

Effet de la cercosporiose à *Phaeoramularia angolensis* sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de peau d'orange

Jean Kuate^{a*}, Pierre Michel Jazet-Dongmo^b, Daniel Ducelier^a, François Damesse^a, Chantal Menut^c, Jean Marie Bessière^c

^a Institut de recherche agricole pour le développement (Irad), BP 2067, Yaoundé, Cameroun

^b Université de Douala, Faculté des Sciences, BP 24157, Douala, Cameroun

^c Université de Montpellier II, 34095 Montpellier, France
jeankuate@yahoo.fr

Effect of citrus leaf spot disease (*Phaeoramularia angolensis*) on the content and chemical composition of essential oils from orange peel.

Abstract — Introduction. The damage due to citrus leaf and fruit spot disease (*Phaeoramularia angolensis*) is the origin of yield loss or discarding which can vary between (50 and 100)% of the production. However, all the organs attacked by the disease — flower petals, leaves and especially fruit peels — contain essential oils with high marketing value. A study was carried out to assess the effect of disease attacks on the essential oil extraction yield and quality of orange peels. **Materials and methods.** Essential oil extraction was carried out by hydrodistillation from peels of oranges harvested at usual maturity and the extracts were analyzed by gas chromatography to determine their chemical composition. **Results and discussion.** The essential oil extraction yield decreased by up to 40% according to the gravity of the attacks. This decrease was significant only when the attacks exceeded two lesions per fruit. The extracts obtained with fruit attacked to various degrees presented some quantitative variations of their components. A reduction in some constituents in the attacked fruit was accompanied by an increase in their oxygenated form. An increase in the total quantity of aldehydes was observed in the attacked fruit, which could result in an improvement of the essential oil quality. Nevertheless, at the same time, the oxides, characteristic of the degradation of these essential oils, increased. **Conclusion.** This work, which should be pursued, is a first report of essential oil yield loss and quality variation due to citrus leaf and fruit spot disease.

Cameroon / Citrus sinensis / plant diseases / cercosporiose / Phaeoramularia angolensis / lesions / peel / essential oils / chemical composition

Effet de la cercosporiose à *Phaeoramularia angolensis* sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de peau d'orange.

Résumé — Introduction. Les dommages provoqués par la cercosporiose des agrumes, dus à *Phaeoramularia angolensis*, sont à l'origine de pertes de récolte ou d'écarts de tri pouvant varier entre (50 et 100) % de la production. Or tous les organes attaqués par la maladie – pétales des fleurs, feuilles et surtout peau des fruits – renferment des huiles essentielles à haute valeur marchande. Une étude a été réalisée pour connaître l'influence des attaques de cette maladie sur le rendement d'extraction et la qualité des huiles essentielles de peau d'orange. **Matériels et méthodes.** L'extraction d'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation à partir de fruits récoltés à maturité et les extraits ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse afin de déterminer leur composition chimique. **Résultats et discussion.** Le rendement d'extraction des huiles essentielles a diminué en fonction de la gravité des attaques (jusqu'à 40 % de baisse). Cette baisse n'a été significative que lorsque les attaques dépassaient deux lésions par fruit. Les extraits obtenus de fruits attaqués à divers degrés ont présenté quelques variations quantitatives de leurs constituants. Une diminution de certains composés dans les fruits malades s'est accompagnée d'une augmentation de leur forme oxygénée. L'augmentation de la quantité globale d'aldéhydes a été observée dans les fruits malades, ce qui pourrait se traduire par une amélioration de la qualité des huiles essentielles. Mais, en même temps, les oxydes caractéristiques de la dégradation de ces huiles essentielles ont augmenté. **Conclusion.** Ce travail qui doit être approfondi a permis d'acquies de premières données sur les pertes de rendement et l'évolution de la composition des huiles essentielles de peau de fruits pouvant être attribuées aux attaques de la cercosporiose.

