

Effet de certaines espèces fongiques sur le développement de la ternissure des grains de riz (*Oryza sativa* L.)

Simplice Léopold GNANCADJA-ANDRE¹, Amina OUAZZANI TOUHAMI¹
& Allal DOUIRA^{1a}

(Reçu le 12/06/03; Accepté le 17/06/2004)

تأثير بعض أنواع الفطريات على تطوير كمد حبوب الأرز

استعملت سبعة أنواع من الفطريات المعزولة من جروح الأوراق وبذور الأرز المانتوسبوريوم أورزي، المانتوسبوريوم ساتفوم، المانتوسبوريوم سبيسيفيروم، المانتوسبوريوم أستراليانيسيس، كورفولاريالونتا، إبيكوكوم نيغروم، فوزاريوم مونيليفورم ولتلقح بذور الأرز من صنف أركو و تايوني بهدف ملاحظة العلامات التي تحدثها هذه الفطريات. بعد ثلاث أشهر من تلقح بذور الأرز بمختلف أنواع الفطريات. دوننا معاملات الكمد ونسب إتلاف البذور. معاملات الكمد مهمة ونسب إتلاف البذور. كبيرة عندما يكون سببها خصوصا فوزاريوم مونيليفورم، كورفولاريالونتا و إلمانتوسبوريوم أورزي.

الكلمات المفتاحية : الأرز - البذور - إلمانتوسبوريوم أورزي - إلمانتوسبوريوم ساتفوم - إلمانتوسبوريوم سبيسيفيروم - إلمانتوسبوريوم أستراليانيسيس - كورفولاريالونتا - إبيكوكوم نيغروم و فوزاريوم مونيليفورم - التلقح - الكمد

Effet de certaines espèces fongiques sur le développement de la ternissure des grains de riz (*Oryza sativa* L.)

Sept (7) espèces fongiques isolées à partir des lésions foliaires et des semences de riz (*Helminthosporium oryzae*, *Helminthosporium sativum*, *Helminthosporium spiciferum*, *Helminthosporium australiensis*, *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme* et *Epicoccum nigrum*) ont été utilisées pour inoculer les grains de riz des variétés Arco et Taibonnet dans le but d'observer les symptômes que ces champignons sont capables de provoquer sur ces semences. Trois mois après inoculation des grains par les différentes espèces fongiques et dans les trois mois qui suivent l'expérience, les indices de ternissure et les pourcentages d'altération des grains ont été notés. Les indices de ternissure les plus importants et les pourcentages d'altération des grains les plus élevés sont induits par *Fusarium moniliforme*, *Curvularia lunata* et *Helminthosporium oryzae*.

Mots clés: Riz - Semences - *Oryza sativa* - *Helminthosporium* spp. - *Curvularia lunata* - *Fusarium moniliforme* - *Epicoccum nigrum* - Inoculation - Ternissure

Effect of some fungal species on the development of the dull spot of rice (*Oryza sativa* L.) grains

Seven (7) fungal species isolated from the foliar lesions and the seeds of rice (*Helminthosporium oryzae*, *Helminthosporium sativum*, *Helminthosporium spiciferum*, *Helminthosporium australiensis*, *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme* and *Epicoccum nigrum*) have been used to inoculate the grains of rice varieties Arco and Taibonnet in order to observe the symptoms that these fungi are able to provoke on these seeds. Three months after inoculation of the index of tarnish and the percentage of grains alteration were noted. This experience showed that the most important index of tarnish and the great percentage of grain alteration were induced by *Fusarium moniliforme*, *Curvularia lunata* and *Helminthosporium oryzae*.

