Soumis le : 17/03/2022

Forme révisée acceptée le : 16/11/2022

Auteur Correspondant: attrassi2@yahoo.fr



# Revue Nature et Technologie

http://www.univ-chlef.dz/revuenatec

ISSN: 1112-9778 - EISSN: 2437-0312

# Étude physiologique de la pourriture des fruits d'agrumes durant la conservation dans quelques marchés de Kenitra (ville marocaine)

# Khaled ATTRASSI

Laboratoire de Recherche en Éducation, Environnement & Santé (ÉES), Centre Régional des Métiers de l'Éducation et de la Formation (CRMEF) Rabat-Salé-Kenitra, Maroc.

#### Résumé

Les fruits d'agrumes sont récoltés en début de maturation pour maximiser la durée de conservation et la période de mise en marché. Toutefois, une conservation prolongée des agrumes les exposent à différentes affections qui peuvent être d'origine physiologique liées le plus souvent au froid, ou d'origine parasitaire, pour l'essentiel des maladies fongiques. Les fruits qui entrent en station de conservation ne deviennent pas tous commercialisables, d'où des pertes financières qui s'ajoutent aux coûts de transport et de stockage. L'étude physiologique de l'effet de deux milieux de culture (Malt Extract Agar (MEA) et Patato dexstrose Agar (PDA)) sur la croissance mycélienne de quatre espèces fongiques (Penicillium italicum, Penicillium digitatum, Aspergillus niger et Acremonium sp.) isolées des fruits d'agrumes pourris en conservation a montré que les deux milieux sont favorables au développement de ces champignons.

Mots-clés: Agrumes; Pourriture; Identification; Étude physiologique.

Physiological study of the rotting of citrus fruits in conservation in some markets of Kenitra (Moroccan city)

#### Abstract

Citrus fruits are harvested at the beginning of ripening to maximize the shelf life and marketing period. However, prolonged storage of citrus exposes them to various conditions that may be of physiological origin, often related to cold, or of parasitic origin, mainly fungal diseases. Not all fruits entering the conservation station become marketable, resulting in financial losses in addition to transportation and storage costs. The physiological study of the effect of two culture media (Malt Extract Agar (MEA) and Patato dexstrose Agar (PDA)) on the mycelial growth of four fungal species (Penicillium italicum, Penicillium digitatum, Aspergillus niger and Acremonium sp.) isolated from rotten citrus fruits in storage showed that both environments are favorable to the development of

Keywords: Citrus; Rot; Identification; Physiological study.

### 1. Introduction

Au Maroc comme dans d'autres pays, les agrumes sont classés parmi les produits agricoles essentiels, en constituant des ressources nationales qui peuvent assurer des revenus et des offres d'emplois dans les zones rurales et périurbaines. De plus, ils coopèrent à la création d'agroécosystèmes plus stables et à la protection de l'environnement, comme ils sont des plantes permanentes [1].

Selon "Citrus World Statistics" la production mondiale d'agrumes en 2021 s'élevée à 158,5 millions de tonnes sur une superficie de 7,5 millions d'hectares

environ. La Chine avec 55,6 millions de tonnes, le Brésil, l'Inde, les états unis et le Mexique étant les principaux pays producteurs [2].

Le Maroc vient en 15ème position parmi les pays producteurs avec un total de 2,35 millions de tonnes au titre de la campagne agricole 2020-2021 contre 2,61 millions en 2018-2019 (figure 1) avec une superficie agrumicole dépassant les 129 000 ha dont 92 000 ha de superficie productive, soit un rendement moyen de 25,5 tonnes/ha [3,4].

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> https://worldcitrusorganisation.org



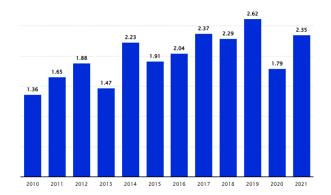


Figure 1 : Production du Maroc en agrumes durant la période 2010 à 2021 [2]

La production marocaine des agrumes a explosé depuis le lancement du plan « Maroc vert », qui a permis à cette production de franchir la barre de deux millions de tonnes en 2015-2016, contre 1,3 millions en 2007-2008; mais malgré ce progrès, le plan vert n'a pas influencé le domaine de l'export, qui est resté au même niveau qu'au début des années 2000, avec près de 600 000 tonnes exportées chaque année sur la période 2015-2020 [4].