Cameroon / Citrus sinensis / maladie des plantes / cercosporiose / Phaeoramularia angolensis / lésion / pelure / huile essentielle / composition chimique

* Correspondance et tirés à part

Reçu le 9 juillet 2002
Accepté le 22 octobre 2002

Fruits, 2003, vol. 58, p. 143–149
© 2003 Cirad/EDP Sciences
All rights reserved
DOI: 10.1051/fruits:2003002

RESUMEN ESPAÑOL, p. 149

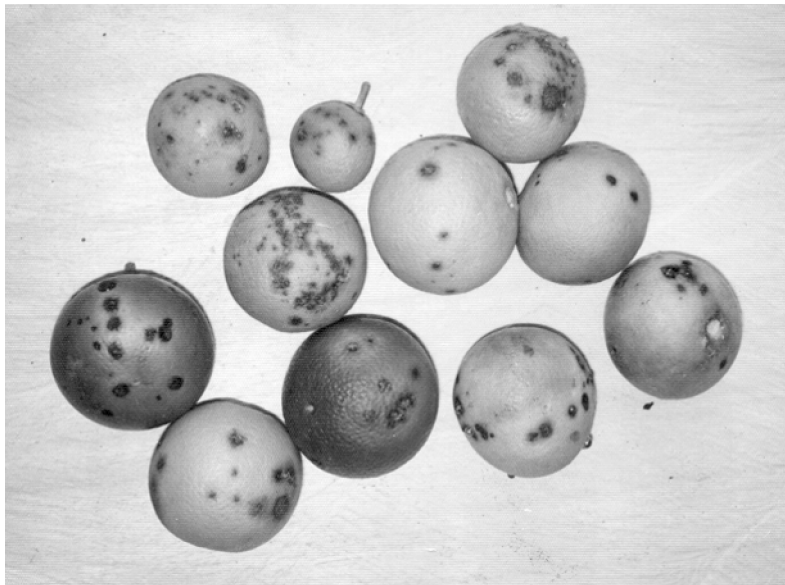
1. Introduction

En Afrique tropicale, la cercosporiose des agrumes provoquée par un champignon, *Phaeoramularia angolensis*, constitue une sérieuse contrainte de production. Cette maladie affecte les feuilles et les fruits



Figure 1. Symptômes de cercosporiose (*Phaeoramularia angolensis*) sur feuilles d'oranger.

Figure 2. Symptômes de cercosporiose (*Phaeoramularia angolensis*) sur oranges (variété Biafa, Cameroun).



(figures 1, 2) provoquant de nombreuses lésions et la chute prématurée de ces organes [1, 2]. Les pertes de récolte peuvent varier de (50 à 100) % dans certaines conditions environnementales.

En dehors du fruit consommé ou transformé (jus, confitures, liqueurs, etc.), les huiles essentielles représentent un produit à haute valeur ajoutée. Ce sont des substances odoriférantes produites dans les cellules végétales d'où elles peuvent être extraites par différents procédés. Elles sont surtout présentes chez les conifères, les Rutacées dont les agrumes, les Labiées et les Myrtacées [3]. Chez les agrumes, qui fournissent 35 % de la production mondiale [4], ces substances s'accumulent dans le flavedo, les feuilles ou les pétales de fleurs [5–7]. Utilisées en pharmacologie, en industrie cosmétique et en aromatique alimentaire, les huiles essentielles sont constituées, entre autres, d'hydrocarbures (terpènes), d'alcools, de cétones, d'aldéhydes, d'esters, d'éther oxydes, ainsi que de phénols [6, 8]. Elles ont des activités biologiques et physiologiques diverses, notamment antibactériennes [9], antioxydantes, antifongiques [9, 10], antivirales [7], antiscorbut, antiallergiques et radioprotectrices [3, 7, 10, 11].

L'activité biologique et la qualité d'une huile essentielle sont liées à sa composition chimique. Ainsi, la teneur en aldéhydes est, par exemple, l'un des principaux paramètres de qualité d'une telle huile. Le présent travail a été réalisé pour évaluer l'effet des attaques de cercosporiose sur la teneur ainsi que sur la composition chimique d'huiles essentielles extraites de la peau d'oranges.

