

ETUDE DE TRAITEMENTS A BASE D'ORTHOPHENYLPHENOL CONTRE LES MOISSURES DES AGRUMES

A. VANDERWEYEN, R. HUET et A. LEDERGERBER

SOMMAIRE

Introduction
Présentation du matériel
Plan et réalisation de l'essai
Analyses, examens et tests
Discussion
Conclusions

Introduction

De nombreux champignons parasitent les agrumes. Parmi eux, ceux qui se développent sur les fruits en cours de transport occasionnent des dégâts pouvant amener la perte de cargaisons entières. Par leur présence fréquente, *Penicillium digitatum* SACCARDO et *P. italicum* WEHMER, responsables des moisissures verte et bleue, se montrent les plus dangereux.

Les importateurs d'oranges tolèrent, à l'arrivage, un maximum de 4 % de fruits pourris dans une cargaison. Au-delà de cette limite, ils

peuvent rompre le contrat qui les lie aux exportateurs. On comprend bien, dès lors, que ceux-ci soient amenés à prendre des mesures pour éviter des pertes exagérées.

Les traitements réalisés dans ce but consistent le plus souvent en une désinfection superficielle des fruits par trempage dans un bain fongicide.

La législation des pays importateurs interdit l'emploi de certaines matières actives. Parmi les substances admises, les formules à base d'orthophénylphénol ont été adoptées par de nombreux conditionneurs marocains.

La Station de base de conservation par le froid, et le Laboratoire de Pathologie de la Station centrale de recherches sur les agrumes ont réalisé, en collaboration, une étude expérimentale de certains de ces produits.

On a cherché, notamment, à mesurer l'efficacité de trois formulations commerciales à base d'orthophénylphénol, utilisées selon le mode d'emploi préconisé par leur fabricant. Une attention particulière a été portée sur l'action du rinçage qui suit le traitement. Ce rinçage, que la loi des pays importateurs rend pratiquement obligatoire, est pratiqué non seulement dans un but d'hygiène, les sels d'orthophénylphénol pouvant présenter une certaine toxicité, mais aussi afin d'éviter les brûlures qu'une trop forte concentration de produit provoquerait en certains endroits de l'épiderme du fruit, rendant celui-ci impropre à la vente.

On désire mesurer l'effet de ce rinçage sur la quantité de matière active déposée sur le fruit, et, partant, sur l'efficacité du traitement dans la suite de l'entreposage et du transport.

Présentation du matériel

1. Produits fongicides

Trois formulations à base d'orthophénylphénol, dans le commerce au Maroc, ont été comparées *. De composition similaire, ces produits ne diffèrent entre eux que par la présence d'adjuvants dont la nature n'a pas été divulguée. Leur formule générale se présente comme suit :

* Les produits fongicides ont été aimablement fournis par les Sociétés suivantes :

- SEPPIC-Maroc,
- Compagnie des produits chimiques et métallurgiques du Maroc,
- RETARO-Maroc.

Orthophénylphénate de sodium	40 %
Hexaméthylène tétramine	20 %
Soude	8 %
Ethylène diamine tétracétate de sodium (E.D.T.A.)	4 %
Eau	q. s. %

L'action fongicide de la formulation est due à l'orthophénylphénol. En réalité, il existe un équilibre entre la forme phénol et phénate de soude de ce composé et cet équilibre est réglé par la concentration en sodium de la solution et aussi par la concentration en hexaméthylène tétramine.

L'orthophénylphénol brûle gravement les écorces d'agrumes aussi limite-t-on sa concentration en élevant le pH de la solution. Pour éviter les risques de brûlures d'écorces, il ne faut pas descendre en dessous de $\text{pH} = 11,7$.

L'hexaméthylène tétramine joue un rôle protecteur contre les effets nocifs de l'orthophénylphénol. Elle tamponne la solution et diminue la concentration en orthophénylphénol par formation de sel insoluble [2].

L'E.D.T.A. adoucit l'eau du bain. Certains fournisseurs adaptent sa concentration en fonction de la dureté des eaux de la région où se font les traitements.

Les produits utilisés dans nos essais seront représentés par les lettres A, F et R.

