

Destruction de *Rhizopus stolonifer* et *Botrytis cinerea* par des traitements ozone/ions

Destruction of *Rhizopus stolonifer* and *Botrytis cinerea* by ozone/ions treatments

Eugène Émile Nicoué, Jean-Pierre Emond, Jean-Christophe Vuillemard and Maria Cecilia do Nascimento Nunes

Volume 85, Number 2, août 2004

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/009833ar>

DOI: <https://doi.org/10.7202/009833ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

Société de protection des plantes du Québec (SPPQ)

ISSN

0031-9511 (print)

1710-1603 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Nicoué, E. É., Emond, J.-P., Vuillemard, J.-C. & Nunes, M. C. d. N. (2004). Destruction de *Rhizopus stolonifer* et *Botrytis cinerea* par des traitements ozone/ions. *Phytoprotection*, 85(2), 81–87. <https://doi.org/10.7202/009833ar>

Article abstract

The fungicidal activity of the combined treatment ozone/ions was investigated on the development of *Rhizopus stolonifer* and *Botrytis cinerea*. *R. stolonifer* and *B. cinerea*, two common postharvest pathogens of strawberries, were inoculated on gelose and exposed to 10^6 ions/cm³ of air with ozone concentrations of 0.05, 0.1, 0.5 or 1 ppm. Strawberries were wounded and inoculated with *R. stolonifer* or *B. cinerea* and exposed to the same ozone/ions concentrations for 12, 24, 48 and 72 hours. The results showed a significant fungicidal and/or fungistatic effect of the combined ozone/ions treatments on the fungus. *In vitro* treatments showed that, after 36 hours of exposure to ozone concentrations of 0.05 and 0.1 ppm, the cell count decrease for *R. stolonifer* was 57 and 76% respectively, while it was 68 and 78% for *B. cinerea*. Exposure to ozone concentrations of 0.5 and 1 ppm over the same period of time resulted in 99 and 98% decrease for *R. stolonifer* and *B. cinerea*, respectively. Ozone/ions treatment in wounded strawberries allowed 91.1 and 98.8% reduction of the counts after 72 hours of exposure to 1 ppm of ozone respectively for *R. stolonifer* and *B. cinerea*.

Destruction de *Rhizopus stolonifer* et de *Botrytis cinerea* par des traitements ozone/ions

Eugène Émile Nicoué¹, Jean-Pierre Émond¹, Jean-Christophe Vuilleumard² et Maria Cecilia do Nascimento Nunes¹

Reçu 2004-05-25; accepté 2004-11-19

PHYTOPROTECTION 85 : 81-87

L'activité fongicide des traitements ozone/ionisation a été étudiée. *Rhizopus stolonifer* et *Botrytis cinerea*, deux moisissures pathogènes communes de l'entreposage des fraises, ont été inoculées sur gélose et exposées à 10^6 ions/cm³ d'air et à des concentrations d'ozone de 0,05; 0,1; 0,5 et 1 ppm. En guise d'application, des fraises ont été inoculées par lésion avec chaque souche de moisissure et traitées aux mêmes concentrations d'ozone pour 12, 24, 48, 72 heures et comparées à un témoin inoculé non traité. Les résultats obtenus ont démontré un effet fongicide significatif et/ou fongistatique des traitements combinés ozone/ionisation sur les moisissures étudiées. Les expériences sur gélose ont montré que les teneurs en ozone de 0,05 et 0,1 ppm ont permis, après 36 heures de traitement, de réduire respectivement de 57 et 76 % les populations de *R. stolonifer*, et de 68 et 78 % les populations de *B. cinerea*. Pour les concentrations d'ozone de 0,5 et 1 ppm, une réduction de 99 % pour *R. stolonifer* et de 98 % pour *B. cinerea* a été observée. Sur les fraises exposées à 1 ppm d'ozone, après 72 heures de traitement, 91,1 et 98,8 % de réduction des populations de *R. stolonifer* et de *B. cinerea* ont été observées respectivement.¹

[Destruction of *Rhizopus stolonifer* and *Botrytis cinerea* by ozone/ions treatments]

The fungicidal activity of the combined treatment ozone/ions was investigated on the development of *Rhizopus stolonifer* and *Botrytis cinerea*. *R. stolonifer* and *B. cinerea*, two common postharvest pathogens of strawberries, were inoculated on gelose and exposed to 10^6 ions/cm³ of air with ozone concentrations of 0.05, 0.1, 0.5 or 1 ppm. Strawberries were wounded and inoculated with *R. stolonifer* or *B. cinerea* and exposed to the same ozone/ions concentrations for 12, 24, 48 and 72 hours. The results showed a significant fungicidal and/or fungistatic effect of the combined ozone/ions treatments on the fungus. *In vitro* treatments showed that, after 36 hours of exposure to ozone concentrations of 0.05 and 0.1 ppm, the cell count decrease for *R. stolonifer* was 57 and 76% respectively, while it was 68 and 78% for *B. cinerea*. Exposure to ozone concentrations of 0.5 and 1 ppm over the same period of time resulted in 99 and 98% decrease for *R. stolonifer* and *B. cinerea*, respectively. Ozone/ions treatment in wounded strawberries allowed 91.1 and 98.8% reduction of the counts after 72 hours of exposure to 1 ppm of ozone respectively for *R. stolonifer* and *B. cinerea*.