Le rythme de l'évolution du secteur agrumicole au Maroc a connu une augmentation étonnante durant les dernières décennies et ceci grâce aux efforts fournis par les agriculteurs et les grands producteurs pour améliorer la qualité du produit afin de rehausser sa place sur le marché international, en vue de présenter un produit compétitif. Ainsi la production des agrumes entre les années 1962 et 2014 a connu beaucoup de progrès grâce aux conditions pédoclimatiques favorables en plus des nouvelles incitations mises en place [5].

En 1962, le total de production était de 504 700 tonnes [6], cette production est arrivée à 2,2 millions de tonnes en 2014 [3,5].

La superficie de production des agrumes au Maroc se répartie de façon aléatoire sur les différentes régions du Royaume, dont 37 % se trouve localisée au niveau de la région de Souss-Massa, suivie de la région de Gharb-Loukkos avec 19 %, suivie de—l'Oriental avec 17 %, Tadla avec 15 % et l'Haouz avec 6 %. Le reste de la superficie, soit 5 % est située dans les régions de Taounate, Khémissat, Fès et Meknès [7].

Les principales variétés cultivées actuellement au niveau du verger agrumicole national sont : Clémentine (26 %), Maroc Late (24 %), Navel (19 %), les 31 %

restantes sont représentées par la Nour, Nules, Afourer, les variétés de demi-saison et autres [6].

Dans ce travail, nous avons étudiés deux paramètres physiologiques de quatre espèces fongiques responsables de la pourriture des pommes en conservation, isolées à partir de lésions des fruits d'agrumes conservées en chambre froide de Kenitra.

## 2. Matériel et Méthodes

# 2.1. Isolement et identification des espèces fongiques

Des oranges pourries de la variété *Citrus sinensis* Osb, de couleur orange et de taille moyenne, provenant de différents marchés de Kenitra sont désinfectées (désinfection totale) préalablement à l'alcool 75°. Les fragments présentant des lésions ont été par la suite découpés et déposés au centre des boîtes de Pétri contenant le milieu Patato dexstrose Agar (PDA) additionné de chloramphénicol pour empêcher le développement des bactéries.

Une fois les colonies fongiques sont bien développées, un fragment de chaque colonie est repiqué plusieurs fois sur de nouvelles boites de la gélose PDA afin d'obtenir des cultures pures. Des préparations microscopiques sont réalisées à partir des cultures pures (dépôt d'un fragment mycélien dans-une goutte d'eau distillée entre lame stérile et lamelle) et observées sous microscope optique. L'identification des espèces fongiques isolées a été réalisée en se basant sur leurs caractères morphologiques et microscopiques (influence de la température et de la composition du milieu de culture sur la croissance mycélienne) [8]. Les images sont prises à l'aide d'un microscope optique (Leica DM750 équipé d'une caméra intégrée).

# 2.2. Études physiologiques

Pour cerner l'effet de quelques paramètres physiologiques sur la croissance des souches testées, nous avons procédé à l'étude de l'influence de la température et de la composition du milieu de culture sur leur croissance.

# 2.2.1. Milieux de culture

Deux milieux de culture ont été utilisés pour tester la croissance des moisissures isolées des agrumes, à savoir les milieux PDA et MEA.

Le milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar) est constitué de 200 g de pomme de terre, 15 g d'agar et de 20 g de saccharose ; il est mélangé dans une fiole d'erlenmeyer avec 1000 mL d'eau distillée [9].

Le milieu MEA est composé de 15 g d'extrait de malt, 15 g d'agar et 1000 ml d'eau distillée [9-11].

Après stérilisation dans un autoclave à 120 °C pendant 20 minutes, les deux milieux sont ensuite coulés dans des boîtes de Pétri et ensemencés par des fragments de thalles fongiques après solidification, et incubées à 25 °C pendant dix jours [19].

Les milieux de culture sont additionnés de 100 mg.L<sup>-1</sup> de chloramphénicol comme antibiotique pour inhiber la prolifération des bactéries.

2.2.2. Effet de la composition du milieu de culture sur la croissance des moisissures

Deux milieux de culture sont testés pour évaluer la croissance mycélienne des champignons. Ce sont les milieux PDA et MEA.