2. Matériel et méthodes

2.1. Choix de la variété d'agrumes

Une variété locale, l'oranger Biafa, greffée sur *Citrus volkameriana* et plantée en 1989 à Nkolbisson (Cameroun) dans le verger expérimental de l'Institut de recherche agricole pour le développement (Irad), a été retenue pour cette étude. Ce choix a été motivé par la forte productivité de cette variété et surtout par sa sensibilité, dite

intermédiaire, vis-à-vis de l'agent pathogène responsable de la cercosporiose ; cette particularité a permis de constituer, au sein des oranges récoltées à maturité (stade normal de récolte), des lots contenant suffisamment de fruits atteints de la maladie et présentant différents degrés d'attaque. Trois lots de 500 g de péricarpe (peau de fruits) chacun ont été préparés avec quatre catégories de fruits définies par leur degré d'attaque par la cercosporiose : catégorie A, fruits sains, donc sans lésion de cercosporiose ; catégorie B, fruits présentant une ou deux lésions ; catégorie C, fruits ayant trois à cinq lésions ; catégorie D, fruits atteints de plus de cinq lésions.

2.2. Extraction des huiles essentielles

Les extractions, effectuées par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Cleverger à partir de péricarpes de fruits, ont duré 5 h. Pour chacun des trois lots, le rendement en huiles essentielles a été déterminé, puis exprimé en pourcentage du poids frais de peau de fruits (500 g). Les rendements d'extraction obtenus pour les différentes catégories de peau de fruits ont été comparés par analyse de variance (test de Tukey au seuil de 5 %).

2.3. Composition chimique des extraits

Pour chaque catégorie de fruits présentant quatre degrés d'attaque différents, l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à l'aide d'un appareil de marque Shimadzu GC-14A couplé à un intégrateur-enregistreur de marque Shimadzu CR-3A chromatopac [12].

L'appareil est muni de deux colonnes capillaires en silice fondue (25 m de long et 0,25 mm de diamètre), de polarité différente (OV₁₀₁ apolaire et carbowax 20 M, polaire), à programmation de température de (50 à 200) °C, à raison de 5 °C·min⁻¹. Le couplage CPG/SM a été réalisé avec un appareil Hewlett Packard (modèle 5970), à

colonne capillaire type DB1 (25 m de long et 0,23 mm de diamètre), à programmation de température de (50 à 200) °C, gradient de 4 °C·min⁻¹ et voltage 70 eV. Les composés ont été identifiés d'après leur indice de rétention linéaire sur les deux types de colonne. Pour chacune des quatre catégories de fruits caractérisées par un degré d'attaque différent, les huiles des trois lots ont été mélangées et c'est ce mélange qui a été analysé.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction en huiles essentielles

La transformation des données correspondant au rendement d'extraction en huiles essentielles à partir de la peau d'agrumes n'a pas été jugée nécessaire car elle se révélait sans effet sur les résultats de l'analyse de variance. En effet, une transformation angulaire appliquée sur ces données dont la gamme de variation va environ de (0,3 à 0,6) % reviendrait à une transformation linéaire et serait donc sans effet sur les probabilités de l'analyse de variance.

Le rendement en huiles essentielles a diminué au fur et à mesure que le degré d'attaque sur le fruit augmentait ; cette diminution a été significative à partir de la catégorie C correspondant à l'observation de trois à cinq lésions, et elle a été encore marquée pour les fruits de la catégorie D présentant plus de cinq lésions (*tableau I*). Par rapport aux fruits sains de la catégorie A, les fruits les plus atteints ont présenté une baisse de 40 % de leur teneur en huiles essentielles, le rendement d'extraction passant alors de (0,60 à 0,36) %. La teneur en huiles essentielles a donc baissé de façon significative pour les fruits ayant en moyenne trois lésions ou plus. Il convient de noter que cette baisse de 40 % a été observée sur les fruits qui ont pu atteindre leur maturité sur les arbres sans tomber suite aux attaques de la cercosporiose. Les pertes globales dues à la maladie seraient par conséquent plus importantes s'il était tenu compte de la chute des fruits malades.

Tableau I.

Rendement en huiles essentielles de peau d'orange (%) en fonction du degré d'attaque par la cercosporiose pour des agrumes de la variété oranger Biafa observés au Cameroun.

