

## Sommaire

<i>Introduction générale</i> .....	3
<i>Revue bibliographique</i> .....	5
I. Généralités sur les agrumes .....	6
1. <i>L'origine des agrumes</i> .....	6
2. <i>Description des plantes et fruits d'agrumes</i> .....	6
3. <i>La taxonomie des agrumes</i> .....	7
4. <i>L'écologie des agrumes</i> .....	9
5. <i>La production mondiale et marocaine des agrumes</i> .....	10
II. La flore d'altération des agrumes .....	11
1. <i>Penicillium digitatum</i> .....	11
1.1. Définition et systématique .....	11
1.2. Les Symptômes de développement du champignon.....	12
<b>1.3. Cycle biologique et épidémiologie</b> .....	13
2. <i>Penicillium italicum</i> .....	13
2.1 Description du champignon.....	13
2.2. Les Symptômes de développement du champignon.....	13
III. Les mécanismes de lutte contre <i>Penicillium</i> .....	14
IV. Les mécanismes de défenses des végétaux .....	15
1. <i>Les mécanismes de défense des plantes</i> .....	15
2. <i>Les mécanismes de défense des agrumes</i> .....	17
V. Les analyses de qualité des agrumes .....	18
1. <i>La fermeté</i> .....	19
2. <i>La couleur</i> .....	20
3. <i>La teneur en sucres</i> .....	21
4. <i>L'acidité</i> .....	22
5. <i>Le rapport sucres/acidité ou coefficient de maturité (E/A)</i> .....	23
<i>La partie expérimentale</i> .....	24
I. Matériel .....	25
1- Matériel végétale .....	25
2- Les souches fongiques utilisées.....	25
II. Méthodes d'analyses .....	27
<b>1. L'étude de l'aptitude de conservation</b> .....	27
1.1. Préparation des fruits.....	27

1.2.	Préparation de la suspension conidiale.....	27
1.3.	Blessure des fruits et inoculation de l'agent pathogène.....	28
<b>2.</b>	<b>Les analyses de qualité</b> .....	<b>29</b>
2.1	Détermination de la coloration des fruits .....	29
2.2.	Mesure de fermeté .....	29
2.3.	Détermination de la teneur en jus .....	30
2.4.	Détermination de la teneur en sucre ou MSST .....	31
2.5.	Détermination de l'acidité .....	31
2.6.	La détermination de l'épaisseur de l'écorce .....	33
3.	L'effet de traitement curatif et préventif avec ACUADEX C sur <i>P. digitatum</i> et <i>P. italicum</i> .....	34
1.	Préparation des suspensions conidiales .....	34
2.	La détermination des CMI.....	34
3.	Le dosage in vivo (sur fruits).....	35
3.1.	<b>Traitement curatif</b> .....	35
3.2.	<b>Traitement préventif</b> .....	35
4.	Analyse statistique.....	36
	<i>Résultats et discussion</i> .....	37
I.	L'étude de l'aptitude de conservation .....	38
1.	<b>Détermination des surfaces de nécrose des fruits inoculés par <i>P. digitatum</i></b> .....	38
2.	<b>Les surfaces de nécrose des fruits inoculés par <i>P. italicum</i></b> .....	39
II.	Les analyses de qualité .....	40
1.	<b>La teneur en jus</b> .....	40
2.	<b>La teneur en sucre</b> .....	42
3.	<b>L'acidité et le coefficient de maturité</b> .....	43
4.	<b>La fermeté, l'indice de coloration et l'épaisseur de l'écorce</b> .....	44
III.	L'effet de traitement curatif et préventif avec ACUADEX C sur <i>P. digitatum</i> et <i>P. italicum</i> .....	44
1.	La détermination des CMI.....	44
2.	Dosage in vivo.....	45
a.	<i>Penicillium digitatum</i> .....	45
	Figure27 : L'aspect des lésions sur les fruits traités par ACUADEX après 7jours d'incubation.....	46
b.	<i>Penicillium italicum</i> .....	47
	<i>Conclusion générale</i> .....	48
	<i>Perspectives</i> .....	49
	<i>Références bibliographiques</i> .....	50

## *Introduction générale*

L'agrumiculture est classée parmi les principales cultures fruitières dans le monde entier et l'une des secteurs les plus importants de l'économie nationale. Cette importance est attribuée à la richesse des fruits d'agrumes en vitamine C (40 et 80 mg/ 100 g), en calcium (entre 20 et 40 mg/ 100g), en fibres alimentaires, à leurs teneur en composés phytochimiques comme les polyphénols et les terpènes et aussi à leurs effets anti-inflammatoire et anti oxydant (Gorinstein et al., 2001), sans oublier leur important apport énergétique (32 à 45 kcal/100g). L'ensemble de ces critères confèrent aux agrumes une odeur, un goût et une saveur caractéristique qui leur permet d'exercer un pouvoir attractif sur les consommateurs et donc sur le marché du commerce mondiale.

Cependant cette richesse en élément nutritifs n'attire pas seulement les consommateurs, mais aussi un ensemble de microorganismes dont les champignons pathogènes (Eckert and Ogawa, 1985; Tripathi and Dubey, 2004). Au Maroc, comme dans la majorité des pays du globe, les pertes au cours de la récolte, du transport, du stockage et de la commercialisation des fruits ont dépassées les 50% (Eckert and Ogawa, 1985; Wisniewski and Wilson, 1992). Généralement les maladies des agrumes sont dues à des infections initiées soient avant la récolte (*Alternaria citri*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*) ou après la récolte des fruits (*Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus stolonifer*) (Sommer, 1982; Eckert and Brown, 1986; Holmes et al., 1994). En effet, plus de 90% des pertes d'origine fongique, en post-récolte, sont causés par *Penicillium digitatum* et *P. italicum* (Boubaker, 1993; Holmes et al., 1994).

La pourriture verte et la pourriture bleue, causées respectivement par *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*, sont donc des plus redoutables maladies d'agrumes en post-récolte. Elles atteignent tous les différents groupes d'agrumes; Orangers, mandariniers, clémentiniers, citronniers et pamplemoussiers et leurs variétés à différents degrés d'importance (Boubaker, 1993). Ces deux champignons sont des parasites de blessure qui pénètrent dans les fruits par les blessures profondes qui peuvent se produire pendant la récolte par les insectes, le conditionnement ou lors du transport (Brown, 1979; Palou et al., 2008). Ils détruisent le fruit en sécrétant des enzymes qui transforment le fruit en une masse molle ce qui favorise la propagation de la maladie par contact entre fruit sain et fruit infecté.

Le développement des champignons et la dégradation du fruit dépend de plusieurs facteurs tels que la présence de blessures, le stade de maturité des fruits et les conditions de température et d'humidité relative optimale (Brown, 1979; Baudoin and Eckert, 1985; Eckert and Brown, 1988; Cohen et al., 1991; Suprapta et al., 1995).

En effet l'utilisation de fongicides (Imazalil, Thiabendazole) pour traiter chimiquement ces maladies présente de nombreux inconvénients, dont la persistance des résidus sur les fruits traités, leurs effets toxiques sur l'environnement et la santé des consommateurs (Zhang and Swingle, 2003; Tripathi and Dubey, 2004; Palou et al., 2008). De ce fait est né la nécessité de mettre en œuvre de nouvelles alternatives pour lutter contre ces champignons. Au cours des deux dernières décennies, de nombreuses stratégies de lutte biologique utilisant des antagonistes microbiens et des substances naturelles, d'origine végétale ou animale ont vu le jour. Pour cela plusieurs travaux recherchant des microorganismes antagonistes des champignons pathogènes des agrumes en post-récolte ont été réalisés (Eckert and Ogawa, 1988; Wisniewski and Wilson, 1992 ;Arras et al., 1998; Bull et al., 1998; Droby et al., 2002; Mercier and Smilanick, 2005; Cañamás et al., 2008; Taqarort et al., 2008). Cependant seuls quelques uns de ces antagonistes sont utilisés à l'échelle commerciale (Droby et al., 1998; Palou et al., 2008).

La plupart des travaux de recherches étudiant les maladies de post-récolte des agrumes à *Penicillium* spp ont été réalisées sur une ou deux variétés d'agrumes. En effet, très peu de travaux ont été réalisés sur plusieurs variétés. L'objectif de ce travail est de caractériser la sensibilité d'un ensemble de variétés d'agrumes aux pourritures en post-récolte, en déterminant les principaux paramètres impliqués dans cette sensibilité et de tester l'effet d'un produit désinfectant à base du chlore sur les spores de *P. digitatum* et *P. italicum*. Pour atteindre cet objectif les points suivants ont été traités :

- 1) Etude de l'aptitude de conservation et mesure de la surface de nécrose de 36 variétés d'agrumes récoltés à partir du domaine expérimental EL MANZAH à Kenitra.
- 2) Analyse de qualité des 36 variétés récoltées, en mesurant un ensemble de paramètres ; la coloration, la fermeté, le poids des fruits, la teneur en sucre, le pourcentage de jus, l'acidité, l'épaisseur de l'écorce et le coefficient de maturité.
- 3) Etude de l'activité antifongique d'un produit désinfectant, in vitro et in vivo par un traitement curatif et un traitement préventif.

# *Revue bibliographique*

# I. Généralités sur les agrumes

## 1. *L'origine des agrumes*

Les agrumes ou aujourd'hui « Hespérides » dans la mythologie grecque (Bailey et al, 2006) ou encore « acrumen » selon les origines latin, sont des arbres et des arbustes originaires du sud-est asiatique (Ollitrault et al, 1997), cependant les données historiques misent en faveur l'existence de trois origines diversifiés (Scora, 1988) dont;

- Le Nord-Est de l'Inde, les régions proches de la Birmanie et de la Chine, caractérisé par l'apparition de *C. medica*, de *C. aurantifolia*, *C. limon*, *C. aurantium* et *C. sinensis*
- La Malaisie et l'Indonésie sont citées comme centre d'origine de *C. grandis*,
- Le Vietnam, le Sud de la Chine et le Japon comme la zone de diversification de *C. reticulata* (Anonyme, 1998).

Depuis 3000 ans, ils ont été cultivés en caisses dans les orangeries des châteaux comme étant des plantes ornementales, dont la beauté du feuillage s'ajoute à celle des fleurs et des fruits. Mais actuellement ils sont cultivés dans le monde entier sous les climats de type méditerranéen, pour l'utilisation principalement alimentaire de leurs fruits caractérisé par leurs excellentes qualités organoleptiques, nutritionnelle et leurs avantages pour la santé humaine.

## 2. *Description des plantes et fruits d'agrumes*

Les plantes d'agrumes sont des arbres épineux, de petite taille (2 à 10 m), à port arrondi, à feuilles persistantes, elles donnent des fruits globuleux prenant l'aspect d'une sphère, revêtus d'une écorce épaisse, dont la partie externe nommée épicarpe ou **flavedo**, est colorée en jaune, orange ou rougeâtre sous l'action des flavonoïdes. La partie interne est blanche, spongieuse appelé mésocarpe ou **albedo** (figure 1). A l'intérieur, les fruits sont constitués de cinq à douze loges ou "tranches", pleines d'une sorte de pulpe colorée, plus ou moins remplie d'eau. On y trouve aussi des graines ; les "pépins" sauf dans les variétés améliorées.

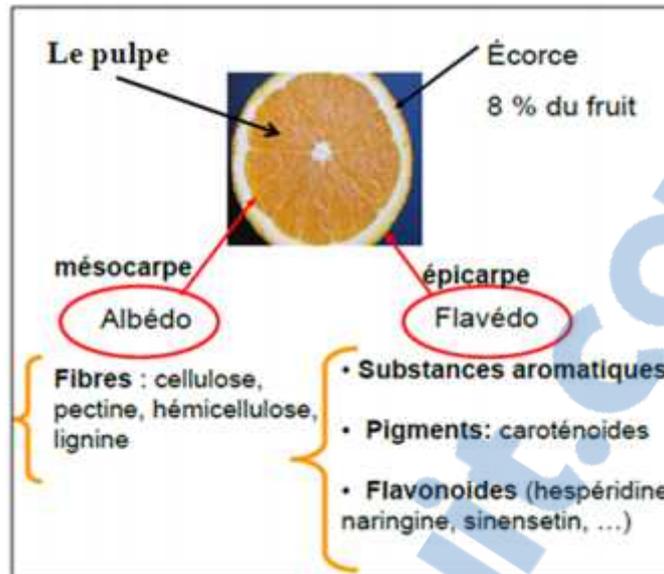


Figure 1: les principaux constituants des fruits d'agrumes

### 3. La taxonomie des agrumes

Les agrumes appartiennent à la famille des *Rutacées*, à la sous famille *Aurantoideae*, au Tribu *Citreae* et au Sous-tribu *Citrinae* (Anonyme 2001a). Ils sont répartis en trois genres : *Fortunella*, *Poncirus* et *Citrus* (Rocca Serra & Ollitrault, 1992 ; Spiegel-Roy & Goldschmidt, 1996; Anonyme 1998).

Le genre *Citrus* renferme la plupart des agrumes qui sont caractérisées par la présence, dans les feuilles, fleurs, tiges et péricarpes des fruits, de poches contenant de l'essence aromatique. Selon que les auteurs ont pris en compte les hybrides ou non, deux classifications du genre prévalent. Celle de Tanaka (1961) identifiant 156 espèces, tandis que celle de Swingle et Reece (1967) n'en distingue que 16 espèces, dont huit seulement qui sont cultivées (tableau 1), et qui sont eux même réparties en trois catégories, en fonction des similarités génétiques (Luro et al, 2001).

La majorité de ces groupes renferment un grand nombre de variétés avec des caractéristiques diversifiées qui ont été modifié ou amélioré au cours du temps.

Tableau1. Les principales huit espèces cultivées selon Swingle et Reece (1967)

Espèces	Nomenclature scientifique
<i>Citrus sinensis</i>	L'oranger
<i>Citrus aurantium</i>	Le bigaradier
<i>Citrus paradisi</i>	Le pomélo
<i>Citrus maxima</i>	Le pamplemoussier
<i>Citrus reticulata</i>	Le mandarinier
<i>Citrus medica</i>	Le cédratier
<i>Citrus limon</i>	Le citronnier
<i>Citrus aurantifolia</i>	le limettier

**L'oranger**, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, est un hybride naturel, issu du croisement entre le mandarinier (*Citrus reticulata*) et le pomelo (*Citrus maxima*) (Green *et al.*, 1986 et Nicolosi *et al.*, 2000). Les variétés d'oranges sont nombreuses, elles sont traditionnellement classées en quatre groupes (Saunt, 1990): les oranges « blondes » de couleur orange (*Hamlin, Cadenera, Valencia late.*), les oranges Navels (*Washington, Thomson, Navelina*), les demi-sanguines dont la pulpe et la peau sont partiellement colorés en rouge (*Grosse sanguine, Maltaise*) et les oranges sanguines ou complètement colorées de rouge violacé (*Sanguinelli, Moro*).

**Le pomélo**, *Citrus paradisi*, est l'ancêtre du pamplemousse, il provient d'un croisement ancien entre le citron et le vrai *citrus grandis* d'Asie. La distinction des variétés de pomélo se fait généralement en fonction de la couleur de leur chair; Le "*Marsh seedless*" qui doit son nom du pépiniériste Marsh, possède une chair jaune pâle, juteuse et dépourvue de pépins (figure 2). Le "*Ruby*" (ou "*Ruby red*", "*Red blush*"), obtenu en 1929, au Texas, doit son nom à la teinte rose qui colore sa chair. Le "*Ray ruby*" caractérisé par une peau, plus pigmentée et une pulpe rose vif.

**Le mandarinier**, *Citrus reticulata*, est l'espèce la plus répandue après les oranges. La mandarine traditionnelle a beaucoup de pépins et les consommateurs lui préfèrent les dérivations et les hybridations entre mandarines et oranges (clémentines etc.). Il donne des fruits globuleux souvent aplatis aux deux pôles, avec une peau fine non adhérente, de couleur orange ou rouge et de chair sucrée. De nombreuses variétés se distinguent on cite à titre d'exemple ; *Wilking* (figure 2) issu d'un croisement entre le mandarinier King et le mandarinier Commun.



Figure2 : image représentative de fruit de *Pomélo Marsh* et *mand. Wilking* avec des coupes longitudinale et transversale.

#### 4. L'écologie des agrumes

Les agrumes constituent l'ensemble le plus important d'arbres fruitiers répandus dans la totalité des zones tropicales et subtropicales du globe. Cependant la souplesse d'adaptation aux climats les plus divers de ces nombreuses variétés, fait qu'il est possible de les cultiver dans des régions aussi différentes que les zones équatoriales humides, les zones sahélo-soudaniennes sèches ou les zones subtropicales fraîches.

La culture des agrumes est possible partout, ils préfèrent les climats des zones subtropicales où **la température** moyenne de l'année est supérieure à 13°C et inférieure à 39°C. En terme de besoins **en eau**, 120 mm par mois, soit 1200 à 1500 mm par an, représentent une quantité d'eau au-dessous de laquelle la culture des agrumes nécessite une irrigation (Anonyme, 2006). Les sols doivent être profonds et de préférence légers (sablo-argileux ou argilo-sableux), bien drainés. **Le pH** idéal est situé entre 5,5 et 7,5 (Walali Loudyi et al, 2003 ; Van Ee, 2005). C'est à cet effet que le choix du porte-greffe est un des facteurs essentiels de réussite car il peut conférer à la plante une tolérance à des maladies et à des contraintes abiotiques (salinité, pH, froid, sécheresse, calcaire...). L'optimum **d'altitude** pour un bon développement des agrumes se situe entre 1000 et 1300 m car ces derniers ne doivent pas être trop exposés aux vents. Loussert (1989) signale qu'au-dessous de 800 m, les fruits manquent de saveur, la peau des oranges reste verte, les cloisons deviennent plus épaisses, à l'ensemble de ces conditions s'ajoute la lumière comme facteur ayant une action très remarquable sur la qualité et la coloration des fruits.

## 5. La production mondiale et marocaine des agrumes

Actuellement le nombre des pays producteurs d'agrumes dans le monde augmente progressivement, et l'agrumiculture s'observe presque dans toutes les zones du globe, essentiellement dans les régions méditerranéennes et tropicales où cette production est possible (figure3).

