



Effet in vitro des sels de calcium sur  
le développement et la colonisation des  
pommes en conservation par un complexe  
fongique

*Selmaoui K. & Douira A.*

*Lab. Botanique et Protection des Plantes, UFR de Mycologie,  
Département de Biologie, Fac. Sciences, Université Ibn Tofail,  
B.P.133. Kénitra, Maroc*



## ملخص

في هذه الدراسة، روقبت فعالية خمسة أملاح كلسية على أنواع مختلفة من الفطر المسؤول عن تفسخ التفاح المحفوظ. وقد بينت الأملاح تأثيرا كبيرا على أنواع الفطر المدروسة حسب درجة نموها. كذلك بينت التجارب أن تبلييل تفاح من صنف «كولدن دليشيوس» بمحلول الأملاح الكلسية من شأنه أن ينقص بشكل دال من قابلية التفاح المحفوظ للتفسخ.

الكلمات المفتاحية: أملاح كلسية، تفسخ، مراقبة.

## Résumé

Dans cette étude, on a observé l'efficacité in vitro et in vivo de 5 sels de calcium sur différents champignons responsables de la pourriture des pommes en conservation.

Le propionate, l'hydroxyde, l'oxyde, le silicate et le chlorure de calcium utilisés à la dose de 600 mg Ca<sup>2+</sup>/l ont montré une toxicité importante vis-à-vis d'*Alternaria alternata*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium expansum*, *Trichothecium roseum* et *Fusarium avenaceum* et ceci pour différentes étapes de développement de ces champignons.

De même, les traitements en post-récolte des pommes de la variété "Golden Delicious" par trempage dans les solutions des 5 sels de calcium testés, ont réduit d'une façon significative l'incidence de la pourriture des pommes en conservation, causée par les différents champignons.

Ces résultats pourraient suggérer l'utilisation de ces sels de calcium au drencher comme un moyen de lutte efficace contre les maladies cryptogamiques des pommes pendant leur stockage.

**Mots-clés :** Sels de calcium, *Alternaria alternata*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium expansum*, *Trichothecium roseum*, *Fusarium avenaceum*, pourriture des pommes, lutte

## Abstract

In this study, five calcium salts showed an important effect on development of some fungi, causal agent of apple rot in storage.

Calcium propionate, calcium hydroxyde, calcium oxyde, calcium silicate and calcium chloride at final concentration of 600 mg Ca<sup>2+</sup> / l, exhibited an important toxicity against *Alternaria alternata*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium expansum*, *Trichothecium roseum* and *Fusarium avenaceum* in different stages of development of these fungi.

In addition, the treatment of the post harvested apples by soaking in five calcium salts tested permit a significant reduction of the apple rot in storage induced by different fungi.

The results may suggest to use the calcium salts against the fungal diseases of apple during their storage.

**Key-words:** Calcium salts, *Alternaria alternata*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium expansum*, *Trichothecium roseum*, *Fusarium avenaceum*, rot apple, control

## Introduction

Depuis 1980-1981, le patrimoine national " Pommier " a connu une extension très importante. En effet, les deux paramètres superficie et production ont presque triplé pour atteindre en 1992-1993 approximativement 25 000 hectares et 300 000 tonnes respectivement (Moussaoui, 1995).

Les techniques de conservation des fruits ont considérablement évolué au cours des dernières années. Elles permettent à l'arboriculteur de choisir au mieux ses périodes de vente et de les étaler pour que le consommateur puisse disposer de poires et de pommes presque en toutes saisons (Kerbab, 1995). Cependant, la conservation prolongée des fruits pose un grand nombre de problèmes phytosanitaires qu'il est nécessaire de connaître pour éviter les pertes au cours de l'entreposage ou de la commercialisation.

Parmi les problèmes d'ordre phytosanitaire rencontrés dans le secteur du pommier, les maladies de conservation représentent l'une des principales sources de pertes en production (Swinburne, 1970). Ces pertes peuvent être plus élevées que celles au champ, du fait que les coûts de récolte, de transport et de stockage s'additionnent au coût global de la production (Swinburne, 1983).

Au Maroc, les pertes dues au *Penicillium expansum* peuvent atteindre, selon les espèces et les variétés, 50% de la production des pommes conservées (Ramdani, 1989). De même, les pertes dues à *Alternaria tenuis* sont estimées à 9 % dans les chambres froides tunisiennes (Selmaoui, 1995).

Malgré leur importance économique au Maroc, les maladies de conservation n'ont fait l'objet que de peu d'études. En effet, les seuls travaux réalisés dans ce domaine n'ont porté essentiellement que sur *Penicillium expansum*, responsable de la pourriture des pommes (Ramdani, 1989) et des poires en conservation (Ella Ondon, 1991).

Plusieurs essais sont menés en vue de mettre au point un ou plusieurs fongicides qui peuvent contrôler les maladies de conservation. Des souches de *Penicillium expansum*, résistantes aux benzimidazoles sont signalées sur pommes aux Etats-Unis par Rosenberg et Meyer (1979). Ce problème de résistance incite à chercher d'autres produits capables de contrôler les champignons responsables des pourritures des pommes et des poires en conservation.

