$  (K-step).

Limitation/inactivation, possibly damage of the oxygen-evolving complex may be observed and assessed through the increase in  $V_k$  (Srivastava *et al.*, 1997), although such an increase may also be interpreted as a different functional antenna size (Yusuf *et al.*, 2010). In other words, the increase in the probability of excitation energy entrapment,  $F_v/F_0$  and the increase in the turnover rate possibly resulted in an increased risk of damage in the 1.70 kJ/m<sup>2</sup> treatment. This risk could not be prevented by an increase in excess energy dissipation since there was no increase in  $DI_0/ABS$ , on the contrary. Taken together our observations suggest that the 0.40 kJ/m<sup>2</sup> treatment stimulated photosynthetic efficiency, that the 0.85 kJ/m<sup>2</sup> treatment was neutral, and that the 1.70 kJ/m<sup>2</sup> treatment was potentially detrimental. Consistent with the idea that the 0.40 kJ/m<sup>2</sup> treatment was beneficial, there was an increase in  $PI_{ABS}$  and  $PI_{ABSTOT}$ , which are generally considered as more sensitive and discriminating stress indicators than  $F_v/F_m$  (Stirbet and Govindjee, 2011).

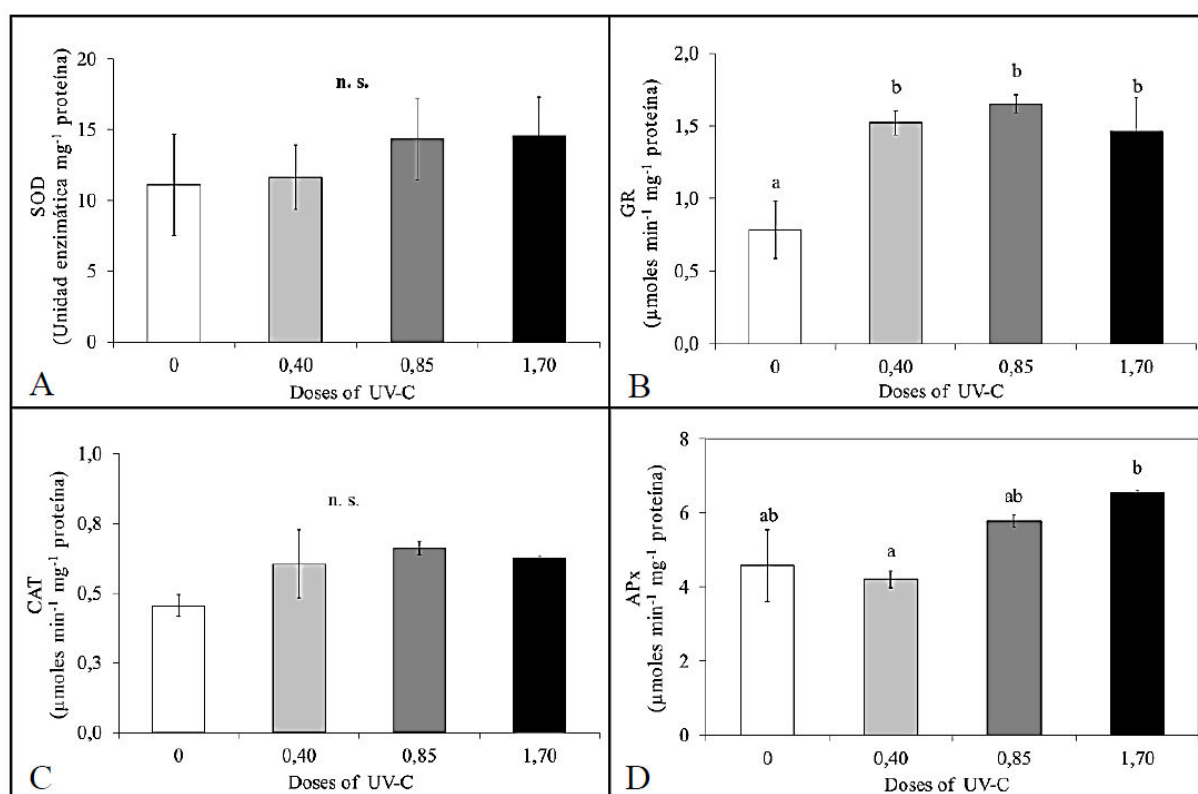
This was corroborated by the higher MDA values obtained when tomatoes were exposed to UV-C radiation at 1.70 kJ/m<sup>2</sup> when compared to untreated plants (Figure 86-B). However, in the case of plants treated with doses of 0.40 kJ/m<sup>2</sup> and 0.85 kJ/m<sup>2</sup> the amount of MDA was found to be similar than in the control plants. Surprisingly there was a significant increase in the content of Chl a, Chl b and carotenoid pigments when plants were treated with the highest doses of UV-C light, at 0.85 and 1.74 kJ/m<sup>2</sup> (Figure 86-C).



**Figure 86:** (A) Relative differences in chlorophyll fluorescence parameters in plants UV-C treated when compared to the control (the differences are significant for figures highlighted in italics and underlined,  $n = 15$ ). (B) Malondialdehyde concentrations (MDA), (C) evolution of pigment content in plants treated with different doses of UV-C, then inoculated after 48 hours with *B. cinerea*. Data represent  $\pm$  standard errors ( $n = 5$ ) and different letters represent significant differences between treatments according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ).

Arguably the increase in carotenoid content contributed to the protection of chloroplasts against photooxidative stress (Sankari *et al.*, 2017; Birben *et al.*, 2012). This seems consistent with the observed increase in activity of antioxidant enzymes (GR, CAT, APX and SOD) in plants treated at 0.85 and 1.74 kJ/m<sup>2</sup> (Figure 87). This increase, consistent with similar observations about UV-C light (Darras *et al.*, 2012; Rai *et al.*, 2011), was a general trend but it was statistically significant only for GR at all doses and for APX for the 1.74 kJ/m<sup>2</sup> dose, when compared to the control.



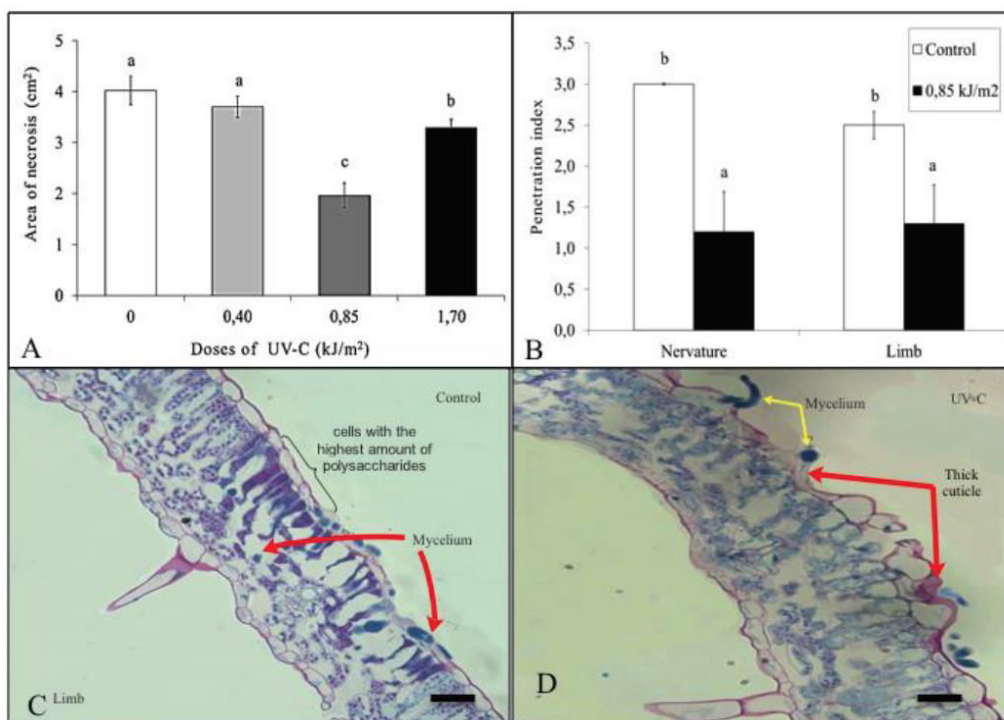


**Figure 87: Enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX).** Data represent  $\pm$  standard errors ( $n = 5$ ) and different letters represent significant differences between treatments according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ).

The measurements of the necrotic spots show a decrease in the sensitivity of tomato plants treated with the doses of 0.85 and 1.74 kJ/m<sup>2</sup> (Figure 88-A). However, this decrease seems more marked for the 0.85 kJ/m<sup>2</sup> dose (-52 %) compared to 1.70 kJ/m<sup>2</sup> dose (-19 %). The peroxidation of membrane lipids and the slight decrease in the sensitivity of the tomato after the treatment at the dose of 1.70 kJ/m<sup>2</sup> suggest that we approach the deleterious dose and that 0.85 kJ/m<sup>2</sup> represents a hermetic dose.

In this work, a single application of UV-C light was sufficient to reduce the sensitivity of the tomato to *B. cinerea* while in lettuce plants four successive applications of dose of 0.85 kJ/m<sup>2</sup> were required to have a decrease sensitivity to *B.*

*cinerea* (Vasquez *et al.*, 2017). This suggests differences in the response of plants to UV-C radiation. The histological study confirms the results obtained after the pathological tests and the measurements of necrosis. The penetration of *B. cinerea* (Figure 88-B) is deeper in control plants than in treated plants. In addition, myceliums present on the surface of treated leaflets appear to be less vigorous than those present on the surface of control plant leaflets (Figures 88-C and 88-D).

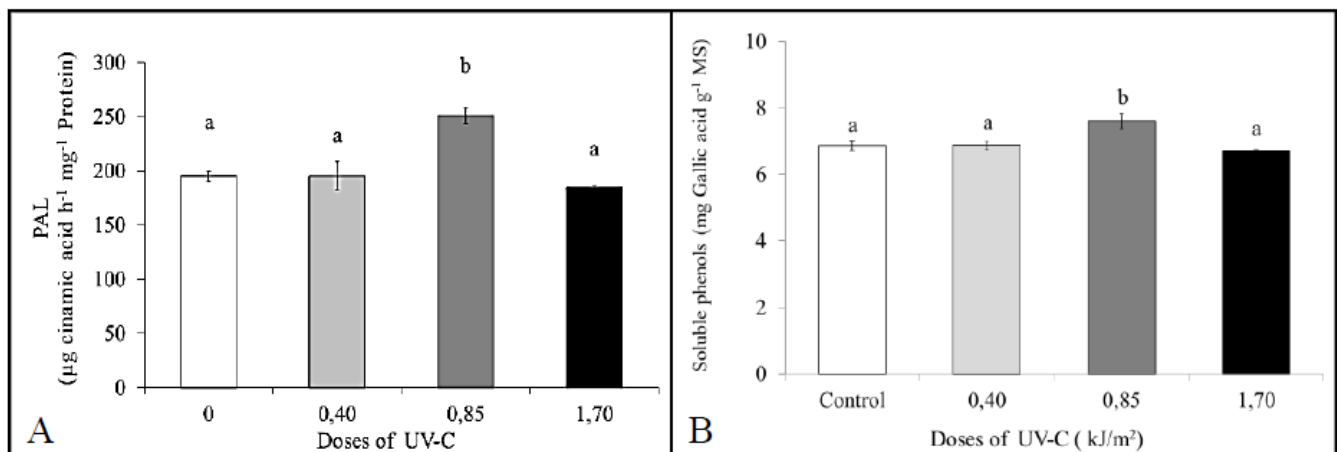


**Figure 88:** (A) Necrotic surfaces of leaflets exposed to different doses of UV-C after inoculation (after 48 hours). (B) Penetration of the pathogen into different cell layers. Bars in figures 3A and 3B represent standard errors ( $n = 15$ ). Different letters show the significant differences between treatments according to Duncan's test ( $p$ -value  $< 0.05$ ). (C, D) Microscopic observations of control plants ( $0 \text{ kJ/m}^2$ ) and UV-C treated plants ( $0.85 \text{ kJ/m}^2$ ), 24 hours after inoculation, Bars =  $100 \mu\text{m}$ .

We also observed an increase in total phenol content and PAL activity in plants treated at a dose of  $0.85 \text{ kJ/m}^2$  of UV-C light when compared to the control

(Figures 89-A and 89-B). The production of phenolic compounds such as lignin and suberin that deposit on cell walls contributes to reinforce barriers against pathogen attack. UV-C induced ultrastructural modification of the tomato fruit epicarp, causing the formation of a zone of stacked cell walls which were later impregnated with lignin and suberin, rendering cell walls less prone to degradation by hydrolytic enzymes secreted by *B. cinerea* (Charles *et al.*, 2008) and the enhancement of fungal cell wall hydrolases in the plant tissue (Charles *et al.*, 2008). Most of the above mentioned defense-related compounds are involved in the line of defense against the necrotrophic fungus *B. cinerea* (Jarvis, 1980). Our results show a slower penetration of *B. cinerea* in the UV-C treated leaves compared to the control leaves.