2. Fruits

Les essais ont été réalisés avec des oranges Hamlin provenant de la Station expérimentale horticole de Marrakech. Il s'est écoulé un intervalle de 5 jours entre la cueillette et le traitement fongicide.

Caractéristiques des fruits :

Poids moyen	116 g
Rendement en jus	41 %
Extrait sec	11,9 %
Acidité	14,5 g d'acide citrique par litre
Indice de maturité	$= \frac{\text{E.S.}}{\text{A}} = 8,2$

Plan et réalisation de l'essai

Après lavage et broissage, les oranges sont réparties en 3 lots de 80 kg devant subir les divers traitements, et un lot supplémentaire de

40 kg constituant le témoin qui n'est soumis à aucune désinfection.

Chaque lot de 80 kg est plongé, durant 5 minutes, dans 40 litres d'une solution à 5 % du produit A, F ou R, à la température ambiante de 18°C.

Ensuite, ces lots sont partagés en 2 parties égales de 40 kg, dont l'une est immédiatement rincée par trempage dans 80 litres d'eau de ville à température ambiante de 18°C, tandis que l'autre est laissée telle quelle sans rinçage. Aucun broissage n'a lieu après traitement.

Le plan de l'essai, qui comporte donc au total 7 lots de 40 kg de fruits, peut se résumer dans le TABLEAU suivant :

TABLEAU I
Plan de l'essai

PRODUITS	DÉSIGNATION DES TRAITEMENTS *	
	Sans rinçage	Avec rinçage
A	Lot A	Lot AR
F	Lot F	Lot FR
R	Lot R	Lot RR
Témoin	Lot T	

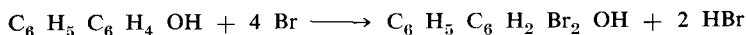
* Les traitements ont été réalisés le 6 janvier 1964, et les fruits conservés ensuite à une température d'environ 15°C.

Analyses, examens et tests

1. Contrôle des produits et des bains

Les produits commerciaux sont mis en solution à 5 %, concentration préconisée pour le trempage des fruits.

La fonction phénol de l'orthophénylphénol est dosée chimiquement par bromométrie suivant la réaction :



Le résultat est exprimé dans le TABLEAU II en orthophénylphénate quadrihydraté. Un dosage identique est réalisé après le passage des fruits.

TABLEAU II
Caractéristiques des bains

TRAITEMENTS	CONCENTRATION DU BAIN EN ORTHOPHÉNYLPHÉNATE		pH DU BAIN	
	Avant trempage	Après trempage	Avant trempage	Après trempage
A	1,90	1,83	12,00	12,00
F	1,88	1,86	12,08	12,05
R	1,86	1,83	11,97	12,02

2. Résidus d'orthophénylphénol retenus par le péricarpe

Exécutée d'après la technique de HARVEY & PENKETH [1], cette analyse comprend une extraction de l'orthophénylphénol par le cyclohexane, puis une réextraction par la soude à partir de la solution de cyclohexane, enfin une mesure d'absorption au spectrophotomètre, aux longueurs d'onde de 3000 et 3200 Å.

Au cours de cette étude, le cyclohexane a été remplacé par l'hexane normal qui s'émulsionne moins facilement.

A partir d'un échantillon de 10 fruits pesés, on pèle le flavedo que l'on pèse également, et l'on procède à l'extraction sur une quantité de 50 grammes.

L'extraction faite sur des fruits non traités montre qu'une absorption de base assez constante existe aussi bien à 3000 qu'à 3200 Å. Il a été tenu compte de cette absorption de base dans les calculs et dans l'évaluation de la précision des résultats.

TABLEAU III
Résidus d'orthophénylphénol après traitement

TRAITEMENTS	RÉSIDUS D'ORTHOPHÉNYLPHÉNOLE *	
	9 JOURS APRÈS TRAITEMENT	16 JOURS APRÈS TRAITEMENT
A	28,2	22,3
AR	8,5	3,0
F	47,3	31,3
FR	6,5	3,2
R	39,0	32,9
RR	10,0	4,1

* Les résultats sont exprimés en mg d'orthophénylphénol par kg de fruits frais.

3. Examen de l'état des fruits

Après le traitement, les fruits sont conservés en paniers métalliques.