Depuis longtemps, certains chercheurs ont mis l'accent sur l'importance du calcium dans la lutte contre les maladies fongiques et physiologiques des pommes et des poires (Garman et Mathis, 1956). En effet, le calcium confère aux pommes une grande résistance vis-à-vis des champignons parasites. Il empêche le développement des désordres physiologiques et peut entraîner une diminution du taux général de sénescence des tissus (Sharples et Johnson, 1977). Ainsi, les pommes trempées dans une solution de  $\text{CaCl}_2$  restent fermes par rapport à celles n'ayant reçu aucun traitement (Bangerth et al., 1972).

Dans ce sens, une relation a été observée entre la quantité de calcium contenue dans les pommes et l'incidence des désordres physiologiques "Bitter Pit" (Wilkinson et Filser, 1973, cité par Conway et al., 1987) et de la pourriture provoquée par les maladies cryptogamiques (Edney, 1983).

En comparant différents échantillons de pommes de la variété "Cox's Orange Pippin" provenant de régions différentes, Fuller (1976) a montré que la pourriture causée par *Gleosporium perennans* est très importante chez les échantillons présentant un faible taux de calcium pendant la récolte. La même relation a été démontrée par Jackson et al. (1971), cité par Edney (1983).

Tous les travaux qui ont montré l'importance du calcium dans la lutte contre la pourriture des pommes n'ont concerné que certains champignons tels que *Penicillium* spp. (Conway, 1982), *Alternaria* spp. (Biggs et al., 1993) et *Leucostoma personii* (Biggs et al., 1994). Mais cette pourriture est généralement due à une association complexe de champignons (Selmaoui et Douira, 1997a). En effet, dans une même lésion peuvent coexister de nombreux champignons participant ensemble à l'altération des pommes (changement de la couleur, modification de pH, de la teneur en eau et de la composition chimique). Ces modifications peuvent également favoriser l'installation ultérieure d'autres champignons (Selmaoui et al., 1999). Nous pensons que tout moyen de lutte chimique proposé contre ces affections doit tenir compte de tous les champignons existants. Les fongicides et les sels de calcium utilisés doivent être efficaces à l'égard de tous les champignons susceptibles de provoquer des altérations chez les pommes en conservation.

Dans cette étude, nous avons examiné l'effet *in vitro* et *in vivo* de 10 sels de calcium sur différents champignons responsables des altérations des pommes au Maroc.

## Matériel et méthodes

### Les pathogènes utilisés

Les pommes pourries sont collectées dans différentes chambres froides (Tableau 1). Ces pommes sont désinfectées par l'hypochlorite de Sodium à 5% et les fragments présentant la maladie sont par la suite découpés et déposés dans des conditions aseptiques sur le milieu de culture Potato Dextrose Agar (additionné après stérilisation de 0.5g/l de chloramphenicol pour empêcher le développement des bactéries) solidifié. Les boîtes sont ensuite déposées dans un incubateur à 25°C. Les champignons qui se sont développés sont repiqués dans des nouvelles boîtes contenant du PDA pour avoir des cultures pures. Les champignons identifiés sont au nombre de cinq : *Alternaria alternata* (2 isolats E et S), *Trichothecium roseum* (Tc), *Trichoderma harzianum* (Tr), *Penicillium expansum* (P) et *Fusarium avenaceum* (F).

**Tableau 1.** Origine des différents champignons testés

Isolats	Variétés de pommes	Provenance
E	Golden Delicious	Oulmes
S	Rambo Tiede	El Hajeb
Tc	Rambo Tiede	El Hajeb
Tr	Golden Delicious	Kénitra
P	Golden Delicious	Kénitra
F	Granny Smith	El Hajeb

E et S: Isolats d'*Alternaria alternata*

Tc : *Trichothecium roseum*

Tr : *Trichoderma harzianum*.

P : *Penicillium expansum*

F : *Fusarium avenaceum*

## Les sels de calcium testés

10 sels de calcium sont testés : le chlorure de calcium, l'hydroxyde de calcium, le nitrate de calcium, l'oxyde de calcium, le phosphate de calcium, le propionate de calcium, le silicate de calcium, le sulfate de calcium, le carbonate de calcium et l'hypochlorite de calcium. Le test est conduit *in vitro*, sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des spores des champignons étudiés. D'autre part, l'effet des sels est vérifié sur le développement de la pourriture des pommes en conservation.

## Effet des sels de calcium sur la croissance mycélienne

Les solutions des différents sels de calcium sont préparées dans l'eau distillée stérile de façon à obtenir une concentration finale de 600 mg Ca<sup>2+</sup>/l (Biggs et al., 1994). Les solutions ainsi préparées sont incorporées dans le milieu de culture (PDA à 2%) stérile et maintenu en surfusion à une température comprise entre 45 et 55°C.