Oxidative stress is undoubtedly associated with the stimulation of plant defenses by UV-C radiation and a major challenge is therefore to identify a dose that is both effective against the targeted pathogen and harmless for plants. This is what we achieved here. A further step will consist in increasing our understanding of the mechanisms of perception and signaling of hormetic doses of UV-C light, in relation to the functioning of the plant and the interactions with other environmental factors.



**Figure 89: Activity of the PAL (A) and content of phenolic compounds (B), in control and treated plants, inoculated after 48 hours by *B. cinerea*.** Bars represent standard errors (n = 5). Different letters show the significant differences between treatments according to Duncan's test (p-value < 0.05).



Références bibliographiques

## A

- Aarrouf J., Garcin A., Lizzi Y., El Maataoui M., (2008). Immunolocalization and histocytopathological effects of *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* on naturally infected leaf and fruit tissues of peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Phytopathology*, **156**, 338-345.
- Adhikari P., Oh Y., Panthee D.R. (2017). Current Status of Early Blight Resistance in Tomato: An Update. *International Journal of Molecular Sciences*, **18** (10), 2019-2040.
- Agati G., Brunetti C., Di Ferdinando M., Ferrini F., Pollastri S., Tattini M. (2013). Functional roles of flavonoids in photoprotection: new evidence, lessons from the past. *Plant Physiology Biochemistry*, **72**, 35-45.
- Aharoni A., Keizer L.C.P., Bouwmeester H.J., Sun Z., Alvarez-Huerta M., Verhoeven H.A., et al. (2000). Identification of the SAAT gene involved in strawberry flavor biogenesis by use of DNA microarrays. *Plant Cell*, **12**, 647-662.
- Ahmad P., Abass Ahanger M., Nasser Alyemeni M., Wijaya L., Alam P., Ashraf M. (2018). Mitigation of sodium chloride toxicity in *Solanum lycopersicum* L. by supplementation of jasmonic acid and nitric oxide. *Journal of Plant Interaction*, **13** (1), 64-72.
- Ahn Y.O., Zheng M., Bevan D.R., Esen A., Shiu S.H., Benson J., Peng H.P., Miller J.T., Cheng C.L., Poulton J.E., Shih M.C. (2007). Functional genomic analysis of *Arabidopsis thaliana* glycoside hydrolase family 35. *Phytochemistry*, **68**, 1510-1520.

- Ait-Barka E.A., Siamak K., Makhlouf J., Joseph A. (2000a). Effects of UV-C irradiation on lipid peroxidation markers during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits. *Functional Plant Biology*, **27**, 147-152.
- Ait-Barka E.A., Kalantari S., Makhlouf J., Arul, J. (2000b). Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, **48** (3), 667-671.
- Allende A. and Artes F. (2003). UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed 'Lollo Rosso' lettuce. *Food Research International*, **36**, 739-746.
- Allende A., Marín A., Buendía B., Tomás-Barberán F.A. Gil M.I. (2007). Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O<sub>3</sub>, superatmospheric O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub>) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology Technology*, **46**, 201-211.
- Arnott T. and Murphy T.M. (1991). A comparison of the effects of a fungal elicitor and ultraviolet radiation on ion transport and hydrogen peroxide synthesis by rose cells. *Environmental and Experimental Botany*, **31**, 209-216.
- Astier J., Besson-Bard A., Lamotte O., Bertoldo J., Bourque S., Terenzi H., Wendehenne D. (2012). Nitric oxide inhibits the ATPase activity of the chaperone-like AAA+ATPase CDC48, a target for S-nitrosylation in cryptogein signaling in tobacco cells. *The Journal of Biological Chemistry*, **447**, 249-260.
- Atherton J.G. and Harris G.P. (1986). Flowering. In: *The Tomato Crop*, Springer Netherlands, 167-200.

Atkinson N.J., Dew T.P., Orfila C., Urwin P.E. (2011). Influence of Combined Biotic and Abiotic Stress on Nutritional Quality Parameters in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 9673-9682.

Avenot H., Sellam A., Michailides T.J. (2009). Characterization of mutations in the membrane-anchored subunits AaSDHC and AaSDHD of succinate dehydrogenase from *Alternaria alternata* isolates conferring field resistance to the fungicide boscalid. *Plant Pathology*, **58**, 1134-1143.

Azodanlour R., Darbellay C., Luisier J.L., Villettaz J.C., Amado R. (2004). Changes in flavour and texture during ripening of strawberries. *European Food Research and Technology*, **218** (2), 167-172.

## B

---

Bacci L., Grifoni D., Sabatini F., Zipoli G. (1999). UV-B radiation causes early ripening and reduction in size of fruits in two lines of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Global Change Biology*, **5**, 635-646.

Bacete L., Mérida H., Miedes E., Molina A. (2018). Plant cell wall- mediated immunity: cell wall changes trigger disease resistance responses. *Plant Journal*, **93** (4), 614-636.

Baka M., Mercier J., Corcuff R., Castagne F., Arul J. (1999). Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. *Journal of Food Science*, **64**, 1068-1072.



- Balbi V. and Devoto A. (2008). Jasmonate signalling network in *Arabidopsis thaliana*: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios. *New Phytology*, **177**, 301-318.
- Balestrazzi A., Locato V., Bottone M.G., De Gara L., Biggiogera M., Pellicciari C., Botti S., Di Gesù D., Dona M., Carbonera D. (2010). Response to UV-C radiation in topo I-deficient carrot cells with low ascorbate levels. *Journal of Experimental Botany*, **61**, 575-585.
- Ballare C.L., Scopel A.L., Stapleton A.E., Yanovsky M.J. (1996). Solar Ultraviolet-B Radiation Affects Seedling Emergence, DNA Integrity, Plant Morphology, Growth Rate, and Attractiveness to Herbivore Insects in *Datura ferox*. *Plant Physiology*, **112**, 161-170.
- Ballare C.L. (2011). Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. *Trends in Plant Science*, **16**, 249-257.
- Ballhorn D.J., Kautz S., Heil M., Hegeman A.D. (2009). Cyanogenesis of wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an efficient direct defense in nature. *Plant Signaling and Behavior*, **4** (8), 735-745.
- Bank H.L., John J., Schmehl M.K., Dratch R.J. (1990). Bactericidal Effectiveness of Modulated UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**, 3888-3889.
- Bardin M., Fargues J., Nicot P.C. (2008). Compatibility between biopesticides used to control grey mould, powdery mildew and whitefly on tomato. *Biological Control*, **46**, 476-483.

- Bardin M., Comby M., Lenaerts R., Nicot P.C. (2013). Diversity in susceptibility of *Botrytis cinerea* to biocontrol products inducing plant defence mechanisms. *IOBC-WPRS Bull*, **88**, 45-49.
- Barlier-Salsi A., Salsi S., Klingler A. (1998). Lampes à rayonnement ultraviolet, quantification des risques associés à leur utilisation. INRS n°170.
- Bari R. and Jones J.D. (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecule Biology*, **69**, 473-488.
- Barrière V., Lecompte F., Nicot P.C., Maisonneuve B., Tchamitchian M., Lescourret F. (2014). Lettuce cropping with less pesticides. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **34**, 175-198.
- Barta C., Kaàlai T., Hideg K., Vass I., Hideg E. (2004). Differences in the ROS-generating efficacy of various ultraviolet wavelengths in detached spinach leaves. *Functional Plant Biology*, **31**, 23-28.
- Beckers G.J.M. and Conrath U. (2007). Priming for stress resistance: from the lab to the field. *Current Opinion in Plant Biology*, **10**, 425-431.
- Begara-Morales J.C., Sánchez-Calvo B., Chaki M., Mata-Pérez C., Valderrama R., Padilla, M.N., López-Jaramillo J., Luque F., Corpas F.J., Barroso J.B. (2015). Differential molecular response of monodehydroascorbate reductase and glutathione reductase by nitration and S-nitrosylation. *Journal of Experimental Botany*, **66**, 5983-5996.
- Benhamou N. (2009). La résistance chez les plantes. Principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. *Éditions Tec & Doc - Lavoisier*, Paris. **376**.

- Ben-Yehoshua S., Rodov V., Kim J.J., Carmeli S. (1992). Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**, 1217-1221.
- Ben-Yehoshua S. and Mercier J. (2005). UV irradiation, biological agents, and natural compounds for controlling postharvest decay in fresh fruits and vegetables. In: *Environmentally Friendly Technologies for Agricultural Produce Quality*, CRC Press–Taylor and Francis, Boca Raton, FL, 265-299.
- Bernard J.L. and Bugaret Y. (2002). Prophylaxis and crop protection. Indirect control methods. *Phytoma : La santé des végétaux*, 14-19.
- Bidlack W.R. (1996). Interrelationships of food, nutrition, diet and health: the National Association of State Universities and Land Grant Colleges White Paper. *Journal of the American College of Nutrition*, **15**, 422-433.
- Bintsis T., Litopoulou-Tzanetaki E., Robinson R.K. (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 637-645.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ Journal*, **5** (1), 9-19.
- Bishop N. (1961). The possible role of plastoquinone (QA-) in the electron transport system of photosynthesis. Ciba Foundation Symposium-Quinones in Electron Transport. *Wiley Online Library*, 385-424.
- Blakeman J.P. and Fokkema N.J. (1982). Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annual Review of Phytopathology*, **20** (1), 167-190.

- Blum M., Boehler M., Randall E., Young V., Csukai M., Kraus S., Moulin F., Scalliet G., Avrova A.O., Whisson S.C., Fonne-Pfister R. (2010). Mandipropamid targets the cellulose synthase-like PiCesA3 to inhibit cell wall biosynthesis in the oomycete plant pathogen, *Phytophthora infestans*. *Molecular Plant Pathology*, **11**, 227-243.
- Boff P., Kohl J., Jansen M., Horsten P., Lombaers-Van der Plas C., Gerlagh M. (2002). Biological control of gray mold with *Ulocladium atrum* in annual strawberry crops. *Plant Disease*, **86**, 220-224.
- Boller T. and Felix G. (2009). A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review Plant Biology*, **60**, 379-406.
- Bonomelli A., Mercier L., Franchel J., Baillieul F., Benizri E., Mauro M.C. (2004). Response of grapevine defenses to UV-C exposure. *American Journal of Enology and Viticulture*, **55**, 51-59.
- Bordonaba J. and Terry L.A. (2010). Manipulating the taste-related composition of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa*) from different cultivars using deficit irrigation. *Food Chemistry*, **122**, 1020-1026.
- Borie B., Jeandet P., Parize P.A., Bessis R., Adrian M. (2004). Resveratrol and stilbene synthase mRNA production in grapevine leaves treated with biotic and abiotic phytoalexin elicitors. *American Journal of Enology and Viticulture*, **55**, 60-64.
- Bornman J.F., Evert R.F., Mierzwa R.J. (1983). The effect of UV-B and UV-C radiation on sugar beet leaves. *Protoplasma*, **117**, 7-16.

- Bourne C.M. (2002). Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. In: *Food Science and Technology*, 2<sup>nd</sup> edition, **427**.
- Brady C.J. (1987). Fruit Ripening. *Annual Review of Plant Physiology*, **38**, 155-178.
- Bravo S., García-Alonso J., Martín-Pozuelo G., Gomez V., García-Valverde V., Navarro-Gonzalez I., Periago M.J. (2013). Effects of postharvest UV-C treatment on carotenoids and phenolic compounds of vine-ripe tomatoes. *International Journal of Food Science and Technology*, **48 (8)**, 1744-1749.
- Broekaert W.F., Delaure S.L., De Bolle M.F., Cammue B.P. (2006). The role of ethylene in host-pathogen interactions. *Annual Revue Phytopathologyi*, **44**, 393-416.
- Browse J. (2009). Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone. *Annual Revue of Plant Biology*, **60**, 183-205.
- Bruce T.J.A., Matthes M.C., Napier J.A., Pickett J.A. (2007). Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Science*, **173**, 603-608.
- Buck J.W. and Jeffers S.N. (2004). Effect of pathogen aggressiveness and vinclozolin on efficacy of *Rhodotorula glutinis* PM4 against *Botrytis cinerea* on geranium leaf disks and seedlings. *Plant Disease*, **88**, 1262-1268.
- Butault J.P., Dedryver C.A., Gary C., Guichard L., Jacquet F., Meynard J.M., Nicot P., Pitrat M., Reau R., Sauphanor B., Savini I., Volay T. (2010). Écophyto R&D: Quelles voies pour réduire l'usage des pesticides. Résultats de l'étude sur les itinéraires culturaux économes en pesticides, lancée par l'INRA en 2007, à la demande des ministères en charge de l'environnement et de l'agriculture, *INRA*, **90**.

