

Développement de la pourriture des pommes en conservation en présence de sels de calcium

Khaled Attrassi¹
Rachid Benkirane¹
Benaïssa Attarassi²
Allal Douira¹

¹ Laboratoire de botanique et de protection des plantes, UFR de mycologie, Département de biologie, Faculté des sciences, Université Ibn Tofail, BP133, Kénitra, Maroc
<Attrassi2@yahoo.fr>

² Laboratoire de microbiologie appliquée, UFR des eaux usées, Département de biologie, Faculté des sciences, Université Ibn Tofail, BP133, Kénitra, Maroc

Résumé

Introduction. La conservation prolongée des pommes les expose à différentes affections qui peuvent être d'origine physiologique, souvent liées au froid, ou d'origine parasitaire, pour l'essentiel des maladies fongiques. **Matériel et méthodes.** Le contrôle des espèces fongiques responsables de la pourriture des pommes en conservation (*Rhizopus stolonifer*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Monilia fructigena*, *Cryptosporiopsis malicorticis*, *Spilocaea pomi* et *Trichothecium roseum*) par quatre sels de calcium : hydroxyde de calcium (Ca (OH)₂), chlorure de calcium (CaCl₂), nitrate de calcium (Ca(NO₃)₂) et carbonate de calcium (CaCO₃). **Résultats et discussion.** *In vitro*, le nitrate de calcium et le carbonate de calcium ont peu d'effet sur les trois stades de vie des champignons, ainsi que le chlorure de calcium qui est moyennement efficace sur la croissance mycélienne, la germination conidienne et la sporulation de tous les champignons étudiés. *In vivo* et à froid, la plupart des sels de calcium testés s'avèrent efficaces sur le développement de la pourriture des pommes causée par le complexe fongique. Ces résultats justifient l'utilisation de ces sels de calcium comme moyen de lutte non polluant contre les maladies d'origine fongiques des pommes en conservation.

Mots clés : carbonate de calcium ; nitrate de calcium ; pomme ; pourriture ; stockage.

Thèmes : pathologie ; productions végétales ; technologie, récolte, transport.

Abstract

Development of apple rot in conservation in the presence of calcium salts

Introduction. The prolonged conservation of apples exposes them to various forms of spoilage which can be of physiological origin and often caused by the cold, or of parasitic origin and due essentially to fungic diseases. **Material and methods.** Observations were made on the effect of using four calcium salts: calcium hydroxide (Ca (OH)₂), calcium chloride (CaCl₂), calcium nitrate (Ca(NO₃)₂), and calcium carbonate (CaCO₃) to control fungic diseases responsible for apple rot in conservation (*Rhizopus stolonifer*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Monilia fructigena*, *Cryptosporiopsis malicorticis*, *Spilocaea pomi* and *Trichothecium roseum*). **Results and discussion.** *In vitro* results show that calcium nitrate and calcium carbonate have little effect on the three life stages of fungi, and that calcium chloride is fairly effective on mycelial growth, conidial germination and sporulation of all the fungi studied. *In vivo* and under cold conditions the majority of calcium salts tested proved to be effective against the development of apple rot caused by the fungic complexes. These results do not justify the use of these calcium salts as a means of fighting fungic disease developed during apple storage.

Key words: apples; calcium carbonate; calcium nitrate; rots; storage.

Subjects: pathology; vegetal productions; technology, crop, transport.

Depuis longtemps, certains chercheurs (Delong, 1937 ; Garman et Mathis, 1956 ; Sugar *et al.*, 1988) ont mis l'accent sur l'importance du calcium dans le développement des maladies et accidents physiologiques des pommes et des poires. Une relation très étroite a été observée entre la quantité de calcium contenue dans ces fruits et l'incidence de maladies telles que le *bitter pit* ou les « taches amères » des pommes (Perling, 1986) et le *cork spot* des poires (Raese, 1988 ; Raese et Stahly, 1988).

Les pertes économiques dues au pourrissement (Gautier, 1979 ; Bondoux, 1992 ; Palazon *et al.*, 1984), les risques de pollution des fruits par les résidus et l'apparition de souches résistantes suite à l'utilisation répétée de fongicides (Prusky, 1985 ; Maouni *et al.*, 2002) justifient des applications phytosanitaires avec des produits comme les dérivés calciques, tant au verger en prérecolte qu'avant l'entreposage. Certains travaux 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 ; Meheriuk *et al.*, 1984 ; Botton *et al.*, 1990 ; Dris et Niskanen, 1998 ; Bennett et Klich, 2003 ; Cucci *et al.*, 2006 ; Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005 ; Harker *et al.*, 2005 ; Harker *et al.*, 2006a ; Harker *et al.*, 2006b ; Lara *et al.*, 2006) et des bananes (Zambrano et Manzano, 1995 ; Antenette et Anjani, 2002 ; Perera et Karunaratne, 2002 ; Gunasinghe *et al.*, 2004 ; Ümit Ünal, 2007). 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 CaCl_2 restent fermes par rapport aux pommes n'ayant reçu aucun traitement (Bangerth *et al.*, 1972).

