

WWJMRD 2016; 2(3): 43-47  
www.wwjmr.com  
e-ISSN: 2454-6615

**Khaled Attrassi**  
Regional Centre for Careers  
Education and Training  
(CRMEF) Science Laboratory  
of Life and Earth, Kenitra,  
Morocco

**Ouafaa Belamghari**  
Ibn Tofail University, Faculty  
of Science, Laboratory of  
Environment and Renewable  
Energy, Team: Environment,  
Heritage & Health, Kenitra,  
Morocco

**Mohamed Rahouti**  
Mohammed V University,  
Faculty of Science, Laboratory  
Botanique, Rabat, Morocco

## In vitro Efficacy of three fungicides on the development of rotting oranges from the cold of Kenitra (Morocco)

**Khaled Attrassi, Ouafaa Belamghari, Mohamed Rahouti**

### Abstract

In this study, in vitro efficiency of three fungicides is observed on 6 fungi responsible for the rot of oranges in conservation in the cold room of Kenitra.

Azoxystrobin were less active in the inhibition of the mycelial growth of *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium italicum*, with the values of CI50 respectively of >500; 430,142 ; 219,374 ; 353,635 ; >500 and 138,148 ppm. The values of CI50 obtained for the benomyl, the thiabendazole and Azoxystrobin showed that these fungicides are very effective in the inhibition of the sporulation and the germination of the majority of fungi studied.

**Keywords:** Oranges, conservation, fungi, fungicides, rots

### Introduction

Les premiers locaux conçus pour la conservation des fruits étaient des chambres froides dans lesquelles la température est maintenue au voisinage de la température critique des fruits. La ventilation permet d'éliminer de l'air, les gaz émis par la respiration et le métabolisme des fruits, le dioxyde de carbone et l'éthylène en particulier (Bondoux, 1992). Ces installations permettent d'avoir une température constante et de maintenir une certaine humidité relative. Ces conditions améliorent considérablement la qualité des fruits en fin de conservation, mais elles facilitent beaucoup le développement des champignons, agents responsables des pourritures, dont l'évolution est ralentie mais non annulée par la température basse, et par ailleurs favorisée par une hygrométrie élevée (Bondoux, 1992).

La lutte chimique reste le moyen le plus efficace utilisé contre les pathogènes responsables des maladies de post-récolte. Plusieurs produits fongicides sont utilisés dans les stations de conditionnement, soit en pré-traitement au niveau du drencher soit au niveau de la chaîne de conditionnement proprement dite (Eckert, 1982).

Les traitements chimiques ont joué un rôle très important dans la protection des fruits d'agrumes contre les maladies fongiques de conservation. En effet, depuis près de deux décennies, le benomyl, le thiabendazole et le méthylthiophanate sont considérés comme des produits efficaces contre les agents de pourriture des fruits d'agrumes en conservation. Les traitements des fruits en post-récolte avec le benomyl, le thiabendazole contrôlent bien les pourritures dues à *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea* (Maas et Mac, 1970; cité par Ella ondo, 1991).

L'azoxystrobin est un fongicide à base de strobilurine développé à partir du  $\beta$ -methoxyacrylate de l'agaric *Strobilurus tenacellus* (Ammerman *et al.*, 1992 et Attrassi, 2014). Il possède des qualités de systémie locale et translaminaire. De plus, il a un large spectre d'action sur plusieurs maladies qui attaquent différentes cultures d'une grande importance économique (Godwin *et al.*, 1992). L'azoxystrobin possède une action préventive et curative offrant la possibilité de l'utiliser sur les feuilles, les graines et le traitement du sol pour une longue durée de contrôle de la maladie (Godwin *et al.*, 1992 et Heaney and Kinght, 1994).

Comme actuellement la chimiothérapie est la plus utilisée contre les maladies fongiques de conservation des fruits d'agrumes, nous avons évalué l'efficacité *in vitro* de trois fongicides (benomyl, thiabendazole et azoxystrobin) sur le développement de 6 champignons responsables de ces maladies.

### Correspondence:

**Khaled Attrassi**  
Regional Centre for Careers  
Education and Training  
(CRMEF) Science Laboratory  
of Life and Earth, Kenitra,  
Morocco

## Matériel et méthodes

### Champignons étudiés

Un isolat de chacun des champignons isolés à partir des oranges en conservation dans la chambre froide de Kenitra est utilisé: *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus stolonifer*.