## C

---

- Cakmak I. and Marschner H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, **98**, 1222-1227.
- Calo L., García I., Gotor C., Romero L.C. (2006). Leaf hairs influence phytopathogenic fungus infection and confer an increased resistance when expressing a *Trichoderma*  $\alpha$ -1, 3-glucanase. *Journal of Experimental Botany*, **57** (14), 3911-3920.
- Campos J.L., Figueras X., Plötöl M.T., Boronat A., Tiburcio A.F. (1991). Carotenoid and Conjugated Polyamine Levels as Indicators of Ultraviolet-C Induced Stress in *Arabidopsis thaliana*. *Photochemistry and Photobiology*, **53**, 689-693.
- Cantos E., Garcia-Viguera C., de Pascual-Teresa S., Tomas-Barberan F.A. (2000). Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **48**, 4606-4612.
- Carbonell-Bejerano P., Diago M.P., Martínez-Abaigar J., Martínez-Zapater J.M., Tardaguila J., Núñez-Olivera E. (2014). Solar ultraviolet radiation is necessary to enhance grapevine fruit ripening transcriptional and phenolic responses. *BMC Plant Biology*, **14**, 183.
- Card S.D., Walter M., Jaspers M.V., Aztejnberg A., Stewart A. (2009). Targeted selection of antagonistic microorganisms for control of *Botrytis cinerea* of strawberry in New Zealand. *Australasian Plant Pathology*, **38**, 183-192.

- Carlen C., Potel A.M., Bellon C., Ançay A. (2005). Qualité des fraises: effets de la variété, du rapport feuille/fruit, de la période de récolte et du stade de maturité. *Viticulture Arboriculture Horticulture*, **37** (2), 87-93.
- Casado-Díaz A., Encinas-Villarejo S., de los Santos B., Schiliro E., Serrano E.M.Y., Amil-Ruíz F., Pocovi M.I., Pliego-Alfaro F., Dorado G., Rey M., Romero F., Muñoz-Blanco J., Caballero J.L. (2006). Analysis of strawberry genes differentially expressed in response to *Colletotrichum* infection. *Physiologia Plantarum*, **128**, 633-650.
- Casati P. and Walbot V. (2004). Rapid transcriptome responses of maize (*Zea mays*) to UV-B in irradiated and shielded tissues. *Genome Biology*, **5** (3), R16.
- Cervek C. (2012). Intégrer la biodiversité dans les systèmes d'exploitation agricole: le projet IBIS. *Innovations Agronomiques*, **25**, 143-154.
- Charles M.T., Kalantari S., Corcuff R., Arul J. (2005). Postharvest quality and sensory evaluation of UV-treated tomato fruit. *Acta Horticulturae*, **682**, 537-540.
- Charles M.T. and Arul J. (2007). UV treatment of fresh fruits and vegetables for improved quality: a status report. *Stewart Postharvest Review*, **3**, 1-8.
- Charles M.T., Makhlouf J., Arul J. (2008a). Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit: II. Modification of fruit surface and changes in fungal colonization. *Postharvest Biology and Technology*, **47**, 10-20.

- Charles M.T., Mercier J., Makhoul J., Aral J. (2008b). Physiological basis of UV-C induced resistance to *B. cinerea* in tomato fruit: I. role of pre- and post-challenge accumulation of the phytoalexin-rishitin. *Postharvest Biology and Technology*, **47**, 10-20.
- Charles M.T., Benhamou N., Arul J. (2008c). Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit: III. Ultrastructural modifications and their impact on fungal colonization. *Postharvest Biology and Technology*, **47**, 27-40.
- Charles M.T., Goulet A., Arul J. (2008d). Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit: IV. Biochemical modification of structural barriers. *Postharvest Biology and Technology*, **47**, 51-53.
- Charles M.T., Tano K., Asselin A., Aral J. (2009). Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit: V. Constitutive defence enzymes and inducible pathogenesis-related proteins. *Postharvest Biology and Technology*, **51**, 414-424.
- Charles M.T., Arul J., Charlebois D., Yaganza E.-S., Rolland D., Roussel D., Merisier M.J. (2016). Postharvest UV-C treatment of tomato fruits: changes in simple sugars and organic acids contents during storage. *LWT - Food Science and Technology*, **65**, 557-564.
- Chisholm S.T., Coaker G., Day B., Staskawicz B.J. (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell*, **124**, 803-814.



- Christie J.M., Arvai A.S., Baxter K.J., Heilmann M., Pratt A.J., O'Hara A., Kelly S.M., Hothorn M., Smith B.O., Hitomi K., Jenkins G.I., Getzoff E.D. (2012). Plant UVR8 Photoreceptor Senses UV-B by Tryptophan-Mediated Disruption of Cross-Dimer Salt Bridges. *Science*, **335** (6075), 1492-1496.
- Coley-Smith J.R. and Cooke R.C. (1971). Survival and Germination of Fungal Sclerotia. *Annual Review of Phytopathology*, **9**, 65-92.
- Coley-Smith J.R. (1980). Sclerotia and other structures in survival. In: *The biology of Botrytis*, Academic Press, London, UK, 85-114.
- Conrath U., Pieterse C.M., Mauch-Mani B. (2002). Priming in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Science*, **7**, 210-216.
- Conrath U., Beckers G.J., Flors V., Garcia-Agustin P., Jakab G., Mauch F., Newman M.A., Pieterse C.M., Poinssot B., Pozo M.J., Pugin A., Schaffrath U., Ton J., Wendehenne D., Zimmerli L., Mauch-Mani B. (2006). Priming: getting ready for battle. *Molecular PlantMicrobe Interaction*, **19**, 1062-1071.
- Conrath U. (2009). Chapter 9 Priming of Induced Plant Defense Responses. In: *Advances in Botanical Research*, Elsevier, 361-395.
- Conrath U. (2011). Molecular aspects of defence priming. *Trends in Plant Science*, **16** (10), 524-31.
- Cordenunsi B.R., Genovese M.I., Nascimento J.R.O., Hassimotto N.M.A., Santos R.J., Lajolo F.M. (2005). Effect of temperature on the chemical composition and antioxidant activity on three strawberry cultivars. *Food Chemistry*, **91**, 113-121.

- Cordier C., Pozo M.J., Barea J.M., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. (1998). Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, **11**, 1017-1028.
- Corio-Costet M.F. (2012). Fungicide resistance in *Plasmopara viticola* in France and anti-resistance measures. CAB international 2012. In : *Fungicide Resistance in crop protection: Risk and management* (ed. TS Thind), 157-171.
- Costa I.I., Gallego S.M., Tomaro M.L. (2002). Effects of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, **162**, 939-945.
- Cota L.V., Maffia L.A., Mizubuti E.S.G., Macedo P.E.F. (2009). Biological control by *Clonostachys rosea* as a key component in the integrated management of strawberry gray mold. *Biological Control*, **50**, 222-230.
- Côté S., Rodoni L., Miceli E., Concellón A., Civello P.M., Vicente A.R. (2013). Effect of radiation intensity on the outcome of postharvest UV-C treatments. *Postharvest Biology and Technology*, **83**, 83-89.
- Couderchet M. (2003). Benefits and problems of fungicide control of *Botrytis cinerea* in vineyards of Champagne. *Vitis*, **42** (4), 165-171.
- Craufurd P.Q. and Wheeler T.R. (2009). Climate change and the flowering time of annual crops. *Journal of Experimental Botany*, **60**, 2529-2539.

## D

---

- Dai Q., Yan B., Huang S., Liu X., Peng S., Miranda M.L.L., Chavez A.Q., Vergara B.S. (1997). Response of oxidative stress defense systems in rice (*Oryza sativa*) leaves with supplemental UV-B radiation. *Physiologia Plantarum*, **101**, 301-308.
- Darras A.I., Joyce D.C., Terry L.A., Vloutoglou I. (2006). Postharvest infection of *Freesia hybrida* flowers by *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*, **35**, 55-63.
- Darras A.I., Demopoulos V., Tiniakou C. (2012). UV-C irradiation induces defence responses and improves vase life of cut gerbera flowers. *Postharvest Biology and Technology*, **64**, 168-174.
- Darras A.I., Bali I., Argyropoulou E. (2015). Disease resistance and growth in *Pelargonium x hortorum* plants to brief pulses of UV-C irradiation. *Scientia Horticulturae*, **181**, 95-101.
- Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., Van Montagu M., Inze D., Van Breusegem F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **57**, 779-795.
- Day T.A. and Vogelmann T.C. (1995). Alterations in photosynthesis and pigment distributions in pea leaves following UV-B exposure. *Physiologia Plantarum*, **94**, 433-440.
- Debnath B., Hussain M., Irshad M., Mitra S., Li M., Liu S., Qiu D. (2018). Exogenous melatonin mitigates acid rain stress to tomato plants through modulation of leaf ultrastructure, photosynthesis and antioxidant potential. *Molecules*, **23** (2), 388-402.

- Decognet V., Bardin M., Trottin-Caudal Y., Nicot P.C. (2009). Rapid Change in the Genetic Diversity of *Botrytis cinerea* Populations after the Introduction of Strains in a Tomato Glasshouse. *Phytopathology*, **99**, 185-193.
- Delong J.M. and Steffen K.L. (1997). Phytosynthetic function, lipid peroxidation and tocopherol content in spinach leaves during exposure to UV-B radiation. *Canadian Journal of Plant Science*, **77**, 453-459.
- De Lorenzo G. and Ferrari S. (2002). Polygalacturonase-inhibiting proteins in defense against phytopathogenic fungi. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**, 295-299.
- De Meyer G. and Hofte M. (1997). Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology*, **87**, 588-593.
- Demkura P.V., Abdala G., Baldwin I.T., Ballare C.L. (2010). Jasmonate-dependent and -independent pathways mediate specific effects of solar ultraviolet-B radiation on leaf phenolics and antiherbivore defense. *Plant Physiology*, **152**, 1084-1095.
- Demkura P.V. and Ballaré C.L. (2012). UVR8 Mediates UV-B-Induced Arabidopsis Defense Responses against *Botrytis cinerea* by Controlling Sinapate Accumulation. *Molecular Plant*, **5**, 642-652.
- D'hallewin G., Schirra M., Pala M., Ben-Yehoshua S. (2000). Ultraviolet C Irradiation at 0.5 kJ/m<sup>2</sup> Reduces Decay without Causing Damage or Affecting Postharvest Quality of Star Ruby Grapefruit (*C. paradisi* Macf.). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, **48** (10), 4571-4575.

- Di W., Hu Q., Yan Z., Chen W., Yan C., Huang X., Zhang J., Yang P., Deng H., Wang J., Deng X., Shi Y. (2012). Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8. *Nature*, **484**, 214-219.
- Diabate S., Konan K. E., Allou D., Coulibaly O.A., De Franquville H. (2009). Performance de deux techniques d'extraction des phénols racinaires pour l'évaluation du marquage de la tolérance à la fusariose des clones de palmier à huile (*Elaeis guineensis* jacq.). *Sciences and Nature*, **6** (2), 117-123.
- Diamanti J., Capocasa F., Balducci F., Battino M., Hancock J., Mezzetti B. (2012). Increasing Strawberry Fruit Sensorial and Nutritional Quality Using Wild and Cultivated Germplasm. *PLOS ONE*, **7**, 446-470.
- Dik A.J. and Wubben J.P. (2004). Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses. In: *Botrytis: biology, pathology and control*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 319-331.
- Dodds P.N. and Rathjen J.P. (2010). Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics*, **11**, 539-548.
- Doehlemann G., Molitor F., Hahn M. (2005). Molecular and functional characterization of a fructose specific transporter from the gray mold fungus *Botrytis cinerea*. *Fungal Genetics and Biology*, **42**, 601-610.
- Doehlemann G. (2006). Trehalose metabolism is important for heat stress tolerance and spore germination of *Botrytis cinerea*. *Microbiology*, **152**, 2625-2634.
- Dong Y.H., Mitra D., Kootstra A., Lister C., Lancaster J. (1995). Postharvest stimulation of skin color in Royal Gala apple. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, **120**, 95-100.

- Doumett S., Fibbi D., Cincinelli A., Giordani E., Nin S., Del Bubba M. (2011). Comparison of nutritional and nutraceutical properties in cultivated fruits of *Fragaria vesca* L. produced in Italy. *Food Research International*, **44**, 1209-1216.
- Droby S., Wisniewski M., Macarasin D., Wilson C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, **52**, 137-145.
- Duffy B., Schouten A., Raaijmakers J.M. (2003). Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, **41** (1), 501-538.
- Duhoux E. and Nicole M. (2004). *Biologie végétale: associations et interactions chez les plantes*. Dunod-IRD, Paris, 166.
- Durrant W.E. and Dong X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **42**, 185-209.