Lot observé	Catégories de fruits selon degré d'attaque			
	A (0 lésion)	B (1 ou 2 lésions)	C (3 à 5 lésions)	D (> 5 lésions)
lot 1	0,57	0,56	0,44	0,38
lot 2	0,60	0,60	0,43	0,35
lot 3	0,64	0,59	0,52	0,35
Moyenne	0,60 a	0,58 a	0,46 b	0,36 c

Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey au seuil de 5 % [écart type résiduel (8 ddl) = 0,033 ; coefficient de variation résiduel = 6,6 %].

3.2. Analyse de la composition chimique des extraits

Selon les différents degrés d'attaque identifiés sur les fruits échantillonnés, la composition chimique des extraits obtenus à partir des péricarpes d'agrumes plus ou moins touchés par la cercosporiose a quelque peu varié (*tableau II*).

Le limonène se révèle être le composé majeur avec une teneur variant de (81,64 à 84,87) % pour les fruits ayant, respectivement, plus de cinq lésions et ceux n'ayant qu'une ou deux lésions. Plus le fruit était attaqué, moins le limonène a semblé abondant dans l'extrait, bien que les fruits sains (0 lésion) aient présenté une teneur en limonène (83,28 %) inférieure à celle obtenue pour les fruits ayant une à deux lésions.

Une diminution de la teneur en un composé spécifique, en fonction du degré d'attaque du fruit par la cercosporiose, a aussi été observée pour l'heptanal (baisse de 44 % par rapport aux fruits sains), le myrcène (baisse de 19 %) et le méthyl-naphtalène-1 (baisse de 27 %). En revanche, pour certains autres composés, le phénomène inverse a été observé et leur teneur a augmenté dans le même sens que le degré d'attaque. C'est notamment le cas pour le δ^3 -carène et particulièrement pour

l' α -pinène oxyde. Cette augmentation a été observée dans une moindre mesure pour les limonène oxyde 1 et limonène oxyde 2. À noter que la baisse du taux de limonène s'est faite de façon concomitante à une augmentation du taux de limonène oxyde 1 et de limonène oxyde 2.

La somme des aldéhydes (heptanal + decanal + gèranial + α et β -sinensal) a atteint (0,25, 0,28, 0,32 et 0,29) % pour des fruits présentant respectivement 0, 2, 5 et plus de 5 lésions. La teneur en aldéhydes étant l'un des principaux paramètres de la qualité d'une huile essentielle, ces résultats tendraient à montrer que la qualité globale de ces huiles augmenterait en fonction de la gravité de la maladie. Mais, parallèlement, il convient de remarquer que les oxydes caractéristiques de la dégradation des huiles essentielles sont aussi en plus grandes proportions dans les fruits les plus atteints.

À noter que le (E)- β -terpinéol et l'acétate de myrtényle n'avaient encore jamais été signalés comme étant présents dans les huiles essentielles d'orange.

4. Conclusion

Nos travaux ont donc montré que les attaques de cercosporiose provoquaient une

Tableau II.

Effet des attaques de *Phaeoramularia angolensis* sur la composition chimique (%) d'huiles essentielles de peau d'oranges (*Citrus sinensis*) cultivées à Nkolbisson (Cameroun).