Le milieu est coulé en boîtes de Petri de 90 mm de diamètre, le pH des différentes solutions est ajusté au préalable avant autoclavage. Chaque boîte reçoit un disque mycélien de 5 mm de diamètre, provenant de différentes cultures jeunes de champignons.

Les boîtes de Petri ainsi inoculées sont déposées dans un incubateur à l'obscurité à une température de 25°C.

La croissance mycélienne est enregistrée quotidiennement en mesurant le diamètre moyen des colonies après 12 jours pour *A. alternata* et *P. expansum*, 10 jours pour *T. roseum* et 5 jours pour *T. harzianum* et *F. avenaceum*. Pour chaque sel de calcium et chaque champignon, trois répétitions sont réalisées. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (PIc) par rapport au témoin est calculé selon la formule suivante:

$$PIc = \frac{Dt - Dc}{Dt} \times 100$$

Dt: diamètre du témoin sur le milieu de culture sans calcium.

Dc: diamètre du champignon sur le milieu de culture additionné de sel de calcium.

## Effet des sels de calcium sur la germination des spores

A partir des cultures des différents champignons, âgées de 12 jours pour *A. alternata*, 10 jours pour *T. roseum* et *P. expansum* et de 5 jours pour *T. harzianum* et *F. avenaceum*, des conidies sont récoltées dans l'eau distillée stérile. La densité de la suspension est ajustée à 105 conidies/ml par estimation de la densité initiale (comptage à l'hématimètre) puis diluée. 0,1 ml de la suspension de spores est prélevée et étalée à la surface des boîtes de Petri contenant le milieu gélosé additionné des différents sels de calcium testés. Ces boîtes de Petri sont placées à l'obscurité et à 25°C. Pour chaque sel de calcium et chaque isolat, 3 répétitions sont réalisées.

Après 24 heures, le comptage des conidies germées est effectué sur un total de 400 spores. Conventionnellement, une conidie est considérée comme ayant germée lorsque la longueur du tube germinatif est supérieure à son plus petit diamètre (Mlaiki, 1970).

Le pourcentage d'inhibition de la germination des conidies des champignons (PIg) par rapport au témoin est calculé selon la formule suivante:

$$PIg = \frac{Nt - Nc}{Nt} \times 100$$

Nt: nombre de conidies germées dans le milieu gélosé sans calcium.

Nc: nombre de conidies germées dans le milieu gélosé additionné de calcium.

### Effet des sels de calcium sur la sporulation

La technique utilisée pour évaluer la sporulation des parasites est celle décrite par Besri (1981) adaptée pour *F. oxysporum*. En effet, 4 rondelles de 5 mm de diamètre, prélevées à partir de la bordure des cultures des champignons, sont placées dans un tube à vis contenant 1 ml d'eau distillée stérile. Les tubes sont agités au vortex pendant quelques secondes, ce qui entraîne la libération des conidies. Le comptage total des conidies libérées par les rondelles est effectué à l'aide d'un hématimètre à raison de dix comptages par champignon et par produit.

La sporulation est exprimée en nombre de conidies par unité de volume (spores/ml). Pour chaque traitement, trois répétitions ont été effectuées, chacune des répétitions représente la moyenne de six comptages.

Le pourcentage d'inhibition de la sporulation (PIs) par rapport au témoin est calculé selon la formule suivante :

$$PIs = \frac{No - Nc}{No} \times 100$$

Nt: nombre de conidies estimé chez le témoin

Nc: nombre de conidies estimé en présence des sels de calcium

### Effet in vivo des sels de calcium sur le développement de la pourriture des pommes

Les pommes de la variété Golden Delicious, préalablement désinfectées à l'hypochlorite de sodium 2%, sont lavées à l'eau distillée puis blessées à l'aide d'une aiguille fine (blessures de 2 mm de profondeur) au niveau de quarte points opposés de l'équateur. Les fruits ainsi blessés sont inoculés par des fragments mycéliens prélevés des cultures jeunes des champignons étudiés.

Les traitements chimiques sont effectués 24 heures après l'inoculation par trempage des pommes dans les différentes solutions de sels de calcium à une concentration finale de 400 ppm

Ca<sup>2+</sup> (Biggs et al., 1994). Les fruits traités sont répartis dans des sachets en plastique pulvérisés avec de l'eau distillée stérile afin de maintenir une humidité relative élevée. Par la suite, les sachets sont placés dans des chambres froides à une température de 4°C.

Le dispositif expérimental comporte trois traitements avec trois répétitions. Le témoin est constitué par des pommes infectées et non traitées. La mesure du diamètre moyen des lésions est effectuée après deux mois de stockage.

## Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats des facteurs testés est effectuée par le test L.S.D au seuil de 5% (Least Significant Difference). Le logiciel utilisé est le Statistica.