## E

---

- Edreva A. (2002). Pathogenesis-related proteins: research progress in the last 15 years. *General and Applied Plant Physiology*, **31** (1-2), 105-124.
- Elad Y., Köhl J., Fokkema N.J. (1994). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. *European Journal of Plant Pathology*, **100**, 315-336.

- Elad Y. and Shtienberg D. (1995). *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. *Integrated Pest Management Reviews*, **1**, 15-29.
- Elad Y. (1996). Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *European Journal of Plant Pathology*, **102**, 719-732.
- Elad Y. (1997). Responses of plants to infection by *Botrytis cinerea* and novel means involved in reducing their susceptibility to infection. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **72**, 381-422.
- Elad Y. and Stewart A. (2004). Microbial control of *Botrytis* spp. In: *Botrytis: biology, pathology and control*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 223-241.
- Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Delen N. (2004). In: *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, Springer, Kluwer academic publisher, Netherlands, 412.
- Elad Y. (2016). Plant Hosts of *Botrytis* spp. In: *Botrytis - The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, 413-486.
- El-Ghaouth A., Arul J., Wilson C., Benhamou N. (1997). Biochemical and cytochemical aspects of the interactions of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit. *Postharvest Biology and Technology*, **12**, 183-194.
- El-Ghaouth A., Wilson C.L., Callahan A.M. (2003). Induction of chitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase, and phenylalanine ammonia lyase in peach fruit by UV-C treatment. *Phytopathology*, **93**, 349-355.
- El Hadi M., Zhang F.J., Wu F.F., Zhou C.H., Tao J. (2013). Advances in Fruit Aroma Volatile Research. *Molecules*, **18**, 8200-8229.

Elmer P.A.G. and Reglinski T. (2006). Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. *Plant Pathology*, **55**, 155-177.

Erkan M., Wang S.Y., Wang C.Y. (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, **48**, 163-171.

## F

---

Favory J.J., Stec A., Gruber H., Rizzini L., Oravec A., Funk M., Albert A., Cloix C., Jenkins G.I., Oakeley E.J. (2009). Interaction of COP1 and UVR8 regulates UV-B induced photomorphogenesis and stress acclimation in Arabidopsis. *EMBO Journal*, **28**, 591-601.

Farkas J. (1998). Irradiation as a method for decontaminating food. *Journal of Food and Microbiology*, **44**, 189-204.

Fillinger S. and Walker A.S. (2015). Chapter Botrytis - the fungus. The Pathogen and its Management in Agricultural Systems, 189-216.

Fillion L. and Kilcast D. (2002). Consumer perception of crispness and crunchiness in fruits and vegetables. *Food Quality Preferences*, **13**, 23-9.

Filonow A.B. (1998). Role of competition for sugars by yeasts in the biocontrol of gray mold of apple. *Biocontrol Science and Technology*, **8** (2), 243-256.

Flachowsky H., Hofer M., Hanke M.V. (2011). Strawberry. In: *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, **5**, 8-26.



- Flor H.H. (1971). Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Annual Review of Phytopathology*, **9**, 275-296.
- Foggo A., Higgins S., Wargent J.J., Coleman R.A. (2007). Tri-trophic consequences of UV-B exposure: plants, herbivores and parasitoids. *Oecologia*, **154**, 505-512.
- Forges M., Charles F., Pascal M., Aarouf J., Bardin M. (2018a). Impact of UV-C radiation combined with biocontrol agents on the susceptibility of strawberry plants to *Botrytis cinerea*. *Biological and integrated control of plant pathogens*, IOBC-WPRS Bulletin, **133**, 86-90.
- Forges M., Vasquez H., Charles F., Sari D.C., Urban L., Lizzi Y., Bardin M., Aarouf J. (2018b). Impact of UV-C radiation on the sensitivity of three strawberry plant cultivars (*Fragaria x ananassa*) against *Botrytis cinerea*. *Scientia Horticulturae*, **240**, 603-613.
- Forney C.F., Kraft W., Jordan M.A. (2000). The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity and storage. *Hortscience*, **35**, 1022-1026.
- Foyer C.H. and Halliwell B. (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbate acid metabolism. *Planta*, **133**, 21-25.
- Francis G.A., Thomas C., O'Beirne D. (1999). The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International Journal Food Science and Technology*, **34**, 1-22.

Freitas P., Lopez-Galvez F., Tudela J., Gil M., Allende A. (2015). Postharvest treatment of table grapes with ultraviolet-C and chitosan coating preserves quality and increases stilbene content. *Postharvest Biology and Technology*, **105**, 51-57.

Frohnmeyer H. and Staiger D. (2003). Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants - Balancing damage and protection. *Plant physiology*, **133**, 1420-1428.

Fujita M., Fujita Y., Noutoshi Y., Takahashi F., Narusaka Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology*, **9**, 436-442.

Fusions (2014). Definitional Framework for Food Waste. Full Report. *European Commission*, p.134.

## G

---

Gao C., Zhang L., Wen F., Xing D. (2008). Sorting out the role of reactive oxygen species during plant programmed cell death induced by ultraviolet-C overexposure. *Plant Signaling and Behavior*, **3** (3), 197-198.

Garcia-Brugger A., Lamotte O., Vandelle E., Bourque S., Lecourieux D., Poinssot B., Wendehenne D., Pugin A. (2006). Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Molecular Plant Microbe Interaction*, **19**, 711-724.

- Gillaspy G., Ben-David H., Gruissem W. (1993). Fruits: a developmental perspectives. *The Plant Cell*, **5**, 1439-1451.
- Gisi U., Sierotzki H., Cook H. McCaffery A. (2002). Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science*, **58**, 859-867.
- Glazebrook J. and Ausubel F.M. (1994). Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, **91**, 8955-8959.
- Glazebrook J. (2005). Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, **43**, 205-227.
- Gomez-Lopez V.M., Ragaert P., Debevere J., Devlieghere F. (2007). Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends in Food Science & Technology*, **18** (9), 464-473.
- Gondal A.S., Ijaz M., Riaz K., Khan A.R. (2012). Effect of different doses of fungicide (Mancozeb) against alternaria leaf blight of tomato in tunnel. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, **3** (125), 1-3.
- González-Aguilar G., Wang C.Y., Buta J.G., Krizek D.T. (2001). Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe “Tommy Atkins” mangoes. *International Journal of Food Science and Technology*, **36** (7), 767-773.
- González-Aguilar G., Wang C.Y., Buta G.J. (2004). UV-C irradiation reduces breakdown and chilling injury of peaches during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **84** (5), 415-422.

- Gonzalez-Aguilar G.A., Villegas-Ochoa M.A., Martínez-Tellez M.A., Gardea A.A., Ayala-Zavala J.F. (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science*, **72**, 197-202.
- Govrin E.M. and Levine A. (2000). The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Current in Biology*, **10**, 751-757.
- Grant J.J. and Loake G.J. (2000). Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signalling in disease resistance. *Plant Physiology*, **124**, 21-29.
- Greenberg B.M., Wilson M.I., Gerhardt K.E., Wilson K.E. (1996). Morphological and physical responses of *Brassica napus* to Ultraviolet B radiation: photomodification of ribulose 1-5 biphosphate carboxylase/oxygenase and potential acclimation processes. *Journal of Plant Physiology*, **148**, 78-85.
- Greenberg J.T. and Yao N. (2004). The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, **6**, 201-211.
- Gruber H., Heijdea M., Hellerc W., Albertd A., Seidlitzd H.K., Ulma R. (2009). Negative feedback regulation of UV-B induced photomorphogenesis and stress acclimation in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 20132-20137.
- Guetsky R., Shtienberg D., Elad Y., Fischer E., Dinoor, A. (2002). Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. *Phytopathology*, **92**, 976-985.

- Guimarães L.R.P., Nozaki D.N., Moura M.F., Spadotti D. M.D.A., Mituti T., Krause-Sakate R., Pavan, M.A. (2017). Fungicide application can improve production of tomato coinfectd with *Begomovirus* and *Crinivirus*. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, **52** (6), 435-442.
- Gullino M.L. (1992). Chemical control of *Botrytis* spp. In: *Recent advances in Botrytis research*, Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, The Netherlands, 217-222.
- Gunasekera T.S., Paul N.D., Ayres P.G. (1997). The effects of ultraviolet-B (UV-B: 290-320 nm) radiation on blister blight disease of tea (*Camellia sinensis*). *Plant Pathology*, **46**, 179-185.
- Gunasekera T.S. and Paul N.D. (2007). Ecological impact of solar ultraviolet-B (UV-B: 320 - 290 nm) radiation on *Corynebacterium aquaticum* and *Xanthomonas* sp. colonization on tea phyllosphere in relation to blister blight disease incidence in the field. *Letters in Applied Microbiology*, **44**, 513-519.
- Gunness P., Kravchuk O., Nottingham S.M., D'Arcy B.R., Gidley M.J. (2009). Sensory analysis of individual strawberry fruit and comparison with instrumental analysis. *Postharvest Biology and Technology*, **52**, 164-172.
- Gurunani M.A., Venkatesh J., Tran L.S.P. (2015). Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular Plant*, **8**, 1-17.
- Gutteridge J. and Halliwell B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemistry Science*, **15**, 129-135.

## H

---

- Hakala-Yatkin M., Mäntysaari M., Mattila H., Tyystjärvi E. (2010). Contributions of visible and ultraviolet parts of sunlight to photoinhibition. *Plant Cell Physiology*, **51** (10), 1745-1753.
- Häkkinen S.H. and Törrönen A.R. (2000). Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*, **33**, 517-524.
- Hammerschmidt R. (1999). Phytoalexins: What have we learned after 60 years? *Annual Review of Phytopathology*, **37**, 285-306.
- Hannum S.M. (2004). Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **44**, 1-17.
- Hayashi F., Smith K.D., Ozinsky A., Hawn T.R., Yi E.C., Goodlett D.R., Eng J.K., Akira S., Underhill D.M., Aderem A. (2001). The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*, **410**, 1099-1103.
- Heath R.L. and Packer L. (1969). Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **125**, 189-198.
- Heath M.C. (2000). Hypersensitive response-related cell death. *Plant Molecular Biology*, **44** (3), 321-334.
- Heijde M. and Ulm R. (2012). UV-B photoreceptor-mediated signalling in plants. *Trends Plant Science*, **17**, 230-237.

- Hill R. and Ralph P.J. (2005). Diel and seasonal changes in fluorescence rise kinetics of three scleractinian corals. *Functional Plant Biology*, **32** (6), 549-559.
- Hollosoy F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, **33**, 179-197.
- Holz G., Coertze S., Williamson B. (2007). The Ecology of *Botrytis* on Plant Surfaces. In: *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, Dordrecht: Springer, Netherlands, 9-27.
- Houghton J.T., Ding Y., Griggs D.J., Noguer M., Van Der Linden P.J., Dai X., Maskell K., Johnson C.A. (2001). Climate change. *Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)*. New York: Cambridge University Press.
- Huang K., Zou Y., Luo J., Liu Y.Q. (2015). Combining UV-C treatment with biocontrol yeast to control postharvest decay of melon. *Environmental Science and Pollution Research*, **22**, 14307-13.
- Huckelhoven R. (2007). Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annual Review of Phytopathology*, **45**, 101-127.
- Hutin C. (2011). Le marché de la tomate: la place de la France dans le contexte international. *Infos CTIFL*, **273**, 9-13.

## I

---

Interfel (2015). Etudes des pertes alimentaires dans la filière fruits et légumes. *Assises des fruits et légumes frais*, p.3.

Iriti M. and Faoro F. (2007). Review of innate and specific immunity in plants and animals. *Mycopathologia*, **164**, 57-64.

Irshad G., Haider Z., Ikram Z., Iqbal A., Hyder S., Inam-ul-Haq M. (2014). Chemical Control of Fungal Diseases of Stored *Solanum lycopersicum* Fruit by Potassium Bicarbonate and Calcium Chloride. *Pakistan Journal of Phytopathology*, **26** (2), 281-287.

Iwasaki T. and Hioki Y. (1988). Enhancement of biocide. *United States Patent*, **4**, 762, 547.

Izaguirre M.M., Scopel A.L., Baldwin I.T., Ballaré C.L. (2003). Convergent Responses to Stress. Solar Ultraviolet-B Radiation and *Manduca sexta* Herbivory Elicit Overlapping Transcriptional Responses in Field-Grown Plants of *Nicotiana longiflora*. *Plant Physiology*, **132**, 1755-1767.

Izaguirre M.M., Mazza C.A., Svatos A., Baldwin I.T., Ballare C.L. (2007). Solar ultraviolet-B radiation and insect herbivory trigger partially overlapping phenolic responses in *Nicotiana attenuata* and *Nicotiana longiflora*. *Annals of Botany*, **99**, 103-109.