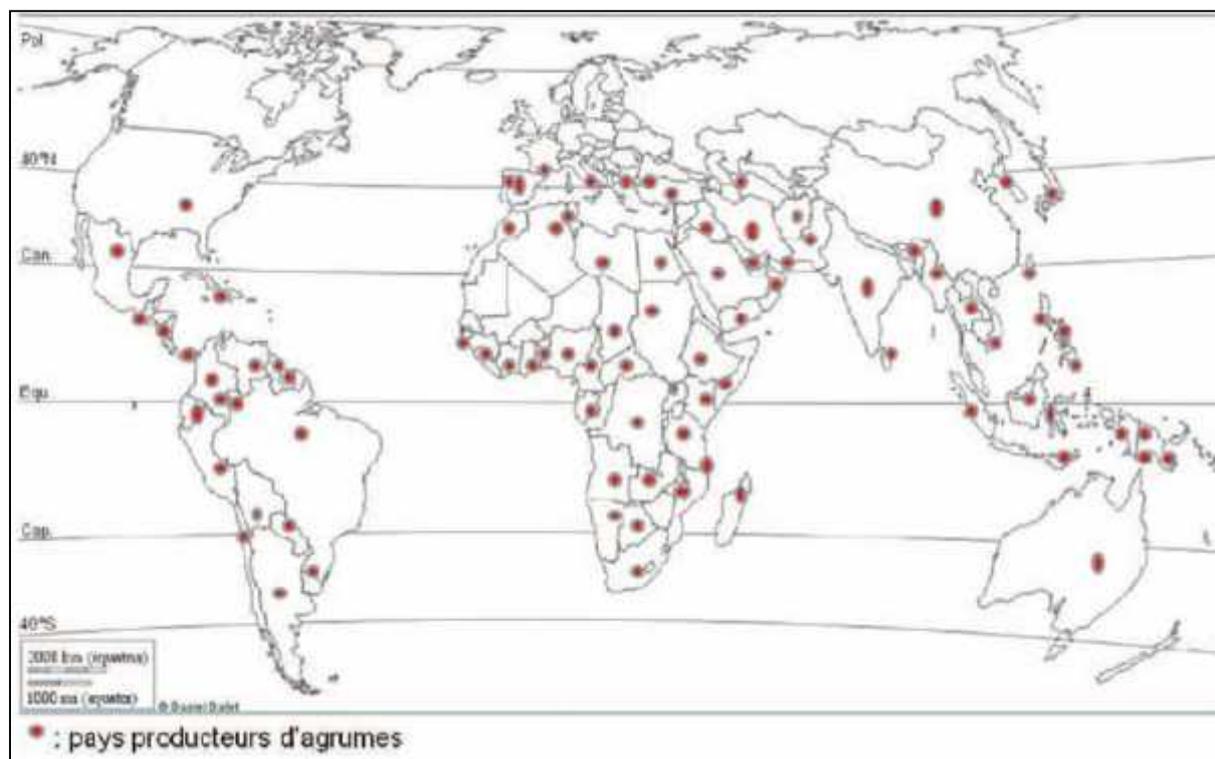


Figure3: les Principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde

En 2012/13, La production mondiale d'agrumes s'élève à 73MT et est constitué pour deux tiers d'oranges. Elle a baissé de 5% du fait principalement de la chute de la production des oranges de 9% (1.7 Millions tonnes) en comparaison avec la campagne précédente, cette situation est le résultat de la diminution de la production d'oranges du Brésil, de l'Union européenne et la Turquie comme étant les principaux producteurs d'agrumes dans le monde (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime 2013).

Le Maroc et grâce à ses conceptions pédoclimatiques favorables, occupe une place non négligeable dans la culture et la production des agrumes, Entre 2007/08 et 2013/14 la superficie des agrumes a augmenté de 37 000 Ha soit une superficie totale actuelle de 118 000 ha dont 92 000 Ha de superficie productive (figure4), de même le rythme de plantation ayant pratiquement doublé à partir de la campagne 2010/11 suite aux nouvelles citations mises en place .(Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime - Direction de la Stratégie et des Statistiques, 2014).

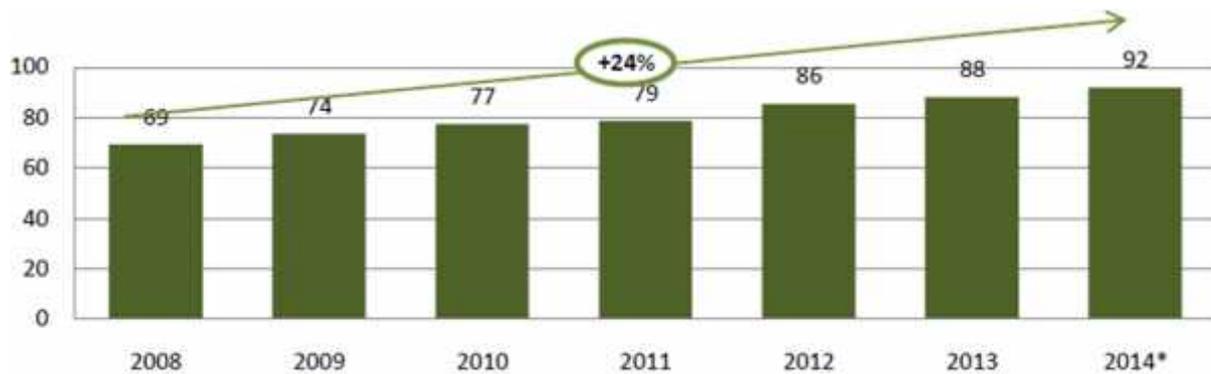


Figure4: l'évolution de superficie productive d'agrumes (Kha) entre 2008-2014

Cependant cette année les agriculteurs marocains ont revu à la baisse leurs objectifs de production. Désormais, ils s'attendent à une récolte tournant autour de 1,9 million de tonnes contre 2,2 millions de tonnes un an auparavant. Aussi que les exportations baissent à 485 000 tonnes en 2015 contre 569 000 tonnes en 2014 (Campagne de production d'agrumes 2014/2015).

## II. La flore d'altération des agrumes

La diversité des variétés d'agrumes et celle des climats des grandes zones de production et de consommation ont pour conséquence d'attirer une égale diversité de pathogènes. En dehors des maladies virales dont les principaux vecteurs sont les insectes, les agrumes font face à plusieurs maladies fongiques tels que : la phaeoramulariose, le scab, la gommose à *Phytophthora*, la pourriture verte à *Penicillium digitatum* et la pourriture bleue à *Penicillium italicum*. Mais ces deux dernières pourritures restent les maladies des agrumes les plus fréquentes en post-récolte dans plusieurs pays agrumicoles (Palou et al., 2002).

### 1. *Penicillium digitatum*

#### 1.1. Définition et systématique

*Penicillium digitatum* est le premier *Penicillium* phytopathogène dont le génome complet a été entièrement séquencé (Marcet-Houben et al., 2012). C'est un champignon qui se trouve partout dans le sol, l'eau, l'air et dans la majorité des surfaces de travail. Il infecte principalement les fruits d'agrumes et leur jus (Domsch et al., 1980). C'est un champignon appartenant à la subdivision des *Deuteryomycetes*, classe des *Hyphomycetes* et à la série des *Phialidospores*. Il se caractérise par un mycélium constitué d'hyphes ramifiés de 3 à 7µm de diamètre inter et intracellulaires (Domsch et al., 1980).

La maladie due à *Penicillium digitatum* est dite « la pourriture verte », en référence à la couleur verte marqué de ces spores qui s'observe que se soit sur les fruits infectés (Figure5), ou sur milieu PDA (Brown et Eckert, 1988).



Figure5 : Clémentine infectée par *Penicillium digitatum* (Taqarort, 2008)

## 1.2. Les Symptômes de développement du champignon

Le cycle de développement de *P. digitatum* est caractérisé par des symptômes similaires à celles de la pourriture bleue causé par *Penicillium italicum*. Le site infecté se tache en surface et devient mou avec un diamètre de 6 à 12 mm. A une température de 25°C et après un jour, le diamètre de la tache augmente à 2 cm. Un mycélium blanc se développe et le diamètre devient alors de l'ordre de 2,5 cm tandis que des spores de couleur vert-olive sont produites (figure6). La zone verdâtre de la pourriture, correspondant à une forte sporulation, entourée d'une large zone composée de mycélium blanc et d'une surface molle de l'extérieur (Brown et Eckert, 1988).

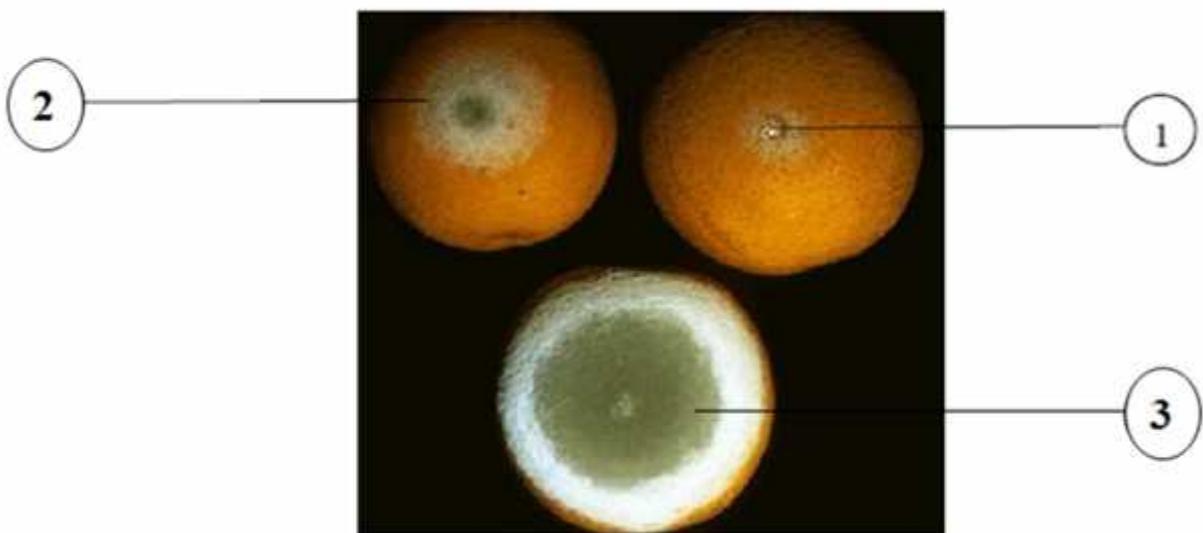


Figure6 : Différents stades de la pourriture verte sur fruits d'agrumes (Taqarort, 2008)

### 1.3. Cycle biologique et épidémiologie

*Penicillium digitatum* se conserve sous forme de spores formées sur les fruits pourris, à la surface du sol des vergers ou dans les stations de conditionnement. Le déplacement de ces spores se fait par des courants d'air ainsi que par les caisses de ramassage contaminées vers les fruits sains. Après un contact direct sur les blessures causées au cours du transport ou avant la récolte par les insectes, les spores pénètrent dans l'albédo et donnent naissance à une irréversible infection dans les 48 heures qui suivent la pénétration (Eckert et Eaks, 1989). Une température de 20 à 25°C et une humidité relative saturée sont des conditions nécessaires pour la croissance du champignon. La croissance est faible lors de l'entreposage à froid (Brown et Eckert, 1988). Le champignon envahit la peau du fruit dans les jours qui suivent, puis la sporulation a lieu aboutissant à la formation d'une masse poudreuse de couleur vert-olive (Eckert, 1982).

## 2. *Penicillium italicum*

### 2.1 Description du champignon

*Penicillium italicum* à son tour, c'est le champignon causant la pourriture bleu des agrumes, dont la classification complète est la même que celle de *Penicillium digitatum*. Les Colonies sur milieu PDA sont planes, sporulant lourd, de couleur bleu ou gris-vert, et apparaissent granulaire en raison de la présence de faisceaux de conidiophores. L'inverse est incolore ou gris à jaune-brun (Palou, 2014).

### 2.2. Les Symptômes de développement du champignon

Au cours du développement de *P.italicum*, l'épiderme du fruit atteint s'éclaircit, devient mou, après quelques jours à une température de 24-25°C, un duvet mycélien blanc entourée par un halo, apparaît et se couvre rapidement de spores bleues (figure 7). Le fruit, même partiellement atteint, devient inconsommable. La pourriture est plus molle, plus liquide et plus profonde que celle due au *P. digitatum*.

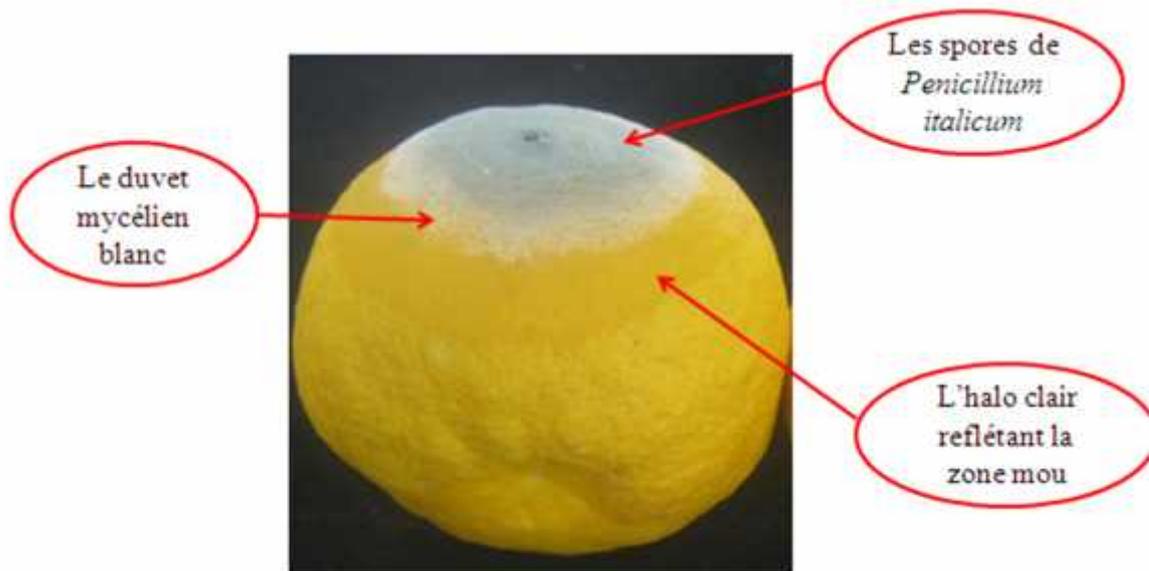


Figure7 : les symptômes de développement de *Penicillium italicum* sur l'épiderme d'un citron

Les spores sont facilement transportées d'un fruit à l'autre, et la pourriture se propage aussi directement par contact. Contrairement à *P. digitatum* la pourriture bleue est plus importante lorsque les agrumes sont stockés au froid pendant de longues périodes du fait que *P. italicum* croît plus rapidement que *P. digitatum* au-dessous de 10 ° C (Plaza et al. , 2003a).

### III. Les mécanismes de lutte contre *Penicillium*

Suite aux pertes énormes causées par *P. digitatum* et *P. italicum* dans le secteur agrumiculteur que ce soit au Maroc (Elkhamass *et al.*,1994) ou dans le monde (Bancroft *et al.*, 1984 ; Eckert & Eaks, 1989), de nombreuses méthodes de lutte chimique et biologique ont été utilisées pour remédier à ces problèmes.

L'imazalil, le thiabendazole et la guazatine sont les fongicides les plus couramment utilisés dans les stations de conditionnement et qui ont été trouvés efficaces contre *Penicillium* spp (Prusky, 1985), L'application de ces produits au champ a pour but, d'éviter toute sorte de blessure, de minimiser les contaminations (Tuset *et al.*, 2003) mais aussi de faciliter la récolte (Castro-Lopez *et al.*, 1981).

Toutefois, Ces traitements chimiques présentent de nombreux inconvénients, dont la persistance des résidus sur les fruits traités et l'apparition de souches résistantes aux produits

fongicides utilisés (El-Goorani et al., 1984 ; Eckert, 1990 ; Bus et al., 1997 ; Eckert et al., 1994), ce qui nécessite la recherche de nouvelles molécules actives (Miller et al., 1988) et d'autres alternatives. La lutte biologique contre les pourritures des agrumes en post-récolte en utilisant des microorganismes antagonistes a donné des résultats satisfaisants (Chalutz & Wilson, 1990 ; El-Ghaouth *et al.*, 2000). Parmi les microorganismes qui ont été révélés comme biopesticides efficaces en post-récolte, *Aureobasidium pollulans* (EL Guilli et al., 2009), *Candida guilliermondii*, *Candida famata*, et *Kloeckera* (Taqaarort et al ., 2013) aussi que d'autres espèces des deux genres de levures (Arras, 1996 ; Saligkarias *et al.*, 2002 ; Karabulut *et al.*, 2005).

Actuellement de nombreux composés oxydants comme l'hypochlorite de sodium (NaClO) et autres, sont utilisés pour contrôler la pourriture post-récolte des fruits frais en raison de leurs effets antimicrobiens (Cerioni 2013).

## IV. Les mécanismes de défenses des végétaux

### 1. *Les mécanismes de défense des plantes*

Comme tous les humains et les animaux, les plantes et toutes les espèces végétales peuvent être affecté par des milliers de maladies d'origine fongiques, virales, bactériennes, ou suite à la modification des facteurs environnementaux et qui risquent d'entraîner un bouleversement de forme, de fonction et perturber leur équilibre, d'où la nécessité de développer un système de défense pour se protéger. Les études de Murphy et Cowan (1999) et de Gibbons (2008), ont mis en évidence que l'originalité de ce système de défense réside dans l'exceptionnelle variabilité chimique des molécules produites. Une autre étude à révélé la capacité des plantes à synthétiser de manière constitutive ou induite, une multitude de substances antimicrobiennes (Jones et Dangl, 2006 ; Gibbons, 2008).

Les mécanismes de défense des plantes peuvent être classés en deux catégories :

- a- **La défense passive** : qui se caractérise par la mise en place chez les plantes au cours de leur évolution, d'un ensemble de barrières protectrices qui leur confèrent une résistance constitutive contre les bioagresseurs (Kauffmann et al.,2001).
  
- b- **La défense active** : Elle débute généralement par la réaction d'hypersensibilité (HR), qui est une réaction spécifique basée sur le concept gène pour gène, dans laquelle le produit du gène d'avirulence du pathogène est reconnu par le produit du gène de résistance de la

plante (Klarzynski et Fritig, 2001). Cette réaction intense se manifeste par la mort de la cellule hôte qui, avant de s'autodétruire, aura émis des signaux d'alerte vers les cellules voisines pour créer une zone de résistance locale acquise (LAR).