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. (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, 1997). En effet, dans une même lésion peuvent coexister de nombreux champignons participant ensemble à l'altération des pommes (modification de pH, la couleur et la teneur en eau). Ces modifications

peuvent également favoriser l'installation ultérieure d'autres champignons (Selmaoui *et al.*, 1999 ; Oukabli, 2004).

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.

Matériel et méthode

Espèces fongiques retenues

Les pommes pourries en conservation, sont collectées dans différentes chambres froides de Kenitra. Ces pommes sont désinfectées par l'alcool à 90 % 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 (PDA) solidifié (additionné après stérilisation de 100 mg par litre de chloramphénicol pour empêcher la croissance des bactéries), les boîtes sont ensuite déposées dans un incubateur à 25 °C et les champignons qui se sont développés sont repiqués dans de nouvelles boîtes contenant du PDA pour avoir des cultures pures.

La détermination des espèces fongiques isolées a été réalisée par l'utilisation de plusieurs clés de détermination (Botton *et al.*, 1990 ; Pitt, 1988 ; Samson *et al.*, 1984).

Les champignons identifiés sont au nombre de douze espèces fongiques qui ont été isolées à partir des pommes en conservation au Maroc : *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Monilia fructigena*, *Cryptosporiopsis malicorticis*, *Spilocaea pomi* et *Trichothecium roseum*. En effet, elles se développent de façon très importante sur le milieu PDA, produisent des lésions très largement sur les pommes et favorisent généralement leur pourriture.

Sels de calcium testés

Quatre sels de calcium, le chlorure de calcium (CaCl_2), le nitrate de calcium ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), le carbonate de calcium (CaCO_3) et l'hydroxyde de calcium ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), ont été testés *in vitro* et *in vivo* à 40 g/L. L'hydroxyde de calcium a été testé *in vitro* à 1 ; 2 ; 5 ; 10 et 20 g/L pour déterminer les concentrations inhibitrices de 50 % CI_{50} et

de 90 % (CI_{50} et CI_{90} , respectivement) du champignon.

Effet *in vitro* des sels de calcium sur les trois stades de vie des champignons

Pour évaluer la croissance mycélienne des espèces fongiques testées, les solutions de chaque sel de calcium sont incorporées au milieu PDA encore en fusion et le mélange est coulé sur des boîtes de Petri. L'inoculation est effectuée par un disque mycélien issu de culture âgée de 10 à 15 jours. La croissance mycélienne a été évaluée après 10 jours d'incubation à 25 °C, par mesure du diamètre des colonies. Dans ce test, trois essais ont été effectués et pour chaque essai trois boîtes sont utilisées avec une seule inoculation dans chaque boîte.

Ainsi, pour la germination conidienne, une suspension de spores (10^8 spores/mL) est étalée à la surface de boîtes de Petri contenant un mélange agar-sels de calcium. Les composés calciques ont été ajoutés au milieu gélosé encore en fusion. Le comptage des spores germées a été effectué sur un total de 200 spores après 24 heures d'incubation à 25 °C et à l'obscurité, avec trois essais, et pour chaque essai trois boîtes sont utilisées avec trois inoculations.

Alors que pour la sporulation des espèces fongiques, quatre disques de 5 mm de diamètre ont été prélevés à partir de la bordure des cultures des champignons et ont été placés dans un tube contenant 1 mL d'eau distillée stérile. Après écrasement des disques et agitation au vortex pendant 30 secondes, les spores ont été comptées à l'aide d'une cellule de Malassez à raison de trois comptages par suspension. 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 dix comptages.

L'efficacité de chaque composé calcique est déterminée selon la formule suivante et pour les trois stades de vie des champignons.

$$E(\%) = ((N_t - N) \times 100) / N_t$$

Où :

– N_t : estimation de la croissance mycélienne, de la germination conidienne ou de la sporulation chez le témoin ;

– N : estimation de la croissance mycélienne, de la germination conidienne ou

de la sporulation en présence de sels de calcium.

Les CI_{50} et les CI_{90} ont été déterminées graphiquement à partir de la relation linéaire entre le logarithme décimal de la concentration en composé minéral calcique et les valeurs probits issues des pourcentages d'inhibition de la germination, de la croissance ou de la sporulation.

Effet *in vivo* des sels de calcium sur le développement de la pourriture des pommes en conservation

Les pommes de la variété Golden Delicious ont été stérilisées en surface à l'alcool 90 % pendant 1 minute, rincées 3 fois à l'eau distillée stérile et séchées avec du papier-filtre stérile. Des blessures de 2 mm de profondeur ont été réalisées avec des aiguilles de 1 mm de diamètre en 3 points de la zone équatoriale des fruits. Les fruits ainsi blessés sont trempés 3 minutes dans les différentes solutions

de sels de calcium à une concentration finale de 400 ppm Ca^{++} (Biggs *et al.*, 1994), les pommes sont laissées 12 heures sous hotte à flux laminaire. L'inoculation a eu lieu au niveau des blessures avec des fragments mycéliens de 1 mm de diamètre provenant de cultures âgées de 15 jours. Les fruits ainsi traités sont répartis séparément dans des sachets en plastique fermés, préalablement imbibés d'eau distillée stérile afin de maintenir une humidité relative élevée. Ces sachets sont placés dans de grands sachets en plastique noir pour assurer une obscurité totale. Ils sont conservés 2 mois à 4 °C ou 10 jours à température ambiante (22 à 25 °C). La croissance a été évaluée par mesure du diamètre et l'efficacité de chaque agent minéral a été déterminée comme précédemment.