## J

---

- Jagadeesh S.L., Charles M.T., Garipey Y., Goyette B., Raghavan G.S.V., Vigneault C. (2011). Influence of postharvest UV-C hormesis on the bioactive components of tomato during post-treatment handling. *Food Bioprocess Technology*, **4**, 1463-1472.
- Janisiewicz W.J. (1998). Biocontrol of postharvest diseases of temperate fruits - challenges and opportunities. In: *Plant-microbe interactions and biological control*, Marcel Dekker Inc., NY, USA, 171-198.
- Janisiewicz W.J. and Conway W.S. (2010). Combining biological control with physical and chemical treatments to control fruit decay after harvest. *Stewart Postharvest Review*, **6** (1), 1-3.
- Jarvis W.R. (1980). Taxonomy. In: *The Biology of Botrytis*, W.R., Academic Press, London, 1-18.
- Jarvis W.R. (1992). Epidemiology. In: *The biology of Botrytis*, Academic Press, London, UK 219-250.
- Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A. (2005). Modern Food Microbiology. In: *Springer*, US, 790.
- Jeffree C.E. (1996). Structure and ontogeny of plant cuticles. In: *Plant cuticles: an integrated functional approach*, BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, UK, 33-82.
- Jenkins G.I. (2009). Signal Transduction in Responses to UV-B Radiation. *Annual Review of Plant Biology*, **60**, 407-431.

- Jenkins G.I. (2014). The UV-B Photoreceptor UVR8: From Structure to Physiology. *The Plant Cell*, **26** (1), 21-37.
- Jiang L., Wang Y., Björn L.O., He J.X., Li S. (2012). Sensing of UV-B radiation by plants. *Plant Signaling Behavior*, **7**, 999-1003.
- Jin P., Wang S.Y., Wang C.Y., Zheng Y. (2011). Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. *Food Chemistry*, **124**, 262-270.
- Jin P., Wang H.Y., Zhang Y., Huang Y.P., Wang L., Zheng Y.H. (2017). UV-C enhances resistance against gray mold decay caused by *Botrytis cinerea* in strawberry fruit. *Scientia Horticulturae*, **225**, 106-11.
- Jones J.D. and Dangl J.L. (2006). The plant immune system. *Nature*, **444**, 323-329.
- Jordan B.R., He J., Chow W.S., Anderson J.M. (1992). Changes in mRNA levels and polypeptide subunits of ribulose 1,5-Biphosphate carboxylase in response to supplementary Ultraviolet B radiation. *Plant Cell Environment*, **15**, 91-98.
- Jordan B. (2002). Molecular response of plant cells to UV-B stress. *Functional Plant Biology*, **29** (8), 909-916.

## K

---

- Kader A.A. (2002). Post-harvest technology of horticultural crops. In: *Division of Agriculture and Natural Resources Publication 3311*, Oakland: University of California, 535.

- Kalachanis D. and Manetas Y. (2010). Analysis of fast chlorophyll fluorescence rise (O-K-J-IP) curves in green fruits indicates electron flow limitations at the donor side of PSII and the acceptor sides of both photosystems. *Physiologia Plantarum*, **139**, 313-323.
- Kallio H., Hakala M., Pelkkikangas A.M., Lapveteläinen A. (2000). Sugars and acids of strawberry varieties. *European Food Research and Technology*, **212**, 81-85.
- Karadimos D.A., Karaoglanidis G.S., Tzavella-Klonari K. (2005). Biological activity and physical modes of action of the Qo inhibitor fungicides trifloxystrobin and pyraclostrobin against *Cercospora beticola*. *Crop Protection*, **24** (1), 23-29.
- Kaur C. and Kapoor H.C. (2001). Antioxidants in Fruits and Vegetables - The Millennium's Health. *International Journal of Food Science and Technology*, **36**, 703-725.
- Kays J. (1999). Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biology and Technology*, **15**, 233-247.
- Kazan K. and Manners J.M. (2011). The interplay between light and jasmonate signalling during defence and development. *Journal of Experimental Botany*, **62**, 4087-4100.
- Keutgen A. and Pawelzik E. (2007). Modifications of taste-relevant compounds in strawberry fruit under NaCl salinity. *Food Chemistry*, **105**, 1487-1494.
- Khana M.F.R. and Smith L.J. (2005). Evaluating fungicides for controlling *Cercospora* leaf spot on sugar beet. *Crop Protection*, **4** (1), 79-86.

- Khelifi M., Laguë C., Lacasse B. (2000). Chapitre 18 : Lutte pneumatique contre les insectes en phytoprotection. In : *La lutte physique en phytoprotection*, INRA Paris.
- Kim J.H. and Jander G. (2007). *Myzus persicae* (green peach aphid) feeding on *Arabidopsis* induces the formation of a deterrent indole glucosinolate. *The Plant Journal*, **49**, 1008-1019.
- Knekt P., Jarvinen R., Teunanen A., Maatela J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *British Medical Journal*, **312**, 478-481.
- Kobayashi I., Murdoch L.J., Hardham A.R., Kunoh H. (1995). Cell biology of early events in the plant resistance response to infection by pathogenic fungi. *Canadian journal of botany*, **73** (S1), 418-425.
- Komarek M., Cadkova E., Chrastny V., Bordas F., Bollinger J.C. (2010). Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environment International*, **36**, 138-151.
- Kosuge T. and Hewitt W.B. (1964). Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, **54**, 167-172.
- Krasnow M.N. and Murphy T.M. (2004). Polyphenol glucosylating activity in cell suspensions of grape (*Vitis vinifera*). *Journal of Agriculture Food and Chemistry*, **52**, 3467-3472.
- Krause G.H. and Weiss E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **42**, 313-359.

Krinsky N.I., Johnson E. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, **26**, 459-516.

Krizek D.T., Britz S.J., Mirecki R.M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. *New Red Fire* lettuce. *Physiologiae Plantarum*, **103**, 1-7.

Kuhlmann F. and Müller C. (2009). Development-dependent effects of UV radiation exposure on broccoli plants and interactions with herbivorous insects. *Environmental and Experimental Botany*, **66**, 61-68.

Kuhlmann F. and Müller C. (2010). Impacts of Ultraviolet Radiation on Interactions Between Plants and Herbivorous Insects: A Chemo-Ecological Perspective. In: *Progress in Botany*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, **72**, 305-347.

Kunz B.A., Dando P.K., Grice D.M., Mohr P.G., Schenk P.M., Cahill D.M. (2008). UV Induced DNA damage promotes resistance to the biotrophic pathogen *Hyaloperonospora parasitica* in Arabidopsis. *Plant Physiology*, **148**, 1021-1031.

## L

---

Lague C., Khelifi M., Gill J., Lacasse B. (1999). Pneumatic and thermal control of Colorado potato beetle. *Canadian Agricultural Engineering*, **41** (1), 53-57.

Lai A, Cianciolo V., Chiavarini S., Sonnino A. (2000). Effects of glandular trichomes on the development of *Phytophthora infestans* infection in potato (*S. tuberosum*). *Euphytica*, **114**, 165-174.

- La Luciole (2015). Bulletin des pratiques bio en Rhône-Alpes. N° 7, Septembre - Octobre, 19.
- Lamb C. and Dixon R.A. (1997). The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **48**, 251-275.
- Legard D., MacKenzie S., Mertely J., Chandler C., Peres N. (2005). Development of a reduced use fungicide program for control of *Botrytis* fruit rot on annual winter strawberry. *Plant Disease*, **89** (12), 1353-1358.
- Lemoine M.L., Civello P.M., Martínez G.A., Chaves A.R. (2007). Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. Italica). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **87**, 1132-1139.
- Lenucci M.S., Cadinu D., Taurino M., Piro G., Dalessandro G. (2006). Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54** (7), 2606-2613.
- Lepoivre P. (2003). Phytopathologie. Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. Presses agronomiques de Gembloux, Boeck Supérieur, 426.
- Leroux P., Fritz R., Debieu D., Albertini C., Lanen C., Bach J., Gredt M., Chapeland F. (2002). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*, **58** (9), 876-88.

- Lherminier J., Benhamou N., Larrue J., Milat M.L., Boudon-Padieu E., Nicole M., Blein J.P. (2003). Cytological Characterization of Elicitin-Induced Protection in Tobacco Plants Infected by *Phytophthora parasitica* or *Phytoplasma*. *Phytopathology*, **93**, 1308-1319.
- Li G.Q., Huang H.C., Acharya S.N., Erickson R.S. (2004). Biological control of blossom blight of alfalfa caused by *Botrytis cinerea* under environmentally controlled and field conditions. *Plant Disease*, **88**, 1246-1251.
- Li D., Luo Z., Mou W., Wang Y., Ying T., Mao L. (2014). ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, **90**, 56-62.
- Li H., Li Y., Deng H., Sun X., Wang A., Tang X., Gao Y., Zhang N., Wang L., Yang S., Liu Y., Wang S. (2018). Tomato UV-B receptor SIUVR8 mediates plant acclimation to UV-B radiation and enhances fruit chloroplast development *via* regulating SIGLK2. *Scientific Reports*, **8** (1), 6097.
- Lichtenthaler H.K. (1987). Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, **148**, 331-382.
- Liu J., Stevens C., Khan V.A., Lu J.Y., Wilson C.L., Adeyeye O., Kabwe M.K., Pusey P.L., Chalutz E., Sultana T., Droby S. (1993). The effect of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection*, **56**, 868-972.
- Liu C., Cai L., Han X., Ying T. (2011). Temporary effect of postharvest UV-C irradiation on gene expression profile in tomato fruit. *Gene*, **486** (1), 56-64.

- Lizcano M. (2007). Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Trabajo de grado. *Universidad Pontificia Javeriana*, Bogota, Colombia, 71.
- Loake G. and Grant M. (2007). Salicylic acid in plant defence - the players and protagonists. *Current Opinion in Plant Biology*, **10**, 466-472.
- Lorenzo O. and Solano R. (2005). Molecular players regulating the jasmonate signalling network. *Current Opinion in Plant Biology*, **8**, 532-540.
- Lotze M.T., Zeh H.J., Rubartelli A., Sparvero L.J., Amoscato A.A., Washburn N.R., Devera M.E., Liang X., Tor M., Billiar T. (2007). The grateful dead: damage-associated molecular pattern molecules and reduction/oxidation regulate immunity. *Immunological Reviews*, **220**, 60-81.
- Lu J.Y., Stevens C., Yakabu P., Loretan P.A., Eakin D. (1987). Gamma, electron beam and ultraviolet radiation on control of storage rots and quality of Walla Walla onions. *Journal of Food Processing and Preservation*, **12**, 53-62.
- Lu J.Y., Stevens C., Khan V.A., Kabwe M. (1991). The effect of ultraviolet irradiation on shelf life and ripening of peaches and apples. *Journal of Food Quality*, **14**, 299-305.

## M

---

- Magerøy M.H., Kowalik E.H., Folta K.M., Shinkle J. (2010). Evidence of physiological phototropin1 (phot1) action in response to UV-C illumination. *Plant Signaling and Behavior*, **5**, 1204-1210.



- Maharaj R. (1995). The Effect of Ultraviolet Radiation (UVC) on the Postharvest Storage Behaviour of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill cv Capello). PhD Thesis. *Laval University*, Quebec, Canada.
- Maharaj R., Arul J., Nadeau P. (1999). Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology*, **15**, 13-23.
- Maleck K., Levine A., Eulgem T., Morgan A., Schmid J., Lawton K.A., Dangl J.L., Dietrich R.A. (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nature Genetics*, **26**, 403-410.
- Mandal T. and Chatterjee S. (1980). Ultraviolet-and sunlight-induced lipid peroxidation in liposomal membrane. *Radiation Research*, **83**, 290-302.
- Mantai K., Wong J., Bishop N.I. (1970). Comparison studies of the effects of ultraviolet irradiation on photosynthesis. *Biochimica and Biophysica Acta* (BBA), **197**, 257-266.
- Mao L.P., Ren J., Zhang J.G., Yan S.J., Li Y.L. (2014). Optimal nighttime temperature for tomato plant in greenhouse in autumn and winter. *Journal of Applied Ecology*, **25** (5), 1408-1414.
- Marcelis L.F.M., Heuveling E., Goudriaan J. (1998). Modeling biomass production and yield of horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae*, **74**, 83-111.
- Mari M., Guizzardi M., Brunelli M., Folchi A. (1996). Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection*, **17**, 699-705.

- Mari M., Bertolini P., Pratella G.C. (2003). Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *Journal of Applied Microbiology*, **94**, 761-766.
- Marigo G. (1973). Sur une méthode de fractionnement et d'estimation des composées phénoliques chez les végétaux. *Analysis*, **2**, 10-110.
- Marti G., Schnee S., Andrey Y., Simoes-Pires C., Carrupt P.A., Wolfender J.L., Gindro K. (2014). Study of Leaf Metabolome Modifications Induced by UV-C Radiations in Representative *Vitis*, *Cissus* and *Cannabis* Species by LC-MS Based Metabolomics and Antioxidant Assays. *Molecules*, **19**, 14004-21.
- Masho A., Alemayehu M., Alemayehu G. (2016). Performance evaluation of tomato varaieties for irrigation production system in Mecha District of west Gojiam Zone, Amhara Region, Ethiopia. In: *Proceeding of the 3rd Annual National Conference on Agriculture and Environmental Management for Sustainable Development*, College of Agriculture and Environmental Sciences, 142-157.
- Mazid M.L., Khan T.A., Mohammad F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, **3** (2), 232-249.
- Mazza C.A., Zavala J., Scopel A.L., Ballare C.L. (1999). Perception of solar UVB radiation by phytophagous insects: behavioural responses and ecosystem implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**, 980-985.
- McGuire R.G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, **27**, 1254-125.