1. Département des sols et génie agroalimentaire, Université Laval, Québec (Québec), Canada G1K 7P4; courriel : jpemond@ufl.edu
2. Département de sciences des aliments et nutrition, Université Laval, Québec (Québec), Canada G1K 7P4

INTRODUCTION

L'amélioration de la durée de conservation des denrées périssables peut être réalisée par différents traitements y compris l'ozone, forme triatomique de l'oxygène (Rice *et al.* 1982). Depuis la découverte de son pouvoir oxydant germicide dans l'eau et le traitement des eaux usées (Rice *et al.* 1981; Venosa 1983), l'ozone est souvent décrit comme solution alternative au chlore pour la désinfection de l'eau. Comparé au chlore, l'ozone a l'avantage de se décomposer dans l'eau en oxygène ne laissant aucun résidu. Elford et Van den Ende (1942) ont démontré que l'ozone, à une concentration aussi faible que 5×10^{-2} ppb possède une action germicide sur certains microorganismes pathogènes à une humidité relative comprise entre 60 et 80 %. Le puissant pouvoir oxydant de l'ozone en a fait un agent utile pour l'inactivation des bactéries, des moisissures et de leurs spores, des virus et des kystes de protozoaires (Broadwater *et al.* 1973; Foe-geding 1985; Greene *et al.* 1993; Ishizaki *et al.* 1986; White 1992). Cependant, peu d'intérêt a été accordé à l'utilisation de l'ozone sous forme gazeuse comme désinfectant (Russel 1982).

Dans le milieu des années 90, l'ozone a été approuvé dans les procédés alimentaires au Japon, en France et en Australie (Smilanick *et al.* 1999). En 1997, un groupe d'experts a examiné le potentiel et la sécurité de l'ozone dans les procédés alimentaires et a déclaré l'ozone « GRAS » (Generally Recognised As Safe) pour les applications alimentaires (U.S. Food and Drug Administration 1997). Ces autorisations ont stimulé l'intérêt pour le développement des applications de l'ozone dans l'industrie alimentaire.

Le seuil de concentration d'ozone gazeux a été limité à 0,3 ppm par l'Administration Américaine de la Santé et la Sécurité Professionnelle (US-OSHA). À cette dose, une personne saine peut s'exposer pendant 15 min, au plus quatre fois par j.

L'un des domaines d'utilisation de l'ozone est le traitement des fruits et légumes entreposés (Schomer et McColloch 1948). Hibben et Stotzky (1969) ont montré que la sensibilité des spores à l'action oxydante de l'ozone dépend des souches de moisissures, de la morphologie des spores, de l'humidité et de la concentration d'ozone. L'entreposage sous une atmosphère d'ozone pourrait réduire de façon significative la charge microbienne pathogène présente dans l'air. Schomer et McColloch (1948) ont montré une très grande réduction de la dissémination des spores lorsque les entrepôts des pommes ont été désinfectés à l'ozone. Pour les traitements post-récolte des fruits et des légumes frais, l'ozone peut être utilisé comme désinfectant de l'air des entrepôts ou comme composante continue ou intermittente de l'atmosphère tout au long de l'entreposage et du transport (Palou *et al.* 2002). Ces deux situations ont suscité récemment un intérêt considérable, spécialement à cause de l'absence de résidus sur les produits et des nouvelles normes à respecter. Le contrôle des agents phytopathogènes pendant l'entreposage est efficace sur la surface et à l'intérieur des lésions des fruits et légumes après une exposition prolongée à une haute concentration d'ozone (Smilanick *et al.* 1999).

Palou *et al.* (2002) ont montré qu'une exposition continue à une concentration d'ozone de 0,3 ppm inhibe la croissance du mycélium et la germination des spores du *Molinilia fructicola* (G.Wint.) Honey (*Monilia*) sp., du *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. et du *Mucor piriformis* E. Fisch. inoculés par lésion dans des pêches entreposées à 5°C et 90 % d'humidité relative pendant 4 semaines. En 1968, Harding a montré que l'exposition de citrons et d'oranges à 1 ppm d'ozone a efficacement inhibé la sporulation et a modérément réduit la prolifération du *Penicillium* sur les fruits infectés.

Le pouvoir oxydant puissant de l'ozone est dû à la grande réactivité de l'oxygène avec diverses substances, dont les composés organiques (Marvin *et al.* 1989). La mort des microorganismes est rapide et souvent attribuée aux changements de la perméabilité cellulaire suivis d'une lyse cellulaire. Néanmoins, cette lyse n'est probablement pas le mécanisme d'inactivation primaire, mais une conséquence du pouvoir oxydant d'une concentration élevée d'ozone. L'ozone réagit sur divers acides aminés des protéines, les acides aminés portant des groupements thiols (méthionine et cystéine) et le tryptophane étant les plus sensibles (Menzel 1971; Mudd *et al.* 1969). La présence d'une certaine quantité d'humidité relative semble être essentielle pour une pénétration rapide de l'ozone (Hoigné et Bader 1976; Ishizaki *et al.* 1986).

Les molécules d'ADN et d'ARN des moisissures peuvent être d'autres cibles de l'ozone. La dénaturation de l'ARN a été démontrée comme étant la cause majeure de l'inactivation des microorganismes (Roy *et al.* 1981). L'ozone agit principalement sur la guanine et la thymine des acides nucléiques (Ishizaki *et al.* 1984; Shirinki *et al.* 1983).

De plus, la production d'ions négatifs dans l'air diminue de façon significative les microorganismes, réduisant ainsi la contamination aérienne. Il a été démontré que l'effet biocide de l'ionisation négative de l'air est dû essentiellement au pouvoir oxydant des ions oxygènes (Marvin *et al.* 1989). Jin *et al.* (1989) ont montré que les ions négatifs sont capables de retarder la sénescence des tomates et des mandarines tout en abaissant le taux d'éthylène et l'intensité respiratoire.