## Résultats

### Effet des sels de calcium sur la croissance mycélienne.

Des résultats illustrés dans le tableau 2, on peut déduire que pour tous les champignons testés, le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne le plus important est obtenu avec le propionate, l'hydroxyde, le silicate, l'oxyde et le chlorure de calcium. En effet, les pourcentages d'inhibition varient entre 50,27% et 89% respectivement pour *F. avenaceum* en présence du propionate de calcium et pour *T. harzianum* en présence de l'oxyde de calcium.

**Tableau 2.** Comparaison des moyennes des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de différents champignons responsables de la pourriture des pommes en conservation en présence des sels de calcium

Sels de calcium	pH final dans PDA	Champignons					
		E	S	Tr	Tc	P	F
Propionate	5,6	84,66a	82,00a	73,10a	80,20a	80,50a	89,00a
Hydroxyde	11,0	75,00b	72,66b	72,00a	72,33b	70,70b	75,40b
Silicate	7,4	68,00c	73,10b	68,80b	70,90c	64,00c	72,33b
Oxyde	10,7	60,11d	62,60c	50,27d	56,50e	54,08d	58,01d
Chlorure	4,5	54,72e	55,70d	56,66c	58,61d	58,61d	59,77c
Sulfate	4,2	31,66f	33,33e	34,75e	29,76f	25,00e	31,11e
Phosphate	5,0	17,59g	22,77f	18,33f	26,66g	18,55f	18,82f
Nitrate	4,2	5,05j	5,92h	7,51g	6,48j	6,66i	5,51h
Carbonate	7,8	11,66h	14,00g	16,66f	12,22h	13,88g	17,77f
Hypochlorite	8,4	8,88i	5,51h	6,33g	10,32i	6,88h	8,33g

Sur la même colonne, deux résultats suivis par la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% (test L.S.D).

S et E : isolats d'*Alternaria alternata*

P : *Penicillium expansum* ; Tr : *Trichoderma harzianum* ; Tc : *Trichothecium roseum* ; F : *Fusarium avenaceum*



En présence du sulfate de calcium et du phosphate de calcium, la croissance mycélienne des champignons testés est sensiblement affectée (les pourcentages d'inhibitions obtenus sont compris entre 17,59 et 34,75%).

Les autres produits testés à savoir le nitrate de calcium, le carbonate de calcium et l'hypochlorite de calcium se sont montrés inefficaces quant à l'inhibition du développement mycélien des champignons testés (les pourcentages d'inhibition de la croissance varient entre 5,51 et 17,77%).

### Effet des sels de calcium sur la sporulation

Comme pour la croissance mycélienne, les sels de calcium sont consignés en trois groupes selon leur efficacité (tableau 3). Le premier groupe est constitué par le propionate, l'hydroxyde, le silicate, l'oxyde et le chlorure de calcium. Ces produits ont pu inhiber la sporulation de tous les champignons d'une façon remarquable (le pourcentage d'inhibition de la sporulation varie entre 46,35 et 90,75%).

Le second groupe est constitué par le sulfate et le phosphate de calcium, caractérisés par une efficacité moyenne ou faible (le pourcentage d'inhibition de la sporulation varie entre 13,5 et 30,49 %).

Le nitrate, le carbonate et l'hypochlorite de calcium forment le troisième groupe. Le pourcentage d'inhibition de la sporulation enregistré pour ce groupe est très faible (inférieur à 14 %), ce qui dénote de leur inefficacité vis-à-vis d'*A. alternata*, *P. expansum*, *T. harzianum*, *T. roseum* et *F. avenaceum*.

**Tableau 3.** Comparaison des moyennes des pourcentages d'inhibition de la sporulation de différents champignons responsables de la pourriture des pommes en conservation en présence des sels de calcium.

Sels de calcium	pH final dans PDA	Champignons					
		E	S	Tr	Tc	P	F
Propionate	5,6	87,00a	85,50a	80,05a	84,33a	76,50a	90,75a
Hydroxyde	11,0	79,00b	80,70b	77,55b	78,00b	72,50b	84,05b
Silicate	7,4	78,33b	80,33b	72,66c	74,00c	72,03b	84,33b
Oxyde	10,7	72,67c	74,47c	48,36d	52,60d	43,46d	53,05d
Chlorure	4,5	52,31d	54,24d	46,35e	50,00e	50,00c	58,16c
Sulfate	4,2	26,44e	24,00e	26,12f	24,26f	24,25e	30,49e
Phosphate	5,0	15,36f	19,00f	14,66g	13,50g	17,33f	20,04f
Nitrate	4,2	3,99h	4,67h	7,25i	5,88j	5,55h	9,45h
Carbonate	7,8	10,00g	12,54g	14,53g	12,07h	10,13g	14,39f
Hypochlorite	8,4	3,05i	4,36h	8,54h	9,35i	6,64h	10,38g

Sur la même colonne, deux résultats suivis par la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% (test L.S.D).