Pour chaque test, trois essais séparés dans le temps ont été effectués et pour chaque essai, trois pommes ont été utilisées.

$$E(\%) = ((D - Di) \times 100) / D$$

Où :

- Di : diamètre de la pourriture du fruit traité par les sels de calcium ;

- D : diamètre de la pourriture du témoin.

Analyse statistique

Le traitement statistique des données est réalisé par le test de Duncan (*Duncan's multiple range test*) au seuil de 5 % pratiqué sur l'efficacité moyenne calculée pour chacun des trois essais du test.

Résultats

Effet des sels de calcium sur les trois stades de vie des champignons

Des résultats illustrés dans le *tableau 1* on peut déduire que pour tous les champignons testés, le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne le plus important est obtenu avec l'hydroxyde de calcium et le chlorure de calcium. En effet, les pourcentages d'inhibition varient entre 49,90 et 97,72 % respectivement pour *Saccharomyces cerevisiae* en

Tableau 1. Efficacité ou pourcentage d'inhibition de quatre sels de calcium sur la croissance mycélienne, la germination conidienne et la sporulation de douze agents pathogènes fongiques des pommes après 10 jours d'incubation à 25 °C.

Table 1. Efficiency or percentage of inhibition of four calcium salts on mycelium growth, conidial germination and sporulation of twelve pathogenic fungal agents in apples after 10 days of incubation at 25°C.

Sels de calcium à 4 %	Champignons											
	Croissance mycélienne											
	Rs	Pe	An	Af	Aa	Ch	Fox	Sc	Mf	Cm	SP	Tr
Ca(OH) ₂	97,72 ^a	95,40 ^a	96,00 ^a	95,20 ^a	92,20 ^a	78,80 ^a	89,50 ^a	75,50 ^a	80,00 ^a	80,50 ^a	86,66 ^a	94,00 ^a
CaCl ₂	60,11 ^b	59,09 ^b	62,60 ^b	58,90 ^b	96,00 ^b	52,20 ^b	59,77 ^b	49,90 ^b	52,20 ^b	56,08 ^b	54,80 ^b	58,61 ^b
Ca(NO ₃) ₂	34,75 ^c	24,05 ^c	33,33 ^c	34,75 ^b	42,00 ^c	34,00 ^c	18,55 ^c	10,10 ^d	34,40 ^c	20,76 ^c	18,00 ^c	6,48 ^d
CaCO ₃	20,10 ^d	16,88 ^d	22,77 ^d	18,33 ^c	11,66 ^d	11,40 ^d	6,66 ^d	16,00 ^c	12,22 ^d	13,88 ^d	16,70 ^c	12,22 ^c
Sels de calcium à 4 %	Germination											
	Rs	Pe	An	Af	Aa	Ch	Fox	Sc	Mf	Cm	SP	Tr
Ca(OH) ₂	100,00 ^a	95,00 ^a	98,00 ^a	97,15 ^a	92,00 ^a	84,16 ^a	100,00 ^a	89,66 ^a	92,00 ^a	100,00 ^a	98,23 ^a	89,76 ^a
CaCl ₂	82,55 ^b	72,05 ^b	74,66 ^b	72,05 ^b	80,68 ^b	78,89 ^b	87,35 ^b	70,10 ^b	83,23 ^b	87,35 ^b	83,66 ^b	69,20 ^b
Ca(NO ₃) ₂	26,08 ^c	32,36 ^c	41,55 ^c	32,36 ^c	20,96 ^c	20,00 ^c	39,22 ^c	20,00 ^c	24,50 ^a	32,36 ^c	25,00 ^c	25,00 ^c
CaCO ₃	16,39 ^d	18,88 ^d	16,23 ^d	16,23 ^d	13,26 ^d	18,88 ^c	18,92 ^d	10,10 ^d	12,14 ^d	13,57 ^d	16,23 ^d	9,78 ^d
Sels de calcium à 4 %	Sporulation											
	Rs	Pe	An	Af	Aa	Ch	Fox	Sc	Mf	Cm	SP	Tr
Ca(OH) ₂	87,50 ^a	76,50 ^a	90,05 ^a	88,50 ^a	87,00 ^a	86,33 ^a	90,75 ^a	79,50 ^a	84,00 ^a	82,00 ^a	83,75 ^a	80,05 ^a
CaCl ₂	50,00 ^b	50,00 ^b	58,16 ^b	50,00 ^b	52,31 ^b	52,60 ^b	58,16 ^b	50,00 ^b	52,16 ^b	51,00 ^b	53,05 ^b	46,35 ^b
Ca(NO ₃) ₂	5,55 ^c	5,55 ^d	5,88 ^d	5,75 ^d	7,25 ^d	5,88 ^d	9,45 ^c	8,50 ^c	3,99 ^d	5,55 ^d	9,45 ^d	5,88 ^d
CaCO ₃	10,19 ^d	10,13 ^c	12,07 ^c	10,13 ^c	14,53 ^c	12,00 ^c	14,39 ^d	14,38 ^d	16,33 ^c	10,13 ^c	14,39 ^c	12,07 ^c