Tanimura *et al.* (1997) ont noté que l'action synergique de l'ionisation négative et de l'ozone peut être une solution efficace pour prévenir la multiplication des microorganismes.

Ainsi, l'objectif du présent travail a été d'évaluer l'activité fongicide des traitements ozone/ionisation sur deux souches de moisissures, *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. et *B. cinerea*, les plus importants agents pathogènes post-récolte des fraises.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Générateur d'ozone/ions

La chambre à ozone utilisée dans cette étude (1 m³) contenait le générateur AP-O4i-18-4000 (AIR PUR 2000, Québec, Canada), un modèle à ionisation négative et à ozone contrôlé. L'ionisation est produite

à l'aide d'un surtenseur de conception diodale assurant une production stable de l'ordre de 10^6 ions/cm³ d'air pulsé. L'ozone est produit par une technologie appelée « décharge électrique dans un flux d'air ». L'ozone et les ions sont propulsés dans l'air par un ventilateur à vitesse variable. Les concentrations d'ozone dans la chambre sont contrôlées par un analyseur d'ozone à UV (Model 8810, Monitor Labs Inc., San Diego, CA) à 254 nm.

Entreposage des moisissures

Les deux souches de moisissures (Ferreira *et al.* 1996) utilisées, *R. stolonifer* et *B. cinerea*, provenaient de la collection du professeur J. Bartz (Département de Pathologie, Université de Floride, Gainesville). Après croissance en milieu liquide Potato Dextrose Broth (Difco Laboratories, Detroit, MI), la culture a été congelée et conservée à -24°C dans 40 % (vol:vol) de glycérol.

Expériences *in vitro*

Culture des moisissures

Le milieu Potato Dextrose a été inoculé à 10 % (vol:vol) dans des plats de Pétri à partir de 1 mL de suspension de spores de moisissures appliqué en surface. Les souches de moisissures ont été cultivées pendant 72 h à 23°C avec agitation.

Traitements ozone - ionisation

Les moisissures inoculées sur des plats de Pétri contenant le milieu Dichloran Rose Bengal Chloramphénicol Agar (Becton Dickinson, Oakville, ON) ont été exposées dans un appareil générateur d'ions et d'ozone à 10^6 ions/cm³ d'air et aux concentrations d'ozone de 0,05; 0,1; 0,5 et 1 ppm pendant 12, 24 et 36 h à une humidité relative de $58 \pm 5,8$ % et une température de $23 \pm 0,5$ °C. Chaque traitement a été associé à un témoin placé dans un environnement sans ozone/ions. Après exposition, les plats de Pétri ont été incubés à 23°C pendant 72 h. Après incubation des plats de Pétri, le nombre de colonies de moisissures a été compté (compris entre 10 et 150) et ramené à la suspension mère en multipliant le nombre de UFC compté par le facteur de dilution. Les traitements ont été répétés trois fois.

Expériences *in vivo*

Matériel fruit

Les fraises (*Seascape*) utilisées pour ces expériences provenaient des commerces locaux de Sainte-Foy (Québec). Des fruits de taille uniforme, sans lésion et infection ont été sélectionnés.

Préparation de l'inoculum et procédure d'inoculation

Rhizopus stolonifer et *Botrytis cinerea* ont été inoculés (10 % vol:vol) et cultivés dans du milieu liquide Potato Dextrose Broth pendant 72 h à 23°C sous agitation. Pour la procédure d'inoculation, pour chaque traitement, 20 fruits ont été choisis et lavés trois fois à l'eau distillée stérile et leur surface a été stérilisée par une solution d'hypochlorite de sodium à 4 % (vol:vol) puis rincée trois fois à l'eau distillée stérile. Les lésions sur les fraises ont été réalisées à l'aide d'un scalpel stérile sur une longueur de 15 mm et une profondeur de 3 mm. Les lésions de chaque fruit ont été inoculées par une suspension contenant approximativement 10^7 UFC mL⁻¹ de spores de *R. stolonifer*

ou de *B. cinerea*. Pour ce faire, les fraises ont été immergées de façon stérile dans 20 mL de la suspension de spores de moisissures.

Traitements ozone - ionisation

Les fruits inoculés ont été introduits dans des contenants de plastique aérés. Un groupe de fruits inoculés a été exposé à 10^6 ions/cm³ d'air et à des concentrations d'ozone de 0,05; 0,1; 0,5 ou 1 ppm pour 12, 24, 48 et 72 h à une humidité relative de $58,0 \pm 5,8$ % et une température de $23 \pm 0,4$ °C. Un second groupe témoin de fruits inoculés a été placé dans un environnement sans ozone/ions.

Analyses microbiologiques

Des échantillons de fraises inoculées traitées et non traitées ont été homogénéisés (Stomacher Lab-Blender 400, Seward Laboratory, London, England), dilués en série dans l'eau saline stérile, inoculés dans des plats de Pétri (en double) contenant le milieu Dichloran Rose Bengal Chloramphénicol Agar et incubés à 23°C pendant 72 h.

Traitement statistique

Les données des expérimentations *in vitro* et *in vivo* ont été évaluées par une analyse de la variance (ANOVA) et le test Least Significant Difference (LSD) ($P = 0,05$) à l'aide du logiciel Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. 1982).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Effet des traitements ozone/ionisation sur la destruction de *R. stolonifer* et de *B. cinerea*

Les différents traitements ozone/ionisation ont eu un effet sur la survie de *R. stolonifer* et de *B. cinerea*. L'analyse de la variance de la survie de *R. stolonifer* et *B. cinerea* après traitement à différentes concentrations d'ozone et temps d'exposition a montré un effet hautement significatif ($P < 0,01$) de ces deux facteurs sur la réduction des populations de ces moisissures.