### Les fongicides utilisés

L'azoxystrobine, nom commercial Ortiva, est utilisé sous forme d'une suspension concentrée contenant 250 g de matière active par litre. Le fongicide est commercialisé par Zeneca Agrochemical. Les doses homologuées en Azoxystrobine pour différentes cultures varient entre 0,08 l/ha et 1 l/ha (Anonyme, 1999a).

Le bénomyl, nom commercial benlate, est présenté sous forme de poudre mouillable contenant 50% de matière active. Sa dose homologuée est de 60 g/hl (Anonyme, 2004).

Le thiabendazole, est un fongicide représenté sous forme de poudre contenant 100% de matière active. Sa dose homologuée est de 160 g/hl (Anonyme, 2004). La dose homologuée est la dose recommandée par l'index phytosanitaire (Ezzahiri *et al.*, 2004).

### Effet *in vitro* des fongicides sur les trois stades de vie des champignons.

#### Préparation du milieu de culture

Les fongicides utilisés dans cet essai se présentent tous sous une forme concentrée. Pour le bénomyl et le thiabendazole, des solutions mères sont préparées en solubilisant les fongicides

dans l'eau distillée stérile ou bien dans le DMSO (diméthyl sulfoxyde). Par contre, l'azoxystrobine est déjà sous forme d'une suspension. A partir de ces solutions mères, des dilutions successives sont réalisées pour obtenir les concentrations finales en matière active pour chaque fongicide.

La technique utilisée dans cet essai s'inspire de celle de Faddoul et Albertini (1974) et Bendahmane *et al.* (1992) Chaque fongicide est incorporé aseptiquement, à l'aide de seringues stériles, dans le milieu de culture PSA maintenu en surfusion à une température de 45°C. L'inoculation s'effectue en déposant des disques mycéliens, de 5 mm de diamètre, au centre des boîtes de Petri qui sont incubées à 28°C. Pour chaque concentration, 3 répétitions sont réalisées.

Les doses des fongicides utilisées sont :

- Pour l'azoxystrobine : 62,5 ppm (C1), 250 ppm (C2), 375 ppm (C3), 500 ppm (C4).
- Pour *Pythium ultimum* : 37,5 ppm (C1), 50 ppm (C2), 62,5 (C3), 125 ppm (C4).
- Pour le bénomyl : 3 ppm (C1), 6 ppm (C2), 30 ppm (C3), 300 ppm (C4).
- Pour le thiabendazole : 16 ppm (C1), 32 ppm (C2), 160 ppm (C3), 600 ppm (C4).

### Action sur la croissance mycélienne

La fongitoxicité est testée en mesurant la croissance du mycélium sur milieu PSA contenant le fongicide à diverses concentrations. Le diamètre des colonies (mesuré suivant deux directions perpendiculaires) est mesuré après 8 jours d'incubation.

Pour chaque concentration du fongicide, le pourcentage

d'inhibition de la croissance mycélienne est calculé par rapport au témoin non traité (sans fongicide).

Les pourcentages d'inhibition (I%) provoqués par les fongicides sont alors définis par la formule suivante:

$$I\% = \frac{C-Cf}{C} \times 100$$

C

C= Croissance du champignon dans le milieu de culture sans fongicide (en mm).

Cf= Croissance du champignon dans le milieu de culture à une concentration du fongicide (en mm).

### Action sur la sporulation

Le nombre de spores est estimé après 12 jours d'incubation pour *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Trichothecium roseum* et *Cladosporium herbarum*, et après 10 jours

pour les autres champignons étudiés. 4 rondelles de 5 mm de diamètre sont prélevées à partir des boîtes ayant servi à la croissance mycélienne des différents champignons en présence de différentes concentrations des fongicides, elles sont ensuite déposées dans des tubes à essai contenant 1 ml d'eau distillée stérile. La suspension fongique est ensuite agitée à l'aide d'un vortex pendant 20 secondes afin de libérer les conidies des conidiophores.

Le comptage du nombre total de spores est effectué avec une lame de Malassez à raison de 10 comptages par suspension. Les moyennes de ces mesures sont ensuite calculées. Les valeurs sont exprimées en nombre de spores par unité de surface (mm<sup>2</sup>). Cette technique est inspirée de celle adaptée pour *Fusarium oxysporum* (Besri, 1981).

Le pourcentage d'inhibition %I par rapport au témoin non traité est calculé comme suit :

$$\%I = \frac{Nt-Nc}{Nt} \times 100$$

Nt

Nt= Nombre de spores estimé chez le témoin.

