



**UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE**  
**Faculté des Sciences et Techniques**



**UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE**  
**Faculté des Sciences et Techniques**  
**Béni-Mellal**

Nom et prénom de l'auteur : **MAYOUSSI Btissam**

Intitulé de la thèse : Contribution à l'évaluation de risque de contamination fongique des agrumes en post-récolte par l'étude des interactions interfaciales

Directeur de la thèse : Pr. Hassan Iatrache Professeur de l'Enseignement Supérieur.

Co-encadrant : Pr. HAFIDA Zahir Professeur de l'Enseignement Supérieur.

Intitulé et référence du CED Doctorat : Ressources naturelles, santé et Environnement.

Lieu de réalisation des travaux : Laboratoire : Génie Industriel et Ingénierie des Surfaces

Equipe : Bioprocédés et Biointerfaces

Faculté des Sciences et Technique Beni Mellal, Université Sultan Moulay Slimane

---

Date de soutenance : Le 04 Mars 2022

**Devant** la commission d'examen composée de :

---

<b>Pr. Mostafa EL LOUALI</b>	<b>Faculté des sciences et techniques, Université Sultan Moulay Slimane. Beni Mellal</b>	<b>President</b>
<b>Pr. Hafida HANINE</b>	<b>Faculté des sciences et techniques, Université Sultan Moulay Slimane. Beni Mellal</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr.Soumya EL ABED</b>	<b>Faculté de sciences et techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.Fes</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr.Fatima HAMADI</b>	<b>Faculté des sciences, Université Ibn Zohr.Agadir</b>	<b>Examineur</b>
<b>Pr. Hafida ZAHIR</b>	<b>Faculté de science et technique, Université Sultan Moulay Slimane. Beni Mellal</b>	<b>Co-encadrante</b>
<b>Pr.Hassan LATRACHE</b>	<b>Faculté des sciences et techniques, Université Sultan Moulay Slimane. Beni Mellal</b>	<b>Encadrant</b>

---

**Année universitaire : 2021- 2022**

## Remerciement

J'ai eu la chance et l'honneur de travailler durant ces années de doctorat au sein de l'équipe du laboratoire *Génie Industriel et Ingénierie des Surfaces Equipe : Bioprocédés et Biointerfaces* Je tiens, en tout premier lieu, à remercier chaleureusement mes directeurs de thèse, les Professeurs **Hassan LATRACHE** et **Hafida ZAHIR** pour leur confiance, leur patience, leur soutien ainsi que pour les conseils qu'ils m'ont prodigués tout au long de cette thèse. Je remercie également le Professeur **Mostafa EL LOUALI** pour sa disponibilité, ses remarques, ses conseils et ses encouragements. J'apprécie beaucoup leurs compétences à la fois professionnelles et humaines. Je tiens aussi à les remercier de m'avoir supporté et pour l'autonomie qu'ils m'ont octroyée durant toutes ces années. J'exprime ma gratitude au Professeur **Mustafa Hassan BOUBAKER** et au Professeur **Fatima HAMADI** de l'université Ibn Zohr d'Agadir pour la contribution dans l'approvisionnement en souches fongiques et pour le partage de leurs connaissances sur ces souches utilisées dans cette étude. Merci également à **M. Mohamed Saker** de la chambre d'agriculture de Beni Mellal pour sa collaboration dans la partie bibliographique par les données sur le secteur agrumicole dans la région Beni Mellal-Khniifera. Je remercie pareillement le doyen et le directeur du centre des études doctorales FST de Beni Mellal, pour sa disposition, ses conseils et pour la qualité et la richesse des formations dont il nous a fait profiter. Je remercie aussi les Professeurs **Noureddeine Kouider** et **Mustafa Mabrouki** pour leurs conseils.

Je tiens aussi à remercier les membres du jury pour leur présence notamment ma co-encadrante **Mme Hafida zahir** et **Mme Soumia Elabed** professeur de Université Sidi Mohammed Ben Abdellah FST Fes , pour leur lecture attentive de ma thèse ainsi que pour les remarques qu'ils m'adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer mon travail.

Enfin un remerciement spécial à mes amis et collègues les membres de laboratoire de bioprocédés et bio-interface notamment **Rabha, kaoutar, Mourad** et **Chorouk** ...pour leur soutien et leur amitié ce qui a rendu cette expérience plus agréable. Je tiens enfin à exprimer toute ma gratitude à ma famille et mes meilleurs amis dont le soutien a été essentiel tout au long de

*mes études, et tout particulièrement au cours de ce travail, particulièrement mes parents, qui me sont très chers et ma petite famille.*



## *Dédicace*

*A MES TRÈS CHÈRS PARENTS*

*Pr MOHAMED MAYOUSSI ET Pr RABIA CHEGUIRI*

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi et réalisés aujourd'hui l'un de vos rêves. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.*

*À MON MARI*

*Pr MOHAMED BOURNIG*

*Pour son aide, ses conseils, ses encouragements et par son soutien. Que dieu l'aide à réussir dans sa vie et qu'il soit parmi les plus heureux dans la vie.*

*À MES ENFANTS*

*HAJAR RAYANE*

*Que dieu les protège.*

*À MES FRÈRES*

*ZAKARIA AYOUB MEHDI*

*À mes amis et collègues*

*À tous ceux qui me sont chers.*



## Résumé

Dans le domaine alimentaire et plus particulièrement le conditionnement des agrumes, la contamination fongique en poste- récolte peut conduire à des pertes élevées des agrumes. Cette contamination est causée généralement par les trois principaux champignons suivant : *Penicilium italicum*, *Penicilium digitatum* et *Geotricum candidum*. Malgré l'utilisation des fongicides pour le traitement des agrumes en poste-récolte. Ils sont toujours sensibles aux infections. Cette contamination se produit à différentes étapes du champ de conditionnement et des activités d'emballage et d'entreposage. Dans ce contexte, les objectifs de ce travail consistent :

En premier lieu à déterminer les propriétés physico-chimiques de la surface des spores de *P. digitatum*, *P. italicum*, et *Geotricum candidum* et celles des surfaces de trois variétés des agrumes à savoir le Navel, la Valencia, et la Mandarine. Ainsi que la rugosité des supports objet d'étude.

En deuxième lieu, nous avons déterminé les propriétés physico-chimiques et la rugosité de la surface des supports rencontrés fréquemment dans la chaîne de conditionnement des agrumes à savoir : Le PVC, l'acier inoxydable 316, le plastique, et le bois d'emballage. Ensuite nous avons étudié l'adhésion prédictive et expérimentale de ces spores sur les supports étudiés.

En dernier lieu, nous avons étudié le pouvoir adhésif des spores fongiques sur le produit de cirage des agrumes.

Les résultats de la caractérisation physico-chimiques des spores ont montré que les spores de *P. digitatum* et *Geotricum candidum* présentent un caractère relativement hydrophile contrairement aux autres spores de *P. italicum* qui présentent un caractère relativement hydrophobe. Ainsi on constate que les trois spores présentent un caractère donneur d'électron élevé ( $\gamma$ ). La caractérisation de trois variétés des agrumes montre que la surface de la Mandarine, le Navel et la Valencia est très rugueuse. Et elle présente un caractère relativement hydrophile marqué par un caractère donneur d'électrons très élevé ( $\gamma$ ).

L'étude de l'adhésion a montré que toutes les spores étudiées ont la capacité d'adhérer à la surface de toutes les variétés des agrumes. En effet, toutes les souches ont la capacité d'adhérer plus sur la Valencia en atteignant une valeur maximale. En effet, la variété Navel présente un pouvoir adhésif des spores fongiques minimal. Par contre l'adhésion théorique n'a pas pu totalement expliquer le phénomène de l'adhésion de ces spores sur les agrumes étudiés.

Les résultats d'adhésion des spores sur les surfaces des matériaux utilisés en chaîne de conditionnement des agrumes ont montré que : Le bois a un caractère relativement hydrophile, tandis que les autres supports (Plastique, PVC, inox L 316) présentent un caractère relativement hydrophobe. Certes, tous les supports présentent un caractère donneur d'électrons ( $\gamma$ ) plus remarquable que le caractère accepteur d'électrons. L'étude de l'adhésion a montré que les spores des souches étaient capables d'adhérer sur tous les matériaux testés. Les valeurs les plus élevées des spores adhérentes ont été observées sur le bois alors que les faibles valeurs ont été observées sur inox. Le plastique d'emballage était la matière plastique la plus fortement colonisée que le PVC avec des nombres maximums de spores pour les trois champignons étudiés. Alors que l'approche théorique n'a pas pu totalement expliquer le phénomène de l'adhésion de ces spores sur les supports étudiés.

L'adhésion des spores a été discutée en prenant en considération l'effet de la rugosité et les propriétés physico-chimiques de la surface des supports. Nous avons constaté que l'adhésion des spores dépend du caractère donneur d'électrons ( $\gamma$ ) des surfaces de matériaux et des agrumes étudiés. Finalement on a remarqué le produit de cirage comporte un pouvoir adhésif très élevé qui est probablement responsable sur la contamination en post-récolte.

**Mots-clés** : Spores, *P. digitatum*, *P.italicum*, *Geotricum candidum*, adhésion, surface des supports, agrumes, rugosité, produit de cirage, propriétés physico-chimiques, corrélation.

## ملخص

في قطاع الصناعة الغذائية وخاصة معالجة وتغليف الحوامض، تؤدي الفطريات بعد قطف الحوامض الى خسائر كبيرة.

تعتبر الفطريات الرئيسية الثلاثة التالية *Geotricum* و *Penicillium digitatum* و *Penicillium italicum* هي المسؤولة عن ضياع محصول هائل من الحوامض بعد قطفها، رغم استعمال المبيدات ضدهذه الفطريات لمعالجة الحوامض إلا أنها سريعة التلف.

حيث ان هذا التلف يمكن ان يتم في عدة مراحل مختلفة من تصنيع الحوامض: الاستقبال النقل والتغليف والتخزين. وفي هذا السياق تكمن أهداف هذا العمل .

اولاً قمنا بتحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية لسطح ابواغ فطريات *P. digitatum* و *P. italicum* و *Geotricum candidum* وأسطح الحوامض الثلاثة التالية: Navel Mandarin Valencia. وكذلك حددنا خشونة الدعامة المدروسة.

ثانياً، قمنا بتحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية وخشونة سطح الدعامة التي نصادفها كثيراً في سلسلة معالجة وتغليف الحوامض، وهي PVC، الفولاذ 316 المقاوم للصدأ، البلاستيك، والخشب. ثم درسنا الالتصاق التنبئي والتجريبي لهذه الفطريات على الدعامة المدروسة.

أخيراً، درسنا القوة اللاصقة للفطريات على منتج تلميع الحوامض.

توضح نتائج التوصيف الفيزيائي والكيميائي لابواغ فطريات *P. digitatum* و *Geotricum candidum* لها طابع نسبياً محبا للماء على عكس الأبواغ الأخرى *P. italicum* التي لها طابع كاره للماء.

كما نلاحظ أن الأبواغ المدروسة لها طابع مانح كبير للإلكترون (- $\gamma$ )، كما يظهر التوصيف لانواع الحوامض الثلاثة المدروسة أن سطحها خشن للغاية. ولها طابع محب للماء نسبياً تتميز بطابع مانح للإلكترون جداً (- $\gamma$ ) اظهرت دراسة الالتصاق أن جميع ابواغ الفطريات المدروسة لديها القدرة على الالتصاق بسطح جميع أنواع الحوامض. في الواقع، تتمتع جميع الابواغ بقدرة قصوى على Valencia .

كما اظهرت نتائج التوصيف الفيزيائي والكيميائي لسطح الدعامة التي نصادفها كثيراً في سلسلة معالجة وتغليف الحوامض، ان الخشب له طابع محب نسبياً للماء، في حين أن الدعامة الأخرى (البلاستيك، PVC، الفولاذ المقاوم للصدأ 316 لها طابع كاره نسبياً للماء. كما اظهرت نتائج التصاق الأبواغ على أسطح الدعامة المدروسة. لوحظت على ان نسبة الابواغ الملتصقة على الخشب كبيرة بينما نسبة التصاقها على الفولاذ المقاوم للصدأ قليلة. كما ان بلاستيك التغليف هو أكثر استعمالاً من PVC . بينما لم تتمكن الدراسة التنبئية من شرح ظاهرة التصاق هذه الفطريات على الدعامة المدروسة بشكل كامل.

كما تم مناقشة التصاق ابواغ الفطريات مع الأخذ بعين الاعتبار تأثير الخشونة والتوصيف الفيزيائي والكيميائي لسطح الدعامة. وجدنا أن التصاق الفطريات يتأثر بالطابع المحرر للإلكترونات (- $\gamma$ ) لسطوح الدعامة والحوامض المدروسة.

أخيراً، لاحظنا أن منتج تلميع الحوامض يتمتع بقوة التصاق عالية جداً والتي من المحتمل أن تكون مسؤولة عن اتلاف الحوامض بعد معالجتها وتغليفها.

كلمات مفتاح: فطريات *P. digitatum*، *P. italicum*، *Geotricum candidum*، الالتصاق، الحوامض، الخشونة، ملمع الحوامض، الخصائص الفيزيائية والكيميائية.

## Abstract

In the food sector and more particularly the packaging of citrus fruits, post-harvest fungal contamination can lead to high losses of citrus fruits. This contamination is generally caused by the following three spores fungi: *Penicilium italicum*, *Penicilium digitatum* and *Geotricum candidum*. Despite the use of fungicides for the treatment of post-harvest citrus fruits, they are still susceptible to infection. This contamination occurs at different stages of the packaging field and the packaging and storage activities. In this context, the objectives of this work consist of:

Firstly to determine the physico-chemical properties of the surface of the spores of *P. digitatum*, *P. italicum*, and *Geotricum candidum* and those of the surfaces of three varieties of citrus fruits namely Navel, Valencia, and Mandarin, as well as the roughness of the supports studied.

Secondly, we determined the physico-chemical properties and the surface roughness of the supports frequently encountered in the citrus packaging chain, namely: PVC, 316 stainless steel, plastic, and wood packaging. Then we studied the predictive and experimental adhesion of these spores on the supports studied.

The results of the physicochemical characterization of the spores showed that the spores of *P. digitatum* and *Geotricum candidum* have a relatively hydrophilic character unlike the other spores of *P. italicum*, which have a relatively hydrophobic character. Thus, we see that the three spores have a high electron donor character ( $\gamma^-$ ). The characterization of three varieties of citrus fruits shows that the surface of Mandarin, Navel and Valencia is very rough. In addition, it has a relatively hydrophilic character marked by a very high electron donor character ( $\gamma^-$ ).

The study of adhesion showed that all the spores studied have the ability to adhere to the surface of all varieties of citrus fruits. Indeed, all strains have the ability to adhere more to Valencia reaching a maximum value. Indeed, the Navel variety has a minimal adhesive power of fungal spores. On the other hand, the theoretical adhesion could not completely explain the phenomenon of the adhesion of these spores on the citrus fruits studied.

The results of spore adhesion on the surfaces of the materials used in the citrus packaging line showed that: Wood has a relatively hydrophilic character, while the other supports (plastic, PVC, L 316 stainless steel) have a relatively hydrophobic character. All the supports present an electron donating character ( $\gamma^-$ ) more remarkable than the electron accepting character. The adhesion study showed that the spores of the strains were able to adhere to all the materials tested. The highest values of adhered spores were observed on wood while the lowest values were observed on stainless steel. Packaging plastic was the most heavily colonized plastic material than PVC with maximum spore counts for all three fungi studied. While the theoretical approach could not completely explain the phenomenon of the adhesion of these spores on the studied supports.

The adhesion of the spores was discussed taking into consideration the effect of roughness and the physico-chemical properties of the surface of the supports. We found that the adhesion of spores depends on the electron donating ( $\gamma^-$ ) character of the surface of materials and studied citrus fruits. Finally, we noticed that the shoe polish product has a very high adhesive power, which is probably responsible for post-harvest contamination.

Keywords: Spores, *Penicilium digitatum*, *Penicilium italicum*, *Geotricum candidum*, adhesion, surface of supports, citrus fruits, roughness, waxing product, physicochemical properties, correlation.

## Table des matières

<i>Remerciement</i> .....	1
<i>Résumé</i> .....	4
ملخص.....	5
Abstract .....	6
Table des matières.....	7
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>11</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>13</b>
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	14
PARTIE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	19
I.GÉNÉRALITÉS SUR LES AGRUMES	20
.....	
1.Origine et distribution géographique.....	20
2. Taxonomie.....	20
3. La production mondiale des agrumes.....	21
4. La production nationale et régionale des agrumes.....	23
4.1. Secteur agrumicole au Maroc.....	23
4.2. Organisation :.....	25
5. Les étapes de conditionnement des agrumes.....	28
5.1. Le conditionnement des agrumes.....	28
6. Problèmes de contamination des agrumes en post-récolte.....	34
II.LA FLORE D'ALTÉRATION DES AGRUMES	36
.....	
1. <i>Penicillium digitatum</i> .....	37
2. <i>Penicillium italicum</i> .....	38
3. <i>Geotricum Candidum</i> .....	39
4. Les maladies de post- récolte : domaine d'application privilège de phénomène d'adhésion ...	40
III.ADHÉSION MICROBIENNE AUX SURFACES	40
.....	
1. Historique sur les biofilms bactériens.....	41
2. Étapes de la formation des biofilms bactériens sur des surfaces solides.....	42
3. Mécanisme général de l'adhésion des micro-organismes.....	42
4. Interactions physico-chimiques intervenant dans le phénomène d'adhésion.....	44
4.1. Interactions Van der Waals.....	44



## TABLE DES MATIÈRES

4.2. Interactions acido-basique .....	44
4.3. Les interactions électrostatiques.....	45
5. Les approches théoriques de l'adhésion microbienne aux surfaces solides.....	47
5.3. La théorie DLVO étendue par Van Oss.....	51
6. Les différents paramètres influençant l'adhésion : .....	53
6.1. Propriétés physico-chimiques de la surface microbienne.....	54
6.2. Facteurs liés au milieu environnant .....	54
6.3. Facteurs liés au support .....	55
7. Rugosité des surfaces.....	56
8. Méthode de quantification et de l'étude de l'adhésion de micro-organismes.....	57
8.1. Dénombrement des cellules viables cultivables .....	57
8.2. Techniques microscopique et spectroscopique utilisées pour l'étude du phénomène de l'adhésion et la formation de biofilm .....	57
9. Revue sur les axes de recherches d'adhésion des micro-organismes sur les surfaces des fruits et des surfaces inertes .....	58
<b>IV. NORMES ET RÉGLEMENTATION DANS LE SECTEUR AGRUMICOLE</b> .....	<b>59</b>
1. Exigences légales et réglementaires appliquées dans le secteur de conditionnement des agrumes .....	<b>59</b>
1.1. Normes et réglementation.....	59
1.2. Réglementation des matériaux utilisés dans le conditionnement des agrumes .....	59
2. La réglementation de matériaux en contact avec les denrées alimentaires.....	60
3. Contraintes de secteur agrumicole.....	60
<b>PARTIE II : MATÉRIEL ET MÉTHODE.....</b>	<b>62</b>
<b>1. Station de conditionnement et échantillons.....</b>	<b>64</b>
<b>2. Technique et méthode expérimentale :.....</b>	<b>66</b>
2.1. Principe de l'angle de contact .....	66
2.2. La caractérisation physicochimique de la surface des spores.....	68
2.2.1. Les souches fongiques et conditions de culture.....	68
2.2.2. Préparation de la suspension fongique .....	69
2.3. La caractérisation physicochimique des surfaces des supports et des agrumes.....	69
2.3.1. Préparation des surfaces d'agrumes. ....	69
2.3.2. Préparation des surfaces des matériaux utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes .....	70
2.4. Mesure de l'angle de contact .....	70

## TABLE DES MATIÈRES

2.4.1. Calcul de l'énergie de surface .....	71
2.5. Étude de la rugosité des agrumes et des supports par le rugosimètre.....	74
2.6. Adhésion des spores sur les surfaces des agrumes et des supports.....	74
2.6.1. Préparation des suspensions fongiques : .....	74
2.6.2. Préparation des surfaces des agrumes et des supports.....	75
2.6.3. Test d'adhésion.....	75
2.7. Dénombrement des spores adhérees sur les supports et les agrumes .....	75
2.8. Analyse statistique.....	76
2.9. Préparation, Caractérisation physicochimiques effet du produit de cirage des agrumes sur l'adhésion des spores fongiques et la comparaison entre les agrumes conditionnés et non conditionné par ce produit :.....	76
2.9.1. Nettoyage de la lame de verre : .....	76
2.9.2. Conditionnement de lame de verre avec le produit de cirage des agrumes:.....	76
2.9.3. Effet de produit de cirage sur l'adhésion des spores : .....	77
2.9.4. Observation microscopique et quantification de l'adhésion :.....	77
2.9.5. Corrélacion entre le taux d'adhésion expérimental et les propriétés physicochimiques des surfaces cellulaires .....	77
<b>PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>78</b>
<b>CHAPITRE I : ÉVALUATION DE L'ADHÉSION DES SPORES DE <i>PENICILLIUM DIGITATUM</i>, <i>PENICILLIM ITALICUM</i>, ET <i>GEOTRICUM CANDIDUM</i> SUR LES AGRUMES EN POSTE RÉCOLTE.....</b>	<b>79</b>
<b>I. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SPORES ET DES AGRUMES 79</b>	
INTRODUCTION :.....	79
1. Détermination de l'hydrophobicité et le caractère donneur/ accepteur d'électrons de la surface des spores.....	80
2. Détermination de l'hydrophobicité et du caractère donneur/ accepteur d'électrons de la surface des agrumes étudiés .....	84
3. L'adhésion théorique des spores fongiques sur les agrumes selon l'approche DLVO étendue. ....	87
CONCLUSION .....	<b>89</b>
<b>II.ÉTUDE DE L'ADHÉSION DES SPORES FONGIQUE SUR LES AGRUMES .....</b>	<b>90</b>
INTRODUCTION.....	90
1. Etude de l'adhésion des spores fongiques sur les agrumes .....	91
2. Rôle des propriétés physico-chimiques dans le processus d'adhésion des spores étudiées .....	93

## TABLE DES MATIÈRES

3. Effet de la rugosité sur l'adhésion des spores étudiées .....	94
CONCLUSION .....	95
<b>CHAPITRE II : ÉVALUATION DE L'ADHESION DES SPORES DE <i>PENICILLIUM DIGITATUM</i>, <i>PENICILLIUM ITALICUM</i>, <i>GEOTRICUM CANDIDUM</i> SUR LES SUPPORTS UTILISÉS DANS LA CHAÎNE DE CONDITIONNEMENT DES AGRUMES.....</b>	<b>96</b>
<b>I. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SUPPORTS UTILISÉS DANS LA CHAÎNE DE CONDITIONNEMENT DES AGRUMES.....</b>	<b>96</b>
<b>INTRODUCTION :</b> .....	<b>96</b>
1. Caractérisation physicochimique de la surface des supports solides.....	97
2. L'adhésion théorique des spores sur les supports selon l'approche DLVO étendue.....	101
CONCLUSION :	<b>105</b>
<b>II.ÉTUDE DE L'ADHÉSION DES SPORES FONGIQUES SUR LES SUPPORTS UTILISÉS DANS LA CHAINE DE CONDITIONNEMENT ET L'EFFET DE CERTAINS PARAMÈTRES PHYSIQUES SUR CE PROCESSUS .....</b>	<b>106</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>106</b>
1. Étude de l'adhésion des spores sur les supports étudiés.....	107
2. La rugosité de surfaces étudiées .....	110
3. Rôle des propriétés physico-chimiques dans le processus d'adhésion des spores étudiées	112
<b>CHAPITRE III : ÉTUDE DE L'EFFET DE PRODUIT DE CIRAGE DES AGRUMES SUR L'ADHÉSION DES SPORES DE <i>PENICILLIUM DIGITATUM</i>, <i>PENICILLIUM ITALICUM</i>, <i>GEOTRICUM CANDIDUM</i> SUR LES AGRUMES .....</b>	<b>114</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>114</b>
1. Caractérisation physicochimique de produit de cirage .....	115
2. Énergie libre d'interaction des spores avec le produit de cirage .....	116
3. Influence de temps de contact sur l'adhésion des spores sur le produit de cirage.....	117
4. L'adhésion de spores de <i>Penicillium</i> sur les agrumes traités et non traités par le produit de cirage .....	120
Conclusion :	<b>121</b>
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>125</b>
<b>ANNEXE .....</b>	<b>152</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> La production mondiale des agrumes .....	22
<b>Figure 2:</b> La réparation des superficies d'agrumes par région au Maroc.....	23
<b>Figure 3:</b> L'exportation agrumicole par année et par marchés.....	24
<b>Figure 4:</b> La superficie d'agrumes dans la région Beni Mellal- Khenifra .....	26
<b>Figure 5:</b> La capacité de traitement des agrumes dans les stations de conditionnement dans la région Beni Mellal- Khenifra .....	27
<b>Figure 6:</b> L'exportation des agrumes dans la région Beni Mellal –Khenifra 2019.....	28
<b>Figure 7:</b> La chaîne de conditionnement des agrumes .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Figure 8:</b> La réception des agrumes .....	30
<b>Figure 9:</b> L'essorage des agrumes .....	31
<b>Figure 10:</b> Le cirage des agrumes .....	32
<b>Figure 11:</b> Le calibrage des agrumes .....	32
<b>Figure 12:</b> L'emballage des agrumes .....	33
<b>Figure 13:</b> <i>Penicillium digitatum</i> .....	38
<b>Figure 14:</b> <i>Penicillium italicum</i> .....	39
<b>Figure 15:</b> <i>Geotricum Candidum</i> .....	40
<b>Figure 16:</b> Les étapes de formation des biofilms .....	42
<b>Figure 17:</b> Représentation schématique des étapes de la colonisation bactérienne d'une surface (Schéma de Van Loosdrecht et al. (1990). .....	43
<b>Figure 18 :</b> Représentation de la double couche électrique (van Loosdrecht, 1987). .....	46
<b>Figure 19:</b> Représentation schématique des énergies interfaciales mises en jeu lors de l'adhésion d'un micro-organisme (m) en suspension dans un liquide (l) a un support (s). (a) pas d'adhésion (b) adhésion. ....	48
<b>Figure 20:</b> Comparaison entre l'énergie d'interaction déduite de DLVO classique et DLVO développée ( <a href="https://learnbiochemistry.wordpress.com/">https://learnbiochemistry.wordpress.com/</a> ).....	53
<b>Figure 21:</b> Évolution du nombre de publications par an dans lesquelles le mot « Adhésion des spores » apparaît dans le titre, le résumé ou en mots clefs (source Pubmed) ....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Figure 22:</b> Les échantillons .....	65
<b>Figure 23:</b> Angle de contact comme balance de force. Les énergies apolaires sont indiquées par les flèches horizontales et verticales. Les énergies polaires (acide-base de Lewis) sont désignées par des flèches à tirets horizontales et verticales. ....	66
<b>Figure 24:</b> GONIOMETRE (GBX, France) (dispositif) de la mesure de l'angle de contact..	68
<b>Figure 25:</b> Protocole de l'adhésion des spores fongiques sur les agrumes et les supports .....	76
<b>Figure 26:</b> L'hydrophobicité des spores fongiques selon l'approche qualitative et quantitative. ....	81
<b>Figure 27:</b> Caractère donneur /accepteur d'électrons des spores fongiques.....	82
<b>Figure 28:</b> L'hydrophobicité qualitative et quantitative des surfaces des agrumes .....	85
<b>Figure 29:</b> Caractère donneur /accepteur d'électrons des agrumes.....	86
<b>Figure 30:</b> Adhésion de spores fongiques sur les agrumes .....	92

## LISTES DES FIGURES

<b>Figure 31:</b> La rugosité des agrumes .....	94
<b>Figure 32:</b> Hydrophobicité des supports d'adhésion selon l'approche qualitative. ....	97
<b>Figure 33:</b> Hydrophobicité des supports d'adhésion selon l'approche quantitative. ....	98
<b>Figure 34:</b> Caractère donneur /accepteur d'électrons des supports.....	98
<b>Figure 35:</b> Énergies libres totales ( $\Delta G^{\text{Total}}$ ) de l'adhésion des spores de <i>Penicillium italicum</i> aux différents supports étudiés. ....	102
<b>Figure 36:</b> Énergies libres totales ( $\Delta G^{\text{Total}}$ ) de l'adhésion des spores de <i>Penicillium digitatum</i> aux différents supports étudiés. ....	102
<b>Figure 37:</b> Énergie libre totale de l'adhésion des spores de <i>Geotrichum candidum</i> aux différents supports étudiés.....	103
<b>Figure 38 :</b> Adhésion de <i>Penicillium digitatum</i> ( <i>Pd</i> ), <i>Penicillium italicum</i> ( <i>Pi</i> ) et <i>Geotrichum candidum</i> ( <i>Gc</i> ) sur la surface des supports.....	107
<b>Figure 39:</b> Rugosité arithmétique Ra ( $\mu\text{m}$ ) des différents supports mesurée par le rugosimètre.....	110
<b>Figure 40:</b> Corrélation entre le nombre de spores adhérentes de <i>Penicillium italicum</i> et <i>Penicillium digitatum</i> et le caractère donneur d'électrons des deux souches. ....	112
<b>Figure 41:</b> Cinétique d'adhésion des spores sur le produit de cirage. <i>Pd</i> = <i>Penicillium digitatum</i> et <i>PI</i> = <i>Penicillium italicum</i> .....	117
<b>Figure 42:</b> Observation microscopique et traitement Matlab des spores de <i>P. digitatum</i> (A) et <i>P. italicum</i> (B). Les spores sont adhérentes sur le produit de cirage. ....	118
<b>Figure 43:</b> Pourcentage de surface de cire recouverte de spores de <i>P. digitatum</i> et <i>P.italicum</i> .....	119
<b>Figure 44:</b> Adhésion des spores de <i>Penicillium</i> sur des agrumes traités et non traités par le produit de cirage. <i>Pd</i> = <i>Penicillium digitatum</i> , <i>PI</i> = <i>Penicillium italicum</i> et <i>GC</i> = <i>Geotrichum candidum</i> .....	121

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Récapitulatif des facteurs influençant l'adhésion initiale d'un micro organisme sur une surface solide .....	56
<b>Tableau 2:</b> Angles de contact des différentes composantes de liquides utilisés dans la mesure de l'Énergie de surface.....	67
<b>Tableau 3:</b> Angle de contact par rapport aux différents solvants, composantes de Van der Waals $\gamma$ (LW), composantes donneur d'électrons ( $\gamma^-$ ), accepteur d'électrons ( $\gamma^+$ ) des spores fongiques de <i>Penicillium digitatum</i> , <i>Penicillium italicum</i> et <i>Geotricum candidum</i> .....	80
<b>Tableau 4 :</b> Les résultats de la mesure de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals ( $\gamma^{LW}$ ), des composants donneurs d'électrons ( $\gamma^-$ ), d'accepteurs d'électrons ( $\gamma^+$ ) et de l'énergie libre d'interaction des agrumes. ....	85
<b>Tableau 5:</b> Énergies libres de Van der Waals ( $\Delta G^{LW}$ ), acide-base ( $\Delta G^{AB}$ ) et totale ( $\Delta G^{Total}$ ) de l'adhésion des spores à la surface des Agrumes. ....	87
<b>Tableau 6:</b> Angles de contact par rapport aux différents solvants, composantes de Van der Waals $\gamma^{(LW)}$ , composants donneurs d'électrons ( $\gamma^-$ ), accepteurs d'électrons ( $\gamma^+$ ) et rugosité (Ra) des différents supports.....	97
<b>Tableau 7:</b> Énergies libres de Van der Waals ( $\Delta G^{LW}$ ), acide-base ( $\Delta G^{AB}$ ) et totale ( $\Delta G^{TOT}$ ) de l'adhésion des spores aux différents supports étudiés.....	102
<b>Tableau 8:</b> Angles de contact par rapport aux différents solvants, composantes de Van der Waals $\gamma^{(LW)}$ , composantes donneur d'électrons $\gamma^{(-)}$ et accepteur d'électrons $\gamma^{(+)}$ de produit de cirage. ....	115
<b>Tableau 9:</b> Énergies libres de Van der Waals ( $\Delta G^{LW}$ ), acide-base ( $\Delta G^{AB}$ ) et totale ( $\Delta G^{TOT}$ ) de l'adhésion des spores sur le produit de cirage.....	116
<b>Tableau 10:</b> Adhésion des spores de <i>Penicillium</i> sur des agrumes traités et non traités par le produit de cirage. Pd = <i>Penicillium digitatum</i> , PI = <i>Penicillium italicum</i> et GC = <i>Geotricum</i> .....	121

### INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les agrumes comptent parmi les principales cultures fruitières, dont le fruit est largement consommé aussi bien frais que sous forme de jus ou autres formes (conserves, confiture...). L'importance des fruits d'agrumes est attribuée à leur richesse en vitamine C (acide ascorbique), en fibres alimentaires, en composés phénoliques, en oligo-éléments, et pour leur potentiel antioxydant (**Gorinstein et al., 2001**). Les agrumes sont cultivés dans plus de 137 pays à travers le monde (**Ismail and Zhang, 2004**). À l'échelle mondiale, la production annuelle en fruits frais est d'environ 120 millions de tonnes (**Liu et al., 2012; Papoutsiset al., 2019**). Au Maroc, la culture des agrumes couvre une superficie de 125.000 Ha assurant une production annuelle d'environ 2 millions de tonnes. Ce tonnage couvre à la fois les besoins du marché national en fruits frais, assure l'exportation d'environ 630.000 t/an le Département américain de l'agriculture (USDA) 2022 et alimente les unités de transformation. Ce secteur vital crée des opportunités de travail où il génère environ 21 millions de journées de travail par an. De ce fait, le secteur agrumicole est classé parmi les plus importants piliers de l'économie marocaine. La région Béni Mellal – Khenifra est la troisième région productrice des agrumes à l'échelle nationale. Actuellement quatre stations de conditionnement et d'emballage d'agrumes fonctionnelles assurent environ 50 % de la production et de l'exportation internationale (**Direction régionale d'agriculture Béni Mellal-Khenifra 2022**).

En raison de leur teneur élevée en eau et de leur richesse en éléments nutritifs, les fruits d'agrumes sont très susceptibles aux attaques des champignons pathogènes (**Eckert and Ogawa, 1985; Tripathi and Dubey, 2004, Wang et al. 2018**).

Au Maroc, les pertes pendant la récolte, le transport, et le stockage des fruits sont élevées. Ces pertes peuvent aller jusqu'à 50%, ou plus, de la récolte (**Singh et al., 2012 ; Vitoratos et al., 2013 ; Yun et al., 2013 ; Aloui et al., 2015 ; Wan et al., 2017 ; Youssef et Hussien, 2020**). Généralement, les maladies des agrumes sont dues à des infections initiées soit avant la récolte (*Alternaria citri*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*), ou après la récolte des fruits (*Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus stolonifer*) (**Sommer, 1982; Eckert and Brown, 1986; Holmes et al., 1994**). En effet, plus de 90% de pertes d'origine fongique, en post-récolte, sont causés par *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (**Holmes et al. 1994, Wang et al. 2018, Bagy et al. 2020**).

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

La pourriture verte, la pourriture bleue et la pourriture amère causées respectivement par *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, et *Geotricum candidum* sont donc les plus redoutables maladies d'agrumes en post-récolte (Araujo et al., 2019). Elles atteignent toutes les différents groupes d'agrumes, mandariniers, clémentiniers, citronniers et pamplemoussiers et leurs variétés à différents degrés d'importance (Boubaker, 1993 Singh et al., 2003; Plaza et al., 2004). *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Geotricum candidum* sont des parasites de blessure qui pénètrent dans les fruits par les blessures profondes qui peuvent se produire pendant la récolte par les insectes, le transport, le conditionnement, ou lors de transport (Brown, 1979; Palou et al., 2008, D'Aquino et al., 2013). Ils détruisent le fruit en sécrétant des enzymes qui transforment le fruit en une masse molle ce qui favorise la propagation de la maladie par contact entre fruit sain et fruit infecté.

Les traitements chimiques (utilisation des fongicides) (Moretto et al., 2014). et physiques (stockage au froid) sont pratiqués dans les stations de conditionnement des agrumes afin de limiter les pertes dues aux pathogènes de post-récolte (Palou et al., 2008). Néanmoins, ces traitements ont montré peu d'efficacité contre la pourriture des agrumes en post-récolte. En effet, le stockage au froid n'a qu'un effet fongistatique ; la maladie se développe d'une manière explosive lorsque le fruit est transféré à la température ambiante. En revanche, les fongicides homologués pour contrôler les maladies d'agrumes en post-récolte (Imazalil, Thiabendazole) n'ont aucun effet sur *G.candidum* (Suprpta et al., 1997; Brown and Miller, 1999; Mercier and Smilanick, 2005; Liu et al., 2009).

En outre, l'utilisation des fongicides est de plus en plus restreinte en raison de la réglementation qui devient de plus en plus sévère, à cause de leur toxicité, de leur effet sur l'environnement et de l'inquiétude croissante du consommateur à propos des résidus de pesticides dans les fruits (Zhang and Swingle, 2003; Tripathi and Dubey, 2004; Palou et al., 2008, Singh et al., 2012 ; Papoutsis et al., 2019). En plus des mesures prophylactiques, telles que la minimisation des blessures des fruits, et les mesures d'hygiène, les agrumes sont toujours sensibles aux infections par ces champignons pathogènes qui représentent de 30 à 50% des pertes (Singh et al., 2012 ; Vitoratos et al., 2013 ; Yun et al., 2013 ; Aloui et al., 2015 ; Wan et al., 2017 ; Youssef et Hussien, 2020).

Malgré ce traitement la contamination se produit à différentes étapes du champ de conditionnement et aux activités d'emballages et entreposage.



## INTRODUCTION GÉNÉRALE

Cette perception négative a poussé les gouvernements vers l'application de politique limitant l'utilisation des fongicides en post-récolte, et le lancement de programme de recherche sur des méthodes alternatives à la lutte chimique. Parmi les stratégies biologiques applicables en post-récolte figurent, l'induction des mécanismes de résistance chez le fruit, l'utilisation d'extraits de plante dotés d'activités antimicrobiennes et, par-dessus tout, l'application de microorganismes antagonistes (**Wang, Z., 2018**).

La principale stratégie utilisée pour contrôler les maladies de post-récolte des fruits est l'application après la récolte des micro-organismes antagonistes afin d'empêcher les agents pathogènes d'infecter les blessures survenues après la récolte. Cependant, les pourritures de post-récolte peuvent être, également, supprimées par une application des antagonistes au niveau du verger.

En outre les chercheurs et les industries de conditionnement et d'emballage des agrumes ont pensé à une nouvelle piste de recherche sur l'adhésion des microorganismes aux surfaces des agrumes et les supports. Cette adhésion peut conduire à une contamination élevée en post-récolte. En effet, l'adhésion microbienne aux surfaces des supports est un phénomène qui conduit à la formation des biofilms. Diverses études indiquent que le mode de vie des biofilms, leur structure et leur composition conduisent à une augmentation de résistance aux produits antimicrobiens (**Simões & Vieira, 2009; Simões et al. 2006**), et engendrent de sérieux problèmes (des pertes élevées des agrumes en post-récolte). Il semble donc très intéressant de bien comprendre le processus, et le mécanisme d'adhésion fongique afin de prévoir la formation de ces biofilms indésirables.

Diverses techniques ont été adoptées pour comprendre les mécanismes conduisant à l'évolution au maintien de l'adhésion dans les milieux industriels. Ainsi, de nombreuses stratégies de préventions et de contrôles ont été mises en œuvre pour les éliminer. En attestent la mise en place de bonnes pratiques d'hygiène et la conception hygiénique des équipements à travers le choix des matériaux et des formes.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'adhésion des spores fongiques sur la surface des agrumes et les supports. En adoptant une approche thermodynamique selon XDLVO, nous avons alors essayé de déterminer les propriétés physico-chimiques des surfaces des spores fongiques, des agrumes, des supports étudiés, et le produit de cirage des agrumes.

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans ce contexte, Le déroulement de ce travail consiste à:

-La compréhension des mécanismes physico-chimiques régissant l'adhésion des spores fongiques (*Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, et *Geotricum candidum*) isolées des agrumes infectées.

-L'étude d'étudier l'adhésion des spores fongiques aux surfaces solides des supports rencontrés dans la chaîne de conditionnement des agrumes et sur les variétés des agrumes, afin d'évaluer l'impact d'un certain nombre de propriétés physiques des surfaces des matériaux et d'identifier leur implication possible dans le phénomène d'adhésion.

-L'étude de l'effet de produit de cirage sur le pouvoir adhésif des spores fongiques sur les agrumes et sa relation avec la contamination en post-récolte.

Ce travail se décompose en trois parties :

La première partie consiste en une étude bibliographique qui comprend les différents aspects du sujet.

- Généralité sur les agrumes.
- La flore d'altération des agrumes
- Nous allons rappeler les mécanismes régissant l'adhésion des microorganismes aux surfaces, ainsi que les approches physico-chimiques qui permettent de comprendre et prévoir cette adhésion.
- Normes et réglementation de secteur agrumicole

La deuxième partie est consacrée au matériel et méthodes utilisés dans les différents tests réalisés.

La troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions Elle est divisée en trois chapitres.

- Le premier chapitre est consacré à étudier l'évaluation de l'adhésion des spores de *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, et *Geotricum candidum* sur les agrumes en poste récolte.
- Le deuxième chapitre traite l'évaluation de l'adhésion des spores de *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, et *Geotricum candidum* sur les matériaux utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes.

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

- Le troisième chapitre représente l'étude de l'effet de produit de cirage sur l'adhésion des spores de *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, et *Geotricum candidum* sur les agrumes.

Les conclusions des travaux menés ainsi que les perspectives qui en découlent clôturent ce manuscrit.

PARTIE I :  
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## I. GÉNÉRALITÉS SUR LES AGRUMES

### 1. Origine et distribution géographique

Les agrumes sont originaires du Sud-est asiatique (**De Rocca Serra & Ollitrault, 1992**), du nord-est de l'Inde au Nord de la Birmanie. Leur répartition géographique s'étend vers la Chine, l'Est de l'Inde, l'archipel Malais, le nord-est de l'Asie et le Japon (Gmitter eyhu, 1990). Le cédratier (*Citrus medica*) fut la première espèce connue en Europe (Webber, 1967). Le bigaradier (*Citrus aurantium*), le citronnier (*Citrus limon*) et l'oranger (*Citrus sinensis*) ont été introduits dans le bassin méditerranéen vers la moitié du XIIe siècle et le mandarinier (*Citrus reticulata*) au XIXème siècle. L'introduction des agrumes en Afrique de l'Est a été effectuée par les commerçants arabes et hindous vers le XIVème siècle (**Spiegel-roy et Goldschmidt, 1996**). On compte plusieurs genres chez les agrumes, dont les principaux sont *Citrus*, *Forunella* et *Poncirus*. Le genre *Citrus* comprend de nombreuses espèces, dont certaines sont formées par des hybridations naturelles (**Colombo, 2004**), on en distingue *c. sinensis* (orangers doux), *c. aurantium* (orangers amers), *c. paradisi* (pomelos), *c. limon* (citrons), *c. latifolia* (limes), *c. maxima* (pamplemousses), *c. reticulata* (mandarines) et *c. medica* (cédrats) qui sont considérés comme les plus représentés.

### 2. Taxonomie

Les agrumes appartiennent à trois genres botaniques : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* (**De Rocca Serra & Ollitrault, 1992 ; Spiegel-Roy & Goldschmidt, 1996; Anonyme 1998**). Ceux-ci forment avec 10 autres genres (*Atalantia*, *Burkillanthus*, *Citropsis*, *Clymenia*, *Eremocitrus*, *Hesperetusa*, *Limnocitrus*, *Microcitrus*, *Pleiospermium* et *Severinia*) la sous-tribu des Citrinae. Cette sous-tribu appartient à la tribu des Citreae, sous-famille des Aurantioideae dans la famille des Rutacées. Le genre *Citrus* renferme la plupart des agrumes cultivés pour leurs fruits ou leurs huiles essentielles. Deux classifications du genre prévalent. Celle de (**Tanaka 1961**) identifie 156 espèces, tandis que celle de (**Swingle et Reece 1967**) n'en distingue que 16 espèces. En référence à cette dernière classification, les huit espèces cultivées sont : *C. sinensis* (L.) Osb., l'oranger ; *C. aurantium* L., le bigaradier; *C. reticulata* Blanco, le mandarinier ; *C. paradisi* Macf., le pomelo ; *C. maxima* (Burn.) Merr., le pamplemoussier ; *C. limon* (L.) Burm., le citronnier ; *C. aurantifolia* (Christm.) Swing., le limettier et *C. medica* L., le cédratier. Ces espèces renferment un grand nombre de variétés.