Plusieurs comptages du nombre de fruits pourris ont lieu pendant la période de conservation, laquelle s'étend du 6 janvier au 13 février 1964.

Le nombre de fruits par lot de 40 kg variant de 336 à 377, quoique la répartition ait été faite strictement au hasard, les résultats des examens sont donnés ci-dessous en pourcentage de fruits pourris.

TABLEAU IV
Evolution de la pourriture après traitement

TRAITEMENTS	NOMBRE DE FRUITS POURRIS *			
	9 jours	16 jours	25 jours	38 jours
A	0	0	0,5	1,4
AR	0	0	1,5	6,8
F	0	0,6	1,5	2,1
FR	0	1,4	2,5	9,8
R	0	0,3	1,7	6,6
RR	0	0,6	2,2	5,3
T	6	10	21	58

* Ce nombre est exprimé en pourcentage du nombre total.

Lors de l'examen du 15 janvier 1964, on constate que tous les fruits traités sont apparemment indemnes, mais que, parmi les lots non lavés (A, F et R), de nombreux fruits portent des traces de brûlures.

Ces brûlures se présentent sous l'aspect de taches rougeâtres, atteignant fréquemment une dimension d'un centimètre. Elles sont parfois accompagnées d'un dépôt blanc cristallin en auréole. Ces brûlures et ces dépôts se remarquent essentiellement aux points de contact entre fruits, c'est-à-dire aux endroits où le séchage se fait le plus lentement et où la matière active a tendance à se concentrer.

4. Test Benlloch

Le test Benlloch permet de mesurer la protection des fruits due au fongicide et de comparer divers fongicides entre eux.

Les fruits sont mis en présence d'un inoculum homogène et la variation dans le taux de pourriture est observée au bout de quelques jours en prenant pour base l'état dans lequel se trouvent les fruits témoins non désinfectés.

Dans nos essais, la méthode de travail s'est écartée quelque peu de la technique fondamentale du test Benlloch, telle que la décrit MOREAU [3].

Le lendemain du traitement fongicide, 20 oranges sont prélevées au hasard dans chacun des sept lots. A l'aide d'un scalpel, on blesse le péricarpe de chaque fruit selon quatre lignes parallèles d'environ 4 cm de longueur, espacées de 1 cm, puis selon quatre lignes semblables perpendiculaires aux premières. La scarification ainsi effectuée dessine un quadrillage qui affecte une large zone de l'écorce sur une profondeur d'environ 1 mm.

C'est à ce moment que, dans le test original, on immerge les oranges dans les solutions fongicides, tandis que nous procédons à la scarification sur des fruits désinfectés de la veille. MOREAU indique d'ailleurs que l'ordre des manipulations peut être modifié selon les nécessités de l'étude.

Les fruits blessés sont pulvérisés au moyen d'une suspension de spores de *Penicillium digitatum* SACC. obtenue par agitation, sous eau distillée, d'une culture pure, en tube, du champignon. L'inoculum est beaucoup plus concentré que celui que les fruits pourraient rencontrer dans la nature.

Chaque groupe de 20 fruits est ensuite divisé en deux lots de 10 fruits, déposés dans des emballages en carton très propres ; le premier lot est conservé à 16°C et le second à 13°C.

Le degré de pourriture des fruits, à la suite de cette inoculation artificielle homogène, est évalué au bout de 8 et de 15 jours selon une échelle de cotation définie par MOREAU [3] :

- 0 : fruit apparemment sain
- 1 : début de ramollissement
- 2 à 4 : développement plus ou moins étendu d'une efflorescence blanche
- 5 à 7 : développement des fructifications vertes au centre de l'efflorescence blanche
- 8 : totalité du quadrillage recouvert par le champignon
- 9 : plus de la moitié du fruit atteint
- 10 : fruit complètement envahi

Dans le TABLEAU V, chaque nombre représente la somme des cotes attribuées aux 10 fruits d'un même lot.