Nc= Nombre de spores estimé en présence du fongicide.

### Action sur la germination

A partir des cultures jeunes des différentes espèces testées, des spores sont récoltées dans de l'eau distillée stérile. La densité de la suspension est ajustée à 10<sup>3</sup> spores /ml par estimation de la densité initiale (comptage à l'aide de la lame Malassez) puis dilution. 0,1 ml de la suspension sporale est prélevée et étalée à la surface des boîtes de Petri contenant de l'eau gélosée (15 g d'Agar-agar par 1000 ml d'eau distillée stérile), additionnée de différentes concentrations des fongicides testés. Les boîtes de Petri sont placées à l'obscurité et à 28°C. Pour chaque concentration, 3 répétitions sont réalisées.

Après 24 heures, le comptage des spores germées est effectué sur un total de 200 spores. La spore est considérée comme germée si la longueur du tube germinatif est supérieure à son plus petit diamètre (Mlaiki, 1970).

Le pourcentage d'inhibition de la germination des spores (%I) par rapport au témoin est calculé selon la formule suivante :

$$\%I = \frac{Nt-Nf}{Nt} \times 100$$

Nt

Nf= Nombre de spores germées dans le milieu de culture sans fongicide.

Nf= Nombre de spores germées dans le milieu de culture en présence du fongicide.

### Analyse statistique

L'analyse statistique est réalisée par l'étude des matrices de corrélations à l'aide d'un logiciel informatique. Les pourcentages d'inhibition sont transformés en valeurs probits. Pour un fongicide et une espèce donnée, une relation linéaire est établie entre le logarithme de la concentration en fongicide et les valeurs probits.

L'équation de régression linéaire: [ $y = a \log x + b$ ] avec: a: coefficient de corrélation, b: constante, x: la concentration en fongicide, y: probit, log: logarithme décimale], permet par projection, d'obtenir la CI50 qui représente la concentration du fongicide réduisant de moitié la croissance, la sporulation, la germination des spores.

### Résultats

#### Effet *in vitro*

En présence de l'Azoxytrobine, du bénomyl et du thiabendazole, *Alternaria alternata* et *Rhizopus stolonifer* se sont montrés très résistants avec des CI50 supérieures aux concentrations testées pour chaque fongicide (Tableau 1), alors que *Fusarium oxysporum* s'est montré résistant respectivement au bénomyl et au thiabendazole. Ces deux derniers composés se sont montrés plus efficaces que

l'azoxytrobine vis-à-vis des autres champignons testés avec des CI50 très faibles.

L'azoxytrobine s'est avéré moins actif dans l'inhibition de la croissance mycélienne de *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium italicum* avec respectivement des valeurs de CI50 égales à >500; 430,142 ; 219,374 ; 353,635 ; >500 et 138,148 ppm.

Concernant l'effet des fongicides sur l'inhibition de la sporulation, les valeurs des CI50 obtenues pour le bénomyl, le thiabendazole et l'azoxytrobine (Tableau 2) révèlent que ces

fongicides sont très efficaces dans l'inhibition de la sporulation de la plupart des champignons étudiés. Cependant, *Penicillium italicum* s'est montré résistant vis-à-vis de l'azoxytrobine.

Les résultats obtenus pour la germination conidienne ont montré une grande sensibilité vis-à-vis des trois fongicides mais à des degrés variables (Tableau 3). En effet, l'azoxytrobine,

le bénomyl et le thiabendazole ont agi respectivement avec des concentrations qui varient entre (20,46 – 537,98 ppm), (1,41 – 48,5 ppm) et (16,01 – 167,81 ppm).

**Tableau 1:** Effet des trois fongicides testés sur l'inhibition *in vitro* de la croissance mycélienne des champignons isolés des oranges en conservation dans la chambre froide de Kenitra.

Espèces fongiques	AZOXYSTROBINE CI50 en ppm	BENOMYL CI50 en ppm	THIABENDAZOLE CI50 en ppm
<i>Alternaria alternata</i>	>500	>300	>600
<i>Aspergillus niger</i>	430,142	1,324	16,152
<i>Fusarium oxysporum</i>	219,374	47,050	>600
<i>Penicillium digitatum</i>	353,635	31,217	11,310
<i>Rhizopus stolonifer</i>	>500	>300	>600
<i>Penicillium italicum</i>	138,511	8,144	14,201

**Tableau 2:** Effet des trois fongicides testés sur l'inhibition *in vitro* de la sporulation des champignons isolés des oranges en conservation dans la chambre froide de Kenitra.