Certaines études répartissent ces 8 espèces d'importance économique dans 3 grands groupes en fonction des similarités génétiques. Il s'agit du groupe des orangers et mandariniers, du groupe des pomélos et pamplemoussiers et du groupe des limes et citronniers (**Luro et al., 2001**). D'autres travaux plus récents sur la diversité génétique et la structure des populations des agrumes penchent plutôt en faveur de l'existence de 3 espèces «ancestrales» d'agrumes.

Il s'agit du bigaradier (*C. medica*), du pamplemoussier (*C. maxima*) et du mandarinier (*C. reticulata*). Ces espèces seraient à l'origine de nombreuses espèces comptabilisées de nos jours, qui en réalité sont des hybrides issus de croisement entre les premières espèces (**Barkley et al. 2006**).

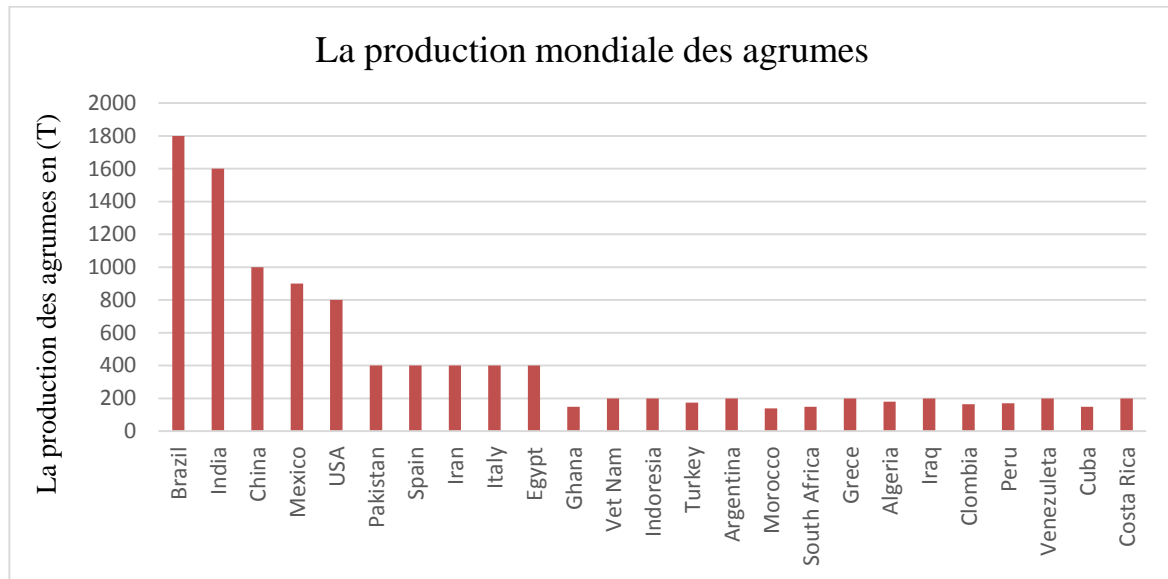
### **3. La production mondiale des agrumes**

La production mondiale d'agrumes, toutes espèces confondues, s'élève à plus de 110 millions de tonnes par an, sur une superficie de 7,5 millions d'hectares environ. Les oranges représentent environ 60 % de la production totale d'agrumes. Les tangerines, mandarines, clémentines et satsumas comptent pour 23 % du volume mondial. Environ 13,7 millions de tonnes de citrons et de limes, ainsi que 4,4 millions de tonnes de pamplemousses et pomelos sont produites annuellement.

Les rendements moyens se situent entre 5,3 et 6,7 tonnes/an, mais les pays aux cultures plus intensives atteignent une moyenne nationale de 11 à 15,5 tonnes/an. Dans les régions les plus propices, les meilleurs producteurs parviennent à produire 20 à 26 tonnes/an. Le Brésil cultive un quart de la production mondiale d'agrumes dont 75 % sont transformés en jus. La Chine et les États-Unis sont également d'importants producteurs avec respectivement 17,6 et 11 millions de tonnes.

Ensemble, le Brésil et les États-Unis représentent plus de 90 % de la production mondiale de jus d'orange. Environ 22 millions de tonnes d'agrumes sont produites dans la région méditerranéenne, principalement pour la consommation de fruits frais. L'Espagne, l'Italie, l'Égypte, la Turquie et la Grèce sont les principaux producteurs.

Plus de 90 % de la production mondiale d'agrumes frais sont consommés dans le pays d'origine. La région méditerranéenne est le plus grand exportateur de fruits frais. Les principaux importateurs sont l'Allemagne, la France, les Pays-Bas et le Royaume-Uni.



**Figure 1:** La production mondiale des agrumes (USDA 2022)

D'après les dernières données de l'USDA, le Département de l'Agriculture des États-Unis, la production mondiale des principales catégories d'agrumes a baissé au cours de la saison 2019-2020, à l'exception du pamplemousse. Dans ce sens, la production marocaine en oranges et en mandarines devrait également reculer durant la même période.

Selon le rapport semestriel de l'USDA, les approvisionnements en orange, citrons et limes et mandarines devraient être plus faibles dans les marchés mondiaux.

Concernant les oranges, la production mondiale devrait baisser de 5,8 millions de tonnes par rapport à l'année précédente pour s'établir à 47,5 millions de tonnes. Cette baisse revient principalement aux faibles récoltes au Brésil, à l'Union Européenne, au Maroc et en Égypte. Cela est causé par des conditions météorologiques défavorables dans ces pays.

Au niveau mondial, la production des mandarines mondiale devrait reculer de 1% à 31,7 millions de tonnes à la suite de la baisse de la production de l'UE, du Maroc, de la Turquie et des États Unis. Ainsi, la consommation et les exportations devraient baisser avec la baisse de l'offre disponible.

Concernant les citrons et citrons verts, la production mondiale a baissé de 586.000 tonnes par rapport à la saison 2018/2019 à 7,9 millions de tonnes. Ce recul revient à la baisse de la production en Argentine, en Turquie, aux États-Unis et dans l'Union Européenne (UE).

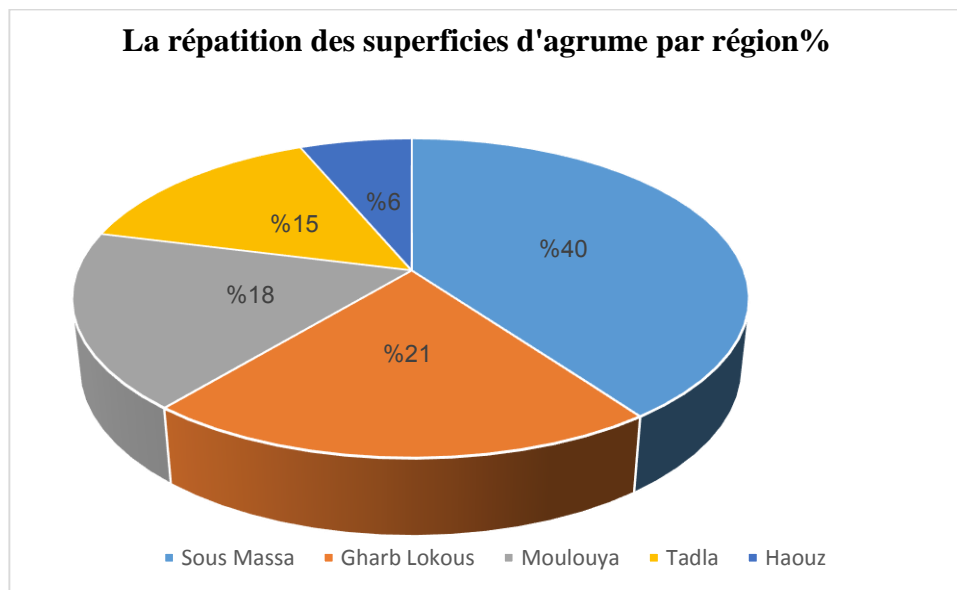
Par contre, la production mondiale de pamplemousse devrait augmenter de 3% pour atteindre un record de 7 millions de tonnes grâce à des conditions favorables, ainsi que, des récoltes plus importantes en Chine, en Afrique du Sud, en Turquie et aux États-Unis.

#### 4. La production nationale et régionale des agrumes

##### 4.1. Secteur agrumicole au Maroc

Le Maroc produit 1,3 million de tonnes d'agrumes chaque année. 530.000 tonnes sont réservées à l'export. Cela représente un volume de près de 3 milliards de dirhams. Le secteur contribue à la création de 21 millions de jours de travail par an. En tout, on compte 13.000 producteurs d'agrumes qui exploitent une superficie globale de 92.000 hectares. 47% des exploitations nationales sont équipées en systèmes d'irrigation.

Les principales régions de production sont Souss/Massa (38%), Gharb/Loukkos (20%), Moulouya (17%), Tadala (14%) et Haouz (6%).



*Figure 2: La répartition des superficies d'agrumes par région au Maroc.*

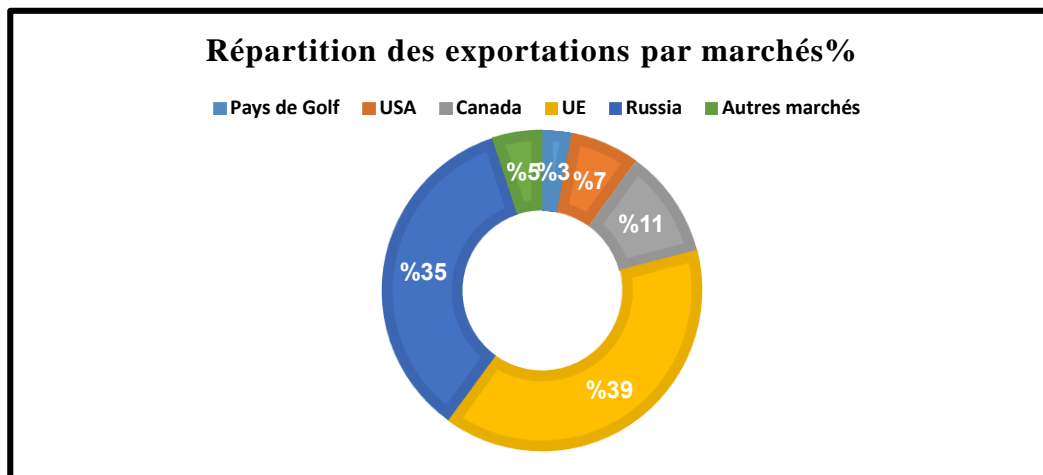
**(MAPMDREF/DSS ; Maroc citrus 2022)**

La production moyenne d'agrumes réalisée au cours des 2 dernières campagnes a atteint près de 2 millions de tonnes destinées à la consommation intérieure en frais, à l'exportation et à la transformation.



Au cours des dix dernières années, le secteur des agrumes s'est nettement développé avec l'introduction de nouvelles variétés de petits fruits, dont notamment la Nour, la Nadorcott et la Nules. Ainsi, l'offre destinée à l'exportation s'est largement diversifiée et les périodes de production et de commercialisation se sont étalés davantage.

Une large gamme de variétés caractérise les vergers agrumicoles nationaux, toutefois, 3 groupes de variétés les dominent, à savoir, le groupe des **Clémentines** avec **35%**, la **Maroc Late** avec **21%** et les **Navels** avec **18%**.



**Figure 3:** L'exportation agrumicole par année et par marchés  
(MAPMDREF/DSS ; Maroc citrus 2022)

Les exportations d'agrumes oscillent autour d'une moyenne de 500.000 T par an. Elles représentent une source importante de devises avec l'équivalent de près de 3 milliards DH par an.

Près de 80% des exportations d'agrumes marocaines sont destinées aux marchés de la Russie et de l'Union Européenne. Les 20% restants partent essentiellement vers les pays de l'Amérique du Nord (Canada et USA) et les Pays du Golfe.

D'après la Fédération interprofessionnelle marocaine des agrumes (Maroc Citrus), jusqu'au 30 octobre 2020, les exportations marocaines d'agrumes ont atteint un total de 35.900 tonnes, contre 36.900 T durant la même période de la campagne précédente, soit une baisse de 3%.

Ces exportations se répartissent par variétés comme suit :

Clémentine : 33.500 T;

Navel : 1.200 T;

Navel late : 1.000 T;

Autres agrumes : 200 T.

Les principaux marchés destinataires restent la Russie avec 47% de l'export global, suivi du Canada avec 24,5%, l'Union Européenne avec 14,5%, les Pays du Golfe avec 7%, les USA avec 4,1%, l'Afrique Subsaharienne avec 2,7% et autres marchés avec 0,2%.

La production turque et égyptienne devrait reculer cette année.

"Pour la campagne actuelle 2020-2021, nous prévoyons une production entre 2,2 MT et 2,250 MT, en augmentation de près de 25% par rapport à la campagne précédente, qui était très moyenne", nous fait savoir L'Association des Producteurs d'Agrumes du Maroc (ASPAM).

Pour ce qui est des autres producteurs de la Méditerranée, d'après les prévisions établies par la jeune WCO, la production d'agrumes devrait atteindre plus de 28,7 millions de tonnes, soit une baisse de 1% par rapport à 2019. Cette chute est principalement due à la sécheresse enregistrée par plusieurs régions de l'hémisphère nord.

#### **4.2. Organisation :**

La filière est organisée en une Fédération Interprofessionnelle Marocaine des Agrumes (Maroc Citrus) qui regroupe 5 organisations professionnelles représentant l'ensemble des maillons de la filière agrumicole à savoir :

- L'Association Marocaine des Producteurs de Plants d'Agrumes Certifiés (AMAPAC) ;
- L'Association des Producteurs d'Agrumes du Maroc (ASPAM) ;
- L'Association des Conditionneurs d'Agrumes du Maroc (ASCAM) ;
- L'Association Marocaine des Industries de Transformation des Agrumes (AMITAG) ;
- L'Association Marocaine des Exportateurs d'Agrumes (Citrus Export).

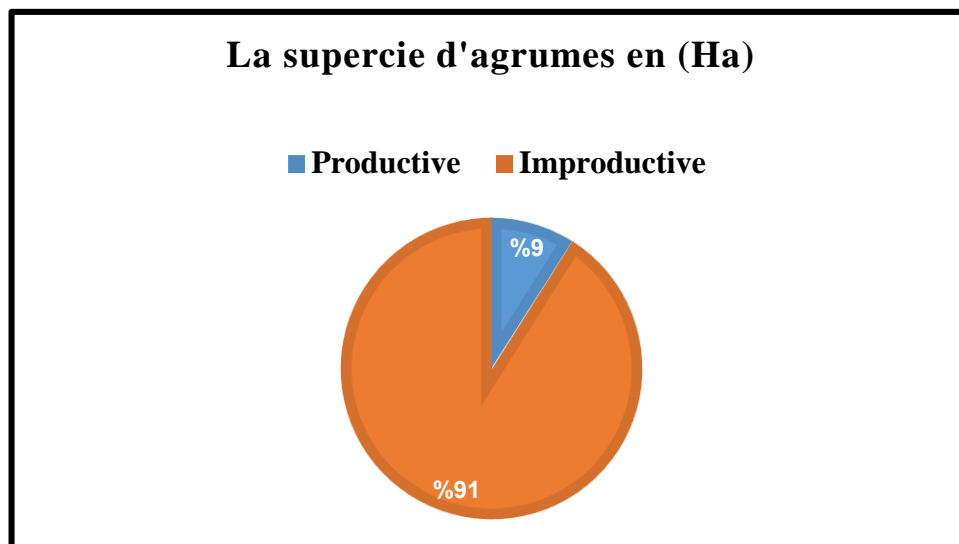
Dans le cadre du Plan Maroc Vert une nouvelle entité est mise en place, il s'agit d'un Centre Interprofessionnel de Recherche et de Développement des Agrumes "CIRDA", qui est

chargé de la conduite des programmes de recherches appliquées et d'encadrement technique des producteurs d'agrumes.

Le patrimoine agrumicole du périmètre du Tadla couvre actuellement une superficie de **19 205,27 ha** contre **19 225,66 ha** en 2019/2020 soit une régression de **0,1 %**.

Pour cette campagne, le verger agrumicole de la zone du Tadla est réparti par catégorie de plantations comme suit :

- Plantations productives : **17 581,1 Ha** (91%)
- Plantations improductives : **1 624,1 Ha** (9%)



**Figure 4:** La superficie d'agrumes dans la région Beni Mellal- Khenifra  
(Direction régionale d'agriculture Beni Mellal –Khenifra 2022)

Le verger agrumicole de la région est constitué à plus de **56,6%** par les quatre principales variétés :

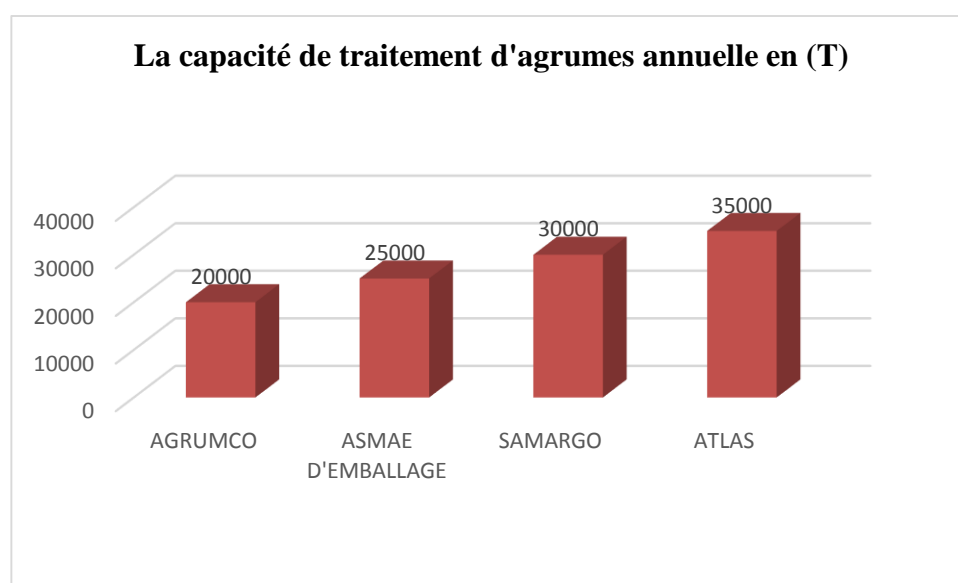
- Maroc late : **3 861,8 Ha** (20.11%)
- Navel : **3 605,5 Ha** (18.7%)
- Clémentine : **3 398,8 Ha** (17.7%)
- Sidi Aissa : **1 775,4 Ha** (9.24%)

Ces quatre variétés occupent à elles seules **10 866,22 Ha** dont **9 782,6 Ha** en production.

Toutefois, on a assisté depuis la mise en œuvre du PAR de la région Béni Mellal - Khénifra à une plus grande diversification du profil variétal avec notamment l'émergence de la variété Sidi Aissa qui occupe actuellement 10,5% de la superficie agrumicole, ainsi que d'autres variétés à petit fruit d'agrumes telles que la Nules, la Nour l'Orogrande, la Navel Lane late, la Navel Late.....

La production agrumicole durant cette campagne a atteint **499 220 Tonnes** contre **445 694 Tonnes** de la campagne 2021/2022 avec une augmentation de près de 12% par rapport à l'année 2020/2021. (Direction régionale d'agriculture Beni Mellal –Khenifra 2022)

#### 4.3. Les stations de conditionnement

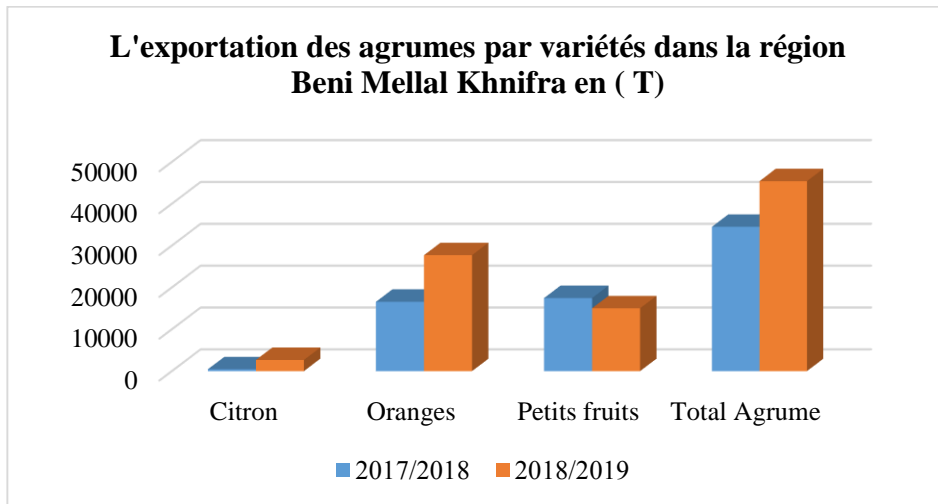


**Figure 5:** La capacité de traitement des agrumes dans les stations de conditionnement dans la région Beni Mellal- Khenifra

(Direction régionale d'agriculture Beni Mellal –Khenifra 2022).

La région Beni Mellal- Khenifra compte actuellement trois stations de conditionnement et d'emballage d'agrumes fonctionnelles. Ces 3 stations ont une capacité globale de traitement de 79.000 T/an, ne couvrant qu'environ 17% de la production agrumicole totale.

L'évolution des exportations d'agrumes au cours des dernières campagnes par marché se présente comme suit :



**Figure 6:** L'exportation des agrumes dans la région Beni Mellal –Khenifra 2019

Le tonnage exporté des Agrumes durant la campagne 2019 est de : **45 390 Tonnes.**

## 5. Les étapes de conditionnement des agrumes

### 5.1. Le conditionnement des agrumes

Le conditionnement des agrumes est une phase indispensable avant la commercialisation. Cette activité comporte de nombreuses étapes qui peuvent être qualifiées de simples telles que le nettoyage, l'application de cire, le calibrage ou le triage selon la qualité et la couleur de l'agrumes. Ce processus de conditionnement évolue depuis la libéralisation de l'exportation des agrumes du Maroc en 1986, et essaye d'être au niveau et à jour avec l'évolution des exigences du marché international et national et ceci est prouvé par le renouvellement et le développement continus des équipements de conditionnement et de matériels de traitement et d'emballage (**Hamidi, 1999**).

Le conditionnement des agrumes, quelle que soit la variété, se fait selon un enchaînement des étapes nécessitant des techniques pertinentes et des pratiques de sécurité alimentaire bien contrôlées.

### 5.2. Les étapes de conditionnement des agrumes

#### a) La récolte des agrumes

La cueillette des agrumes a lieu lorsque les fruits sont parfaitement secs. La récolte des agrumes est une opération qui se prépare bien avant le coup d'envoi de la campagne. Elle se fait manuellement à l'aide de pinces bien aiguisées pour permettre une coupe nette. En coupant

le pédoncule à ras et en gardant le calice lié au fruit l'objectif est de conserver sa valeur commerciale.

Les fruits récoltés sont mis par la suite dans des seaux à moitié remplis d'eau pour la préservation du calice afin d'éviter la pourriture des fruits. Les seaux sont ensuite vidés délicatement dans des caisses en plastique. Il faut respecter le niveau de maturité et de coloration requise par l'espèce et la variété concernée. La gestion des caisses est un point crucial pour éviter la rupture des fruits.

### **b) La réception des agrumes**

Le stockage des agrumes se fait dans des caisses en plastique perméables à l'eau pour les transporter (par camion ou par remorque) vers les stations de conditionnement pour l'emballage et l'exportation. Les caisses doivent être montées pour faciliter la manutention. Après le pesage, il est nécessaire d'étiqueter les palettes afin d'assurer l'identification des lots et la traçabilité du produit fini.

### **c) Le DRENCHER**

Les fruits récoltés vont subir un prétraitement qui correspond à un traitement préventif par des fongicides afin de protéger les agrumes contre le développement des champignons surtout *le Pénicillium spp*, *Phytophthora*, *Géotrichum* et *Alternaria*. Le traitement s'effectue par une machine appelée DRENCHER, qui désigne un lavage, dont le but est de traiter les fruits en palettes avec une solution à base de fongicides lors de leur arrivée en station de conditionnement.

Au niveau du tunnel de douchage, les palettes passent sur une chaîne à rouleaux et subissent le traitement chimique. La réutilisation de la solution du fongicide se fait à l'aide d'une pompe électrique qui donne une pression au jet d'eau.

### **d) Le déverdissage des agrumes**

Le déverdissage est une opération qui s'effectue sur les fruits récoltés précocement afin de provoquer le changement de coloration de l'épiderme. Cette technique est le résultat de deux processus métaboliques initiés et contrôlés par des facteurs externes, en l'occurrence l'éthylène (un régulateur de croissance des plantes), et la température et l'humidité relative de l'air. «Le déverdissage consiste à créer un microclimat dans une chambre chaude (20 à 22°C), avec une

forte hygrométrie (90 à 96%), et une quantité variée d'éthylène afin d'accélérer la coloration des fruits»,

Les stations de conditionnement traitent les fruits par un fongicide et désinfectent la chambre par un nettoyeur avant le remplissage de la chambre par les palettes des fruits pour une durée de 2 à 5 jours.

L'opération de déverdissement consiste à changer la coloration de l'épiderme des fruits, donc il est obligatoire de contrôler les paramètres suivants :

**Le taux d'humidité :** 90% à 95% pour éviter la perte du poids et le dessèchement du fruit.

**La température :** 23 à 25°C, il faut respecter la valeur normalisée de la température, car si elle est élevée, on aura le risque que la coloration de l'épiderme prenne une couleur jaune et par la suite le vieillissement du fruit.

**Taux d'éthylène :** 3 à 5ppm, il faut favoriser la dégradation de chlorophylle.

**Taux de CO<sub>2</sub> :** <0.1%, car le CO<sub>2</sub> ralentit le processus de déverdissement.

**Taux d'oxygène :** 21%.



**Figure 7:** La réception des agrumes

### e) Le prétriage des agrumes

Après la sortie de la chambre du déverdissement, les palettes sont déposées pendant 48h et subissent un premier triage pour éliminer les fruits pourris et les débris végétaux.

### f) Le calibrage

Cette étape nécessite l'utilisation d'un éliminateur pour éliminer les fruits de petits calibres qui ne seront pas exploitables.

### **g) Le lavage des agrumes**

Opération permettant l'élimination de tous les résidus des produits appliqués par le lavage des fruits avec un détergeant et le rinçage avec une pulvérisation de l'eau pour enlever les résidus du détergeant.

### **h) L'essorage des agrumes**

Avant que le fruit soit traité par les fongicides, il sera égoutté afin de réduire le risque que l'eau de lavage résiduelle dilue le fongicide en dessous de sa concentration efficace.

Les agrumes sont essorés par l'utilisation de rouleaux en PVC revêtus d'éponges et en se servant de ventilateurs pour renforcer le travail de la machine.



**Figure 8:** L'essorage des agrumes

### **i) Le préséchage des agrumes**

Cette opération consiste à sécher les fruits par un air chaud à une température de 45 à 50°C. Le séchage permet une meilleure application de la cire sur les agrumes.

### **j) Le cirage**

Cette étape implique l'utilisation de cires. Il s'agit des additifs de qualité alimentaire qui sont utilisés en tant qu'agent d'enrobage. En plus des cires, des fongicides sont également appliqués sur les fruits. «Le principal fongicide utilisé, dont la matière active est Thiabendazole (TBZ)», cette opération est nécessaire pour le remplacement des cires naturelles qui sont enlevées lors du lavage et lors de la réduction du dessèchement du fruit. À l'aide d'un système « va et vient », les fruits sont enrobés et traités en leur conférant une meilleure brillance.





**Figure 9:** Le cirage des agrumes

**k) Le séchage des agrumes**

Les fruits passent par des tunnels de séchage et séchés avec l'air sec d'une  $T^{\circ}=70\text{ }^{\circ}\text{C}$  pour une meilleure adhésion de la cire.

**l) Le deuxième triage**

Cette étape consiste à éliminer les fruits qui présentent des défauts de qualité : les maladies, les défauts physiologiques, les pourritures... Les fruits éliminés sont alors destinés soit au marché local soit à l'extraction de jus.

**m) Le calibrage des agrumes**

Cette opération consiste à répartir les fruits selon leur calibre. Elle est assurée par une machine dite calibreur central qui se compose d'un double rouleau pour assurer le transport des fruits. Ils sont séparés entre eux par une distance bien déterminée qui représente le diamètre du fruit.

Cette machine permet la sélection automatique des calibres selon le diamètre, le poids et la couleur des fruits.



**Figure 10:** Le calibrage des agrumes

**n) L'emballage des agrumes**

Après le calibrage, les fruits sont envoyés par le transporteur général à canaux (transporteur de distribution) vers les tables d'emballages par calibre séparé et il doit les mettre manuellement en colis. Le travail est renforcé dans ce poste pour éliminer les fruits non exportables.



**Figure 11:** L'emballage des agrumes

**o) L'étiquetage des agrumes**

Les fruits sont marqués par des logos convenables. Les étiquettes doivent avoir une bonne adhérence sur les fruits et la nature de la colle doit respecter les normes sanitaires.

**p) L'installation de complexe**

Après l'application des étiquettes, les emballeuses mettent les colis sur un tapis roulant qui les transporte vers les ouvriers qui agrafent les complexes à l'aide d'un pistolet. Cette opération vise l'amélioration de la présentation du fruit et la tenue du produit.

**q) Le marquage**

À cette opération, les ouvriers collent des étiquettes sur les emballages. Ces étiquettes comportent les informations du produit telles que la variété, le calibre des fruits, la référence de la station...

**r) La palettisation**

Cette opération est nécessaire pour le classement des caisses selon leur type et le type de la palette, tout en respectant le cahier de charge. La palettisation permet de faciliter l'opération de manutention et d'assurer la stabilité des caisses. Après palettisation, les palettes sont mises dans les chambres frigorifiques pour garder la bonne qualité des fruits en attendant leur transport vers les points de vente.

### 5.1.2. L'écologie des agrumes

Les agrumes présentent une grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes. La culture des agrumes est possible partout où la température moyenne de l'année est supérieure à 13°C et inférieure à 39°C. Les agrumes préfèrent les climats maritimes des zones subtropicales. En termes de besoins en eau, 120 mm par mois, soit 1200 à 1500 mm par an, représentent une quantité d'eau au-dessous de laquelle la culture des agrumes nécessite une irrigation (**Anonyme, 2006**).

La lumière a une action très remarquée sur la qualité et la coloration des fruits. Les arbres fruitiers sont plus exigeants sur les caractéristiques physiques du sol et non sur les caractéristiques chimiques qui peuvent être corrigées par des apports d'engrais et d'amendements. Les sols doivent être profonds et de préférence légers (sablo-argileux ou argilo-sableux), bien drainés. Les agrumes redoutent les eaux salines (au-dessus de 0,5%). Le pH idéal est situé entre 5,5 et 7,5 (**Walali Loudyi et al.2003 ; Van Ee, 2005**). C'est à cet effet que le choix du porte-greffe est un des facteurs essentiels de réussite, car il peut conférer à la plante une tolérance à des maladies et à des contraintes abiotiques (salinité, pH, froid, sécheresse...). L'optimum d'altitude pour un bon développement des agrumes se situe entre 1000 et 1300 m, car ces derniers ne doivent pas être trop exposés aux vents. **Loussert (1989)** signale qu'au-dessous de 800 m, les fruits manquent de saveur, la peau des oranges reste verte et les cloisons deviennent plus épaisses.

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

La culture des agrumes est possible partout, ils préfèrent les climats des zones subtropicales où la **température** moyenne de l'année est supérieure à 13°C et inférieure à 39°C.

## 6. Problèmes de contamination des agrumes en post-récolte

Malgré son importance économique, la production des agrumes se heurte à plusieurs problèmes phytosanitaires aussi bien au niveau du verger qu'en post-récolte. Ces problèmes, essentiellement d'origine biotique, sont dus aux maladies et aux ravageurs. Toutes les maladies

occasionnées sur les agrumes en conservation sont exclusivement d'origine fongique. Cependant, si de nombreux agents pathogènes peuvent infecter les fruits d'agrumes en post-récolte, seules quelques espèces causent des dégâts économiquement importants. En effet, sur une dizaine d'espèces fongiques responsables de pourritures sur les fruits d'agrumes en conservation, seules trois espèces peuvent être considérées comme dangereuses, et par ordre d'importance sont : *Penicillium digitatum* (agent de la pourriture verte), *Penicillium italicum* (agent de la pourriture bleue) et *Geotichum candidum* (agent de la pourriture amère). Les champignons responsables de ces trois pourritures sont tous des pathogènes de blessure et peuvent cohabiter sur le même fruit (**Brown & Eckert, 1988, Boubaker, 1993**). Les dégâts causés par *G. candidum* varient en importance d'une année à une autre, en fonction des conditions climatiques qui caractérisent la période de pré-récolte et des conditions de déverdissement. La lutte contre ces pourritures se base, principalement, sur l'utilisation des fongicides de synthèse (l'imazalil, le thiabendazole et la guazatine). Ces traitements chimiques visent à ce que le fongicide soit présent sur les produits récoltés durant la période post-récolte afin de prévenir le développement des agents de pourriture.

Les pertes réelles dues à la désintégration du *Penicillium* sont variables et dépendent des facteurs climatiques et du verger, du cultivar d'agrumes, de l'ampleur des blessures du fruit pendant la récolte et de la manipulation ultérieure, de l'efficacité des traitements antifongiques et de l'environnement post-récolte (**Smilanick et al. 2006**).

En Espagne, une étude de (**Tuset 1988**) a estimé que la pourriture des fruits causée par *Penicillium spp.* altère 55 à 80% des oranges et mandarines en post-récolte totale observée pendant toute la saison de commercialisation, et pour 30 à 55% de pourriture observée dans les salles de stockage des usines de conditionnement d'agrumes. Il a été trouvé lors d'inspections à New York d'agrumes de Californie et de Floride des moisissures vertes et bleues qui étaient présentes dans 30% des expéditions inspectées (**Ceponis et al. 1986**). Les premiers travaux de (**Pelser 1977**) ont montré que le *Penicillium* représentait environ 75% de la pourriture totale présente en Afrique du Sud.

La moisissure verte provoque généralement des pertes plus importantes lors de la commercialisation, car elle est prédominante à température ambiante, mais la moisissure bleue devient plus importante lorsque les agrumes sont conservés au froid pendant une longue période, car *P. italicum* pousse plus vite que *P. digitatum* en dessous de 10 °C (**Plaza et al. 2003**). Les agents pathogènes des plaies tels que *Penicillium spp* sont très importants dans tous

les domaines, car ils se reproduisent très rapidement et leurs spores sont omniprésentes dans l'atmosphère et sur la surface des fruits et sont facilement disséminés par les courants d'air. Par conséquent, la source d'inoculum fongique dans les vergers d'agrumes et les ateliers de conditionnement est pratiquement continue pendant la saison et les fruits peuvent être contaminés et infectés dans le bosquet, la station d'emballage et pendant la distribution et la commercialisation. Dans les installations de conditionnement et de stockage chambres, l'inoculum peut s'accumuler à des niveaux élevés si les mesures nécessaires ne sont pas adoptées.

## II. LA FLORE D'ALTÉRATION DES AGRUMES

Les maladies qui surviennent après la récolte peuvent avoir un impact significatif sur la qualité de conservation des agrumes frais. Les pertes dues aux maladies post-récolte causées par divers agents pathogènes représentent près de 50 % du gaspillage total dans les agrumes (**Ladaniya, 2008**). Infection et contamination se produisent à différentes étapes du champ, de la manutention subséquente et des activités d'entreposage. Les agrumes sont sensibles à l'infection par de nombreux champignons pathogènes. Ces pathogènes fongiques peuvent être subdivisés en deux catégories :

- La première catégorie comprend les agents pathogènes qui entrent par un point d'entrée naturel et qui possèdent une longue phase d'inactivité après l'infection, ou dont les symptômes peuvent apparaître peu après l'infection. Les principaux champignons appartenant à ce groupe sont : *Lasiodiplodia theobromae* (pourriture de l'extrémité de la tige), *Phomopsis citri* (pourriture de l'extrémité de la tige), *Colletotrichum gloeosporioides* (Antracnose) et *Alternaria alternata* (pourriture noire) (**Boubaker, 1993**).
- La deuxième catégorie comprend les agents pathogènes des plaies qui pénètrent par les blessures. Dans ce cas, les maladies apparaissent moins d'une semaine après l'activation de l'agent pathogène lors de la libération d'humidité et d'éléments nutritifs aux endroits où l'écorce des fruits est endommagée (**Eckert et Brown, 1986**). Il s'agit notamment de la pourriture verte à *P. digitatum* et la pourriture bleue à *P. italicum*, et de la pourriture acide causée par *G. candidum*. Plus de 90 % des pertes d'agrumes sont dues aux champignons mentionnés (**Boubaker, 1993**).

➤

## 1. *Penicillium digitatum*

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

La maladie due à *P. digitatum* est dite « la pourriture verte », en référence à la couleur verte marque de ces spores qui s'observe que ce soit sur les fruits infectés (Figure 13), ou sur milieu PDA (Brown et Eckert, 1988).

Le cycle de développement de *P. digitatum* est caractérisé par des symptômes similaires à ceux de la pourriture bleue causée par *P. italicum*. Le site infecté se tache en surface et devient mou avec un diamètre de 6 à 12 mm. À une température de 25°C et après un jour, le diamètre de la tache augmente à 2 cm. Un mycélium blanc se développe et le diamètre devient alors de l'ordre de 2,5 cm tandis que des spores de couleur vert olive sont produites (figure 13). La zone verdâtre de la pourriture, correspondant à une forte sporulation, entourée d'une large zone composée de mycélium blanc et d'une surface molle de l'extérieur (Brown et Eckert, 1988).

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

Le champignon envahit la peau du fruit dans les jours qui suivent, puis la sporulation à lieu aboutissant à la formation d'une masse poudreuse de couleur vert olive (Eckert, 1982).

Au début de l'attaque, l'écorce du fruit s'éclaircit et devient molle. Ensuite, un duvet (mycélium) blanc se forme, puis s'étend de jour en jour et des spores vertes apparaissent dessus. À la fin, tout le mycélium est recouvert de spores vertes d'où le nom de « pourriture verte ». La pulpe du fruit est également atteinte par la moisissure : le fruit se momifie.

*P. digitatum* attaque uniquement les fruits « blessés » dont l'écorce est fragilisée. Il se propage rapidement par l'air et peut attaquer tous les fruits blessés.

Sa pourriture est moins liquide, plus ferme que celle du *Penicillium Italicum* mais le fruit est plus ratatiné.



**Figure 12:** *Penicillium digitatum*

## **2. *Penicillium italicum***

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

Au cours du développement de *P.italicum*, l'épiderme du fruit atteint s'éclaircit, devient mou, après quelques jours à une température de 24-25°C, un duvet mycélien blanc entouré par un halo, apparaît et se couvre rapidement de spores bleues (Figure 14). Le fruit, même partiellement atteint, devient inconsommable. La pourriture est plus molle, plus liquide et plus profonde que celle due au *P. digitatum*.

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

Au début de l'attaque, l'écorce devient molle et s'éclaircit et un duvet blanc apparaît puis les spores bleues font leur apparition. La pulpe du fruit est aussitôt atteinte, l'infection est beaucoup plus profonde qu'avec *P. digitatum*. La moisissure s'étend de façon très asymétrique.

*Penicillium Italicum* se transmet lui aussi par l'air ou par contact direct.

#### ❖ Combinaison des deux *Penicilliums*

Il n'est pas rare que les agrumes soient attaqués par les deux *Penicilliums* en même temps. Généralement, *P. Italicum* est à l'origine de l'attaque primaire puis *P. digitatum* s'installe et prend le dessus. Lorsque les deux champignons sont combinés, l'écorce prend une teinte rougeâtre.



**Figure 13:** *Penicillium italicum*

### 3. *Geotrichum Candidum*

Identifiée pour la première fois par Link en 1809 à partir d'un échantillon de sol (**Carmichael J. 1957.**), l'espèce *G. candidum* ensuite été isolée et identifiée à la surface d'un lait en 1850 par Fresenius (**Wouters JTM, 2002**). D'abord considérée comme une moisissure, puis ensuite comme une levure, *G. candidum* (figure 15) a été nommée de multiples façons, les synonymes les plus communément utilisés étant *Oidium lactis* ou *Oospora lactis* (**Wouters JTM 2002., de Hoog GS, Smith MT. 2004**). L'appellation *Geotrichum candidum* désigne la forme anamorphe (asexuée) de l'espèce, cette dernière se retrouvant en grande abondance dans la nature, alors que l'appellation *Galactomyces candidus* désigne la forme téléomorphe (sexuée) de l'espèce, celle-ci étant présente en bien plus faible abondance (**Hoog GS, Smith MT. 2004.**). Les formes asexuée et sexuée descendent chacune du règne des Fungi, sous  $\mu$ ées, d'aspect filamenteux, qui présentent une prédominance en hyphes végétatifs, produisent peu d'arthrospores, et dont la température optimale de croissance varie entre 25 et 30 °C (**Desmasures N. 2014, Gueguen M, Jacquet J. 1982**). Certaines souches peuvent aussi présenter des morphologies intermédiaires entre les deux précédentes, celles-ci n'ayant pas



de descriptions spécifiques, mais formant plutôt un continuum entre le type levuriforme et le type filamenteux (Gueguen, Jacquet 1982, Desmasures 2014).



*Figure 14: Geotricum Candidum*

#### **4. Les maladies de post- récolte : domaine d'application privilège de phénomène d'adhésion**

La principale nouvelle stratégie utilisée pour contrôler les maladies de post-récolte des fruits est de comprendre le phénomène d'adhésion afin d'empêcher les agents pathogènes d'infecter les agrumes. En effet, l'adhésion est l'étape précoce de contamination pour comprendre le comportement des spores fongiques étudiées vis-à-vis des supports biologiques ou inertes étudiés. Ceci va être décrit dans le chapitre suivant de ce rapport de thèse.

### **III. ADHÉSION MICROBIENNE AUX SURFACES**

Les micro-organismes sont bien connus comme des cellules planctoniques, libres dans une suspension et sont décrits sur la base de leurs caractéristiques de croissance. Ce monde planctonique est rarement rencontré ou ne constitue qu'un état transitoire, la vie microbienne se déroule majoritairement sur les surfaces. D'une manière générale, 99 % des micro-organismes présents dans les environnements naturels sont fixés à des supports solides (Costerton, 1987). La prédominance de cet état peut être expliquée par la modification physiologique induite par cet état. Cette modification permet d'assurer la survie et la multiplication des micro-organismes dans des environnements généralement hostiles ou stressants. Toutes les interfaces solides-liquides sont potentiellement propices à l'adhésion, à la colonisation microbienne et à la formation de biofilms.

L'adhésion des micro-organismes aux surfaces des matériaux, notamment les surfaces rencontrées dans le domaine de la transformation des aliments et l'adhésion sur

les fruits est un processus complexe qui est régi par diverses propriétés morphologiques et physico-chimiques.

## 1. Historique sur les biofilms bactériens

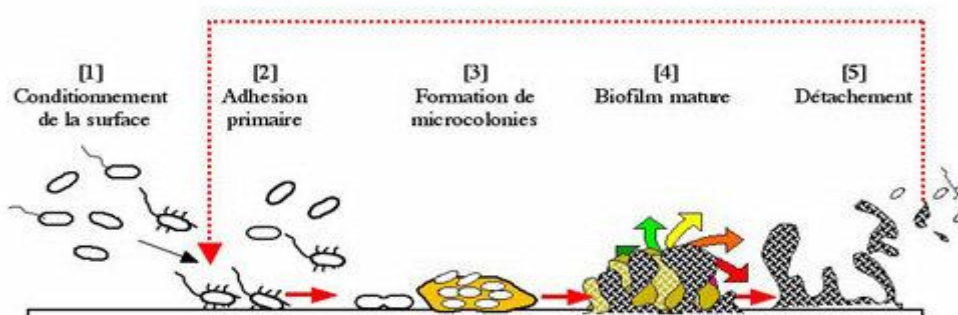
Les biofilms sont présents sur terre depuis des milliards d'années. L'origine de la recherche en microbiologie est souvent associée aux observations d'Antone Van Leeuwenhoek qui, au XVII<sup>e</sup> siècle et grâce à un microscope de son invention, il a mis en évidence la présence d'organismes microscopiques à la surface de ses dents. Bien que d'abord identifiés fixés sur un support solide, ce sont les formes libres et planctoniques des micro-organismes, qui ont été les plus étudiées. Dès lors, l'essentiel des connaissances acquises résulte de travaux principalement réalisés sur ces formes, elles étaient cultivées dans des milieux nutritifs liquides et agités. Quelques travaux attirent cependant l'attention sur les interactions existantes entre les micro-organismes et les surfaces. En 1933, **Arthur Henrici** plonge des lames de microscopie en verre dans son aquarium et observe un dépôt de micro-organismes qui s'épaissit progressivement (Henrici, 1933). En 1940, **Heuklekian et Heller** ont observé que la croissance et l'activité bactérienne augmentent avec l'incorporation de la surface où ces bactéries peuvent adhérer. Alors que Claude Zobell en 1943 montre que, dans un récipient rempli de liquide, les bactéries colonisant les parois sont plus nombreuses que celles en suspension (**Zobell, 1943**). La vraie observation de biofilm a été connue par l'apparition du microscope électronique. Jones et al., 1969 ont utilisé le microscope électronique à balayage et le microscope électronique à transmission pour examiner le biofilm et ils ont montré que ce biofilm est composé de différents micro-organismes. Enfin, dans les années **1980**, les travaux de **William Costerton** mettent en évidence que l'essentiel de la biomasse microbienne est fixé sur des surfaces et constitué des populations hétérogènes englobées dans une matrice extracellulaire riche en eau, en sucres et en protéines. Les biofilms présents dans tous les environnements (figure 16) sont associés à des surfaces biotiques (végétales ou animales) ou abiotiques (surfaces des métaux ; surfaces médicales ; etc.).