Parmi les molécules de défense à activité antimicrobienne chez les plantes on trouve les composés phénoliques et les phytoalexines, dont l'effet antimicrobien est principalement lié à l'inhibition de la synthèse d'ARN et d'ADN (Mori et al., 1987), aux altérations membranaires (Smith, 1982), ou à celle de l'activité ou de la synthèse d'hydrolases (Sztejnberg et al., 1989),

Les composés phénoliques sont des substances chimiques de métabolisme secondaire comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles (Bamforth 2000). Ils participent à des mécanismes de défense de type constitutif en tant que composés pré-infectionnels dont les teneurs peuvent augmenter pendant l'infection, l'un de ces composés est **l'acide salicylique** (Yalpani *et al.*, 1993), extrait du phloème de plantes infectées (Metraux et al., 1990), et dont l'augmentation de ces teneurs endogènes après l'infection est corrélée avec l'expression des gènes de défense et le développement de la résistance (Malamy et al., 1990 ; Metraux et al., 1990). En effet son application exogène induit la résistance vis-à-vis de virus, bactéries et champignons (Malamy et Klessig, 1992). À l'acide salicylique s'ajoutent les flavanes-3-ols et les proanthocyanidines qui s'accumulent dans les tissus entourant les territoires infectés (Feucht et al., 1992 ; Clerivet et El Modafar, 1994).

Les phytoalexines sont des métabolites chimiquement hétérogènes, de nature phénolique : flavonoïdes, coumarines et les anthocyanes généralement toxiques vis-à-vis des agents pathogènes. Ils sont qualifiés d'antibiotiques végétaux synthétisés au cours de la réaction d'hypersensibilité ou lors de la SAR comme une réaction de défense de type induite (figure 8). La synthèse de phytoalexines n'est pas une réaction spécifique, les mêmes phytoalexines pouvant être produites par une même plante infectée par différents microorganismes (Bailey et Mansfield, 1982).

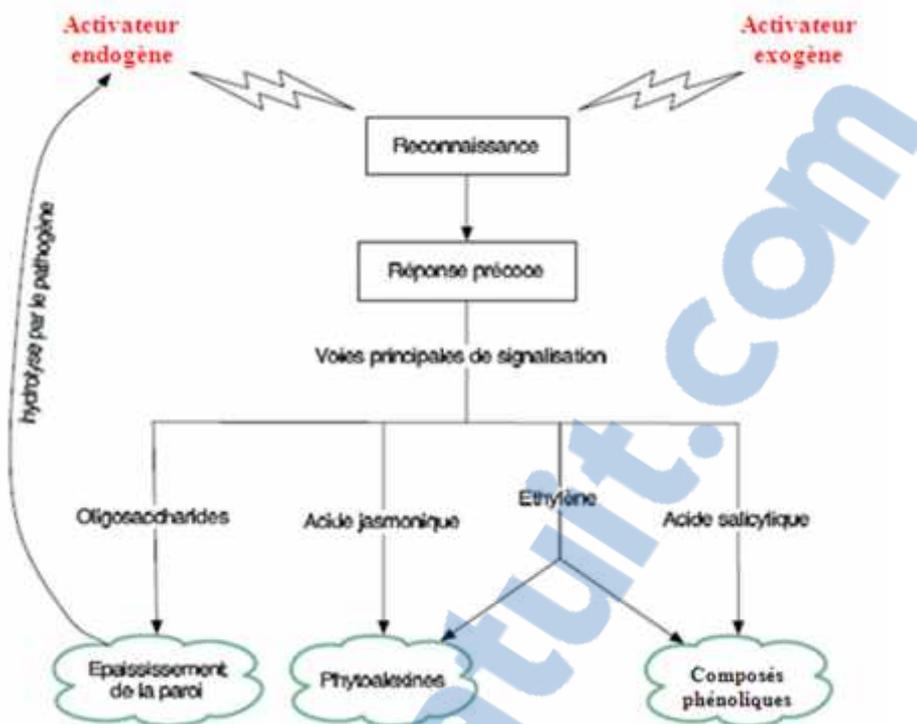


Figure8 : Principaux mécanismes de défense des plantes

## 2. Les mécanismes de défense des agrumes

Les agrumes à leur tour contiennent plusieurs composés phytochimiques comme les polyphénols et les terpènes, qui en plus de leur intervention dans les phénomènes, d'allélopathie en inhibant la croissance des autres plantes, l'attraction des pollinisateurs par les odeurs et les couleurs qu'ils confèrent et l'aromatisation des fruits. Ils participent dans les mécanismes de défense des agrumes que ce soit contre les pathogènes ; principalement les moisissures, les bactéries phytopathogènes et les herbivores (Druyne 1999, Schiestl et al. 2000, Yi-Cai et al. 2000, Sasaki et Takahashi 2002), ou dans la protection contre les rayonnements UV.

Parmi les plantes d'agrumes qui constituent un exemple type de ces mécanismes, *Citrus paradisi* dont l'activité antimicrobienne a été démontrée contre différentes espèces (Cvetnic et Vladimir-Knezevic 2004). La grande activité antimicrobienne de *Citrus paradisi* a été attribuée à la grande teneur de ses extraits en huiles essentielles, vitamine C et flavonoïdes (Cano et al. 2008). Les extraits des autres espèces du genre *Citrus*, notamment *Citrus sinensis* et *Citrus aurantifolia* ont aussi été reconnus comme ayant un pouvoir antimicrobien non négligeable (Gülay Kırba lar et al. 2009, Jazet Dongmo et al. 2009).

Aussi, la majorité des polyphénols et des flavonoïdes des agrumes ont une activité antifongique très puissante. Des études d'Ortuno et ses collaborateurs (2006), ont démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxy flavones sur *Penicillium digitatum*. En

effet, la naringinine, l'hespéridine, la nobilétine, la simensetine et la tangerétine sont des flavonoïdes extraits à partir des plantes du genre *Cirtus* et qui servent à protéger ces dernières contre les attaques de *Penicillium digitatum* (Ortuno et al. 2006).

En plus de développer une résistance contre les agents biotiques phytopathogènes, les agrumes doivent résister aussi aux agents abiotiques tels que la salinité, le froid, le pH et le gel. Par ailleurs, les portes greffes possèdent une influence importante dans la création de tolérance des arbres aux différents types de sols ; acides, salins, humides ou calcaires, aux basses températures... En conséquence, il existe plusieurs porte-greffes résistants au virus de la Tristeza aux gommoses à *Phytophthora*, avec aussi une tolérance vis-à-vis de la salinité à savoir, *Citrus aurantium*, *Poncirus trifoliata*, *Citrangle Troyer*, *Citrangle Carrizo*, *Citrus volkameriana*, *Citrus macrophylla*, on peut parler également de bigaradier, mais sa sensibilité à la *Tristeza* constitue une grande menace pour l'agrumiculture méditerranéenne (Loussert, 1985) En effet, bien que les agrumes soient classés comme espèces sensibles à la salinité (Maas, 1993), il y a une grande variation dans la capacité de tolérer la salinité selon le porte-greffe (Levy et al., 1999) et la variété greffée (Lloyd et al., 1990).

## V. Les analyses de qualité des agrumes

Selon l'Association Française de la Normalisation (AFNOR), la qualité (norme ISO 8402) d'un produit ou d'un service, est définie par « l'ensemble des caractéristiques qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ». Dans le domaine commercial le producteur est toujours intéressé par la qualité commerciale. Elle concerne l'aspect extérieur du fruit qui influence beaucoup l'acte d'achat du consommateur, alors que le distributeur mettra en avant la fermeté, la durée de conservation et l'apparence du fruit et d'autres critères qui donnent l'assurance d'un produit qui se vend facilement.

La qualité des fruits en général englobe un ensemble de 5 composants majeurs associant à la fois : le calibre, la résistance aux manipulations, les qualités organoleptiques, l'aspect et l'aptitude des fruits à l'évolution (CEMAGREF 1982), la perception de ces critères peut être influencée par des paramètres physiques et d'autres chimiques qui sont principalement la fermeté, la couleur, la teneur en sucres, l'acidité, les composées aromatiques et les équilibres entre ces constituants.

## 1. *La fermeté*

La fermeté d'un fruit est un critère liée à son stade de maturité, elle permet d'estimer le meilleur moment pour récolter et donne une indication quantifiée de la dureté ou de la tendreté d'un fruit. La fermeté dépend de la variété, de l'état de maturité du fruit, des conditions de culture et de conservation, et prend part à la structure et à la texture du fruit, autrement dit, aux agencements cellulaires (Duprat et al., 1991).

Traditionnellement, la fermeté a été appréciée de façon subjective entre le pouce et l'index, mais actuellement des mesures objectives utilisant différents types d'appareils sont disponibles. C'est le cas de **l'appareil Durofel** qui s'utilise sur des produits plutôt souples, il mesure le retrait superficiel du produit sous l'action d'une force (Vivien, 1998), **La technique laser à air pulsé** permet seulement un tri grossier des fruits par classe de fermeté (Mc Glone et Jordan, 2000). **La technique NIR (Near-Infrared)**, est difficile à utiliser pour prédire la fermeté (Lu et al., 2000). Le test de poinçonnage est réalisé à l'aide d'un pénétromètre manuel muni d'un cadran gradué à la fois en système métrique (kg) et en système impérial (lb) et peut couvrir différentes gammes de pressions selon qu'il s'agit de fruits tendres ou de fruits plus durs. Il est indispensable d'effectuer deux mesures par fruit, une sur chaque oreillon, du fait de l'hétérogénéité de ceux-ci (Duprat *et al.*, 1991).

Pour les agrumes, **Agrosta®Citrus Usb** est un pénétromètre de très haute qualité, il est adapté pour la mesure de fermeté des mangues, des oranges, mandarines, citrons et pamplemousses. Un embout calibré presse le fruit jusqu'à une profondeur spécifique et mesure la force maximale nécessaire pour appuyer sur le fruit ainsi que la longueur d'embout calibrée. Les mesures se font les unes après les autres sans qu'il soit nécessaire de les valider. L'Agrosta®Citrus Usb est caractérisé par deux embouts, un Embout de 11mm pour les oranges, pamplemousses, mandarines, et un autre de 8 mm pour les citrons.



Figure9 : La détermination de la fermeté d'une orange par un pénétromètre

## 2. *La couleur*

La couleur de l'épiderme d'un fruit est un bon indicateur de l'uniformité d'un fruit et de sa présentation qui permet au consommateur de juger de l'état de maturité du fruit qui conditionne en grande partie sa qualité gustative. La couleur verte d'un fruit est souvent associée à l'immaturité, tandis que le rouge, l'orange ou le jaune intense sont associés à la maturité et au goût sucré. Généralement la couleur d'un objet ou d'un aliment dépend de l'interaction entre une source lumineuse et les pigments ou les colorants de la surface de cet objet.

Les caroténoïdes, les flavonoïdes et des bétalaïnes, sont les pigments naturels les plus répandus, dont la fonction principale chez les végétaux est de fournir une gamme de couleur allant du jaune au rouge foncé (Wilson 1987). Ces composés polyphénoliques sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (Fritch et Griesbach 1975). En plus de la couleur, ils confèrent ainsi aux fruits des qualités nutritionnelles. Ils ont aussi des propriétés antioxydantes (Goodwin, 1980) et une activité antifongique comme il est le cas pour certaines variétés d'agrumes (Ortuno et al. 2006).

Deux mécanismes participent simultanément au changement de couleur au cours de la maturation du fruit. Il s'agit d'une part, de la dégradation de la chlorophylle, à l'origine de la perte de couleur verte, d'autre part, de la néosynthèse de pigments colorés (caroténoïdes, anthocyanes, flavonoïdes...) (Gray et al., 1992). Une étude chez les agrumes a permis de

montrer que la dégradation des chlorophylles était sous contrôle de l'éthylène (Trebitsch et al., 1993). Parmi les enzymes impliquées, la chlorophyllase dont l'activité augmente pendant la maturation, en corrélation avec la diminution de la chlorophylle et la perte de la couleur verte (Trebitsch et al., 1993). La lumière joue également un rôle important dans le processus de coloration des fruits, il est rapporté que les fruits exposés au soleil sont plus colorés par rapport aux autres fruits (Loussert, 1987).

Le colorimètre, appareil qui mesure la couleur par réflexion d'un rayon lumineux sur le fruit, il caractérise chaque couleur de façon unique par des chiffres et non par un spectre. Il convertit les couleurs situées dans la plage de perception humaine, en un code numérique caractérisé par trois valeurs  $L^*a^*b^*$  repérables dans un espace cartésien. Différents systèmes de mesure permettent de quantifier la couleur des fruits. Parmi eux, l'espace  $L^*C^*H^\circ$  utilise des coordonnées polaires au lieu des coordonnées cartésiennes. Le système  $L^*a^*b^*$  ou le système **CIELAB** possède le grand avantage de donner une mesure objective, l'axe  $L^*$  représente la luminance, soit une opposition de couleur noir-blanc. Les axes  $a^*$  et  $b^*$  représentent quant à eux respectivement les oppositions de couleurs rouge-vert et bleu-jaune (figure10) (CIE 1986).

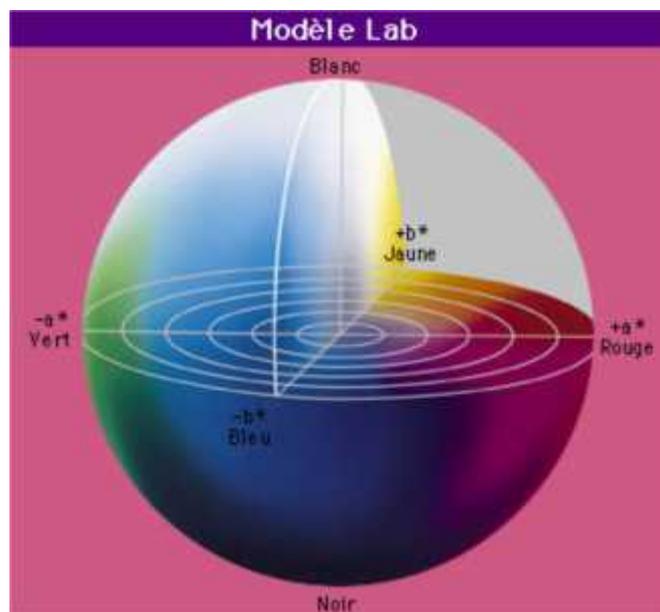


Figure10 : Espace colorimétrique CIELAB (ENST - TSI. 2006).

### 3. *La teneur en sucres*

Selon Souty *et al*, (1990), la saveur est la résultante de la balance sucre/acide. Les agrumes comme tous les fruits sont caractérisés par leur saveur provenant de l'équilibre entre la teneur en

glucides et la teneur en acides organiques naturels. Au cours du développement d'un fruit, les sucres circulent des chloroplastes des feuilles vers le fruit et des éléments nutritifs tels que l'amidon se forment et se transforment en sucres lors de la progression du processus de maturation. Les études de Thompson et Whittier (1932) et Moriguchi *et al.* (1990), ont mis en évidence que le saccharose était le sucre majoritaire des fruits matures, et que les sucres réducteurs (fructose et glucose) avaient des teneurs plus grandes dans les fruits immatures.

La teneur moyenne en sucres totaux varie très fortement selon les espèces et à l'intérieur de celles-ci selon les variétés. La réfractométrie est une méthode d'analyse particulièrement adaptée aux fruits mûrs qui contiennent un taux significatif de sucre, dont la mesure ou la détermination de la quantité de sucres solubles présente dans un fruit est basée sur la capacité des sucres d'un jus à faire dévier la lumière. La mesure de l'Indice Réfractométrique (IR) caractérise le pourcentage de matière sèche soluble MSST, exprimée en degré Brix en graduations de 0,1 pour cent. Elle permet une évaluation relativement fiable de la composition en sucres, comme l'ont montré les études de corrélation entre l'IR et les teneurs en sucres (Souty, 1990). La teneur minimale en sucre des orangers est fixée à 9,5% (EACCE, 2010). Il existe des réfractomètres qui compensent automatiquement les changements de température alors que d'autres peuvent être étalonnés pour une lecture précise à une température fixe (généralement 20°C).

#### 4. *L'acidité*

Les agrumes sont caractérisés par leur acidité typique qui peut être très marqué due à une richesse en acide citrique (5%) comme dans le cas du citron, ou plus douce avec un taux d'acide citrique faible (0,8%) exemple de la clémentine. En général l'acidité totale d'un fruit est la résultante de l'acidité libre (acidité titrable) et de l'acidité salifiée, il existe deux méthodes indiquées pour la détermination de l'acidité titrable des fruits :

- La méthode utilisant un indicateur coloré
- La méthode potentiométrique, à l'aide d'un pH-mètre, qui est utilisée pour les jus très colorés.

Pour la mesure de l'acidité du jus des agrumes, on utilise le Phénolphtaléine comme indicateur coloré et une solution de 0,1M de Hydroxyde de sodium (NaOH) pour l'opération de titrage, la fin de ce dernier est atteinte lorsque la couleur du jus devient rosâtre et persiste. Les résultats doivent être exprimés en pourcentage d'acide, et comme certains fruits contiennent des acides différents, il faut appliquer à chaque calcul le coefficient multiplicateur approprié. Dans le cas de l'acide citrique, par exemple, 1ml de NaOH 0.1M équivaut à 0,0064 g d'acide citrique, le résultat final sera donc calculé selon la relation suivante:

Pourcentage d'acide citrique	Gramme/litre d'acide
$\text{Pourcentage d'acide citrique} = \frac{\text{Titre} \times 0,0064 \times 100}{10\text{ml jus}}$	$\text{g/l d'acide citrique} = \frac{\text{Titre} \times 0,0064 \times 100 \times 10}{10 (\text{ml jus})}$
Par simplification, cette formule peut s'écrire : $\text{Pourcentage d'acide citrique} = \text{Titre} \times 0,064$	Par simplification, cette formule peut s'écrire : $\text{g/l d'acide citrique} = \text{Titre} \times 0,64$

### 5. *Le rapport sucres/acidité ou coefficient de maturité (E/A)*

Si le fruit d'agrumes est récolté avant la maturité, il ne pourra jamais acquérir les qualités organoleptiques convenables (Pech *et al.*, 1994). Des études de Moreau-Rio *et al.* (1995), combinent les deux critères, teneur en sucre et acidité, en prenant comme indice de qualité le rapport indice réfractométrique/acidité titrable. Ce coefficient de maturité est un critère très utilisé dans la détermination de la date de récolte des fruits d'agrumes ainsi que pour l'exportation. Au début du processus de maturation, le rapport sucres/acidité est bas, en raison d'un contenu en sucres bas et d'un contenu en acides élevé, ce qui rend le fruit aigre. Durant le processus de maturation, les acides sont dégradés, le contenu en sucres augmente et le rapport sucres/acidité prend une valeur plus élevée. Les fruits trop mûrs ont une faible acidité, d'où le manque de saveurs caractéristiques. Le coefficient (E/A) est déterminé par le rapport :

$$E/A = \text{Rapport sucres/acidité} = \frac{\text{Pourcentage } ^\circ\text{Brix}}{\text{Pourcentage d'acide}}$$

A l'ensemble de ces critères : la fermeté, la couleur, l'acidité, la teneur en sucre, et le coefficient de maturité, s'ajoute des paramètres essentiels pour déterminer la qualité de différents fruits, et plus particulièrement celle des agrumes et en site à titre d'exemple :

- le pourcentage de jus
- l'épaisseur de l'écorce d'un fruit
- le calibre
- et parfois la teneur en vitamines, en sels minéraux, et en métabolites secondaires (les polyphénols).