S et E : isolats d'*Alternaria alternata*

P : *Penicillium expansum*

Tr : *Trichoderma harzianum*

Tc : *Trichothecium roseum*

F : *Fusarium avenaceum*

## Effet des sels calcium sur la germination des spores

Les résultats regroupés au sein du tableau 4 montrent que *A. alternata*, *P. expansum*, *T. harzianum*, *T. roseum* et *F. avenaceum* sont très sensibles à l'action de 5 sels de calcium (le propionate, l'hydroxyde, le silicate, l'oxyde et le chlorure de calcium). Les pourcentages d'inhibition de la germination sont très élevés et varient de 54,19 à 100%. Les pourcentages d'inhibition enregistrés pour les différents champignons en présence du phosphate et du sulfate de calcium révèlent que ces deux produits présentent une efficacité moyenne (avec des pourcentages d'inhibition compris entre 20,96 et 46,08%).

Les sels de calcium à savoir le nitrate, le carbonate et l'hypochlorite de calcium n'ont montré aucune efficacité aussi bien sur la germination que sur la croissance mycélienne et la sporulation de tous les champignons testés.

**Tableau 4.** Comparaison des moyennes des pourcentages d'inhibition de la germination des spores de différents champignons, responsables de la pourriture des pommes en conservation, en présence des sels de calcium.

Sels de calcium	pH final dans PDA	Champignons					
		E	S	Tr	Tc	P	F
Propionate	5,6	92,00a	100,00a	92,00a	89,76a	95,00a	100,00a
Hydroxyde	11,0	82,64b	84,16 b	83,23b	80,50b	89,33b	95,50b
Silicate	7,4	80,68b	82,55c	81,02c	79,33b	83,66c	87,35c
Oxyde	10,7	74,36c	78,89d	64,81d	69,20c	72,05d	79,00d
Chlorure	4,5	59,45d	62,35e	54,19e	60,05d	60,33e	68,73e
Sulfate	4,2	30,46e	36,20f	24,50f	28,91e	41,55f	46,08f
Phosphate	5,0	20,96f	26,08g	21,76g	25,00f	32,36g	39,22g
Nitrate	4,2	9,32h	10,36i	12,14i	9,78h	18,88h	20,00h
Carbonate	7,8	13,26g	16,39h	17,76h	13,57g	16,23i	18,92h
Hypochlorite	8,4	7,06i	9,93i	10,85j	8,46i	10,70j	13,04i

Sur la même colonne, deux résultats suivis par la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% (test L.S.D).

S et E : isolats d'*Alternaria alternata*

P : *Penicillium expansum* ; Tr : *Trichoderma harzianum* ; Tc : *Trichothecium roseum* ; F : *Fusarium avenaceum*

## Effet des sels de calcium sur le développement de la pourriture des pommes

Les résultats relatifs à l'action des sels de calcium sur l'évolution de la pourriture des pommes causée par *A. alternata*, *P. expansum*, *T. harzianum*, *T. roseum*, et *F. avenaceum* sont regroupés dans le tableau 5. Les produits qui ont montré in vitro une efficacité sur la germination des spores, la croissance mycélienne et la sporulation, sont aussi efficaces in vivo sur l'évolution de la pourriture provoquée par tous les champignons testés. Le propionate, l'hydroxyde, l'oxyde, le silicate et le chlorure de calcium diminuent ou inhibent totalement la progression de tous les champignons. Une différence significative au seuil de 5% est enregistrée entre ces sels et le témoin, et ceci pour l'ensemble des champignons testés.

Les autres sels de calcium (le sulfate, le phosphate, le nitrate, le carbonate et l'hypochlorite) ont une action significativement moins importante que les produits cités auparavant.

Il ressort de ces résultats que le propionate, l'hydroxyde, l'oxyde, le silicate et le chlorure de calcium présentent une efficacité importante vis-à-vis d'*A. alternata*, *P. expansum*, *T. harzianum*, *T. roseum* et *F. avenaceum* aussi bien in vitro qu'au niveau des traitements post-récolte des pommes avant leur conservation. Les autres sels de calcium (le sulfate, le phosphate, le nitrate, le carbonate et l'hypochlorite) sont moins fongitoxiques et ne présentent aucun intérêt pour les traitements post-récolte des pommes.

**Tableau 5.** Effet des sels de calcium sur le développement de la pourriture des pommes causée par différents champignons

Sels de calcium	pH final dans PDA	Champignons					
		E	S	Tr	Tc	P	F
Propionate	5,6	4,00f	4,00f	4,00f	4,00f	4,00e	4,00f
Hydroxyde	11,0	4,00f	4,00f	4,00f	4,00f	4,00e	4,00f
Silicate	7,4	5,66f	5,33f	6,66de	6,00ef	7,00e	5,66ef
Oxyde	10,7	9,33e	8,33e	10,00d	9,00e	10,33d	8,33e
Sulfate	4,2	34,50d	32,5d	39,33c	27,83d	40,00c	30,33cd
Phosphate	5,0	44,83bc	43,66ab	40,33bc	29,33d	38,33c	32,33c
Nitrate	4,2	45,66b	43,16b	43,00bc	33,33c	46,00b	27,50d
Carbonate	7,8	43,00c	41,16c	45,33b	41,16b	47,33b	29,00c
Hypochlorite	8,4	45,66b	43,83ab	44,33bc	44,16ab	46,33b	36,00b
Chlorure	4,5	10,33e	9,00d	10,33d	8,33e	12,00d	8,00e
Témoin		45,00a	48,66a	46,00a	51,00a	53,66a	39,66a

Sur la même colonne, deux résultats suivis par la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% (test L.S.D).