Il devient évident que plusieurs phytopathogènes sont Capable de former des biofilms sur de nombreuses espèces végétales (**Marqueset al., 2002 ; Galiana et al., 2008 ; Harding et al., 2010 ;Théodorakopoulos et al., 2011 ; Li et Wang, 2014 ; Peiqian et al.,2014**). Dans un biofilm, les cellules sont protégées par une matrice extracellulaire substances polymères (EPS), qui présentent une survie et une résistance aux fongicides chimiques et aux défenses de l'hôte. La matrice se compose principalement d'exopolysaccharides comme composant central, de

lipides, de protéines, ADN extracellulaire et autres fibres adhésives (**Balcázar et al.2015 ; Villa et al., 2017**). En général, les biofilms présentent jusqu'à 1000 fois résistant à des agents antifongiques spécifiques par rapport au flotteur libre cellules (**Di Bonaventura et al. 2006**). De plus, les biofilms sont un problème très important dans l'industrie alimentaire, les systèmes d'eau industriels, les dispositifs médicaux et les infections humaines (**Sadekuzzaman et al.2015**).

## 2. Étapes de la formation des biofilms bactériens sur des surfaces solides

La formation de biofilm est un processus relativement lent et peut atteindre un millimètre d'épaisseur en quelques jours en fonction des conditions de culture (**Melo et al., 1992**). Les micro-organismes dans un biofilm ne sont pas uniformément distribués. Ils poussent sous forme de micro colonies emprisonnées dans une matrice intercalée de canaux très perméable à l'eau (**Costerton et al. 1994**). La composition d'un biofilm peut être hétérogène, en raison de la colonisation par différents microorganismes possédant différents besoins nutritionnels. Les biofilms n'existent pas nécessairement sous forme de couche uniforme sur l'ensemble de la surface du substrat. L'augmentation de la taille d'un biofilm est favorisée par le dépôt ou par la fixation d'autres solutés organiques et inorganiques et de particules présentes dans la phase liquide environnante (**Melo et al. 1992**). La formation d'un biofilm bactérien sur une surface solide est un phénomène complexe dans lequel des processus physiques, chimiques et biologiques sont impliqués (**Characklis et Marshall 1990 ; Lappin-Scott et Costerton, 1995**). L'observation directe des biofilms par microscopie, ainsi que les nombreuses études génétiques réalisées sur les biofilms ont conduit à un modèle de développement en cinq étapes (Figure 16):

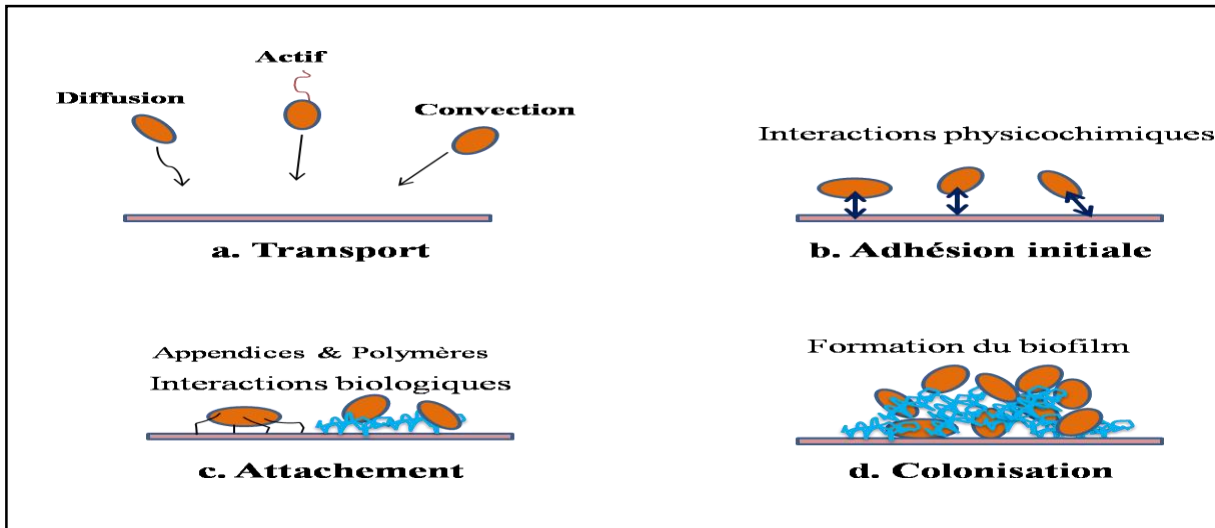


**Figure 15:** Les étapes de formation des biofilms

## 3. Mécanisme général de l'adhésion des micro-organismes

L'adhésion des micro-organismes se déroule en trois étapes selon **Marshall (1992)** :

- Transport du micro-organisme au voisinage de la surface .
- Adhésion réversible : les micro-organismes peuvent adhérer aux surfaces, mais elles peuvent aussi être facilement résorbées du support.
- Adhésion irréversible ou attachement.



**Figure 16:** Représentation schématique des étapes de la colonisation bactérienne d'une surface (Schéma de Van Loosdrecht et al. (1990).

Une fois les micro-organismes arrivent à proximité de la surface par certains mécanismes tels que la sédimentation due aux forces de gravité, le mouvement brownien ou la Chimiotaxie, les micro-organismes peuvent adhérer par l'intermédiaire des interactions physico-chimiques. Ces interactions comprennent (**Van Oss, 1996**) :

- **Les interactions de Van der Waals**
- **Les interactions électrostatiques**
- **Les interactions acido-basiques (donneur d'électrons - accepteur d'électrons au sens de Lewis)**

Il est cependant très difficile de déterminer laquelle de ces forces ou interactions est la plus importante.

## 4. Interactions physico-chimiques intervenant dans le phénomène d'adhésion

L'adhésion est donc l'étape clé de la contamination des matériaux. Comme mentionné précédemment, l'adhésion est le résultat d'interactions physico-chimiques non covalentes entre les macromolécules présentes à la surface des cellules microbiennes et le support récepteur. Ces interactions non covalentes comprennent les interactions électrostatiques (EL), Van der Waals (LW), Lewis acide-base (donneur/ accepteur d'électrons) (AB) ainsi que les interactions liées aux mouvements brownien (BR) (**Van Oss et al. 1988**).

### 4.1. Interactions Van der Waals

Les forces de Van der Waals correspondent à une interaction électrique d'intensité faible ayant lieu à courte distance entre atomes et/ou molécules. Ces forces ont été nommées en l'honneur du physicien néerlandais (**Johannes Diderik Van der Waals 1837-1923**), prix Nobel de physique en 1910, qui fut le premier à introduire leurs effets dans les équations d'état des gaz en 1873 permettant d'aller au-delà de la description simpliste du gaz parfait. Les forces de Van der Waals sont les résultats de trois forces :

Les forces de Keesom, les forces de Debye et les forces de London

### 4.2. Interactions acido-basique

Dans un milieu aqueux, les interactions polaires comprennent principalement l'interaction entre donneur d'hydrogène et accepteur d'hydrogène (ou entre acide et base de Bronsted). D'après **Van Oss (1996)**, ce concept est élargi aux interactions donneur-accepteur d'électrons ou interactions acidobasiques au sens de Lewis. Les forces d'interactions sont essentielles en milieux aqueux et décroissent de façon exponentielle en fonction de la distance.

#### a) Énergie d'interaction liée aux interactions acido-basiques

L'énergie d'interaction acido-basique  $\Delta G_{12}^{AB}$  entre deux entités 1 et 2 plongées dans le vide est décrite selon l'équation de Dupré :

$$\Delta G_{12}^{AB} = \gamma_{12}^{AB} - \gamma_1^{AB} - \gamma_2^{AB} \quad (1)$$

Où  $\gamma_{12}$  représente la tension superficielle (ou énergie libre interfaciale par unité de surface) entre les corps 1 et 2. D'après **Van Oss (1988)**  $\gamma_{12}$  est exprimée par :

$$\gamma_{12}^{AB} = 2((\gamma_1^+)^{1/2} - (\gamma_2^+)^{1/2})((\gamma_1^-)^{1/2} - (\gamma_2^-)^{1/2}) \quad (2)$$

Où  $\gamma^+$  représente l'accepteur d'électrons et  $\gamma^-$  le donneur d'électrons

La combinaison de la relation (1) et (2) permet d'aboutir à la relation suivante

$$\Delta G_{12}^{AB} = -2((\gamma_1^+ \gamma_2^-)^{1/2} + (\gamma_1^- \gamma_2^+)^{1/2}) \quad (3)$$

Il faut noter que dans ce cas  $\Delta G_{12}^{AB}$  est toujours négatif indiquant une attraction entre les deux entités plongées dans le vide.

Pour deux entités 1 et 2 immergées dans un liquide 3 (cas de l'adhésion microbienne)

L'énergie d'interaction entre les deux entités peut être exprimée par :

$$\Delta G_{132}^{AB} = \gamma_{12}^{AB} - \gamma_{13}^{AB} - \gamma_{23}^{AB} \quad (4)$$

Les relations (2) et (4) indiquent que :

$$\Delta G_{132}^{AB} = 2[(\gamma_3^+)^{1/2}[(\gamma_1^-)^{1/2} + (\gamma_2^-)^{1/2} - (\gamma_3^-)^{1/2}] + (\gamma_3^-)^{1/2}[(\gamma_1^+)^{1/2} + (\gamma_2^+)^{1/2} - (\gamma_3^+)^{1/2}] - (\gamma_1^+ \gamma_2^-)^{1/2} - (\gamma_1^- \gamma_2^+)^{1/2}]. \quad (5)$$

Selon les valeurs de  $\gamma^-$  et  $\gamma^+$ ,  $\Delta G_{132}^{AB}$  peut être négative (attractive) ou positive (répulsive).

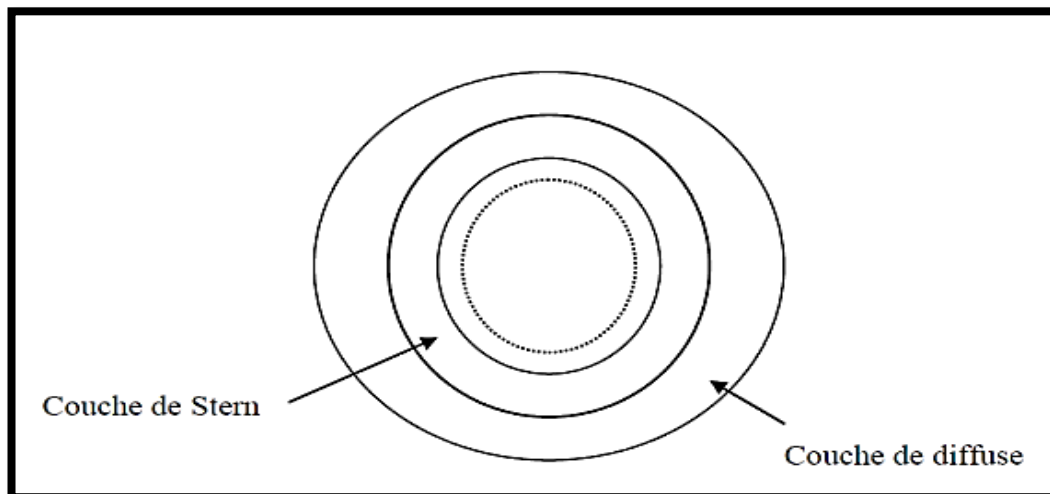
Selon **Van Oss et al. 1988**, les interactions acido-basiques présentent des énergies pouvant être deux fois plus grandes que les interactions de Van der Waals ou les interactions électrostatiques.

### 4.3. Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques interviennent dans le cas de composés chargés. Une particule ou une surface solide, immergée dans un milieu aqueux, peut porter des charges à sa surface et avoir ainsi un potentiel de surface. Ce qui donne une accumulation de contre-ions dans la phase aqueuse voisine de la surface. Ceci entraîne la formation d'une double couche électrique (figure18).

La première couche, de l'épaisseur d'un ion approximativement, est appelée couche de Stern. Elle est constituée d'ions fortement adsorbés sur la surface. Au-delà de la couche de Stern se forme une seconde couche qui s'étend dans la phase liquide : couche diffuse de Gouy-Chapman. Dans cette couche diffuse, l'excès en contre-ions diminue progressivement lorsqu'on s'éloigne de la surface chargée, jusqu'à ce que l'équilibre ionique de la phase aqueuse soit retrouvé.

Lorsque la particule s'approche de la surface solide, elle s'exerce une interaction électrostatique liée au recouvrement de leurs doubles-couches électriques. Cette interaction est répulsive si les deux surfaces portent des groupements chargés de même signe et elle est attractive dans le cas contraire. L'épaisseur de la double-couche est inversement proportionnelle à la concentration en ion dans la phase aqueuse.



**Figure 17** : Représentation de la double couche électrique (van Loosdrecht, 1987).

<https://learnbiochemistry.wordpress.com/>

À pH neutre, la plupart des surfaces naturelles acquièrent une charge négative (**Van Loosdrechet et al. 1987**) et se repoussent mutuellement. Dans la plupart de ces systèmes, l'énergie résultante de la répulsion électrostatique intermoléculaire ou interparticulaire peut être forte par rapport aux énergies d'interactions de Van der Waals (LW). Ainsi, puisque  $\Delta G^{\text{EL}}$  qui est en fonction de  $1/k$ , diminue avec l'augmentation de la force ionique du milieu liquide, elle devient négligeable pour une force ionique forte. Les interactions électrostatiques peuvent être présentes jusqu'à des distances de 8 à 10 nm.

Pour un système idéal, système sphère (micro-organisme) -système plan (substrat), l'énergie d'interaction électrostatique (EL) est donnée par l'équation suivante (Visser, 1976):

$$\Delta G^{EL} = R\Psi_0^2\varepsilon \ln(1 + \exp(-kl))$$

Où l : La distance de séparation entre la sphère et le plan

$\Psi_0$ : Le potentiel de la surface de la particule

$\varepsilon$ : La constante diélectrique du milieu aqueux

R : Le rayon de la sphère

1/k : L'épaisseur de la couche ionique diffuse (longueur de Debye)

## 5. Les approches théoriques de l'adhésion microbienne aux surfaces solides

Dans la littérature, certains chercheurs ont décrit le processus d'adhésion de manière rationnelle en utilisant des principes de la physique et de la chimie. Le processus de l'adhésion a été décrit principalement par la théorie des systèmes colloïdaux. Bien que dans certains cas, les micro-organismes se comportent comme de petites particules, elles demeurent des organismes vivants, dont la forme et les propriétés de surfaces sont à priori complexes. Les vraies particules colloïdales se déplacent grâce à l'application de forces externes. Cela n'est pas nécessairement le cas pour les micro-organismes, l'énergie de surface est la propriété physico-chimique la plus importante d'une surface solide. Quand une surface est mise en contact direct avec une solution, les molécules et les atomes de cette surface interagissent avec leur environnement. Et les atomes contenus dans la solution et le type des forces, ou d'interactions, dépendent de la composition chimique des deux milieux. D'après (Asther et al., 1990), l'adhésion des micro-organismes sur des surfaces chimiquement inertes dépend de la physico-chimie et peut être prévue par des modèles thermodynamiques. Cependant, la première théorie qui a été utilisée pour expliquer l'interaction entre micro-organismes et surface est la théorie DLVO, qui doit son nom aux quatre scientifiques (Derjaguin & Landau,) qui l'ont développée.

En effet, il existe à l'origine deux approches, initialement considérées comme distinctes, de l'adhésion des micro-organismes aux surfaces inertes :

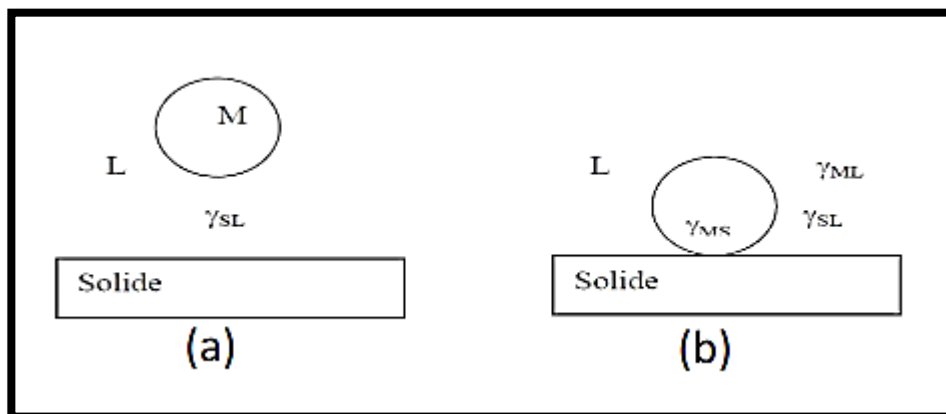


- ❖ Approche **thermodynamique** qui ne prend en compte que les interactions non électrostatiques.
- ❖ Approche DLVO qui prend en compte les interactions électrostatiques ainsi que les interactions de Lifshitz-Van der Waals.

Ces deux théories ont été réconciliées par Van Oss et ses collaborateurs (**Van Oss et al., 1986**) au sein de la théorie **DLVO étendue** qui prend en compte les trois types d'interactions fondamentales (Lifshitz-Van der Waals, acide-base de Lewis et électrostatiques).

### 5.1. L'approche thermodynamique

D'après certains auteurs, le phénomène de l'adhésion microbienne peut être appréhendé sous un angle strictement thermodynamique (**Busscher et al. 1984**). Cette théorie, qui ne prend en compte que les interactions non électrostatiques, est basée sur l'équation de **Dupré (Dupré, 1869)** appliquée à un système micro-organisme-solide-liquide (milieu de suspension) comme illustré sur la Figure 19.



**Figure 18:** Représentation schématique des énergies interfaciales mises en jeu lors de l'adhésion d'un micro-organisme (m) en suspension dans un liquide (l) à un support (s). (a) pas d'adhésion (b) adhésion.

<https://learnbiochemistry.wordpress.com/>

L'adhésion du micro-organisme sur le support solide correspond à un état d'équilibre. Elle se traduit par la création d'une interface micro-organisme-solide et, conjointement, par la destruction des interfaces micro-organisme-liquide et solide-liquide (**Absolom et al., 1983**). L'énergie de cette adhésion peut s'exprimer selon l'équation suivante :

$$\Delta G_{adh} = \Delta G_{MLS} = \gamma_{MS} - \gamma_{ML} - \gamma_{SL}$$

Où  $\gamma$  est l'énergie libre interfaciale, les indices S, M et L étant relatifs au support, au micro-organisme et au milieu de suspension, respectivement.

En accord avec le second principe de la thermodynamique, l'adhésion microbienne est donc un processus favorisé, d'un point de vue énergétique, si la variation d'énergie libre  $\Delta G_{adh} = \Delta G_{MLS}$  qui accompagne ce phénomène est négative ( $\Delta G_{adh} < 0$ ) (Figure 19 b). Au contraire, si  $\Delta G_{adh} > 0$  est positive, l'adhésion sera impossible (Figure 19 a).

La variation d'énergie libre  $\Delta G_{adh}$  accompagnant l'adhésion d'un micro-organisme sur un support en milieu liquide peut être calculée à partir de la connaissance des énergies libres de surface du milieu de suspension, du solide et du micro-organisme.

#### - Le calcul de $\Delta G_{adh}$

Dans le cas d'un micro-organisme (M) en présence d'une surface (S) dans un liquide (L), nous avons vu que l'équation de Dupré s'applique à un système à trois entités. Il est alors possible d'exprimer l'interaction entre le micro-organisme et la surface solide immergée dans un liquide, en tenant compte des interactions de Lifshitz-Van der Waals et des interactions polaires selon l'équation suivante :

$$\Delta G_{MLS} = 2 \cdot \left[ \sqrt{\gamma_M^{LW} \cdot \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^{LW} \cdot \gamma_L^{LW}} - \sqrt{\gamma_M^{LW} \cdot \gamma_S^{LW}} - \gamma_L^{LW} + \sqrt{\gamma_L^+ \cdot (\sqrt{\gamma_M^-} + \sqrt{\gamma_S^-} - \sqrt{\gamma_L^-})} + \sqrt{\gamma_L^- \cdot (\sqrt{\gamma_M^+} + \sqrt{\gamma_S^+} - \sqrt{\gamma_L^+})} - (\sqrt{\gamma_M^+ \gamma_S^-} - \sqrt{\gamma_M^- \gamma_S^+}) \right]$$

Cette approche thermodynamique décrit une création d'interface, mais dans le cas d'une interaction cellule / matériau, le phénomène n'est pas aussi simple. Il est important de prendre en compte l'intervention de l'environnement cellulaire, ainsi que les autres types d'interactions qui ont lieu. De plus, le phénomène est ici considéré comme totalement réversible, ce qui ne correspond pas au cas réel.

## 5.2. La théorie DLVO

La théorie DLVO, première théorie concernant la stabilité de l'état colloïdal, doit son nom aux auteurs qui l'ont développée indépendamment : **Derjaguin et Landau (1941)**; **Verwey et Overbeek (1948)**.

Selon ces auteurs, une particule qui s'approche à une certaine distance d'une surface donnée va interagir avec cette surface par des forces de type Van der Waals et

électrostatiques. Cette théorie est très largement utilisée pour rendre compte des phénomènes de floculation, d'agglomération ou de coagulation des systèmes colloïdaux. Elle permet donc de prévoir la probabilité de la particule de se situer à une certaine distance de la surface considérée.

Cette théorie fournit une bonne description du comportement de particules colloïdales, mais ne prend pas en compte les interactions intermoléculaires à courte portée. En effet, à des distances aussi faibles, d'autres types d'interactions telles que les liaisons hydrogènes sont prépondérantes et déterminent la force de l'adhésion au niveau du minimum primaire que la théorie DLVO ne prévoit pas.

Par ailleurs, la théorie (DLVO) peut être appliquée pour prévoir l'adhésion des micro-organismes aux surfaces, sachant que les micro-organismes sont loin d'être des particules idéales. Ils n'ont ni géométrie simple ni composition moléculaire uniforme, et sont donc difficilement « modélisables ».

On peut cependant les assimiler à des colloïdes lorsque leur taille est voisine de 1  $\mu\text{m}$ . Cependant, en acceptant quelques approximations, les interactions entre micro-organisme et surface solide peuvent être décrites par la théorie DLVO exposée ci-dessus (**Marshall, 1985**).

Selon cette théorie, l'adhésion microbienne est donc le résultat d'un équilibre s'établissant entre les forces de Van der Waals et les forces électrostatiques. L'énergie libre d'interaction totale,  $\Delta G_{\text{TOT}}$  entre le micro-organisme et le support, séparé d'une distance  $d$ , est la somme des énergies libres liées aux interactions attractives de Van der Waals,  $\Delta G^{\text{LW}}$ , et aux interactions électrostatiques,  $\Delta G^{\text{EL}}$ . Cette énergie est modulée par la force ionique du milieu et décroît avec la distance de séparation entre les corps. L'énergie des interactions de Van der Waals entre une sphère de rayon  $a$  et une plaque semi-infinie, séparée d'une distance «  $d$  » s'écrit :

$$\Delta G^{\text{LW}} = -A/6[2a(d+a)/d(d+2a) - \ln(d+2a/d)] \quad (1)$$

A: constante de Hamaker (**Rutter et Vincent, 1980 ; Norde et Lyklema, 1989**)

$a$  : rayon de la sphère,

$d$  : distance de séparation entre la sphère et le plan.

$\Delta G^{LW}$  est en fonction de la nature de la particule, du solvant, du support, de leur géométrie et de la distance de séparation entre les corps. Elle est exprimée en  $\text{mJ.m}^{-2}$ .

Dans le cas de deux particules identiques en interaction, les forces de Lifshitz-Van der Waals sont généralement attractives ( $\Delta G^{LW} < 0$ ). Elles restent effectives à des distances de l'ordre de 10 nm.

L'énergie des interactions électrostatiques entre une sphère de rayon  $a$  (de potentiel zéta  $\zeta_1$ ) et une plaque semi-infinie (de potentiel zéta  $\zeta_2$ ), séparées d'une distance  $d$ , s'écrit :

$$\Delta G^{EL} = \pi \epsilon a (\zeta_1^2 + \zeta_2^2) (2\zeta_1 \zeta_2 \ln [1 + \exp(-kd)] / (1 - \exp(-kd))] / (\zeta_1^2 + \zeta_2^2) + \ln(1 - \exp(-2kd)))$$

$\epsilon$  : permittivité du milieu ( $6,96 \cdot 10^{-10} \text{ J.m}^{-1} \cdot \text{V}^{-2}$  pour l'eau)

$e$  : charge des électrons ( $1,6021 \cdot 10^{-19} \text{ C}$ )

$B$  : constante de Boltzmann ( $1,3807 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$ )

$T$  : température (K)

$z_i$  : valence des ions

$n_i$  : nombre d'ions par  $\text{cm}^3$

L'énergie d'interaction électrostatique dépend de la charge portée par les particules, de leur géométrie, de leur distance de séparation et de la force ionique du milieu. La force ionique du milieu a deux effets souvent couplés :

- Une diminution du potentiel dans la couche de Stern, d'autant plus importante que la force ionique du milieu est forte et que la valence des ions est élevée.
- Une diminution de l'épaisseur de la double couche.

Les interactions électrostatiques diminuent donc fortement quand la force ionique du milieu augmente.

### 5.3. La théorie DLVO étendue par Van Oss

La théorie DLVO a été étendue par (Van Oss et al. 1986) afin de prendre en compte les interactions polaires. Selon cette théorie, les trois interactions fondamentales (Interactions de Lifshitz-Van der Waals, interactions électrostatiques et interactions acides-bases au sens de

Lewis) sont impliquées dans le phénomène de l'adhésion des micro-organismes aux supports. Comme évoqué précédemment, les interactions acides-bases sont dues aux caractères donneur d'électrons et accepteur d'électrons des espèces polaires en solution.

Selon le modèle de (**Van Oss et al. 1986**), l'énergie libre d'interaction totale,  $\Delta G_{TOT}$  entre deux corps, séparés d'une distance  $d$ , s'écrit donc :

$$\Delta G^{TOT} = \Delta G^{EL} + \Delta G^{nonEL} = \Delta G^{EL} + \Delta G^{LW} + \Delta G^{AB}$$

Pour un système sphère (micro-organisme) -plan (substrat), la variation de l'énergie d'interaction acido-basique est donnée par la relation suivante (**Van Oss, 1994**):

$$\Delta G^{AB}(d) = 2\pi a \lambda \Delta G_{adh}^{AB}(d_0) \exp [(d_0 - d)/ \lambda]$$

$a$  : rayon de la sphère

$\lambda$ : Longueur de corrélation qui concerne la molécule d'eau

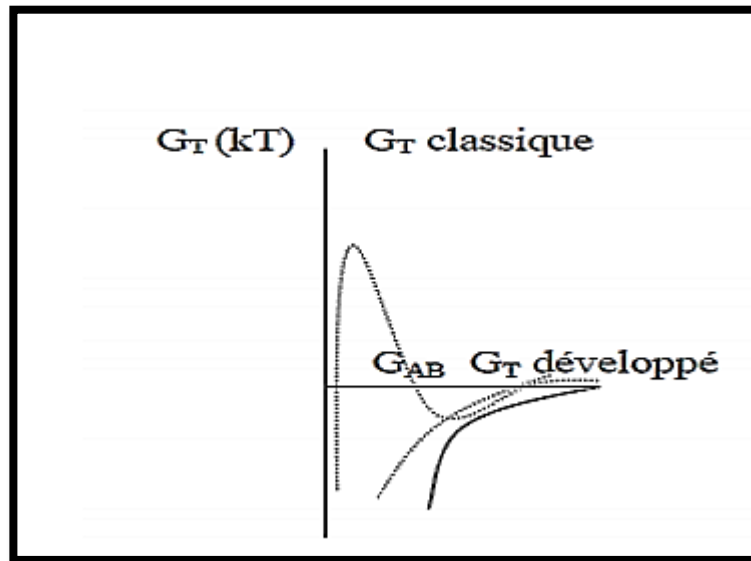
$d_0$ : distance à l'équilibre.

$d$  : distance séparant le micro-organisme du substrat.

L'énergie libre d'interaction acido-basique entre les deux entités 1 et 2 immergées dans un milieu liquide 3 est exprimée par **Van Oss (1994)** :

$$\Delta G_{123}^{AB} = 2 [(\gamma_3^+)^{1/2} [(\gamma_1^-)^{1/2} + (\gamma_2^-)^{1/2} - (\gamma_3^-)^{1/2}] + (\gamma_3^-)^{1/2} [(\gamma_1^+)^{1/2} + (\gamma_2^+)^{1/2} - (\gamma_3^+)^{1/2}] - (\gamma_1^+ \gamma_2^-)^{1/2} - (\gamma_1^- \gamma_2^+)^{1/2}]$$

L'introduction du terme d'énergie d'interaction acido-basique dans l'énergie totale d'interaction (DLVO développée) montre une grande influence sur la variation de l'énergie d'interaction (figure 20).



**Figure 19:** Comparaison entre l'énergie d'interaction déduite de DLVO classique et DLVO développée (<https://learnbiochemistry.wordpress.com/>)

Ainsi, il faut noter que les interactions acido-basiques sont à courte distance, et elles ont un effet significatif pour les petites distances de séparation (5 nm à 10 nm) (**Bos et coll., 1999**).

- **Limites des approches théoriques :**

Les théories DLVO et thermodynamique ont fourni des explications à l'adhésion microbienne, mais elles présentent des limitations :

- La théorie de DLVO : Les interfaces qui réagissent entre elles sont supposées être homogènes, rigides, lisses et non pénétrables par les ions.
- La théorie thermodynamique : Les surfaces sont considérées comme homogènes lorsque le système est considéré en équilibre. Les interactions électrostatiques ne sont pas prises en considération.

## 6. Les différents paramètres influençant l'adhésion :

De nombreux facteurs peuvent influencer l'adhésion microbienne. Comme nous l'avons précédemment décrit, la bioadhésion dépend de l'énergie d'interaction entre les trois corps présents dans le milieu : les micro-organismes, le substrat et le fluide environnant. Ainsi, tous les paramètres susceptibles de modifier ces interactions peuvent potentiellement influencer l'adhésion microbienne sur un support solide. Nous présentons dans les deux paragraphes suivants une liste non exhaustive des différents paramètres pouvant modifier l'adhésion microbienne.

Les propriétés physico-chimiques (hydrophobicité, charge électrostatique, donneur d'électrons / accepteur d'électrons) et les propriétés structurales (fimbriae, flagelle...) ont une grande influence sur l'adhésion microbienne.

### **6.1. Propriétés physico-chimiques de la surface microbienne**

De nombreuses études ont rapporté que les propriétés physico-chimiques de la surface microbienne sont impliquées dans plusieurs phénomènes interraciaux comme l'adhésion microbienne sur les surfaces solides. Ces propriétés comprennent l'hydrophobicité, la charge électrostatique et le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons.

L'hydrophobicité de la surface cellulaire est généralement acceptée comme facteur important dans le phénomène de l'adhésion (**Van Loosdrecht et al., 1987, 1987; Van Loosdrecht et al., 1987**). Ces auteurs ont montré que l'hydrophobicité de plusieurs micro-organismes est bien corrélée avec l'adhésion à une surface solide. Cette corrélation indique que les cellules hydrophobes adhèrent mieux que les cellules hydrophiles. Le rôle de la charge électrostatique dans le phénomène de l'adhésion a été étudié par plusieurs auteurs (**Mozes et al., 1988; Van der Mei et al., 1993; Van der Mei et al., 1995; Van der Mei et al., 1997**). La corrélation entre la charge de la surface et l'adhésion n'est pas linéaire ; ainsi l'effet de la charge paraît plus important pour l'adhésion des cellules hydrophiles que les cellules hydrophobes. Le rôle du caractère donneur et le caractère accepteur d'électrons dans le phénomène d'adhésion a été largement étudié par plusieurs auteurs (**Boulangé-Petermann et coll. 1993; Van Oss, 1993; Hamadi et al. 2009 ; 2011**). L'architecture et la nature des groupements chimiques présents à la surface des cellules microbiennes sont à l'origine de leurs propriétés physico-chimiques de surface y compris la charge de la surface, l'hydrophobicité et le caractère donneur/accepteur d'électrons.

### **6.2. Facteurs liés au milieu environnant.**

Il apparaît que le mode de préparation de la suspension microbienne peut avoir de grandes conséquences sur les propriétés physico-chimiques des surfaces des micro-organismes (**Pedersen et al., 1986, Bruinsma et al., 2001**). Par exemple, la centrifugation des cultures permettant un "lavage" des micro-organismes peut rompre les flagelles et les pilis, modifiant de ce fait la composition de la surface cellulaire (**Neu, 1996**), et par conséquent, ses caractéristiques énergétiques (**Rubio, 1998**). La disparition de flagelles et de pili peut perturber l'adhésion (**Stanley, 1983 ; Neu, 1996 ; Austin et al., 1998 ; Vidal et al. 1998**). Ces

organites ayant un rôle très important dans les premières phases de l'adhésion permettent le déplacement vers la surface (**O'Toole et Kolter 1998, Vatanyoopaisarn et al. 2000**).

Les caractéristiques du milieu de suspension peuvent aussi avoir une influence sur l'adhésion microbienne. Le pH et la force ionique du milieu peuvent entraîner une modification des propriétés électrostatiques de la surface du micro-organisme (**Bunt et al., 1995; Pelletier et al., 1997 ; Fletcher, 1988; Briandet et al., 1999; Hamadi et al., 2004, 2011**). Cette modification va conduire à une adhésion différente des micro-organismes sur les supports solides (**Pembrey et al., 1999; Jana et al., 2000**). Cependant (**Peng et al. 2001**) ont trouvé des résultats contradictoires en montrant que le taux de l'adhésion ne varie pas en fonction du milieu environnant.

Il a été démontré également que la température de croissance avait un effet significatif sur la mobilité électrophorétique cellulaire et la production de flagelles (**Briandet et al. 1999**), ainsi que sur l'adhésion. Les propriétés physico-chimiques de la surface microbienne peuvent être aussi infectées par la température de croissance (**Briandet et al. 1999**) et par l'aération du milieu de culture. De même, la composition du milieu de culture peut modifier les propriétés de la surface cellulaire (**Abdallah et al. 2014**).

### **6.3. Facteurs liés au support**

Il est important de prendre en compte les caractéristiques du support pour étudier l'adhésion microbienne à savoir : le type de matériau, les propriétés physico-chimiques, la rugosité de surface, l'état de la surface après les procédures de nettoyage et désinfection (**Boulangé-Petermann, 1997**) et la présence ou non d'un film organique.

#### **- Caractéristiques énergétiques des surfaces solides**

Les caractéristiques énergétiques des surfaces solides interviennent dans les phénomènes de l'adhésion bactérienne (**Bellon- Fontaine et al. 1990**). Selon les caractéristiques énergétiques (hydrophobicité, l'énergie de surface...) de la surface solide étudiée, l'adhésion microbienne peut être augmentée ou diminuée, d'une part et d'autre part, la répartition des cellules adhérentes aux surfaces solides peut être différente (**Van pelt et al., 1985; Fregard et al, 1991**).



**Tableau 1: Récapitulatif des facteurs influençant l'adhésion initiale d'un micro organisme sur une surface solide**

<b>Facteurs liés au support</b>	<b>Facteurs liés au micro-organisme</b>	<b>Facteurs liés à l'environnement</b>
-Contaminations organiques -Film conditionnant -Nature chimique de la surface -Rugosité -Charge de surface -hydrophobie,	-Concentration microbienne - Composition et structure de la surface cellulaire -Caractéristiques physico-chimiques de la surface microbienne (charge) -Phase de croissance (état physiologique)	-Température -Force ionique et nature des sels -pH -Présence de macromolécules, de surfactants et d'éléments nutritifs -Conditions hydrodynamiques

L'adhésion microbienne aux surfaces solides constitue l'étape initiale de la formation des biofilms. Ce processus est régi par de nombreux facteurs liés à la fois aux caractéristiques des micro-organismes, du support et de l'environnement aqueux. L'étude de la formation des biofilms aux surfaces implique l'utilisation de plusieurs techniques analytiques optiques et spectroscopiques ou autres. Les techniques spectroscopiques pourraient obtenir des produits chimiques et métaboliques du biofilm, ainsi que leur activité. L'examen par des techniques microscopiques est particulièrement avantageux à extraire des paramètres structuraux et architecturaux du biofilm, ainsi que les relations structure-fonction de la population microbienne du biofilm. Dans le chapitre III, nous nous intéresserons particulièrement à la microscopie optique comme outil d'étude et du contrôle à la fois de l'étape de l'adhésion qu'à la formation du biofilm.

## 7. Rugosité des surfaces

Plusieurs études (**Masurovsky et Jordan, 1958 ; Hoffman, 1983 ; Pedersen, 1990 ; Leclercq-Perlat and Lalande 1994 ; Silva et al. 2008 ; Teixeira et al. 2008 ; Bohinc et al. 2014, 2016**) ont rapporté que la rugosité influence l'adhésion bactérienne aux surfaces d'une manière directe. **Hilbert et al. (2003)** ont rapporté aussi que la rugosité des matériaux influence l'adhésion au-dessus d'une valeur moyenne de 0,9µm. D'autres auteurs (**Scheuerman et al. 1998**) ont affirmé qu'au-dessus de 10 µm, la rugosité n'a pas d'effet sur l'adhésion. (**Bengourram et al., 2009; Kouider et al., 2009**) ont montré que la topographie du substrat est

un paramètre important influençant les caractéristiques physico-chimiques et que la rugosité influence l'adhésion des micro-organismes à des niveaux différents. Il apparaît donc que la valeur de la rugosité moyenne du support doit être de l'ordre de grandeur du diamètre de l'élément biologique étudié.

En revanche, d'autres auteurs (**Boulangé-Petermann, 1997**) ont rapporté que la rugosité permet de réduire la surface de contact entre le micro-organisme et le support, favorisant ainsi son détachement. Selon **Arnold et Bailey, 2000**, il est toutefois admis que les surfaces polies retardent l'adhésion initiale des micro-organismes.

## **8. Méthode de quantification et de l'étude de l'adhésion de micro-organismes**

### **8.1. Dénombrement des cellules viables cultivables**

Pour dénombrer les cellules viables adhérentes, il faut les décrocher du support solide soit par traitement aux ultra-sons, soit en « grattant » les surfaces. Les micro-organismes ainsi récupérés sont alors ensemencés sur la gélose nutritive et incubés, généralement à leur température optimale de croissance. Cette technique ne permet que de déterminer les formes viables et cultivables (**Heidelberg, 1997**). De plus, il est à noter que la remise en suspension des cellules décrochées implique une dilution et augmente ainsi le seuil de sensibilité de cette méthodologie.

### **8.2. Techniques microscopique et spectroscopique utilisées pour l'étude du phénomène de l'adhésion et la formation de biofilm**

Plusieurs méthodes optiques et spectroscopiques ont été utilisées pour l'examen et le contrôle de l'adhésion et la formation du biofilm. Les techniques spectroscopiques pourraient fournir des informations sur les produits chimiques et métaboliques du biofilm, ainsi que leurs activités. L'examen par des techniques microscopiques est particulièrement avantageux pour extraire des paramètres structurels et architecturaux du biofilm, ainsi que les relations structure-fonction de la population microbienne du biofilm.

✍ **Exemple des techniques microscopiques :**

- Microscope optique : Morphologie microbienne
- Microscope électronique à Balayage environnemental : Structure des Biofilms, Arrangement Spatial.
- Microscope à force atomique : Informations topographiques, Propriétés mécaniques.
- Spectroscopie infrarouge: Détection des biofilms, Information chimique, Activité métabolique.
- Résonance magnétique nucléaire : Activité métabolique.

**9. Revue sur les axes de recherches d'adhésion des micro-organismes sur les surfaces des fruits et des surfaces inertes**

À notre connaissance, un faible nombre d'études scientifiques a été publié sur ce sujet. Quelques différents travaux concernant l'étude des micro-organismes à la surface des fruits et légumes

Les fruits ont fait l'objet de peu de travaux scientifiques publiés sur les biofilms. En plus, les travaux ont été consacrés principalement à l'étude des biofilms à la surface biologique. À notre connaissance, l'étude des interactions physico-chimiques entre les champignons et les agrumes est très rare. C'est pour cette raison que la grande partie de ce travail a été consacré à l'étude des interactions physico-chimiques des micro-organismes aux agrumes dans un contexte culturel et patrimonial. En effet, la formation des biofilms aux surfaces est un phénomène très complexe. L'étape clé de cette formation est celle de l'adhésion. L'étude des mécanismes impliqués dans l'adhésion initiale des micro-organismes aux supports fait l'objet d'une partie importante de littératures scientifiques en exploitant différentes supports. L'adhésion des micro-organismes aux surfaces est un processus où les interactions physico-chimiques (Van der Waals, électrostatiques, et acido-basiques) entre la surface de substrat et la surface cellulaire sont impliquées. Le chapitre II a porté sur la description des approches théoriques de l'adhésion des micro-organismes aux surfaces dans l'optique de définir les mécanismes physico-chimiques mis en jeu au cours de ce processus. Ensuite, la littérature relative aux différents paramètres qui peuvent influencer potentiellement l'adhésion microbienne sur un support solide a été aussi décrite.

## **IV. NORMES ET RÉGLEMENTATION DANS LE SECTEUR AGRUMICOLE**

### **1. Exigences légales et réglementaires appliquées dans le secteur de conditionnement des agrumes**

#### **1.1. Normes et réglementation**

La norme a pour objet de définir les caractéristiques qualitatives que doivent présenter les agrumes après conditionnement et emballage. Toutefois, aux stades qui suivent celui de l'expédition, les produits peuvent présenter, par rapport aux prescriptions des normes et les règlements national et international. (Voir annexe)

Le cadre communautaire portant sur les règles de commercialisation des agrumes a été profondément modifié et fixe de nouvelles règles pour la commercialisation des produits : certaines concernent l'organisation économique, d'autres les normes de qualité de ces produits. (Voir Annexe)

Les agrumes destinés à être vendus à l'état frais au consommateur ne peuvent être commercialisés que s'ils sont de qualité saine, loyale et marchande et si le pays d'origine est indiqué. L'importation et l'exportation de certains fruits et légumes frais sont subordonnés au respect de normes de commercialisation. (Voir annexe)

#### **1.2. Réglementation des matériaux utilisés dans le conditionnement des agrumes**

Avant la consommation des denrées alimentaires qui entrent en contact avec de nombreux matériaux et objets au cours des différents processus de production, transformation, emballage et stockage, ces matériaux et objets sont appelés Matériaux destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires (MCDA). Ce terme recouvre notamment les récipients destinés au transport des denrées alimentaires, les machines de transformation agroalimentaire et les matériaux pour le conditionnement des denrées alimentaires. Ces matériaux doivent être suffisamment inertes de façon à ce que leurs constituants n'aient pas d'effets nocifs pour la santé des consommateurs et ne nuisent pas à la qualité des denrées alimentaires. Un ensemble d'exigences juridiques et de contrôles sont en place au sein de l'Union Européenne (UE) afin de garantir la sécurité des MCDA et faciliter la libre circulation des marchandises. (Voir annexe).