À partir d'une concentration initiale moyenne de *R. stolonifer* de $3,8 \times 10^7$ cellules mL⁻¹, le nombre de moisissures a été respectivement de $1,8 \times 10^7$ à $1,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ après 12 à 36 h d'exposition à 0,05 ppm d'ozone (Fig. 1). À 0,1 ppm d'ozone, pour une concentration initiale moyenne de $6,1 \times 10^7$ cellules mL⁻¹, nous avons observé une concentration finale entre $4,7 \times 10^7$ et $1,9 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ de cellules pour les mêmes durées de traitement (Fig. 1). Pour les concentrations de 0,5 et 1 ppm d'ozone, les populations moyennes initiales de *R. stolonifer* de l'ordre $4,9 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ ont été réduites à moins d'un log après 12, 24 et 36 h de traitement (Fig. 1).

Initialement de $3,7 \times 10^7$ et $4,8 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ pour les traitements à des concentrations d'ozone de 0,05 et 0,1 ppm, après 12 et 36 h de traitement, les populations de moisissures de *B. cinerea* ont été estimées entre $2,6 \times 10^7$ et $1,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ à 0,05 ppm d'ozone et entre $3,1 \times 10^7$ et $1,1 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ pour 0,1 ppm d'ozone émis (Fig. 2).

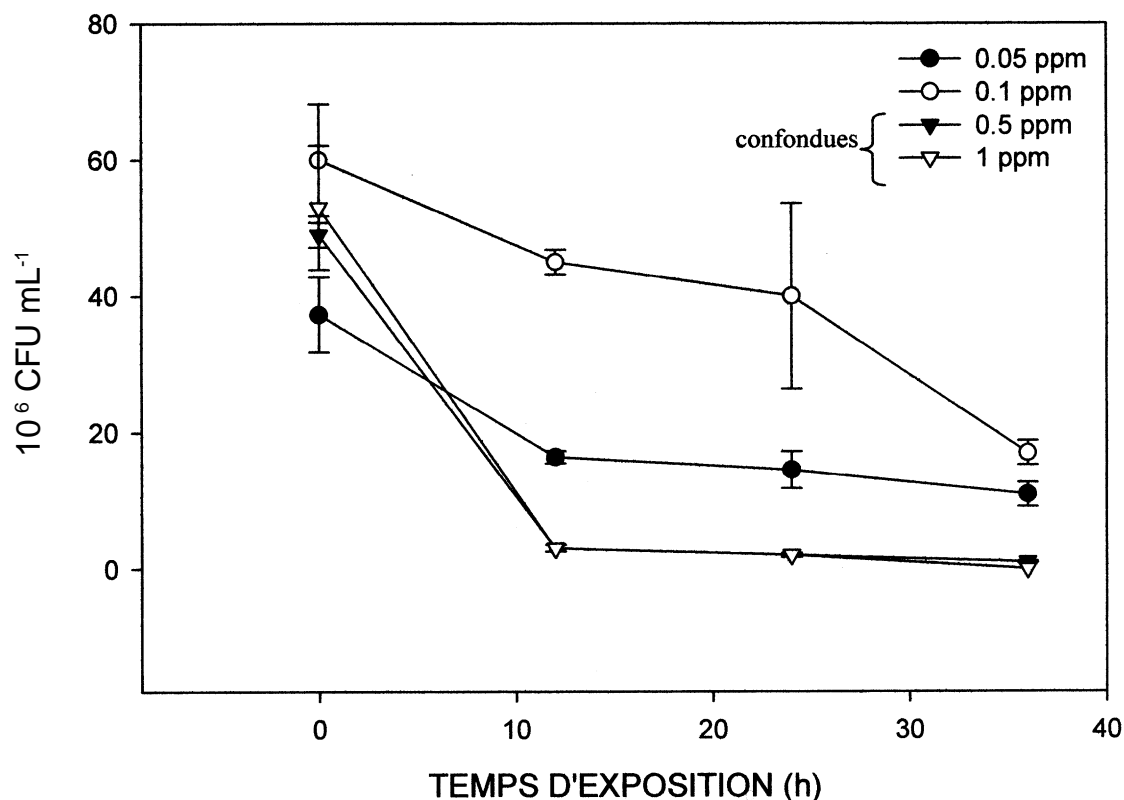


Figure 1. Survie de *Rhizopus stolonifer* après 12, 24 et 36 h de traitement ozone/ionisation (0,05; 0,5 et 1 ppm d'ozone).

À 0,5 ppm d'ozone, la concentration initiale de *B. cinerea* qui était de $4,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ a été presque entièrement détruite (Fig. 2). À 1 ppm d'ozone, la même tendance a été observée (Fig. 2).

Évolution du taux de destruction de *R. stolonifer* et *B. cinerea* en fonction de la concentration d'ozone et du temps

L'utilisation des concentrations d'ozone élevées a pour effet d'augmenter la destruction des deux souches de moisissures étudiées et, par conséquent, de diminuer leur survie. Les mortalités obtenues pour *R. stolonifer* et *B. cinerea* aux concentrations d'ozone de 0,05 et 0,1 ppm ont révélé des différences significatives à $P=0,05$. Ces concentrations étaient aussi différentes significativement des concentrations 0,5 et 1 ppm, alors que ces deux dernières présentaient des résultats fort semblables (Figs. 1 et 2).

L'évolution du taux de destruction en fonction des concentrations d'ozone et des temps de traitement montre un effet progressif sur la destruction de *R. stolonifer* et de *B. cinerea* à 0,05 et à 0,1 ppm et un effet fongicide rapide à 0,5 et à 1 ppm d'ozone (Figs. 1 et 2).