Pour chaque moisissure, un disque de la culture fongique de 5 mm de diamètre est placé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu de culture à tester. Les cultures sont ensuite incubées dans une étuve à 25 °C et les mesures du diamètre de la colonie fongique sont prises d'une façon quotidienne durant 14 jours, chaque test est répété 3 fois [4].

# 2.2.3. Effet de la température sur la croissance des moisissures

Des disques mycéliens, issus de cultures âgées de dix jours, sont placés dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA; ces cultures sont incubées à différentes températures (4, 10, 15, 20, 25 et 30 °C). Les mesures de diamètres sont prises chaque 24 h afin de tester l'influence qu'exerce la température sur la croissance de chaque moisissure. Chaque test est répété trois fois.

# 3. Analyses statistiques

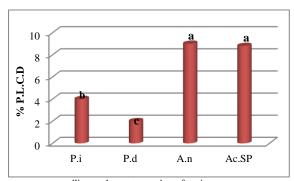
Le traitement statistique des résultats des taux de croissance mycélienne<sup>2</sup> ont été réalisées par le logiciel XLSTAT© (version 2016)<sup>3</sup> avec le test de Duncan (Multiple Range Test) au seuil de 5 %.

#### 4. Résultats et Discussion

A partir des fruits d'agrumes pourris au moment de la conservation, nous avons pu isoler et identifier plusieurs agents fongiques responsables de pourritures d'agrumes. Ainsi, quatre espèces fongiques sont identifiées à partir des lésions de quatre oranges pourries : *Penicillium italicum, Penicillium digitatum, Aspergillus niger* et *Acremonium sp.* L'identité de toutes les espèces fongiques isolées sera confirmée par des études phyllogénétiques.

#### 4.1. Effet du milieu de culture

Les figures 2 et 3 présentent les résultats de l'effet des milieux de culture sur la croissance de quatre espèces de champignons. Il apparait que les milieux PDA et MEA sont favorables à la croissance mycélienne de la majorité des moisissures ; ces milieux permettent une croissance moyenne de *P. italicum* et *P. digitatum*; cependant l'*Acremonium sp* et *A. niger* ont montré une bonne croissance sur ces deux milieux de culture.



mycélienne de quatre espèces fongiques.

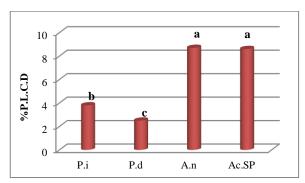
P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

Figure 2: Influence de milieu de culture MEA sur la croissance

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Ou P.I.C.D : Pourcentage d'Inhibition de la Croissance Diamétrale (P.I.C.D) égale à calculé par la formule P.I.C.D = [(Dt-De)/Dt]×100 avec Dt le diamètre moyen des colonies témoins et de le Diamètre moyen des colonies traitées.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> <u>https://www.xlstat.com/fr/</u>



P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

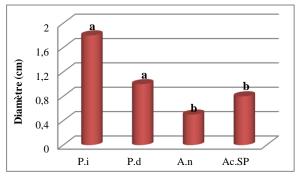
Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

Figure 3 : Influence de milieu de culture PDA sur la croissance mycélienne de quatre espèces fongiques.

### 4.2. Effet de la température

Les résultats de l'effet de la température sur la croissance des espèces fongiques isolées sont présentés sur les figures de 4 à 9, où il en ressort que les moisissures testées appartiennent à deux groupes physiologiques différents selon leurs températures optimales de croissance : thermophile qui préfère croitre à des températures élevées tel que *Aspergillus niger* dont la température optimale avoisine 30 °C, et mésophiles, avec des températures optimales situées entre 20 et 25 °C, comme : *P. italicum* et *P. digitatum* qui se développent mieux à 20 °C, alors que *A. niger* et *Acremonium sp.* Préfèrent des températures voisines de 25° C.

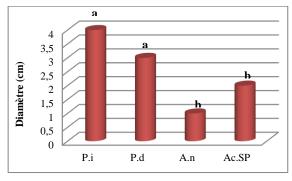
En effet, chaque espèce fongique présente un intervalle de température qui est convenable à son développement.