## **2. La réglementation de matériaux en contact avec les denrées alimentaires**

« L'alimentarité » peut être définie comme l'aptitude d'un matériau ou objet à être mis en contact avec des denrées alimentaires en respectant le principe de base de toute réglementation à savoir : le principe d'inertie, mais en respectant également toutes les exigences générales et spécifiques applicables. L'alimentarité ne constitue donc pas une caractéristique intrinsèque d'un matériau, mais dépend de l'aliment au contact et des conditions d'usage : température et durée du contact notamment. L'alimentarité d'un matériau n'est pas non plus une caractéristique universelle, mais dépend des différences entre les réglementations en vigueur dans les différents pays (**ONSSA Maroc**). (Voir annexe)

Les agrumes doivent être conditionnés de façon à être convenablement protégés. Les matériaux utilisés à l'intérieur du colis doivent être propres et d'une qualité suffisante pour ne causer aux produits aucun dommage externe ou interne. L'emploi de matériaux, et notamment de papiers ou cachets, comportant des indications commerciales est autorisé, sous réserve que l'impression ou l'étiquetage soient réalisés à l'aide d'une encre ou d'une colle non toxiques.

Toute étiquette adhésive apposée individuellement sur les produits est conçue pour pouvoir être enlevée sans laisser de traces visibles de colle ou provoquer d'altération de l'épiderme. Le marquage des fruits au laser ne doit pas provoquer de détérioration de la pulpe ni de l'épiderme. Lorsque les fruits sont enveloppés, il y a lieu d'utiliser à cet effet un papier fin, sec, neuf. Il est interdit d'employer une substance quelconque tendant à modifier les caractéristiques naturelles des agrumes et notamment leur odeur ou leur saveur. Les colis doivent être exempts de tout corps étranger. Toutefois, une présentation comportant un court rameau, non ligneux, muni de quelques feuilles vertes et adhérent au fruit est admise

## **3. Contraintes de secteur agrumicole**

Les exportations des agrumes se heurtent à des contraintes importantes :

- Les sévères exigences imposées cette année par le marché russe sur la qualité interne (Brix, Acidité, Taux de jus...), LMR... Ce marché prend jusqu'à 60% des agrumes marocaines chaque année.
- Les aléas climatiques qui ont des effets néfastes sur la production et sur la qualité des agrumes : une grande chute des fleurs lors de la floraison dans l'année

précédente à cause des températures élevées au cours du mois de mai 2014. Le boursoufflement d'un grand pourcentage des fruits de la variété Clémentine cette année à cause des précipitations orageuses dans les régions de Sud du Maroc...

- Le marché russe est un marché de consignation : on expédie et on attend si l'expédition va se vendre ou pas et à quel prix. Par conséquent, le Maroc n'avait même couvert les coûts de transport ni d'emballage, au cours de cette campagne.
- Les nouvelles normes de qualité définies par L'EACCE, par exemple le taux de jus, l'acidité, la coloration, et le goût du fruit.
- Faiblesse et désorganisation du marché local qui ne constitue pas un relais efficace en cas de difficultés d'exportation ;
- La crise économique de la Russie qui est considérée comme premier pays importateur des agrumes marocains ;
- La stratégie et l'organisation commerciales ne sont pas toujours adaptées à l'évolution des marchés ; elles restent toujours faibles en matière de promotion et de publicité des produits et la présence directe sur le marché ;
- La réglementation de l'UE et la forte demande en certificats de la sécurité sanitaire, de la responsabilité sociale et ceux de la défense alimentaire ;
- Concurrence espagnole : l'Espagne est membre de l'Union Européenne a des avantages réglementaires ainsi qu'un fort potentiel technologique et commercial ;
- Apparition de nouveaux concurrents tels que l'Égypte qui vend ses produits avec des prix bas (à cause de sa richesse en ressources hydriques et sa main-d'œuvre moins chère).

**CONCLUSION :**

L'étude bibliographique nous a permis d'avoir une vue d'ensemble de la population fongiques à la surface des agrumes et nous a également permis d'identifier les champignons nécessaires à la réalisation de ces travaux de recherche.

L'analyse bibliographique a montré que les connaissances sur les biofilms fongiques sur les agrumes sont qu'à leurs débuts et que ceux-ci suscitent un intérêt grandissant. L'essentiel des travaux actuellement menés s'attache à déchiffrer l'écologie et l'étude de l'adhésion des champignons qui attaquent les agrumes en poste récolte. De ce fait, il a donc été décidé d'élargir le champ de recherches sur la formation des biofilms fongiques avec la surface des agrumes et les matériaux utilisés dans leur chaîne de conditionnement, en particulier les mécanismes de l'adhésion des micro-organismes aux agrumes dans un contexte de protection et conservation après leur conditionnement et leur emballage. Déchiffrer la complexité de la colonisation des agrumes et matériaux par les micro-organismes pour répondre aux interrogations de plus en plus pressantes de producteurs et des agriculteurs pour la préservation et\ou la conservation de ce fruit exige de développer la « microbiologie des surfaces » qui croise à la fois de très nombreux domaines complémentaires : microbiologie, physico-chimie des surfaces, sciences des matériaux, ingénierie...

Pour relever ce défi, l'objectif de la partie qui suit est d'exploiter la physico-chimie des surfaces pour la caractérisation des spores fongiques attachée à la surface des agrumes. Cette partie va constituer une base pour approfondir l'étude et comprendre les mécanismes d'adhésion des spores fongiques aux agrumes.

**PARTIE II :**  
**MATÉRIEL ET MÉTHODE**



## 1. Station de conditionnement et échantillons

La station de conditionnement avec laquelle nous avons travaillé est une entreprise indépendante spécialisée dans la culture et la commercialisation des agrumes à Beni Mellal.

Elle dispose également des outils de production et de conditionnement les plus modernes. Forte de ses atouts et de ses certifications, elle développe une activité en Europe et en Amérique du Nord, où les fruits qu'elle commercialise rencontrent un vif succès. Ses démarches s'inscrivent pleinement dans le cadre du Plan Maroc Vert, un programme ambitieux de modernisation du secteur agricole, initié par le gouvernement marocain.

Le matériel végétal qui a fait l'objet de ce travail, est constitué de 3 variétés d'agrumes (Navel, Mandarine, Valencia) prélevés à partir de cette station de conditionnement située à Beni Mellal.

Les différents types de matériaux rencontrés au cours de la chaîne de traitement des agrumes (PVC, Plastique, inox, bois) et le produit de cirage des plans de travail choisis dans cette étude sont issus de la même chaîne de conditionnement et d'emballage des agrumes.

Le produit de cirage est un additif de qualité alimentaire utilisé en tant qu'agent d'enrobage. En plus des cires, des fongicides sont également appliqués sur les fruits. Cette opération est nécessaire pour le remplacement des cires naturelles qui sont enlevées lors du lavage et lors de la réduction du dessèchement du fruit. À l'aide d'un système « va et vient », les fruits sont enrobés et traités en leur conférant une meilleure brillance. (Voir fiche technique dans l'annexe).

## PARTIE II : MATÉRIEL ET MÉTHODE



Les agrumes : Navel-Valencia-Mandarine



Bois



Plastique



Inox



PVC

**Figure 20:** Les échantillons

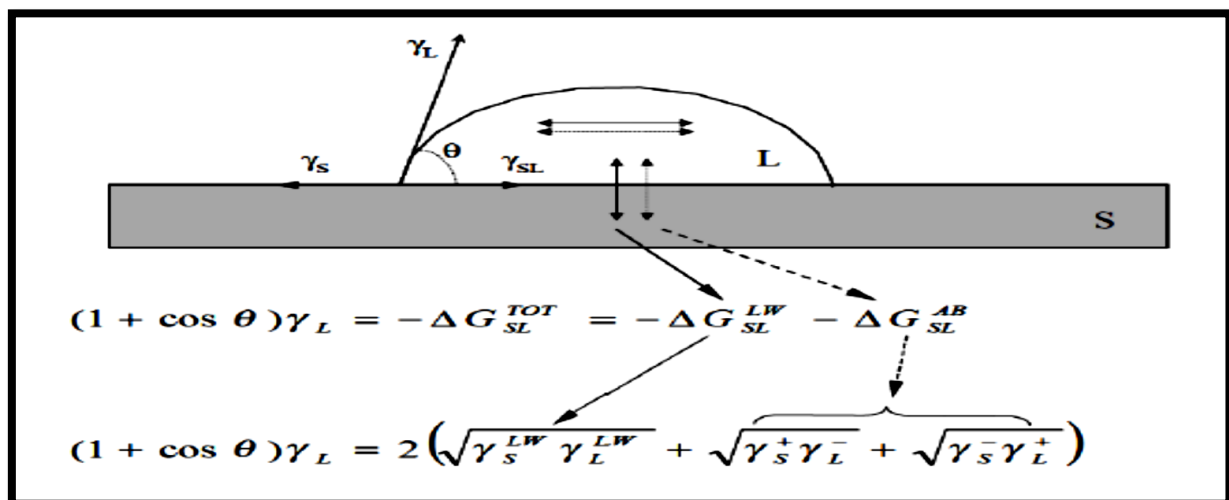
## 2. Technique et méthode expérimentale :

La méthodologie principale sur laquelle se base une grande partie du travail consiste à mesurer les angles des surfaces étudiées (micro-organismes et substrats). Cette balance de force fut proposée d'abord par (Thomas Young en 1805). Sa précision, et sa versatilité avec laquelle elle permettait de déterminer l'énergie de l'adhésion libre entre liquides et solides exactement à leur interface d'interaction ont été, jusqu'à ce jour, difficiles à reproduire par une autre méthode.

### 2.1. Principe de l'angle de contact

La mesure d'angle de contact rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface par mouillabilité. La méthode consiste à mesurer l'angle de la tangente du profil d'une goutte déposée sur le substrat, avec sa surface. Elle permet de mesurer l'énergie de surface du liquide ou du solide.

La mesure de l'angle de contact permet d'accéder à l'énergie libre d'une surface. Elle permet aussi la discrimination de la nature polaire ou apolaire des interactions à l'interface liquide-solide. On peut ainsi déduire le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une surface.



**Figure 21:** Angle de contact comme balance de force. Les énergies apolaires sont indiquées par les flèches horizontales et verticales. Les énergies polaires (acide-base de Lewis) sont désignées par des flèches à tirets horizontales et verticales.

- Les énergies apolaires sont indiquées par des flèches pleines horizontales et verticales,
- Les énergies polaires (Acide-base de Lewis) sont désignées par des flèches à tirets horizontales et verticales.

Lorsqu'une goutte de liquide est déposée sur une surface solide et plane, l'angle entre la tangente à la goutte au point de contact et la surface solide est appelé angle de contact  $\theta$ , ce dernier est déterminé selon l'équation suivante.

$$\cos\theta = -1 + 2(\gamma_s^{LW}\gamma_L^{LW})^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_s^+ \gamma_L^-)^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_s^- \gamma_L^+)^{1/2} / \gamma_L$$

$\gamma_s^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals de la surface

$\gamma_L^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals du liquide

$\gamma_s^+$ : Composante accepteur d'électrons de la surface.

$\gamma_L^+$ : Composante accepteur d'électrons du liquide.

$\gamma_s^-$ : Composante donneur d'électrons de la surface.

$\gamma_L^-$ : Composante donneur d'électrons du liquide.

Les angles de contact ont été réalisés avec trois liquides purs de caractéristiques énergétiques connues : Eau distillée, diiodométhane et formamide (Tableau 3).

**Tableau 2: Angles de contact des différentes composantes de liquides utilisés dans la mesure de l'Énergie de surface.**

Liquides	$\gamma_L$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\gamma_L^d$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\gamma_L^p$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\gamma_L^{p+}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\gamma_L^{p-}$ (mJ/m <sup>2</sup> )
Eau (H <sub>2</sub> O)	72.8	21.8	51	25.5	25.5
Formamide	58	39	19	2.28	39.6
Diiodométhane	50.8	50.8	0	0	0

Les caractéristiques physico-chimiques de la surface des micro-organismes et les supports sont obtenues à partir de la mesure de l'angle de contact à l'aide d'un goniomètre (GBX, France).



**Figure 22:** GONIOMETRE (GBX, France) (dispositif) de la mesure de l'angle de contact.

## **2. 2. La caractérisation physicochimique de la surface des spores**

### **2.2.1. Les souches fongiques et conditions de culture**

*P. digitatum*, *P. italicum* et *G. candidum* sont isolés des agrumes contaminés en post-récolte au sein du laboratoire de biotechnologie à l'université Ibn Zohr d'Agadir. Après purification, les champignons sont conservés à 4 °C sur le milieu de culture de la gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA).

Chaque champignon est cultivé dans un milieu solide de PDA à 25C° pendant une semaine.

### **2.2.2. Préparation de la suspension fongique**

- Après 7 jours de culture en milieu solide à 25°C, les spores sont décrochées de la surface de la culture solide par raclage avec un racleur stérile peignant en solution de KNO<sub>3</sub> (0.1 M).

-La suspension de spores ainsi obtenue est filtrée trois fois sur la laine de verre, afin d'éliminer tous fragments mycéliens.

-Les spores sont transférées dans un tube stérile et sont lavées par une solution de KNO<sub>3</sub> par une succession de deux centrifugations à 8500 tr pendant 15 min à 4°C puis remises en suspension dans KNO<sub>3</sub> (0.1 M).

Les cellules sont suspendues dans une solution de KNO<sub>3</sub> (0.1 M). Par la suite, un ajustement des densités optiques de telle façon à avoir des suspensions de spores ayant des DO ajustées à une densité de 10<sup>7</sup> à 10<sup>8</sup> UFC/ml évaluée avec un hématimètre (Malassez). (**Sallam et al 2012**).

- Une suspension de 10 ml de cellules est déposée sur un filtre d'acétate de cellulose de 0.45µm lavés préalablement par 10 ml d'eau distillée pour le mouillage.

- Filtration au moyen de la pression négative jusqu'à l'obtention de couche mince des spores.

- Les filtres humides sont placés soigneusement sur un support de verre. Trois à six mesures d'angle de contact sont réalisées sur chaque échantillon en utilisant 3 solvants : eau distillée, formamide et diiodométhane.

## **2.3. La caractérisation physicochimique des surfaces des supports et des agrumes**

### **2.3.1. Préparation des surfaces d'agrumes.**

Les écorces des agrumes sont coupées en échantillons de 1cm<sup>2</sup> et nettoyées, avant de mesurer l'angle de contact, par trempage pendant 15 min dans une solution d'éthanol à 95 % suivi de six rinçages à l'eau distillée stérile. Trois à six mesures d'angle de contact ont été réalisées sur chaque échantillon en utilisant 3 solvants : eau distillée, formamide et diiodométhane.

### 2.3.2. Préparation des surfaces des matériaux utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes

Les supports de bois, plastique d'emballage (PP) PVC et l'inox 316 originaire de la station de conditionnement des agrumes « X », sont coupés en morceaux de  $1\text{cm}^2$  et nettoyés, avant de mesurer l'angle de contact, par trempage pendant 15 min dans une solution d'éthanol à 95 % suivi de six rinçages à l'eau distillée stérile et d'une stérilisation par autoclavage (15 min à  $120^\circ\text{C}$ ). Les essais de mesures d'angle de contact ont été réalisés sur chaque échantillon en utilisant 3 solvants : eau distillée, formamide et diiodométhane.

**NB** : Pour chaque support, 3 essais ont été réalisés à des temps espacés.

### 2.4. Mesure de l'angle de contact

L'ensemble des mesures effectuées avec les trois solvants (eau distillée, formamide et diiodométhane) est enregistré sous forme de séquences vidéos. Ces vidéos nous ont permis de sélectionner la meilleure image, qui sera considérée par la suite comme base pour mesurer l'angle de contact. L'image sauvegardée de chaque solvant a fait l'objet de plusieurs mesures d'angle de contact. Les images sont traitées par le logiciel DIGIDROP.



Figure 25 : Caractérisation physico-chimique de la surface des spores fongiques

### 2.4.1. Calcul de l'énergie de surface

#### a. Calcul de l'énergie d'interaction avec l'eau $\Delta G_{iwi}$

La mesure de l'angle de contact peut être considérée comme une méthode qualitative pour mesurer l'hydrophobicité de la surface (angle de contact vis-à-vis de l'eau ( $\theta_w$ )) ou quantitative (Énergie libre d'interaction,  $\Delta G_{iwi}$ ).

Basé sur l'approche de Van Oss (1988, 1995), il est possible de déterminer le degré d'hydrophobicité d'une substance (i) vis-à-vis de l'eau (w). Il est exprimé en unité internationale ( $\text{mJ.m}^{-2}$ ). La surface peut être classée hydrophile quand le  $\Delta G_{iwi}$  est positif et hydrophobe quand le  $\Delta G_{iwi}$  est négatif.

L'énergie libre d'interaction entre les molécules de surface d'une substance(i) immergée dans l'eau (w) est donnée par l'équation suivante :



$$\Delta G_{iw} = -2\gamma_{iw} = -2\left[\left(\gamma_i^{LW}\right)^{1/2} - \left(\gamma_w^{LW}\right)^{1/2}\right]^2 + 2\left[\left(\gamma_i^+ \gamma_i^-\right)^{1/2} + \left(\gamma_w^+ \gamma_w^-\right)^{1/2} - \left(\gamma_i^+ \gamma_w^-\right)^{1/2} - \left(\gamma_w^+ \gamma_i^-\right)^{1/2}\right]$$

$\gamma_i^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals de la surface;

$\gamma_w^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals de l'eau ;

$\gamma_i^+$ : Composante d'accepteur d'électrons de la surface;

$\gamma_w^+$  : Composante d'accepteur d'électrons de l'eau ;

$\gamma_i^-$ : Composante de donneur d'électrons de la surface;

$\gamma_w^-$ : Composante de donneur d'électrons de l'eau.

### **b. Détermination du caractère donneur d'électrons ( $\gamma^-$ ) et le caractère accepteur d'électrons ( $\gamma^+$ )**

Le caractère donneur d'électrons ( $\gamma^-$ ) et le caractère accepteur d'électrons ( $\gamma^+$ ) des spores fongiques et celles des supports solides sont déterminés à partir des mesures des angles de contact effectuées avec l'eau, le diiodométhane et le formamide. Les composantes de Lifshitz Van der Waals ( $\gamma^{LW}$ ), donneur d'électrons ( $\gamma^-$ ) et accepteur d'électrons ( $\gamma^+$ ) des supports et de la surface des différentes souches étudiées ont été calculées à partir de l'équation de **Yong-Van Oss (1988)** :

$$\cos\theta = -1 + 2(\gamma_s^{LW}\gamma_L^{LW})^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_s^+ \gamma_L^-)^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_s^- \gamma_L^+)^{1/2} / \gamma_L$$

$\gamma_s^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals de la surface

$\gamma_L^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals du liquide

$\gamma_s^+$ : Composante accepteur d'électrons de la surface.

$\gamma_L^+$ : Composante accepteur d'électrons du liquide.

$\gamma_s^-$  : Composante donneur d'électrons de la surface.

$\gamma_L^+$ : Composante donneur d'électrons du liquide.

### c. L'adhésion prédictive des microorganismes sur les supports selon l'approche DLVO étendue

Bien que les mécanismes fondamentaux qui régissent l'adhésion microbienne soient encore mal compris et n'aient donc pas été complètement définis, il est admis que les propriétés physico-chimiques de la surface microbienne et celles des supports sont des facteurs déterminants de l'adhésion initiale (Van Oss et al., 1986 ; Bellon-Fontaine et al., 1990; Bos et al., 1999 ; Gallardo Moreno et al., 2002 ; Bayouh et al., 2006). De ce fait, plusieurs modèles théoriques ont été proposés pour prédire le phénomène de l'adhésion des particules colloïdales aux surfaces, dont l'approche de DLVO étendue développée par Van Oss. Cette approche considère trois types d'interactions physico-chimiques responsables de l'adhésion initiale : Les interactions de Van der Waals, les interactions acido-basiques et les interactions électrostatiques. En utilisant cette approche, l'énergie totale de l'adhésion des micro-organismes sur les différents supports étudiés ainsi que ses composantes acide-base (AB) et Lifshitz -Van der Waals (LW) est calculée par les équations issues du modèle de Van Oss (Van Oss , 1994).

L'adhésion prédictive des micro-organismes aux différents supports est déterminée par le calcul d'énergie libre d'interaction totale ( $\Delta G_{BLS}^{TOT}$ ) entre un micro-organisme (B) et un support (S) dans un liquide (L). Elle est considérée comme la somme de trois énergies ; énergie de Van der Waals ( $\Delta G_{BLS}^{LW}$ ), énergie acido-basique ( $\Delta G_{BLS}^{AB}$ ) et énergie électrostatique ( $\Delta G_{BLS}^{EL}$ ).

$$\Delta G_{BLS}^{TOT} = \Delta G_{BLS}^{EL} + \Delta G_{BLS}^{LW} + \Delta G_{BLS}^{AB}$$

Ces trois énergies sont calculées selon les équations suivantes :

$$\Delta G_{BLS}^{LW} = ((\gamma_B^{LW})^{1/2} - (\gamma_S^{LW})^{1/2})^2 - ((\gamma_B^{LW})^{1/2} - (\gamma_L^{LW})^{1/2})^2 - ((\gamma_S^{LW})^{1/2} - (\gamma_L^{LW})^{1/2})^2$$

$$\Delta G_{BLS}^{AB} = 2[(\gamma_L^+)^{1/2}((\gamma_B^-)^{1/2} + (\gamma_S^-)^{1/2} + (\gamma_L^-)^{1/2}) + (\gamma_L^+)^{1/2}((\gamma_B^+)^{1/2} + (\gamma_S^+)^{1/2} + (\gamma_L^+)^{1/2}) - (\gamma_L^- \gamma_S^+)^{1/2} - (\gamma_L^+ \gamma_S^-)^{1/2}]$$

$\Delta G_{BLS}^{EL}$  est négligeable puisque les tests d'adhésion sont réalisés à une force ionique élevée 0.1 M (Gallardo-Moreno et al. 2004).

Le calcul de  $\Delta G_{tot}$  permet de juger théoriquement si l'adhésion d'un micro-organisme sur une surface donnée est possible ( $\Delta G_{tot} < 0$ ) ou impossible ( $\Delta G_{tot} > 0$ ).

Cette approche considère trois types d'interactions physico-chimiques responsables de l'adhésion initiale : Van der Waals, acido-basiques et électrostatiques. La partie qui suit traite la capacité du modèle théorique à prédire l'adhésion microbienne à ces différentes variétés ainsi citées. Ceux-ci peuvent constituer un outil d'aide à la prise de décision pour la sélection de la variété du support peu propice à la colonisation fongique.

## **2.5. Étude de la rugosité des agrumes et des supports par le rugosimètre.**

La surface des agrumes et des supports inertes est déterminée à l'aide d'un rugosimètre (Federal Surf®), qui calcule la rugosité arithmétique (Ra). Le paramètre Ra est le plus utilisé pour décrire la rugosité d'une surface (Verran et al. 2000). Il est calculé de différents côtés pour chaque surface.

## **2.6. Adhésion des spores sur les surfaces des agrumes et des supports**

### **2.6.1. Préparation des suspensions fongiques :**

La préparation des suspension fongique a été préparé selon le protocole precedent.

### **2.6.2. Préparation des surfaces des agrumes et des supports**

Les supports étudiés sont coupés en échantillons de 1cm<sup>2</sup> et nettoyés par trempage pendant 15 min dans une solution d'éthanol à 95 % suivi de six rinçages à l'eau distillée stérile et d'une stérilisation par autoclavage (15 min à 120°C) sauf pour le PVC et les agrumes qui sont non autovlavable.

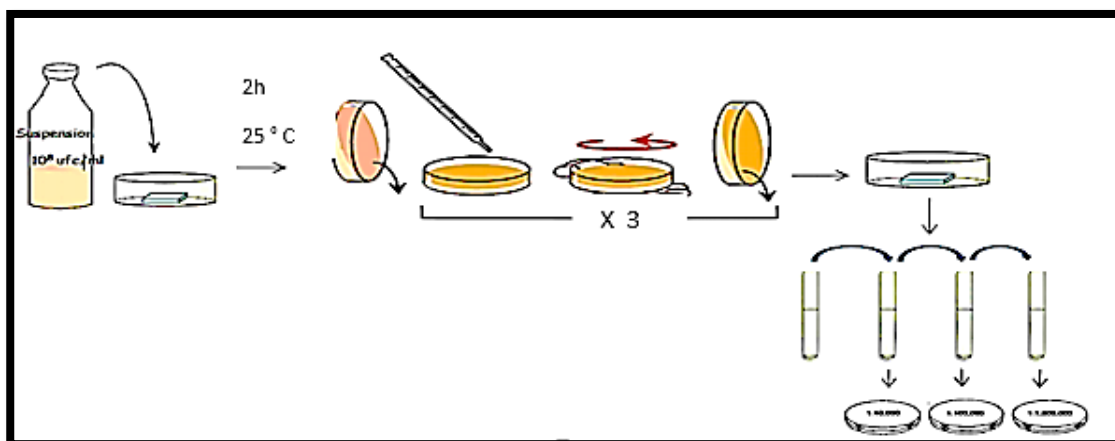
### **2.6.3. Test d'adhésion**

10 ml de la suspension fongique, sont mis en contact avec les surfaces des agrumes et les supports pendant 2 h à 25 °C. Les cellules non adhérentes sont éliminées en rinçant manuellement et délicatement le support trois fois avec de l'eau distillée stérile (**Herald et Zottola, 1988 ; Braindet et al .1999, Hamadi et al 2005**).

## **2.7. Dénombrement des spores adhérentes sur les supports et les agrumes**

Après 2h de contact, les coupons des agrumes ou les supports ont été immergés dans des tubes à essai contenant de l'eau physiologique (NaCl 9 g/l). Les spores ont été détachées des agrumes et des supports inertes en utilisant un bain de sonication (ultrasons 35K HZ) pendant 5 min. Les spores de la suspension fongique obtenue ont été comptées à l'aide de la dilution en série. Ensuite, 0,1 ml de la suspension de chaque concentration du produit ont été étalés sur les milieux PDA et incubés pendant 2 jours à 25°C selon la méthode de (**Piano et al. 2008**).

Les colonies ont été comptées en utilisant la technique de dénombrement sur milieu PDA. Chaque expérience a été réalisée trois fois (**Herald et Zottola, 1988; Brainder et al. 1999 ; Hamadi et al. 2005**) (Figure 25). Les résultats sont exprimés en UFC / cm<sup>2</sup>.



**Figure 23:** Protocole de l'adhésion des spores fongiques sur les agrumes et les supports

## 2.8. Analyse statistique

Les relations entre les propriétés physico-chimiques et l'adhésion expérimentale sont déterminées par la procédure de corrélation à l'aide de logiciel (SPSS version20).

Le coefficient de corrélation permet de quantifier cette relation par le signe (positif ou négatif), et par la force. Le degré de corrélation se mesure sur une échelle de 0 à 1. Zéro signifie une totale absence de corrélation entre les deux mesures, alors que 1 signifie une corrélation fortement significative.

## 2.9. Préparation, Caractérisation physicochimiques effet du produit de cirage des agrumes sur l'adhésion des spores fongiques et la comparaison entre les agrumes conditionnés et non conditionné par ce produit :

### 2.9.1. Nettoyage de la lame de verre :

Le support solide choisi pour cette étude est les lames de verre. Elles sont nettoyées par trempage pendant 15 min dans une solution d'éthanol à 70% (volume / volume). Les lames de verre ont ensuite été rincées à l'eau distillée et autoclavées à 120 °C pendant 15 min.

### 2.9.2. Conditionnement de lame de verre avec le produit de cirage des agrumes:

On étale 200µl de la cire sur une lame de verre puis on la sèche à l'air libre. Après on va mesurer l'angle de contact. Trois à six mesures d'angle de contact ont été réalisées sur chaque échantillon en utilisant 3 solvants: eau distillée, formamide et diiodométhane.

### **2.9.3. Effet de produit de cirage sur l'adhésion des spores :**

Les études d'adhésion ont été réalisées par sédimentation. On met 5 ml de suspension de spores en contact de la lame de verre traitée par le produit de cirage à 25 °C pendant 10 min, 20 min, 30 min, 60 min et 120 min. Après cette période de contact, les cellules non adhérentes ont été éliminées par trois rinçages consécutifs à l'eau distillée stérile (**Herald et Zottola 1988; Braindet et al. 1999; Hamadi et al. 2005, Hamadi et al. 2014, Soumia El abed 2010**). Chaque expérience a été réalisée en triple.

### **2.9.4. Observation microscopique et quantification de l'adhésion :**

Les spores sont colorées au vert malachite par la technique de BENITO TRUJILLO (vert malachite chaud) qui consiste à recouvrir les spores adhérentes à la lame avec une solution de 5% de vert malachite. Puis la lame est refroidie puis réchauffée à nouveau. L'opération devrait durer 2 minutes au total. Les spores apparaissent colorées en vert au grossissement (400X). Les images obtenues ont également été traitées par le logiciel MATLAB® afin de déterminer le pourcentage de surface de cire recouverte de spores.

### **2.9.5. Corrélation entre le taux d'adhésion expérimental et les propriétés physicochimiques des surfaces cellulaires**

Le test d'adhésion des spores vise généralement à vérifier concrètement leur comportement adhésif sur le substrat. Il permet par conséquent de vérifier l'existence ou pas d'une corrélation entre le comportement adhésif des spores et leurs propriétés physicochimiques de surface. Dans ce sens, nous avons cherché des corrélations entre les pourcentages d'adhésion des spores et les différentes propriétés physicochimiques de surfaces.

### **2.9.6 Adesion des spores fongiques sur les agrumes conditionnés et non conditionnés par le produit de cirage**

Les coupons des agrumes conditionnés par le produit de cirage sont incubé ont été immergés dans des tubes à essai contenant de l'eau physiologique (NaCl 9 g/l). Les spores ont été détachées des agrumes et des supports inertes en utilisant un bain de sonication (ultrasons 35K HZ) pendant 5 min. Les spores de la suspension fongique obtenue ont été comptées à l'aide de la dilution en série. Ensuite, 0,1 ml de la suspension de chaque concentration du produit ont été étalés sur les milieux PDA et incubés pendant 2 jours à 25°C selon la méthode de (**Piano et al. 2008**).

**PARTIE III :**  
**RÉSULTATS ET DISCUSSION**

## **CHAPITRE I : ÉVALUATION DE L'ADHÉSION DES SPORES DE *PENICILLIUM DIGITATUM*, *PENICILLIM ITALICUM*, ET *GEOTRICUM CANDIDUM* SUR LES AGRUMES EN POSTE RÉCOLTE**

### **I. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SPORES ET DES AGRUMES**

#### **INTRODUCTION :**

Comme nous l'avons montré dans la partie bibliographique, le phénomène d'adhésion jouerait un rôle important dans l'adhésion des microorganismes sur les supports. Cette adhésion est attribuée selon la littérature aux propriétés physicochimiques des surfaces mises en contact et les interactions qui peuvent en résulter. Ainsi, l'hydrophobicité et la charge des surfaces (caractère donneur/accepteur d'électrons) ont été considérées comme les propriétés les plus importantes impliquées dans le processus d'adhésion (**Van Loosdrecht et al., 1987; Pereira et al., 2000 ;Hamadi, 2005**). L'hydrophobicité des micro-organismes peut être déterminée par plusieurs méthodes comme l'angle de contact, l'adhésion microbienne aux hydrocarbures (MATH), l'agrégation par les sels, le partage entre phases aqueuses non miscibles polyéthylène glycol et dextran (PEG/DEX), la chromatographie d'interactions hydrophobes...etc. Par contre, le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons peut être déterminé seulement par deux méthodes les plus usuelles qui sont l'angle de contact (**Buscher et al 1984 ; Absolom et al 1983**) et l'adhésion microbienne aux solvants (MATS) (**Bellon Fontaine et al. 1997**).

Au cours de cette étude, nous avons utilisé la méthode d'angle de contact afin de déterminer et de montrer les caractéristiques physico-chimiques de la surface des spores fongiques utilisées qui vont nous servir à expliquer, par la suite, l'aptitude de ces spores à s'adhérer aux surfaces des agrumes testés, car il est très connu que l'adhésion fongique est gouvernée essentiellement par des phénomènes physico-chimiques.

Comme nous l'avons précédemment décrit, les études de l'adhésion et la formation des biofilms à la surface des fruits sont relativement rares. De plus, pour certains auteurs, plusieurs paramètres sont à maîtriser afin de limiter le développement microbien sur les fruits en poste récolte. Autrement dit, l'interaction entre les spores des champignons et les agrumes dépend de leurs variétés. De ce fait, avant d'élucider le phénomène de l'adhésion entre les micro-organismes et les agrumes sous un angle strictement thermodynamique, il s'est avéré intéressant de :



- ✓ De déterminer les caractères d'hydrophobicité, donneur d'électrons et accepteur d'électrons de la surface des spores et ceux des agrumes par la technique de la mesure de l'angle de contact.
- ✓ D'étudier l'adhésion prédictive et expérimentale des spores sur les agrumes.

## 1. Détermination de l'hydrophobicité et le caractère donneur/ accepteur d'électrons de la surface des spores

La mesure de l'angle de contact peut être considérée comme une méthode qualitative pour mesurer l'hydrophobicité de la surface (angle de contact vis-à-vis de l'eau ( $\theta_w$ )) ou quantitative (Énergie libre d'interaction,  $\Delta G_{iwi}$ ). Basé sur l'approche de (Van Oss 1988, 1995), il est possible de déterminer le degré d'hydrophobicité d'une substance (i) vis-à-vis de l'eau (w). Il est exprimé en unité internationale ( $\text{mJ.m}^{-2}$ ). La surface peut être classée hydrophile quand le  $\Delta G_{iwi}$  est positif et hydrophobe quand le  $\Delta G_{iwi}$  est négatif.

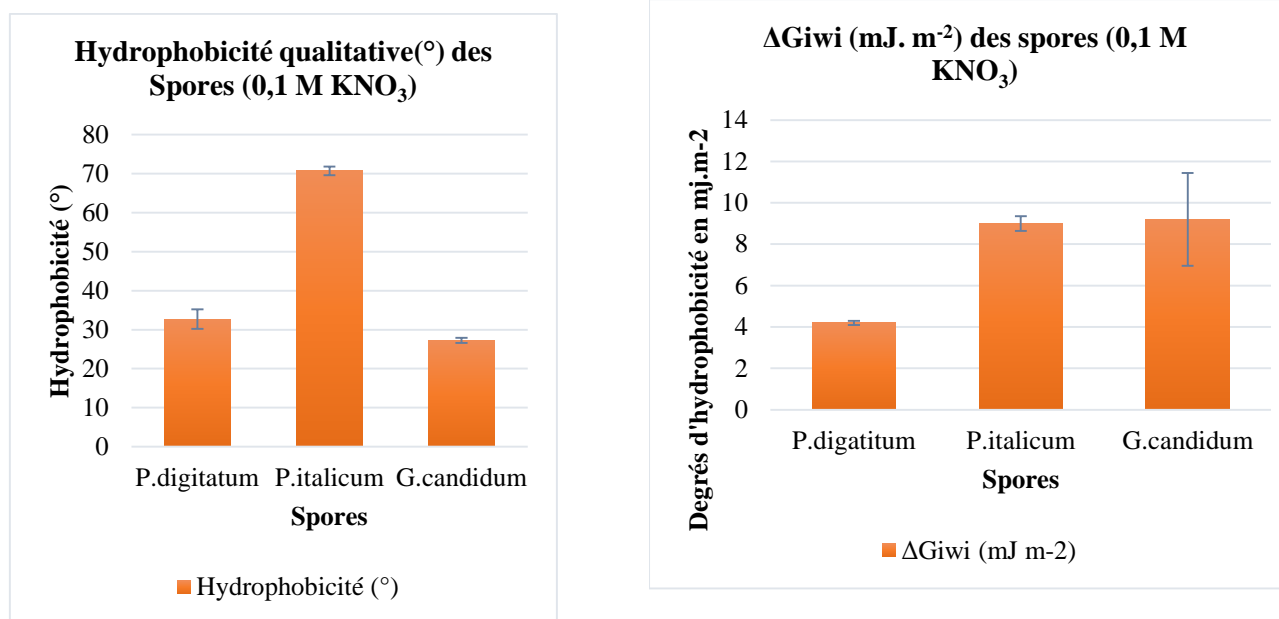
Ainsi les interactions acido-basiques jouent le rôle le plus important dans l'adhésion bactérienne aux surfaces. Elles sont quantifiées à partir des caractères donneur et accepteur d'électrons obtenus par la mesure de l'angle de contact combinée avec l'équation de Young selon la théorie XDLVO.

Les résultats de la mesure de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals ( $\gamma^{LW}$ ), des composants donneurs d'électrons ( $\gamma^-$ ) et accepteurs d'électrons ( $\gamma^+$ ) de la surface des spores sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 3: Angle de contact par rapport aux différents solvants, composantes de Van der Waals  $\gamma$  (LW), composantes donneur d'électrons ( $\gamma^-$ ), accepteur d'électrons ( $\gamma^+$ ) des spores fongiques de *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Geotricum candidum***

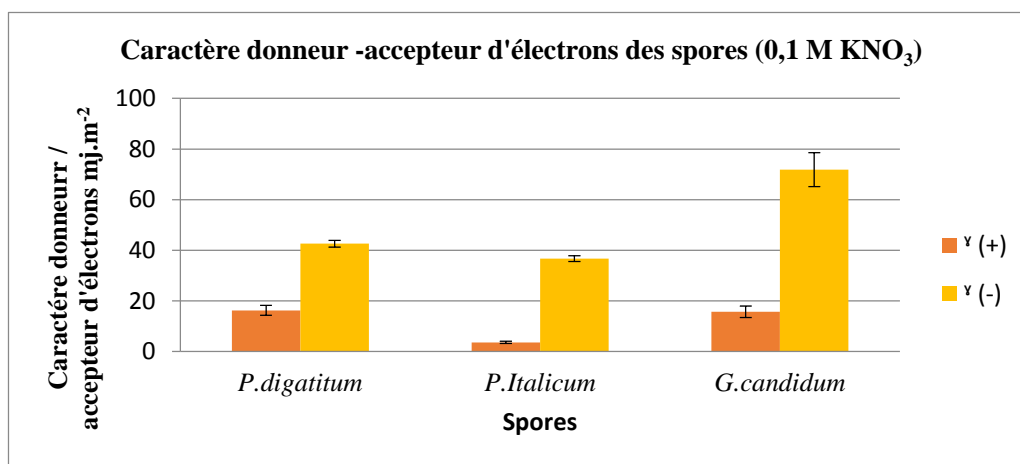
Spores	Angle de contact (en degré)			Tension de la surface ( $\text{mJ.m}^{-2}$ )			$\Delta G_{iwi}$ ( $\text{mJ.m}^{-2}$ )
	$\theta^\circ$ Diodomethane	$\theta^\circ$ Formamide	$\theta^\circ$ Eau	$\gamma^{LW}$	$\gamma^+$	$\gamma^-$	
<i>Penicillium italicum</i>	44,86 (1,80)	78,73 (0,64)	70,7 (0,64)	35,36 (1,18)	3,6 (0,43)	36,34 (1,18)	9 (0,36)
<i>Penicillium digitatum</i>	95,03 (4,5)	27,8 (2,4)	32,7 (2,5)	14 (2,1)	16,26 (1,9)	42,6 (1,34)	4,4 (0,1)
<i>Geotricum candidum</i>	99,3 (1,27)	50,4 (1,23)	27,26 (0,93)	8,68 (0,45)	15,73 (2,3)	71,9 (6,7)	9,2 (0,6)

L'écart-type est donné entre parenthèses



**Figure 24:** L'hydrophobicité des spores fongiques selon l'approche qualitative et quantitative.

À la lumière des résultats obtenus dans le tableau 4, les spores de *P. digitatum* et *G. candidum* présentent un caractère relativement hydrophile ( $\theta_w=32,7^\circ$ ) et ( $\theta_w =27,26^\circ$ ) respectivement. Les autres spores de *P. italicum* présentent un caractère relativement hydrophobe ( $\theta_w=70,7^\circ$ ), mais si on se base sur l'hydrophobicité quantitative, les spores de trois souches *P. digitatum*, *P. italicum* et *G. candidum* ont toutes un caractère hydrophile ( $\Delta Giwi > 0$ ) (Figure 26)



**Figure 25:** Caractère donneur /accepteur d'électrons des spores fongiques.

D'après la figure 27, nous constatons que les spores de *G.candidum*, *P.italicum* et *P.digitatum* ont un caractère donneur d'électrons élevé ( $\gamma^+$ ) et les spores de *G.candidum* présentent le caractère le plus élevé ( $\gamma^+ = 71,9 \text{ mJ.m}^{-2}$ ). Par ailleurs, le caractère accepteur d'électrons est faible pour toutes les spores.

Les résultats obtenus par la méthode d'angle de contact montrent d'une part que la surface des spores de *P. digitatum*, *P. italicum* et *G. candidum* présente un caractère hydrophile. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par (El abed Soumya et al., 2011), lorsqu'ils ont déterminé l'hydrophobicité de 5 types des spores du genre *Penicillium* (*Penicillium crustosum*, *Penicillium granulatum*, *Penicillium commune*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*) par la méthode de l'angle de contact. Ils ont observé que toutes les spores de ces souches présentent un caractère hydrophile. D'autres travaux faits par le même laboratoire (Sadiki et al., 2015) ont montré aussi que la surface des spores de *Penicillium commun* et *Penicillium commune* est hydrophile.

La différence de l'hydrophobicité entre les souches de la même espèce serait due aux variations de l'état physiologique des cellules, à la composition du milieu de suspension ou encore en raison des différences au niveau de l'expression des protéines de surface (Nwanyanwu et al., 2012).

Plusieurs auteurs ont montré que l'hydrophobicité mesurée par l'angle de contact est directement corrélée avec le rapport élevé des concentrations de N/C et inversement corrélée avec celui des concentrations de O/C (Donlon et Colleran, 1993; Boonaert et Rouxhet, 2000; Latrache et al., 2002 ; Cerca et al., 2005; Oliveira et al., 2007).

**Mozes et al. 1989, 1988; Cowan et al. 1992 ; Cuperus et al. 1993 ; Latrache et al. 1994 ; Van der Mei et Busscher 1997 ; Dengis et Rouxhet 1997; Dufrêne et al. 1997; Boonaert et Rouxhet 2000).** Comme pour l'hydrophobicité de la surface des micro-organismes, plusieurs études se sont consacrées à l'étude des éléments chimiques qui sont à l'origine du caractère donneur-accepteur d'électrons. Plusieurs travaux (**Magnusson et al. 1977 ; Amory et al. 1988 ; Mozes et al. 1989; Cowan et al. 1992; Cuperus et al. 1993; Van der Mei et al. 1993; Latrache et al. 1994; Rouxhet et al. 1994; Elghmari et al. 2002**) ont rapporté que la charge de la surface cellulaire peut être expliquée par sa composition chimique déterminée par spectrophotométrie aux rayons X (XPS). Plusieurs études (**Amory et al. 1988; Mozes et coll. 1989; Van der Mei et al. 1989; Cowan et al. 1992; Cuperus et al. 1993; Van der Mei et al. 1993; Latrache et al. 1994**) ont étudié également la relation entre la charge de la surface cellulaire (bactérie, levure) et la composition chimique de cette surface.

Les travaux de **Dengis et Rouxhet (1997)** ont rapporté que l'hydrophobicité de levures est liée à la présence des protéines. **Dufêne et al. (1997)** ont montré que l'hydrophobicité des bactéries est liée à la présence de polysaccharide et des hydrocarbonés. **Latrache et al. (2002)** ont montré également que l'hydrophobicité d'*E. Coli* est lié à la présence des polysaccharides et des protéines.

Les travaux de **Jeffs (1999)** ont montré une corrélation positive entre l'hydrophobicité des spores et les hydrates de carbone de surface en utilisant la technique d'agrégation et de sédimentation à médiation saline. En effet, le rapport hydrate de carbone/protéine avait tendance à être plus élevé dans les extraits des spores hydrophobes que celles hydrophiles. De plus, ces travaux ont aussi mis en évidence que les spores qui avaient une surface rugueuse étaient hydrophobes tandis que celles qui avaient une surface lisse étaient hydrophiles.

D'autres chercheurs (**Amiri et al., 2005**) ont étudié les spores du *Penicillium expansum* qui est l'agent causal de la pourriture des pommes et les poires. Les caractéristiques physico-chimiques des spores de cette souche changent avec le changement de leur âge, qui est révélé très hydrophobe en jeunesse alors que celles âgées sont hydrophiles.

Les interactions acido-basiques jouent le rôle le plus important dans l'adhésion bactérienne aux surfaces. Elles sont quantifiées à partir des caractères donneur et accepteur d'électrons obtenus par la mesure de l'angle de contact combinée avec l'équation de Young selon la théorie XDLVO.