Moyenne des pourcentages d'inhibition : sur une même colonne, deux résultats suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % (test de Duncan - *Duncan's multiple range test*). Rs : *Rhizopus stolonifer* ; Pe : *Penicillium expansum* ; An : *Aspergillus niger* ; Af : *Aspergillus fumigatus* ; Aa : *Alternaria alternata* ; Ch : *Cladosporium herbarum* ; Fox : *Fusarium oxysporum* ; Sc : *Saccharomyces cerevisiae* ; Mf : *Monilia fructigena* ; Cm : *Cryptosporiopsis malicorticis* ; SP : *Spilocaea pomi* ; Tr : *Trichothecium roseum*.

Tableau 2. CI_{50} et CI_{90} (ppm) de l'hydroxyde de calcium $Ca(OH)_2$ sur les trois stades du cycle de développement de douze espèces fongiques responsables de la pourriture des pommes en conservation.

Table 2. CI_{50} and CI_{90} (ppm) of calcium hydroxide $Ca(OH)_2$ on the three stages of the development cycle of twelve fungal species responsible for apple rot during conservation.

Espèces fongiques	CI_{50}			CI_{90}		
	Ger.	Cr.	Sp.	Ger.	Cr.	Sp.
<i>Rhizopus stolonifer</i>	1 900	9 500	3 500	2 000	12 500	8 900
<i>Penicillium expansum</i>	1 900	16 500	3 100	2 000	19 900	12 500
<i>Aspergillus niger</i>	1 900	16 500	5 600	2 000	19 900	13 500
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2 000	16 500	5 000	2 000	18500	13 500
<i>Alternaria alternata</i>	2 200	13 100	14 100	2 500	14 100	15 800
<i>Cladosporium herbarum</i>	2 200	9 900	3 500	2 000	12 500	8 900
<i>Fusarium oxysporum</i>	1 800	13 500	3 100	2 000	19 000	12 500
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1 900	16 500	6 600	2 200	19 900	12 500
<i>Monilia fructigena</i>	1 900	16 500	5 600	2 500	19 900	13 500
<i>Cryptosporiopsis malicorticis</i>	2 000	13 100	5 000	2 000	18 500	8 800
<i>Spilocaea pomi</i>	2 200	9 500	14 100	2 200	12 500	12 500
<i>Trichothecium roseum</i>	2 200	13 000	3 500	2 500	19 900	15 800

CI_{50} : concentration inhibitrice à 50 % ; CI_{90} : concentration inhibitrice à 90 % ; Ger. : germination ; Cr.= croissance ; Sp.= sporulation.

présence du chlorure de calcium et pour *Rhizopus stolonifer* en présence de l'hydroxyde de calcium.

En présence du nitrate de calcium et du carbonate de calcium, la croissance mycélienne des champignons testés est sensiblement affectée (les pourcentages d'inhibition compris entre 11,40 et 34,75 %) à l'exception de *Saccharomyces cerevisiae* et de *Trichothecium roseum* qui se sont montrés résistants au $Ca(NO_3)_2$ et *Fusarium oxysporum* au $Ca(CO_3)_2$. Ainsi, l'effet des sels de calcium sur la germination montre que l'hydroxyde de calcium et le chlorure de calcium sont efficaces de 69,20 à 100 % sur la germination des 12 espèces fongiques. En revanche, le nitrate de calcium et le carbonate de calcium sont moins actifs sur la germination de ces espèces fongiques. *Saccharomyces cerevisiae*, *Monilia fructigena*, *Cryptosporiopsis malicorticis* et *Trichothecium roseum* sont faiblement sensibles au $Ca(CO_3)_2$ (tableau 1), alors que l'effet des sels de calcium sur la sporulation est le même que sur la croissance mycélienne, les sels de calcium sont consignés en deux groupes selon leur efficacité (tableau 1). Le premier groupe est constitué par le $Ca(OH)_2$ et le $CaCl_2$. Ces produits ont inhibé 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, constitué par le $Ca(NO_3)_2$ et le $CaCO_3$, est caractérisé par une efficacité très faible (le pourcentage d'inhibition varie entre 3,99 et 14,39 %).

Les sels de calcium à savoir le $Ca(NO_3)_2$ et le $CaCO_3$ n'ont montré aucune efficacité aussi bien sur la germination que sur la croissance mycélienne et la sporulation de tous les champignons étudiés.