P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

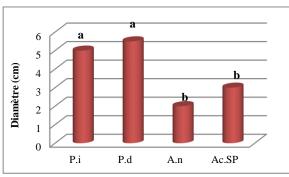
Figure 4 : Effet de la température 4 °C sur la croissance mycélienne des différentes moisissures testées.



P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

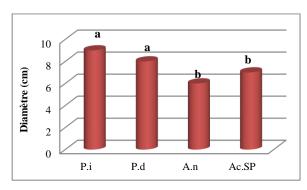
Figure 5 : Effet de la température 10 °C sur la croissance mycélienne des différentes moisissures isolées.



P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

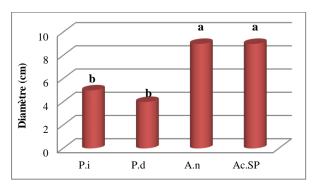
Figure 6 : Effet de la température 15 °C sur la croissance mycélienne des différentes moisissures isolées.



P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

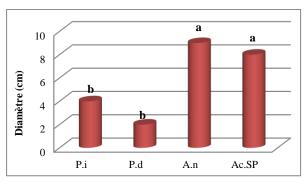
Figure 7 : Effet de la température 20 °C sur la croissance mycélienne des différentes moisissures isolées.



P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de  $5\,\%$ .

Figure 8 : Effet de la température 25 °C sur la croissance mycélienne des différentes moisissures isolées.



P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums SP

P.i= Pinicillium italicum; A.n= Aspergillus niger; P.d=Pinicilium digitatum; Ac.SP= Acremoniums sp.

Les taux ayant la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

Figure 9 : Effet de la température 30 °C sur la croissance mycélienne des différentes moisissures isolées.

Plusieurs auteurs ont rapportés que les *Penicillium* se développent à des températures modérées de l'ordre de 20 à 27 °C [12-15]; cependant la température optimale de croissance d'*Aspergillus niger* varie généralement de 25 à 30 °C; cette moisissure peut continuer à croitre jusqu'à 42 °C [15]. Quant aux *Acremoniums* leurs températures optimales de croissance varient de 20 à 30 °C [16].

Des résultats similaires ont été signalés chez *Alternaria alternata* et *Penicillium expansum* [16]. D'autres travaux ont montré que les optimums de germination, de croissance mycélienne et de sporulation se situent entre 25 et 30 °C pour *Alternaria alternata* [17-19].

### 5. Conclusion

Les agrumes sont riches en eau et en sucres facilement métabolisables par les moisissures. Dans la première partie de ce travail nous avons procédé à l'isolement de quelques moisissures responsables de la détérioration des agrumes; les résultats de leur identification nous ont permis de reconnaitre les espèces suivants: *Penicillium italicum, Penicillium digitatum, Aspergillus niger* et *Acremonium sp.* qui se sont révélés tous capables de provoquer des pourritures chez les agrumes.

Pour bien se développer, les champignons exigent des températures d'incubation et des milieux de culture de composition chimique convenables. Ces deux facteurs influencent les étapes de leur cycle de champignons développement. Les étudiés développent bien sur les milieux PDA et MEA avec des différences non significatives dans leurs vitesses de croissance dans les deux milieux; de même la température influence sur le développement de Penicillium italicum, Penicillium digitatum, Aspergillus niger et Acremonium sp. qui se développent bien à 20°C et 25 °C, alors que la croissance d'Aspergillus niger est maximale à 30 °C.