Les résultats montrent que les spores de trois souches présentent des valeurs de donneur d'électrons plus élevées, et les spores de *P. italicum* présentent des caractères donneur / accepteur d'électrons moins importants que les spores *G. candidum* et *P. digitatum*. Ces résultats sont accord avec ceux d' (Elabed et al 2011 ; Sadiki et al 2015) qui ont montré que la surface des spores de genre *Penicillium* présente un caractère donneur d'électron élevé.

En effet, l'importance du caractère donneur d'électrons a été attribuée à la présence de groupements basiques exposés à la surface cellulaire, comme les groupements carboxyles ( $\text{COO}^-$ ), phosphates ( $\text{PO}_4$ ) des phospholipides, lipoprotéines et lipopolysaccharides, amines ( $\text{NH}_2$ ) (Briandet et al 1999) ou les groupements sulfates ( $\text{SO}_3$ ) (Pelletier et al. 1997). L'importance du caractère accepteur d'électrons a été attribuée à la présence des groupements acides exposés à la surface cellulaire, comme R-NH ou R-OH. Les travaux de Hamadi et al. (2012) ont corrélé le caractère donneur d'électrons de la surface d'*E. Coli* à une combinaison du groupe carboxyle et du groupe amine et aussi à une combinaison des protéines et des polysaccharides.

## 2. Détermination de l'hydrophobicité et du caractère donneur/ accepteur d'électrons de la surface des agrumes étudiés

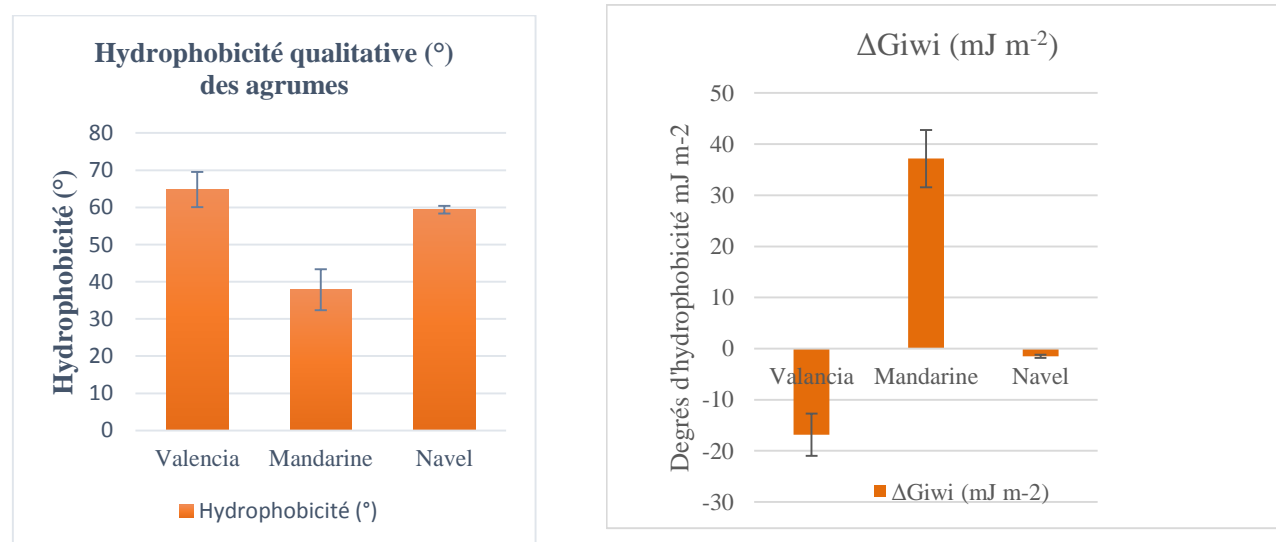
La surface des supports peut avoir plusieurs caractéristiques jouant un rôle très important dans le processus de l'adhésion (Characklis et al. 1990). Les propriétés physico-chimiques de la surface des supports (l'hydrophobicité et le caractère donneur / accepteur d'électrons) peuvent aussi exercer une grande influence sur la vitesse et le nombre des cellules adhérentes. Selon ces caractéristiques énergétiques, l'adhésion microbienne peut être favorisée ou défavorisée, d'une part et d'autre part, la répartition des cellules adhérentes aux supports solides peut être différente (Van Pelt et al. 1985 ; Fregard, 1991).

Les résultats de la mesure de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals ( $\gamma^{\text{LW}}$ ), des composants donneurs d'électrons ( $\gamma^-$ ) et accepteurs d'électrons ( $\gamma^+$ ) de la surface des agrumes sont résumés dans le tableau suivant :

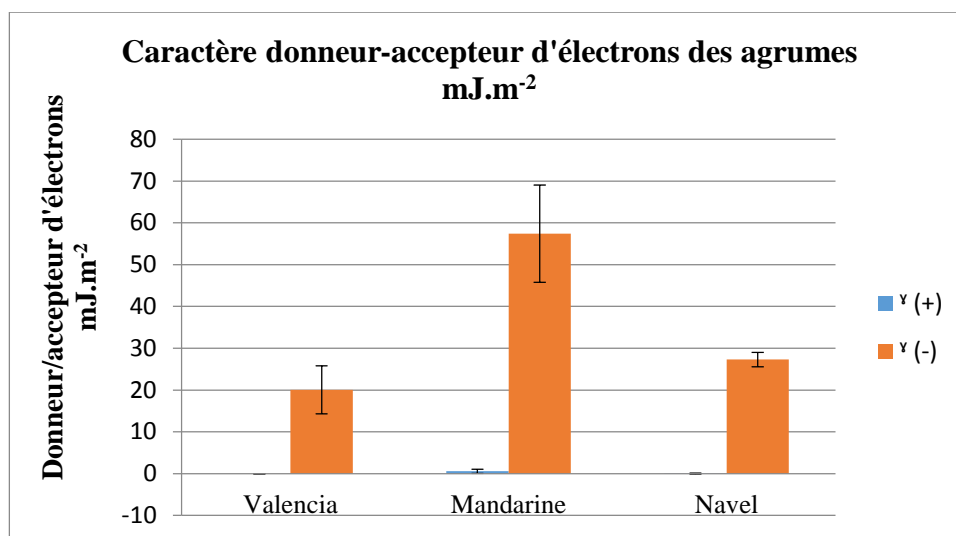
**Tableau 4 : Les résultats de la mesure de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals ( $\gamma^{LW}$ ), des composantes donneurs d'électrons ( $\gamma^-$ ), d'accepteurs d'électrons ( $\gamma^+$ ) et de l'énergie libre d'interaction des agrumes.**

Substrat	Angle de contact (°)			Tension de la surface (mJ.m <sup>-2</sup> )			$\Delta Giwi$ (mJ m <sup>-2</sup> )
	$\theta$ diiométhane	$\theta$ formamide	$\theta$ water	$\gamma^{(LW)}$	$\gamma^{(+)}$	$\gamma^{(-)}$	
Agrumes							
Valencia	41,93	53,9	64,8	38,63	0,23	20,06	-16,83
	(0,85)	(1,05)	(4,75)	(0,45)	(0,23)	(5,72)	(4,12)
Navel	41,5	53,7	59,36	38,86	0,06	27,3	-1,57
	(2,42)	(2,90)	(1,01)	(1,24)	(0,11)	(1,74)	(0,34)
Mandarine	35,8	49,63	37,83	41,66	0,56	57,4	37,16
	(3,85)	(6,48)	(5,51)	(1,85)	(0,51)	(11,65)	(5,58)

L'écart-type est donné entre parenthèses.



**Figure 26: L'hydrophobicité qualitative et quantitative des surfaces des agrumes**



**Figure 27:** Caractère donneur /accepteur d'électrons des agrumes.

L'hydrophobicité qualitative (figures 28) montre que le Navel, la Valencia et la Mandarine présentent un caractère relativement hydrophile. De point de vue quantitatif, les résultats montrent que la surface de la Mandarine présente un caractère relativement hydrophobe ( $\Delta G_{\text{wi}} \leq 0$ ) alors que la surface du Navel et Valencia est relativement hydrophile. Nous constatons que les trois agrumes présentent un significatif caractère donneur d'électrons : Valencia ( $\gamma^- = 20,06 \text{ mJ.m}^{-2}$ ), le Navel ( $\gamma^- = 27,3 \text{ mJ.m}^{-2}$ ) et la mandarine ( $\gamma^- = 57,4 \text{ mJ.m}^{-2}$ ). Pour le caractère accepteur d'électrons, les trois agrumes expriment des valeurs presque nulles (figure 29).

Parmi les caractéristiques constitutionnelles des surfaces des fruits, les cuticules sont généralement incrustées de cire cuticulaire qui influence non seulement l'hydratation de surface de la plante, mais modifie également l'interaction entre une plante et le microorganisme (**Beattie & Marcell, 2002**)

Pour la caractérisation physicochimiques des surfaces des agrumes étudiés, les résultats obtenus sont en accord avec les travaux réalisés par (**Amiri et al. 2005**, **P.E Faten et al., 2015**) qui ont montré que la surface des olives, les pommes et les tomates est hydrophobe par contre la surface de la mangue est hydrophile.

Nous constatons que tous les supports présentent un significatif caractère donneur d'électrons pour le Valencia le Navel et la mandarine. Pour le caractère accepteur d'électrons toutes les surfaces des agrumes expriment des valeurs nulles à négligeables. Ces résultats reflètent une dominance du caractère donneur d'électrons par rapport au caractère accepteur

d'électrons. Ces résultats sont en accord avec (Kachouri et al 2016) qui ont montré que la surface des olives exprime des valeurs élevées du caractère donneur d'électron

### 3. L'adhésion théorique des spores fongiques sur les agrumes selon l'approche DLVO étendue.

Bien que les mécanismes fondamentaux qui régissent l'adhésion microbienne soient encore mal compris et n'aient donc pas été complètement définis, il est admis que les propriétés physico-chimiques de la surface microbienne et celles des supports sont des facteurs déterminants de l'adhésion initiale (Van Oss et al., 1986 ; Bellon-Fontaine et al., 1990; Bos et al., 1999 ; Gallardo Moreno et al., 2002 ; Bayouhdh et al., 2006).

De ce fait, plusieurs modèles théoriques ont été proposés pour prédire le phénomène de l'adhésion des particules colloïdales aux surfaces, dont l'approche de DLVO étendue développée par Van Oss. Cette approche considère trois types d'interactions physico-chimiques responsables de l'adhésion initiale : les interactions de Van der Waals, les interactions acido-basiques et les interactions électrostatiques. En utilisant cette approche, l'énergie totale de l'adhésion des micro-organismes sur les différents supports étudiés ainsi que ses composantes acide-base (AB) et Lifshitz -Van der Waals (LW) sont calculées par les équations issues du modèle de Van Oss (Van Oss ,1994). Nos résultats sont fournis dans le tableau suivant :

**Tableau 5: Énergies libres de Van der Waals ( $\Delta G^{LW}$ ), acide-base ( $\Delta G^{AB}$ ) et totale ( $\Delta G^{Total}$ ) de l'adhésion des spores à la surface des Agrumes.**

Spores	Valencia			Navel			Mandarine		
	$\Delta G^{LW}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{AB}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{Total}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{LW}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{AB}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{Total}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{LW}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{AB}$ (mj/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{Total}$ (mj/m <sup>2</sup> )
<i>Penicillium</i>	2,84	13,75	16,59	2,87	14,55	17,42	3,27	17,84	21,12
<i>Italicum</i>									
<i>Penicillium</i>	4,07	6,58	2,51	4,12	10,79	6,67	-4,69	24,60	19,90
<i>digitatum</i>									
<i>G.candidum</i>	5,33	33,40	38,73	5,39	33,33	38,73	6,14	34,98	41,12



### PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

D'après les résultats présentés dans ce tableau, nous remarquons que le pourcentage d'adhésion entre les différents supports dépend essentiellement des surfaces des spores et des agrumes étudiés. Si on tient compte des spores étudiées, nous constatons que les spores de *P. digitatum*, *P. italicum* et *G. candidum* ne sont plus susceptibles théoriquement d'adhérer sur toutes les surfaces des agrumes étudiés.

Sachant que la phase initiale de l'adhésion est gouvernée par les interactions de Van der Waals, la valeur négative de la composante LW indique que l'adhésion est favorable pour les spores de *P. digitatum* sur la Mandarine. Les interactions acido-basiques engendrent le processus de l'adhésion dans sa deuxième phase lorsque les liaisons hydrogènes et les interactions chimiques sont intervenues. La valeur positive de la composante AB implique que l'adhésion est défavorable ou faible sur toutes les surfaces des agrumes et vice versa.

L'analyse complète des données obtenues en tenant compte des différentes spores et variétés des agrumes et en utilisant l'approche théorique nous a permis de conclure que :

- La classification des agrumes en fonction de leur capacité d'adhésion théorique est comme suit : Mandarine > Valencia > Navel.

L'utilisation du modèle théorique pour la prédiction de l'adhésion des spores fongiques aux trois variétés des agrumes peut constituer un outil d'aide à la prise de décision pour la sélection des variétés peu propices à la colonisation fongique. D'après cette approche, l'adhésion des cellules bactériennes n'est énergétiquement favorisée que lorsque  $\Delta G_{TOT}$  est négative (**Busscher 1984**). L'analyse de nos résultats a montré que l'adhésion théorique est défavorable ( $\Delta G^{TOT}$  pour toutes les spores est positif). Ceci indique que leur adhésion théorique n'est pas gouvernée par les interactions acido-basiques ( $\Delta G^{AB}$ ).

### PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

Sachant que la phase initiale de l'adhésion est gouvernée par les interactions de Van der Waals, la valeur négative de la composante LW (Pour *Penicillium digitatum*) indique que l'adhésion est favorable sur les agrumes. Les interactions acido-basiques engendrent le processus de l'adhésion dans sa deuxième phase lorsque les liaisons hydrogènes et les interactions chimiques interviennent. La valeur positive de la composante AB implique que l'adhésion est défavorable ou faible sur les agrumes et vice versa.

D'autre part, notre travail nous a permis de classer les variétés des agrumes étudiés en fonction de leur adhésion théorique : Mandarine > Navel > Valencia. De ce fait, d'après les résultats obtenus, il est à noter que la variabilité de l'énergie totale de l'adhésion entre les différents supports dépend essentiellement des spores et de la surface des variétés des agrumes en question.

### CONCLUSION

Les propriétés physico-chimiques (hydrophobicité, caractères donneur / accepteur d'électrons) des spores des champignons qui attaquent les agrumes en poste-récolte ont été déterminées. Les résultats montrent que le degré d'hydrophobicité et les caractères donneur d'électrons / accepteur d'électrons diffèrent d'une espèce fongique à l'autre avec un caractère donneur d'électrons bien marqué pour toutes les spores étudiées. Les propriétés physico-chimiques des surfaces des agrumes ont été aussi étudiées, les résultats montrent que le degré d'hydrophobicité et les caractères donneur d'électrons / accepteur d'électrons diffèrent entre les variétés des agrumes. Par ailleurs, nous avons constaté que l'adhésion théorique de ces spores aux agrumes dépend de deux facteurs : la nature des surfaces des agrumes et les spores étudiées. Les résultats de cette adhésion nous ont permis de déduire que Valencia est la variété qui favorise théoriquement l'adhésion pour la majorité des spores étudiées. D'où l'intérêt de valider ces résultats expérimentalement.

## II. ÉTUDE DE L'ADHÉSION DES SPORES FONGIQUE SUR LES AGRUMES

### INTRODUCTION

Une colonisation réussite peut être définie comme la capacité de microorganismes à établir une population dans des conditions environnementales favorables et à persister indépendamment de l'afflux (**Buck JW 1999**). La première étape de la colonisation consiste en un attachement de spores, qui est généralement considéré comme un facteur pathogène en empêchant les spores d'être déplacées des surfaces colonisées, et en facilitant leur contact étroit avec la surface hôte requise pour la signalisation de l'hôte pathogène (**Jones MJ 1987**). La vision traditionnelle de l'attachement fongique aux plantes est que les conidies se logent ou se coincent à la surface des feuilles et fruits, à savoir que l'attachement fongique actif ne se produit pas avant la formation des hyphes fongiques (**Nicholson RL 1991**). Le processus d'adhésion peut également être considéré comme un événement en deux étapes (**Kennedy MJ 1988**). La première étape consiste en un attachement faible et réversible en raison des forces de Van der Waals (électrodynamique) et des forces électrostatiques et hydrophobes qui ne sont pas spécifiques. Dans la deuxième étape, l'adhésion est irréversible et dépendante du temps (heures ou jours).

À savoir que les agents pathogènes fongiques provoquent de graves maladies des cultures. Les principales raisons du succès de ces champignons sont leur capacité à localiser et à percevoir les surfaces hôtes appropriées, puis à élaborer leur propre processus d'infection. *Penicillium* spp. (*P. italicum*, *P. digitatum*) et *Geotricum candidum* causent de lourdes pertes des agrumes en poste récolte en grande partie dans les entrepôts .

Ainsi, il est à déchiffrer la complexité de l'adhésion des micro-organismes aux agrumes pour répondre aux interrogations de plus en plus pressantes des chercheurs pour la préservation et/ou la conservation de ce fruit qui prend en compte des pratiques nouvelles. Il s'agit en fait de mettre en œuvre une stratégie d'intervention, clairement et rigoureusement définie, afin d'assurer une longue conservation des agrumes. Comme le modèle d'adhésion de *P. digitatum*, *P.italicum* et *G. candidum* sur les agrumes est encore inconnu, nous avons

effectué cette recherche pour évaluer leurs capacités d'adhésion sur les agrumes.

Les objectifs de cette partie de notre travail sont :

- ✓ Etudier l'adhésion expérimentale des spores sur les agrumes.
- ✓ Déterminer la topographie de la surface des agrumes par le rugosimètre.

### 1. Etude de l'adhésion des spores fongiques sur les agrumes

Les agrumes, comme toutes les autres cultures, sont affectés par plusieurs maladies. Ces maladies sont dues à des infections initiées soit avant la récolte ( *Alternaria citri*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Trichoderma viride*) ou après la récolte des fruits ( *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma viride*) (Sommer, 1982; Eckert and Brown, 1986; Holmes et al., 1994). Cependant, la quasi-totalité des pertes d'origine parasitaire, en post-récolte, est due aux champignons suivants : *Penicillium digitatum* (agent de la pourriture verte) et *Penicillium italicum* (agent de la pourriture bleue). En effet, plus de 90% des dégâts sur les fruits d'agrumes en post-récolte sont dus aux champignons précités (Boubaker, 1993; Holmes et al., 1994).

Étant donné qu'il est plus facile d'augmenter le volume des exportations en protégeant mieux les fruits après leur récolte que de vouloir augmenter la production, cette démarche s'avère moins coûteuse et plus simple à atteindre dans un délai assez court. Dans ce contexte, des traitements chimiques (utilisation des fongicides et la cire) et physiques (stockage au froid) sont pratiqués dans les stations de conditionnement afin de limiter les pertes dues aux pathogènes de post-récolte (Palou et al., 2008, Youssef et al., 2020) .

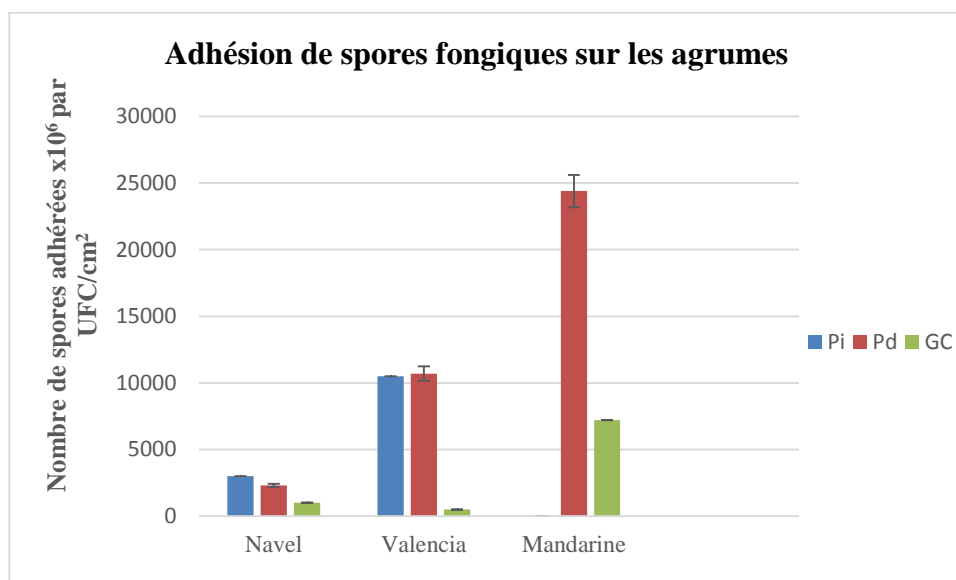
L'adhésion microbienne aux surfaces des agrumes constitue l'étape initiale de la formation des biofilms fongiques, comme nous le décrivons dans la troisième partie du chapitre I. Ce processus est régi par de nombreux facteurs liés à la fois aux caractéristiques des micro-organismes, du support et de l'environnement.

Dans ce chapitre, on s'intéresse à l'étude de l'adhésion des spores fongiques sur trois variétés des agrumes. Le test d'adhésion expérimentale entre les spores et les surfaces des agrumes caractérisées a été réalisé en mettant les spores en contact avec les agrumes avec

### PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'intention de vérifier si les énergies libres de surface des spores et des agrumes seraient réfléchies par les taux d'adhésion des spores d'une part, et d'évaluer et de comparer la capacité des trois variétés étudiées à retenir plus les spores d'autre part. Ainsi, le test de l'adhésion expérimentale a été réalisé en appliquant une force ionique élevée. Cela fait que les tensions de surface interraciales entre les trois spores et les surfaces des agrumes occurrentes dans le milieu sont gouvernées essentiellement par des interactions de type Van der Waals et acido-basiques.

D'après les résultats de dénombrement des spores illustrés dans la figure 30, nous observons que les trois souches ont la capacité d'adhérer sur toutes les variétés des agrumes étudiées. De plus, les trois souches n'expriment pas le même taux d'adhésion sur les supports. En effet, la souche de *Penicillium digitatum* présente l'adhésion la plus importante sur Mandarine, alors que les spores des trois souches adhèrent sur les trois variétés des agrumes à l'exception de l'adhésion *Geotricum candidum* sur la Mandarine qui est presque nulle. Pour *Penicillium italicum*, l'adhésion la plus importante est obtenue sur Valencia et sur Mandarine. Nous remarquons aussi que le pouvoir adhésif sur la surface de Navel est faible vis-à-vis de ces trois champignons.



**Figure 28:** Adhésion de spores fongiques sur les agrumes

## 2. Rôle des propriétés physico-chimiques dans le processus d'adhésion des spores étudiées

Afin de comprendre les interactions qui interviennent dans le processus de l'adhésion bactérienne avec les différents supports, nous avons examiné le rôle des propriétés physico-chimiques dans ce processus. Il est généralement admis que les propriétés physico-chimiques des deux surfaces cellulaires et des supports sont les principaux facteurs médiateurs d'adhésion bactérienne. Les principales interactions impliquées dans la phase initiale d'adhésion sont les interactions de Lifshitz Van der Waals (LW), les interactions acides-bases et les interactions électrostatiques. Les interactions électrostatiques ont été négligées dans ce travail, car les expériences ont été réalisées à une force ionique élevée (0.1 M). Il est généralement accepté que les cellules hydrophobes aient tendance à adhérer sur un support hydrophobe et les cellules hydrophiles ont tendance à adhérer sur un support hydrophile. Cette hypothèse n'explique pas toujours nos résultats, car nous avons observé que dans la majorité des cas les souches hydrophiles n'adhèrent pas sur les surfaces hydrophiles et inversement, les souches hydrophobes n'adhèrent pas automatiquement sur les surfaces hydrophobes. De même, les souches hydrophobes n'adhèrent pas automatiquement sur les surfaces hydrophiles. La même constatation a été faite par d'autres auteurs (**McEldowney et Fletcher 1986 ; Partt-terpstra et al., 1988 ; Sjollem et al., 1990, Teixeira et al., 2005**).

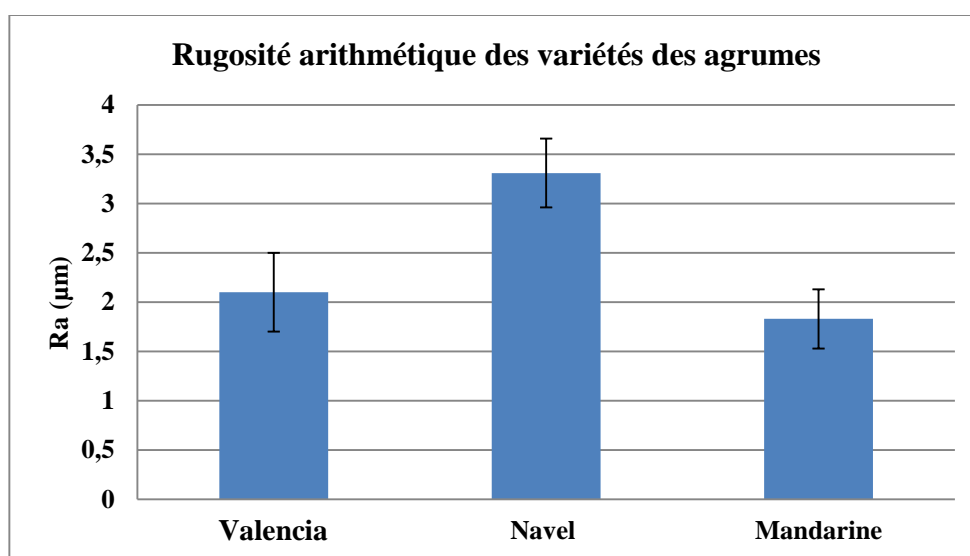
Pour les spores *Penicillium digitatum* et *Geotricum candidum*, il semble que cette approche est insuffisante pour expliquer nos résultats, car les deux spores ont un pouvoir adhésif fort sur les deux surfaces des agrumes hydrophiles (Mandarine et Navel) (figure 30). Nos résultats sont en contradiction avec les résultats de (**Fernandes, P. É., 2014**) qui a montré que l'adhésion sur une surface hydrophile est très faible.

Nos résultats poussent à supposer que l'adhésion des spores de *Penicillium digitatum* et *Geotricum Candidum* à ces deux variétés des agrumes (Mandarine et Naval) n'est régie ni par les interactions acides-bases ni par les interactions hydrophiles- hydrophobes. Ceci est en accord avec les travaux rapportés par **Flint et al. (1997), Oliveira et al. (2006), Teixeira et al. (2007) et Bohinc et al. (2014, 2016)**.

A partir de ces résultats, nous pouvons conclure que l'adhésion des spores de *P. italicum* sur la Valencia est régie par les interactions acides-bases et les interactions hydrophiles-hydrophobes.

### 3. Effet de la rugosité sur l'adhésion des spores étudiées

La rugosité arithmétique moyenne (Ra) des agrumes étudiés obtenue par la lecture au rugosimètre montre que les surfaces ont une topographie différente les unes des autres. Ra indique la distance moyenne du profil de la rugosité par rapport au plan médian du profil. D'après les résultats illustrés dans la figure 31, nous constatons que le Navel présente la plus forte valeur de Ra (3,40  $\mu\text{m}$ ), tandis que les autres supports présentent une valeur moyenne pour Valencia (2,1  $\mu\text{m}$ ) et Mandarine (1,9  $\mu\text{m}$ ).



**Figure 29:** La rugosité des agrumes

Il apparaît clairement que le pourcentage de la surface des agrumes occupé par les trois spores est largement influencé par la rugosité des variétés des agrumes (Figures 30,31). En effet, nous pouvons en déduire que plus la rugosité des surfaces des agrumes diminue, plus le pourcentage de l'adhésion devient plus faible (Valable que pour *Geotricum candidum*). Ceci est en accord avec les résultats d' (El abed et al 2011) qui ont montré que pour *Penicillium expansum*, plus la rugosité du bois de cèdre diminue, plus le pourcentage de l'adhésion ne devient plus faible.

Les résultats obtenus ici corroborent avec plusieurs travaux (Masurovsky et Jordan 1958 ; Hoffman 1983; Pedersen 1990; Leclercq-Perlat et Lalande 1994; Hilbert et al. 2003). Ces derniers ont rapporté une corrélation positive entre l'adhésion microbienne et la rugosité. Par contre, (Flint et al. 2000) n'ont observé aucune corrélation entre la rugosité arithmétique d'une surface d'acier inoxydable et l'attachement de staphylocoques thermorésistants. Ils ont toutefois mis en évidence une adhésion maximale pour une valeur de

Ra égale à 0,9  $\mu\text{m}$ , suggérant un piégeage des micro-organismes du fait de leur taille. Enfin, selon d'autres études, la présence de rugosité réduit la surface de contact entre le support et le micro-organisme (lorsque la taille de ce dernier est plus importante que la rugosité du support), favorisant le détachement cellulaire (**Boulangue-Petermann et al. 1997**).

#### CONCLUSION

L'étude de l'adhésion des spores étudiées sur les agrumes constituerait une approche importante et une piste intéressante vers la compréhension du phénomène de contamination des agrumes en poste récolte. Ainsi, les résultats obtenus dans notre étude montrent que le phénomène d'adhésion des spores aux agrumes ne pourrait pas être clairement expliqué par l'approche thermodynamique quand la totalité des spores a été prise en considération.

Les résultats de ce travail montrent que toutes les spores étudiées ont la capacité d'adhérer sur les surfaces des agrumes examinés. Les deux souches de *Geotricum. Candidum* et *Penicillium italicum* ont la capacité d'adhérer plus sur la Valencia et atteignent un maximum de  $244 \cdot 10^8 \text{ UFC/cm}^2$ . Les spores de *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* ont tendance aussi à adhérer plus sur la Valencia avec un maximum de  $107 \cdot 10^8 \text{ UFC/cm}^2$  et  $105 \cdot 10^8 \text{ UFC/cm}^2$  respectivement. Concernant la capacité des spores ont adhérents sur les surfaces des agrumes, la comparaison entre les taux d'adhésion des spores par rapport aux variétés de Valencia a révélé une préférence des trois spores étudiées à s'adhérer

Enfin, le phénomène d'adhésion des spores dans notre étude a été partiellement lié à certaines propriétés physicochimiques de surface, mais n'a pas été totalement expliqué par l'approche thermodynamique. Ainsi, ces premiers résultats constitueraient des pistes intéressantes dans la voie de la compréhension de l'implication des propriétés physicochimiques des surfaces dans le phénomène d'adhésion des spores sur les agrumes.



## **CHAPITRE II : ÉVALUATION DE L'ADHESION DES SPORES DE *PENICILLIUM DIGITATUM*, *PENICILLIUM ITALICUM*, *GEOTRICUM CANDIDUM* SUR LES SUPPORTS UTILISÉS DANS LA CHAÎNE DE CONDITIONNEMENT DES AGRUMES**

### **I. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SUPPORTS UTILISÉS DANS LA CHAÎNE DE CONDITIONNEMENT DES AGRUMES**

#### **INTRODUCTION :**

L'adhésion des micro-organismes aux surfaces des matériaux est fortement gouvernée par des interactions physico-chimiques. Ces interactions, dont la résultante peut être attractive ou répulsive, comprennent essentiellement les interactions électrostatiques, Lifshitz-Van der Waals et acides -bases de Lewis. Ces interactions dépendent des propriétés physico-chimiques de la surface du micro-organisme en question, de la surface du substrat, et des caractéristiques du milieu de suspension. Ces propriétés physico-chimiques comprennent l'**hydrophobicité**, la **charge électrostatique**, le caractère **donneur et/ou accepteur d'électrons**, et l'énergie libre de la surface. Tous les facteurs susceptibles de modifier les propriétés physico-chimiques de surface de l'un des éléments mis en jeu dans le phénomène d'adhésion peuvent ainsi favoriser ou au contraire limiter la fixation des microorganismes. Le test de l'adhésion des spores vise généralement à vérifier concrètement le comportement adhésif de la surface des spores par rapport au substrat. Il permet par conséquent de vérifier l'existence ou pas d'une corrélation entre le comportement adhésif des spores et leurs propriétés physicochimiques de surface. Dans ce chapitre, nous avons comme objectifs :

- ✓ La détermination de l'hydrophobicité, le caractère donneur d'électrons et le caractère accepteur d'électrons de la surface des supports utilisés dans le conditionnement des agrumes par la technique de la mesure de l'angle de contact.
- ✓ L'étude de l'adhésion prédictive des spores sur les supports.
- ✓ L'étude de la corrélation entre les pourcentages d'adhésion des spores et le caractère donneur d'électron des surfaces de matériaux.

## 1. Caractérisation physicochimique de la surface des supports solides

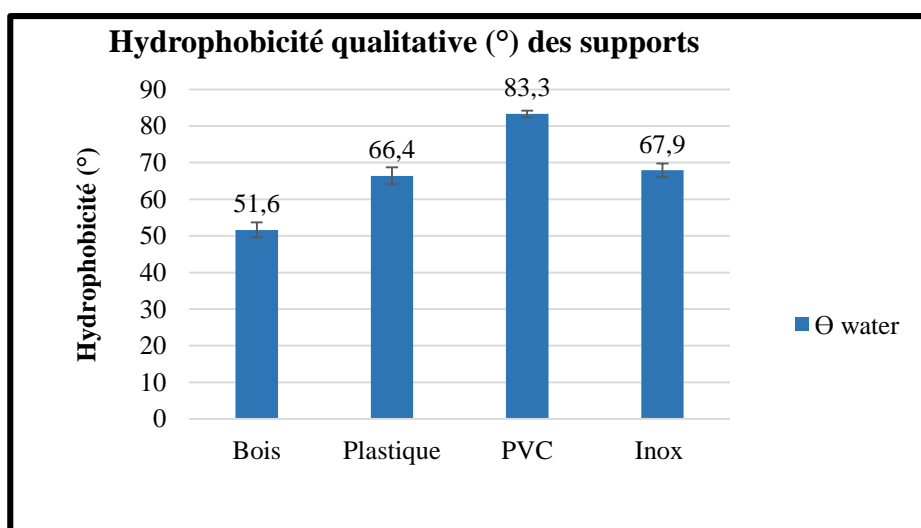
Les résultats de la mesure de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals ( $\gamma^{LW}$ ), des composantes donneurs d'électrons ( $\gamma^-$ ) et accepteurs d'électrons ( $\gamma^+$ ) de la surface des supports sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 6: Angles de contact par rapport aux différents solvants, composantes de Van der Waals  $\gamma^{LW}$ , composants donneurs d'électrons ( $\gamma^-$ ), accepteurs d'électrons ( $\gamma^+$ ) et rugosité (Ra) des différents supports**

Supports	Angle de contact (°)			Tensions des surfaces (mJ/m <sup>2</sup> )			$\Delta G_{iwi}$ (mJ/m <sup>2</sup> )
	$\Theta$	$\Theta$	$\Theta$	$\gamma^{LW}$	$\gamma^{(+)}$	$\gamma^{(-)}$	
	Diodomethane	Formamide	Eau				
Bois d'emballage	51,9 (3,42)	79,76 (5,45)	51,06 (2,05)	33,1 (1,82)	10,03 (0,80)	94,6 (0,4)	32,7 (2,82)
Plastique d'emballage	61,8 (1,8)	57,2 (2,09)	66,4 (2,32)	0,8 (1,01)	2 (0,06)	39,4 (1,03)	-10,2 (1,89)
PVC	91,8 (0,7)	76,2 (1,4)	83,3 (0,9)	12,01 (0,2)	3,03 (0,67)	11,41 (0,06)	-24,7 (0,78)
Inox 316	51,9 (2,1)	55,8 (1,2)	67,9 (1,9)	33,2 (2,03)	0,51 (0,99)	6,9 (1,07)	-44,20 (1,79)

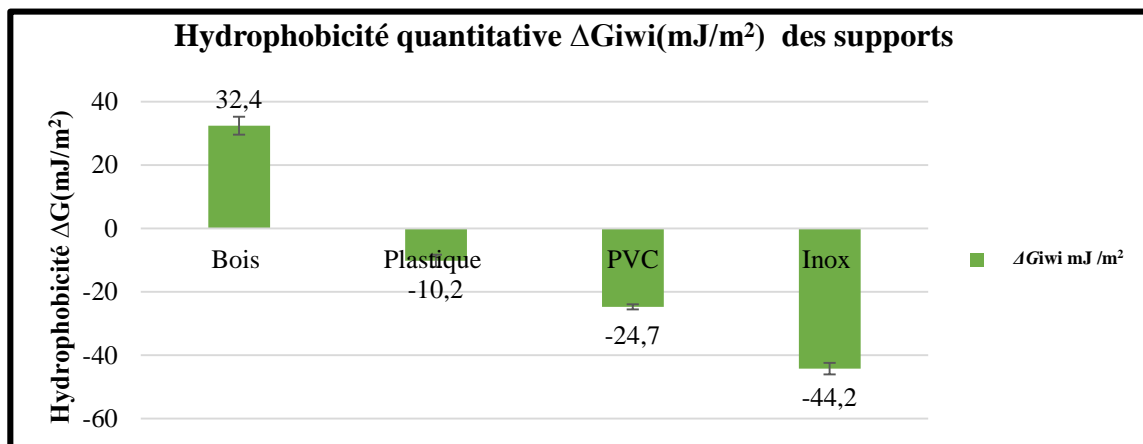
L'écart-type est donné entre parenthèses

### a) l'hydrophobicité des différents supports



**Figure 30:** Hydrophobicité des supports d'adhésion selon l'approche qualitative.

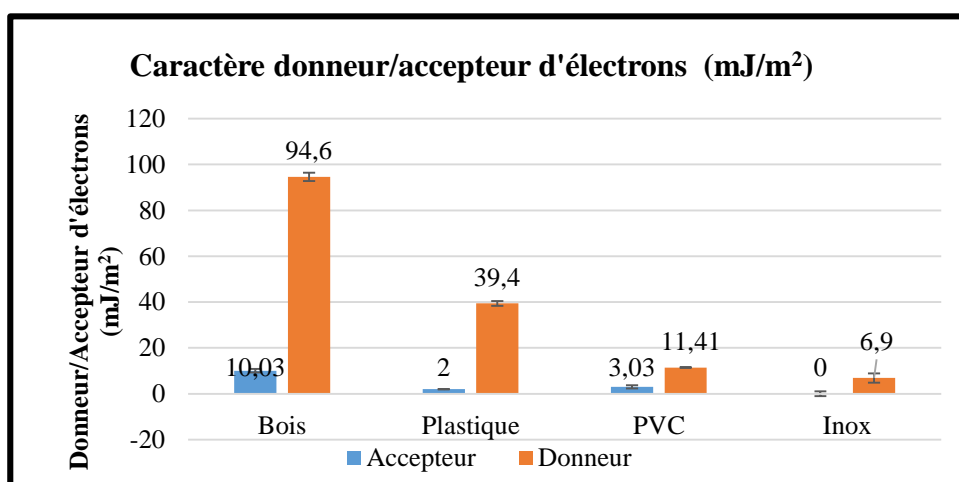
Le bois a un caractère hydrophile ( $\theta = 51,06^\circ$ ), tandis que les autres supports (plastique, PVC et inox 316) présentent un caractère hydrophobe. Il est à noter que le PVC est considéré comme le support le plus hydrophobe ( $\theta = 83,3^\circ$ ), suivi par l'inox 316 et par la suite le plastique d'emballage.



**Figure 31:** Hydrophobicité des supports d'adhésion selon l'approche quantitative.

Sur la base de l'approche de Van Oss, nous pouvons constater d'après la figure 33 que le bois possède un caractère hydrophile puisque  $\Delta Giwi = 32,4$  mJ /m<sup>2</sup>, contrairement aux autres supports qui présentent un caractère hydrophobe car  $\Delta Giwi < 0$ .

#### b) Caractère donneur /accepteur d'électrons des supports



**Figure 32:** Caractère donneur /accepteur d'électrons des supports

### PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

À la lumière des résultats obtenus sur la figure 34, tous les supports présentent un caractère donneur d'électrons  $\gamma^-$  significatif, tandis que le caractère accepteur d'électrons  $\gamma^+$  étant négligeable devant ce dernier. Le caractère donneur d'électrons est faible pour l'inox (6,9 mJ/m<sup>2</sup>), moyen pour le plastique et PVC (39,4 et 11, 41 mJ/m<sup>2</sup>) respectivement, et important pour le bois (94,6 mJ/m<sup>2</sup>). Le caractère accepteur d'électrons est élevé pour le bois, moyen pour le PVC et le plastique et plus faible pour inox (0,59 mJ/m<sup>2</sup>).

En se basant sur l'approche de Van Oss (**Van Oss 1995 ; Van Oss et coll., 1998**), le degré de l'hydrophobicité d'un support est le même que l'énergie libre d'interaction entre deux entités appartenant à ce support lorsqu'il est immergé dans l'eau. Si l'interaction entre ces deux entités est plus forte que l'interaction entre chaque entité et l'eau, le support sera considéré comme hydrophobe, en inversant les choses, le support sera considéré comme hydrophile si les interactions entre les deux entités sont plus faibles que les interactions entre les entités et l'eau. Certains travaux (**Oliveira, Teixeira, et Fonseca, 2001**) ont rapporté que la méthode d'angle de contact est considérée comme l'une des plus efficaces méthodes qualitatives de caractérisation de l'hydrophobicité. C'est pour cette raison que dans cette étude, l'angle de contact a été utilisé pour mesurer et caractériser les interactions entre les entités précédemment décrites et l'eau. La méthode d'angle de contact nous a permis d'avoir des résultats très détaillés en matière d'hydrophobicité et du caractère donneur/accepteur d'électrons. Les supports étudiés sont des matériaux couramment utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes. Certains d'entre eux (PVC, inox 316), sont utilisés au cours de la chaîne, tandis que les autres (bois et plastique) sont utilisés dans les emballages des agrumes. Après la détermination des caractéristiques physico-chimiques par la méthode de l'angle de contact, les résultats obtenus montrent que tous les supports solides sont hydrophobes à l'exception du bois d'emballage qui est hydrophile. Ces résultats sont en accord avec les travaux réalisés par (**Chamberlain and Johal 1988; Simões et al. 2007 ; Teixeira et al. 2008; Hamadi et al. 2014 ; Assaidi et al. 2018 ;**) , qui ont montré que l'acier inoxydable est hydrophobe, tandis que d'autres études (**Silva et al. 2008 et Oliveira et al. 2008**) ont trouvé que la surface de ce matériau est hydrophile. Pour les matériaux plastiques (PVC, PP), d'après les résultats obtenus, ils ont un caractère hydrophobe, ces résultats sont en concordance avec les études de (**Teixeira et Oliveira 1999; Boutaleb et al. 2008; Assaidi et al. 2018, El gouli et al 2020**) qui ont rapporté que le PVC est un matériau hydrophobe. De même, (**Simões et al. 2007**) ont trouvé que la surface de ces deux matériaux présente un caractère hydrophobe. Il faut également noter que les caractéristiques physico-chimiques du bois, y compris l'hydrophobicité, ont été largement

étudiées (**De Meijer et al.2000**). En effet, l'hydrophobicité du bois a fait l'objet de plusieurs investigations (différentes méthodes et variétés de bois ont été utilisées). (**El Abed Soumya et al., 2011**) ont travaillé sur de nombreux types de bois de cèdre ayant des niveaux d'hydrophobicité différents. En ce qui concerne le caractère donneur /accepteur d'électrons, nos résultats montrent que tous les supports présentent un caractère donneur d'électrons assez élevé sauf pour l'inox 316 pour lequel il est faible. Le caractère accepteur d'électrons est négligeable devant le caractère donneur d'électrons. À l'exception du bois, les autres matériaux présentent un très faible caractère accepteur d'électrons. Ces résultats sont en désaccord avec les travaux de (**Silva et al. 2008**) qui ont trouvé que l'inox 316 présente un caractère donneur /accepteur d'électrons élevé, alors que les travaux de (**Hamadi et al. 2014 ; Assaidi et al. 2018**) ont rapporté que l'inox 316 présente un faible caractère donneur /accepteur d'électrons et que le caractère accepteur d'électrons est négligeable devant le caractère donneur d'électrons. (**Assaidi et al. 2018**) ont rapporté que le PVC est un support donneur d'électrons. De même, (**Simões et al. 2007**) ont trouvé que la surface des deux supports le PVC et le PP, possède un caractère donneur d'électrons moyennement élevé et un caractère accepteur électrons nul, alors que les résultats de (**El gouli et al. 2020**) qui ont trouvé que le PVC est un support accepteur d'électrons sont en désaccord avec nos résultats. Les propriétés physicochimiques exprimées par les supports peuvent être liées à plusieurs paramètres. À titre d'exemple, elles peuvent être liées à leur composition chimique et minérale (polymères, type d'alliage...), au climat et aux conditions d'utilisation et aux conditions de nettoyage et de désinfection. Les propriétés physiques, chimiques et mécaniques du bois sont directement liées à sa composition chimique en polymère naturel. D'après la littérature, il apparaît que l'hétérogénéité de la composition chimique de la surface implique un changement de l'hydrophobicité du bois. D'autres chercheurs ont rapporté l'effet de la composition de la surface sur l'énergie de surface. (**Hammer et Drzal 1980**) ont trouvé une bonne corrélation entre la concentration de l'oxygène mesurée par XPS et le changement de rapports polaires / dispersive mesuré par l'angle de contact. **Yasuda et collaborateurs (1988, 1992)** ont montré aussi que la migration des fragments de surface en vrac dans les conditions environnementales est en relation directe avec les angles de contact et XPS. **Etzler et Connors (1990)** ont rapporté une corrélation entre le rapport (C/O) déterminé par XPS et l'angle de contact pour le papier. **Liu et al. (1998)** ont montré une relation entre la composition de surface et la composante dispersive de l'énergie libre de surface du bois par chromatographie en phase gazeuse inverse (CGI). Les mêmes auteurs ont rapporté également que l'énergie de surface semble être liée à la distribution de l'oxygène à la surface du bois.