CI_{50} et CI_{90} de $Ca(OH)_2$ sur les trois stades de développement des champignons étudiés

Les valeurs des CI_{50} et CI_{90} révèlent que $Ca(OH)_2$, avec des doses allant de 1 900 ppm à 19 900 ppm, est très efficace sur la germination des spores, la croissance mycélienne et la sporulation de toutes les espèces fongiques étudiées (tableau 2). L'hydroxyde de calcium s'avère efficace, à une concentration qui ne dépasse pas 2.10^4 ppm.

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

Les sels de calcium qui ont montré *in vitro* une efficacité sur la croissance mycélienne, la germination des spores et la sporulation, sont aussi efficaces *in vivo* sur l'évolution de la pourriture provoquée par tous les champignons testés. L'hydroxyde de calcium 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 cela pour l'ensemble des champignons testés.

Ainsi, les résultats obtenus à basse température (figure 1) montrent que tous les champignons testés sont plus sensibles à $Ca(OH)_2$, suivi de $CaCl_2$ et de $Ca(NO_3)_2$ à l'exception de *Penicillium expansum*, *Fusarium oxysporum* et *Trichothecium roseum*, qui sont plus sensibles à $Ca(NO_3)_2$ et *Alternaria alternata* qui est plus sensible à $CaCl_2$.

À température ambiante, toutes les espèces fongiques testées sont globalement moins sensibles à $CaCl_2$, $Ca(NO_3)_2$ et $CaCO_3$ et plus sensible à $Ca(OH)_2$.

Il ressort de ces résultats que l'hydroxyde de calcium et le chlorure de calcium présentent une efficacité importante vis-à-vis des champignons étudiés aussi bien *in vitro* qu'au niveau des traitements post-récolte des pommes avant leur conservation. Les autres sels de calcium (carbonate de calcium et nitrate de calcium) sont moins fongitoxiques et ne présentent aucun intérêt pour les traitements post-récolte des pommes.

Discussion et conclusion

Des quatre sels de calcium testés *in vitro*, seuls l'hydroxyde de calcium et le chlorure de calcium ont montré une toxicité importante vis-à-vis de tous les champignons testés. Ces résultats rejoignent en