# *La partie expérimentale*

Matériels et méthodes

# I. Matériel

## 1- Matériel végétale

Le matériel végétal qui a fait l'objet de ce travail, est constitué de 36 variétés d'agrumes (tableau 2), récolté à partir de la collection d'Afourer, la Parcelle II, III et VI situé dans le domaine expérimental d'EL Menzeh (INRA Kenitra). A fin d'avoir des échantillons représentatifs, un ensemble de 40 fruits ou 20 pour les variétés rares a été récolté à partir du coté le plus exposé au soleil d'un arbre et déposé dans des sachets en plastique avec référence (date, lieu, et nom de variété). Tous fruits n'atteignant pas le stade de maturité ou présentant des dommages, des brûlures ou des maladies ont été écartés.

## 2- Les souches fongiques utilisées

Des cultures pures de *Penicillium digitatum* (*Pd EL MANZAH 611*), et *Penicillium italicum* (*Pi EL MANZAH 711*), ont été fournies par le laboratoire de phytopathologie et qualité post-récolte.

**Tableau 2.** Les variétés d'orangers, de mandariniers, de citronniers et de pomélo expérimentés au domaine expérimental d'El Manzah (INRA, Kenitra)

<b>Lieu</b>	<b>Nom de variété</b>	<b>Nb des échantillons</b>
<b>Parcelle II</b> (Les mandariniers)	<i>mand. Murcott, mand. Wilking, mand. Ortanique, mand. Batangas, mand. Vobanisahy Iranisa, mand. Jean, mand. Japon, mand. kunembo, Naddrcott</i>	9 Echantillons
<b>Parcelle III</b> (Les orangers)	<i>Kobayshi Mikan, Orange Real, Sanguinilli d'Espagne, Orange Blanche de Tenerife, Ricio, Entrefine, Orange Zomi, Chemi de Tunisie, Valée de Diademe, Beledi, Orange Pera, Khamali, Ananas Signorelli, Orlando</i>	14 Echantillons
<b>Collection d'Afourer</b> (Les orangers et les Pomélos)	<i>Orange Double fine, Pomélo Ruby, Orange Valencia late, Orange Cadénera, Pomélo Marsh, Orange Grosse Sanguine, Bigaradier, Orange Sanguinilli, Orange Hamline, Orange Parson Brown</i>	10 Echantillons
<b>Parcelle VI</b> (les citronniers)	<i>Natsu Dai Dai, Kusner, 57 C 24</i>	3 Echantillons

## II. Méthodes d'analyses

### 1. L'étude de l'aptitude de conservation

#### 1.1. Préparation des fruits

Un ensemble de 30 fruits matures et indemnes de blessures ont été sélectionnées, puis marqués, 10 pour *P. digitatum*, 10 pour *P. italicum* et 10 comme témoins, ensuite à l'aide d'une balance électrique et d'un pied à coulisse, on a mesuré respectivement le poids et les diamètres de chaque fruit afin de calculer la surface.

Les 30 fruits ont été par la suite désinfectés par trempage dans un seau contenant l'hypochlorite de sodium 10% et l'eau distillée stérile pendant 2min, suivie d'un rinçage 2 fois dans l'eau distillée stérile seule. A l'intérieur d'une hotte bien désinfecté par l'alcool à brulé, les fruits désinfectés ont été déposés sur un papier absorbant stérile pour séchage sous la hotte à flux laminaire.

#### 1.2. Préparation de la suspension conidiale

En conditions aseptiques, une suspension de *P. digitatum* a été préparé avec de l'eau distillé stérile contenant 0,05% (v / v) de Tween 20 et une culture jeune de *P. digitatum* âgée de 7 à 14 jours, après agitation par tourbillonnement à l'aide d'un vortex de tube contenant la suspension. La concentration de conidies a été déterminée par comptage dans une cellule de Bürker sous microscope, afin de calculer le facteur de dilution Fd et d'ajuster la concentration à  $10^5$  conidies/ml avec de l'eau distillée stérile additionné au Tween (figure11) (Eckert and Brown, 1986).

La détermination du facteur de dilution Fd se fait par :

- Comptage des spores dans 10 carreaux de chaque coté de la cellule de Bürker pour obtenir 10 valeurs
- Calcul de la moyenne (m) des dix valeurs trouvées
- Détermination de la concentration initiale  $C_i$  selon la relation;  $C_i = m \times 25 \times 10^4$  (conidies/ml) (European Brewery Convention, 2001)
- Calcul de facteur de dilution,  $F_d = C_i/C_f$  avec  $C_f = 10^5$  conidies/ml

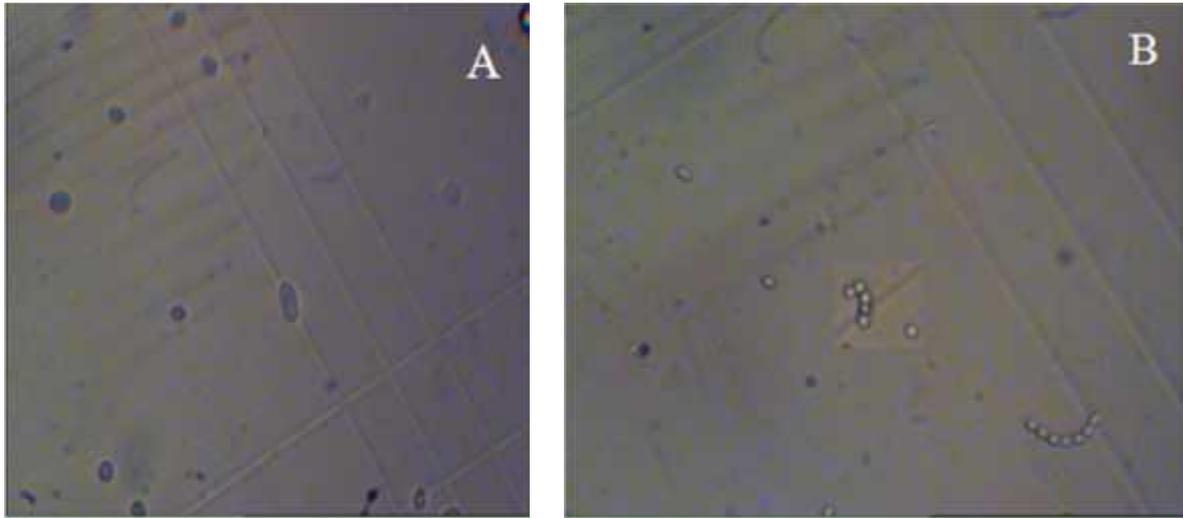


Figure 11 : Les conidies de *P. digitatum* (A) et de *P. italicum* (B), sur cellule de Bürker sous microscope optique au grossissement 40

⇒ La suspension de *P. italicum* a été préparée selon le même protocole en utilisant une culture jeune de *P. italicum*.

### 1.3. Blessure des fruits et inoculation de l'agent pathogène

Toujours sous la hotte et dans des conditions d'asepsie, les fruits après leur séchage ont été blessés au niveau de la zone équatoriale (Cerioni et al., 2012) par un emporte-pièce stérile de 5mm de diamètre, puis ils ont été placés dans des boîtes en plastique préalablement désinfecté par l'alcool et contenant du papier absorbant stérile imbibé par 3ml de l'eau distillé stérile, pour obtenir une humidité relative au sein des boîtes.

A l'aide d'une micropipette (P 200µl) et à coté de la flamme, 50µl de la suspension conidiale préparé a été déposé sur chaque blessure (Yu et al., 2009) , ensuite les boîtes contenant les fruits blessés et inoculés, ont été bien fermés, repérés (date, nom de variété et la souche inoculé) puis incubés à 25 °C pendant 7 jours.

⇒ Les fruits utilisés comme témoins ont été manipulé de la même manière, sauf pour l'inoculation, ils ont été inoculé avec 50µl de l'eau distillé stérile contenant 0,05% (v / v) de Tween 20.

## 2. Les analyses de qualité

### 2.1 Détermination de la coloration des fruits

A fin d'évalué la coloration d'une variété, on prend un échantillon de 10 fruits d'agrumes qui doivent être dépourvus de tous défauts (des brûlures dues au soleil, des dommages causés par des insectes, ou des maladies), qui peuvent affecter le processus normal de maturation. Le tube de projection de lumière d'un colorimètre CR-400/410 a été posé sur l'épiderme d'un fruit et en cliquant sur le bouton de mesure, le résultat comprenant les 3 paramètres a, b et L sera affiché (figure 12) sur l'écran de l'appareil. On prend toujours deux mesure par fruits, les valeurs trouvé on été enregistrer et après détermination de la moyenne de chaque paramètre, l'indice de coloration a été calculé selon la relation :

$$IC = (2000 \times a) / (a^2 + b^2)^{0,5}$$

L\* représente la luminance, soit une opposition de couleur noir-blanc. Les axes a\* et b\* représentent respectivement les oppositions de couleurs rouge-vert et bleu-jaune (López Camelo et al., 1995).



Figure12 : la mesure de la coloration d'une orange par le colorimètre (à gauche) et le résultat obtenu (à droite)

### 2.2. Mesure de fermeté

Les mêmes fruits auxquels la coloration a été préalablement déterminée, ont fait l'objet de mesure de fermeté. Le fruit a été déposé sur le support d'un pénétromètre de façon que la tête de

l'embout soit placé sur la zone équatoriale du fruit, ensuite et en exerçant une pression descendante et continue sur un oscillateur lié à l'embout, la force nécessaire pour faire pénétrer ce dernier dans le fruit a été indiquée par le pénétromètre (figure13), le résultat est exprimé en kg / surface de l'embout

A fin d'obtenir des résultats uniformes et précis, il est important d'effectuer deux mesures par fruits, et que la pression exercé sur l'embout soit régulière et lente. Les résultats finaux ainsi que les moyennes des deux prises ont été enregistré automatiquement puisque l'appareil est déjà raccordé à un ordinateur avec un logiciel (Agro-fruits) installé au préalable.



Figure13; La mesure de fermeté d'une orange et enregistrement automatique des résultats

⇒ On note que la mesure de fermeté doit être précédé par la mesure de poids des 10 fruits, car la pression exercé au cours de mesure, peut engendrer des pertes de jus ce qui va fausser le poids total des fruits.

### 2.3. Détermination de la teneur en jus

Les 10 fruits auxquels on a mesuré la coloration, le poids puis la fermeté, ont été par la suite coupés en deux dans le sens de la largeur, ensuite une extraction totale de leur jus a été effectuée à l'aide d'un extracteur à toupie tournante. Le jus récolté a été filtré dans une étoffe en mousseline. Le poids de jus filtré a été mesuré et la teneur en jus a été déterminée.

## 2.4. Détermination de la teneur en sucre ou MSST

La détermination de la MSST a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre portable. Avant de commencer cette mesure, il est important de calibrer d'abord ce dernier à fin d'obtenir des résultats significatifs, pour ce but des gouttes de l'eau distillée ont été déposés sur la surface de prisme et la valeur affichée égale à zéro. Le plateau du prisme a été essuyé à l'aide d'un morceau de tissu doux, ensuite des gouttes de jus préalablement extraits et filtrés ont été déposés sur la surface du prisme, le couvercle a été fermé et pour que la lecture soit exacte, le réfractomètre a été orienté vers la lumière (figure 14), après l'obtention d'une image nette en effectuant une mise au point de l'oculaire, la teneur en matière sèche soluble est indiquée par la position, sur la graduation verticale, de la ligne de démarcation séparant la zone claire de la zone sombre. La teneur minimale en sucre des orangers est fixée à 9,5 % (EACCE)



Figure 14 : le dépôt de gouttes de jus sur le plateau de prisme (A), et la lecture de résultat en orientant le réfractomètre vers la lumière (B)

## 2.5. Détermination de l'acidité

Pour la détermination de l'acidité, 10 ml de jus filtré ont été prélevés et déposés dans un bécher de 250 ml, ensuite 3 gouttes de phénolphthaléine ont été ajoutées avec une pipette compte-gouttes. Le titrage a été effectué en versant lentement une solution de NaOH (0,1) dans le bécher à l'aide d'une burette de 25ml et la solution a été continuellement homogénéisée en utilisant un agitateur magnétique (figure 15). Il est important que vers la fin du titrage, la solution de NaOH

soit versée goutte à goutte pour déterminer très exactement le point de neutralité qui se caractérise par la transformation de la couleur de jus de l'incolore vers le rose.

La solution de NaOH doit être versée directement dans le bécher afin d'éviter qu'elle s'adhère au verre et aboutit à une lecture fausse. Trois essais ont été effectués par échantillon et après avoir enregistré les volumes trouvés, la moyenne a été calculé et l'acidité a été déterminée comme suit :

$$A = \text{la moyenne de volume de NaOH} \times 0,064 \text{ (pour l'acide citrique)}$$



Figure15: La méthode de titrage de l'acidité

Après avoir calculé le pourcentage d'acidité, la valeur trouvé a été utilisé pour calculé le coefficient de maturité E/A selon la relation précédemment cité ;

$$E/A = \text{Pourcentage de Brix (teneur en MSST)} / \text{Pourcentage d'acidité}$$

## 2.6. La détermination de l'épaisseur de l'écorce

L'épaisseur de l'écorce a été déterminée en enfonçant un emporte-pièce de 5 mm de diamètre dans l'écorce d'un fruit d'agrumes et enlevant 10 fourchettes dont l'épaisseur a été déterminé à l'aide d'une règle graduée.

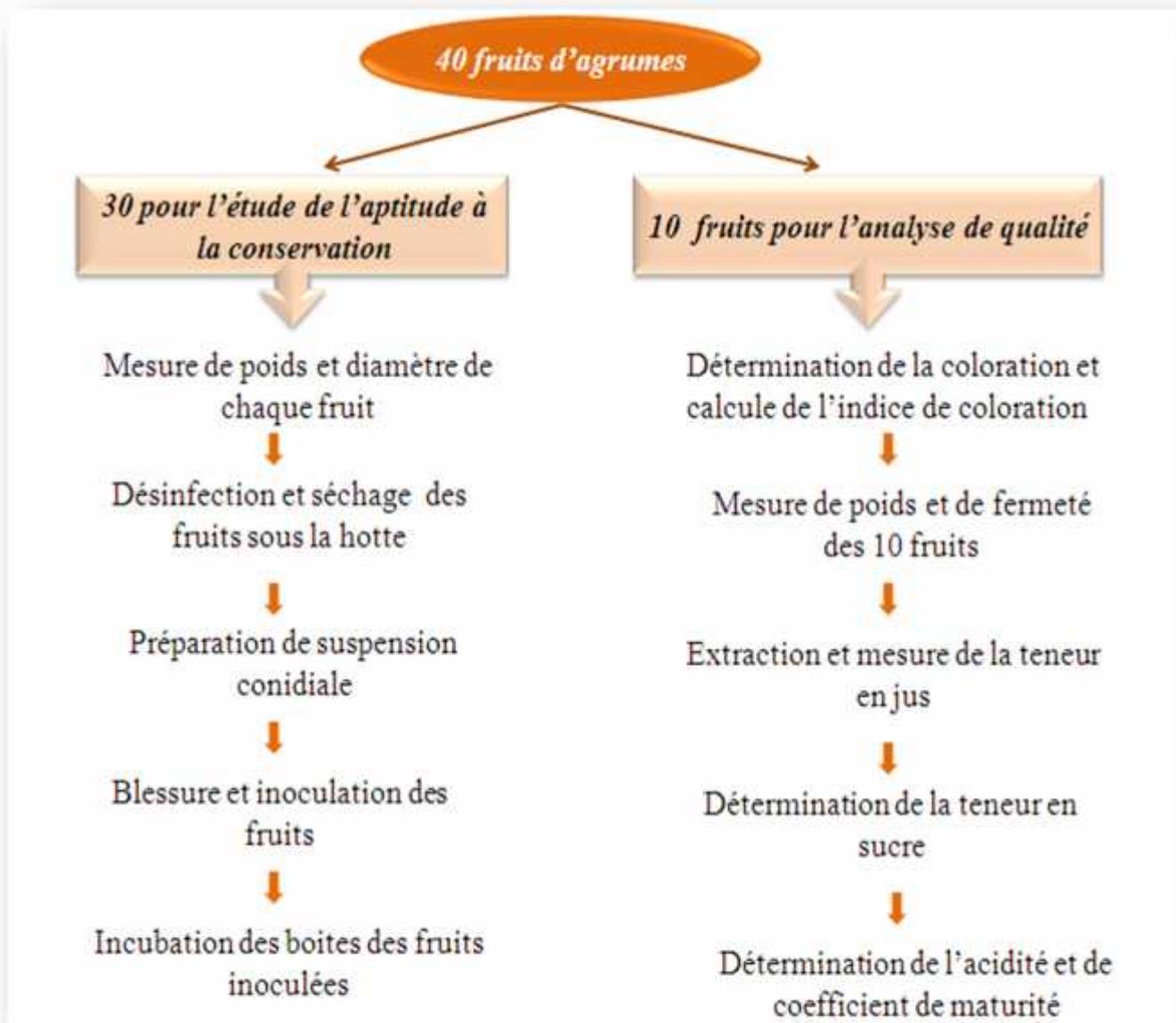


Figure16 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental réalisé au cours de la première partie

⇒ Ce protocole expérimental a été réalisé pour toutes les variétés manipulées c'est-à-dire il a été répété 36 fois.

### 3. L'effet de traitement curatif et préventif avec ACUADEX C sur *P. digitatum* et *P. italicum*

#### 1. Préparation des suspensions conidiales

Des spores de *P. digitatum* et *P. italicum* ont été isolées séparément à partir de fruits naturellement contaminés, et cultivées sur milieu PDA puis incubées à 25 °C pendant 7 jours. Ensuite des suspensions de conidies ont été préparées avec de l'eau distillée stérile contenant 0,05% (v / v) de Tween 20, et la concentration de conidies a été déterminée par comptage dans une cellule de Burker (European Brewery Convention, 2001) et ajusté avec de l'eau distillée stérile à  $10^5$  conidies par ml/1 comme précédemment signalé.