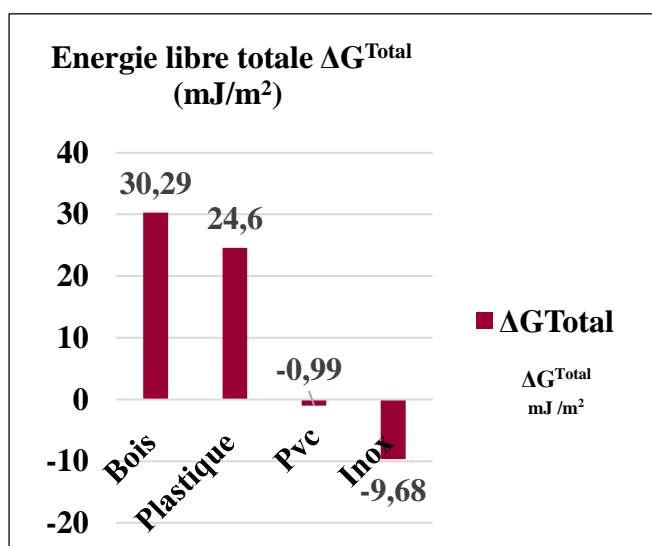
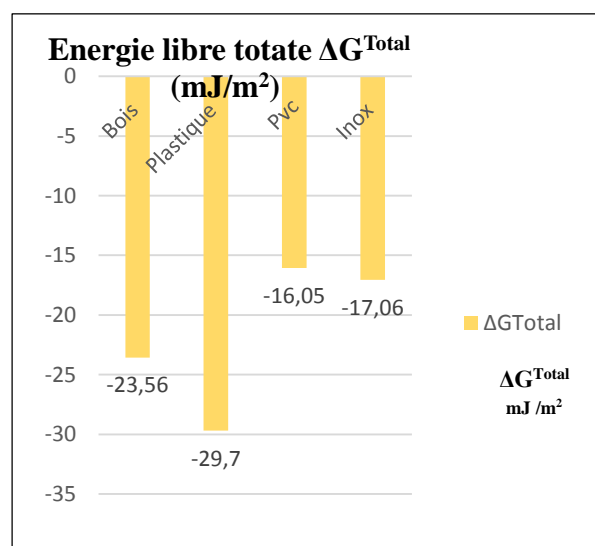
## **2. L'adhésion théorique des spores sur les supports selon l'approche DLVO étendue.**

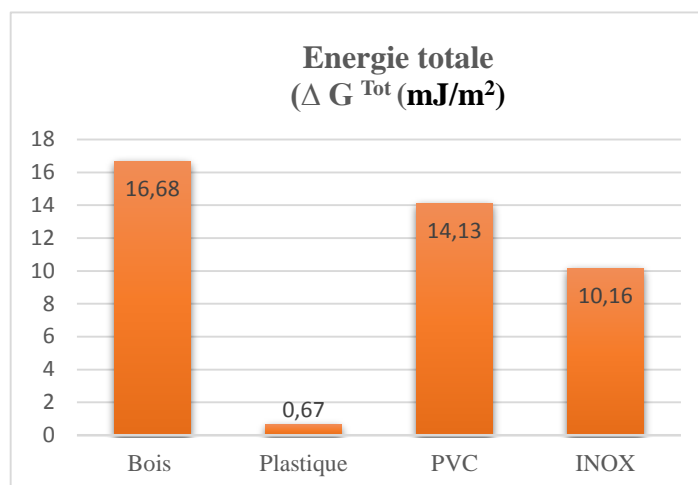
Bien que les mécanismes fondamentaux qui régissent l'adhésion microbienne soient encore mal compris et n'aient donc pas été complètement définis, il est admis que les propriétés physico-chimiques de la surface microbienne et celles des supports sont des facteurs déterminants de l'adhésion initiale (**Van Oss et al., 1986 ; Bellon-Fontaine et al., 1990; Bos et al., 1999 ; Gallardo Moreno et al., 2002 ; Bayouh et al., 2006**). En utilisant cette approche, l'énergie totale de l'adhésion des micro-organismes sur les différents supports étudiés ainsi que ses composantes acide-base (AB) et Lifshitz -Van der Waals (LW) sont calculées par les équations issues du modèle de Van Oss (**Van Oss ,1994**). Nos résultats obtenus pour ces paramètres sont présentés dans le tableau 8 suivant :

**Tableau 7: Énergies libres de Van der Waals ( $\Delta G^{LW}$ ), acide-base ( $\Delta G^{AB}$ ) et totale ( $\Delta G^{TOT}$ ) de l'adhésion des spores aux différents supports étudiés.**

Spores	Inox 316			PVC		
	$\Delta G^{LW}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{AB}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{Total}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{LW}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{AB}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{Total}$ (mJ/m <sup>2</sup> )
<i>P.Italicum</i>	-2,89	-6,79	-9,68	3,06	-4,06	-0,99
<i>P. digitatum</i>	1,37	-18,44	-17,06	-1,45	-14,59	-16,05
<i>G. candidum</i>	2,01	8,08	10,10	-2,14	6,05	14,13

Spores	Plastique d'emballage			Bois d'emballage		
	$\Delta G^{LW}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{AB}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{Total}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{LW}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{AB}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\Delta G^{Total}$ (mJ/m <sup>2</sup> )
<i>P.Italicum</i>	9,74	14,81	24,60	-2,87	33,16	30,29
<i>P. digitatum</i>	-4,61	-25,09	-29,70	1,36	-24,92	-23,56
<i>G. candidum</i>	-6,8	7,4	0,67	2,003	14,68	16,68

**Figure 34:** Énergies libres totales ( $\Delta G^{Total}$ ) de l'adhésion des spores de *Penicillium italicum* aux différents supports étudiés.**Figure 33:** Énergies libres totales ( $\Delta G^{Total}$ ) de l'adhésion des spores de *Penicillium digitatum* aux différents supports étudiés.



**Figure 35:** Énergie libre totale de l'adhésion des spores de *Geotrichum candidum* aux différents supports étudiés

D'après les résultats présentés dans les figures (35-36-37), nous remarquons que l'adhésion est défavorable pour les spores de *Penicillium italicum* sur les deux supports bois et plastique d'emballage, et légèrement favorable sur le PVC et l'inox 316. Par contre, les spores de la souche *Penicillium digitatum* sont les plus susceptibles, théoriquement, d'adhérer sur tous les supports étudiés, atteignant un maximum sur le plastique, suivi par le bois et enfin l'inox 316 et le PVC. Pour *Geotrichum candidum*, l'adhésion serait défavorable sur tous les supports étudiés.



### PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'utilisation du modèle théorique pour la prédiction de l'adhésion fongique aux différents supports peut constituer un outil d'aide à la prise de décision pour la sélection des matériaux peu propices à la colonisation des spores, afin de prévenir leur utilisation dans les secteurs agroalimentaires.

D'après cette approche, l'adhésion des cellules microbiennes n'est énergétiquement favorisée que lorsque  $\Delta G^{\text{TOT}}$  est négative (**Busscher 1984**). L'analyse de nos résultats a montré que l'adhésion théorique des spores de *Penicillium digitatum* est favorable ( $\Delta G^{\text{TOT}} < 0$ ) pour tous les supports étudiés caractérisés par un  $\Delta G^{\text{AB}}$  et  $\Delta G^{\text{LW}}$  négatifs. Ceci indique que leur adhésion théorique est gouvernée essentiellement par les interactions acido-basiques ( $\Delta G^{\text{AB}}$ ). Ce résultat est en accord avec l'hypothèse avancée par **Van Oss et al. (1994)** qui ont rapporté que l'énergie des interactions acido-basiques est deux fois plus importante que les autres interactions. Tandis que l'adhésion théorique des spores de *Penicillium italicum* est défavorable sur le bois et le plastique puisque  $\Delta G^{\text{TOT}}$  et  $\Delta G^{\text{LW}} > 0$ , par contre pour le PVC et l'inox 316  $\Delta G^{\text{TOT}}$  et  $\Delta G^{\text{LW}}$  présentent des valeurs négatives. De ce fait, d'après les données obtenues en tenant compte des différentes souches fongiques et des variétés des supports et en utilisant l'approche théorique, nous pouvons conclure que :

- La classification des matériaux en fonction de l'adhésion théorique pour *Penicillium digitatum* est comme suit : (Plastique > Bois > Inox 316 > PVC), mais pour les spores de *penicillium italicum*, l'adhésion est favorable seulement sur le PVC et l'inox 316.

- Il est à remarquer que la variabilité de l'énergie totale de l'adhésion entre les différents supports dépend essentiellement à la fois des micro-organismes et de la variété du support en question.

- Pour *Geotrichum candidum*, l'adhésion serait défavorable sur tous les supports étudiés.

**CONCLUSION :**

Les propriétés physico-chimiques (hydrophobicité, caractère donneur / accepteur d'électrons) des spores fongiques issues des différents supports utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes étudiés ont été déterminées. Les résultats obtenus soulignent que le degré d'hydrophobicité et le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons diffèrent d'une espèce fongique à l'autre. Ils montrent un caractère donneur d'électrons bien marqué pour la plupart des spores étudiées. Les propriétés physico-chimiques des supports solides ont été aussi étudiées. Les résultats montrent que le degré d'hydrophobicité et le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons diffèrent pour les mêmes types des supports. Par ailleurs, nous avons constaté que l'adhésion théorique dépend de deux facteurs : la nature du support et la souche étudiée. Les résultats de cette adhésion nous ont permis de déduire que le plastique et le bois sont des supports qui favorisent théoriquement l'adhésion des spores de *Penicillium digitatum* étudiées. Ces matériaux sont à la base de fabrication des matériaux utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes.

## II. ÉTUDE DE L'ADHÉSION DES SPORES FONGIQUES SUR LES SUPPORTS UTILISÉS DANS LA CHAÎNE DE CONDITIONNEMENT ET L'EFFET DE CERTAINS PARAMÈTRES PHYSIQUES SUR CE PROCESSUS

### INTRODUCTION

En raison des infections fongiques, les maladies post-récolte contribuent aux pertes économiques dans l'industrie agricole pendant le stockage, le transport et sur les marchés (**Klein et Lurie 1991** ; **Bagyet et al. 2020**). Les agrumes se détériorent pendant la récolte, la manipulation, le transport, le stockage et la commercialisation, fournissant des points d'entrée pour différents agents pathogènes, principalement *P. digitatum* et *P. italicum*, respectivement agents responsables des champignons verts et bleus (**Eckert 1978** ; **Talibi et al., 2014**). *P. digitatum* est le principal agent pathogène trouvé dans les agrumes après la récolte. Il est responsable de 90% des pertes de fruits dues à la contamination pendant la période de stockage, entraînant de graves dommages lors de la commercialisation. Les spores adhèrent à l'écorce et, après germination, produisent du mycélium végétatif responsable de la pourriture des fruits.

Les matériaux de transformation et les substrats d'emballage peuvent être la source d'une grave contamination biologique des agrumes par *P. digitatum*, *P. italicum* et *G. candidum*. Ces spores peuvent se fixer au substrat, puis germer et produire des mycéliums, provoquant d'importantes pertes après récolte.

La prévention de cette contamination commence par la compréhension du phénomène conduisant à l'adhésion de ces spores aux matériaux de traitement et d'emballage. Pendant le stockage et la manipulation, les agrumes sont en contact avec différents types de surfaces, telles que le plastique, le PVC, l'acier inoxydable et le bois. Les spores fongiques se trouvent généralement sur ces matériaux et leur adhérence aux fruits entraîne une contamination.

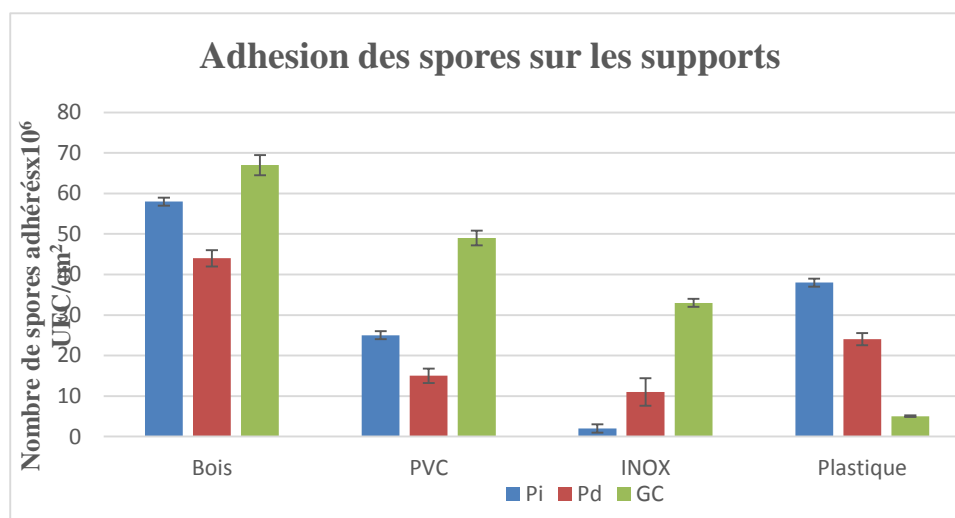
On sait que la première étape cruciale de la biocontamination est l'adhésion microbienne, qui dépend à la fois des propriétés du substrat et de la surface microbienne (**Hamadi et al. 2009**, **Assaidi et al. 2018**). Cependant, il y a eu très peu d'études sur l'adhésion des spores fongiques (**Amiri et al. 2005**, **Barkai et al. 2015**). À notre connaissance, aucune étude n'a été rapportée sur l'adhésion des spores fongiques aux matériaux couramment utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes.

Pour comprendre ce phénomène d'adhésion microbienne, la connaissance des caractéristiques physico-chimiques des spores et des surfaces solides est nécessaire pour contrôler la contamination des agrumes après la récolte. Le test de l'adhésion des spores vise généralement à vérifier concrètement le comportement adhésif de la surface des spores par rapport au substrat. Il permet par conséquent de vérifier l'existence ou pas d'une corrélation entre le comportement adhésif des spores et leurs propriétés physicochimiques de surface. Il est d'une importance capitale d'identifier les matériaux qui minimisent l'adhésion des spores.

Les objectifs de cette partie de notre travail sont :

- ✓ Etudier l'adhésion expérimentale des spores sur les supports.
- ✓ Déterminer la topographie de la surface des supports par le rugosimètre
- ✓ Etudier la corrélation entre les pourcentages d'adhésion des spores et le caractère donneur accepteur d'électron de surfaces des matériaux.

## 1. Étude de l'adhésion des spores sur les supports étudiés



**Figure 36 :** Adhésion de *Penicillium digitatum* (Pd), *Penicillium italicum* (Pi) et *Geotricum candidum* (Gc) sur la surface des supports.

Les *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum* et *Geotricum candidum* attaquent principalement les agrumes après la récolte. L'objectif principal de ce travail est d'étudier l'adhésion des spores fongiques aux surfaces solides des supports rencontrés dans la chaîne de conditionnement des agrumes, afin d'évaluer l'impact d'un certain nombre de propriétés physiques des surfaces des matériaux et d'identifier leur implication possible dans le phénomène d'adhésion.

Le test d'adhésion expérimentale entre les spores et les substrats caractérisés a été réalisé en mettant les spores en contact avec la surface des matériaux de la chaîne de conditionnement des agrumes. L'intention est de vérifier si les énergies libres de surface des spores et des substrats seraient liées aux taux d'adhésion des spores d'une part, et d'évaluer et de comparer la capacité des substrats à retenir plus les spores. Ainsi, le test de l'adhésion expérimentale a été réalisé en employant une force ionique élevée, cela fait que les tensions de surface interfaciales entre les spores et les substrats occurrents dans le milieu sont gouvernées essentiellement par des interactions de type Van der Waals et acido-basique.

Les résultats de l'adhésion des spores des trois souches fongiques (*Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*, et *Geotricum candidum*) sur les surfaces des différents supports utilisés dans le conditionnement des agrumes (figure 38) ont montré qu'elles sont capables d'adhérer sur tous les matériaux testés. Les valeurs les plus élevées des spores adhérees ont été observées sur le bois ( $57,9 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>,  $44,75 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> et  $67,4 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>), alors que les faibles valeurs ont été observées sur inox 316 avec  $1,66 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>,  $11 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> et  $33,2 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> respectivement pour *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum* et *Geotricum candidum*. Le plastique d'emballage est la matière plastique la plus colonisée par rapport au PVC avec des nombres de spores adhérees de ( $38 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>,  $24 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> et  $48,3 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>), respectivement pour *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum* et *Geotricum candidum*.

L'adhésion des micro-organismes sur un substrat a été largement étudiée par beaucoup de chercheurs. Elle dépend de plusieurs facteurs physiques et chimiques ; à savoir la rugosité, les caractéristiques physicochimiques du support et les propriétés de la surface bactérienne, et ceux du milieu de suspension (T°, pH, force ionique) (**Hamadi et al. 2004 ; Christensen et al. 1985**). Elle est aussi considérée comme le résultat de différentes interactions, dont les plus importantes sont les interactions de Van Der Walls, les interactions acide/base, les interactions hydrophile-hydrophile ou hydrophobe-hydrophobe, et les interactions électrostatiques, ces dernières ont été négligées dans l'équation, car durant cette étude, nous avons utilisé une forte force ionique en KNO<sub>3</sub> (0.1M) (**Jucker, H. Harms and A. J. B. Zehnder 1996 ; Gallardo-Moreno et al. 2003 ; Hamadi et al. 2005**).

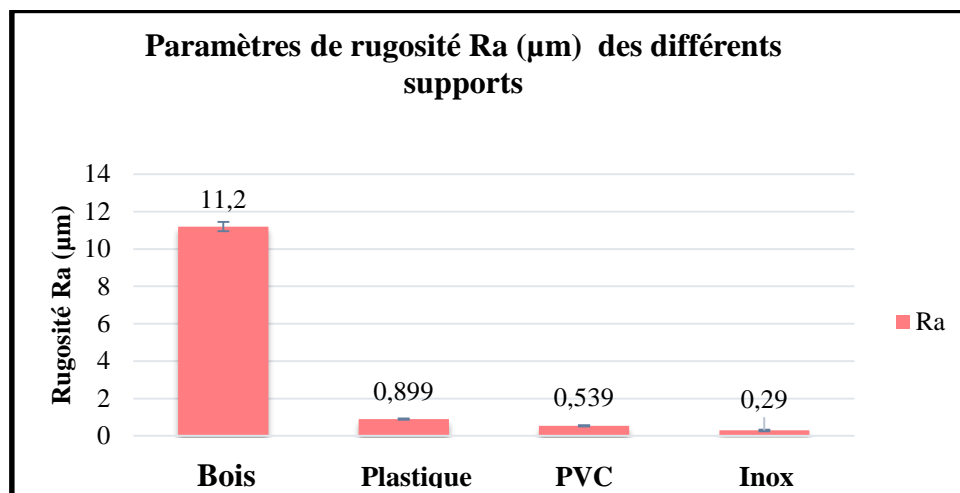
Il est chimiquement accepté que les cellules hydrophobes aient tendance à adhérer sur un substrat hydrophobe et les cellules hydrophiles ont tendance à adhérer sur un substrat hydrophile. Cette approche peut expliquer l'adhérence de la souche *Penicillium digitatum*

(hydrophile) sur le bois (hydrophile) et la souche *Penicillium italicum* (hydrophobe) sur les matériaux hydrophobes (plastique, PVC, inox 316). Pour cette première situation, l'adhésion est due au moins aux interactions hydrophile-hydrophile ou hydrophobe-hydrophobe. Les travaux précédents (**McEldowney et Fletcher, 1986 ; Partt-terpstra et al. 1988 ; Sjollema et al. 1990**) ont rapporté que l'hydrophobicité ne peut pas expliquer systématiquement les résultats de l'adhésion microbienne sur un support, et que les interactions acides-bases jouent un rôle très important dans ce phénomène (**Henriques et al 2004 ; Hamadi et al. 2005 ; Hamadi et al. 2008**). Selon ces affirmations, l'adhésion de la souche *Penicillium italicum* (hydrophobe) sur le bois (hydrophile) peut être due aux interactions acide-base entre le caractère accepteur d'électrons du bois et le caractère donneur d'électrons des souches testées. Ceci peut aussi expliquer le pouvoir adhésif de la souche *Penicillium digitatum* (hydrophile) sur les matériaux hydrophobes.

Selon la littérature, lorsque les champignons filamenteux se confrontent aux conditions hydrophobes, ils sécrètent des protéines tensio-actives appelées «hydrophobines». Ce phénomène est notamment observé chez les ascomycètes et les basidiomycètes qui contiennent généralement un multiplex des gènes codants pour ces protéines (**Wosten et al. 2001**). Cette idée a été favorisée par (**Wessels et al. 1994**) qui ont décrit que les hyphes aériens et les spores doivent leur attachement aux surfaces hydrophobes à la synthèse des hydrophobines (**Wosten et al 1993**).

Comme les hydrophobines sont des protéines de petite taille d'environ 10 kD, l'adsorption de ces molécules sur des surfaces a été étudiée (**Wosten et al 1994, Linder, et 2002**). Cette absorption peut affecter les propriétés physico-chimiques de la surface (**Simon et al. 2007**). De ce fait et d'après l'ensemble des travaux ainsi cités, on peut émettre l'hypothèse suivante : une fois en contact avec la surface, les gènes des spores et/ou les hyphes codants pour l'hydrophobine sont activés permettant ainsi la sécrétion des hydrophobines. Ces dernières peuvent être absorbées à la surface et pourraient être à l'origine de l'adhésion surtout qu'on parle des ascomycètes et les basidiomycètes déjà connus comme producteurs d'hydrophobines (**Wosten et al. 2001**).

## 2. La rugosité de surfaces étudiées



**Figure 37:** Rugosité arithmétique Ra ( $\mu\text{m}$ ) des différents supports mesurés par le rugosimètre.

La rugosité arithmétique moyenne (Ra) des surfaces étudiées obtenue par le rugosimètre montre que les surfaces ont une topographie différente les unes des autres. Ra indique la distance moyenne du profil de la rugosité par rapport au plan médian du profil. D'après les résultats illustrés dans la figure 38, nous constatons que le bois est le support qui présente la plus forte valeur de Ra (11,20  $\mu\text{m}$ ), tandis que les autres supports présentent une faible valeur par rapport au bois (0,899  $\mu\text{m}$ ) pour le plastique d'emballage (0,539  $\mu\text{m}$ ) pour le PVC et enfin (0,290  $\mu\text{m}$ ) pour l'inox 316.

Il est généralement connu qu'une augmentation de la valeur de la rugosité arithmétique (Ra) de la surface entraîne une augmentation de la rétention microbienne sur cette surface (Whitehead et al., 2004). Cela a été confirmé par les travaux de plusieurs chercheurs (Yamauchi et al., 1990 ; Verran et al., 1991; Barnes et al., 1999; Flint et al., 2000; Hilbert et al., 2003 ; Tebbs et al. , 1994 ; Bohinc et al., 2014,2016), ainsi que (Bengourram et al., 2009, Kouider et al., 2009) qui ont montré que la topographie du substrat est un paramètre important qui influence les caractéristiques physico-chimiques. C'est dans ce contexte que nous avons mesuré la rugosité des différents matériaux utilisés pour déterminer son rôle dans le phénomène d'adhésion.

Selon nos résultats, nous remarquons que l'inox 316 présente la plus faible valeur de Ra suivi par le PVC et le plastique d'emballage. Tandis que le bois présente la valeur la plus élevée par rapport aux autres matériaux. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Assaidi et al. 2018) qui ont rapporté de faibles valeurs de Ra pour l'inox 316 et le PVC et ceux de (El Abed et al. 2012) qui ont trouvé que la rugosité arithmétique des différents types de bois de cèdre est élevée.

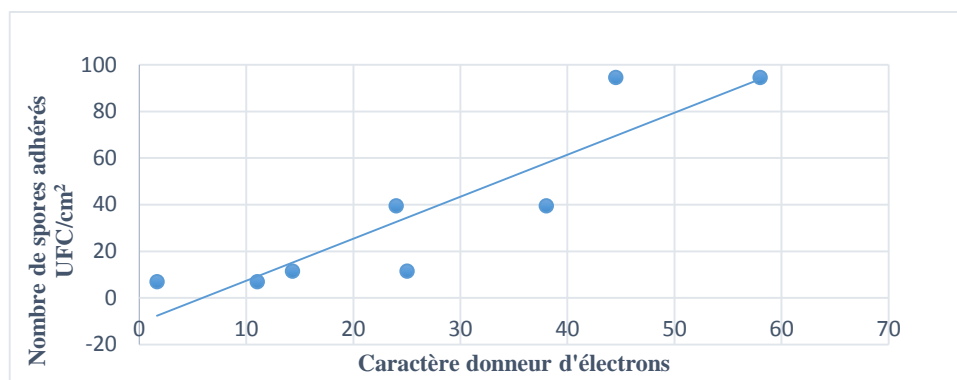
Pour tous les spores de *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Geotricum candidum*, le taux d'adhérence augmente avec l'augmentation de la rugosité des surfaces, ce qui est en accord avec beaucoup de travaux qui ont rapporté une corrélation positive entre l'adhésion microbienne et la rugosité (**Masurovsky et Jordan 1958 ; Hoffman 1983 ; Pedersen 1990 ; Leclercq-Perlat and Lalande 1994 ; Wirtanen. Ahola et Mattila-Sandholm 1995 ; Hilbert et al. 2003 Assaidi et al., 2018**). À titre d'exemple, **Hilbert et al. (2003)** ont montré que la rugosité des matériaux influence l'adhésion au-dessus d'une valeur de rugosité moyenne de 0.9 $\mu\text{m}$ . D'autres auteurs affirment qu'au-dessus de 10  $\mu\text{m}$  (**Scheuerman et al. 1998**), la rugosité n'a plus d'influence sur l'adhésion. (**Bengouram et al. 2009**) ont montré qu'une valeur entre 0.48 et 1.47  $\mu\text{m}$  peut être critique pour l'adhésion théorique d'*Escherichia coli* sur la surface du verre.

L'effet de la rugosité sur l'adhésion bactérienne n'est pas clair  $\mu\text{m}$  (**Kerr et al. 1999**). On a observé une augmentation de l'adhésion bactérienne sur des échantillons de verre et d'acrylique immergés en eau de mer naturelle lorsque la rugosité augmente de 0,25 à 30. (**Boulangé-Peterman et al. 1997**) ont montré que l'augmentation de la rugosité d'une surface d'acier inoxydable AISI 304 entre 0,01 et 1  $\mu\text{m}$  n'avait pas de conséquences sur l'adhésion de *Streptococcus thermophilus*. La même conclusion a été rapportée par **Jansen et Kohnen** sur des échantillons de polyuréthane dont la rugosité est comprise entre 0,4 et 1,4  $\mu\text{m}$  (**Jansen et al. 1995**). **Scheuerman et al. 1998** ont remarqué que la présence d'anfractuosités augmentait

La quantité de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* adhérents sur des échantillons de silicone, mais qu'une rugosité supérieure à 10  $\mu\text{m}$  n'avait aucun effet supplémentaire. (**El Abed et al. 2013**) ont trouvés que le comportement des spores de *Penicillium expansum* est passé d'hydrophobe (99,2°), à une valeur Ra de 1,83 $\mu\text{m}$ , à hydrophile (60,02°), à une valeur Ra de 0,45 $\mu\text{m}$ .



### 3. Rôle des propriétés physico-chimiques dans le processus d'adhésion des spores étudiées



**Figure 38:** Corrélation entre le nombre de spores adhérentes de *Penicillium italicum* et *Penicillium digitatum* et le caractère donneur d'électrons des deux souches.

L'adhésion microbienne sur les surfaces est un phénomène multifactoriel qui évolue constamment dans le temps et met en jeu de nombreux paramètres inhérents aux supports, aux micro-organismes et aux milieux suspendant. La maîtrise de l'ensemble de ces paramètres est un challenge qui exige de croiser les compétences de très nombreux domaines complémentaires : microbiologie, biologie, physico-chimie des surfaces, sciences des matériaux et ingénierie... Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le processus d'adhésion de *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*, et *Geotricum candidum*, différents substrats ont été examinés. De même, la corrélation entre les propriétés physico-chimiques de ces matériaux et les résultats de l'adhésion expérimentale des spores a été réalisée.

Dans cette étude, nous avons réalisé la corrélation entre l'adhésion des spores et le caractère donneur d'électrons. Nos résultats ont montré une bonne corrélation entre l'adhésion des spores de *P. digitatum* et *P.italicum* aux matériaux étudiés et leur caractère donneur d'électrons ( $R^2 = 0,903$ ). Ces résultats suggèrent donc que cette adhésion pourrait être contrôlée par le caractère donneur d'électrons.

Il apparaît alors que la rugosité influence l'adhésion des micro-organismes pour la valeur de la rugosité moyenne du support de l'ordre de grandeur du diamètre de support étudié. En revanche, d'autres auteurs ont rapporté qu'il n'y pas de corrélation entre la rugosité et l'adhésion microbienne (Flint et al. 1996 ; Bellon-Fontaine et Cerf 1988, 1991).

**CONCLUSION :**

Pour comprendre, l'adhésion des spores aux matériaux couramment utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes est essentielle afin de trouver des moyens de prévenir la contamination des agrumes après la récolte. D'après les résultats obtenus, Les trois spores ont pu adhérer à tous les matériaux étudiés. Nous pouvons conclure que l'adhésion des spores de *P. italicum* et *P. digitatum* était liée aux propriétés de donneur de surface des matériaux d'emballage. Le bois est le plus favorable à l'adhésion des spores, suivi du plastique, du PVC et de l'acier inoxydable. Ce dernier présentait les taux d'adhésion les plus faibles. Selon nos résultats, les emballages en bois sont moins hygiéniques en ce qui concerne la capacité d'adhésion. L'identification des surfaces présentant les caractéristiques les plus appropriées pourrait être cruciale pour contrôler le processus d'adhésion.

## **CHAPITRE III : ÉTUDE DE L'EFFET DE PRODUIT DE CIRAGE DES AGRUMES SUR L'ADHÉSION DES SPORES DE *PENICILLIUM DIGITATUM*, *PENICILLIUM ITALICUM*, *GEOTRICUM CANDIDUM* SUR LES AGRUMES**

### **INTRODUCTION**

Le produit de cirage forme une pellicule à grand éclat et perméabilité sélective sur la peau des agrumes, qui en améliore l'aspect et retarde leur vieillissement en contrôlant la perte de poids au moyen de la réduction de la transpiration et de la respiration, et en prolongeant leur vie commerciale. Le fongicide IMAZALIL lui a été incorporé en suspension pour le contrôle de la pourriture causée par les principaux champignons qui affectent les agrumes, en particulier *Penicillium* spp.

Les pertes en post-récolte sont réduites principalement par le biais de l'emploi des fongicides et, dans une moindre mesure, par le biais des pratiques sanitaires pour réduire l'inoculum ou par une gestion efficace de la chaîne de froid (maintien de la production à basse température, ce qui réduit grandement le développement des agents pathogènes) de la récolte à la vente au détail. Les traitements fongicides sont appliqués durant les semaines précédant la récolte, et/ou immédiatement après celle-ci. Toutefois, l'utilisation des fongicides en post-récolte a été de plus en plus réduite à cause des raisons suivantes :

- Le développement des souches d'agents pathogènes résistantes à de nombreuses matières actives (**Romano *et al.* 1983 ; Spotts & Cervantès, 1986 ; Kinay et al., 2007**) .
- L'absence de nouveaux produits de remplacement à faible impact sur le consommateur et l'environnement ainsi que le retrait de certaines fongicides efficaces du marché (**Gullino & Kuijpers, 1994**) .
- L'impact négatif des pesticides sur le consommateur impliquant une restriction de leur utilisation en post-récolte (**Wilson & Wisniewski, 1994 ; Rosslenbroich HJ, Stuebler D. 2000 ; Lachhab et al 2015**).).

Dans le but de la compréhension du phénomène de l'adhésion des spores fongiques aux agrumes, une maîtrise et une connaissance approfondie des différents mécanismes d'organisation de la vie sur la surface des agrumes pourraient apporter des réponses pertinentes aux questionnements contemporains de la société pour la préservation et/ou la conservation de ce fruit.

Ce chapitre s'inscrit dans une perspective de gestion intégrée des maladies de post-récolte visant à réduire ou à éliminer l'usage de produit de cirage dans le traitement des agrumes et s'articule autour de trois étapes :

- ✓ La caractérisation physico-chimique de produit de cirage
- ✓ L'adhésion des spores fongiques sur le produit de cirage
- ✓ L'adhésion prédictive des spores fongiques sur le produit de cirage.

## 1. Caractérisation physicochimique de produit de cirage

Selon **Vogler (1998)**, sur la base de l'approche de **Van Oss (1997)**, il est possible de déterminer le degré absolu d'hydrophobie de toute substance (I) vis-à-vis de l'eau (w), qui peut être exprimé avec précision dans un système d'unités internationalement applicable. Les valeurs de tension superficielle de la cire ont été mesurées. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 8: Angles de contact par rapport aux différents solvants, composantes de Van der Waals  $\gamma^{(LW)}$ , composantes donneur d'électrons  $\gamma^{(-)}$  et accepteur d'électrons  $\gamma^{(+)}$  de produit de cirage.**

	Angle de contact $\theta$		Tension de surface : composantes et paramètres ( $mJ/m^2$ )				
	$\Theta$	$\Theta$	Eau	$\gamma^{(LW)}$	$(\gamma^+)$	$(\gamma^-)$	$\Delta Giwi(mJ m^{-2})$
	<i>Diiométhane</i>	<i>Formamide</i>					
<b>Produit de cirage</b>	28,63 (0,75)	38,06 (2,34)	48,86 (2,65)	44,76 (0,32)	0,066 (0,11)	30,1 (4,35)	0,4 (0,019)

### Entre parenthèse : Ecart-types

Selon l'approche quantitative et quantitative, la surface de la cire est relativement hydrophile . Elle a principalement un caractère donneur d'électrons ( $\gamma^- = 30,1mJ/m^2$ ) et un faible caractère accepteur d'électrons ( $\gamma^+ = 0,11mJ/m^2$ ). Les mesures de l'angle de contact sous l'eau et l'énergie libre d'interaction ( $\Delta Giwi$ ) montrent que la cire artificielle des agrumes est hydrophobe. La cutine, la subérine et la cire sont les principaux composants de la surface de

revêtement des fruits. Elles sont produites à partir de composés hydrophobes contribuant à cette hydrophobicité (Brandl et Amundson, 2008).

## 2. Énergie libre d'interaction des spores avec le produit de cirage

Les propriétés physicochimiques des surfaces des cellules microbiennes et des surfaces des substrats jouent un rôle important et constituent le principal facteur de médiation du phénomène d'adhésion microbienne. Par conséquent, la compréhension des mécanismes impliqués dans l'interaction entre la cellule microbienne et le substrat est nécessaire, afin de contrôler l'adhésion. Il est donc intéressant de prédire l'adhésion des spores de *Penicillium digitatum* et *P. italicum* à la surface de la cire. De ce fait, des calculs de l'énergie libre totale d'interaction de l'adhésion ont été effectués. La solution de suspension  $\text{KNO}_3$  utilisée dans ce travail a une force ionique élevée de 0,1 M (El Abed et al., 2011). Les résultats de l'énergie libre d'interaction calculée sont présentés dans le tableau 10.

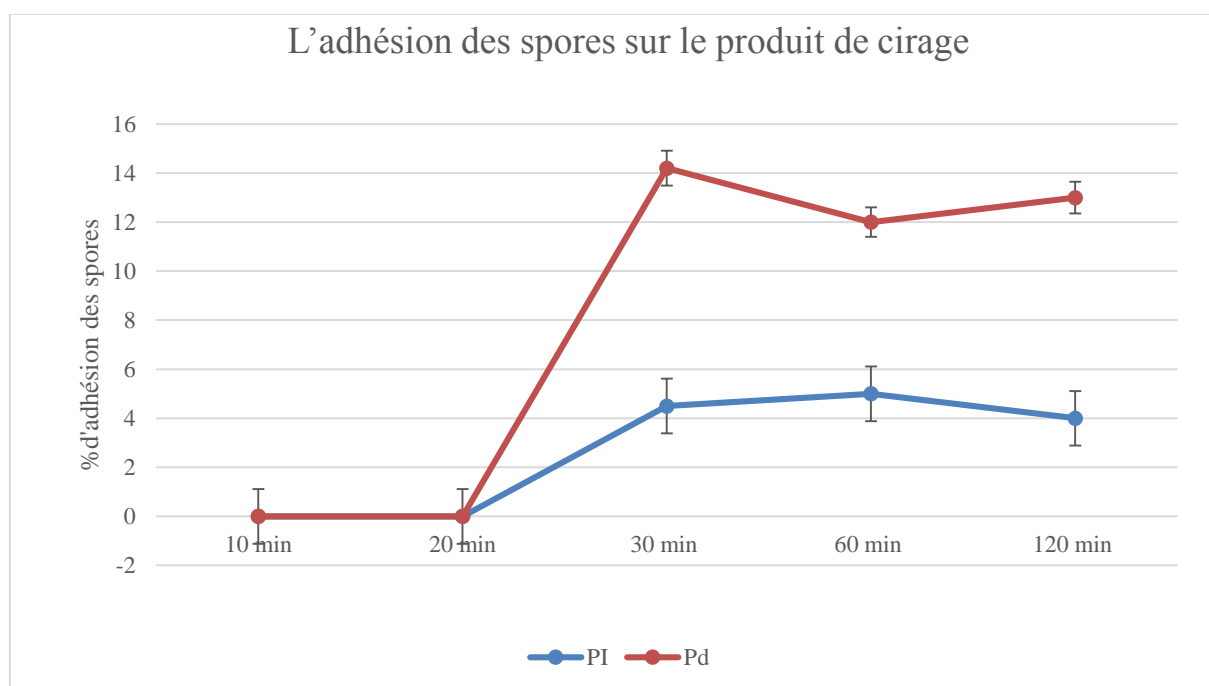
**Tableau 9: Énergies libres de Van der Waals ( $\Delta G^{\text{LW}}$ ), acide-base ( $\Delta G^{\text{AB}}$ ) et totale ( $\Delta G^{\text{TOT}}$ ) de l'adhésion des spores sur le produit de cirage.**

L'adhésion prédictive des spores sur le produit de cirage			
Spores	$\Delta G^{\text{(LW)}}$	$\Delta G^{\text{(AB)}}$	$\Delta G^{\text{(TOT)}}$
<i>Penicillium digitatum</i>	3,701	15,04	18,74
<i>Penicillium italicum</i>	-5,307	12,41	7,11

La prédiction de l'adhésion de *P. digitatum* et *P. italicum* sur le produit de cirage a été estimée en calculant l'énergie libre totale d'interaction ( $\Delta G^{\text{Tot}}$ ). Il est bien connu que, lorsqu'une énergie libre d'interaction négative est obtenue, une adhésion favorable est attendue. De manière plus précise et en se référant aux particules inertes colloïdales, seule la valeur négative de  $\Delta G^{\text{Tot}}$  permet de prédire une adhésion favorable. Les résultats de l'interaction en énergie libre calculés présentés dans le tableau 10, nous permettent d'observer que  $\Delta G^{\text{Tot}}$  est positif, ce qui signifie que les spores de *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* ne pouvaient pas adhérer à la cire d'où l'intérêt de le vérifier expérimentalement.

### 3. Influence de temps de contact sur l'adhésion des spores sur le produit de cirage

D'après la Figure 40, nous pouvons déduire que l'adhésion des spores de *Penicillium* augmente avec le temps jusqu'à 30 min et devient constante au-delà, avec des valeurs élevées pour *Penicillium digitatum* par rapport aux *penicillium italicum*.

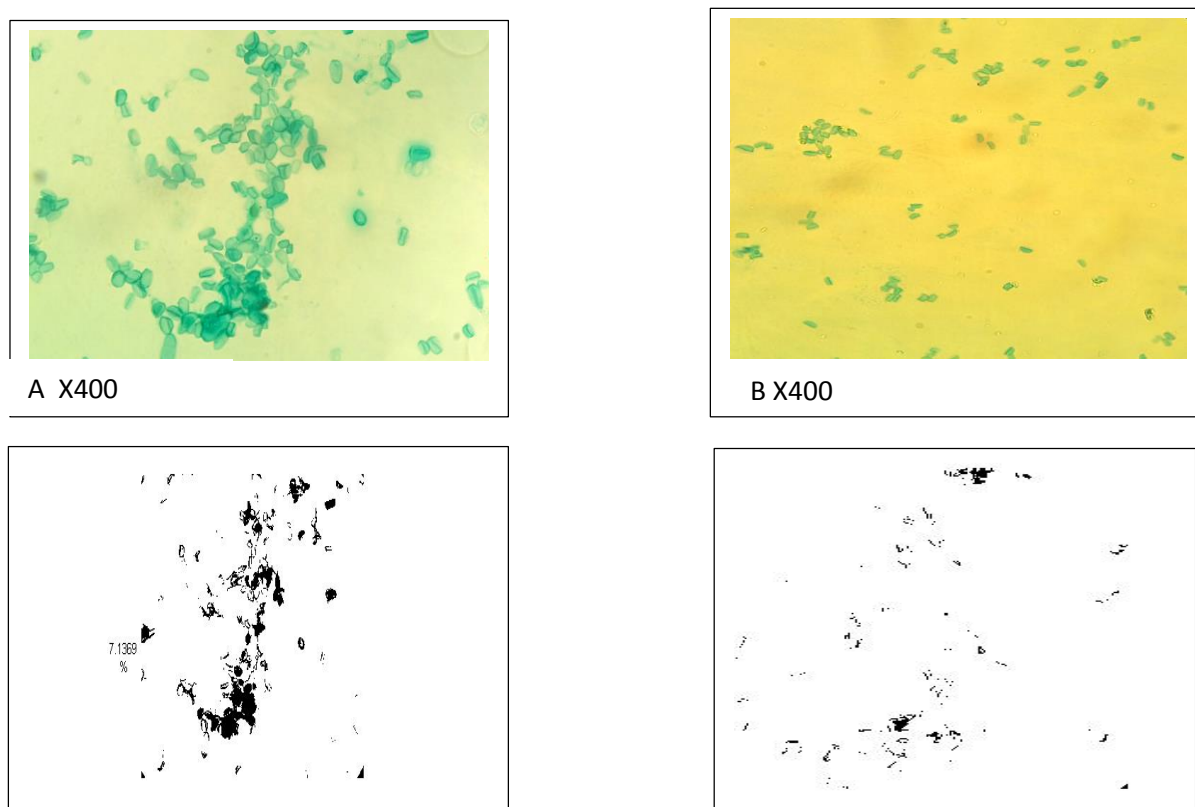


**Figure 39:** Cinétique d'adhésion des spores sur le produit de cirage. Pd = *Penicillium digitatum* et PI = *Penicillium italicum*

Dans ce chapitre, nous avons tenté d'évaluer la capacité des spores à adhérer à la cire. Certaines études ont montré que la capacité des champignons à se fixer sur le substrat est contrôlée par des hydrophobines (Van Wetter et al. 2000; Wösten et al. 1994). Selon les données de la littérature, les ascomycètes et les basidiomycètes filamenteux produisent de petites protéines modérément hydrophobes appelées hydrophobines (Wösten 2001). En raison de leur activité de surface et de leur capacité à former des pellicules protéiques amphiphiles aux interfaces hydrophile-hydrophobe (Linder et al. 2005; Wessels 1997; Wösten et al. 1995; Wösten et de Vocht 2000; Wösten et Wessels 1997), elles ont des structures hydrophobes (Wösten et al. 1994) et affectent la composition de la paroi cellulaire (Van Wetter et al. 2000).