Key words: Rice - Seed - *Oryza sativa* - *Helminthosporium* spp. - *Curvularia lunata* - *Fusarium moniliforme* - *Epicoccum nigrum* - Inoculation - Dull spot

* Laboratoire de Botanique et de Protection des Plantes, département de biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, B. 133, Kénitra, Maroc

^a Auteur correspondant; e-mail: douiraallal@hotmail.com ; gnancadja@hotmail.com

INTRODUCTION

Le plus souvent, la décoloration des grains est le fait d'une infection des glumelles ou des grains par les micro-organismes (Zeigler & Hoyos, 1987). Parfois, elle peut avoir une autre origine (Zeigler *et al.*, 1987). En effet, quand la culture du riz a été faite sur des sols très acides ou en terrains inondés acides à forte teneur en fer, les grains de riz font alors l'objet d'une décoloration sévère. Une haute densité de plants, des doses élevées d'engrais azotés, l'empilement du riz après la récolte, une humidité élevée des grains constituent, certes, d'autres facteurs de décoloration (Hassikou, 2000).

Les affections cryptogamiques à l'origine de la décoloration des grains se répartissent en deux groupes majeurs: les champignons qui infectent les grains au champ avant la récolte et les moisissures qui se développent dans les lieux de stockage. Dans le premier groupe, les plus connus sont *Alternaria alternata*, *Pyricularia oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Nigrospora oryzae*, *Epicoccum nigrum*, *Curvularia lunata* et *Phoma sorghinia*.

On peut citer aussi *Sarocladium oryzae*, agent causal de la pourriture des grains, capable de provoquer leur décoloration (Vidhasekaran, 1980). Les champignons comme *Bipolaris oryzae*, *Phoma sorghinia*, *Nigrospora oryzae*, *Curvularia lunata* et des bactéries du genre *Pseudomonas* ont posé de sérieux problèmes de décoloration dans la zone tropicale humide du Nord du Brésil (Prabhu & Viera, 1989).

Quant aux moisissures des grains stockés, elles sont provoquées essentiellement par des espèces du genre *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, etc. (Hassikou, 2000).

L'isolement d'un grand nombre d'espèces fongiques à partir des grains de riz nous a conduit à étudier la part qui revient à chaque espèce fongique dans l'altération de ces grains.

MATÉRIEL & MÉTHODES

1. Matériel végétal

Les grains, d'apparence saine, des variétés de riz Arco et Taibonnet sont désinfectés par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 15% pendant deux minutes, rincés trois fois à l'eau distillée stérile puis séchés sur papier filtre stérile.

2. Matériel fongique

Sept espèces fongiques isolées à partir des plantes de riz (*Oryza sativa* L.) sont utilisées.

Helminthosporium oryzae et *Helminthosporium spiciferum* sont obtenus à partir des lésions foliaires de la variété de riz Triomphe.

Helminthosporium sativum et *Helminthosporium australiensis* sont issus respectivement des lésions des variétés Bahja et Samar.

Curvularia lunata est isolé à partir des lésions de la variété Kenz.

Fusarium moniliforme et *Epicoccum nigrum* sont obtenus à partir des semences de la variété Arco.

Toutes ces espèces sont conservées sur des rondelles de papier filtre à - 20°C au congélateur.

3. Préparation de l'inoculum

Pour la production de l'inoculum, *Helminthosporium oryzae*, *Helminthosporium sativum*, *Epicoccum nigrum* et *Fusarium moniliforme* sont cultivés sur un milieu de culture à base de farine de riz (14 g de farine de riz, 4 g d'extrait de levure, 15 g d'agar-agar, 1000 ml d'eau distillée).

Curvularia lunata, *Helminthosporium spiciferum*, *Helminthosporium australiensis* sont cultivés sur le milieu PSA (potato-saccharose-agar: 200 g de pomme de terre, 20 g saccharose, 15 g agar-agar et 1000 ml d'eau distillée) et incubés à l'obscurité à 28°C.

Après 15 jours d'incubation environ pour *Fusarium moniliforme*, *Helminthosporium australiensis*, *Helminthosporium spiciferum*, *Helminthosporium sativum*, 10 jours environ pour *Helminthosporium oryzae* et 20 jours pour *Epicoccum nigrum*, la surface chargée de spores est raclée stérilement à l'aide d'une spatule métallique et de l'eau distillée. La suspension obtenue est filtrée sur une mousseline pour séparer les spores du mycélium.