TABLEAU V
Résultats du test Benlloch

TRAITEMENTS	9 JOURS APRÈS TRAITEMENT		16 JOURS APRÈS TRAITEMENT	
	16°C	13°C	16°C	13°C
A	67	25	100	68
AR	99	99	100	100
F	58	13	93	39
FR	99	90	100	90
R	43	9	87	20
RR	94	92	100	100
T	97	99	100	100

Discussion

1. Produits

Les analyses des bains effectuées avant le passage des fruits indiquent une teneur en orthophénylphénol correspondant pratiquement à celle que mentionnent les fournisseurs (voir TABLEAU II).

Après le trempage, on constate une légère diminution de la concentration initiale en matière active, due à l'apport d'eau par les fruits préalablement lavés.

Quant au pH de la solution, il ne semble pas présenter de variation importante à la suite du traitement. Il reste, en tout cas, dans les limites préconisées pour éviter des dégâts aux fruits. Nous avons vu, toutefois, que des brûlures ont été remarquées dans les lots non rincés.

2. Résidus sur fruits

Après un ressuyage de 5 jours, on constate une certaine différence entre produits dans le taux de matière active retenue par le péricarpe (TABLEAU III). Une bonne part de cette différence doit être attribuée aux manipulations, ainsi qu'aux caractères de l'épicerpe. Toutefois, nous observons que cette variation est beaucoup plus atténuée dans les échantillons prélevés 11 jours après le traitement. On peut admettre qu'à cette date les fruits non lavés ont gardé 22 à 33 mg d'orthophénylphénol par kg.

Par contre, les fruits rincés n'ont retenu que 3,0 à 4,1 mg d'orthophé-

nylphénol au kg. Beaucoup mieux qu'une différence entre produits, ces valeurs permettent de mettre en évidence une action très nette du rinçage. La quantité d'orthophénylphénol restant sur les fruits est ainsi ramenée au niveau admis par la législation la plus sévère.

3. *Etat des fruits*

Dès la première semaine d'entreposage, une nette influence des traitements se remarque par rapport au témoin. Le TABLEAU IV nous montre que cette influence persiste tout au long de la période de conservation. Même dans le cas des fruits rincés, le nombre moyen de fruits pourris est de 7,3 % le 13 février, contre 58 % dans le lot témoin.

Au 31 janvier, donc 25 jours après traitement — ce qui constitue une période plus longue que la durée habituelle de transport des agrumes — aucun des lots traités n'a atteint le seuil de 4 % de pourriture. Pendant la même période, le produit A semble montrer une efficacité légèrement supérieure, mais la différence avec les autres produits s'atténue par la suite.

Un fait plus important a été mis en évidence. Il apparaît, à l'examen du TABLEAU IV, que le rinçage réduit en général l'efficacité des traitements, ce qui doit être mis en relation avec la diminution de la quantité de matière active retenue par le péricarpe.

Toutefois, au bout de 25 jours, même les lots rincés n'avaient pas atteint le seuil de 4 % de pourriture.

Un autre effet du rinçage, nettement bénéfique celui-là mais qui n'apparaît pas à la lecture du TABLEAU IV, résulte de l'élimination des brûlures fréquentes dans les traitements non suivis de rinçage. On doit tenir compte ici du fait que ces brûlures provoquent une dépréciation de la valeur marchande des fruits, les rendant impropres à l'exportation.

4. *Test Benloch*

Même dans les conditions très sévères de ce test, les trois produits ont retardé l'évolution de la pourriture, d'une manière relativement comparable, mais seulement dans le cas des traitements sans rinçage.

L'influence de la température sur le développement de *Penicillium digitatum* a été vérifiée par la même occasion, ainsi qu'une différence significative existant, parmi les fruits non rincés, entre ceux qui étaient conservés à 16°C et ceux qui furent maintenus à 13°C.

Conclusions

Les trois produits commerciaux ont montré une efficacité comparable, comme on pouvait s'y attendre, d'après la similitude de leur formulation. Ils ont tous eu un effet retardateur marqué sur l'évolution de la pourriture, à un point tel qu'au bout de 25 jours, et même après rinçage, aucun lot d'oranges traitées n'avait atteint le seuil de 4 % de pourriture, tandis que le lot témoin contenait 21 % de fruits atteints. On peut donc conclure que les trois produits ont apporté la protection qu'on attendait d'eux.