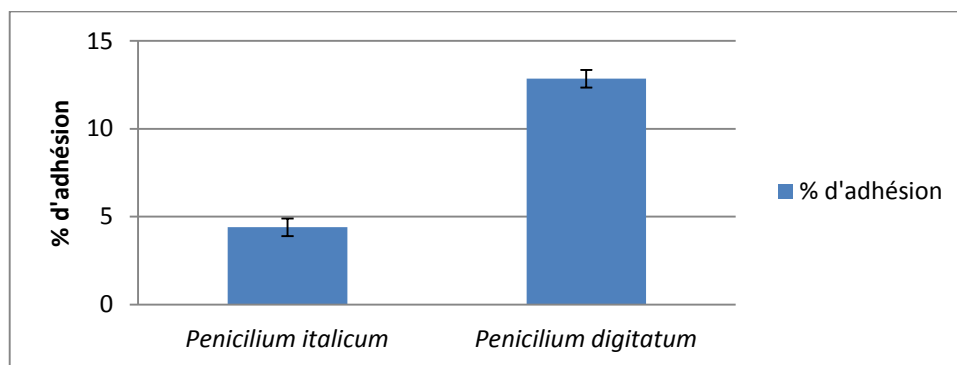
### PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

La première étape de la colonisation consiste en un attachement des spores, généralement considérée comme un facteur de pathogénicité, en les empêchant d'être déplacées de la surface colonisée et en facilitant leur contact étroit avec la surface de l'hôte nécessaire à la signalisation de l'hôte pathogène (Jones EBG 1994). Une vision traditionnelle de l'attachement fongique aux plantes est que les conidies se logent ou sont piégées à la surface des feuilles et que l'attachement actif ne se produit pas avant la formation d'hyphes fongiques (Ni-Cholson RL1991).



**Figure 40:** Observation microscopique et traitement Matlab des spores de *P. digitatum* (A) et *P. italicum* (B). Les spores sont adhérentes sur le produit de cirage.

Les résultats obtenus montrent que les spores de *P. digitatum* et de *P. italicum* (Fig.41) adhèrent à la cire. Cette capacité à adhérer à la cire est plus importante pour *Penicillium digitatum* que pour *P. italicum* (figure 42).



**Figure 41:** Pourcentage de surface de cire recouverte de spores de *P. digitatum* et *P.italicum*

D'après l'analyse des images effectuée par le logiciel Matlab, il apparaît que les pourcentages de surface recouverte de spores de *P. digitatum* et de *P. italicum* sont respectivement de 12,8 et 4,3% (figure 43). En revanche, les résultats obtenus précédemment ont montré que les deux spores sont hydrophiles ( $\Delta G_{iwi} > 0$ ). Il est généralement admis que les cellules hydrophobes adhèrent aux surfaces hydrophobes et il en va de même pour les cellules hydrophiles qui adhèrent à des surfaces hydrophiles. En dépit de la valeur positive de  $\Delta G_{iwi}$  sur les deux surfaces de la spore (hydrophile), ces souches ont montré leur capacité à se fixer à la surface de la cire hydrophobe ( $\Delta G_{iwi} < 0$ ). Cela indique que l'hydrophobie seule ne peut pas expliquer cette adhésion sur la cire.

En fait, selon l'approche physico-chimique, les cellules hydrophobes ont tendance à se fixer à un substrat hydrophobe et les cellules hydrophiles ont tendance à se fixer à un substrat hydrophile. De plus, pendant le processus d'adhésion, l'hydrophobicité de la surface cellulaire a été décrite comme l'une des propriétés les plus importantes régissant l'adhésion (**Busscher et Weerkamp 1987**).

Nos résultats sont en accord avec cette approche qui a rapporté que l'hydrophobicité peut expliquer les résultats de l'adhésion microbienne sur un support. D'un autre côté, nos résultats montrent que la cire présente des propriétés accepteur/donneur d'électrons. Ces résultats ne sont pas surprenants et sont en accord avec les travaux précédents (**De Meijer et al. 2000**) qui ont trouvé une valeur similaire pour les composantes acide-base. En revanche, les spores de *P. digitatum* et *P. italicum* présentent une forte propriété de donneur d'électrons et une faible propriété d'accepteur d'électrons. Ainsi, les interactions acide-base entre le caractère donneur d'électrons des deux spores *P. digitatum* ( $\gamma^- = 42,60 \text{ mJ} / \text{m}^2$ ) et *P. italicum* ( $\gamma^- = 36,46 \text{ mJ} / \text{m}^2$ ) et le caractère accepteur d'électrons de la cire ( $\gamma^+ = 0,066 \text{ mJ} / \text{m}^2$ ) pourraient contribuer à l'adhésion sur le revêtement de cire d'agrumes. Ces résultats concordent avec ceux



rapportés dans l'article de (**Hamadi et al. 2005, 2009**). Ils ont constaté que les interactions acide-base étaient un facteur important dans la médiation de l'adhésion cellulaire à une grande variété de surfaces.

Les propriétés de la surface cellulaire dépendent essentiellement de sa composition chimique (**Pelletier et al. 1997 ; Latrache et al. 2002; Djeribi et al. 2013**). La nature hydrophobe / hydrophile des spores pourrait dépendre du rapport protéines / glucides. Les spores à surface hydrophobe sont censées contenir un rapport protéines / glucides plus élevé que les spores hydrophiles (**Jeffs et al. 1999**).

À notre connaissance, en comparant entre le phénomène d'adhésion expérimental des spores et la prédiction théorique sur le produit de cirage. Comme nos résultats l'ont montré (Tableau 10), les résultats de prédiction théorique ne sont pas les mêmes dans tous les cas étudiés avec ceux illustrés par des images de microscopie optique.

#### **4. L'adhésion de spores de *Penicillium* sur les agrumes traités et non traités par le produit de cirage**

L'adhésion des spores de *P. digitatum* et *P. italicum* aux agrumes a été étudiée. Les résultats présentés sur la figure 43 ont montré que les spores de *P. digitatum* et de *P. italicum* sont capables d'adhérer à tous les agrumes traités par enrobage de cire et les agrumes non traités. Le taux d'adhérence des spores le plus élevé a été observé sur agrumes traités par le produit de cirage (Valencia ( $10200 \times 10^6$  CFU / cm<sup>2</sup>) et mandarine ( $24 \times 10^6$  CFU / cm<sup>2</sup>)). Les taux d'adhérence des spores les plus faibles ont été observés chez les agrumes non traité Mandarine ( $11 \times 10^6$  CFU / cm<sup>2</sup>). Les spores de *P. italicum* adhèrent également de manière significative aux agrumes Navel ( $58 \times 10^6$  CFU / cm<sup>2</sup>). Les agrumes traités par le produit de cirage sont les plus prometteurs pour l'adhésion des 3 souches de spores que les agrumes non traité pour le produit de cirage des agrumes.

Bien que les recherches sur l'adhérence aux surfaces végétales soient rares, on sait que la sécrétion de mucilage, qui est formée de plusieurs composés chimiques tels que les sucres et les protéines, aide les bactéries à se développer sur les surfaces végétales (**Brandl & Amundson, 2008**).

**Tableau 10: Adhésion des spores de *Penicillium* sur des agrumes traités et non traités par le produit de cirage. Pd = *Penicillium digitatum*, PI = *Penicillium italicum* et GC = *Geotricum candidum***

	Les agrumes non traités par le produit de cirage			Les agrumes traités par le produit de cirage		
	PI	Pd	GC	PI	Pd	PI
<b>Navel</b>	3 (0,7)	23 (0,1)	10 (0,5)	40 (0,9)	56 (0,6)	33 (0,3)
<b>Mandarine</b>	6800 (0,4)	11 ( 0,3)	7200 (0,2)	10200 (2,8)	35 (2,8)	8500 (2,1)
<b>Valencia</b>	10500 (3,2)	10700 (2,3)	24400 (0,7)	216000 (1,7)	20300 (0,5)	31000 (1,5)

Les résultats d'adhésion des spores sur les agrumes non traités et traités par le produit de cirage montrent que ce traitement favorise le phénomène d'adhésion des spores de *P. digitatum*, *P. italicum* sur les agrumes traités plus que les agrumes non traités.

### Conclusion :

L'adhésion expérimentale de *P. digitatum* et *P. italicum* a été évaluée dans ce travail. Le test d'adhésion a montré que les spores peuvent adhérer au produit de cirage qui a un pouvoir adhésif élevé vis-à-vis des spores étudiées. Nous concluons que les spores adhèrent à la cire qui peut être une source de contamination des agrumes lors du stockage. L'enrobage des agrumes par la cire est donc inefficace, montrant une autre modification des propriétés de la cire et pourrait être une alternative à la contamination post-récolte par les deux champignons *P. digitatum* et *P. italicum*.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Les travaux présentés dans cette thèse représentent une recherche innovante qui se focalise sur l'étape initiale du processus de formation des biofilms, à savoir l'adhésion des spores fongiques aux surfaces solides des agrumes, des supports utilisés dans la chaîne de conditionnement des agrumes et le produit de cirage. Ces travaux ont été réalisés dans le but d'analyser le risque de contamination des agrumes et de bien comprendre le mécanisme d'adhésion des spores fongiques afin de limiter les problèmes engendrés par les biofilms.

L'analyse bibliographique a en effet montré que l'adhésion des microorganismes à des surfaces solides est un phénomène gouverné et conditionné par des interactions physico-chimiques dont les plus importantes sont : les interactions acido-basiques, les interactions électrostatiques, et celles qui sont dues à l'hydrophobicité. Ce phénomène fait intervenir trois paramètres : le support solide, la cellule microbienne et le milieu environnant. L'étude de ces trois paramètres dans le phénomène d'adhésion conduit directement à sa compréhension, et par conséquent à proposer des solutions pour limiter et même inhiber l'adhésion microbienne au niveau des agrumes, matériaux d'emballages utilisés dans l'industrie de conditionnement des agrumes et produit de cirage.

Notre étude s'est focalisée essentiellement sur la compréhension du phénomène d'adhésion des spores fongiques sur les substrats étudiés.

La troisième partie de ce travail a traité trois axes :

Le premier axe est consacré à l'étude de l'adhésion expérimentale des spores fongiques sur trois variétés des agrumes. Les résultats ont montré que les spores de trois souches sont capables d'adhérer sur toutes les trois variétés des agrumes. L'adhésion prédictive permet une classification des agrumes en fonction de leur capacité d'adhésion théorique est comme suit : Mandarine > Valencia > Navel. L'approche théorique n'a pas pu totalement expliquer le phénomène de l'adhésion de ces spores sur les supports étudiés.

Dans le deuxième axe, nous avons déterminé les propriétés physico-chimiques de la surface des supports utilisés. Les résultats ont montré que tous les supports présentent un caractère hydrophobe à l'exception du bois qui est hydrophile. La détermination de la rugosité des supports a fait aussi l'objet de cette étude. Les mesures ont été réalisées par le rugosimètre et les résultats ont montré que le bois a une plus forte rugosité que les autres supports. Par

ailleurs, les résultats de la caractérisation physico-chimique des spores de *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*, deux pathogènes qui attaquent les agrumes en post-récolte, montrent que les spores de la souche *Penicillium digitatum* et *Geotricum candidum* ont un caractère hydrophile, tandis que les spores des souches *Penicillium italicum* présentent un caractère hydrophobe. On note également d'après les résultats obtenus que les spores des deux souches présentent un caractère donneur d'électrons plus élevé par rapport au caractère accepteur d'électrons.

Ensuite nous avons fait appel à l'approche théorique pour prévoir l'adhésion de toutes les spores sur les différents supports étudiés. Les résultats de cette prédiction théorique nous ont permis de faire un classement des différents supports selon leur capacité à défavoriser ou favoriser l'adhésion fongique. Ce classement pour *Penicillium digitatum* est comme suit : (PVC > Bois > Inox 316 > plastique), mais pour les spores de *Penicillium italicum*, l'adhésion est favorisée seulement sur le PVC et l'inox 316. Pour le *getricum* l'adhésion est défavorable pour les supports étudiés.

Les résultats de l'adhésion expérimentale montrent que les spores fongiques des trois souches testées ont la capacité d'adhérer sur les supports étudiés, avec un maximum en amont de la chaîne sur le plastique des caisses de réception, et en aval sur le bois d'emballage.

Dans le troisième axe nous avons montré que le produit de cirage des agrumes à un pouvoir adhésif très important. Ce dernier peut être responsable de la contamination des agrumes en poste récolte.

**Plusieurs perspectives pourraient être envisagées suite aux résultats de cette étude. Parmi ces perspectives nous pouvons signaler ce qui suit :**

- Travailler sur la modification de la composition de produit de cirage en ajoutant des molécules antiadhésives
- Confirmer les statuts hygiéniques des matériaux vis-à-vis les champignons étudiés
- Validation des résultats obtenus par l'adhésion expérimentale en utilisant le MEB ;
- Chercher des outils permettant le contrôle et la prévention de la contamination fongiques des agrumes en poste recolte en testant des extraits de plante antiadhésive des champignons étudiés.

## Références bibliographiques

- Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., & Chihib, N. E. (2014). Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of microbiology*, 196(7), 453-472
- Absolom, D. R., Lamberti, F. V., Policova, Z., Zingg, W., van Oss, C. J., & Neumann, A. W. (1983). Surface thermodynamics of bacterial adhesion. *Applied and environmental microbiology*, 46(1), 90-97 Academic Press, San Diego, pp. 417-XIX. Academic Press, San Diego, pp. 417-XIX. *American*, 238(1), 86-95.
- Aloui, H., Licciardello, F., Khwaldia, K., Hamdi, M., and Restuccia, C. (2015). Physical properties and antifungal activity of bioactive films containing wickerhamomyces anomalus killer yeast and their application for preservation of oranges and control of postharvest green mould caused by *Penicillium digitatum*. *Int. J. Food Microbiol.* 200, 22–30. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.01.01
- Araujo EV, Vendramini PH, Costa JH, Eberlin MN, Montagner CC, Fill TP. Determination of triptoquialanines A and C produced by *Penicillium digitatum* in oranges: Are we safe. *Food Chemistry*. 2019;301:12585
- Amiri A, Danielle Ch, and Gilbert B. 2005. “Adhesion and Germination of Waterborne and Airborne Conidia of *Penicillium Expansum* to Apple and Inert Surfaces.” *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67(1):40–48.
- Amory DE, Mozes N, Hermesse MP, Leonard AJ, Rouxhet PG. (1988). Chemical analysis of the surface of microorganisms by X-ray photoelectron spectroscopy. *FEMS Microbiol. Let.*, 49: 107-110
- Anonyme, 2006. Bilan Campagne agrumicole 2010/2011. Office Régional de Mise en Valeur Agricole du Souss-Massa, Service de production agricole.
- Anonyme. (1998). Les agrumes. Bureau des Ressources Génétiques, plate-forme espèces tropicales et méditerranéennes
- Anonyme. (2001). Citrinae classification. EGID-Citrus Network. Janvier 2001. 39p
- Arnold, J. W., & Bailey, G. W. (2000). Surface finishes on stainless steel reduce bacterial attachment and early biofilm formation: scanning electron and atomic force microscopy study. *Poultry science*, 79(12), 1839-1845.

- Assaidi, A, Ellouali M, Latrache H, Mabrouki M, Timinouni M, Zahir H, Tankiouine S, and Mliji M. 2018. “Adhesion of *Legionella Pneumophila* on Glass and Plumbing Materials Commonly Used in Domestic Water Systems.
- Asther, M., Bellon-Fontaine, M. N., Capdevila, C., & Corrieu, G. (1990). A thermodynamic model to predict *Phanerochaete chrysosporium* INA-12 adhesion to various solid carriers in relation to lignin peroxidase production. *Biotechnology and bioengineering*, 35(5), 477-482.
- Austin, J. W., Sanders, G., Kay, W. W., & Collinson, S. K. (1998). Thin aggregative fimbriae enhance *Salmonella enteritidis* biofilm formation. *FEMS microbiology letters*, 162(2), 295-301.
- Azelmad, K., F. Hamadi, R. Mimouni, K. Amzil, H. Latrache, M. Mabrouki, and A. El Boulani. 2017. “Adhesion of *Staphylococcus Aureus* and *Staphylococcus Xylosus* to Materials Commonly Found in Catering and Domestic Kitchens.” *Food Control* 73:156–63.
- Bagy, khalid H. M. M., Ibtessam, B. F. M., Abou-Zaid, E. A. A., Sabah, B. M., & Nashwa, S. M. A. (2020). Control of green mold disease using chitosan and its effect on orange properties during cold storage. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 54(11–12), 570–585. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1847568>
- Balcázar, J.L., Subirats, J., Borrego, C.M., 2015. The role of biofilms as environmental reservoirs of antibiotic resistance. *Front. Microbiol.* 6, 1216.
- Bayouhdh, S., Othmane, A., Bettaieb, F., Bakhrouf, A., Ouada, H. B., & Ponsonnet, L. (2006). Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Materials Science and Engineering: C*, 26(2), 300-305
- Beattie, G. A., & Marcell, L. M. (2002). Effect of alterations in cuticular wax biosynthesis on the physicochemical properties and topography of maize leaf surfaces. *Plant, Cell and Environment*, 25(1), 1–16. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00804.x>
- Bellon – Fontaine MN, Rault J, Van Oss CJ. (1996). Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron – donor/electron – acceptor or Lewis acid – base properties of microbial cells. *Colloids Surf B.*, 7: 47-53
- Bellon-Fontaine MN, Vernhet A. (1999). Adhésion de particules et de micro-organismes aux surfaces solides. In *Nettoyage, désinfection et hygiène dans les*

- bioindustries, J. Leveau and M. Bouix, eds (Paris: Technique et Documentation Lavoisier)., 25-40.
- Bellon-Fontaine, M. N., Mozes, N., Van der Mei, H. C., Sjollema, J., Cerf, O., Rouxhet, P. G., & Busscher, H. J. (1990). A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell biophysics*, 17(1), 93. blue mould by curing on oranges during ambient and cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 28, 195-198.
  - Bellon-Fontaine, M. N., O. Cerf . 1991. Mechanisms of microorganism adhesion to surfaces: factors influencing the adhesion. *J. Industries alimentaires et agricoles*. 108:13-17.
  - Bellon-Fontaine, M. N., Rault, J., & Van Oss, C. J.(1997). Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 7(1-2), 47-53.
  - Bengourram, J., F. Hamadi, M. Mabrouki, N. Kouider, M. Zekraoui, M. Ellouali, and H. Latrache. 2009. "Relationship between Roughness and Physicochemical Properties of Glass Surface and Theoretical Adhesion of Bacterial Cells." *Physical and Chemical News* 47(January):138–44.
  - Bohinc, K., Dražić, G., Oder, M., Jevšnik, M., Nipič, D., Godič-Torkar, K., & Raspor, P. (2014). Available surface dictates microbial adhesion capacity. *International journal of adhesion and adhesives*, 50, 265-272..
  - Bohinc, K., Dražić, G., Abram, A., Jevšnik, M., Jeršek, B., Nipič, D., ...& Raspor, P. (2016). Metal surface characteristics dictate bacterial adhesion capacity. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 68, 39-46.
  - Boonaert, C. J. et Rouxhet, P. G. (2000). Surface of lactic acid bacteria: relationships between chemical composition and physicochemical properties. *Applied and environmental microbiology*, 66, 6, 2548-2554.
  - Bos, R., Van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (1999). Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions—its mechanisms and methods for study. *FEMS microbiology reviews*, 23(2), 179-230.
  - Boubaker, H., 1993. Etude des problèmes phytosanitaires des fruits d'agrumes en post récolte, *Phytopathologie*. Univ. Cadi Ayyad, Marrakech, p. 117



- Boubaker, H., Saadi, B., Boudyach, E., H. , Ait Ben Oumar, A., 2009. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to Imazalil and Thiabendazole in Morocco. *Plant Pathology Journal* 8, 152-158
- Boulangé – Petermann L, Baroux B, Bellon – Fontaine MN. (1993). The influence of metallic wettability on bacterial adhesion. *J. Adhesion. Sci. Technol.*, 7: 221 -230
- Boulangé-Petermann, L., Rault, J., & Bellon-Fontaine, M. N. (1997). Adhesion of *Streptococcus thermophilus* to stainless steel with different surface topography and roughness. *Biofouling*, 11(3), 201-216.
- Boutaleb N, Latrache H, Sire O. 2008. Bacteria-materials interactions in drinking water pipes. Roles of the environment on the physico-chemical properties of the cell surface. *Techniques Sciences Méthodes*. 11: 73–80.
- Boutrou R, Gueguen M. 2005. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. *International Journal of Food Microbiology* 102:1-20.
- Boutrou R, Aziza M, Amrane A. 2006. Enhanced proteolytic activities of *Geotrichum candidum* and *Penicillium camembertii* in mixed culture. *Enzyme and Microbial Technology* 39:325-33
- Brandl MT, Amundson R (2008) Leaf age as a risk factor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Appl Environ Microbiol* 74:2298–2306. <https://doi.org/10.1128/AEM.02459-07>
- Braindet R, Leriche V, Carpentier B, Bellon Fontaine MN. (1999a). Effects of the growth procedures on the surface hydrophobicity of *Listeria monocytogenes* cell and their adhesion to stainless steel. *J.Food. Protection.*, 62: 994-998.
- Braindet R, Meylheuc T, Maher C, Bellon-Fontaine MN. (1999b). *Listeria monocytogenes* Scott A: Cell surface charge, hydrophobicity and electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 5328-5333..
- Brown, G.E., 1979. Biology and control of *Geotrichum candidum*, the cause of citrus sour rot. *Proc Fla State Hort Soc* 92, 186-189.
- Brown, GE., Eckert, JW., 1988. Compendium of citrus diseases. Whiteside, J.O., Granesy, S.M.et Timmer L.M. (Edits). American Phytopathological Society. 32-38
- Bruinsma, G. M., Rustema-Abbing, M., van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (2001). Effects of cell surface damage on surface properties and adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiological Methods*, 45(2), 95-101.

## Références bibliographiques

- Bunt, C. R., Jones, D. S., & Tucker, I. G. (1995). The effects of pH, ionic strength and polyvalent ions on the cell surface hydrophobicity of *Escherichia coli* evaluated by the BATH and HIC methods. *International journal of pharmaceutics*, 113(2), 257-261
- Buck, J. W., & Andrews, J. H. (1999). Attachment of the yeast *Rhodospordium toruloides* is mediated by adhesives localized at sites of bud cell development. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(2), 465–471. <https://doi.org/10.1128/aem.65.2.465-471.1999>
- Busscher HJ, Bos R, Van der Mei HC, Handley PS. 2000. Physicochemistry of microbial adhesion from an overall approach to the limits. In *Physical chemistry of biological interfaces*. Baszkin, A., and Willem, N. (eds). New York. Basel: Marcel Dekker, Inc, pp 431-458.
- Busscher HJ, Weerkamp AH, Van der Mei HC, Van Pelt AW, De Jong HP, Arends J. (1984). Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. *Appl Environ Microbiol.*, 48: 980-983.
- Busscher, H. J., & Weerkamp, A. H. (1987). Specific and non-specific interactions in bacterial adhesion to solid substrata. *FEMS Microbiology Reviews*, 3(2), 165-173.
- Busscher, H. J. (1990). A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy
- Busscher, H. J., Weerkamp, A. H., van der Mei, H. C., Van Pelt, A. W., de Jong, H. P., & Arends, J. (1984). Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(5), 980-983..
- Carmichael J. 1957. *Geotrichum candidum*. *Mycologia* 49:820-830. 59. Wouters JTM, Ayad EHE, Hugenholtz J, Smit G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal* 12:91-109. 60.
- Carmichael J. 1957. *Geotrichum candidum*. *Mycologia* 49:820-830.
- Characklis WG, Marshall KC. (1990b). *Biofilms*. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y.H.M. Lappin-Scott, J.W. Costerton. *Microbial biofilms*. Cambridge University Press, Cambridge, England
- Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., et al. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic

tissue culture plates: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 996e1006.

- Cerca, N., Pier, G. B., Vilanova, M., Oliveira, R. et Azeredo, J. (2005). Quantitative analysis of adhesion and biofilm formation on hydrophilic and hydrophobic surfaces of clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Research in microbiology*, 156, 4, 506-514.
- Colombo A. (2004). *La culture des agrumes*, De Vecchi. pp. 142.
- Costerton, J. W., Geesey, G. G., & Cheng, K. J. (1978). How bacteria stick. *Scientific*
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D., & James, G. (1994). Biofilms, the customized microniche. *Journal of bacteriology*, 176(8), 2137.
- Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., & Marrie, T. J. (1987). Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology*, 41(1), 435-464
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., & Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms—*Annu. Rev. Microbio*, 49, 711-745.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322
- Cowan MN, Van der Mei HC, Rouxhet PG, Busscher HJ. (1992). Physico-chemical and structural properties of the surfaces of *Peptostreptococcus micros* and *Streptococcus mitis* as compared to those of *mutans streptococci*, *streptococcus sanguis* and *streptococcus salivarius*. *J. Gen. Microbiol.*, 138: 2707-2714
- Cuperus PL, Van der Mei HC, Reid G, Bruce AW, Khoury AH, Rouxhet PG, Busscher HJ. (1993). Physicochemical surfaces characteristics of urogenital and poultry lactobacilli. *J Colloid. Interf. Sci.*, 156: 319-324
- D'Aquino, S., Fadda, A., Barberis, A., Palma, A., Angioni, A., Schirra, M., 2013. Combined effects of potassium sorbate, hot water and thiabendazole against green mould of citrus fruit and residue levels. *Food Chemistry* 141(2), 858–864
- De Hoog GS, Smith MT. 2004. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. *Studies in Mycology*:489-516. 61.
- De Hoog GS, Smith MT. 2011. *Galactomyces Redhead & Malloch* (1977), p 413-420.
- De Hoog GS, Smith MT. 2004. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. *Studies in Mycology*:489-516. 61.

- De Hoog GS, Smith MT. 2011. Galactomyces Redhead & Malloch (1977), p 413-420. In Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T (ed), The Yeasts, 5 ed doi:10.1016/B978-0-444-52149-1.00031-8. Elsevier, London
- De Meijer M, Haemers S, Cobben W, Militz H (2000) Surface energy determinations of wood: comparison of methods and wood species. Langmuir 16:9352–9359
- De Rocca Serra D., Ollitrault P.. 1992. Fruits, 47 (spéc. Agrumes) : p. 115-123.
- P Spiegel-Roy, EE Goldschmidt - 1996 - books.google.com
- Djeribi R, Boucherit Z, Bouchloukh W, et al (2013) A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of Acinetobacter baumannii. Colloids Surfaces B Biointerfaces 102:540–545. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.08.047>
- Desmaures N. 2014. CHEESE | Mold-ripened varieties p409-415. In Tortorello ML (ed), Encyclopedia of Food Microbiology 2nd ed doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00060-4. Academic Press, Oxford
- Di Bonaventura, G., Pompilio, A., Picciani, C., Iezzi, M., D'Antonio, D., Piccolomini, R., 2006. Biofilm formation by the emerging fungal pathogen Trichosporon asahii: development, architecture, and antifungal resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 50, 3269–3276
- Direction régionale d'agriculture Beni-Mellal Khenifra
- Domsch, KH., Gams, N., Anderson, NTH., 1980. Compendium of soil fungi. Academic Pres LTD, London, 859
- Donlon, B. et Colleran, E. (1993). A comparison of different methods to determine the hydrophobicity of acetogenic bacteria. Journal of microbiological methods, 17, 1, 27-37.
- Droby, S., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goldschmidt, E., Porat, R., 2002. Induction of resistance to Penicillium digitatum in grapefruit by the yeast biocontrol agent Candida oleophila. Phytopathology 92, 393-399.
- Dupré, A., & Dupré, P. (1869). Théorie mécanique de la chaleur. Gauthier-Villars
- Eckert J.W., J.R Sievert. & M. Ratnayake, 1994.- Reduction of imazalil effectiveness against citrus green mold in California packinghouses by résistant biotypes of Penicillium digitatum. Plant Diseases, 78, 971-974
- Eckert J.W., 1990.- Impact of fungicide resistance on citrus fruit decay control. In: Managing

- Eckert, J., Sommer, N., 1967. Control of diseases of fruits and vegetables by postharvest
- Eckert, J.W., 1978. Pathological diseases of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food*
- Eckert, J.W., 1990. Impact of fungicide resistance on citrus fruit decay control. ACS Publications, pp. 286-302
- Eckert, J.W., Brown, G.E., 1986. Evaluation of postharvest treatments for citrus fruit. In: Hickey, K.D. (Ed.), *Methods for Evaluating Pesticides for Control of Plant Pathogens*. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp. 92–97
- Eckert, J.W., Brown, G.E., 1988. Sour rot, In : Whiteside, J.O., Garnsey, S.M., Timmer, L.W. (Eds.), *Compendium of Citrus Diseases*. APS Press St Paul MN pp. 37-38.
- Eckert, J.W., Eaks, I.L., 1989. Postharvest Disorders and Diseases of Citrus Fruits. *The Citrus Industry : Crop protection, postharvest technology, and early history of citrus research in California* 5, 179.
- Eckert, 1982 : Les maladies d'après récolte des fruits d'agrumes, des produits maraîchers et leur contrôle. University of California USA. In : 1er Séminaire sur le conditionnement, la conservation et l'emballage des agrumes, Edité par O.C.E, SASMA, IMEC
- Eckert, J.W., Ogawa, J.M., 1985. The chemical control of postharvest diseases : subtropical
- Eckert, J.W., Brown, G.E., 1986. Postharvest citrus diseases and their control. *Fresh citrus fruits*, 315-360
- Eckert, J.W., Brown, G.E., 1988. Sour rot, In : Whiteside, J.O., Garnsey, S.M., Timmer, L.W. (Eds.), *Compendium of Citrus Diseases*. APS Press St Paul MN pp. 37-38.
- Eckert, J.W., Eaks, I.L., 1989. Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: Reuter, W.,
- Eckert, J.W., Ogawa, J.M., 1985. The chemical control of postharvest diseases : subtropical and tropical fruits. *Annual Review of Phytopathology* 23, 421-454.
- Eckert, J.W., Ogawa, J.M., 1988. The chemical control of postharvest diseases : deciduous fruits, berries, vegetables and root/tuber crops. *Annual Review of Phytopathology* 26, 433-469.

- El Abed S, Ibsouda K S, Latrache H, and Boutahari S. 2012. “Theoretical Effect of Cedar Wood Surface Roughness on the Adhesion of Conidia from *Penicillium expansum*.” *Annals of Microbiology* 62(4):1361–66.
- El Abed S, Hamadi F, Latrache H, Iraqui M, Ibsouda KS (2010). Adhesion of *Aspergillus niger* and *Penicillium expansum* spores on Fez cedar wood substrata. *Annals of Microbiology* 60:377–382.
- El Abed S., Mostakim M, Berguadi F, Latrache H, Houari A, Hamadi F, Ibsouda KS (2011) Study of microbial adhesion on some wood species: Theoretical prediction. *Microbiology* 80:43-49.
- Elgoulli, M., Tankiouine, S., Aitlahbib, O., Zahir, H., Louali, M. El, & Latrache, H. (2020). Effect of water temperature on surfaces’ physicochemical properties and adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* in turbulence conditions. *EurAsian Journal of BioSciences Eurasia J Biosci*, 14(April), 7245–7251.
- Eliskases-Lechner F, Guéguen M, Panoff JM. 2011. Yeasts and molds | *Geotrichum candidum*, p 765-771. In Fuquay JW (ed), *Encyclopedia of Dairy Sciences* 2nd ed doi:10.1016/B978-0-12-374407-4.00365-4. Academic Press, San Diego.
- El Ghmari A, Latrache H, Hamadi F, El louali M, El bouadili A, Hakkou A, Bourlioux. 2002. Influence of surface cell structures on physicochemical properties of *Escherichia coli*. *Microbiologica.*, 25:173-178
- Etzler FM, Connors JJ, Connors TE, Banerjee S. (1995). In *Surface Analysis of Paper*. Eds CRC Press: New York., 90.
- Faille, C., DENNIN, L., Bellon-Fontaine, M.N., Bénézech, T. 2002. Cleanability of stainless steel surfaces soiled by *Bacillus thuringiensis* spores under various flow conditions. *Biofouling*. 14 (2), 143-151.
- Faten, K., Hamida, K., El Abed S, E., Souda, Ibsouda. S K., Hasna, M., ... Moktar, H. (2015). *Lactobacillus plantarum* : Effect of a protective biofilm on the surface of olives during storage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.028>
- Fernandes, P. É., José, J. F. B. S., Zerdas, E. R. M. A., Andrade, N. J., Fernandes, C. M., & Silva, L. D. (2014). Influence of the hydrophobicity and surface roughness of mangoes and tomatoes on the adhesion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and evaluation of cleaning procedures using surfactin. *Food Control*, 41, 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.024>

- Faten, K., Hamida, K., Soumya, E. A., Saad, I. S. K., Hasna, M., Hassan, L., & Moktar, H. (2016). *Lactobacillus plantarum*: Effect of a protective biofilm on the surface of olives during storage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.028>
- Fletcher, E. L., Weissman, B. A., Efron, N., Fleiszig, S. M., Curcio, A. J., & Brennan, N. A. (1993). The role of pili in the attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to unworn hydrogel contact lenses. *Current eye research*, 12(12), 1067-1071.
- Fletcher, M. (1996). Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity, American Society for Microbiology. In M. Fletcher (Ed.) (pp. 1e24). Washington DC.
- Fletcher, M. A. D. I. L. Y. N. (1988). Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium-substratum separation distance. *Journal of Bacteriology*, 170(5), 2027-2030.
- Flint, S. H., Brooks, J. D., & Bremer, P. J. (1995). The influence of cell surface properties of thermophilic streptococci on attachment to stainless steel. *Journal of applied microbiology*, 83(4), 508-517
- Flint, S. H., Brooks, J. D., & Bremer, P. J. (2000). Properties of the stainless steel substrate, influencing the adhesion of thermo-resistant streptococci. *Journal of Food Engineering*, 43(4), 235-242.
- Fregard, F. (1991). Rôle des interactions hydrophobes et électrostatiques dans l'adhésion de bactéries méthanogènes aux matériaux de faible énergie de surface (Doctoral dissertation, Lille 1).
- Galiana, E., Fourré, S., Engler, G., 2008. *Phytophthora parasitica* biofilm formation: installation and organization of microcolonies on the surface of a host plant. *Environ. Microbiol.* 10, 2164–2171
- Gallardo-Moreno, A. M., Gonzalez-Martin, M. L., Bruque, J. M., Perez-Giraldo, C., & GomezGarcia, A. C. (2002). Temperature influence on the physicochemical surface properties and adhesion behaviour of *Enterococcus faecalis* to glass and silicone. *Journal of adhesion science and technology*, 16(9), 1215-1223
- Gallardo-Moreno, A. M., González-Martín, M. L., Perez-Giraldo, C., Bruque, J. M., & GomezGarcia, A. C. (2004). The measurement temperature: an important factor relating physicochemical and adhesive properties of yeast cells to biomaterials. *Journal of colloid and interface science*, 271(2), 351-358

- Gallardo-Moreno, M., M. L. Gonzalez-Martin, C. Pérez-Giraldo, E. Garduno, J. M. Bruque, et Gavin, R., Merino, S., Altarriba, M., Canals, R., Shaw, J. G., Tomas, J. M. (2003). "Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by *Aeromonas* spp." *FEMS Microbiol. Lett.* 224: 77.
- Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Cíz, M., Caspi, A., Libman, I., Trakhtenberg, S., 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food chemistry* 74, 309-315.
- Gueguen M, Jacquet J. 1982. Études sur les caractères culturaux et la morphologie de *Geotrichum candidum* Link. *Le Lait* 62:625-644
- Gueguen M, Jacquet J. 1982. Études sur les caractères culturaux et la morphologie de *Geotrichum candidum* Link. *Le Lait* 62:625-644. 69. Alper IA. 2013.
- Gullino ML, Kuijpers LAM. 1994. Social and political implications of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 559-579.
- Harding, M.W., Marques, L.L., Howard, R.J., Olson, M.E., 2010. Biofilm morphologies of plant pathogenic fungi. *Am. J. Plant Sci. Biotechnol.* 4, 43–47
- Hamadi F, Asserne F, Elabed S, Bensouda S, Mabrouki M, Latrache H. 2014. Adhesion of *Staphylococcus aureus* on stainless steel treated with three types of milk. *Food Control.* 38:104–108.
- Hamadi F, Latrache H. (2008). Comparaison of contact angle measurement and microbial adhesion to solvents for assaying electron donor-electron acceptor properties of bacterial surface. *Colloids and Surfaces B biointerfaces.*, 65134-139.
- Hamadi, F., Latrache, H., Zahir, H., Bengourram, J., Kouider, N., Elghmari, A., & Habbari, K. (2011). Evaluation of the relative cell surface charge by using microbial adhesion to hydrocarbon. *Microbiology*, 80(4), 488.
- Hamadi, F., Latrache, H., Zahir, H., El Abed, S., Ellouali, M., & Saad, I. K. (2012). The relation between the surface chemical composition of *Escherichia coli* and their electron donor/electron acceptor (acid-base) properties. *Research Journal of Microbiology*, 7(1), 32
- Hamadi, F., Asserne, F. & Elabed, S. (2014). Adhesion of *Staphylococcus aureus* on stainless steel treated with three types of milk. *Food Control*, 38, 104-108
- Hamadi, F., H. Latrache, A. El Ghmari, M. Ellouali, M. Mabrouki, et N. Kouider. 2004. Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron



acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *An. microbiol.*, 54 :213-225.

- Hamadi, F., H. Latrache, M. Mabrrouki, A. Elghmari, A. Outzourhit, M. Ellouali, et A.Chtaini. 2005. Effect of pH on distribution and adhesion of *Staphylococcus aureus* to glass. *J. adhesion science and technology*, 19:73-85.
- Hamadi, F., Latrache, H., & Zekraoui, M., (2009). Effect of pH on surface energy of glass and teflon and theoretical prediction of *Staphylococcus aureus* adhesion. *Materials Science and Engineering*,29, 1302-1305.
- Hamadi, F., Latrache, H., El Ghmari, A., Ellouali, M., Mabrrouki, M., & Kouider, N. (2004). Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *ANNALS OF MICROBIOLOGY.*, 54, 213-226.
- Hamadi, F., Latrache, H., Mabrrouki, M., Elghmari, A., Outzourhit, A., Ellouali, M., & Chtaini, A. (2005). Effect of pH on distribution and adhesion of *Staphylococcus aureus* to glass. *Journal of adhesion science and technology*, 19(1), 73-85.
- HAMIDI O., 1999: Etude de sensibilité des isolats de *penicillium digitatum* au Thiabendazole et à l'Imazalil utilisés en poste récolte des agrumes. Mémoire de fin d'études du 3ème cycle. Horticulture. IAV Hassan II.AGADIR.
- Hammer GE, Drzal LT. (1980). *Appl. Surf. Sci.*, 4, 340
- Harkes G., Feijen J., Dankert J. Adhesion of *Escherichia coli* on to a series of poly(methacrylate) differing in charge and hydrophobicity *Biomaterials* 1991 ; 12 : 853-860 .
- Henriques M., Azeredo J. et Oliveira R. (2004). Adhesion of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to acrylic and hydroxyapatite. *Colloids surf B.* 33, 235-241
- HERALD, P. J., & ZOTTOLA, E. A. (1988). Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel surfaces at various temperatures and pH values. *Journal of Food science*, 53(5), 1549-1562
- Hilbert, L., Bagge-Ravn, R. D., Kold, J., & Gram, L. (2003). Influence of surface roughness of stainless steel on microbial adhesion and corrosion resistance. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52, 175-185.
- Hoffman W. (1983). CIP of straight pipes as a function of surface roughness and other factors. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Agrarwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität, Keil.