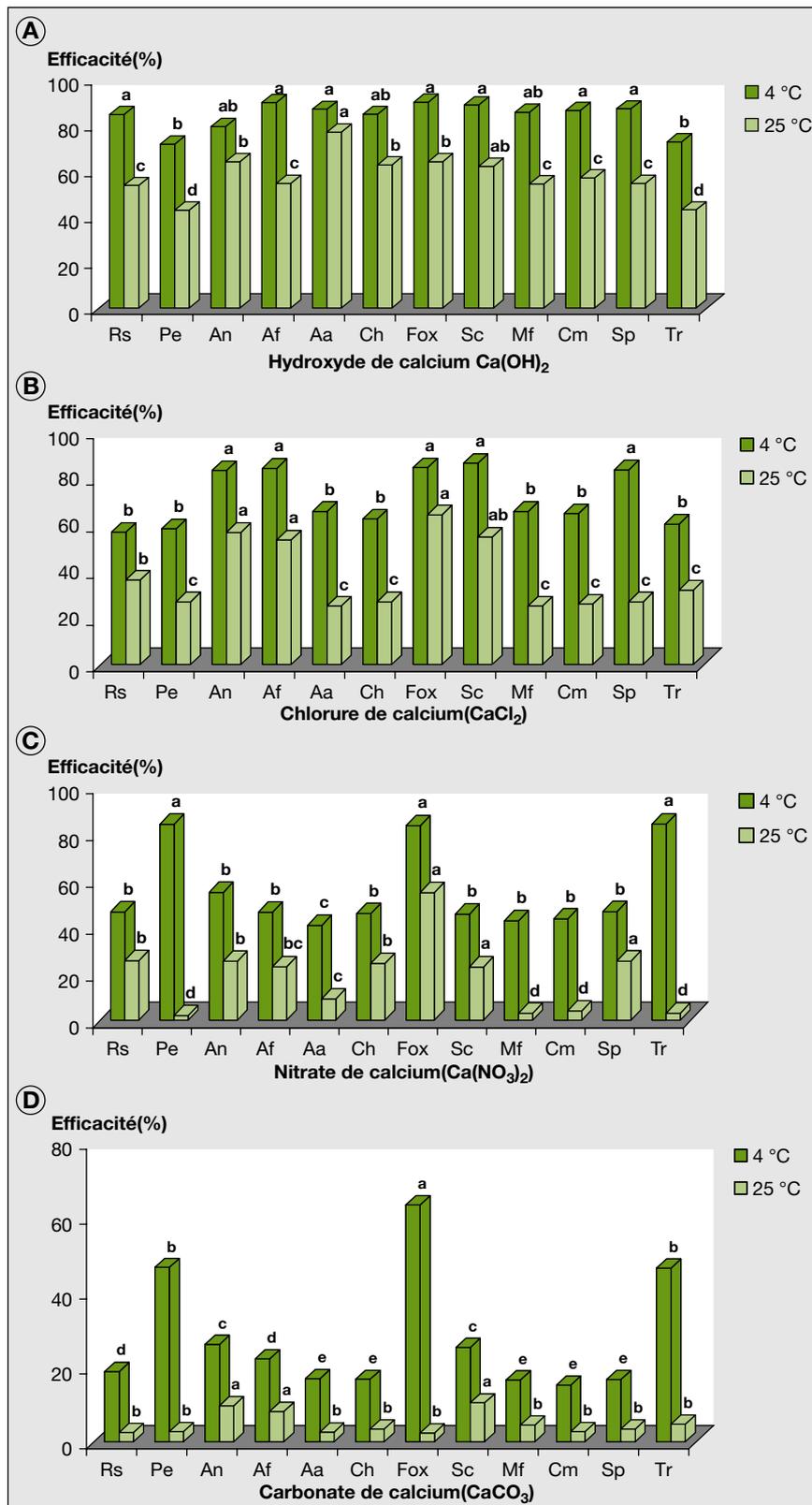


Figure 1. Efficacité ou pourcentage d'inhibition de quatre sels de calcium sur le développement de la pourriture sur les pommes. A) hydroxyde de calcium (Ca (OH)₂) ; B) chlorure de calcium (CaCl₂) ; C) nitrate de calcium (Ca(NO₃)₂) ; D) carbonate de calcium (CaCO₃).

Figure 1. Efficiency or percentage of inhibition of four calcium salts on the development of apple rot. A) calcium hydroxide (Ca (OH)₂); B) calcium chloride (CaCl₂); C) calcium nitrate (Ca(NO₃)₂); D) calcium carbonate (CaCO₃).

partie ceux obtenus avec *Leucostoma per-soonii*, champignons parasites de pêche (Biggs et Peterson 1990 ; Biggs *et al.*, 1994). L'inefficacité de la plupart des champignons testés *in vitro* justifie bien que les champignons tolèrent parfaitement le calcium et que la sensibilité au $\text{Ca}(\text{OH})_2$ peut être liée aux hydroxydes, autrement dit à un pH basique élevé. Néanmoins, on doit préciser que les cations Ca^{++} peuvent modifier la perméabilité membranaire. *In vivo* et à des températures très basses, la plupart des sels de calcium se sont avérés plus efficaces sur les principaux agents fongiques testés. Des résultats similaires ont été obtenus avec *Penicillium expansum* et *Alternaria* spp. isolés à partir des pommes (Conway, 1982a ; Conway, 1982b ; Botton *et al.*, 1990 ; Biggs *et al.*, 1993 ; Selmaoui, 1999 ; Bennett et Klich, 2003 ; Cocci *et al.*, 2006 ; Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005 ; Harker *et al.*, 2005 ; Harker *et al.*, 2006a ; Harker *et al.*, 2006b ; Lara *et al.*, 2006), ainsi qu'avec *Monilia fructicola* isolé à partir des pêches (Conway *et al.*, 1987).

De même, le CaCl_2 appliqué au verger ou au *drencher* réduit d'une façon significative l'incidence de la pourriture des pommes provoquée 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 au *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 (Meheriuk *et al.*, 1984 ; Conway *et al.*, 1987 ; Dris et Niskanen, 1998 ; Zambrano et Manzano, 1995 ; Antenette et Anjani, 2002 ; Perera et Karunaratne, 2002 ; Gunasinghe *et al.*, 2004 ; Ümit Ünal, 2007).

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 Ca^{++} associés avec les substances pectiques intercellulaires des fruits (Bateman et Lumsden, 1956 ; Conway *et al.*, 1987). Ce mécanisme proposé peut être opérationnel pour le système variété de pomme Nittany causé par *Alternaria* spp.

Les ions Ca^{2+} 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 ; Barash et Angel, 1970 ; Barmore, 1979) et qui participe avec la pectine méthyle estérase à l'altération des tissus des poires. 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).

Par ailleurs, Kohle *et al.* (1985), suggèrent que les ions Ca^{2+} stimulent probablement la synthèse des phytoalexines et/ou des phénols qui jouent un rôle très important dans la résistance des plantes aux agressions parasitaires (Seiji, 1983 ; Nicholson et Hammersmidt, 1992). Ces composés traduisent notamment une action inhibitrice de l'activité des enzymes hydrolytiques parasitaires telles que les pectinases (Davet et Ravise, 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). Il semble que l'apport de calcium aux pommes leur confère, à basses températures, une résistance vis-à-vis des champignons. Des travaux effectués dans ce sens (Conway *et al.*, 1987) ont suggéré que les ions Ca^{2+} peuvent s'associer aux acides pectiques, empêchant ainsi l'activité de l'enzyme polygalacturonase. À des températures plus élevées, le calcium semble être insuffisant pour empêcher une telle activité enzymatique. Il convient donc de suggérer une utilisation des dérivés calciques tels que $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaCl_2 , et $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ tant au verger en pré-récolte (pulvérisation) qu'en station avant l'entreposage (trempage), en raison de leur efficacité contre les maladies d'origine physiologique et fongique et aussi, de leur nature non polluante. ■

Références

Antenette NP, Anjani MK. Postharvest calcium chloride treatments do not help to increase shelf-life of bananas. *Fruits* 2002 ; 57 : 87-94.