Les résultats ont montré que l'ozone et les ions ont une activité fongicide efficace sur les deux souches de moisissures étudiées. Cette étude a démontré que de faibles concentrations d'ozone (0,05; 0,1; 0,5 et 1 ppm) et 10^6 ions/cm³ d'air peuvent détruire *R. stolonifer* et *B. cinerea*.

Les concentrations d'ozone les plus élevées (0,5 et 1 ppm) utilisées ont permis d'atteindre un taux de destruction de 99 % pour *R. stolonifer* et *B. cinerea* après 36 h de traitement (Figs. 1 et 2). Les concentrations d'ozone de 0,05 et 0,1 ppm, considérées comme faibles par l'Administration Américaine de la Santé et la Sécurité Professionnelle (US-OSHA 1984), ont permis une destruction respective de 63 et 69 % pour *R. stolonifer*, et de 62 et 77 % pour *B. cinerea* (Figs. 1 et 2).

Effet des traitements ozone/ions sur le développement de *R. stolonifer* et *B. cinerea* dans les fraises

L'effet de l'ozone et des ions sur le contrôle de la croissance de *R. stolonifer* et *B. cinerea* sur les fraises a été évalué. L'analyse de la variance a révélé un effet inhibiteur hautement significatif sur le développement de la moisissure chevelue et de la pourriture grise causées respectivement par *R. stolonifer* et *B. cinerea*.

Par rapport aux fruits témoins non inoculés, après 72 h d'exposition, chez les fraises exposées à 0,05 et 0,1 ppm d'ozone, les concentrations cellulaires de *R. stolonifer* ont été inférieures de 67 à 68 % respectivement. Après une exposition à 0,5 et 1 ppm d'ozone, les concentrations de *R. stolonifer* ont été inférieures de 85 % comparativement aux témoins (Fig. 3), et aucune différence significative n'a été observée entre 0,5 et 1 ppm d'ozone.

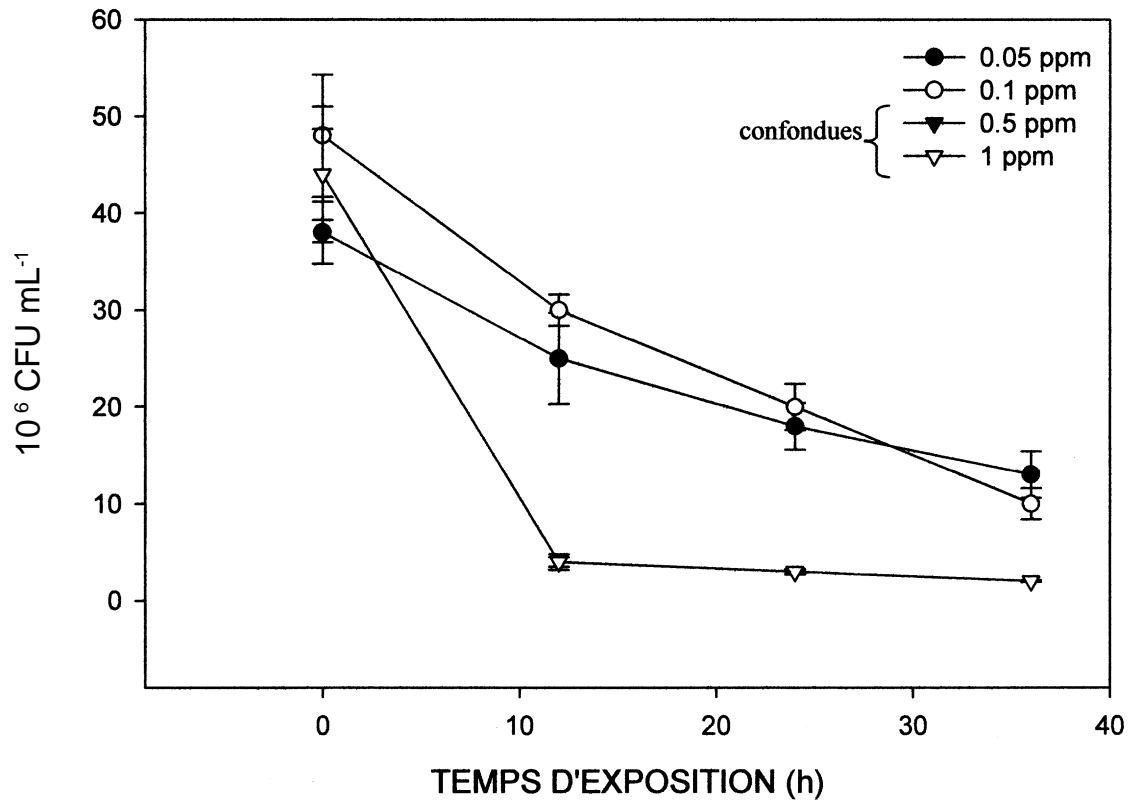


Figure 2. Survie de *Botrytis cinerea* après 12, 24 et 36 h de traitement ozone/ionisation (0,05; 0,5 et 1 ppm d'ozone).