- Meffert H., Diezel W., Sonnichsen N. (1976). Stable lipid peroxidation products in human skin, detection, ultraviolet light-induced increase, pathogenic importance. *Experientia*, **32**, 1397-1398.
- Mengel K., Kirkby E.A., Kosegarten H., Appel T. (2001). Principles of plant nutrition. Dordrecht: *Kluwer Academic*.
- Mercier J. and Arul J. (1993). Induction of systemic disease resistance in carrot roots by pre-inoculation with storage pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **15**, 281-283.
- Mercier J., Arul J., Ponnampalam R., Boulet M. (1993a). Induction of 6-methoxymellein and resistance to storage pathogens in carrot slices by UV-C. *Journal of Phytopathology*, **137**, 44-54.
- Mercier J., Arul J., Julien C. (1993b). Effect of UV-C on phytoalexin accumulation and resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrots. *Journal of Phytopathology*, **139**, 17-25.
- Mercier J., Roussel D., Charles M.T., Arul J. (2000). Systemic and local responses associated with UV-C and pathogen-induced resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrot. *Phytopathology*, **90**, 981-986.
- Mercier J., Baka M., Reddy B., Corcuff R., Arul J. (2001). Shortwave Ultraviolet Irradiation for Control of Decay Caused by *Botrytis cinerea* in Bell Pepper: Induced Resistance and Germicidal Effects. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **126**, 128-133.
- Meyers K.J., Watkins C.B., Pritts M.P., Liu R.H. (2003). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 6887-6892.

- Mikulic-Petkovsek M., Schmitzer V., Slatnar A., Stampar F., Veberic R. (2012). Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *Journal of Food Science*, **77** (10), 1064-1070.
- Miller G., Suzuki N., Rizhsky L., Hegie A., Koussevitzky S., Mittler R. (2007). Double mutants deficient in cytosolic and thylakoid ascorbate peroxidase reveal a complex mode of interaction between reactive oxygen species, plant development, and response to abiotic stresses. *Plant Physiology*, **144**, 1777-1785.
- Mishra R. and Kar A. (2014). Effect of storage on the physicochemical and flavour attributes of two cultivars of strawberry cultivated in northern India. *Scientific World Journal*, **23**, 794926.
- Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V. (2011). ROS signaling: the new wave? *Trends in Plant Science*, **16**, 300-309.
- Mohamed N.T.S., Ding P., Kadir J., Ghazali H.M. (2017). Potential of UV-C germicidal irradiation in suppressing crown rot disease, retaining postharvest quality and antioxidant capacity of Musa AAA "Berangan" during fruit ripening. *Food Science and Nutrition*, **5**, 967-980.
- Mohammadi N., Mahammadi S., Abdossi V., Akbar B., Masoud M. (2012). Effect of UV-C Radiation on Antioxydant Enzymes in Strawberry Fruit (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa). *Journal of Agricultural and Biological Science*, **7**, 860.
- Montero T.M., Mollá E.M., Esteban R.M., López-Andréu F.J (1996). Quality attributes of strawberry during ripening. *Scientia Horticulturae*, **65**, 239-250.

Muvunyi R., Corcuff R., Arul J. (2011). UV-C induced disease resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrot is not a systemic effect. *Acta Horticulturae*, **945**, 139-143.

---

## N

---

Nakano Y. and Asada K. (1981). Hydrogen peroxide as scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, **2** (5), 867-880.

Navarrete M., Tchamitchian M., Madani C.A., Collange B., Taussig, C. (2010). Elaborating innovative solutions with experts using a multicriteria evaluation tool. The case of soil borne disease control in market gardening cropping systems. In: *ISDA 2010-Innovation and Sustainable Development in Agriculture and Food*, Montpellier, France, Cirad-Inra-SupAgro., 10.

Nicot P.C., Decognet V., Bardin M., Romiti C., Trotin Y., Fournier C., Leyre J.M. (2003). Potential for including *Microdochium dimerum*, a biocontrol agent against *Botrytis cinerea*, into an integrated protection scheme of greenhouse tomatoes. In: *Colloque international tomate sous abri, protection intégrée-agriculture, biologique*, CTIFL, Avignon, France, 19-23.

Nicot P., Bardin M., Debruyne F., Duffaud M., Lecompte F., Neu L., Pascal M. (2013). Effect of nitrogen fertilisation of strawberry plants on the efficacy of defence-stimulating biocontrol products against *Botrytis cinerea*. *IOBC WPRS Bulletin*, **88**, 39-42.

- Nicot P.C., Stewart A., Bardin M., Elad Y. (2016). Biological control and biopesticide suppression of *Botrytis*-incited diseases. In: *Botrytis - the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems*, Switzerland: Springer International Publishing, 165-187.
- Nigro F., Ippolito A., Lima G. (1998). Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of tablegrapes. *Postharvest Biology and Technology*, **13**, 171-181.
- Nigro F., Ippolito A., Lattanzio V., Di Venere D., Salerno M. (2000). Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. *Journal of Plant Pathology*, **82** (1), 29-37.
- Nigro F., Schena L., Ligorio A., Pentimone I., Ippolito A., Salerno M.G. (2006). Control of table grape storage rots by pre-harvest applications of salts. *Postharvest Biology and Technology*, **42**, 142-149.
- Niinemets Ü. (2010). Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. *Forest Ecology and Management*, **260**, 1623-1639.
- Nora L., Dalmazo G.O., Nora F.R., Rombaldi C.V. (2012). Controlled Water Stress to Improve Fruit and Vegetable Postharvest Quality. *Water Stress*, Prof. Ismail Md. Mofizur Rahman.
- Nürnberger T. and Scheel D. (2001). Signal transmission in the plant immune response. *Trends Plant Science*, **6** (8), 372-379.
- Nürnberger T., Brunner F., Kemmerling B., Piater L. (2004). Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunological Reviews*, **198**, 249-266.

## O

---

Obande M.A., Tucker G.A., Shama G. (2011). Effect of preharvest UV-C treatment of tomatoes (*Solanum lycopersicon* Mill.) on ripening and pathogen resistance. *Postharvest Biology and Technology*, **62**, 188-192.

Oliveira I.R., Crizel G.R., Severo J., Renard C.M.G.C Chaves F.C, Rombaldi C.V. (2016). Preharvest UV-C radiation influences physiological, biochemical, and transcriptional changes in strawberry cv. Camarosa. *Plant Physiology and Biochemistry*, **108**, 391-399.

Ouhibi C., Attia H., Nicot P., Urban L., Lachaâl M., Aarouf J. (2015a) Effect of UV-C Radiation on Resistance of Romaine Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Against *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia minor*. *Journal of Phytopathology*, **163**, 578-582.

Ouhibi C., Attia H., Nicot P., Lecompte F., Vidal V., Lachaâl M., Urban L., Aarouf J. (2015b). Effects of nitrogen supply and of UV-C irradiation on the susceptibility of *Lactuca sativa* L. to *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia minor*. *Plant and Soil*, **393**, 35-46.

## P

---

Pan J., Vicente A.R., Martínez G.A., Chavez A.R., Civello P.M. (2004). Combined use of UV-C irradiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **84**, 1831-1838.

- Park M.H. and Kim J.G. (2015). Low-dose UV-C irradiation reduces the microbial population and preserves antioxidant levels in peeled garlic (*Allium sativum* L.) during storage. *Postharvest Biology and Technology*, **100**, 109-112.
- Pascal F., Forges M., Bastien J.M., Charles F., Aarrouf J., Bardin M. (2018). Fabrication d'une enceinte UV-C pour le traitement des plantes. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 98.
- Paszkowski U. (2006). A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, **172**, 35-46.
- Pataro G., Donsi G., Ferrari G. (2015). Post-harvest UV-C and PL irradiation of fruits and vegetables. *Chemical Engineering Transactions*, **44**, 31-36.
- Paul N.D. and Gwynn-Jones D. (2003). Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 48-55.
- Paulitz T.C. and Belanger R.R. (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology*, **39**, 103-133.
- Petit J. (2013). Identification et validation fonctionnelle de gènes candidats contrôlant la composition de la cuticule chez le fruit de tomate. Thèse de doctorat présentée à l'Université de Bordeaux I, 169.
- Pérez A.G., Olías R., Espada J., Olías J.M., Sanz C.N. (1997). Rapid Determination of Sugars, Nonvolatile Acids, and Ascorbic Acid in Strawberry and Other Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 3545-3549.
- Perkins-Veazie P. (1995). Growth and ripening of strawberry fruit. *Horticultural Review*, **17**, 267-297.



- Petit A.N., Baillieul F., Vaillant-Gaveau N., Jacquens L., Conreux A., Jeandet P., Clement C., Fontaine F. (2009). Low responsiveness of grapevine flowers and berries at fruit set to UV-C irradiation. *Journal of Experimental Botany*, **60** (4), 1155-1162.
- Phoenix G.K., Gwynn-Jones D., Lee J.A., Callaghan T.V. (2003). Ecological importance of ambient solar ultraviolet radiation to a sub- arctic health community. *Plant Ecology*, **165**, 263-273.
- Pieterse C.M.J., van Wees S.C.M., Hoffland E., van Pelt J.A., van Loon L.C. (1996). Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis related gene expression. *Plant Cell*, **8** (8), 1225-1237.
- Pieterse C.M., Leon-Reyes A., Van der Ent S., Van Wees S.C. (2009). Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology*, **5**, 308-316.
- Pinheiro J., Alegria C., Abreu M., Gonçalves E.M., Silva C.L.M. (2015). Use of UV-C postharvest treatment for extending fresh whole tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Zinac) shelf-life. *Journal of Food and Science Technology*, **52** (8), 5066-5074.
- Poiroux-Gonord F., Bidel L.P.R., Fanciullino A.L., Gautier H., Lauri-Lopez F., Urban L. (2010). Health Benefits of Vitamins and Secondary Metabolites of Fruits and Vegetables and Prospects To Increase Their Concentrations by Agronomic Approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 12065-12082.

- Poiroux-Gonord F., Santini J., Fanciullino A.L., Lopez-Lauri F., Giannettini J., Sallanon H., Berti L., Urban L. (2013). Metabolism in orange fruits is driven by photooxidative stress in the leaves. *Physiologia Plantarum*, **149**, 175-187.
- Pombo M.A., Dotto M.C., Martínez G.A., Civello P.M. (2009). UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. *Postharvest Biology and Technology*, **51**, 141-148.
- Pombo M.A., Hernán G.R., Gustavo A., Martínez P., Civello M. (2011). UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*, Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, **59**, 94-102.
- Pontin M.A., Piccoli P.N., Francisco R., Bottini R., Martínez-Zapater J.M., Lijavetzky D. (2010). Transcriptome changes in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Malbec leaves induced by ultraviolet-B radiation. *BMC Plant Biology*, **10**, 224-237.
- Pozo M.J. and Azcon-Aguilar C. (2007). Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, **10**, 393-398.

## R

---

- Raaijmakers J.M., Vlami M., De Souza J.T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, **81** (1), 537-547.

- Rai R., Meena R.P., Smita S.S., Shukla A., Rai S.K., Pandey-Rai S. (2011). UV-B and UV-C pre-treatments induce physiological changes and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. - An antimalarial plant. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **105** (3), 216-225.
- Riesenman P.J. and Nicholson W.L. (2000). Role of the spore coat layers in *Bacillus subtilis* spore resistance to hydrogen peroxide, artificial UV-C, UV-B, and solar UV radiation. *Applied and environmental microbiology*, **66** (2), 620-626.
- Ripoll J., Bertin N., Bidet L.P., Urban L. (2016). A user's view of the parameters derived from the induction curves of maximal chlorophyll *a* fluorescence: perspectives for analyzing stress. *Frontiers in Plant Science*, **7**, 1679.
- Risser G. and Navatel J.C. (1997). La Fraise - 1ere partie : Plant et Variétés, *Ctifl*, Paris, 20-21.
- Rivera-Pastrana D.M., Gardea A.A., Yahia E.M., Martínez-Tellez M.A., Gonzalez Aguilar G. (2014). Effect of UV-C irradiation and low temperature storage on bioactive compounds, antioxidant enzymes and radical scavenging activity of papaya fruit. *Food Science and Technology*, **51**, 3821-3829.
- Rizzini L., Favory J.J., Cloix C., Faggionato D., O'Hara A., Kaiserli E., Baumeister R., Schäfer E., Nagy F., Jenkins G.I., Ulm R. (2011). Perception of UV-B by the *Arabidopsis* UVR8 protein. *Science*, **332** (6025), 103-106.
- Romanazzi G., Smilanick J.L., Feliziani E., Droby S. (2016). Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, **113**, 69-76.