Bangerth F, Dille DR, Dewey DH. Effect of postharvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruits. *J Am Soc Hortic Sci* 1972 ; 102 : 785-8.

Barash I, Angel E. Isolation and properties of an exopolygalacturonase produced by *Penicillium digitatum* during infection lemon fruits. *Israel J Bot* 1970 ; 19 : 599-608.

Barmore CR, Brown GE. Role of pectolytic enzymes and galacturonic acid in citrus fruits caused by *Penicillium digitatum*. *Phytopathology* 1979 ; 69 : 675-8.

Bateman DF, Lumsden RD. Relation of calcium Content and nature of the pectic substances in beau hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia Solani*. *Phytopathology* 1956 ; 55 : 734-8.

Bateman DF, Millar RL. Pectic enzymes in tissue degradation. *Annu Rev Phytopathol* 1966 ; 4 : 119-46.

Bennett JW, Klich M. Micotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003 ; 16 : 497-516.

Biggs AR, Ingel M, Solihati WD. Control of *Alternaria* infection of fruit of apple cultivar Nittany with calcium chloride and fungicides. *Plant Dis* 1993 ; 77 : 976-80.

Biggs AR, El Kholi MM, El-Neshawy SM. Effect of calcium salts on growth, pectic enzyme activity and colonization of peach twigs by *Leucostoma per-soonii*. *Plant Dis* 1994 ; 78 : 886-90.

Biggs AR, Peterson CA. Effect of chemical applications to peach bark wounds on accumulation of lignin and suberin and susceptibility to *Leucostoma per-soonii*. *Phytopathology* 1990 ; 80 : 861-5.

Bondoux P. *Maladies de conservation des fruits à pépins : pommes et poires*. Coll. Techniques et pratiques. Paris : éditions QUAE, 1992.

Bostock R, Wilcox SM, Wany G, *et al.* Suppression of *Monilia fructicola* cutinase by peach fruit surface phenolic acids. *Physiol Mol Plant Pathol* 1999 ; 54 : 37-50.

Botton B, Burton A, Fevre M, *et al.* *Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle*. Paris : éditions Masson, 1990.

Chapeland-Leclerc F, Nicolas Papon N, Thierry Noël T, Villard J, *et al.* Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoses). *Revue Française des Laboratoires* 2005(373) : 61-6.

Cocci E, Rocculi P, Romani S, *et al.* Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biol Technol* 2006 ; 39 : 265-71.

Conway WS. Effect of post-harvest calcium treatment on decay of Delicious apples. *Plant Dis* 1982a ; 66 : 402-3.

Conway WS. Effect of post-harvest calcium treatment on decay of Delicious apples and its effect on decay. *Phytopathology* 1982b ; 73 : 1068-71.

Conway WS, Gross KC, Sam CE. Relation ship of bound calcium and inoculum concentration to the effect of post-harvest calcium treatment on decay of apples Caused by *Penicillium expansum*. *Plant Dis* 1987 ; 71 : 78-80.

Davet P, Ravise A. Inhibition du colletotrichum coccoïdes du pyrenochaeta lycopersici et de leurs enzymes pectinolytiques par des substances élaborées chez quelques Lycopersion Mill. en réaction à l'infection par le complexe parasitaire des racines. *CR Acad Sci (Paris) Ser D* 1976 ; 282 : 1351-4.

Delong WA. Calcium and boron contents of the apple fruit as related to the incidence of Blotchy Cork. *Plant Physiol* 1937 ; 12 : 552-6.

Desjardins AE, Plattner RD, Spencer GF. Inhibition of trichothecene toxin biosynthesis by naturally occurring shikimate aromatics. *Phytopathology* 1988 ; 27 : 767-71.