#### 2. La détermination des CMI

La Suspension de conidies a été incubée à 25°C pendant 2 minutes avec des concentrations différentes du composé; ACUADEX (3mg/l, 5mg/l, 7mg/l). Après incubation, les échantillons ont été centrifugés à 3500 g pendant 1 min, les surnageants ont été jetés et les culots ont été lavés deux fois et remis en suspension au volume initial avec de l'eau distillée stérile (Luciana Cerioni, 2013). Des portions de (50µl) ont été prélevées de chaque échantillon et inoculées sur des boîtes de PDA avec deux répétitions par concentration (Figure 17) avant d'être incubé pendant 7 jours à 25°C.

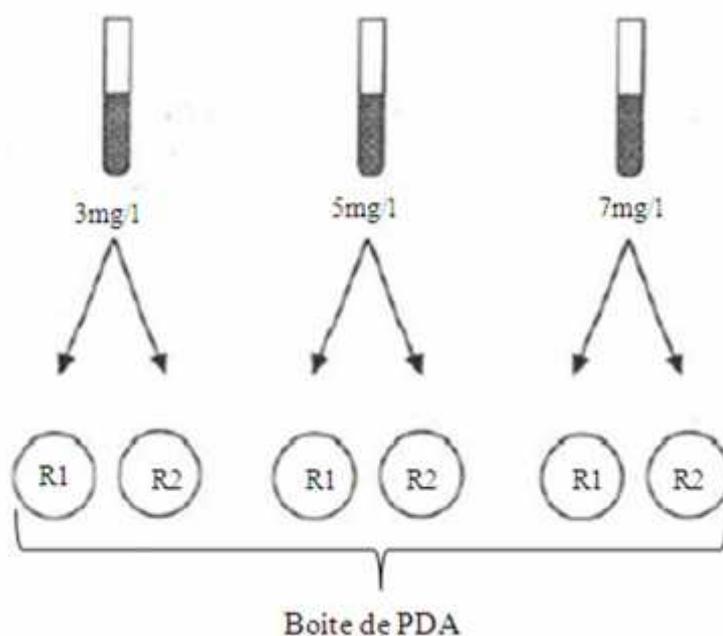


Figure17 : Schéma représentatif de la méthode de détermination de CMI

### 3. Le dosage in vivo (sur fruits)

70 fruits d'agrumes de la variété « *Orange Valencia late* » homogènes dans la maturité, la taille et l'indemne de blessure, ont été utilisées pour cette étude. Avant traitement l'ensemble des fruits ont été rincés à l'eau du robinet et séchés sous la hotte.

#### 3.1. Traitement curatif

Après blessure à l'aide d'un emporte-pièce de 5mm de diamètre, les fruits préalablement rincés et séchés ont été inoculés avec la suspension conidiale, puis placés dans des boîtes désinfectées sans incubation (Erasmus, 2015). Après 24heures, les fruits inoculés ont été traité par trempage dans des bains contenant l'eau distillé stérile additionné à ACUADEX C avec des concentrations de 8ppm (8ul/l), 10ppm et 12ppm puis ils ont été séchés sous la hotte et remises en boîtes afin d'être incubés pendant 7 jours à 25°C.

#### 3.2. Traitement préventif

Comme son nom indique le traitement à été réalisé avant l'inoculation. Après blessure, les fruits ont été traités par ACUADEX C avec les mêmes concentrations utilisé pour le traitement curatif, puis ils ont été placés dans des boîtes désinfectées sans incubation. Après 24heures, les fruits traités ont été inoculés avec la suspension conidiale et incubés pendant 7 jours à 25°C.

- ⇒ La lecture des résultats pour les deux traitements a été effectuée après 5 puis 7 jours.
- ⇒ Pour les fruits traités, 30 fruits ont été inoculé par une suspension de *Penicillium italicum* et 30 par la suspension de *penicillium digitatum*
- ⇒ En parallèle 10 fruits de *Valencia late utilisés comme témoin*, ont été rincés, séchés, blessés puis inoculés ; cinq fruits par une suspension de *Penicillium italicum* et les cinq restants par une suspension de *Penicillium digitatum*, ensuite ils ont été incubés après 24h d'inoculation sans traitement.

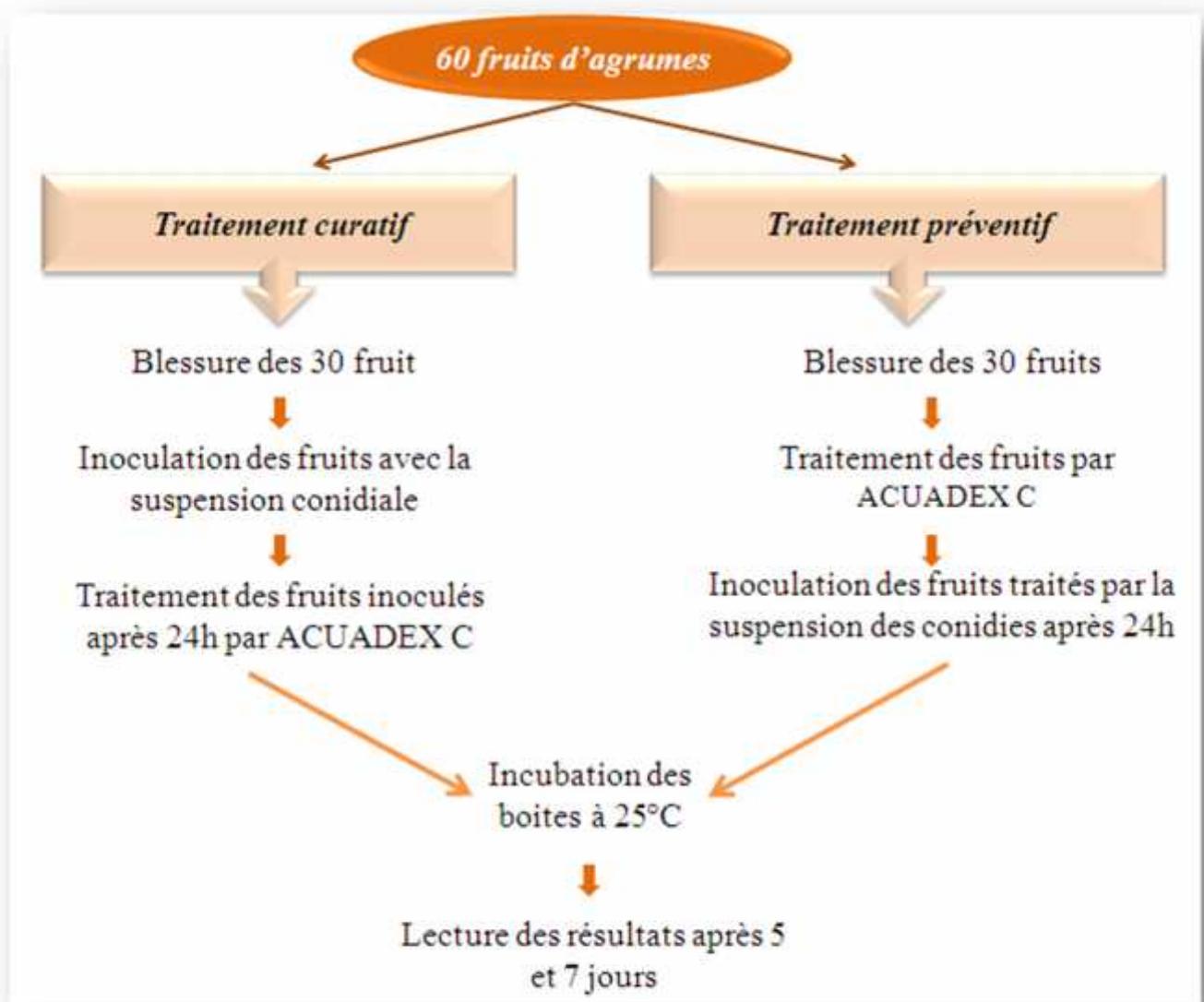


Figure18: Schéma récapitulatif du protocole expérimental du traitement curatif et préventif par ACUADEX C

#### 4. Analyse statistique

Les données ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA), avec le logiciel d'analyse SPSS. Les différences à  $p < 0,05$  ont été considérées comme significatives.

Rapport-Gratuit.com

## *Résultats et discussion*

## I. L'étude de l'aptitude de conservation

L'inoculation des fruits des différentes variétés d'agrumes par les suspensions conidiales et leur incubation en conditions appropriées de l'humidité et de température, a permis d'obtenir des surfaces de lésions qui diffèrent d'une variété à une autre. Aussi en comparant les surfaces de nécrose des fruits contaminés par *P. digitatum* à ceux inoculés par *P. italicum*, il apparaît clairement que les fruits d'agrumes de toutes les variétés manipulées sont plus sensibles à *P. digitatum* (figure21).



Figure19: l'aspect de la lésion causé par *P. digitatum* et *P. italicum* sur des fruits de la variété 57

C 24

### 1. Détermination des surfaces de nécrose des fruits inoculés par *P. digitatum*

En analysant les surfaces de nécrose de différentes variétés on a trouvé que « *Kobayshi Mikan* », « *Pomélo Marsh* » et « *Pomélo Ruby* » sont les variétés les plus sensibles à *P. digitatum* avec des moyenne de surface de nécrose qui atteint respectivement 120, 110 cm<sup>2</sup>, alors que les variétés, *Entefine*, *Sanguinelli d'Espagne* et *mand. Wilking* sont les variétés les plus résistantes des variétés testées avec des moyennes de la surface de nécrose de l'ordre de 20 cm<sup>2</sup> (figure 20).

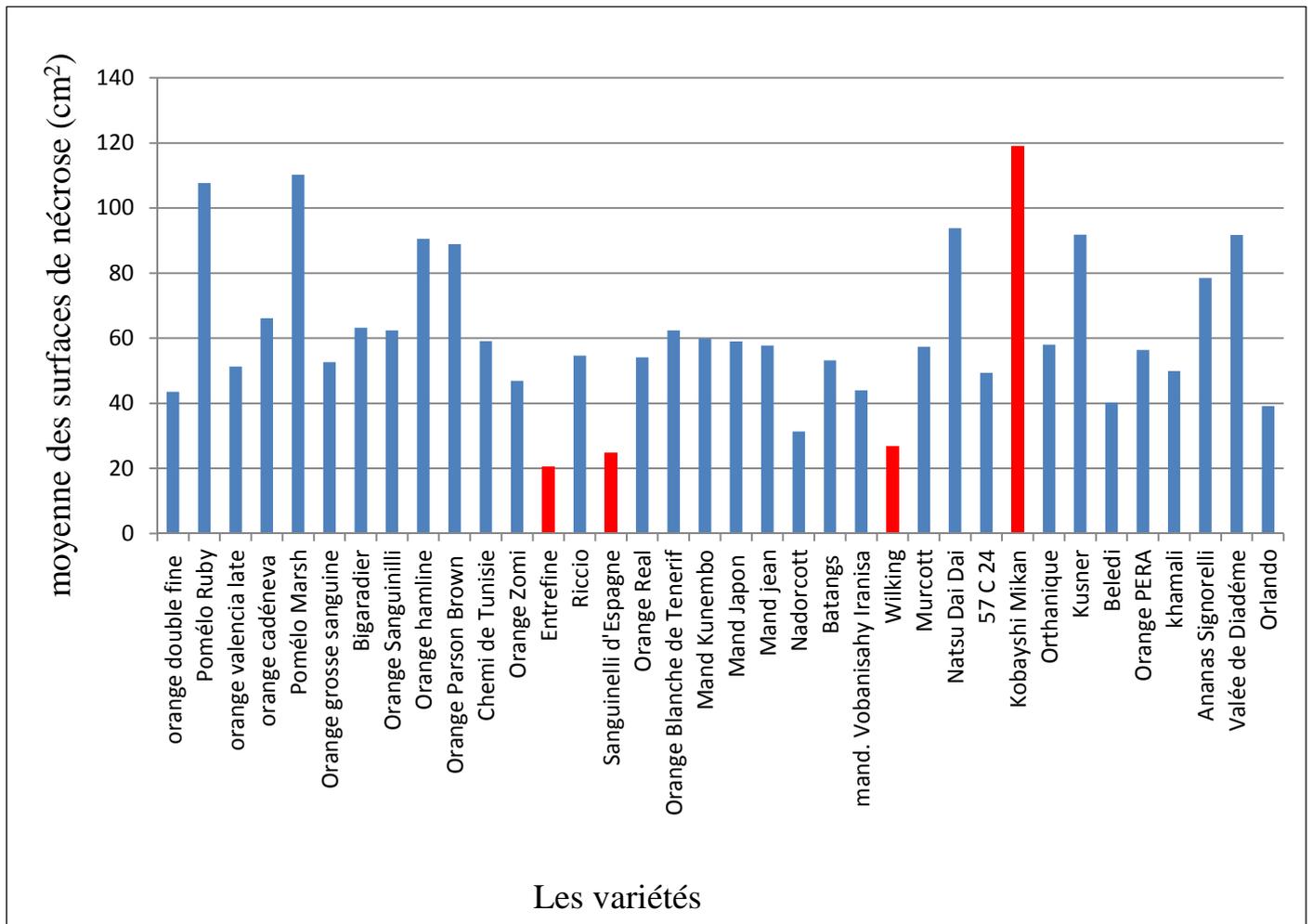


Figure 20 : La variation de la surface de nécrose des fruits inoculés par *P. digitatum* en fonction des variétés

## 2. Les surfaces de nécrose des fruits inoculés par *P. italicum*

L'évaluation des surfaces de nécrose des fruits inoculés par *P. italicum* a montré que « *Kobayshi Mikan* » et « *Parson Brown* » sont les variétés les plus sensibles mais avec des moyenne de surface de nécrose qui ne dépasse pas 69 cm<sup>2</sup>, alors que les variétés représentant une faible surface de lésion sont nombreuses; *Orange grosse sanguine*, *Orange valencia late*, le *bigaradier*, *Riccio*...

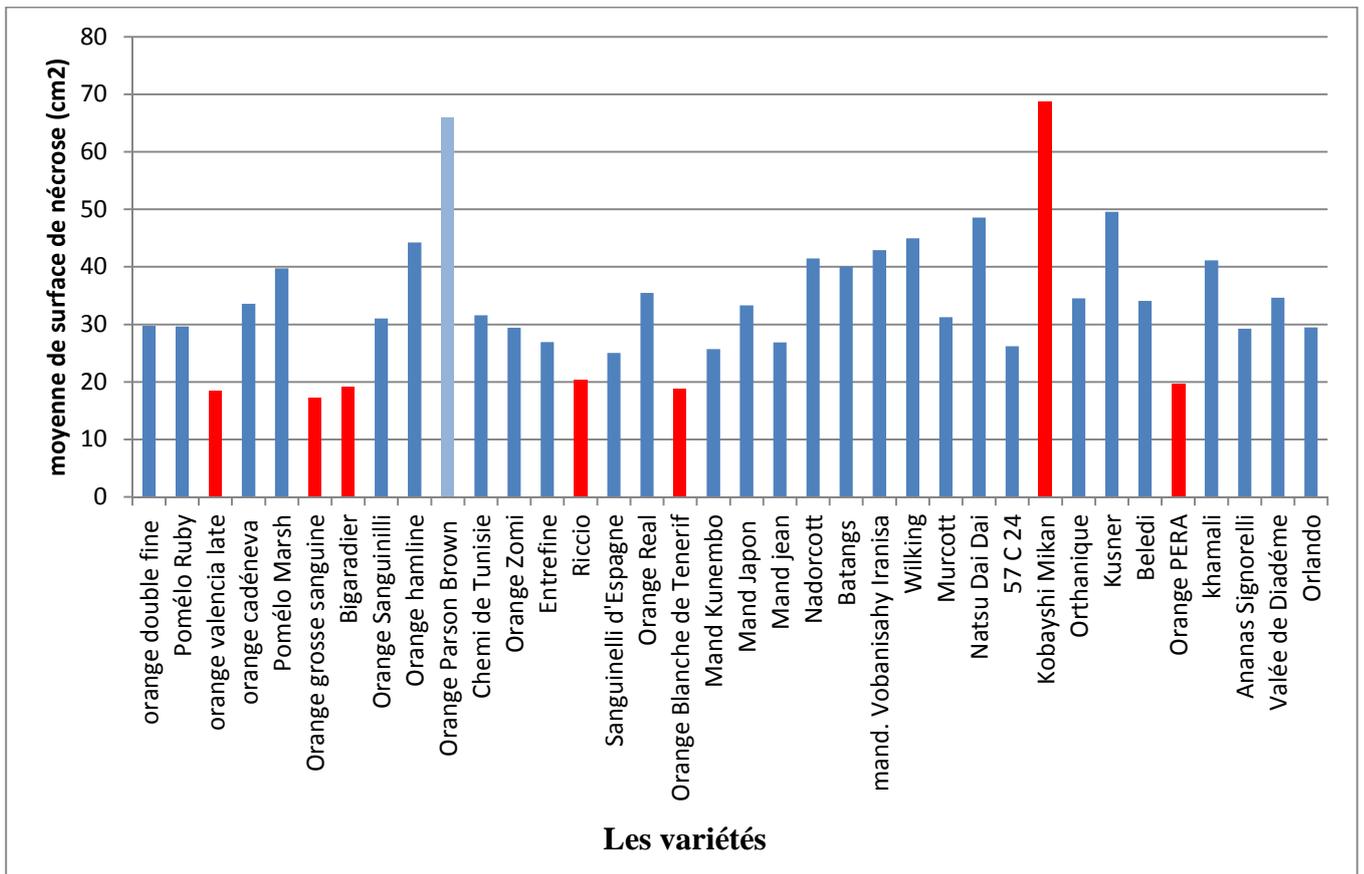


Figure21 : La variation de la surface de nécrose des fruits inoculés par *P.italicum* en fonction des variétés

Vue l'ensemble de ces résultats on peut dire que les fruits d'agrumes testés sont plus sensibles à *P. digitatum* que pour *P. italicum*, et que la variété « Kobayshi Mikan » est la variété la plus sensible à la fois à *P. digitatum* et à *P. italicum*.

Les analyses statistiques réalisés pour les différentes moyennes de surface de nécrose de *P. digitatum* et *P. italicum*, ont révélés qu'il y'a une différence hautement significative entre les différentes moyennes calculées avec un seuil de signification inférieur à 0,05, ce qui permet de dire que la sensibilité vis-à-vis de *P. digitatum* et *P. italicum* diffèrent selon les variétés, on peut parler donc de variété sensible et variété résistante.