Toutefois, lors des traitements non suivis de rinçage, l'orthophényl-phénol a provoqué des brûlures, dépréciant gravement la valeur marchande des fruits. Le rinçage, éliminant une forte proportion des produits déposés et ramenant la quantité des résidus au-dessous de la tolérance légale la plus stricte, a évité totalement l'apparition de ces brûlures, tout en maintenant une efficacité fongicide suffisante dans la pratique, pendant une durée d'un mois.

L'essai a été réalisé sur une seule variété d'orange (Hamlin). Ses résultats ne peuvent pas être appliqués directement à d'autres variétés qui réagiraient différemment. Il paraît nécessaire de poursuivre de telles expériences sur d'autres variétés d'agrumes et en utilisant éventuellement de nouvelles formulations de fongicides.

Manuscrit déposé le 9.6.64

ملخص

دراسة المعالجات بقاعدة orthophénylphénol
ضد عفونات الحواض

يعد ان سجل المؤلفون المعالجات بالقضاء على الفطر، الحشرات وغسل الحواض المعدة للتصدير يقدمون ثلاثة قوانين للمنتجات القاتلة المستعملة بالمغرب وكذلك الفواكه التي اجريت عليها التجارب،

مجموع التجارب والتحليل المستعملة هي الاتية :

- المراقبة الكيماوية للمنتجات والاضغالات
- قياس بقايا orthophénylphénol المستخرج بواسطة غلاب الشرة
- اختبار حالة الفاكهة
- تجربة Benloch (قياس حماية الفاكهة المحقق في القضاء على الفطر والحشرات)

وبعد مناقشة هذه التحليل ونتائجها، يختم المؤلفون بان ثلاثة قوانين اظهرت فعالية مقارنة غير انه عند المعالجات بدون غسيل قد لوحظت حروق على الفاكهة هذه التجارب يجب ان تتابع على انواع اخرى من البرتقال مع وانين اخرى

RÉSUMÉ

Après avoir noté l'intérêt des traitements fongicides et du rinçage des agrumes livrés à l'exportation, les auteurs présentent 3 formulations de produits fongicides utilisés au Maroc ainsi que les fruits sur lesquels les essais ont été réalisés.

Le protocole des essais et les analyses effectuées sont les suivants :

- contrôle chimique des produits et des bains ;
- mesure des résidus d'orthophénylphénol retenus par le péricarpe ;
- examen de l'état des fruits ;
- test de Benloch (mesure de la protection des fruits due aux fongicides).

Après discussion de ces analyses et de leurs résultats, les auteurs concluent que les trois formulations ont montré une efficacité comparable, mais, toutefois, lors des traitements sans rinçage, des brûlures ont été remarquées sur les fruits. Ces essais devront être poursuivis sur d'autres variétés d'orange et avec d'autres formulations.

RESUMEN

Estudio sobre los tratamientos a base de orto-fenil-fenol
contra los mohos de los agrios

Después de notar el interés de los tratamientos fungicidas y del enjuague de los agrios entregados a la exportación, los autores presentan tres fórmulas de productos fungicidas utilizados en Marruecos así como los frutos que han servido para realizar los ensayos.

El proceso de los ensayos y los análisis efectuados fueron los siguientes :

- control químico de los productos y de las soluciones ;
- medida de los residuos de orto-fenil-fenol detenidos por el pericarpio de los frutos,
- examen del estado de los frutos,
- test de Benlloch (medida de la protección de los frutos debida a los fungicidas).

Después de discutir de estos análisis y de los resultados obtenidos, los autores concluyen que las tres fórmulas tienen una eficacia comparable, pero, todavía, al tratar los frutos sin enjuague, se notaron quemaduras sobre los mismos. Habrán de continuar estos ensayos sobre otras variedades de naranjos, y utilizando otras fórmulas.

SUMMARY

On ortho-phenyl-phenol treatments in the control of citrus fruit moulds

After having noted the interest of fungicide treatments and rinsing of citrus fruits delivered to exportation, the authors present three formulae of fungicide products utilized in Morocco as well as the fruits on which they realize the tests.

The testing procedures and the analyses effected are:

- chemical control of the products and the solutions,
- measure of ortho-phenyl-phenol residues held in the fruits' pericarp,
- examination of the fruits' aspect,
- Benlloch's test (measure of the fruits' protection by the fungicide products).