### Références

- [1] FAO, 2003; Groupe Intergouvernemental sur les Agrumes, Systèmes de Production de Plants D'Agrumes Sains à Cuba; ccp: ci 03/10.14p. Disponible en ligne: https://www.fao.org/publications/card/en/c/200674d8-2f8b-51be-8703-33a3ad1e2743/ (consulté le 12/02/2022)
- [2] Statistica 2023. URL: <a href="https://www.statista.com/statistics/1214221/production-volume-of-citrus-fruits-in-morocco/">https://www.statista.com/statistics/1214221/production-volume-of-citrus-fruits-in-morocco/</a>. (consulté le 12/01/2023)
- [3] Harbouze R., Pellissier J.-P., Rolland J.-P., Khechimi W., Rapport de synthèse sur l'agriculture au Maroc. [Rapport de recherche] CIHEAM-IAMM. 2019, pp.104. ffhal-02137637v2. https://hal.science/hal-02137637/document
- [4] https://maroccitrus.com/statistiques-2/ (consulté le 02/03/2022)
- [5] Dilami A., 2016; L'ECONOMISTE. Disponible en ligne: https://leconomiste.com/sites/default/files/eco7/public/special\_ siam\_2016.pdf (consulté le 16/03/2022)
- [6] Chapot H, LE citronde borneo, Al Awamiam 13 (4) (1964): 137–153. <a href="https://www.inra.org.ma/fr/content/le-citron-de-borneo">https://www.inra.org.ma/fr/content/le-citron-de-borneo</a> (consulté le 14/02/2022)
- [7] Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, 2012; Situation de l'Agriculture MAROCAINE - N°10; Dossier, Produits de terroir: une stratégie d'action le long de la chaine de valeurs [Texte imprimé].
- [8] Samson R.A., Hoekstra E.S. and Frisvad J.C., 2004; Introduction to Food- and Airborne Fungi. 6<sup>th</sup> edition. CBS, Utrecht, The Netherlands. ISBN: 9070351528.

- [9] Pitt J.I., 1988; Laboratory guide to common *Penicillium* species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation. Division of Food Processing. 187 p. North Ryde, N.S.W., Australia. ISBN: 9780643048379 et 0643048375
- [10] Botton B., Burton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.R., Larpent J.P. et al., 1990, Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, Édition Masson, 511 p. ISBN: 9782225819872 et 2225819874.
- [11] Davet P. et Rouxel F., 1997; Détection et isolement des champignons du sol. Édition INRA, Paris, 203 p. ISBN: 9782738007315 et 2738007317
- [12] Moreau C., 1980; Le Penicillium roqueforti, morphologie, physiologie, intérêt en industrie fromagère, mycotoxines. (Révision bibliographique); Le Lait, INRA Editions, 60 (595 596) (1980): 254-271. Disponible en ligne: <a href="https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00928855">https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00928855</a> (consulté le 15/02/2022)
- [13] Molimard P., Vassal L., Spinnler H., 1995; Suivi de croissance de *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum* en culture pure et en association au cours de l'affinage de fromages expérimentaux à pâte molle de type camember; Le Lait, INRA Editions, 75 (1) (1995): 3-16. Disponible en ligne: <a href="https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00929415">https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00929415</a> (consulté le 18/02/2022)
- [14] Bensoussan M., Charpentier C., Roux B., Guilmart A. et Dantigny P., Effets de la température et de la teneur en CO<sub>2</sub> de l'ambiance sur la croissance de moisissures d'altération de la vigne, réchauffement climatique, quels impacts probables sur les vignobles ? Global warming, which potential impacts on the vineyards? 28-30 mars 2007 / March 28-30, 2007. Disponible en ligne:

https://chaireunesco-vinetculture.u-

bourgogne.fr/colloques/actes\_clima/Actes/Article\_Pdf/Bensoussa n.pdf (consulté le 12/06/2022)

- [15] Tabuc C., 2007, « Flore Fongique de Différents Substrats et Conditions Optimales de Production des Mycotoxines ». Thèse doctorat, Université de Bucarest, Institut National Polytechnique de Toulouse. 190p. Disponible en ligne: <a href="https://core.ac.uk/download/pdf/19938135.pdf">https://core.ac.uk/download/pdf/19938135.pdf</a> (consulté le 02/03/2022)
- [16] Peberdy J.F., 2013, Penicillium and Acremonium. Springer Science & Business Media. Biotechnology handbooks: p. 57. 298. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1986-1
- [17] Selmaoui K., 1999, «Étude d'un complexe fongique responsable de la pourriture des pommes en conservation. Application de quelques moyens de lutte chimique ». Thèse Doct. Univ. Ibn Tofaïl, Fac Sci. Kenitra, Maroc, 175 p.
- [18] Hasijà S.K., Physiological studies of Alternaria citri and A. tenuis, Mycologia, 62 (2) (1970): 289-295. https://doi.org/10.1080/00275514.1970.12018967
- [19] Lamarque C., Étude comparée de l'évolution des Alternaria du tournesol en Australie et en France [Alternaria helianthi, Alternaria tenuis (alternata)], Phytoma, (393) (1987): 24-27.