## II. Les analyses de qualité

### 1. La teneur en jus

La teneur en jus est un critère déterminant de la qualité organoleptique des agrumes. En effet, dans cette étude elle prend des valeurs qui varient selon les différents groupes expérimentés ; orangers, mandariniers, citronniers et pomélo (figure22). Toutes les variétés des orangers étudiées ont dépassées la teneur minimale en jus des orangers fixée à 35 % (EACCE,

2010), avec une teneur maximale de 64,15% chez la variété *Kobayshi Mikan*, à l'exception du *Bigaradier* « oranger amère » avec un pourcentage de jus de 14%.

Pour les mandariniers, le pourcentage de jus à varié de 21% chez *mand. Batangas* à 52,87% chez la variété *Orthanique*, tandis que les citronniers et pomélo sont caractérisés par des teneurs qui varient entre 30% et 50%. Handaji et al.(2013) ont trouvé des valeurs assez proches de notre résultat ; 44% contre 49% chez *Orange Parson Brown*, 47% contre 52% chez *Orange Sanguinelli*....

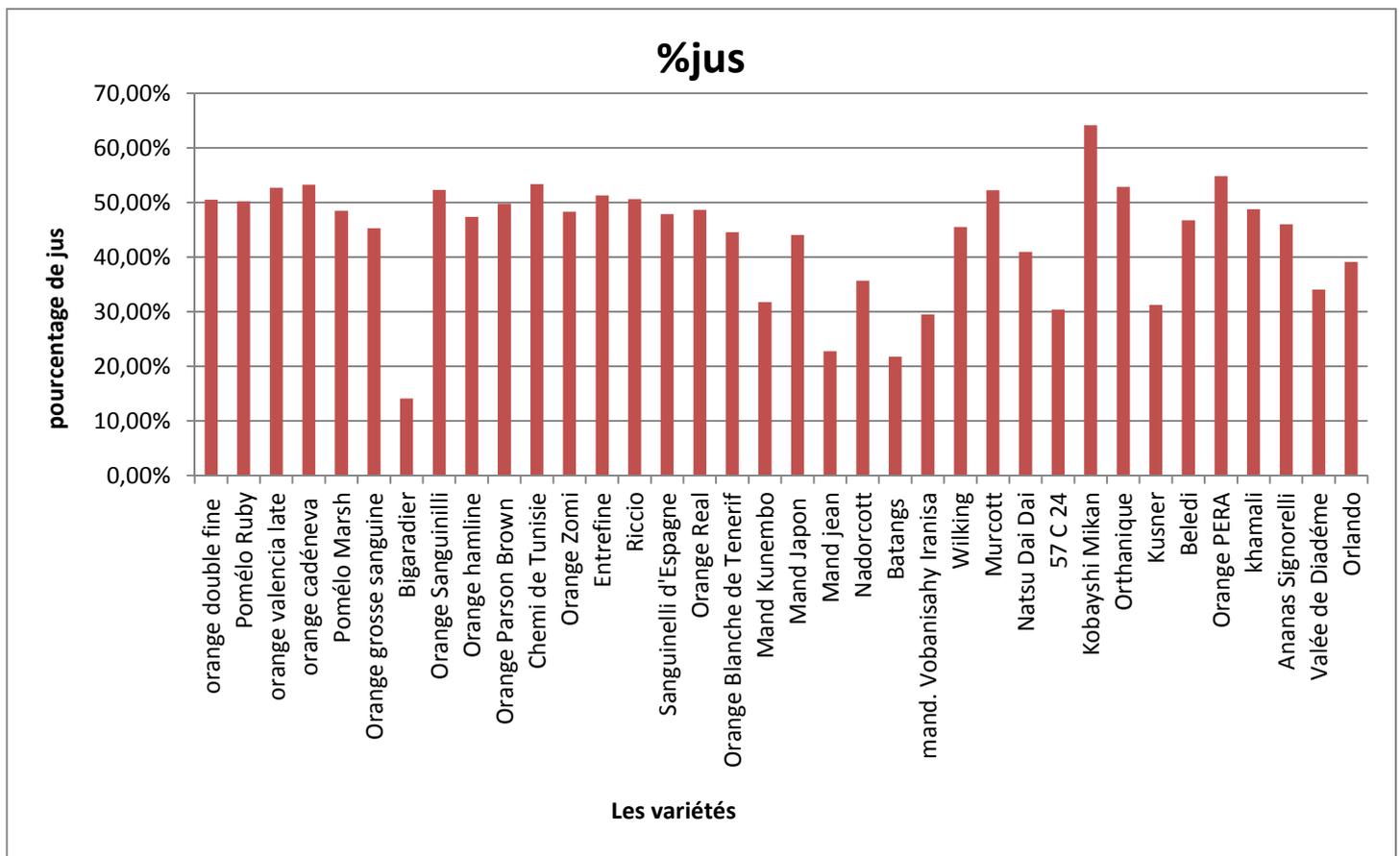


Figure22 ; La variation de pourcentage de jus des différentes variétés étudiées

Généralement le pourcentage de jus varie selon les variétés, l'état de maturité et les conditions climatiques (Russo et Fanizza, 1992; Etxeberria *et al.* 2005; Iglesias *et al.*, 2007; Iqbal *et al.*, 2012). De même la qualité du jus des agrumes dépend également d'un grand nombre d'autres facteurs comme le climat (Ebel *et al.*, 2004), les conditions de culture (Cabezas *et al.*, 2010); les porte-greffes (Alireza *et al.*, 2012; Bermejo *et al.*, 2012), l'apport hormonal (Rastegar et Rahemi, 2008; Samina *et al.*, 2012) et aussi l'exposition et le positionnement des fruits dans l'arbre.

## 2. La teneur en sucre

En comparant les teneurs en sucre des différentes variétés étudiées on a trouvé qu'il y'a une importante variabilité allant de 7,5% chez la variété « *Kusner* » à 14% chez la variété « *Orange Real* », ainsi la majorité des variétés d'orangers ont prit des valeurs élevé du taux de sucre de 11% - 12%, cela peut être expliqué par le fait que la récolte a été effectuée à partir du coté le plus exposé au soleil.

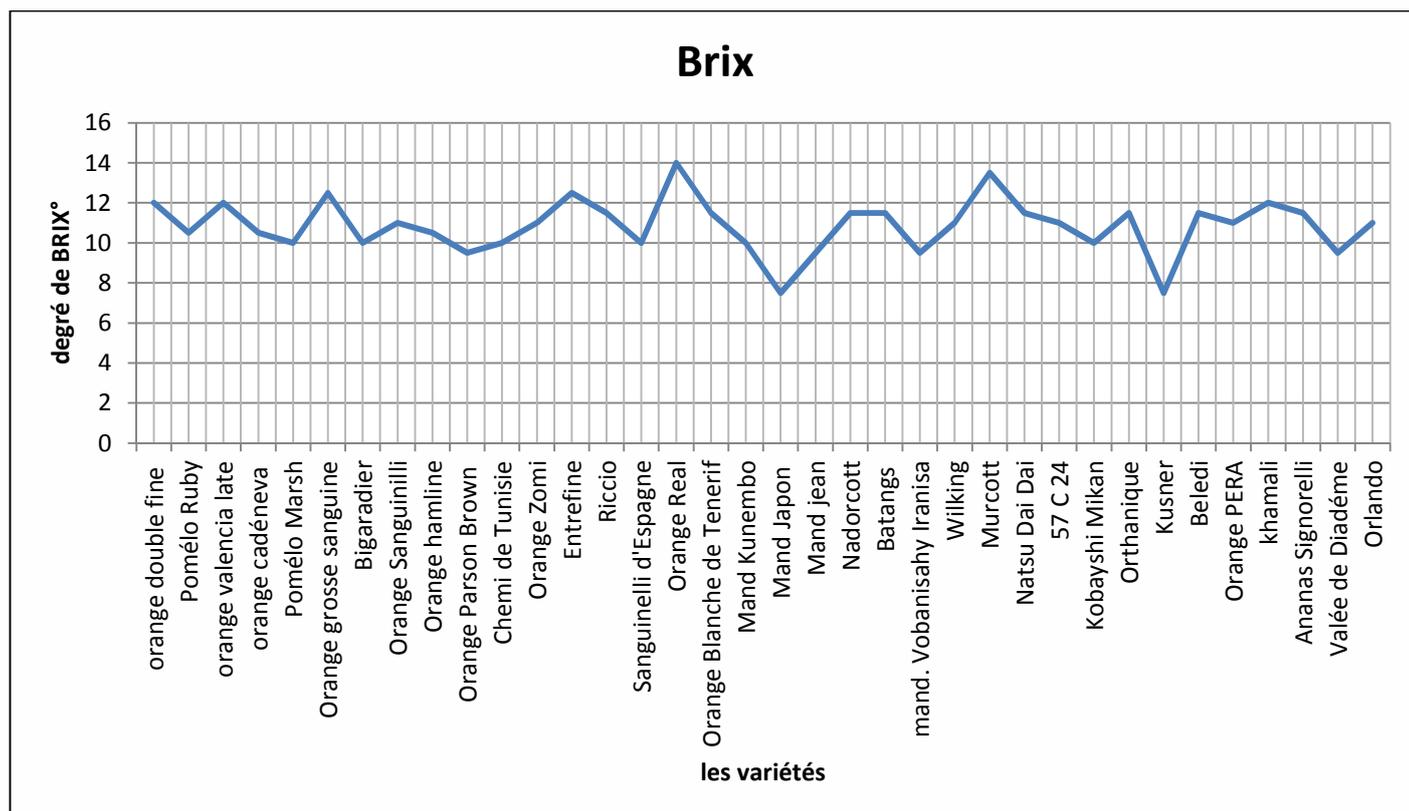


Figure23 : comparaison de la teneur en sucre des 36 variétés d'agrumes

Nos résultats ressemblent à ceux de Liu et Liang, (2012), qui ont trouvé que Les fruits d'agrumes exposés au soleil sud-est ou nord-est ont une coloration plus foncée et un taux de sucre soluble plus élevé, alors que les fruits ombragés ont une tendance à avoir une teneur en jus plus élevée. Les fruits exposés au sud-est présentent généralement une bonne qualité (Handaji *et al.*, 2007).

Une humidité excessive, l'âge jeune de l'arbre et les basses températures peuvent influencer négativement la teneur en sucre, tandis que la présence de gazon dans les vergers à un effet positif sur l'augmentation des taux de sucre (Blondel et Cassin, 1972).

### 3. L'acidité et le coefficient de maturité

La mesure de l'acidité titrable a montré également une large variabilité, elle a varié de 0,4 chez les variétés *Batangas* et *Orange Parson Brown* à 5,16 chez la variété du citronnier Kusner. En effet tous les citronniers sont caractérisés par un degré d'acidité typique, alors les orangers, les mandariniers et les clémentines sont caractérisés par une acidité faible et qui diminue d'avantage avec la maturité. Dans le même sens des études de Sanchez *et al.*, (1978), ont montré que les fortes pluies dans les 2 mois qui précèdent la récolte (Septembre et Octobre) réduisent significativement le taux de sucre et l'acidité des clémentines et mandariniers.

On a également constaté, qu'au cours de la récolte des échantillons manipulés, les niveaux l'acidité diminuent et l'indice de maturité augmente (figure 24). Ces résultats joignent ceux trouvés par Hamanitene (1989), Aular *et al.* (2009) et Naim, (1994), qui ont constaté que le rapport E/A est faible chez les fruits à cueillette précoce comparés à ceux à cueillette tardive.

Normand (1992), a ajouté aussi que les niveaux d'acide organique diminuent avec la maturité du fruit et cette diminution est positivement corrélée avec les moyennes de température durant la saison

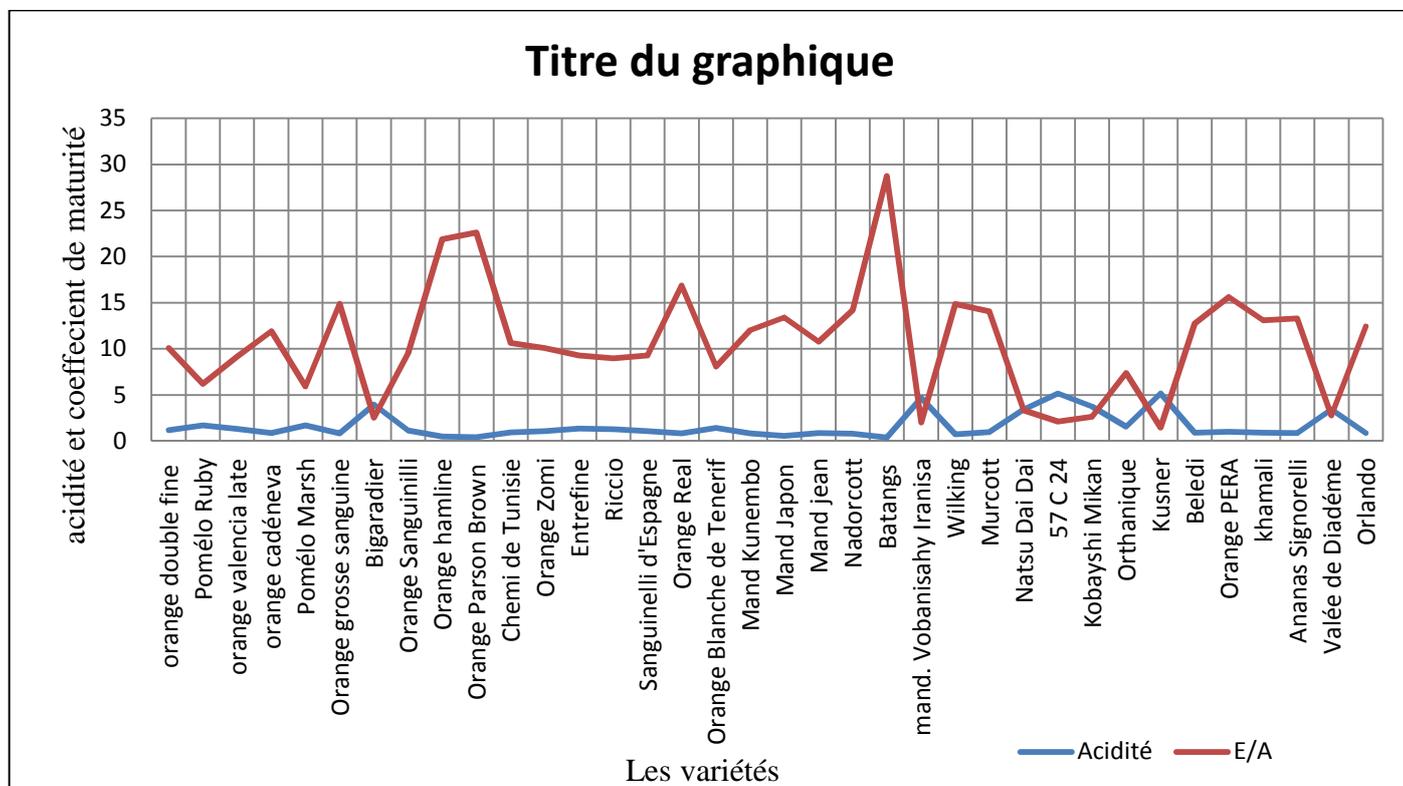


Figure24 : La variation de l'acidité et de l'indice de maturité selon les échantillons expérimentés

#### 4. La fermeté, l'indice de coloration et l'épaisseur de l'écorce

L'évaluation de certains paramètres pomologiques à savoir, la coloration de l'écorce des fruits (Indice de coloration), l'épaisseur de l'écorce et la fermeté, de certaines variétés d'agrumes récoltés à partir d'Afourer et la Parcelle II (tableau3), ainsi que l'étude des analyses statistiques réalisés a montré qu'il ya une différence significative entre les variétés et qui est bien illustré par le tableau. Des études de Mars *et al*, (1994), ont montré que la position des fruits a un effet sur l'épaisseur de l'écorce et le nombre de graines. La maturation du fruit est associée à des changements aux niveaux de la texture et de la coloration des fruits.

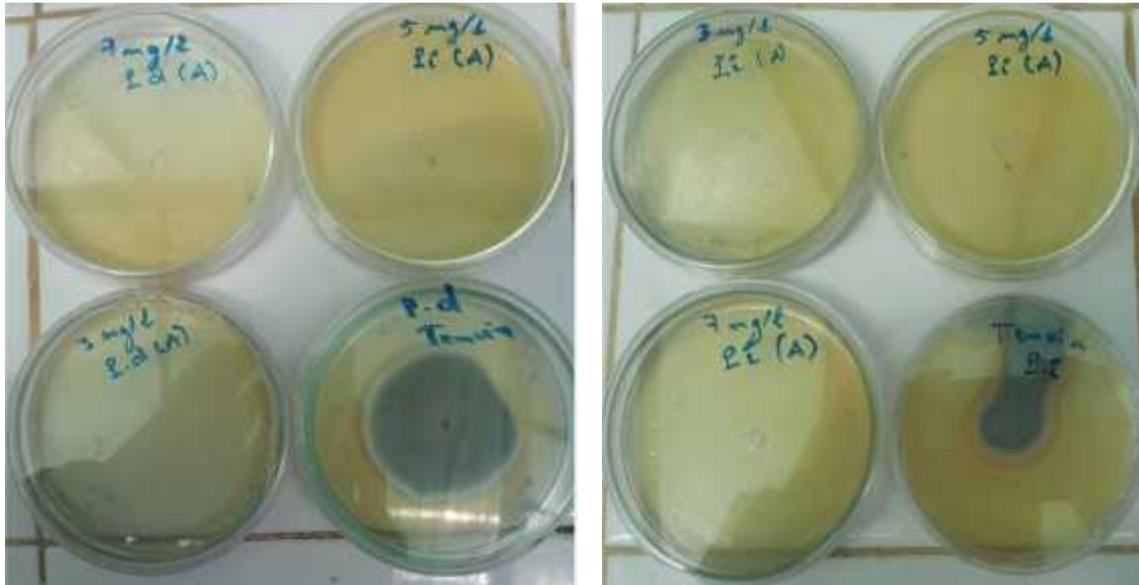
Tableau3. Variation de la fermeté, l'indice de coloration et l'épaisseur de l'écorce chez certaines variétés d'Afourer et de Parcelle II

nom de variété	Moyenne de l'IC	Moyenne de fermeté	épaisseur de l'écorce (cm)
<i>orange double fine</i>	16,28	10,09	5,9
<i>orange valencia late</i>	9,425	9,75	4,1
<i>orange cadénera</i>	14,291	4,835	4
<i>Pomélo Marsh</i>	-0,509	5,495	3,6
<i>Orange grosse sanguine</i>	18,859	4,525	5
<i>Kusner</i>	0,5765	6,075	5,5
<i>Beledi</i>	11,345	5,415	5,1
<i>Orange PERA</i>	8,891	8,185	4,7
<i>khamali</i>	10,229	5,705	3,9
<i>Ananas Signorelli</i>	12,637	4,995	4,5
<i>Valée de Diadème</i>	9,8	3,775	6,1
<i>Orlando</i>	14,686	2,51	4,5

### III. L'effet de traitement curatif et préventif avec ACUADEX C sur *P. digitatum* et *P. italicum*

#### 1. La détermination des CMI

Comparativement au témoin, les boites inoculées par la suspension conidiale mélangé avec les différentes concentrations du produit de traitement, n'ont révélé aucun développement des spores fongiques aussi bien pour *P. digitatum* que pour *P. italicum* (figure25)



Figures25 : les boites inoculées par les différentes concentrations du produit de traitement avec la suspension conidiale de *P. digitatum* (à gauche) ou *P. italicum* (à droite)

Le développement des spores fongiques dans les boites du témoin inoculées par les suspensions conidiales seules et l'absence de croissance dans les boites inoculés par la suspension conidiale traitée par les différentes concentration (3, 5 et 7mg/l) du produit ACUADEX C, nous a permis de dire que ce produit exerce un effet inhibiteur sur la croissance des spores de *P. digitatum* et *P. italicum* *in vitro*.