- Holmes, G., Eckert, J., Pitt, J., 1994. Revised description of *Penicillium ulaiense* and its role as a pathogen of citrus fruits. *Phytopathology* 84, 719-727
- <http://www.agrimaroc.ma/2-millions-de-tonnes-dagrumes-produits-par-an-au-maroc/>
- Huang, Norden E., Zheng Shen, Steven R. Long, Manli C. Wu, Hsing H. Shih, Nai-chyuan Yen, Chi Chao Tung, and Henry H. Liu. 1996. “The Empirical Mode Decomposition and the Hilbert Spectrum for Nonlinear and Non-Stationary Time Series Analysis.
- In Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T (ed), *The Yeasts*, 5 ed doi:10.1016/B978-0-444-52149-1.00031-8. Elsevier, London. 62
- Ismail, H., Lemriss, S., Ben Aoun, Z., Mhadhebi, L., Dellai, A., Kacem, Y., Boiron, P., Bouraoui, A., 2008. Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean sea cucumber, *Holothuria polii*. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology* 18, 23-26.
- Ismail, M., Zhang, J., 2004. Post-harvest citrus diseases and their control. *Outlooks on Pest Management* 15, 29-35.
- Jana, T. K., Srivastava, A. K., Csery, K., & Arora, D. K. (1999). Influence of growth and environmental conditions on cell surface hydrophobicity of *Pseudomonas fluorescens* in non-specific adhesion. *Canadian journal of microbiology*, 46(1), 28-37.
- Jeffs, Lloyd B., Ilungo J. Xavier, Russell E. Matai, and George G. Khachatourians. 1999. “Relationships between Fungal Spore Morphologies and Surface Properties for Entomopathogenic Members of the Genera *Tolypocladium*, and *Verticillium*.” 948:936–48.
- Jones K, Bradshaw SB (1997) Synergism in biofilm formation between *Salmonella enteritidis* and a nitrogen-fixing strain of *Klebsiella pneumoniae*. *J Appl Microbiol* 82:663–668
- Jones, M. J., & Murrin, K. R. (1987). Intercostal block with cryotherapy. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 69(6), 261–262. <https://doi.org/10.1097/00132586-198808000-00024>
- Jucker BA., Harms H. et Zehnder AJB. (1996) Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to glass and Teflon. *J.Bacteriol.* 178, 5472-5479.
- Kennedy, M. J., Rogers, A. L., Hanselmen, L. R., Soll, D. R., & Yancey, R. J. (1988). Variation in adhesion and cell surface hydrophobicity in *Candida albicans* white and

- opaque phenotypes. *Mycopathologia*, 102(3), 149–156.  
<https://doi.org/10.1007/BF00437397>
- Kerr A, Beveridge C, Cowling M, Hodgkiess T, Parr A, Smith M.J. (1999). Some factors affecting the accumulation of biofouling. *Journal of marine biology Ass. U.K.*, 79(2): 357-359
  - Klein, J. D., & Lurie, S. (2018). Heat Treatments for Improved Postharvest Quality of Horticultural Crops. *HortTechnology*, 2(3), 316–320.  
<https://doi.org/10.21273/horttech.2.3.316>
  - Kouider, N., F. Hamadi, B. Mallouki, J. Bengourram, M. Mabrouki, and M. Zekraoui. 2009. “INTERNATIONAL JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCES FULL LENGTH RESEARCH PAPER Effect of Stainless Steel Surface Roughness on Staphylococcus Aureus Adhesion.” 4(1):1–7.
  - Lachhab N, Sanzani MS, Fallanaj F, Youssef K, Nigro F, Boselli M, Ippolito A. 2015. Protein hydrolysates as resistance inducers for controlling green mould of citrus fruit. *Acta Hortic.* 1065:203.
  - Lampin, M., C. Legris, and M. Degrange. 1997. “Correlation between Substratum Roughness and Wettability, Cell Adhesion, and Cell Migration - Lampin - 1998 - Journal of Biomedical Materials Research.Pdf.” *Journal of Biomedical Materials Research.* 36:99–108.
  - Langsrud, S., Sidhu, M. A., Heir, E., & Holck, A. L. (2003). Bacterial disinfectant resistance a challenge for the food industry. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 283–290.
  - Latrache H, Moses N, Pelletier C, Bourlioux. (1994). Chemical and physicochemical properties of *Escherchia coli* :Variations among three strains and influence of culture conditions. *Colloid Surf B.*, 2 47-56.
  - Leclercq-Perlat MN, Lalande M. (1994). Cleanability in relation to surface chemical composition and surface fnishing of some materials commonly used in food industries. *J Food Eng.*, 23:501-517
  - Liu, X., Wang, L., Li, Y., Li, H., Yu, T., Zheng, X., 2009b. Antifungal activity of thyme oil against *Geotrichum citri aurantii* in vitro and in vivo. *Journal of applied microbiology* 107, 1450-1456

- Luro F.. 1989. Obtention de fragments d ADN génomique révélant un polytophisme de la taille des fragments de restriction. RFLP. chez les agrumes. DEA Biologie-Santé. Université de Bordeaux II.
- Luro, F., Rist, D., & Ollitrault, P. (2001). Evaluation of genetic relationships in citrus genus by means of sequence tagged microsatellites. *Acta Hort. (ISHS)*, 546, 237-242
- Magnusson KE, Stendahl O, Tagesson C, Edebo L, Johansson G. (1977). The tendency of smooth and rough salmonella typhimurium bacteria and lipopolysaccharide to hydrophobic and ionic interaction, as studied in aqueous polymer two-phase systems. *Acta Path Microbiol Scand Sect B.*, 85 : 212-218
- Marshall, K. C. (1985). Mechanisms of bacterial adhesion at solid-water interfaces. In *Bacterial adhesion* (pp. 133-161). Springer, Boston, MA.
- Marshall, R. T. (1992). *Standard methods for the examination of dairy products.*
- Maldonado R, Lopes D, Aguiar-Oliveira E, Kamimura E, Macedo G. 2017. A review on Geotrichum lipases: Production, purification, immobilization and applications. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 30:439-454.
- Masurovsky EB, Jordan WK. (1958). Studies on the relative bacterial cleanability of milk contact surfaces. *J Dairy Sci.*, 41:1342-1358.
- McEldowney, S., & Fletcher, M. (1986). Variability of the influence of physicochemical factors affecting bacterial adhesion to polystyrene substrata. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(3), 460-465
- Mercier, J., Smilanick, J.L., 2005. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*. *Biological control* 32, 401-407.
- Mercier, J., Smilanick, J.L., 2005. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*. *Biological control* 32, 401-407
- Microorganisms to solid substrata. *Cell biophysics*, 17(1), 93
- Mozes N, Amory DE, Leonard AJ, Rouxhet PG. (1989). Surface properties of microbial cells and their role in adhesion and flocculation. *Colloid Surf.*, 42: 313 –329.
- Mozes, N., Léonard, A., & Rouxhet, P. G. (1988). On the relations between the elemental surface composition of yeasts and bacteria and their charge and hydrophobicity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 945(2), 324-334.
- Neu, T. R. (1996). Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces. *Microbiological reviews*, 60(1), 151

- Nicholson, R. L., & Epstein, L. (1991). Adhesion of Fungi to the Plant Surface. The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals, 3–23. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2635-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2635-7_1)
- O’Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular microbiology*, 30(2), 295-304.
- Oliveira, R., Azeredo, J., Teixeira, P., & Fonseca, A. P. (2001). The role of hydrophobicity in bacterial adhesion. In P. Gillbert, D. Allson, M. Brading, J. Verran, & J. Walker (Eds.), *Biofilm community interaction: change or necessity?* (pp. 11e22).bioline Cardiff UK.
- Oliveria, K., Oliveira, T., Teixeira, P., Azeredo, J., Henriques, M., & Oliveira, R. (2008). Comparison of the adhesion ability of different *Salmonella* Enteritidis serotypes to materials used in kitchens. *Journal of Food Protection*, 69, 2352-2356.
- Palou, L., Usall, J., Smilanick, J.L., Aguilar, M.J., Vinas, I., 2002. Evaluation of food additives and low toxicity compounds as alternative chemicals for the control Of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. *Pest management*
- Palou, L., Usall, J., Smilanick, J.L., Aguilar, M.J., Vinas, I., 2002. Evaluation of food additives and low toxicity compounds as alternative chemicals for the control of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. *Pest management science* 58, 459-466.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Droby, S., 2008. Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharvest Review* 4, 1-16-
- Palou, L., Smilanick, J.L., Usall, J., Viñas, I., 2001. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. *Plant disease* 85, 371-376.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Crisosto, C.H., 2009. Evaluation of food additives as alternative or complementary chemicals to conventional fungicides for the control of major postharvest diseases of stone fruit. *Journal of Food Protection* 72; 72, 1037-1046.
- Papoutsis, K., Mathioudakis, M. M., Hasperué, J. H., and Ziogas, V. (2019). Nonchemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus caused

by *Penicillium digitatum* (Green Mold) and *Penicillium italicum* (Blue Mold). *Trends Food Sci. Technol.* 86, 479–491. doi: 10.1016/j.tifs.2019.02.053

- Partt – Terpstra IH., Weerkamp AH. et Busscher HJ. (1988) On a relation between interfacial free energy dependent and non – interfacial free energy dependent adherence of oral streptococci to solid substrata. *Curr. Microbiol.* 16, 311 – 313.
- Pedersen K. (1990) Biofilm development of stainless steel and PVC surfaces in drinking water. *Water Res* 24:239–243.
- Pedersen, K., Holmström, C., Olsson, A. K., & Pedersen, A. (1986). Statistic evaluation of the influence of species variation, culture conditions, surface wettability and fluid shear on attachment and biofilm development of marine bacteria. *Archives of microbiology*, 145(1), 1-8
- Peiqian, L., Xiaoming, P., Huifang, S., Jingxin, Z., Ning, H., Birun, L., 2014. Biofilm formation by *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Cucumerinum* and susceptibility to environmental stress. *FEMS Microbiol. Lett.* 350, 138–145.
- Pelletier C, Bouley C, Cayuela C, Bouttier S, Bellon–Fontaine MN. (1997). Cell surface characteristics of *Lactobacillus caesi* subsp.*casei*. *Lactobacillus paracasei* subsp.*paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* strains. *App. Environ. Microbiol.*, 63: 1725-1731.
- Pembrey, R. S., Marshall, K. C., & Schneider, R. P.(1999). Cell surface analysis techniques : what do cell preparation protocols do to cell surface properties ? *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 2877-2894.
- Peng, J. S., Tsai, W. C., & Chou, C. C. (2001). Surface characteristics of *Bacillus cereus* and its adhesion to stainless steel. *International Journal of Food Microbiology*, 65(1-2), 105-111.
- Polev DE, Bobrov KS, Eneyskaya EV, Kulminskaya AA. 2014. Draft genome sequence of *Geotrichum candidum* strain 3C. *Genome Announcements* 2:e00956-00914. 23.
- Planchon, S., Gaillard-Martinie, B., Dordet-Frisoni, E., Bellon-Fontaine, M. N., Leroy, S., Labadie, J., ... & Talon, R. (2006). Formation of biofilm by *Staphylococcus xylosus*. *International journal of food microbiology*, 109(1), 88-96
- Plaza, P., Usall, J., Torres, R., Lamarca, N., Asensio, A., Viñas, I., 2003 , P., Usall, J., Torres, R., Lamarca, N., Asensio, À., Viñas, I., 2003. Control of green and blue mould by curing on oranges during ambient and cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 28, 195-198

- Plaza P, Sanbruno A, Ushall J, Lamarca N, Torres R, Pons J. Integration of curing treatments with decreeing to control the main postharvest diseases of Calentine mandarines. *Post-harvest biology and technology*. 2004;34:29-37
- Pottier I, Gente S, Vernoux J-P, Guéguen M. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum*. *International Journal of Food Microbiology* 126:327-332. 64.
- Rohm H, Eliskases-Lechner F, Bräuer M. 1992. Diversity of yeasts in selected dairy products. *Journal of Applied Bacteriology* 72:370-376. 65.
- Rosslenbroich HJ, Stuebler D. 2000. *Botrytis cinerea* history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Prot.* 19(8-10):557–561.
- Romano ML, Gullino ML, Garibaldi A. 1983. Evaluation of the sensitivity to several fungicides of postharvest pathogens in North- western Italy. *Meded. Fac. Landbouwwet. Gent* 48 : 591- 602.
- Rubio C. (1998). Caractérisation de l'adsorption de la SAB sur des surfaces de chrome et d'acier inoxydable AISI 304, conséquences sur l'adhésion de *Pseudomonas fragi* K1. Orsay., p. 2
- Rutter, P. R. (1980). The adhesion of microorganisms to surfaces : physico-chemical aspects. *Microbial adhesion to surfaces*.
- Sadiki M, El Abed S, Barkai H, Laachari F, and Ibn souda K I. 2015. “The Impact of *Thymus Vulgaris* Extractives on Cedar Wood Surface Energy: Theoretical and Experimental of *Penicillium* Spores Adhesion.” *Industrial Crops and Products* 77:1020–27.
- Sallam NMA, Badawy IFM, Ibrahim RA. 2012. Biocontrol of green mold of orange using some yeasts strains and their effects on postharvest quality parameters. *Int. J Plant Pathol.* 3(1):14–24.
- Scheuerman, T. R., Camper, A. K., & Hamilton, M. A.(1998). Effects of substratum topography on bacterial adhesion. *Journal of colloid and interface science*, 208(1), 23-33. *science* 58, 459-466.
- Scora, R. W. (1988). Biochemistry, taxonomy and evolution of modern cultivated citrus. Paper presented at the VIth International Citrus Congress.
- Silva, S., teixeira, P., oliveira, R., & azeredo, J. (2008). Adhesion to and viability of *Listeria monocytogenes* on food contact surfaces. *Journal of Food Protection*, 71, 1379e1385.

- Simões, L.C., Simes, M., Oliveira, R., Vieira, M.J. (2007). Potential of the adhesion of bacteria isolated from drinking water to materials. *Journal of Basic*
- Simões, Lúcia Chaves, Manuel Simões, Rosário Oliveira, and Maria João Vieira. 2007. “Potential of the Adhesion of Bacteria Isolated from Drinking Water to Materials.” 174–83.
- Simoes, M., Simões, L. C., Machado, I., Pereira, M. O., & Vieira, M.J. (2006). Control of flow-generated biofilms using surfactants – evidence of resistance and recovery. *Food and Bioproducts Processing*, 84, 338–345. Simões et al. (2008)
- Simon, S. S., & Sanjeev, S. (2007). Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food control*, 18(12), 1565-1568.
- Virginia S and Lima N. 2012. “Surface Hydrophobicity of Culture and Water Biofilm of *Penicillium* Spp.” *Current Microbiology* 64(2):93–99.
- Sjollem J., Van der Mei HC., Wugen HM. et Busscher HJ. (1990) The influence of collector and bacterial cell surface properties on the deposition of oral streptococci in a parallel plate flow cell. *J. Adhesion. Sci. Technol.*, 4, 765- 777.
- Sommer, N.F., 1982. Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit. *Plant disease* 66, 357-364.
- Spiegel-Roy P., Goldschmidt E.E. (1996). *The biology of Citrus*, Cambridge University Press, 239 p.
- El abed S, Mostakim M, Berguadi F, Latrache H, Houari A, Hamadi F, and Ibsouda k S. 2011. “Study of Microbial Adhesion on Some Wood Species: Theoretical Prediction.” *Microbiology* 80(1):43–49.
- El abed S, Ibsouda K S, Houari A, and Latrache H. 2013. “Experimental and Theoretical Investigations of the Adhesion Time of *Penicillium* Spores to Cedar Wood Surface.” *Materials Science and Engineering C* 33(3):1276–81.
- Stanley PM. (1983). Factors Affecting the Irreversible Attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to Stainless Steel. *Canadian Journal of Microbiology.*, 29: 1493-1499.
- Spotts RA, Cervantes LA. 1986. Populations, pathogenicity, and benomyl resistance of *Botrytis* spp., *Penicillium* spp., and *Mucor piriformis* in packinghouses. *Plant Dis.* 70: 106- 108.



- Swingle W. T., Reece P. C., 1967. The botany of Citrus and its wild relatives. In W. Reuther L.D. Batchelor & H. J. Webber: The Citrus Industry Vol I. University of California Berkeley. 190-130.
- Tanaka T., 1961. Citrologia: semi centennial commemoration papers on citrus studies. Citrologia supporting foundation. Osaka. Japan 114 pp.
- Technology, 32(6), 321-326
- Teixeira P, Oliveira R. 1999. Influence of surface characteristics on the adhesion of *Alcaligenes denitrificans* to polymeric substrates. J Adhes Sci Technol. 13:1287–1294 .
- Teixeira, P., & Oliveira, R. (1999). Influence of surface characteristics on the adhesion of *Alcaligenes denitrificans* to polymeric substrates. Journal of adhesion science and technology, 13(11), 1287-1294.
- Teixeira, P., Lima, J., Azeredo, J., & Oliveira, R. (2008). Adhesion of *Listeria monocytogenes* to materials commonly found in domestic kitchens. International journal of food science & technology, 43(7), 1239-1244
- Teixeira, P., Silva, S., Araújo, F., Azeredo, J. & Oliveira, R. (2007). Bacterial Adhesion to Food Contacting Surfaces. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology treatment. Annual Review of Phytopathology 5, 391-428.
- Theodorakopoulos, N., Govetto, B., Industri, B., Mass, L., Gaysinski, M., Deleury, E., Mura, C., Marais, A., Arbiol, G., Burger, A., Gourgues, M., Panabières, F., Ponchet, M., Galiana, E., 2011. Biology and ecology of biofilms formed by a plant pathogen *Phytophthora parasitica*: from biochemical ecology to ecological engineering. Procedia Environ. Sci. 9, 178–182.
- Thornton CR, Slaughter DC, Davis RM. 2010. Detection of the sour-rot pathogen *Geotrichum candidum* in tomato fruit and juice by using a highly specific monoclonal antibody-based ELISA. International Journal of Food Microbiology 143:166-172. 63.
- Tripathi, P., Dubey, N., 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Postharvest Biology and Technology 32, 235-245.
- Tripathi, P., Dubey, N., Banerji, R., Chansouria, J., 2004. Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants in management of post-harvest rotting of citrus fruits. World Journal of Microbiology and Biotechnology 20, 317-321.

- Li, J., Wang, N., 2014. Foliar application of biofilm formation–inhibiting compounds enhances control of citrus canker caused by *Xanthomonas citri* subsp. *Citri*. *Phytopathology* 104, 134–142.
- Liu, Y., Heying, E., and Tanumihardjo, S. A. (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 11, 530–545. doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x
- Marques, L.L.R., Ceri, H., Manfio, G.P., Reid, D.M., Olson, M.E., 2002. Characterization of biofilm formation by *Xylella fastidiosa* in vitro. *Plant Dis.* 86, 633–638. Martinez, L.R., Casadevall, A., 2005. Specific antibody can prevent fungal biofilm formation and this effect correlates with protective efficacy. *Infect. Immun.* 73, 6350–6362
- Moretto, C., Cervantes, A.L., Batista Filho, A., Kupper, K.C., 2014. Integrated control of green mold to reduce chemical treatment in post-harvest citrus fruits. *Scientia horticultrae* 165, 433–438
- Nwanyanwu, C., Alisi, C., Nweke, C. et Orji, J. (2012). Cell surface properties of phenol-utilizing bacteria isolated from petroleum refinery wastewater. *J Res Biol*, 2, 383-391.
- Van der Mei HC, Brokkep, Dankret J, Feijen J, Rouxhet PG, Busscher HJ. (1989). Physicochemical surface properties of nonencapsulated and encapsulated coagulase negative staphylococci. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 2806-2814.
- Van der Mei, H. C., De Vries, J., & Busscher, H. J. (1993). Hydrophobic and electrostatic cell surface properties of thermophilic dairy streptococci. *Applied and environmental microbiology*, 59(12), 4305-4312.
- Van Loosdrecht, M. C., Lyklema, J., Norde, W., & Zehnder, A. J. (1989). Bacterial adhesion: a physicochemical approach. *Microbial Ecology*, 17(1), 1-15.
- Van Loosdrecht, M. C., Norde, W., & Zehnder, A. J. B. (1990). Physical chemical description of bacterial adhesion. *Journal of biomaterials applications*, 5(2), 91-106
- Van Oss, C. J., Good, R. J., & Chaudhury, M. K. (1986). The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in “hydrophobic interactions” between biopolymers and low energy surfaces. *Journal of colloid and Interface Science*, 111(2), 378-390.
- Van Pelt, A. W., Weerkamp, A. H., Uyen, M. H., Busscher, H. J., de Jong, H. P., & Arends, J. (1985). Adhesion of *Streptococcus sanguis* CH3 to polymers with

- different surface free energies. *Applied and environmental microbiology*, 49(5), 1270-1275.
- Van der Mei HC, Busscher HG. (1997). The use of X-ray photoelectron spectroscopy for the study of oral streptococcal cell surfaces. *Adv dent Res.*, 11: 388-394.
  - Van der Mei HC, De Vries J, Busscher HJ. (1993). Hydrophobic and electrostatic cell surface properties of thermophilic dairy streptococci. *App. Environ. Microbiol.*, 59: 4305-4312.
  - Van der Mei HC, Van de Belt -Gritter B, Busscher HJ. (1995). Implications of microbial adhesion to hydrocarbons for evaluating cell surface hydrophobicity 2. Adhesion mechanisms. *Colloids Surf B.*, 5: 117-126.
  - Van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (1997). The use of X-ray photoelectron spectroscopy for the study of oral streptococcal cell surfaces. *Advances in dental research*, 11(4), 388-394.
  - Van der Mei, H. C., Bos, R., & Busscher, H. J. (1998). A reference guide to microbial cell surface hydrophobicity based on contact angles. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 11(4), 213-221.
  - Van Loosdrecht, M. C., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., & Zehnder, A. J. (1987). The role of bacterial cell walls hydrophobicity in adhesion. *Applied and environmental microbiology*, 53(8), 1893-1897
  - Van Loosdrecht, M. C., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., & Zehnder, A. J. (1987). The role of bacterial cell walls hydrophobicity in adhesion. *Applied and environmental microbiology*, 53(8), 1893-1897.
  - Van Oss CJ. (1994). *Interfacial forces in aqueous media*; New York,
  - Van Oss CJ. (1996). *Forces interfaciales en milieu aqueux*. Masson, Paris.
  - Van Oss CJ. *Forces interfaciales en milieu aqueux*. Paris, Masson. Eds; 1996.
  - Van Oss, C. J. (1995). Hydrophobicity of bio surfaces origin, quantitative determination and interaction energies. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*, 5, 91-110.
  - Van Oss, C. J., Chaudhury, M. K., & Good, R. J. (1988). Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems. *Chem. Rev*, 88(6), 927-941.
  - Van Wetter MA, Wösten HAB, Sietsma JH, Wessels JGH (2000a) Hydrophobin gene expression affects hyphal wall composition in *Schizophyllum commune*. *Fungal Genet Biol* 31:99–104

- Van Wetter MA, Wösten HAB, Wessels JGH (2000b) SC3 and SC4 hydrophobins have distinct roles in formation of aerial structures in dikaryons of *Schizophyllum commune*. *Mol Microbiol* 36:201– 210
- Vatanyoopaisarn, S., Nazli, A., Dodd, C. E., Rees, C. E., & Waites, W. M. (2000). Effect of flagella on initial attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(2), 860-863.
- Verran J, Boyd RD. (2001). The relationship between substratum surface roughness and microbiological and organic soiling: a review. *Biofouling.*, 17(1): 59-71.
- Verran, J., Lees, G., & Shakespeare, A. P. (1991). The effect of surface roughness on the adhesion of *Candida albicans* to acrylic. *Biofouling*, 3(3), 183-191.
- Verran, J., Rowe, D. L., Cole, D., & Boyd, R. D. (2000). The use of the atomic force microscope to visualise and measure wear of food contact surfaces. *International biodeterioration & biodegradation*, 46(2), 99-105.
- Verwey, E. J. W., Overbeek, J. T. G., & Overbeek, J. T. G. (1999). Theory of the stability of lyophobic colloids. Courier Corporation., C. J., Good, R. J., & Chaudhury, M. K. (1986). The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in “hydrophobic interactions” between biopolymers and low energy surfaces. *Journal of colloid and Interface Science*, 111(2), 378-390..
- Vitoratos, A., Bilalis, D., Karkanis, A., and Efthimiadou, A. (2013). Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Not. Bitanicae Horti Agrobot. Cluj-Napoca* 41, 86–92. doi: 10.15835/nbha4118931
- Vittle J, Benoliel AM, Pierres A, Bongrand P. (2004). Is there a predictable relationship between surface physical-chemical properties and cell behaviour at the interface ? *European cells and materiels.*,7:52-63.
- Villena, G.K., Gutierrez-Correa, M., 2007. Morphological patterns of *Aspergillus niger* biofilms and pellets related to lignocellulolytic enzyme productivities. *Lett. Appl. Microbiol.* 45, 231–237
- Walali-Loudyi, D. E. M., Skiredji, A., & Hassan, E. (2003). Fiches techniques : le bananier, la vigne, les agrumes. In *T. d. t. e. agriculture* (Ed.). Rabat: Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II

- Wan, C., Li, P., Chen, C., Peng, X., Li, M., Chen, M., et al. (2017). Antifungal activity of *Ramulus cinnamomi* explored by 1 H-NMR based metabolomics approach. *Molecules* 22, 1–11. doi: 10.3390/molecules22122237
- Wang, W., Deng, L., Yao, S., and Zeng, K. (2018). Control of green and blue mold and sour rot in citrus fruits by the cationic antimicrobial peptide PAF56. *Postharvest Biol. Technol.* 136, 132–138. doi: 10.1016/j.postharvbio.2017.10.0155
- Wang, Z., Jiang, M., Chen, K., Wang, K., Du, M., Zalán, Z., ... Kan, J. (2018). Biocontrol of *Penicillium digitatum* on Postharvest Citrus Fruits by *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2910481>
- Webber H. J., 1967. History and development of the citrus industry. In W. Reuther L.D., Batchelor R & H. J. Webber : *The Citrus Industry*. Vol 1, 1-39.
- Wessels JGH. (1994). Developmental regulation of fungal cell wall formation. *Annu Rev Phytopathol.*, 32:413–437
- Wilson CL, Wisniewski ME. 1994. *Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: theory and practice*, Boca Raton, FL. CRC Press
- Wirtanen G, Ahola H, Mattila-Sandholm T, (1995). Evaluation of cleaning procedures in elimination of biofilm from stainless steel surfaces in open process equipment. *T Int Chem Eng* 73:1-9.
- Wisniewski, M.E., Wilson, C.L., 1992. *Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables : recent advances*. *HortScience* 27, 94-98.
- Wösten HA, Schuren FH, Wessels JG. (1994). Interfacial self-assembly of a hydrophobin into an amphipathic protein membrane mediates fungal attachment to hydrophobic surfaces. *EMBO J.*, 15;13(24): 5848–5854
- Wösten HA, (2001). Hydrophobins: multipurpose proteins. *Annu. Rev. Microbiol.*, 55: 625–646
- Wösten HA, De Vries OMH, Wessels JGH. (1993). Interfacial Self-Assembly of a Fungal Hydrophobin into a Hydrophobic Rodlet Layer. *Plant Cell.*, 5(11): 1567–1574
- Wösten HA. (2001). Hydrophobins: multipurpose proteins. *Annu Rev Microbiol.*, 55
- Wouters JTM, Ayad EHE, Hugenholtz J, Smit G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal* 12:91-109.
- Xu, H., Zou, Y., Lee, H. Y., & Ahn, J. (2010). Effect of NaCl on the biofilm formation by foodborne pathogens. *Journal of food science*, 75(9), M580-M585.

- Yamauchi, M., Yamamoto, K., Wakabayashi, M. & Kawano, J. (1990). In vitro adherence of microorganisms to denture base resin with different surface texture. *Dental Materials Journal*, 9, 9–24
- Yasuda T, Okuno T, Yoshida KJ. (1988). *Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 26, 1781.
- Yasuda T.; Miyama, M. (1992). *Langmuir.*, 8: 1425
- Youssef, K., and Hussien, A. (2020). Electrolysed water and salt solutions can reduce green and blue molds while maintain the quality properties of ‘Valencia’ late oranges. *Postharvest Biol. Technol.* 159, 1–11. doi: 10.1016/j.postharvbio.2019.111025
- Yun, Z., Gao, H., Liu, P., Liu, S., Luo, T., Jin, S., et al. (2013). Comparative proteomic and metabolomic profiling of citrus fruit with enhancement of disease resistance by postharvest heat treatment. *BMC Plant Biol.* 13:44. doi: 10.1186/1471-2229-13-44
- Zhang, J., Swingle, P., 2003. Control of green mold on Florida citrus fruit using bicarbonate salts, pp. 375-378.

Les Sites:

<http://www.agri-mag.com/2017/06/agrumes-maladies-post-recolte/>

<https://www.yara.fr/fertilisation/solutions-pour-cultures/agrumes/production-mondiale-agrumes/>

<http://www.agriculture.gov.ma/pages/acces-fillieres/filiere-agricole>

## VALORISATION DES TRAVAUX DE THESE

Mayoussi, B., Zahir, H., Ellouali, M., Boubaker, H., & Latrache, H. (2021). *Adhesion of Penicillium italicum and Penicillium digitatum spores to materials commonly used in the citrus packaging chain*. 4(3), 323–332. <https://doi.org/10.22077/jhpr.2021.3609.1159>

Elfazazi, K., Zahir, H., Tankiouine, S., Mayoussi, B., Zanane, C., Lekchiri, S., ... Latrache, H. (2021). *Adhesion Behavior of Escherichia coli Strains on Glass : Role of Cell Surface Qualitative and Quantitative Hydrophobicity in Their Attachment Ability*. 2021, 7–14.

## PUBLICATIONS INTERNATIONNALES

### Communications

-SOUFIANI Soukaina<sup>1</sup>, BENSALAH Mohamed<sup>1</sup>, ZAHIR Hafida<sup>1</sup>, EL LOUALI Mostafa<sup>1</sup>, KOUBALI Hajar<sup>1</sup>, **Mayoussi btissam**<sup>1</sup>, LATRACHE Hassan<sup>1</sup>. PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID BACTERIA USED AS A STARTER CULTURE IN THE OLIVE FERMENTATION PROCESS. BIOMDOS. IFRANE. 2019.

K. Elfazazi, H. Zahir, S. Tankiounine, C. Zanane, **B. Mayoussi**, M. Ellouali, F. Hamadi, H. Latrache. Investigation on the efficiency of sodium hypochlorite sanitizer against adhesion ability of Salmonella Kentucky strains isolated from food processing industries. BIOMDOS IFRANE 2019.

### Communications affichées :

-**B. MAYOUSSI**<sup>1</sup>, H. ZAHIR<sup>1</sup>, R. EL OTHMANY<sup>1</sup>, M. EL GOULLI<sup>1</sup>, K. ELFAZAZI<sup>1,3</sup>, S. SOUFIANI<sup>1</sup>, C. ZANAN<sup>1</sup>, F. HAMADI<sup>2</sup>, H. LATRACHE<sup>1</sup>

**Adhesion of *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum* to materials commonly used in citrus packaging process.** BIOMDOS 2019 Ifrane

-**Btissam Mayoussi**, Hafida Zahir<sup>1</sup>, Mostapha Ellouali<sup>1</sup>, Rabha El othmany<sup>1</sup>, Kaoutar El Fazazi<sup>1,3</sup>, Chorouk Zanan<sup>1</sup>, Fatima Hamadi<sup>2</sup>, Hassan Latrache<sup>1</sup>. **Predictive adhesion of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* spores on Wood packaging.** Turkiye

**-B. Mayoussi**<sup>1</sup>, H. Zahir<sup>1</sup>, M. Ellouali<sup>1</sup>, K.El Fizazi<sup>1</sup>, F. Hamadi<sup>2</sup>, S. Soufiani<sup>1</sup>, T.HAKIM<sup>1</sup>, H.

<sup>1</sup>  
**Latrache**. Predictive adhesion of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* spores on oranges.

**-B. Mayoussi**, H. Zahir<sup>1</sup>, M. Ellouali<sup>1</sup>, R.El Othmany<sup>1</sup>, K.El Fizazi<sup>1</sup>, L.Askarne<sup>2</sup>, F. Hamadi<sup>2</sup>, S. Soufiani<sup>1</sup>, H. Latrache<sup>1</sup>

**Predictive adhésion of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* and *Geotichum candidum* on oranges. MICROBIOD Mohamadia 2017**

-Chorouk ZANANE<sup>\*1</sup>, Hafida ZAHIR<sup>1</sup>, Hassan LATRACHE<sup>\*1</sup>, Kaouter EL FAZAZI<sup>1</sup>, **Btissam MAYOUSSI**<sup>1</sup>, Rabha EL OTHMANY<sup>1</sup>, Doha MAZIGH<sup>1</sup>, Oubid AIT LAHBIB<sup>1</sup>, Mostafa EL OUALI<sup>1</sup> INFLUENCE OF SODIUM CHLORIDE (NaCl) ON THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF THE CELL SURFACE OF ACTINOMYCETES. BIOMDOS. IFRANE. 2019

-Chorouk ZANANE<sup>1</sup>, Hafida ZAHIR<sup>1</sup>, Hassan LATRACHE<sup>1</sup>, Kaouter EL FAZAZI<sup>1</sup>, Rabha EL OTHMANY<sup>1</sup>, **Btissam MAYOUSSI**<sup>1</sup>, Oubid AIT LAHBIB, Mostafa EL OUALI<sup>1</sup>. **Physicochemical characterization of the surface of actinomycetes isolated from soil of Beni Amir (Beni Mellal, Morocco) by two methods. Fes**

-Chorouk ZANANE<sup>1</sup>, Hafida ZAHIR<sup>1</sup>, Hassan LATRACHE<sup>1</sup>, Kaouter EL FAZAZI<sup>1</sup>, Rabha EL OTHMANY<sup>1</sup>, **Btissam MAYOUSSI**<sup>1</sup>, Doha MAZIGH<sup>1</sup>, Oubid AIT LAHBIB, Mostafa EL OUALI<sup>1</sup>. INFLUENCE INFLUENCE OF SODIUM CHLORIDE 5NaCl ON THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF THE CELL SURFACES OF ACTINOMYCETES



## ANNEXE

**Normes et réglementation**✓ **Lois :**

- Loi N° 28-07 relative à la sécurité sanitaire des produits alimentaires. Juin 2010.
- Loi marocaine N° 28-00 relative à la gestion des déchets et à leur élimination, 21/04/2010.
- Loi n° 13-83 relative à la répression des fraudes sur les marchandises, promulguée
- par dahir n°1-83-108 du 9 moharrem 1405. (5 octobre 1984)

✓ **Décrets :**

- Décret n°2-10-473 du 7 chaoual 1432 pris pour l'application de certaines dispositions de la loi n°28-07 relative à la sécurité sanitaire des produits alimentaires (6 septembre 2011)
- Décret n°2-12-389 du 11 jourmada II 1434 fixant les conditions et les modalités d'étiquetage des produits alimentaires. (22 avril 2013)

✓ **Arrêtés :**

- Arrêté conjoint du ministre de l'Agriculture et de la Pêche maritime et du ministre de la Santé n° 156-14 du 15 rabia I 1435 fixant les limites maximales autorisées de résidus des produits phytosanitaires dans ou sur les produits primaires et les produits alimentaires. (17 janvier 2014)
- Arrêté conjoint du ministre de l'Agriculture et de la Pêche maritime et du ministre de la Santé n°983-13 du 9 jourmada I 1434 fixant les formes et modalité de la surveillance médicale du personnel des établissements et entreprises du secteur alimentaire ainsi que la liste des maladies et infections susceptibles de contaminer les produits alimentaires. (21 mars 2013)

**✓ Dahir :**

- Dahir du 23 kaada 1332 sur la répression des fraudes dans la vente des marchandises et des falsifications des denrées alimentaires et des produits agricoles. (14 octobre 1914)

**✓ Code :**

- Code d'usage en matière d'hygiène pour les fruits et légumes frais CAC/RCP 53-2003, février 2007
- CAC/RCP 1-1969, REV.4(2003) Code d'usage international recommandé-principes généraux d'hygiène alimentaire.
- Règlement (CE) N°852/2004 du parlement européen et du conseil du 29 avril 2004 à l'hygiène des denrées alimentaires, 2007.

**✓ Règlements :**

- Règlement sur les pesticides homologués sur agrumes, *février 2013*
- RÈGLEMENT (CE) No 1935/2004 concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.
- Règlement technique relatif à la production au contrôle, au conditionnement, à la conservation et à la certification des semences et des plants d'agrumes.
- Le règlement (CE) 882-2004, concernant les fraudes et la protection des intérêts des consommateurs, 2004.
- Règlement d'exécution (UE) N°543/2011 de la commission du 7 juin 2011, norme de commercialisation applicable aux agrumes (EACCE). Octobre 2011.

**✓ Normes :**

- Norme marocaine : Quantité des eaux d'alimentation humaine N.M 03.7.001, décembre 2009.
- Norme internationale n° 15 des matériaux d'emballages en bois, juillet 2010

✓ **Législations :**

- LMR CANADA (DATABASE), octobre 2013.
- LMR UE (E.U PESTICIDES DATABASE), octobre 2013.
- LMR USA (DATABASE), octobre 2013.

✓ **Directives :**

- Directive n°94/62/CE du 20/12/94 relative aux emballages et aux déchets d'emballages, mars 2010.
- Décret n°98-638 du 20/07/98 relatif à la prise en compte des exigences liées à l'environnement dans la conception et la fabrication des emballages, mars 2010.

## **Réglementation des matériaux utilisés dans le conditionnement des agrumes**

### **a. L'acier inoxydable**

L'acier inoxydable, couramment appelé inox, est un alliage d'acier (comportant moins de 1,2 % de carbone) avec plus de 10,5 % de chrome, dont la propriété est d'être peu sensible à la corrosion et de ne pas se dégrader en rouille.

L'acier inoxydable est devenu indispensable dans de nombreux domaines : ustensiles de cuisine, objets usuels, médecine, chirurgie, bâtiment et travaux publics, construction navale, automobile, aéronautique, outillage, industries mécaniques, agroalimentaires, chimiques, transports, etc..

Il est entièrement recyclable et par conséquent, la réglementation dans les industries laitières (DIN11480, 1992) oblige les industriels à employer de l'acier inoxydable présentant une rugosité arithmétique inférieure à 0,8  $\mu\text{m}$  (**Flint et al. 2000**).

### **b. Le polychlorure de vinyle**

Le polychlorure de vinyle est une poudre blanche inodore. Sa teneur en chlore est de 56,7 %. Il est obtenu à partir du chlorure de vinyle monomère par polymérisation en suspension, en masse ou en émulsion. Cette résine peut être mise en œuvre telle quelle (produits rigides) ou sous forme "plastisol" avec un plastifiant (produits souples). Elle subit une gélification : le

gonflement des grains de PVC par un solvant (plastifiant) ou un copolymère (plastification interne).

Le PVC souple Contact Alimentaire est spécialement conçu pour un contact avec les denrées alimentaires en plus de toutes les qualités existantes du vinyle souple (la clarté, la luminosité, la durabilité, la souplesse et une forte résistance à l'impact).

Le PVC Contact Alimentaire est conforme à la réglementation européenne (1375/2004/CE et UE-10/2011), et à la réglementation européenne règlement (UE) n° 10/2011 de la commission du 14 janvier 2011, concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.

Le PVC Contact Alimentaire est particulièrement recommandé pour les applications de l'industrie agroalimentaire (présence de produits frais ou congelés) comme les usines de transformation d'aliments, les abattoirs, les camions frigorifiques, chambres froides, supermarché, etc..., sous des formats différents (Rouleaux, lanières et panneaux).

### **c. Le plastique**

Les emballages plastiques adaptés en stockage et transport, constituent une bonne part des emballages utilisés dans le domaine agroalimentaire, ces emballages se composent principalement en polypropylène ; cette matière est adaptée en stockage et transport.

Le Polypropylène en contact alimentaire est conforme à la réglementation européenne, règlement (UE) n° 10/2011 de la commission du 14 janvier 2011, concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.

### **d. Le bois**

Le bois provenant d'arbres morts ou vivants peut être infesté par des organismes nuisibles. Les matériaux d'emballage en bois sont souvent fabriqués à partir de bois brut qui peut ne pas avoir subi de transformation ou de traitement suffisant pour éliminer ou détruire les organismes nuisibles. Le bois est un matériau utilisé pour le conditionnement des produits frais en raison de ses nombreux atouts : résistance au froid et à l'humidité, solidité, souplesse et légèreté, régulation thermique et hygrométrique, propriétés bactériostatiques et de respiration.

La composition chimique du bois en constituants majeurs varie : cellulose (40-50%), hémicellulose (15-25%), et lignine (20-35%) (Les pourcentages étant des fractions de masse et avec les gammes en fonction

des essences de bois). Le bois peut également contenir 5-15% de matériau consistant en un grand nombre de terpénoïdes, d'acides gras ou des substances poly- phénoliques qui peuvent avoir un fort impact négatif sur la mouillabilité de la surface du bois. Le terme "extraits" recouvre un grand nombre de constituants qui peuvent être extraits avec des solvants organiques comme l'éthanol, l'acétone ou le dichlorométhane, et pour l'inox comportant moins de 1,2 % de carbone avec plus de 10,5 % de chrome, et la matière plastique composée de polymère(s) brut(s) (résine(s) de base) + charges + plastifiants + additifs

Après plus de 3 ans de recherche scientifique et plus de 19 000 essais en laboratoire, le bois est désormais scientifiquement confirmé apte au contact alimentaire, car :

- **Le bois est bon pour les aliments** : il préserve les qualités nutritionnelles, gustatives et esthétiques et prolonge leur durée de vie plus qu'aucun autre matériau.
- **Le bois est bon pour la santé** : il ne contient aucun produit dangereux pour la santé des consommateurs (garantie sans Bisphénol-A, patates, huiles minérales, NIAS, et autres MOSH et MOAH(2))
- **Le bois élimine les bactéries** : en 24 heures, l'emballage en bois élimine impitoyablement les bactéries.
- **Le bois est bon pour l'environnement** : les cagettes sont produites localement dans pratiquement tous les pays, avec du bois local, dans un matériau 100% renouvelable et recyclable, géré durablement et qui capte le CO<sub>2</sub> de l'atmosphère.
- **Le bois est bon pour l'économie** : les emplois, les fournisseurs, les clients sont proches des usines et tous participent à une économie locale qui profite à tous.

**Le principe d'inertie** défini dans l'article 3 du Règlement. Dans les conditions normales ou prévisibles de leur emploi, les matériaux ne doivent pas céder aux denrées alimentaires des constituants en une quantité susceptible :

- De présenter un danger pour la santé humaine,
- D'entraîner une modification inacceptable de la composition des denrées
- Ou d'entraîner une altération des caractères organoleptiques de celles-ci.

**Les règles d'étiquetage** définies dans l'article 15. Les matériaux non encore mis en contact avec les denrées alimentaires sont accompagnés lors de leur commercialisation des indications suivantes :

La mention " convient pour aliments " (traduite dans les langues des pays d'exportation visés) ou d'une mention spécifique relative à l'emploi ou le symbole qui peut être gravé. Les objets qui sont manifestement destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires sont dispensés de cette exigence.

- ✓ Le cas échéant, les conditions particulières qui doivent être respectées lors de leur emploi,
- ✓ Le nom ou la raison sociale et, dans tous les cas, l'adresse ou le siège social du fabricant, du transformateur ou du vendeur établi dans la communauté responsable de la mise sur le marché,
- ✓ Un étiquetage ou une identification permettant la traçabilité du produit ou de l'objet,
- ✓ Lors de la vente au consommateur final, ces informations doivent être :
  - Soit sur les matériaux et objets ou sur leurs emballages,
  - Soit sur des étiquettes apposées sur les matériaux et objets ou leurs emballages.
- ✓ Aux stades de commercialisation autres que la vente au consommateur final, les informations doivent figurer :
  - Soit sur les documents d'accompagnement,
  - Soit sur les étiquettes ou les emballages,
  - Soit sur les matériaux et les objets. (ONSSA MAROC)

**Les exigences de traçabilité (Article 17)**

Toutes les entreprises du secteur des matériaux en contact avec des denrées alimentaires doivent disposer de systèmes permettant d'identifier, à tous les stades de la production et de la commercialisation, leurs fournisseurs et les personnes auxquelles des

matériaux et objets sont fournis au minimum une étape en amont et une étape en aval doivent être identifiables.

- Les objets doivent, de plus, être fabriqués conformément aux Bonnes Pratiques de Fabrication pour assurer leur uniformité. Le Règlement « Bonnes Pratiques » **(CE) n° 2023/2006 du 22 décembre 2006**, applicable depuis 1er août 2008, impose un système d'assurance qualité et de contrôle de la qualité avec une documentation appropriée portant sur les informations relatives aux différentes opérations de fabrication effectuées qui présentent un intérêt du point de vue de la conformité et de la sécurité du matériau ou de l'objet fini et sur les résultats du système de contrôle de la qualité.

Pour certains matériaux (matières plastiques, dérivés époxydiques, céramiques, pellicules de cellulose régénérées, matériaux actifs et intelligents, et partiellement pour les caoutchoucs), des mesures spécifiques décrivent les critères d'inertie ainsi que les modalités de contrôle de la conformité.**(ONSSA MAROC)**.



Cire Lustrant



# CIRE MAROCSHINE

MAROCSHINE est une cire appliquée en post-récolte pour améliorer l'aspect de vos fruits tout en augmentant la brillance et en évitant les pertes de poids.

*Capture rectangulaire*

### La Composition :

La Marocshine est une dissolution ammoniacale de polyéthylène oxydé et de la résine modifiée de colophane (18%).

Le polyéthylène oxydé assure une très bonne protection des fruits contre la perte de poids.

La résine modifiée de colophane, elle confère à la cire sa plasticité et sa structure cristalline brillante.

### Dose et mode d'emploi :

La dose d'application est de un litre de cire par tonne de fruits.

L'application se fait directement sur les fruits moyennant un applicateur de cire équipé de brosses lustrantes au-dessus desquelles sont placées des gicleurs de pulvérisation à ultras bas volume.



Couleur	pH	Densité à 20°	% de la matière sèche	Inflammabilité	Corrosivité	Stabilité	Classe de Risque
Ambre	10	1,021	18	Non inflammable	Non corrosive	Minimum une année	Tableau C

SIEGE SOCIALE 2, Allée des Villas – Ain Sébaa 20250 Casa Tél : + 212 522 35 59 50 (LG) Fax : + 212 522 34 06 83 [contact@rodamaroc.com](mailto:contact@rodamaroc.com)

AGENCE AGADIR Z.I. Tassila – DCHIRA Tél : + 212 528 33 55 42/43 Fax : + 212 528 33 55 37

AGENCE BERKANE 6, Bd Moulay Youssef Ben Tachfine – Merbouha Berkane Tél : + 212 661 26 42 71

AGENCE MOLAY BOUSSELHAM Douar Mghaiten Mly Bousselham Tél : + 212 661 13 36 31



**LISTE DES ABREVIATIONS**

CFU : Unité Formant Colonie

DLVO :Derjaguin et Landau et Verwey et Over Beek

EPS : Exopolysaccharides

ESEM :Environmental Scanning Electronic Microscope

GCI :Chromatographie en phase gazeuse inverse

MATH : Adhésion Microbienne aux Hydrocarbures

MATS : Adhésion microbienne aux solvants

MEBE : Microscope Electronique à Balayage Environnemental

PCR : Polymerase chain Reaction

PGE/DEX :Partage entre phase aqueuse non miscibles polyéthylène glycol et Dextran

PDA : La gélose dextrosée à la pomme de terre

XPS :X-Ray Photoélectron Spectroscopy

$\epsilon$ : permittivité du milieu ( $6,96 \cdot 10^{-10} \text{ J.m}^{-1} \cdot \text{V}^{-2}$  pour l'eau)

$e$  : charge des électrons ( $1,6021 \cdot 10^{-19} \text{ C}$ )

$B$  : constante de Boltzmann ( $1,3807 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$ )

$T$  : température (K)

$z_i$  : valence des ions

$n_i$  : nombre d'ions par  $\text{cm}^3$

$A$ : constante de Hamaker (**Rutter et Vincent, 1980 ; Norde et Lyklema, 1989**)

$a$  : rayon de la sphère,

$d$  : distance de séparation entre la sphère et le plan.

## LISTE DES ABREVIATIONS

$\Psi_0$ : Le potentiel de la surface de la particule

$\epsilon$ : La constante diélectrique du milieu aqueux

R : Le rayon de la sphère

$1/k$  : L'épaisseur de la couche ionique diffuse (longueur de Debye)

$\lambda$ : Longueur de corrélation qui concerne la molécule d'eau

$d_0$ : distance à l'équilibre.

d : distance séparant le micro-organisme du substrat

$\gamma_s^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals de la surface

$\gamma_L^{LW}$ : Composante de Lifshitz- Van der Waals du liquide

$\gamma_s^+$  : Composante accepteur d'électrons de la surface.

$\gamma_L^+$ : Composante accepteur d'électrons du liquide.

$\gamma_s^-$  : Composante donneur d'électrons de la surface.

$\gamma_L^+$  : Composante donneur d'électrons du liquide.