Espèces fongiques	AZOXYSTROBINE CI50 en ppm	BENOMYL CI50 en ppm	THIABENDAZOLE CI50 en ppm
<i>Alternaria alternata</i>	117,344	106,363	28,521
<i>Aspergillus niger</i>	175,686	3,498	6,565
<i>Fusarium oxysporum</i>	45,060	5,119	36,588
<i>Penicillium digitatum</i>	55,436	173,319	88,674
<i>Rhizopus stolonifer</i>	175,946	0,527	1,664
<i>Penicillium italicum</i>	>500	4,763	28,456

**Tableau 3:** Effet des trois fongicides testés sur l'inhibition *in vitro* de la germination des champignons isolés des oranges en conservation dans la chambre froide de Kenitra.

Espèces fongiques	AZOXYSTROBINE CI50 en ppm	BENOMYL CI50 en ppm	THIABENDAZOLE CI50 en ppm
<i>Alternaria alternata</i>	172,604	48,543	167,812
<i>Aspergillus niger</i>	166,362	2,329	28,085
<i>Fusarium oxysporum</i>	173,226	2,710	22,324
<i>Penicillium digitatum</i>	173,226	5,069	43,282
<i>Rhizopus stolonifer</i>	537,985	9,085	131,736
<i>Penicillium italicum</i>	20,462	1,418	16,016

### Discussion et Conclusion

l'azoxytrobine est un fongicide qui présente une triple action: une action anti-germinative, en agissant fortement sur la germination des spores, très consommatrices d'énergie; une action préventive anti-mycélienne en arrêtant le développement des champignons car ils ont besoin en permanence d'énergie, ce qui procure un effet curatif et une action antisporelante sur plusieurs

champignons comme par exemple *Leveillula taurica*, *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Plasmopora viticola* et *Uncinula nectar* pour éviter les contaminations ultérieures (Anonyme, 1999a et Anonyme, 1999b). De plus, ce fongicide peut agir par les deux types de traitements, préventif et curatif, voire même plusieurs traitements, selon les cas pour arrêter la maladie.

Par ailleurs, les produits systémiques, le bénomyl et le thiabendazole, agissent sur le fonctionnement du fuseau achromatique en inhibant la division mitotique. Ils ont une spécificité d'action vis-à-vis du parasite et par conséquent agissent sur un nombre très limité de cibles (oligosites), et par la suite sont susceptibles de donner naissance à des souches résistantes (Lepoivre, 1989). Les benzimidazoles inhibent la mitose du parasite en se liant à une protéine des microtubules empêchant leur réunion correcte dans le fuseau (Davidse et Flach, 1978). Le bénomyl est hydrolysé en méthyl-2-benzimidazole carbamate (MBC), ce dernier interfère avec la synthèse de l'ADN et la réplication chez *Ustilago zaeae*. Il agit plus sur l'élongation du tube germinatif que sur la germination. L'absorption se fait en grande partie dans le protoplasme, et il ne reste qu'une faible partie dans les parois et le noyau.

Les effets de l'Azoxystrobine observés sur les différents champignons pathogènes, ainsi que ceux du bénomyl et du thiabendazole, concordent avec les résultats observés au cours des expériences réalisées sur les différents pathogènes des oranges en conservation. En effet, les CI50 et les pourcentages d'inhibition obtenus *in vitro* ont montré une résistance d'*Alternaria alternata*, et *Rhizopus stolonifer* vis-à-vis de ces trois produits, alors que *Alternaria tenuissima* et *Fusarium oxysporum* se sont montrés résistants vis-à-vis du bénomyl et du thiabendazole. Des résultats similaires ont été obtenus par Mc Phee (1980). Ce dernier a montré qu'à une concentration de 100 ppm du bénomyl et du thiabendazole, la croissance mycélienne et la germination des spores d'*Alternaria alternata* sont très importantes. L'inefficacité des benzimidazoles a été relatée par de nombreux auteurs notamment Burton et Dewey (1981) qui ont rapporté que le bénomyl à 1800 ppm n'a pas pu contrôler les pourritures causées par cet agent pathogène. De même, des travaux réalisés dans le même sens ont révélé que dans les stations fruitières au Maroc, *Penicillium expansum* a développé une résistance croisée positive vis-à-vis de ces produits, dont les efficacités ont été prouvées auparavant (Ramdani, 1989). Ceci est en accord avec nos résultats. La résistance au thiabendazole a été également découverte en France et en Allemagne chez *Fusarium sulphurum* (Trivoli *et al.*, 1986 ; cité par Hide *et al.*, 1988).