S et E : deux isolats d'*Alternaria alternata*

Tc : *Trichothecium roseum* ; Tr : *Trichoderma harzianum* ; P : *Penicillium expansum* ; F : *Fusarium avenaceum*

## Discussion et conclusion

Parmi les sels de calcium testés, seuls le propionate de calcium, l'hydroxyde de calcium, le silicate de calcium, l'oxyde de calcium et le chlorure de calcium ont montré in vitro une toxicité importante vis-à-vis de tous les champignons testés. Ces résultats rejoignent étroitement ceux obtenus par Biggs et Peterson (1990) puis Biggs et al. (1994). Ces auteurs ont montré que la croissance mycélienne de *Leucostoma persoonii*, champignon parasite de la pêche, est relativement réduite par ces sels de calcium.

In vivo, le propionate de calcium a empêché l'évolution de la pourriture des pommes due aux champignons testés, suivi par le silicate, l'hydroxyde, l'oxyde et le chlorure de calcium. Des résultats similaires ont été signalés par Conway (1982) et Conway et Sam (1983). Ces derniers ont montré que l'incidence de la pourriture des pommes provoquée par *Penicillium expansum* peut

être réduite par le trempage des fruits dans les solutions de sels de calcium (CaCl<sub>2</sub>) avant la conservation.

De même, le CaCl<sub>2</sub> appliqué au verger ou au drencher réduit d'une façon significative l'incidence de la pourriture des pommes par *Alternaria* spp. (Biggs et al., 1993).

Le traitement des pommes par le calcium peut prévenir contre la destruction de la pectine par l'enzyme pectique (Faust, 1974). Le calcium confère également aux cellules une grande résistance à l'activité enzymatique du champignon et diminue ainsi le taux de la maladie due à *Penicillium expansum*. Ce rôle protecteur ne peut être réalisé que dans le cas où les fruits présenteraient un niveau important de calcium durant la production ou pendant l'application post-récolte (Conway et al., 1987).

Le mécanisme proposé dans le cas de l'inhibition des champignons responsables de la pourriture des pommes par les sels de calcium suggère un empêchement de l'activité enzymatique pectolytique par les ions Ca<sup>2+</sup> associés avec les substances pectiques intercellulaires des fruits (Bateman et Lumsden, 1965 ; Conway et Sam, 1983). Ce mécanisme proposé peut être opérationnel pour le système variété de pomme Nittany / pourriture à *Alternaria* spp..

Les ions Ca<sup>2+</sup> peuvent réduire l'efficacité de l'enzyme polygalacturonase, fréquemment produite par les champignons et les bactéries dans les tissus malades de l'hôte (Bateman et Millar, 1966) et qui participe avec la pectine méthyl estérase à l'altération des parois des tissus (Barach et Angel, 1970 ; Barmore et Brown, 1980). Cette réduction est réalisée par la formation des cations avec les acides pectiques constituant ainsi une muraille de cellules résistantes à la dégradation par l'enzyme polygalacturonase (Conway et al., 1987). Des travaux effectués par Bateman (1964) ont révélé que cette enzyme, produite par *P. expansum*, n'hydrolyse pas la pectate de calcium et la macération des tissus est inhibée par l'augmentation du calcium dans la plante.

Par ailleurs, Kohle et al. (1985) suggèrent que les ions Ca<sup>2+</sup> stimulent probablement la synthèse des phytoalexines et / ou des phénols qui jouent un rôle très important dans la résistance des plantes aux agressions parasitaires (Selgi, 1983 ; Nicholson et Hammerschmidt, 1992). Ces composés traduisent notamment une action inhibitrice de l'activité des enzymes hydrolytiques parasitaires telles que les pectinases (Davet et Ravisé, 1976) et les cellulases (Reddy et Mahadevan, 1976). Les composés phénoliques peuvent également inhiber la biosynthèse des toxines parasitaires (Desjardins et al., 1988) et la production des enzymes hydrolytiques (Bostock et al., 1999).

Certains auteurs (Conway, 1982 ; Conway et Sam, 1983) ont rapporté que l'augmentation du calcium dans les pommes, qui résulte de l'infiltration de la solution de sel de calcium, utilisée en post-récolte, réduit l'incidence des pourritures causées par *P. expansum*.

En outre, le chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>), appliqué au verger ou au drencher, réduit d'une façon significative l'incidence de la pourriture des pommes de la variété Nittany causée par *Alternaria* spp. (Biggs et al., 1993).