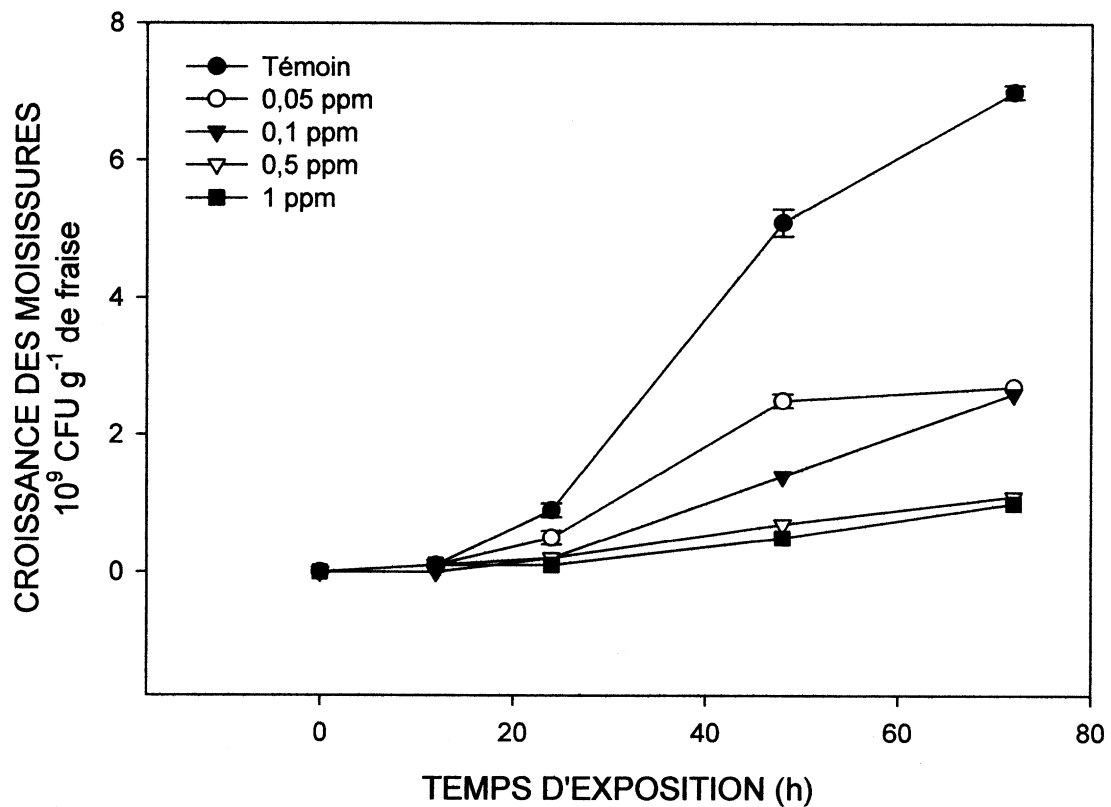


Figure 3. Effet des concentrations 0,05, 0,1, 0,5 et 1 ppm d'ozone sur la croissance de *Rhizopus stolonifer* inoculé dans les fraises.

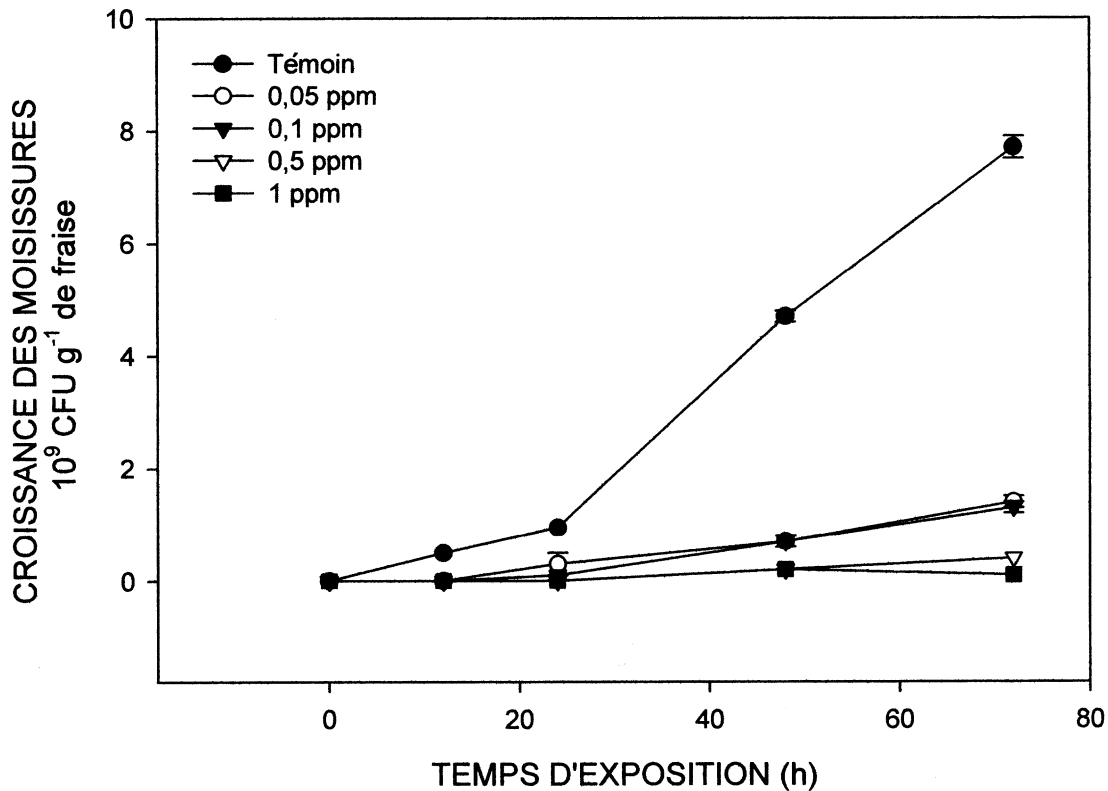


Figure 4. Effet des concentrations 0,05, 0,1, 0,5 et 1 ppm d'ozone sur la croissance de *Botrytis cinerea* inoculé dans les fraises.