Gessler (1976) a signalé des souches de *P. italicum* et de *P. digitatum* sur citron résistantes au thiabendazole et des souches de *Cercospora beticola*, *Botrytis cinerea* et *Venturia inaequalis* résistantes au bénomyl. Selon Bertelson *et al.*, (2001), l'Azoxystrobine inhibe la croissance mycélienne et la germination des spores de *Cladosporium macrocarpum* et *Alternaria alternata* et réduit la formation des papilles de ce champignon sur les feuilles de blé.

L'azoxystrobine a prouvé son efficacité vis-à-vis de plusieurs pathogènes. Cependant, il ne faut pas négliger le risque d'apparition de souches résistantes qui peut conduire à une perte d'activité de cette famille de produits.

En Pologne, des tolérances aux benzimidazoles ont été enregistrées pour l'agent de la tavelure des pommes (*Venturia inaequalis*) après trois saisons de traitement (Novacka *et al.*, 1977). En effet, 50% des souches isolées n'ont pas été inhibées *in vitro* à une concentration de 100 ppm de bénomyl alors que 1 ppm a inhibé les souches non tolérantes. Des souches résistantes au bénomyl sont apparues chez plusieurs autres champignons. En général, la résistance à l'un des fongicides peut s'étendre à tout le

groupe des benzimidazoles. En revanche, les travaux effectués par Ella ondo (1991) et Bondoux (1992) ont montré que le thiabendazole et le bénomyl sont très efficaces contre tous les contaminants fongiques des pommes et des poires en conservation. À des doses élevées, ces deux fongicides ont inhibé *in vivo* la sporulation de *Penicillium* spp. sur des fruits pourris à une concentration allant de 4000 à 6000 ppm (Eckert *et al.*, 1981 et Brown, 1984).

En outre, Eckert (1977) a montré que les benzimidazoles sont très efficaces dans la prévention de l'infection des fruits se produisant durant la récolte et la conservation. La propriété éradiquante peut être attribuée à la pénétration de ces produits à travers la cuticule de l'hôte et d'arriver aux sites d'infection (Ben Arie, 1975). Ces caractéristiques sont responsables de la persistance des fongicides pendant la longue période de conservation des pommes et des poires mais en même temps, ils sont responsables de la sélection continue dans la population des champignons résistants, ceci a été signalé par Ramdani (1989) pour *Penicillium* spp. et par Selmaoui *et al.* (1997) et Selmaoui et Douira (1999) pour *Alternaria alternata* et Attrassi *et al.* (2005, 2007) pour un complexe fongique responsable de la pourriture des pommes en conservation et Attrassi *et al.* (2014) pour la pourriture des deux agrumes.

Trois fongicides (benomyl, thiabendazole et azoxystrobine) ont été testés contre *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus stolonifer*, agents responsables des pourritures des oranges en conservation dans la chambre froide de Kenitra.

En se basant sur les valeurs de CI50, estimées *in vitro*, le benomyl, le thiabendazole et l'azoxystrobine s'avèrent très efficaces aussi bien sur la croissance mycélienne, la sporulation que sur la germination de la plupart des champignons testés.

## References

1. Ammerman, E., Lorenz, G., and Schelberger, K. 1992. BAS 490 F- a broad spectrum fungicide with a new mode of action. Proc. Br. Crop Prot. Conf. -Pests and Diseases 10 :403-410.
2. Anonyme, 1999a. Zeneca Spora. France. Fiche de produit ORTIVA. www.spora.fr.
3. Attrassi K., Selmaoui K., OuazzaniTouhami A., Badoc A., Douira A. - Biologie et physiologie des principaux agents fongiques de la pourriture des pommes en conservation et lutte chimique par l'azoxystrobine. - *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2005, 144(1-2), 47-62.
4. Attrassi K., Benkirane R., Attrassi B., Douira A. -Effet de l'association de certains fongicides avec le chlorure de calcium sur le développement d'un complexe fongique responsable de la pourriture des pommes en conservation.- *Phytoprotection*, 2007, 88 : 17-26.
5. Attrassi K. & Badoc A. - Moisissures des fruits de deux Agrumes.- *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2014, 153(1-8) : 57-66.
6. Anonyme, 1999b. Zeneca Agrochimicals. Brochure Azoxystrobine: Integrated Pest and Management.
7. Anonyme, 2004. Centre des Travaux Agricoles d'Oulmès, p : 25-03.
8. Ben-Arie R., 1975. Benzimidazole : penetration, distribution et persistance in post-harvest pears. *Phytopathology*, 65 :1187-1189.