- Dris R, Niskanen R. *The impact of calcium chloride and heat treatments on the quality maintenance of 'Lobo' apples after cold storage*. Congress "Advances in the refrigeration systems, food technologies and cold chain", Sofia, Bulgaria, 23-26 September, 1998. Paris : Institut international du froid, 2000.
- Faust M. The role of calcium in the respiratory mechanism and senescence of apples. *Colloque Int CNRS* 1974 ; 238 : 87-92.
- Garman P, Mathis WT. Studies of mineral balance as related to occurrence of Baldwin spot in Connecticut. *Bull Conn Agric Exp Stn* 1956(601) : 1-19.
- Gautier M. La conservation des fruits 3^e partie. *Arboriculture fruitière* 1979 ; 309 : 27-49.
- Gunasinghe RN, Ikiwattte CJ, Karunaratne AM. The use of *Pantoea agglomerans* and *Flavobacterium* sp. to control banana pathogens. *J Hortic Sci Biotechnol (GBR)* 2004 ; 79 : 1002-6.
- Harker FR, Norquay C, Amos R, et al. The use and misuse of discrimination tests for assessing the sensory properties of fruit and vegetables. *Postharvest Biol Technol* 2005 ; 38 : 195-201.
- Harker FR, White A, Gunson FA, Hallett IC, De Silva HN. Instrumental measurement of apple texture : A comparison of the single-edge notched bend test and the penetrometer. *Postharvest Biol Technol* 2006a ; 39 : 185-92.
- Harker FR, Gunson FA, Triggs CM. Apple firmness : Creating a tool for product evaluation based on a sensory-instrumental relationship. *Postharvest Biol Technol* 2006b ; 39 : 327-30.
- Kohle H, Jeblick W, Poten F, et al. Chitosan-elicited callose synthesis in soy bean cells as a Ca²⁺ dependent process. *Plant Phytopathol* 1985 ; 77 : 544-51.
- Lara I, Graell J, López ML, et al. Multivariate analysis of modifications in biosynthesis of volatile compounds after CA storage of 'Fuji' apples. *Postharvest Biol Technol* 2006 ; 39 : 19-28.
- Maouni A, Lamarti A, Douira A, et al. Étude de la résistance d'*Alternaria alternata* et *Penicillium expansum* aux fongicides lors de la conservation des poires. *Bull Soc Pharm Bordeaux* 2002 ; 141 : 55-66.
- Meheriuk M, Lau OL, Hall JW. Effects of some postharvest and storage treatments on the incidence of flesh browning in controlled-atmosphere-stored Delicious apples. *J Am Soc Hortic Sci* 1984 ; 109 : 290-3.
- Nicholson RL, Hammersmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu Rev Phytopathol* 1992 ; 30 : 369-89.
- Oukabli A. Le pommier : une culture de terroir en zones d'altitude - *Transfert de Technologie en Agriculture, Bulletin Mensuel d'Information et de Liaison du PNTTA* . 2004 ; 115. www.iav.ac.ma/pntta/115.pdf.
- Palazon IC, Palazon P, Robert, et al. *Estudio de los problemas de la conservación de peras y manzanas en la provincia de Zaragoza*. Diputación Provincial Zaragoza Publication, N°990. Zaragoza : Institución Fernando el Católico, 1984.
- Perera AN, Karunaratne AM. Postharvest calcium chloride treatments do not help to increase shelf-life of bananas. *Fruits* 2002 ; 57 : 87-94.
- Perring MA. Incidence of Bitter pit in relation to the calcium content of apples : Problems and paradoxes, a review. *J Sci Food Agric* 1986 ; 37 : 591-606.
- Pitt JI. --Laboratory guide to common *Penicillium* species. Dickson (Australia) : Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) : Division of Food Processing, 1988.
- Prusky D. Développement, persistance, survival and strategies for control of thiaendazol resistant strains of *Penicillium* on pomes fruits. *Phytopathology* 1985 ; 75 : 877-82.
- Raese JT. Calcium : Effects on apple and pear disorders and fruit quality and control. *Proc Wash State Hortic Assoc* 1988 ; 84 : 247-56.
- Raese JT, Stahly EA. Timing of calcium sprays to increase fruit calcium, improve fruit quality and control disorders of 'Anjon' Pears. *Hortic Sci* 1988 ; 23 : 836 ; (Abstract).
- Reddy MK, Mahadevan A. Effect of phenolic compounds on cellulase. *Indian Phytopathology* 1976 ; 20 : 265-7.
- Samson RA, Hoekstra ES, Van Dorschot CAN. *Introduction to food-Borne fungi*. Second edition Central bureau Voor Schimmelcultures. Amsterdam : Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, 1984.
- Seiji O. Induction of resistance or susceptibility. *Annu Rev Phytopathol* 1983 ; 21 : 289-315.
- Selmaoui K, Douira A. Microsclerotia in *Alternaria alternata*. *Phytopathol Mediyt* 1997 ; 38 : 43-6.
- Selmaoui K, Ouazzani Touhami A, Douira A. Maladies de conservation des pommes au Maroc. *Le monde agricole et la pêche maritime* mars-avril. 1999 ; (14).
- Sharples RO, Johnson DS. The influence of calcium on Senescence changes in apples. *Ann Appl Biol* 1977 ; 85 : 450-3.
- Sugar D, Power K, Basile SA. Effect of summer application of calcium chloride on postharvest decay of pear (Abstr.). *Phytopathology* 1988 ; 78 : 1553-5.
- Ümit Ünal M. Properties of polyphenol oxidase from 'Anamur' banana (*Musa cavendishii*). *Food Chem (GBR)* 2007 ; 100 : 909-13.
- Zambrano J, Manzano J. Influence du calcium sur la maturation et la conservation des mangues après leur récolte. *Fruits* 1995 ; 50 : 145-52.