Le développement de *B. cinerea* dans les fraises inoculées a été réduit de façon significative après exposition à des concentrations d'ozone de 0,05 à 0,1 ppm, le nombre de UFC g⁻¹ étant inférieur au témoin d'environ 85 % (Fig. 4). Les traitements à 0,5 et 1 ppm d'ozone se sont révélés être les plus efficaces sur l'inhibition de la croissance de *B. cinerea* avec une réduction de plus de 90 %. Cette différence d'efficacité entre le traitement sur gélose et les fraises pour les concentrations d'ozone de 0,5 et 1 ppm est probablement due au fait que l'ozone a de la difficulté à pénétrer à l'intérieur des lésions des fraises et que le traitement est beaucoup plus efficace à la surface des fraises (Palou *et al.* 2002). Ce facteur pourrait aussi expliquer l'échec d'autres puissants oxydants tels que le chlore et le dioxyde de chlore à contrôler les infections fongiques à l'intérieur des lésions des fruits et légumes (Adascaveg 1995; Spotts and Peter 1980). Il serait important de signaler que le traitement à 1 ppm a provoqué un léger dessèchement à la surface de la fraise après 72 h. Cependant, d'autres travaux sont nécessaires afin de valider cette observation.

Dans cette étude, les moisissures inoculées sur gélose ont été directement exposées à l'action fongicide de l'ozone et des ions, ce qui n'a pas permis de tuer toutes les spores ou d'affecter leur germination de façon défavorable. Ceci est en accord avec la conclusion des travaux de Palou *et al.* (2001) selon laquelle les spores des moisissures ne sont pas toutes localisées directement à la surface de la gélose mais aussi à l'intérieur des microcavités de surface, ce qui ne permet pas de réaliser un contact direct de l'ozone

avec toutes les spores. Mais les films d'humidité entourant les spores sur la gélose rendent l'ozone plus toxique (Hibben et Stotzky 1969) parce que l'ozone possède une très grande réactivité dans l'eau. Elford et Van den Ende (1942) ont démontré que l'ozone, à une concentration aussi faible que 5×10^{-2} ppb, possède une action germicide sur certains microorganismes pathogènes à une humidité relative entre 60 et 80 %. Cependant, le contrôle de la croissance des moisissures sur les fraises n'a pas été aussi efficace que lors des expériences sur gélose. La faible pénétration de l'ozone et des ions expliquerait une efficacité inférieure à l'égard des moisissures à l'intérieur des lésions.

L'incapacité de l'ozone à contrôler les moisissures phytopathogènes à l'intérieur des lésions ou sous les surfaces des fruits (infections des champs) a été observée sur les raisins (Shimuzu *et al.* 1982), les pommes (Schomer and McColloch 1948), les citrons (Smilanick *et al.* 1999), les poires (Spotts and Cervantes 1992) et les tomates (Ogawa *et al.* 1990). Malgré l'incapacité de l'ozone à réduire la charge de moisissures dans les lésions profondes, dans nos tests, l'ozone sous forme de gaz a permis une réduction significative des populations de moisissures et a largement diminué la germination des spores sur les fraises traitées aux concentrations d'ozone utilisées. L'ozone et les ions pourraient également diminuer la charge des agents pathogènes et leurs spores présentes dans l'air des entrepôts, une telle réduction ayant été auparavant rapportée (Schomer and McColloch 1948; Song *et al.* 2000)

Cette étude a démontré le potentiel de l'ozone gazeux et des ions comme moyen de conservation de fruits qui sont sensibles aux infections causées par *B. cinerea* et *R. stolonifer*. La première étape de cette recherche qui a consisté à exposer les deux souches de moisissures étalées sur de la gélose à 10^6 ions/cm³ d'air et différentes concentrations d'ozone a démontré une action fongicide de l'ozone et des ions sur les microorganismes testés. L'application de la technologie ozone/ions sur des fraises inoculées par les deux moisissures dans des lésions des fruits a révélé une action inhibitrice significative sur le développement des moisissures testées.

Cette étude réalisée à l'échelle pilote ouvre de nouvelles perspectives pour l'industrie du transport et de l'entreposage des denrées périssables soucieuse d'améliorer la durée de conservation et la qualité des produits. L'application de la technologie en entrepôt, dans des conditions réelles, est nécessaire afin de vérifier la réduction de la charge microbienne de l'air et d'évaluer l'action inhibitrice de l'ozone et des ions sur le développement de *R. stolonifer* et *B. cinerea* dans les conditions d'entrepôt.