9. Bendahmane B., Barrault G., Albertini L. & Toubiarahmane H., 1992. Etude de l'action *in vitro* de divers fongicides sur le développement de *Drechslera teres f. teres* et *f. maculata*. *Phytopathol. Méditer.*, 31: 77-84.
10. Bertelsen J. R., De Neergaard E. & Smedegaard – Petersen V., 2001. Fungicidal effects of Azoxystrobin and Epoxiconazole, on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. *Plant Pathology*, 50 (2): 190-205.
11. Bondoux P., 1992. Maladies de conservation des fruits à pépins : pommes et poires. INRA. Paris, PHM. *Rev. Hortic.*, 173p.
12. Davide, L. C. & Flach W., 1978. Interaction of thiabendazole with fungal rungal tubul, *Biochim. Biophys. Acta*, 543: 82-90.
13. Eckert J.W., 1977. Control of post-harvest disease. In: Siegele M. R. & H.D. Sisler (Ed): *Antifungal compound*, New York, 1: 225-232.
14. Eckert J.W., 1982. Case study: *Penicillium* decay of Citrus fruits. In: Dekker J. & S.G. Georgopoulos (Ed.): *Fungicide resistance in crop. Protection*. PUDOC, Wageningen: 231-250.
15. Ella ondo T., 1991. Effet de la lutte chimique en post récolte sur l'incidence des pourritures à *Penicillium expansum* des poires en conservation. Mémoire de 3ièm cycle en Agronomie, option phytopathologie, I.A.V. Hassan II, Maroc, 96p.
16. Ezzahiri B., Bouhache M., Mihi M., et Erraki I., 2004. Index phytosanitaire (Maroc). Association marocaine de protection des plantes (AMPP), Rabat. *Instituts, Maroc*, 257p.
17. Faddoul J. et Albertini L., 1974. La lutte chimique contre *Coryneum cardinal* Wag., agent du dépérissement des Cyprès. *Expérience in vitro*. *Phytopathologia Méditer.*, 8: 29-54
18. Gessler C., 1976. Ueber den mechanismus der resistenz von pilzen gegenuiber benomyl. *Phytopathology Z*, 85: 35-38.
19. 19-Godwin, J. R, Anthony, V. M., Clough, J. M., and Godfrey, C. R. A. 1992. ICIA 5504: A nouvel, broad spectrum, systemic  $\beta$ -methoxyacrylate fungicide. *Proc. Br. Crop. Prot. Conf. Pests and Disease* 10:435-442.
20. 20-Heaney, S. P., and Kinght, S. C. 1994. ICIA 5504: A nouvel broad spectrum fungicide for use on fruit, nut and horticultural crops. *Proc. Br. Crop Prot. Conf. – Pests and Diseases* 12:509-516.
21. Hide G. A., Hall S. H. & Boorer K. J., 1988. Resistance to thiabendazole in isolates of *Helminthosporium solani*, the cause of silver scurf disease of potatoes, 37: 377-380.
22. Mc Phee W. J., 1980. Some characteristics of *Alternaria alternata* strains resistant to iprodione. *Plant Disease*, 64:847-849.
23. Novacka H., Karolczk W. & Milikan D. F., 1977. Tolerance of the apple scab fungus to the benzimidazole fungicides in Poland. *Plant Dis. Rep.*, 61: 346-350.
24. Ramdani A., 1989. Les pourritures à *Penicillium expansum* Link. ex. Thom. des pommes et des poires dans une station frigorifique de la région de Meknès : Problèmes et remèdes. Mémoire de 3ème cycle en Agronomie, Option phytopathologie I.A.V. Hassan II, Maroc, 112p.
25. Selmaoui K., Boubaker A. & Douira A., 1997. Effet *in vivo* et *in vitro*, de quelques fongicides sur le développement de la pourriture des pommes en conservation due à *Alternaria tenuis*. *Nees. Al Awamia* 97: 41-50.
26. Selmoui K. & Douira A., 1999. Microsclerotia in *Alternaria alternata*. *Phytopathol. Mediter.*, 38: 43-46.