- Rosenstein B.S., Ducore J.M. (1983). Induction of DNA strands breaks in normal human fibroblasts exposed to monochromatic ultraviolet and visible wavelengths in the 240-546 nm range. *Photochemistry and Photobiology*, **38**, 51-55.
- Rousseaux M.C., Ballaré C.L., Scopel A.I., Searles P.S., Caldwell M.M. (1998). Solar ultraviolet-B radiation affects plant-insect interactions in a natural ecosystem of Tierra del Fuego (southern Argentina). *Oecologia*, **116**, 528-535.
- Rozema J., Vandestaaij J., Bjorn L.O., Caldwell M. (1997). UV-B as an environmental factor in plant life: Stress and regulation. *Trends in Ecology and Evolution*, **12**, 22-28.
- Russell P.E. (1995). Fungicide resistance: occurrence and management. *Journal of Agricultural Science*, **124**, 317.
- Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G., Molina A., Steiner H.Y., Hunt M.D. (1996). Systemic Acquired Resistance. *The Plant Cell*, **8**, 1809-1819.

## S

---

- Sankari M., Hridya H., Sneha P., Doss C.G.P., Ramamoorthy S. (2017). Effect of UV radiation and its implications on carotenoid pathway in *Bixa orellana* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **176**, 136-144.

- Santos A.L., Oliveira V., Baptista I., Henriques I., Gomes N.C.M., Almeida A., Correia A., Cunha A. (2013). Wavelength dependence of biological damage induced by UV radiation on bacteria. *Archives of Microbiology*, **195** (1), 63-74.
- Sari L.K., Setha S., Naraisorn M. (2016). Effect of UV-C irradiation on postharvest quality of “Phulae” pineapple. *Scientia Horticulturae*, **213**, 314-320.
- Sarig P., Zutkhi Y., Monjauze A., Lisker N., Ben-Arie R. (1997). Phytoalexin elicitation in rape berries and their susceptibility to *Rhizopus stolonifer*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **50**, 337-347.
- Saxena S.C., Joshi P.K., Grimm B., Aror, S. (2011). Alleviation of ultraviolet-C induced oxidative damage through overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase. *Biologia*, **66**, 1052-1059.
- Scandalios J.G. (1997). Oxidative stress and defense mechanisms in plants: introduction. *Free Radical Biology and Medicine*, **23**, 471-472.
- Schuch W. (1994). Improving tomato quality through biotechnology. *Food Technology*, **48**, 78-83.
- Schwieterman M.L., Colquhoun T.A., Jaworski E.A., Bartoshuk L.M., Gilbert J.L., Tieman D.M., Odabasi A.Z., Moskowicz H.R., Folta K.M., Klee H.J., Sims C.A., Whitaker V.M., Clark D.G. (2014). Strawberry flavor: diverse chemical compositions, a seasonal influence, and effects on sensory perception. *PLoS One*, **9** (2), 88446.

- Scott G., Rupar M., Fletcher A.G.D., Dickinson M., Shama G. (2016). A comparison of low intensity UV-C and high intensity pulsed polychromatic sources as elicitors of hormesis in tomato fruit. *Post-harvest Biology and Technology*, **125**, 52-58.
- Scott G., Dickinson M., Shama G., Rupar M. (2018). A comparison of the molecular mechanisms underpinning high-intensity, pulsed polychromatic light and low-intensity UV-C hormesis in tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, **137**, 46-55.
- Seeram N. P., Lee R., Scheuller H. S., Heber D. (2006). Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionisation mass spectroscopy. *Food Chemistry*, **97**, 1-11.
- Severo J., Tiecher A., Chaves F.C., Silva J.A., Rombaldi C.V. (2011). Gene transcript accumulation associated with physiological and chemical changes during developmental stages of strawberry cv. Camarosa. *Food Chemistry*, **126**, 995-1000.
- Severo J., de Oliveira I.R., Tiecher A., Chaves F.C., Rombaldi C.V. (2015). Postharvest UV-C treatment increases bioactive, ester volatile compounds and a putative allergenic protein in strawberry. *LWT - Food Science and Technology*, **64**, 685-692.
- Severo J., Oliveira I.R., Bott R., Le Bourvellec C., Renard C.M.G., Page D., Chaves F.C., Rombaldi C.V. (2016). Preharvest UV-C radiation impacts strawberry metabolite content and volatile organic compound production. *Food Science and Technology*, 1-4.
- Shama G. and Alderson P. (2005). UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialisation. *Trends in Food Science and Technology*, **16**, 128-136.

- Shanvit N. and Avron M. (1963). The effect of ultraviolet light on photophosphorylation and the Hill reaction. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)*, **66**, 187-95.
- Sheng K., Zheng H., Shui S., Yan L., Liu C., Zheng L. (2018). Comparison of postharvest UV-B and UV-C treatments on table grape: Changes in phenolic compounds and their transcription of biosynthetic genes during storage. *Postharvest Biology and Technology*, **138**, 74-81.
- Shewleft R.L. (1986). Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. *Food Technology*, **40**, 70-80.
- Shewfelt R.L. (1999). What is quality? *Postharvest Biology and Technology*, **15**, 197-200.
- Shin Y.J., Song H.Y., Song K.B. (2012). Effect of a combined treatment of rice bran protein film packaging with aqueous chlorine dioxide washing and ultraviolet-C irradiation on the postharvest quality of 'Goha' strawberries. *Journal of Food Engineering*, **113**, 374-379.
- Shiraishi T., Oku H., Isono M., Ouchi S. (1975). The injurious of pisatin on the plasma membrane of pea. *Plant Cell Physiology*, **16**, 939-942.
- Siddiqui A., Dawar S., Zaki M.J., Hamid N. (2011). Role of ultra violet (UV-C) radiation in the control of root infecting fungi on groundnut and mung bean. *Pakistan Journal of Botany*, **43**, 2221-2224.
- Silva B.M., Andrade P.B., Mendes G.C., Seabra R.M., Ferreira M.A. (2002). Study of the organic acids composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit and jam. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **50**, 2313-2317.

- Siriphanich J. and Kader A.A. (1985). Effects of CO<sub>2</sub> on total phenolics, phenylalanine ammonia-lyase and polyphenol oxidase in lettuce tissue. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **110**, 249-253.
- Smith H. (1982). Light Quality, Photoperception, and Plant Strategy. *Annual Review of Plant Physiology*, **33**, 481-518.
- Snoeijers S.S., Pérez-García A., Joosten M.H., De Wit P.J. (2000). The effect of nitrogen on disease development and gene expression in bacterial and fungal plant pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, **106** (6), 493-506.
- Sommer N.F., Fortlage R.J., Edwards D.C. (1992). Postharvest diseases of selected commodities. In: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. University of California Davis Division of Agriculture and Natural Resources, **3311**, 117-160.
- Srivastava A., Guisse B., Greppin H., Strasser R.J. (1997). Regulation of antenna structure and electron transport in photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient: OKJIP. *BBA-Bioenergetics*, **1320** (1), 95-106.
- Srivastava A. and Strasser R. (1999). Greening of peas: parallel measurements of 77 K emission spectra, OJIP chlorophyll *a* fluorescence transient, period four oscillation of the initial fluorescence level, delayed light emission, and P700. *Photosynthetica*, **37**, 365-392.
- Stammler G., Brix H.D., Glattli A., Semar M., Schoefl U. (2007). Biological properties of the carboxamide boscalid including recent studies on its mode of action. In: *Proceedings XVI International Plant Protection Congress*, 40-45.



- Stevens C., Khan V.A., Tang A.Y., Lu J.Y. (1990). The effect of ultraviolet radiation on mold rots and nutrients of stored sweet potatoes. *Journal of Food Protection*, **53**, 223-226.
- Stevens C., Khan V.A., Lu J.Y., Wilson C.L., Pusey P.I., Igwebe E.C.K. Kabe K., Mafolo Y., Liu J., Chalutz E., Droby S. (1997). Integration of Ultraviolet (UV-C) Light with Yeast Treatment for Control of Postharvest Storage Rots of Fruits and Vegetables. *Biological control*, **10**, 98-103.
- Stevens C., Liu J., Khan V.A., Lu J.Y., Wilson C.L., Droby S. (1998). Application of hormetic UV-C for delayed ripening and reduction of *Rhizopus* Soft Rot in tomatoes: the effect of tomatine on storage rot development. *Journal of Phytopathology*, **146**, 211-221.
- Sticher L., Mauch-Mani B., Métraux J. P. (1997). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **35**, 235-270.
- Stirbet A. and Govindjee (2011). On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **104**, 236-257.
- Stirbet A. (2012). Chlorophyll *a* fluorescence induction: a personal perspective of the thermal phase, the J-I-P rise. *Photosynthesis Research*, **113** (1-3), 15-61.
- Strasser R.J. and Srivastava A. (1995). Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochemistry and Photobiology*, **61**, 32-42.

- Strasser R.J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. In: *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, Taylor and Francis, London, 445-483.
- Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. (2004). Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient. In: *Chlorophyll a Fluorescence*, Dordrecht: Springer Netherlands, **19**, 321-362.
- Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Qiang S., Goltsev V. (2010). Simultaneous *in vivo* recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *BBA-Bioenergetics*, 1797 (6-7), 1313-1326.
- Stratmann J. (2003). Ultraviolet-B radiation co-opts defense signaling pathways. *Trends in Plant Science*, **8** (11), 526-533.
- Sturm K., Koron D., Stampar F. (2003). The composition of fruit of different strawberry varieties depending on maturity stage. *Food Chemistry*, **83**, 417-422.
- Sutton J.C., Li D.W., Peng G., Yu H., Zhang P.G., Valdebenito-Sanhueza R.M. (1997). *Gliocladium roseum* - a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Disease*, **81**, 316-328.
- Swadling I.R. and Jeffries P. (1996). Isolation of microbial antagonists for biocontrol of grey mould disease of strawberries. *Biocontrol Science and Technology*, **6**, 125-136.
- Szczesniak A.S. (1998). Effect of storage on texture. In: *Food Storage stability*, I.A. Taub, R.P. Singh, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

## T

---

- Taiz L. and Zeiger E. (1998). Plant Physiology. In: *2nd Edition Sinauer Associates Publishers*, Sunderland, Massachusetts, 792.
- Tang R.J., Liu H., Bao Y., Lv Q.D., Yang L., Zhang H.X. (2010). The woody plant poplar has a functionally conserved salt overly sensitive pathway in response to salinity stress. *Plant Molecular Biology*, **74** (4-5), 367-380.
- Terry L.A. and Joyce D.C. (2004). Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. *Postharvest Biology and Technology*, **32** (1), 1-13.
- Thach L.B., Shapcott A., Schmidt S., Critchley C. (2007). The OJIP fast fluorescence rise characterizes Graptophyllum species and their stress responses. *Photosynthesis Research*, **94**, 423-436.
- Thomma B.P., Penninckx I.A., Broekaert W.F., Cammue B.P. (2001). The complexity of disease signaling in Arabidopsis. *Current Opinion in Immunology*, **13** (1), 63-68.
- Thompson C.L. and Sancar A. (2002). Photolyase/cryptochrome blue-light photoreceptors use photon energy to repair DNA and reset the circadian clock. *Oncogene*, **21**, 9043.
- Thordal-Christensen H. (2003). Fresh insights into processes of non host resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, **6** (4), 351-357.

- Tiecher A., Paula L.A., Chaves F.C., Rombaldi C.V. (2013). UV-C effect on ethylene, polyamines and the regulation of tomato fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*, **86**, 230-239.
- Tikkanen M., Gollan P.J., Mekala N.R., Isojarvi J., Aro E.M. (2014). Light-harvesting mutants show differential gene expression upon shift to high light as a consequence of photosynthetic redox and reactive oxygen species metabolism. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, **369**, 20130229.
- Tripathi P. and Dubey N.K. (2004). Exploitation of natural products as alternative strategy to control post-harvest fungal rotting of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, **32**, 235-245.
- Trouvelot S., Varnier A.L., Allegre M., Mercier L., Baillieul F., Arnould C., Gianinazzi-Pearson V., Klarzynski O., Joubert J.M., Pugin A., Daire X. (2008). A beta-1,3 glucan sulfate induces resistance in grapevine against *Plasmopara viticola* through priming of defense responses, including HR-like cell death. *Molecular Plant Microbe Interactions*, **21**, 232-243.
- Tsormpatsidis E., Henbest E., Davis D.J., Battey N.H., Hadley P., Wagstaffe A. (2007). UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in *Lollo Rosso* lettuce “Revolution” grown under polyethylene films. *Environmental and Experimental Botany*, **63**, 232-239.
- Tsuda K. and Katagiri F. (2010). Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, **13**, 459-465.