3mg/l est la pus faible concentration qu'on a testé, la concentration minimale inhibitrice CMI peut être égale ou inferieur à cette concentration, d'où la nécessité de tester d'autres concentrations plus petites pour préciser la CMI exacte.

Cerioni. , *al*, (2013) ont trouvé qu'une concentration de 1 mg/l de l'hypochlorite de sodium NaClO, mélangé avec le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le CuSO<sub>4</sub>, empêche à 100% la croissance des conidies.

## 2. Dosage in vivo

### a. *Penicillium digitatum*

En analysant l'ensemble des résultats obtenus, on a trouvé que les deux traitements curatif et préventif ont donné des pourcentages de protection qui augmentent en augmentant la dose du produit de traitement (ACUADEX), on peut dire donc que le pourcentage de protection est proportionnel à la concentration de produit (figure26).

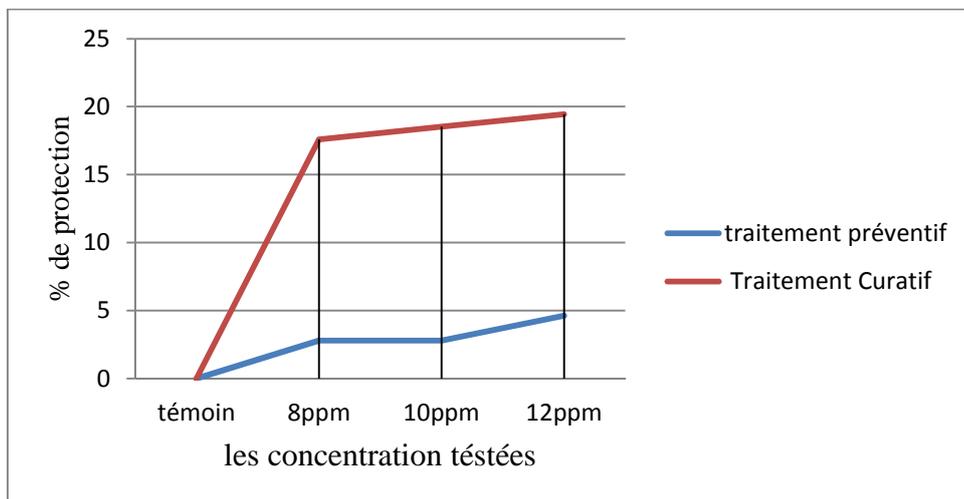


Figure26 : La variation de pourcentage de protection en fonction des concentrations du produit pour un traitement curatif et préventif contre *P. digitatum*

Aussi en comparant le traitement curatif et le traitement préventif, il apparaît clairement que les pourcentages de protection obtenus par un traitement curatif sont plus élevés à ceux obtenus pour le traitement préventif (figure 26 et 27).



Figure27 : L'aspect des lésions sur les fruits traités par ACUADEX après 7jours d'incubation

Une étude de Smilanick et al., (2002) a quantifié la toxicité du chlore aux spores de *Penicillium digitatum* et a montré qu'une concentration de 200 µg de chlore libre par ml d'eau à un pH de 8,3, élimine 95 % des spores *Penicillium digitatum* en 180 secondes à 5 °C comparativement à 32 secondes à 24 °C. Ils ont ajouté aussi dans le même contexte que

l'augmentation de la température a un effet accélérateur de la destruction des spores par le chlore. Un accroissement du pH augmente le temps de contact nécessaire pour éliminer 95 % des spores.

b. *Penicillium italicum*

Comparativement aux témoins dont le pourcentage de protection est nul, on peut dire que le traitement à la fois curatif et préventif par ACUADEX C à un effet inhibiteur sur la croissance de *P.italicum in vivo*, et que les pourcentages de protection varient de manière proportionnelle aux concentrations du produit utilisé pour le traitement (figure28).

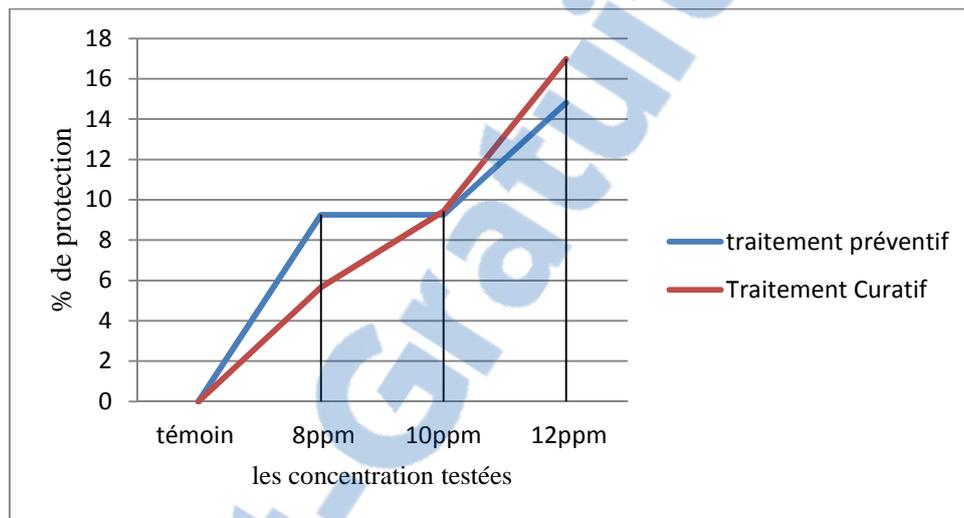


Figure28 : La variation de pourcentage de protection en fonction des concentrations du produit pour un traitement curatif et préventif contre *P.italicum*

Une autre étude réalisée sur l'eau de javel à base de chlore a mis en évidence qu'une eau de Javel à 12°chl diluée cent fois, détruit toutes les champignons en trente secondes (Guy DURLIAT 1997).

## Conclusion générale

Le présent travail réalisé dans le cadre du projet de fin d'étude a porté sur la caractérisation de la sensibilité de 36 variétés d'agrumes aux pourritures en post-récolte, plus précisément ceux dues à *P. italicum* et *P. digitatum*. L'étude bibliographique préalablement réalisée sur ces deux champignons a montré qu'ils sont responsables de plus de 90% des pertes d'agrumes d'origine fongique, et que l'on disposait de peu de méthodes efficaces de lutte pour traiter ces champignons. Pour cette raison, on a réalisé dans un premier temps une étude de l'aptitude de conservation pour mieux comprendre le comportement des différentes variétés étudiées après inoculation par les suspensions conidiales des deux champignons.

La comparaison des différentes surfaces de nécrose dues à *P. digitatum* et à *P. italicum*, ainsi que leur analyse statistique, a permis de mettre en évidence la présence de variétés résistantes (Riccio, Entrefine) et autres sensibles ( Kobayshi Mikan, orange Parson Brown) suite à la différence significative entre les différentes surfaces, Donc cette étude constitue dans son principe elle même une méthode de lutte, car en précisant les variétés sensibles à *P. italicum* et à *P. digitatum*, on peut éviter leurs cultures et minimiser donc les pertes. On a révélé aussi que l'ensemble des variétés testées sont plus sensibles à *P. digitatum* que pour *P. italicum*.

Pour comprendre d'avantage les facteurs influençant cette résistance on a effectué une analyse de qualité des 36 variétés d'agrumes, en étudiant huit paramètres; la fermeté, la coloration, le poids des fruits, le pourcentage de jus, l'acidité, la teneur en sucre, le coefficient de maturité et l'épaisseur de l'écorce. L'évaluation des résultats obtenus après l'analyse de ces composants a montré qu'il ya une différence entre les valeurs obtenues pour chaque variété, ce qui nous a permis de juger qu'ils sont impliqués dans les mécanismes de résistance des ces variétés. La variété « Kobayshi Mikan » s'est révélé sensible aussi bien pour *P. digitatum* avec une surface de nécrose de 120 cm<sup>2</sup> que pour *P. italicum* (69 cm<sup>2</sup>)

Par ailleurs, nous avons montré que le test *in vitro* du produit désinfectant ACUADEX C présente un effet antifongique contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*. Il a inhibé complètement la croissance mycélienne des deux champignons à une concentration de 3mg/l. Le test *in vivo* par un traitement curatif et préventif a révélé une importante activité antifongique contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*, en termes d'efficacité le traitement curatif est trouvé plus efficace qu'un traitement préventif.

Cette étude a permis donc de caractériser la sensibilité des 36 variétés d'agrumes étudiées vis-à-vis de *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*, et de déterminer les principaux paramètres impliqués dans cette sensibilité. En outre elle a présenté deux méthodes de lutte contre les deux champignons étudiés, une par sélection des variétés résistantes et une autre par l'utilisation d'un produit plus respectueux de la santé humaine et de l'environnement comme une alternative potentielle aux fongicides synthétiques pour le contrôle des maladies de post-récolte des agrumes.

## *Perspectives*

L'étude de la caractérisation de la sensibilité des agrumes aux pourritures en post-récolte nécessite d'être complétée par un certain nombre de travaux. Ainsi, on se propose de :

- Poursuivre l'étude de caractérisation de la sensibilité des différentes variétés étudiées par une extraction, purification et identification des différents huiles essentielles contenus dans l'écorce des fruits et études de leur pouvoir antimicrobien.
- Elargir le spectre d'étude en étudiant d'autres variétés et leurs sensibilités à d'autres champignons (*Geotrochum citri-aurantii*...).

# *Références bibliographiques*

AFNOR Norme ISO 8402

Alireza Shafieizargar, Yahya Awang, Abdul Shukor Juraimi, Radziah Othman, 2012. Yield and fruit quality of Queen Orange [*Citrus sinensis* (L) Osb.] grafted on different rootstocks in Iran. *Australian Journal of Crop Science*. 6 ( 5): 777-783.

Anonyme. (1998). Les agrumes. *Bureau des Ressources Génétiques, plate-forme espèces tropicales et méditerranéennes*

- Anonyme. (2001a). Citrinae classification. EGID-Citrus Network. Janvier 2001. 39p.
- Arras G., 1996.- Mode of action of an isolate of *Candida famata* in biological control of *Penicillium digitatum* in orange fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 8 (3), 191-198.
- Arras, G., De Cicco, V., Arru, S., Lima, G., 1998. Biocontrol by yeasts of blue mould of citrus fruits and the mode of action of an isolate of *Pichia guilliermondii*. *J. Horticultural Science and Biotechnology* 73, 413-418.
- Aular, J.; Aular Rodríguez, J.; Torrealba, C. 2009. Relationship among harvest time and fruit quality of orange from an orchard at Durute, Venezuela. ; Universidad de Oriente Press, Maturin, Venezuela, *Revista Científica UDO Agrícola*, 9 (1): 9-14.
- Bailey J.A & J. W. Mansfield, 1982.- *Phytoalexins*. Blackie and Son Ltd.
- Bailey, G., Carden, M., Clarke, P., & al, e. (2006). *Mythologie : mythes et légendes du monde entier* (de Lodi ed.). Paris.
- Bamforth CW. Perceptions of beer foam. *J. Inst. Brew.* 2000, 106: 229-38.
- Bancroft M.C., P.D. Gardner, J.W. Eckert & J.L. Baritelle, 1984.- Comparison of decay control strategies in California lemon packing houses. *Plant Diseases*, 68,-28.
- Bermejo A, Cano A, 2012. Analysis of nutritional constituents in twenty Citrus cultivars from the Mediterranean area at different stages of ripening. *Food and Nutrition Sciences* . 3 (5): 639-650.
- Blondel L, Cassin J, 1972. Influence of ecological factors on Corsican clementine quality: fluctuations in the dry extract of the juice (preliminary note). *Fruits*, 27, 6, pp 425-432
- Boubaker, H., 1993. Etude des problèmes phytosanitaires des fruits d'agrumes en post-récolte, *Phytopathologie*. Univ. Cadi Ayyad, Marrakech, p. 117.
- Brown, G.E., 1979. Biology and control of *Geotrichum candidum*, the cause of citrus sour rot. *Proc Fla State Hort Soc* 92, 186-189.
- Brown, GE., Eckert, JW., 1988. Compendium of citrus diseases. Whiteside, J.O., Granesy, S.M. et Timmer L.M. (Edits). American Phytopathological Society. 32-38.
- Bull, C., Wadsworth, M., Sorensen, K., Takemoto, J., Austin, R., Smilanick, J., 1998. Syringomycin E produced by biological control agents controls green mold on lemons. *Biological control* 12, 89-95.

Bus V.G., A.J. Bongers & LA. Risse, 1997.- Occurrence of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* resistant to benomyl, thiabendazole, and imazalil on citrus fruit from different geographic origin. *Plant Diseases*, 75, 1098-1100.

Cabezas GM, Rodríguez ECA, 2010. Horticultural techniques for improving orange fruit (*Citrus sinensis* L.) size and quality. *Agronomía Colombiana*, 28, 1: 55– 62.

Campagne de production d'agrumes 2014/2015 en demi-teinte pour le Maroc Jeudi, 12 Février 2015

Cañamás, T.P., Viñas, I., Usall, J., Torres, R., Anguera, M., Teixidó, N., 2008. Control of postharvest diseases on citrus fruit by preharvest applications of biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2 : Part II. Effectiveness of different cell formulations. *Postharvest Biology and Technology* 49, 96-106.

Cano A, Medinaan A, Bermejo A. Bioactive compounds in different Citrus varieties. Discrimination among cultivars. *J. Food Compos. Anal.* 2008, 21 (5): 377-81.

Castro-Lopez, T., Izquierdo, I., Perez, L., 1981. Response of lemons to various harvesting and postharvest treatments. *Proc. Int. Soc. Citriculture.* 2, 737-739.

CEMAGREF (1982). La qualité gustative des fruits. *Cahier du CEMAGREF.* 46: 4p.

Chalutz E. & C.L. Wilson, 1990.- Postharvest biocontrol of Green and blue and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii*. *Plant Diseases*, 74, 134-137.

Ch~rivet A. & C. El Modafar, 1994.- Vascular modifications in *Platanus acerifolia* seedlings inoculated with *Ceratocystis fimbria*/a *l.sp platani*. *Eur. J. For Path.*, 24,1-10.

CIE (1986). Colorimetry. Central Bureau of the Commission Internationale de l'Eclairage Vienne - 2nd ED, Publication CIE n°1: 1-83.

Cohen, E., Coggins, C., W., Eckert, J., W., 1991. Predisposition of citrus fruits to sour rot when submerged in water. *Plant Dis* 75, 166-168.

Cvetnic Z, Vladimir-Knezevic S. Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. *Acta Pharm.* 2004, 54 (3): 243-50.

Domsch, KH., Gams, N., Anderson, NTH., 1980. *Compendium of soil fungi.* Academic Press LTD, London, 859 p.

Droby, S., Cohen, L., Daus, A., Weiss, B., Horev, B., Chalutz, E., Katz, H., Keren-Tzur, M., Shachnai, A., 1998. Commercial testing of *Aspire* : a yeast preparation for the biological control of postharvest decay of citrus. *Biological control* 12, 97-101.

Droby, S., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goldschmidt, E., Porat, R., 2002. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *Phytopathology* 92, 393-399.

Druyne T. Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochem. Syst. Ecol.* 1999, 27 (4): 445-59.

Duprat F, Roudot F, et al. (1991). De l'hétérogénéité des fruits. *Sci Alim* 11: 613-626.

EACCE, 2010. Etablissement Autonome De Contrôle et de Coordination Des Exportations. *Revue Trimestrielle - Campagne 2010-2011 - N° 30.*

Ebel RC, Dozier WA, Hockema B, Woods FM, Thomas R, Wilkins BS, Nesbitt M, McDaniel R, 2004. Fruit quality of Satsuma mandarin grown on the northern coast of the Gulf of Mexico. *American Society for Horticultural Science, Alexandria, USA, HortScience.* 39 (5): 979-982.

Eckert, 1982 : Les maladies d'après récolte des fruits d'agrumes, des produits maraîchers et leur contrôle. University of California USA. *In* : 1<sup>er</sup> Séminaire sur le conditionnement, la conservation et l'emballage des agrumes, Edité par O.C.E, SASMA, IMEC. Casablanca

Eckert, J.W., Ogawa, J.M., 1985. The chemical control of postharvest diseases : subtropical and tropical fruits. *Annual Review of Phytopathology* 23, 421-454.

Eckert, J.W., Brown, G.E., 1986. Postharvest citrus diseases and their control. *Fresh citrus fruits*, 315-360.

Eckert, J.W., Brown, G.E., 1986. Evaluation of postharvest treatments for citrus fruit. *In*: Hickey, K.D. (Ed.), *Methods for Evaluating Pesticides for Control of Plant Pathogens*. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp. 92-97.

Eckert, J.W., Brown, G.E., 1988. Sour rot, *In* : Whiteside, J.O., Garnsey, S.M., Timmer, L.W. (Eds.), *Compendium of Citrus Diseases*. APS Press St Paul MN pp. 37-38.

Eckert, J.W., Ogawa, J.M., 1988. The chemical control of postharvest diseases : deciduous fruits, berries, vegetables and root/tuber crops. *Annual Review of Phytopathology* 26, 433-469.