Composés	IKOV ₁₀₁	0 lésion	1 à 2 lésions	3 à 5 lésions	> 5 lésions
Aldéhydes		0,25	0,28	0,32	0,29
Heptanal	881	0,09	0,09	0,08	0,05
Décanal	1190	0,03	0,05	0,08	0,08
Géranial	1241	0,09	0,09	0,10	0,10
β-sinensal	1676	0,02	0,03	0,04	0,04
α-sinensal	1726	0,02	0,02	0,02	0,02
Monoterpènes		90,11	91,15	88,54	87,59
α-pinène	930	0,34	0,40	0,41	0,36
Sabinène	965	0,71	0,86	1,20	1,00
β-pinène	971	0,05	0,06	0,09	0,08
Myrcène	981	4,91	4,36	4,21	3,96
δ ³ -carène	1005	0,03	0,04	0,04	0,05
α-terpinène	1010	0,08	0,10	0,07	0,07
Limonène	1024	83,28	84,87	81,90	81,64
γ-terpinène	1051	0,60	0,42	0,53	0,35
Méthylnaphtalène	1268	0,11	0,10	0,09	0,08
Sesquiterpènes		0,07	0,08	0,10	0,12
β-élémane	1388	0,05	0,05	0,05	0,05
γ-cadinène	1506	0,02	0,03	0,05	0,07
Alcools monoterpéniques		9,02	7,96	10,32	11,16
Décanol	1257	0,09	0,08	0,10	0,06
Linalol	1083	6,06	5,19	6,85	7,47
α-pinène-oxyde	1106	0,03	0,05	0,11	0,20
(Z)-1-p-menthène-2-ol	1110	0,02	0,02	0,03	0,03
Limonène oxyde-1	1116	0,13	0,17	0,19	0,20
Limonène oxyde-2	1120	0,07	0,08	0,11	0,10
Isopulégol	1131	0,06	0,05	0,08	0,10
(E)-β-terpinéol	1148	0,07	0,07	0,04	0,05
Terpinène-4-ol	1163	0,32	0,26	0,50	0,54
α-terpinéol	1172	0,51	0,44	0,56	0,57
P-cymène-8-ol	1180	0,03	0,02	–	0,16
γ-terpinéol	1184	0,43	0,44	0,50	0,40
Carvéol	1200	0,06	0,07	0,11	0,15
Citronellool	1205	0,09	0,07	0,11	0,11
Nérol	1220	0,45	0,42	0,45	0,46
Acétate de myrtényle	1231	0,08	0,07	0,08	0,07
Géraniol	1235	0,53	0,46	0,50	0,49
Composés phénoliques		0,02	0,02	0,02	–
Thymol	1287	0,02	0,02	0,02	–

IKOV₁₀₁ : indice de rétention mesuré par l'indice de Kovats sur la clone OV101.

baisse des teneurs en huiles essentielles présentes dans la peau d'agrumes pouvant atteindre 40 %. Cette diminution s'est révélée significative dès que les attaques atteignent ou dépassaient une moyenne de trois lésions par fruit. Par ailleurs, les attaques de *P. angolensis* sur fruits ont eu tendance à modifier la quantité des composés constitutifs des huiles essentielles. L'augmentation des quantités globales d'aldéhydes dans les fruits les plus attaqués pourrait traduire une amélioration de la qualité des huiles essentielles s'il n'y avait conjointement une augmentation des oxydes, caractéristiques de la dégradation de ces huiles. La baisse des quantités de certains composés s'est accompagnée d'une augmentation de leur forme oxygénée, ce qui suggérerait que la maladie provoque l'oxydation de certains constituants des huiles essentielles.

Un travail similaire à celui présenté ici, entrepris pour déterminer l'effet de la cercosporiose sur la composition des huiles essentielles d'agrumes, pourrait être réalisé pour évaluer l'impact de la cercosporiose sur la teneur et la composition des jus de fruits, certaines maladies à champignon pouvant en effet constituer de réelles contraintes pour la transformation des fruits [13].

Remerciements

Ce travail a été réalisé avec l'appui du Projet *FAC-Recherche Fruits et légumes* de l'Irad (Cameroun). Nous remercions Cécile Dubois (Cirad-flhor, Montpellier, France) pour son aide lors de l'analyse des résultats.