D'une façon générale, les sels de calcium, propionate, hydroxyde, oxyde, silicate et chlorure de calcium ont montré une toxicité importante vis-à-vis d'*A. alternata*, *P. expansum*, *T. harzianum*, *T. roseum* et *F. avenaceum* et ceci sur les différentes étapes de développement de ces champignons.

De même, les traitements post-récolte des pommes par trempage dans les solutions de ces 5 sels de calcium réduisent d'une façon significative l'incidence de la pourriture des pommes en conservation causée par les champignons testés.

Ceci pourrait suggérer l'utilisation de ces sels de calcium au drencher comme un moyen de lutte efficace contre les maladies cryptogamiques des pommes pendant la conservation à la place des fongicides. En effet, les fongicides de la famille des benzimidazoles et des thiophanates sont inefficaces contre *A. alternata* et *P. expansum* mais ils ont montré une efficacité à l'encontre de *T. roseum*, *T. harzianum* et *F. avenaceum* (Selmaoui et al., 1997b ; Selmaoui, 1999). Par contre, d'après ces auteurs, les traitements des pommes avec des fongicides de la famille des thiocarbamates inhibent le développement d'*A. alternata* et de *P. expansum* alors qu'ils favorisent celui des autres champignons. D'où la nécessité de combiner entre les deux familles de fongicides pour limiter le développement de ce complexe fongique.

Il est très intéressant de noter que la majorité des pourritures qui se développent au cours du stockage dérivent des spores collées sur la surface des fruits avant la récolte. Ces spores, mis à part quelques exceptions, ne causent de pourritures qu'après récolte et quand le fruit acquiert un certain degré de maturité (Edneys, 1983). Il en résulte donc que la connaissance de la période et du mécanisme d'infection est fort nécessaire pour développer un programme de contrôle de ces maladies. De même, il est important de connaître l'effet des sels de calcium sur l'activité des enzymes pectinolytiques et cellulolytiques qui peuvent être impliquées dans la macération des tissus infectés par les champignons responsables des pourritures des pommes et des poires en conservation.

## Références bibliographiques

- Bangerth F. Dilley D. R. & Dewery D.H. (1972). Effect of post-harvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruits. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 102: 785-788.
- Barash I. & Angel E. (1970). Isolation and properties of an exopolygalacturonase produced by *Penicillium digitatum* during infection lemon fruits. *Israel J. Bot.*, 19: 599-608.
- Barmore C.R. & Brown U.G.E. (1979). Role of pectolytic enzymes and galacturonic acid in citrus fruits decay caused by *Penicillium digitatum*. *Phytopathology*, 69: 675-678.
- Bateman D.F. (1964). An induced mechanism of tissue resistance to polygalacturonase in *Rhizoctonia* infected hypocotyls of beans. *Phytopathology*, 54: 438-445.
- Bateman D.F. & Been S.V. (1965). Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*, 55: 204-211.
- Bateman D.F. & Lumsden R.D. (1965). Relation of calcium content and nature of the pectic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 55: 734-738.
- Bateman D.F. & Millar R.L. (1966). Pectic enzymes in tissue degradation. *Annu. Rev. Phytopathology*, 4: 119-146.
- Besri M. (1981). Influence de la salinité du sol et des eaux d'irrigation sur la population de *Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *lycopersici* (Sacc.). *Phytopatho. Méditer.*, 20: 101-106.
- Biggs A.R. & Peterson C.A. (1990). Effect of chemical applications to peach bark wounds on accumulation of lignin and suberin and susceptibility to *Leucostoma persoonii*. *Phytopathology*, 80:861-865.
- Biggs A.R., Ingel M. & Solihati W.D.(1993). Control of *Alternaria* infection of fruit of apple cultivar Nitany with calcium chloride and fungicides. *Plant Disease*, 77: 976-980.
- Biggs A.R., El kholi M.M. & El-neshawy S.M.(1994). Effect of calcium salts on growth, pectic enzyme activity and colonization of Peach twigs by *Leucostoma persoonii*. *Plant Disease*, 78: 886-890.
- Bostock R., Wilcox S.M., Wang G. & Adaskaveg J.E. (1999). Suppression of *Monilia fructicola* cutinase by peach fruit surface phenolic acids. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 54 :37-50.
- Conway W.S. (1982). Effect of post-harvest calcium treatment on decay of Delicious apples. *Plant Disease*, 66: 402-403.
- Conway W.S. & Sam C.E. (1983). Calcium infiltration of Golden Delicious apples and its effect on decay. *Phytopathology*, 73: 1068-1071.
- Conway W.S., Gross K.C. & Sam C.E. (1987). Relationship of bound calcium and inoculum concentration to the effect of post-harvest calcium treatment on decay of apples caused by *Penicillium expansum*. *Plant Disease*, 71:78-80.
- Davet P. & Ravise A. (1976). Inhibition du *Colletotrichum coccodes* du *Pyrenochaeta lycopersici* et de leurs enzymes pectinolytiques par des substances élaborées chez quelques *Lycopersicon* Mill. en réaction à l'infection par le complexe parasitaire des racines. *C.R. Acad. Sci. Paris, Série D* , 282:1351-1354.
- Desjardins A.E., Plattner R.D. & Spencer G.F. (1988). Inhibition of trichothecene toxin biosynthesis by naturally occurring shikimate aromatics. *Phytochemistry*, 27: 767-771.