Eckert, J.W., Eaks, I.L., 1989. Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. *In*: Reuter, W., Calavan, E.C., Carman, G.E. (Eds.), *The Citrus Industry*. DANR. University of California Press, Berkeley, CA, USA, pp. 179-260.

Eckert J.W., 1990.- Impact of fungicide resistance on citrus fruit decay control. *In*: *Managing resistance to agrochemicals*. M.B. Green, H.M. LeBaron & W.K. Moberg (eds.), American Chemical Society, Washington DC, 286-302.

Eckert J.W., J.R Sievert. & M. Ratnayake, 1994.- Reduction of imazalil effectiveness against citrus green mold in California packinghouses by resistant biotypes of *Penicillium digitatum*. *Plant Diseases*, 78, 971-974.

El-Ghaouth A., J.L. Smilanick, G.E. Brown, A. Ippolito, M. Wisniewski & C.L. Wilson, 2000.- Application of *Candida saitoana* and glycolchitosan for the control of postharvest diseases of apples and citrus fruit under semi-commercial conditions. *Plant Diseases*, 84, 243-248.

El Guilli M, Achbani E, Fahad K, Jijakli H, 2009, Biopesticides alternatives à la lutte chimique

El-Goorani M.A., H.M. El-Kascheir, M.T. Kabeel & A.A. Shoeib, 1984.- Resistance to benzimidazole of *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum* isolated from packinghouses and orchards in Egypt. *Plant Diseases*, 68, 100-102.

Elkhamass M., B. Oulahcen, A. Lekchiri, A. Sebbata & Y. Charhabaili, 1994.- Stratégie de lutte contre les maladies de post-récolte des fruits d'agrumes, In : Postharvest pathology and technology for horticultural commodities: recent advances. A. Ait Oubahou & M. El-Otmani (eds.), Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Agadir, Maroc, 388-398.

ENST - TSI. (2006). Les espaces de couleur RVB et Lab. Consulté le 01-02, 2007.

Erasmus Arno, Cheryl L. Lennox b, Ncumisa S. Njombolwana b, Keith Lesar a, Paul H. Fourie, 2015 Curative control of citrus green mould by imazalil as influenced by infection age, wound size, fruit exposure time, solution pH and fruit brushing after treatment

Etxeberria E, Gongalez P, Pozueta Romero J, 2005. Sucrose transport into citrus juice cells. Evidence for endocytic transport system. *J Am Soc Hort Sci*. 130: 269-274.

European Brewery Convention. *Analytica Microbiologica – EBC*. Fachverlag Hans Carl, 2001

Feucht W., D. Treutter & E. Christ, 1992.- The precise localization of catechins and proanthocyanidins in protective layers around fungal infections. *Z. Pflkrankh. Pflschutz.*, 99, 404-413

Fritch H, Griesbach H. Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem*. 1975, 14: 2437-42.

Gibbons S (2008) Phytochemicals for bacterial resistance – strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Med*. 74: 594-602

Goodwin T (1980). *The biochemistry of the carotenoids*. London, Chapman & Hall.

Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Cíz, M., Caspi, A., Libman, I., Trakhtenberg, S., 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food chemistry* 74, 309-315.

- Gray J, Picton S, et al. (1992). Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes. *Plant Molecular Biology*, Kluwer Academic Publishers. 19: 69-87.
- Green RM, Vardi A Galun E, 1986. The Plastone Of Citrus. Physical Map. Variation Among Citrus Cultivars And Species. And Comparison With Related Genera. *Theor. Appl. Genet.* 72: 761-769.
- Gülây Kırbalar F, Tavman A, Dülger B, Türker G. Antimicrobial activity of Turkish Citrus peel oils. *Pak. J. Bot.* 2009, 41 (6): 3207-12.
- Guy D, Jean-Louis VIGNES, Jean-Noël JOFFIN. 1997, L'eau de Javel : sa chimie et son action biochimique
- Hamanitene A, 1989. Contribution à l'étude de l'effet du stade de récolte sur l'opération de diverdissage et de certains paramètres influençant la conservation des agrumes. Mémoire de fin d'étude. Horticulture. IAV. Hassan II, Agadir. 80 pp.
- Handaji N, Ait Haddou M, Ben Azouz A, Kabbage T, Srairi I, Arsalane N, Ben Yahia H, Essagide A, Gaboun F, 2007. Caractérisation et comportement de 35 variants d'agrumes dans la région de Souss Massa. *Al Awamia* ; 121-122: 110-134.
- Holmes, G., Eckert, J., Pitt, J., 1994. Revised description of *Penicillium ulaiense* and its role as a pathogen of citrus fruits. *Phytopathology* 84, 719-727.
- Iglesias DJ, Cercós M, Colmenero-Flores JM, Naranjo MA, Ríos G, Carrera E, Ruiz- Rivero O, Lliso I, Morillon R, Tadeo FR, Talo M, 2007. Physiology of citrus fruiting. *Braz J Plant Physiol*; 19 (4): 333-362.
- Iqbal M, Khan MN, Zafar M, Munir M, 2012. Effect of harvesting date on fruit size, fruit weight and total soluble solids of feutrell's early and kinnow cultivars of Mardan (*Citrus Reticulata*) on the economic conditions of farming community of Faisalabad. *Sarhad J. Agric.* 28 (1): 19-21.
- Jazet Dongmo PM, Tatsadjieu LN, Tchinda Sonwa E, Kuate J, Amvam Zollo PH, Menut C. Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*. *Afr. J. Agric. Res.* 2009, 4 (4): 354-8.
- Jones JDG, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature.* 444: 323-329
- Karabulut O.A., U. Arslan, K. Ilhan & G. Kuruoglu, 2005.- Integrated control of postharvest diseases of sweet cherry with yeast antagonists and sodium bicarbonate applications within a hydrocooler. *Postharvest Biology and Technology*, 37 (2), 135-141.
- Levy Y., Lifshitz J., De Malach Y., David Y. (1999). The response of several Citrus genotypes to high salinity irrigation water. *Hort. Sci.* 34, p. 878–881.

Lloyd J., Kriedemann PE., Aspinall D. (1990). Contrast between Citrus species in response to salinisation: an analysis of photosynthesis and water relations for different rootstock-scion combinations. *Physiol. Plant.* 78, p. 236–246.

Liu FuWen, Liang YinChih, Wang YeeDing, 2012. A simple method of spot-picking for higher quality 'Ponkan' mandarins by selecting locations of the tree. *Journal of the Taiwan Society for Horticultural Science.* 58 (1): 11-18.

LOPEZ CAMELO, A.F.; GOMEZ, P.A.; CACACE, J.E. Modelo para describir los cambios de color en tomate (cv. Tommy) durante la poscosecha. In: CONGRESO ARGENTINO DE HORTICULTURA, 18, 1995. Termas de Río Hondo, Argentina. Resúmenes, ASAHO, p.212.

Loussert R. (1985). Les agrumes. Techniques agricoles méditerranéennes. Paris : Tech. Et Doc. Lavoisier.

Loussert R, 1987. Les agrumes. Edition Lavoisier France, Techniques Agricoles méditerranéennes; Volume 1 (Arboriculture).

Luciana Cerionia, Luisa Rodríguez-Montelongoa, Jacqueline Ramallo, Fernando Eduardo Pradoc, Viviana Andrea Rapisardaa, Sabrina Inés Volentinia (2012), Control of lemon green mold by a sequential oxidative treatment and sodium bicarbonate

Luciana Cerioni, María de los Ángeles Lazarte, Josefina María Villegas, Luisa Rodríguez-Montelongo, Sabrina Inés Volentini 2013. Inhibition of *Penicillium expansum* by an oxidative treatment

Lu R, Guyer DE, et al. (2000). Determination of firmness and sugar content of apples using near-infrared diffuse reflectance. *Journal of Texture Studies* 31: 615-630.

Luro, F., Rist, D., & Ollitrault, P. (2001). Evaluation of genetic relationships in citrus genus by means of sequence tagged microsatellites. *Acta Hort. (ISHS)*, 546, 237-242.

Maas EV. (1993). Salinity and citriculture. *Tree Physiol.* 12, p. 195–216.

Malamy J., J.P. Carr, D.F. Klessig & I. Raskin, 1990. Salicylic acid : a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science*, 250, 1002-1004

Malamy J. & D.F. Klessig, 1992.- Salicylic acid and plant disease resistance. *Plant J.*, 2, 643-654.

Mc Glone VA et Jordan RB (2000). Kiwifruit and apricot firmness measurement by the noncontact laser air-puff method. *Postharvest Biol. Technol.* 19(1): 47-54.

Marcet-Houben, M., Ballester, A.R., de la Fuente, B., et al., 2012. Genome sequence of the necrotrophic fungus *Penicillium digitatum*, the main postharvest pathogen of citrus. *BMC Genomics* 13, 646.

Mars M.; Abderrazak R, Marrakchi M. 1994. Study on quality variability in citrus fruits harvested from the same tree. I. Effects of harvest date, fruit orientation and position in the foliage. *Fruits (Paris)*, 49 (4): 269-278.

Mercier, J., Smilanick, J.L., 2005. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*. *Biological control* 32, 401-407.

Metraux J.P., H. Signer, J. Ryals, E. Ward, M. Wyss-Benz, J. Gaudin, K. Raschdorf, E. Schmidt, W. Blum & B. Inverardi, 1990.-Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, 250, 1004-1006.

Miller W.R., D. Chun, L.A. Risse, T.T. Hatton & T. Hirsch, 1988.- Influence of selected fungicide treatments to control the development of decay in waxed or film wrapped Florida grapefruit. *Proceedings of the sixth International Citrus Congress*, R. Goren & K. Mendel (eds.), Balaban Publishers, Philadelphia, 1471-1477.

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime - Direction de la Stratégie et des Statistiques, 2014

Moreau-Rio MA, Scandella D, et al. (1995). Pêches et nectarines : Image et perception de la qualité, analyse sensorielle. *Infos-CTIFL* 108: 12-17.

Mori A., C. Nishino, N. Enoki & S. Tawata, 1987.- Antimicrobial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 26, 2231-2234.

Moriguchi T, Sanada T, et al. (1990). Seasonal fluctuations of some enzymes relating to sucrose and sorbitol metabolism in peach fruit. *J Amer Soc Horti Sci* 115(2): 278-281.

Murphy Cowan M (1999) Plants as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**: 564-582

Naim Z, 1994. Effet de la date de récolte, du stade de maturité et de l'enrobage à base de polysaccharides sur l'aptitude à la conservation de certaines variétés d'agrumes. Mémoire d'Ingénieur Agronome option Horticulture. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Complexe d'Agadir, 78 p.

Nicolosi E, Deng ZN, Gentile A, La Malfa S, Continella G and Tribulato E, 2000. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* 100:1155-1166.

Normand F, 1992. Premiers résultats des travaux de sélection des agrumes au Nord Cameroun. Fruit; spécial agrumes: 57-163.

Ollitrault, P., & Luro, F. (1997). L'amélioration des plantes tropicales. In A. Charrier, J. Michel, H. Serge & N. Dominique (Eds.), (pp. 13-36)

O. KLARZYNSKI et B. FRITIG : Stimulation des défenses naturelles des plantes. C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie, 324:953–963, 2001.

Ortuno A, Baidez A, Gomez P, Arcas MC, Porrás I, Garcia-Lidon A, Del Rio JA. Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. Food Chem. 2006, 98 (2): 351-8.

Pech JC, Balagué C, Latché A, Bouzayen M, 1994. Postharvest physiology of climacteric fruits : recent developments in the biosynthesis and action of ethylene. Sci Alim, 14 : 3-15.

Palou, L., Usall, J., Munoz, JA., Smilanick, JL., Viñas, I., 2002. Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of clementine mandarins. Postharvest Biology and Technology. 24, 93-96.

Palou, L., Smilanick, J.L., Droby, S., 2008. Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. Stewart Postharvest Review 4, 1-16.

Palou Lluís, 2014 *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* (Green Mold, Blue Mold).50.

Plaza, P., Usall, J., Teixidó, N., Viñas, I., 2003a. Effect of water activity and temperature on germination and growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum* and *Geotrichum candidum*. J. Appl. Microbiol. 94, 549–554.

Prusky, D., 1985. Development, persistence, survival, and strategies for control of thiabendazole-resistant strains of *Penicillium expansum* on pome fruits. Phytopathology. 75, 877-882.

Rastegar S, Rahemi M, 2008. Evaluation of concentration and time of application of gibberellic acid and 2,4-D isopropyl ester on some fruit characteristics in Navel oranges and Clementine mandarin. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources; 11, 42(A): 197-207.

Russo G, Fanizza G, 1991. Genotypic variability and interrelationships among Morphological and biochemical fruit Characters in Mandarins. Proc In. Soc Citriculture; 7: 96-97.

Saligkarias I.D., F.T. Gravanis & H.A.S. Epton, 2002.- Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by the use of epiphytic yeasts *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* strain I- 182. I - In vivo studies. Biol. Control, 25 (2), 143-150.

Samina Khalid, Aman Ullah Malik, Basharat Ali Saleem, Ahmad Sattar Khan, Muhammad Shafique Khalid, Muhammad Amin. 2012. Tree age and canopy position affect rind quality, fruit quality and rind nutrient content of 'Kinnow' mandarin (*Citrus nobilis* Lour × *Citrus deliciosa* Tenora). *Scientia Horticulturae* ; 135:137-144.

Sanchez CD, Blondel L, Cassin J. 1978. The influence of climate on the quality of Corsican clementines. *Fruits*, 33 (12): 811-813.

Sasaki K, Takahashi T. A flavonoid from *Brassica rapa* flower as the UV-absorbing nectar guide. *Phytochem.* 2002, 61 (3): 339-43.

Saunt J, 1990. *Citrus varieties of the world : an illustrated guide*. Ed. Sinclair International.

S. KAUFFMANN, S. DOREY et B. FRITIG : Les stratégies de défense. *Pour la Science*, p. 116–121, janvier 2001.

Schiestl FP, Ayasse M, Paulus HF, Löfstedt C, Hansson BS, Ibarra F, Francke W. Sex pheromone mimicry in the early spider orchid (*Ophrys sphegodes*): patterns of hydrocarbons as the key mechanism for pollination by sexual deception. *J. Comp. Physiol. Sensory Neural Behav. Physiol.* 2000, 186 (6): 567-74.

Scora, R. W. (1988). Biochemistry, taxonomy and evolution of modern cultivated citrus. Paper presented at the Vth International Citrus Congress.

Smilanick, J.L., Aiyabei, J., Mlikota Gabier, F., Doctor, J., Sorenson, D. et B. Mackey. 2002. Quantification of the toxicity of aqueous chlorine to spores of *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citri-aurantii*. *Plant disease* 86 : 509-514.

Smith D.A., 1982.- Toxicity of phytoalexins. In: *Phytoalexins*. Bailey J.A& J.W. Mansfield (Eds), Blackie and Son Ltd, 218-252.

Sommer, N.F., 1982. Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit. *Plant disease* 66, 357-364.

Souty M, Audergon JM, et al. (1990). Abricot : Les critères de qualité. *L'arboriculture fruitière* 430: 16-24.

Suprpta, D., Arai, K., Iwai, H., 1995. Distribution of *Geotrichum candidum* citrus race in citrus groves and non-citrus fields in Japan. *Mycoscience* 36, 277-282.

Sztejnberg A., H. Azaiza & N. Lisker, 1989.- Effect of tannins and phenolic extracts from plant roots on the production of cellulase and polygalacturonase by *Dermatophora necatrix*. *Phytoparasitica*, 17, 49-53.

Taqarort, N., 2008. Recherche de moyens de lutte contre *Penicillium digitatum*, agent de la pourriture verte des agrumes. Thèse de Docteur en sciences. Faculté des Sciences Agadir. Université Ibn Zohr. Agadir. 136 p.

Taqarort N , Bouzerda L , Boubaker H, Ait Ben Aoumar A Boudyach, E, 2013, Lutte biologique contre la pourriture verte des agrumes en postrécolte par l'utilisation de levures antagonistes

Thompson F et Whittier AC (1932). Forms of sugar found in common fruits. Proc Am Soc Horti Sci 9: 16-22.

Trebitch T, Goldschmidt EE, et al. (1993). Ethylene induced de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme in citrus fruit peel. Proc Natl Acad Sci USA 90: 9441-9445.

Tripathi, P., Dubey, N., Banerji, R., Chansouria, J., 2004. Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants in management of post-harvest rotting of citrus fruits. World Journal of Microbiology and Biotechnology 20, 317-321.

Tuset, VM., Lozano, IJ., Gonzales, JA., Pertusa, JF., Garzia-Diaz, MM., 2003. Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). Journal of Applied Ichthyology. 19, 88-93.

Vivien S (1998). Les unités de mesures de la qualité. Infos-Ctifl 141: 34-36.

Walali-Loudyi, D. E. M., Skiredji, A., & Hassan, E. (2003). Fiches techniques : le bananier, la vigne, les agrumes. In T. d. t. e. agriculture (Ed.). Rabat: Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II.

Wilson A. Flavonoids pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridonpoda*) and other lycaenid butterflies. J. Chem. Ecol. 1987, 13 (3): 473-493.

Wisniewski, M.E., Wilson, C.L., 1992. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables : recent advances. HortScience 27, 94-98.

Yalpani N., V. Shulaev & I. Raskin, 1993.- Endogenous salicylic acid levels correlate with accumulation of pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. Phytopathology, 83, 702-708.

Yi-Cai FU, Xi-Peng JIN, Shao-Min WEI, Hui-Feng LIN, Sam K. Ultraviolet radiation and reactive oxygen generation as inducers of keratinocyte apoptosis : Protective role of tea polyphenols. J. Toxicol. Environ. Health 2000, 61 (3): 177-88.

Yu, T., Chen, J., Lu, H., Zheng, X., 2009. Indole-3-acetic acid improves postharvest biological control of blue mold rot of apple by *Cryptococcus laurentii*. Phytopathology 99, 258e264.

Zhang, J., Swingle, P., 2003. Control of green mold on Florida citrus fruit using bicarbonate salts, pp. 375-378.

Webliographie

[www.agro-technologie.com](http://www.agro-technologie.com)

[www.tsi.enst.fr/tsi/enseignement/ressources/mti/RVB\\_ou\\_LAB/html/color\\_space.html](http://www.tsi.enst.fr/tsi/enseignement/ressources/mti/RVB_ou_LAB/html/color_space.html)

<http://web2.eacce.org.ma/Portals/0/Regl543-Norme%20Agrumes.pdf>

<http://www.saveursdumonde.net/>