Tyrrell R.M. (1973). Induction of pyrimidine dimers in bacterial DNA by I365 nm radiation. *Photochemistry and Photobiology*, **17**, 69-73.

## U

---

Urban L., Aarouf J., Nicot .PC. (2014). Prospects for using environmental levers in greenhouses to stimulate plant defences and the quality of fruits and vegetables. *Acta Horticulturae*, **1041**, 247-252.

Urban L., Charles F., de Miranda M.R.A., Aarouf J. (2016). Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. *Plant Physiology and Biochemistry*, **105**, 1-11.

Urban L., Aarouf J., Bidel L.P. (2017). Assessing the effects of water deficit on photosynthesis using parameters derived from measurements of leaf gas exchange and of chlorophyll *a* fluorescence. *Frontiers in Plant Science*, **8**, 2068-2085.

Urban L., Chabane Sari D., Orsal B., Lopes M., Miranda R., Aarouf J. (2018). UV-C light and pulsed as alternatives to chemical and biological elicitors for stimulating plant natural defenses against fungal diseases. *Scientia Horticulturae*, **235**, 452-459.

V

---

- Van der Ent S., Van Wees S.C., Pieterse C.M. (2009). Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes. *Phytochemistry*, **70**, 1581-1588.
- Van Lenteren J.C. (2000). A greenhouse without pesticides: fact or fantasy? *Crop Protection*, **19**, 375-384.
- Van Loon L.C., Bakker P., Pieterse C.M.J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, **36**, 453-483.
- Van Loon L.C., Geraats B.P.J., Linthorst H.J.M. (2006). Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. *Trends in Plant Science*, **11** (4), 184-191.
- Van Ploeg D. and Heuvelink E. (2005). Influence of sub-optimal temperature on tomato growth and yield: a review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **80** (6), 652-659.
- Vasquez H., Ouhibi C., Forges M., Azzouz N., Bardin M., Lizzi Y., Nicot P., Urban L., Aarrouf J. (2017). Pre- harvest hormetic doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves (*Lactuca sativa L.*) to *Botrytis cinerea*. *Scientia Horticulturae*, **222**, 32-39.
- Vazquez M.A., Jiménez S.N., Torres I., Anaya I., Mendoza H.J.R., Guevara G. (2012). Behavior of tomato plants (*Solanum lycopersicum*) sprayed with salicylic acid grown under different climatic conditions in a greenhouse. *Ciencia UAQ*, **5** (1), 1-9.

- Vasquez H., Ouhibi C., Forges M., Ledermann L., Lizzi Y., Urban L., Aarouf J. (2018). Hormic doses of UV-C light applied to growing tomato plants decrease their susceptibility towards *Botrytis cinerea*. *Fruits*, in submission.
- Vass I., Szilard A.S., Sicora C. (2005). 43 Adverse Effects of UV-B Light on the Structure and Function of the Photosynthetic Apparatus.
- Veloukas T., Leroch M., Hahn M., Karaoglanidis G.S. (2011). Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry. *Plant Disease*, **95**, 1302-7.
- Verhagen B.W.M., Glazebrook J., Zhu T., Chang H.S., Van Loon L.C., Pieterse C.M.J. (2004). The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, **17** (8), 895-908.
- Viennot-Bourgin G. (1965). Encyclopédie mycologique XXVII. *Lechevalier*, Paris, 350.

## W

---

- Wang S.Y. and Lin H.S. (2000). Antioxydant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry is affected by cultivar and maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 140-146.
- Wang W., Vinocur B., Altman A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, **218**, 1-14.

- Whipps J.M. and Gerlagh M. (1992). Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. *Mycological Research*, **96**, 897-907.
- Wiese J., Kranz T., Schubert S. (2004). Induction of pathogen resistance in barley by abiotic stress. *Plant Biology*, **6**, 529-536.
- Wilbois K.P., Baker B., Raaijmakers M., Lammerts van Bueren E.T. (2012). Values and principles in organic farming and consequences for breeding approaches and techniques. In: *Organic Crop Breeding*, Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 125-38.
- Williamson B., Tudzynsk B., Tudzynski P., Van Kan J.A.L. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, **8**, 561-580.
- Wilson C.L., El Ghaouth A., Upchurch B., Stevens C., Khan V., Droby S., Chalutz E. (1997). Using an on-line UV-C apparatus to treat harvested fruit for controlling postharvest decay. *HortTechnology*, **7**, 278-282.
- Windram O., Madhou P., McHattie S., Hill C., Hickman R., Cooke E., Jenkins D.J., Penfold C.A., Baxter L., Breeze E., Kiddle S.J., Rhodes J., Atwell S., Kliebenstein D.J., Kim Y.S., Stegle O., Borgwardt K., Zhang C., Tabrett A., Legaie R., Moore J., Finkenstadt B., Wild D.L., Mead A., Rand D., Beynon J., Ott S., Buchanan-Wollaston V., Denby K.J. (2012). *Arabidopsis* defense against *Botrytis cinerea*: chronology and regulation deciphered by high-resolution temporal transcriptomic analysis. *The Plant Cell*, **24**, 3530-3557.



Wituszyńska W., Szechyńska M., Sobczak M., Rusaczonek A., Kozłowska A., Witoń D., Karpiński S. (2015). Lesion simulating disease 1 and enhanced disease susceptibility 1 differentially regulate UV-C-induced photooxidative stress signalling and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Environment*, **38** (2), 315-330.

Wuytack E.Y., Phuong L.D.T., Aertsen A., Reyns K.M.F., Marquenie D., De Ketelaere B., Masschalck B., Van Opstal I., Diels A.M.J., Michiels C.W. (2003). Comparison of sublethal injury induced in *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* by heat and by different nonthermal treatments. *Journal of Food Protection*, **66**, 31-37.

## X

---

Xie Z., Charles M.T., Fan J., Charlebois D., Khanizadeh S., Rolland D., Roussel D., Deschênes M. (2015). Effects of preharvest ultraviolet-C irradiation on fruit phytochemical profiles and antioxidant capacity in three strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cultivars: Preharvest UV-C on strawberry fruit quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **95**, 2996-3002.

Xie Z., Fan J., Charles M.T., Charlebois D., Khanizadeh S., Rolland D., Dominique R., Zhang Z. (2016). Preharvest ultraviolet-C irradiation: influence on physicochemical parameters associated with strawberry fruit quality. *Plant Physiology and Biochemistry*, **108**, 337-343.

Xu Y., Charles M.T., Luo Z., Roussel D., Rolland D. (2017). Potential link between fruit yield, quality parameters and phytohormonal changes in preharvest UV-C treated strawberry. *Plant Physiology and Biochemistry*, **116**, 80-90.

Y

---

- Yang Z., Cao S., Su X., Jiang Y. (2014). Respiratory activity and mitochondrial membrane associated with fruit senescence in postharvest peaches in response to UV-C treatment. *Food Chemistry*, **161**, 16-21.
- Yi W., Akoh C. C., Fischer J., Krewer G. (2006). Effects of phenolic compounds unblueberries and muscadine grapes on HepG2 cell viability and apoptosis. *Food Research International*, **39**, 628-638.
- Yoder O.C. and Whalen M.L. (1975). Factors affecting postharvest infection of stored cabbage tissue by *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Botany*, **53**, 691-699.
- Yordanov I., Goltsev V., Stefanov D., Chernev P., Zaharieva I., Kirova M., Gecheva V., Strasser R.J. (2008). Preservation of photosynthetic electron transport from senescence-induced inactivation in primary leaves after decapitation and defoliation of bean plants. *Journal of Plant Physiology*, **165**, 1954-1963.
- Yunis H., Elad Y., Mahrer Y. (1990). Effects of air temperature, relative humidity and canopy wetness on gray mold of cucumbers in unheated greenhouses. *Phytoparasitica*, **18**, 203-215.
- Yusuf M.A., Rajwanshi D.K.R., Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Govindjee, Sarin N.M. (2010). Overexpression of c-tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll fluorescence measurements. *Biochimica and Biophysica Acta*, **1797**, 1428-1438.

Z

---

Zeng K., Cao J., Jiang W. (2006). Enhancing disease resistance in harvested mango *Mangifera indica* L. cv. Matisu fruit by salicylic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86** (5), 694-698.

Zimand G., Elad Y., Chet I. (1996). Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Phytopathology*, **86**, 1255-1260.

Zipfel C. (2008). Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, **20**, 10-16.

## Résumé

Certains champignons sont très dommageables pour les plantes mais aussi pour la conservation après récolte des produits végétaux. Les restrictions réglementaires concernant l'utilisation des fongicides nécessitent de trouver des solutions alternatives. L'amélioration de la résistance des plantes en utilisant des méthodes physiques, comme les rayonnements UV, peut présenter une alternative prometteuse en association avec d'autres méthodes dans le cadre d'une protection intégrée des cultures. L'objectif de cette thèse a été d'étudier l'effet des rayonnements UV-C sur la sensibilité des plantes aux agents pathogènes. Les rayonnements UV-C ont été appliqués durant la culture, seuls ou en combinaison à des agents de biocontrôle, ou en post-récolte. Les expérimentations ont été menées sur deux espèces végétales : le fraisier et la tomate.

Sur fraisier, des traitements UV-C à une dose de 1,70 kJ/m<sup>2</sup> entraînent une diminution systématique d'environ 20 % de la sensibilité des feuilles à *Botrytis cinerea* et diminuent jusqu'à 50 % le nombre de feuilles attaquées par *Podosphaera aphanis*, l'agent causal de l'oïdium. Chez la tomate, la protection des feuilles contre *B. cinerea* atteint 43 % avec une dose d'UV-C cumulée de 4,0 kJ/m<sup>2</sup>. Ces mêmes traitements UV-C appliqués sur fruits réduisent la sensibilité des fraises vis-à-vis de *Rhizopus* de 75 % mais aucun effet n'est observé vis-à-vis de *B. cinerea*. Au contraire, sur fruits de tomate, la sensibilité est diminuée d'environ 63 % contre cet agent pathogène. Parallèlement, des tests biochimiques et gustatifs suggèrent que la qualité des fruits n'est pas significativement améliorée ni altérée par les expositions UV-C. Malgré un effet germicide marqué des rayonnements UV-C sur feuilles de fraisiers, aucun effet bénéfique de l'application de ces rayonnements sur le niveau d'efficacité d'agents de lutte biologique n'a été mis en évidence.

Nos observations sont encourageantes pour envisager une utilisation de cette méthode dans un schéma de protection intégrée des cultures. Cependant, une compréhension claire de la façon dont les rayonnements UV-C sont perçus par les plantes et traduits en mécanismes de défense est nécessaire avant que leur utilisation ne soit recommandée sur le terrain.

Mots clés : fraisier, tomate, UV-C, *Botrytis cinerea*, *Podosphaera aphanis*, *Rhizopus*, biocontrôle, qualité des fruits

## Abstract

Some fungi are very damaging during plant cultivation and also in post-harvest storage of products. Regulatory restrictions on fungicide use require alternative solutions. Improving plant resistance using physical methods, such as application of UV radiation, can be a promising alternative in association with other methods as part of an integrated pest management strategy. The objective of the present thesis was to study the effect of UV-C application on the sensitivity of plants to fungal pathogens. UV-C radiation was applied during plant cultivation, alone or in combination with biocontrol agents, or in post-harvest. Experiments were conducted on two plant species: strawberry and tomato.

On strawberry plants, UV-C treatments at 1.70 kJ/m<sup>2</sup> result in a systematic 20 % decrease in leaves sensitivity to *Botrytis cinerea* and in a reduction by up to 50 % of the number of leaves infected by *Podosphaera aphanis*, the causal agent of powdery mildew. In tomato, leaves protection against *B. cinerea* reaches 43 % with a cumulative dose of 4.0 kJ/m<sup>2</sup>. UV-C treatments applied on fruits reduce the strawberry sensitivity to *Rhizopus* by 75 % but no effect is observed against *B. cinerea*. On the contrary, sensitivity against *B. cinerea* is reduced by 63 % on tomato fruit. Biochemical and taste tests suggest that fruit quality is not significantly improved or altered by UV-C treatment. Despite a marked germicidal effect of UV-C radiation on strawberry leaves, it has no significant effect on the protective efficacy of biocontrol agents.

Our observations are encouraging to consider the use of this tool in an integrated crop protection scheme. However, a clear understanding of how UV-C radiations are perceived by plants and their translation into defense mechanisms is necessary before their use is recommended in the field.

Keywords: strawberry, tomato, UV-C, *Botrytis cinerea*, *Podosphaera aphanis*, *Rhizopus*, biocontrol, fruit quality