- Edney K.L. (1983). Top fruit. In: Colin Dennis (Ed.): Post-harvest pathology of fruits and vegetables. Academic Press. 43-71.
- Ella Ondo T. (1991). Effets de la lutte chimique en post-récolte sur l'incidence des pourritures à *Penicillium expansum* des poires en conservation. Mémoire de 3ème cycle en Agronomie, I.A.V. Hassan II, 96p.
- Faust M. (1974). The role of calcium in the respiratory mechanism and senescence of apples. Colloque Int. C.N.R.S., 238: 87-92.
- Fuller M.M. (1976). The ultrastructure of the outer tissues of cold-stored apple fruits of high and low calcium content in relation to cell breakdown. Ann. Appl. Biol. 83: 299-304.
- Garman P. & Mathis W.T. (1956). Studies of mineral balance as related to occurrence of baldwin spot in connectit. Bull. Agric. Exp. Stn., p 601.
- Kohle H., Jeblick W., Poten F., Blascek W. & Kauss H.(1985). Chitosan-elicited callose synthesis in soy bean cells as a Ca<sup>2+</sup> dependent process. Plant Physiology, 77: 544-551.
- Kerbab M. (1995). Commercialisation (conservation, conditionnement, transformation et commercialisation). In: Le secteur des rosacées fruitières au Maroc. Elaboré par Basler A., Detry J.P., Kerbab M., Moussaoui H. & Wallali- Loudiyi D.E.M.. Actes éditions, 432p.
- Mlaiki A. (1970). Pourriture à *Gloeosporium* des pommes "Golden Delicious" au cours de leur conservation. Ann. INRAT, 43: 15-27.
- Moussaoui H. (1995). Analyse du secteur poirier. In: Le secteur des rosacées fruitières au Maroc. Elaboré par Basler A., Detry J.P., Kerbab M., Moussaoui H. & Wallali- Loudiyi D.E.M.. Actes éditions, 432p.
- Nicholson R.L. & Hammerschmidt R. (1992). Phenolic compounds and their role in disease resistance. Ann. Rev. Phytopathology, 30: 369-389.
- Ramdani A. (1989). Les pourritures à *Penicillium expansum* des pommes et des poires dans une station frigorifique de la région de Meknès: Problèmes et remèdes. Mémoire de 3ème cycle en Agronomie. I.A.V. Hassan II, 112p.
- Reddy M.K. & Mahadevan A. (1976). Effect of phenolic compounds on cellulase. Indian Phytopathol., 20: 265-267.
- Rosenberg D.A. & Meyer F.W. (1979). Benomyl tolerant *Penicillium expansum* in apple packinghouse in Eastern New York. Plant Dis. Rep., 63: 37-40.
- Seiji O. (1983). Induction of resistance or susceptibility. Ann. Rev. Phytopathology, 21: 289-315.
- Selmaoui K. (1995). Contribution à l'étude d'*Alternaria tenuis* Nees : aspects biologiques et mesure de lutte chimique. DEA de parasitologie fondamentale et appliquée. Faculté des Sciences de Tunis II, 71p.
- Selmaoui K. & Douira A. (1997a). Microsclerotia in *Alternaria alternata*. Phytopathol. Medit., 38: 43-46.
- Selmaoui K. & Douira A. (1997b). Activité in vitro de différents fongicides sur *Alternaria alternata*, agent causal de l'alternariose des pommes en convection. Troisième congrès de l'association marocaine de protection des plantes, Rabat, 23-24 décembre 1997: 249-254.
- Selmaoui K., Boubaker A. & Douira A. (1997). Effet, in vitro et in vivo, de quelques fongicides sur le développement de la pourriture des pommes en conservation due à *Alternaria tenuis* Nees. Al Awamia, 97 : 41-50.

Selmaoui K. (1999). Etude d'un complexe fongique responsable des pourritures des pommes en conservation. Application de quelques moyens de lutte chimique. Thèse de Doctorat, Université Ibn Tofaïl, Faculté des Sciences, 175p.

Selmaoui K., Ouazzani-Touhami A. & Douira A. (1999). Maladies de conservation des pommes au Maroc. *Le monde agricole et la pêche maritime*, mars- avril : 14.

Sharples R.O. & Johnson D.S. (1977). The influence of calcium on senescence changes in apples. *Ann. Appl. Biol.*, 85: 450-453.

Swinburne T.R. (1970). Fungal rotting of apples. In : A survey of the extent and cause of current fruit losses in Northern Ireland. *Rec. Agric. Res. North. Ire.*, 18 : 15-19.

Swinburne T.R. (1983). Quiescent infections in post-harvest disease. In : Colin Dennis (Ed.). *Post-Harvest Pathology of Fruit and Vegetables* Academic Press : 1-22.