REFERENCES

- Adascaveg, J.E. 1995. Postharvest sanitation to reduce decay of perishable commodities. *Perishable Handling Newslett.* 82 : 21-25.
- Broadwater, W.T., R.C. Hoehn et P.H. King. 1973. Sensitivity of three selected bacterial species to ozone. *Appl. Microbiol.* 48 : 391-393.
- Elford, W.J. et J. Van den Ende. 1942. An investigation of the merits of ozone as an aerial disinfectant. *J. Hyg.* 42 : 496-503.
- Ferreira, M.D., J.A. Bartz, S.A. Sargent et J.K. Brecht. 1996. Assessment of the decay hazard associated with hydro-cooling strawberries. *Plant Dis.* 80 : 1117-1122.
- Foegeding, P.M. 1985. Ozone inactivation of bacillus and clostridium spore populations and the importance of the spore coat to resistance. *Food Microbiol.* 2 : 123-134.
- Greene, A.K., B.K. Few et J.C. Serafini. 1993. A comparison of ozonation and chlorination for the disinfection of stainless steel surfaces. *J. Dairy Sci.* 76 : 3617-3620.
- Harding, P.R. Jr. 1968. Effect of ozone on *Penicillium* mold decay and sporulation. *Plant. Dis. Rep.* 52 : 245-247.
- Hibben, C.R. et G. Stotzky. 1969. Effect of ozone on the germination of fungus spores. *Can. J. Microbiol.* 15 : 1187-1196.
- Hoigné, G. et H. Bader. 1976. The role of hydroxyl radical reaction in ozonation processes in aqueous solutions. *Water Res.* 10 : 377-386.
- Ishizaki, K., N. Shirinki et T. Ueda. 1984. Degradation of nucleic acids with ozone. V. Mechanism of action of ozone on desoxyribonucleoside 5'-monophosphate. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 32 : 3601-3606.
- Ishizaki, K., N. Shirinki et H. Matsuyama. 1986. Inactivation of bacillus spores by gaseous ozone. *J. App. Bact.* 60 : 67-72.
- Jin, L., W. Xiaoyu, Y. Honglin, W. Jiaxun et L. Yaguang. 1989. Influence of discharge products on post-harvest physiology of fruits. *Proc. 6th Int. Symp. High Voltage Eng.* 28 August-1 September 1989, New Orleans, LA, p. 4.
- Marvin, V., G. Moretti et M. Rassa. 1989. Effect of ionization of the air on some bacterial strains. *Ann. Ing.* 1 : 1491-1500.
- Menzel, D.B. 1971. Oxidation of biologically active reducing substances by ozone. *Arch. Environ. Health* 23 : 149-153.
- Mudd, J.B., H.R. Leavi, A. Ongun et T.T. McManus. 1969. Reaction of ozone with amino acids and proteins. *Atmos. Environ.* 3 : 669-682.
- Ogawa, J.M., A.J. Feliciano et B.T. Manji. 1990. Evaluation of ozone as a disinfectant in postharvest dump tank treatment for tomato. *Phytopathology* 80 : 1020-1024.
- Palou, L., J.L. Smilanick, C.H. Crisosto et M. Mansour. 2001. Effect of gaseous ozone effect exposure on the development of green and blue molds on cold stored citrus fruits. *Plant Dis.* 85 : 632-638.
- Palou, L., C.H. Crisosto, J.L. Smilanick, J.E. Adaskaveg et J.P. Zoffodi. 2002. Effect of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and tables grapes in cold storage. *Postharvest Biol. Tech.* 24 : 39-48.
- Rice, R.G., C.M. Robson, G.W. Miller et A.G. Hill. 1981. Uses of ozone in drinking water treatment. *J. Am. Water Works Assoc.* 73 : 44-57.
- Rice, R.G., W. Farquhar et L.J. Bollyki. 1982. Review of the application of ozone for increasing storage time for perishable foods. *Ozone Sci. Eng.* 4 : 147-163.
- Roy, D., P.K.Y. Wong, R.S. Engelbrecht et E.S.K. Chan. 1981. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone. *Appl. Environ. Microbiol.* 40 : 718-723.
- Russel, A.D. 1982. The destruction of bacterial spores. Pages 1-29 and 232-258. Academic Press, London.
- SAS Institute Inc. 1982. SAS user's guide: Statistics. Cary, NC. 584 pp.
- Schomer, H.A. et L.P. McColloch. 1948. Ozone in relation to storage of apples. U.S.D.A., Circular No. 765. 24 pp.
- Shimusu, Y., J. Makinott, J. Sato et S. Iwamoto. 1982. Preventing rot of Kyoho grapes in cold storage with ozone. *Res. Bull. Aichi Agric. Res. Cent.* 14 : 225-238.
- Shirinki, N., K. Ishizaki, K. Miura, T. Ueda et F. Harada. 1983. Degradation of nucleic acids with ozone. III. Mode of ozone degradation of mouse proline transfer ribonucleic acid (tRNA) and isoleucine tRNA. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 31 : 3601-3608.
- Smilanick, J.L., C.H. Crisosto et F. Mlikota. 1999. Postharvest use of ozone on fresh fruits. *Perishables Handling Q.* 99 : 10-14.
- Song, J., L. Fan, P.D. Hildebrand et C.F. Forney. 2000. Biological effects of Corona discharge on onions in a commercial storage facility. *Hortic. Technol.* 10 : 608-612.
- Spotts, R.A. et L.A. Cervantes. 1992. Effect of ozonated water on postharvest pathogens of pears in laboratory and packinghouse tests. *Plant Dis.* 76 : 256-259.
- Spotts, R.A. et B.B. Peters. 1980. Chlorine and chlorine dioxide for control of d'Anjou pear decay. *Plant Dis.* 64 : 1095-1097.
- Tanimura, Y.N., K.O. Nakatsugawa et J.J. Hirotsu. 1997. Inhibition of microbial growth using negative air ions. *J. Antibact. Antifung. Agents* 25 : 625-631.
- U.S. Food and Drug Administration. 1997. Substances generally recognized as safe, proposed rule. *Federal Register* 62 (74) : 18937-18964.
- U.S. Occupational Safety and Health Administration. 1984. Ozone (KIBRT) in Workplace Atmospheres (USDOL/OSHA-SLCAL Method No. ID-150). Salt Lake City, UT.
- Venosa, A.D., 1983. Current state of the art of waste water disinfection. *J. Water Pollut. Control Fed.* 55 : 457-466.
- White, G.C. 1992. Ozone. Pages 1046-1110 in *Handbook of chlorination and alternative disinfectant*. Third Edition. Van Nostrand Reinhold, New York.