Références

- [1] Kuate J., Cercosporiose des agrumes causée par *Phaeoramularia angolensis*, Cah. Agric. 7 (1998) 121–129.
- [2] Seif A.A., Willocks R.J., *Phaeoramularia* fruit and leaf spot of citrus with special reference to Kenya, Int. J. Pest Manage. 39 (1993) 44–50.
- [3] Viollon C., Activités antibactériennes et antifongiques de quelques huiles essentielles végétales et de leurs constituants principaux. Application au respect de l'équilibre de la microflore de tissus cutanés et muqueux, Univ. Franche-Comté, Thèse, France, 1993, 95 p.
- [4] Caubarrère M., Naulin P., Le marché des huiles essentielles, Doss. thémat., ENSAM Montpellier, Master, France, 1993, 87 p.
- [5] Huet R., Les huiles essentielles d'agrumes : A. Définition, Fruits 46 (4) (1991) 501–513.
- [6] Huet R., Les huiles essentielles d'agrumes : D. Technologies d'extraction, Fruits 46 (5) (1991) 551–564.
- [7] Berahia T., Comportement par couplage chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse et activité antioxydante de polyméthoxyflavones. Application aux huiles essentielles de *Citrus sinensis*, Univ. Droit Écon. Sci. Aix-Marseille, Thèse, Marseille, France, 1993, 183 p.
- [8] Boelens H.M., A critical review on the chemical composition of citrus oils, Perfum. Flavorist, 16 (1991) 17–34.
- [9] Knobloch K., Pauli A., Ibri B., Antibacterial and antifungal properties of essential oils components, J. Essent. Oil. Res. 1 (1989) 119–128.
- [10] Baratta M.T., Dorman H.J.D., Deans S.G., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Ruberto G., Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils, Flavour Frag. J. 13 (4) (1998) 235–244.
- [11] Siddiqui R.R., Ahmad H., Shakoor Ch.S., Ehteshammuddin A.F.M., Shirreen S., Antimicrobial activity of essential oils. Part II, Pakistan J. Sci. Ind. R. 39 (14) (1996) 43–47.
- [12] Dongmo P.M.J., Kuate J., Fekam Boyom F., Ducelier D., Damesse F., Amvam Zollo P.H., Menut C., Bessière J.M., Composition chimique et activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Citrus* sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*, Fruits 57 (2) (2002) 95–104.
- [13] Brown G.E., Eckert J.W., Alternaria rot, in: Whiteside J.O., Garnsey S.M., Timmer L.W. (Eds.), Compendium of citrus diseases, APS Press, Minnesota, USA, 1988, pp. 30–31.

Efecto de la cercosporiosis debida a *Phaeoramularia angolensis* en el contenido y composición química de los aceites esenciales de piel de naranja.

Resumen — Introducción. Los daños provocados por la cercosporiosis de los cítricos debida a *Phaeoramularia angolensis* son la causa de pérdidas de cosecha o de rechazos de selección que pueden variar entre el 50 y el 100% de la producción. Hay que saber que todos los órganos atacados por la enfermedad – pétalos de las flores, hojas y, sobre todo, la piel de los frutos – contienen aceites esenciales de gran valor comercial. Se efectuó un estudio para conocer la influencia de los ataques de esta enfermedad en el rendimiento en la extracción y en la calidad de los aceites esenciales de piel de naranja. **Material y métodos.** Se extrajo el aceite esencial mediante hidrodestilación de frutos cosechados en fase madura y se analizaron los extractos por cromatografía de gases para determinar su composición química. **Resultados y discusión.** El rendimiento de extracción de aceites esenciales disminuyó (hasta un 40%) en función de la importancia de los ataques. Esta disminución sólo fue significativa cuando los ataques superaban dos lesiones por fruto. Los extractos que se obtuvieron en frutos con distintos grados de ataque mostraron algunas variaciones cuantitativas de sus constituyentes. La disminución de algunos compuestos en los frutos enfermos se vio acompañada de un incremento de su forma oxigenada. Se observó un aumento de la cantidad global de aldehídos en los frutos enfermos, lo que podría significar una mejora de la calidad de los aceites esenciales pero, al mismo tiempo, aumentaron los óxidos característicos de la degradación de estos aceites esenciales. **Conclusión.** Este estudio, que debe profundizarse, permitió obtener los primeros datos sobre las pérdidas de rendimiento y la evolución de la composición de aceites esenciales de piel de naranja relacionados con los ataques de la cercosporiosis.

Camerún / *Citrus sinensis* / enfermedades de las plantas / *Phaeoramularia angolensis* / lesiones / piel (vegetal) / aceites esenciales / composición química

To access this journal online:
www.edpsciences.org