4. Traitement des grains

Les grains des deux variétés étudiées Arco et Taibonnet sont séparés en petits lots de 20 à 200 grains. Chaque lot est inoculé avec une suspension

sporale de l'une des espèces fongiques testées ajustées à 10^5 spores/ml. Les lots de grains sont ainsi trempés pendant 1 heure 30 mn dans des inocula obtenus à partir de différentes espèces fongiques et séparés dans de petits erlens, soit 3 erlens par espèce fongique.

Les grains témoins n'ont pas reçu de suspensions sporales, mais ont été plutôt trempés dans de l'eau distillée (1 h 30 mn). Ces lots de grains sont ensuite soigneusement étalés et séchés sur la paillasse pendant 72 heures (temps pour noter les premiers symptômes) et conservés durant 3 mois pour la notation définitive des symptômes.

5. Notation des résultats

La notation de la ternissure des grains est réalisée à l'aide d'une échelle arbitraire, échelle qu'on a préétablie.

Note	Description des dégâts
0	Pas de symptômes apparents
1	Quelques taches isolées de couleur brune sur une partie du grain
2	Taches plus ou moins grandes réparties sur une partie de la semence
3	Taches rondes ou allongées réparties sur les 2/3 du grain
4	Décoloration sur la totalité ou presque de la surface du grain

La somme des notes rapportées au nombre de grains traités ou non constitue l'indice de ternissure. Un indice moyen est ensuite calculé pour chaque lot de grains.

$$\text{Indice de ternissure} = \frac{\text{Somme des notes obtenues}}{\text{Nombre de grains observés}}$$

Le pourcentage de grains présentant la ternissure a été également noté.

6. Analyse statistique

L'évaluation statistique des données a porté sur l'analyse de la variance et le test de Newman-Keuls (SNK) au seuil de 5%.

RÉSULTATS

On observe que 42% des grains de riz de la variété Taibonnet sont altérés par *C. lunata*, contre 21% quand ils sont inoculés par *H. spiciferum*, 22% par *H. sativum*, 33% par *H. australiensis* et 18% par *E. nigrum* (Tableau 1).

Les indices de ternissure les plus élevés sont attribués à *C. lunata* (1,40) et à *F. moniliforme* (1,25) alors que *E. nigrum* montre l'indice de ternissure le plus faible (0,45) sur cette même variété.

Tableau 1. Indice de ternissure et pourcentage de grains altérés de la variété Taibonnet, relevés 3 mois après leur inoculation par différentes espèces fongiques

Espèces fongiques testées	Indice de ternissure sur les grains	% de grains altérés
<i>F. moniliforme</i>	1,25 ab	40 a
<i>C. lunata</i>	1,40 a	42 a
<i>H. oryzae</i>	1,18 abc	40 a
<i>H. sativum</i>	0,90 abc	22 b
<i>H. spiciferum</i>	0,72 abcd	21 b
<i>H. australiensis</i>	0,52 bcd	33 a
<i>E. nigrum</i>	0,45 cd	18 b
Témoin	0,05 d	5 c

Deux résultats lus sur la même colonne sont significatifs s'ils ne sont pas affectés par la même lettre

F. moniliforme, *C. lunata* et *H. oryzae* provoquent des ternissures sur la variété Arco dont les indices varient entre 1,10 et 1,63 (Tableau 2).

Tableau 2. Indice de ternissure et pourcentage de grains altérés de la variété Arco, relevés 3 mois après leur inoculation par différentes espèces fongiques

Espèces fongiques testées	Indice de ternissure	% de grains altérés
<i>F. moniliforme</i>	1,63 a	50 b
<i>C. lunata</i>	1,60 ab	60 a
<i>H. oryzae</i>	1,10 abc	55 ab
<i>H. sativum</i>	1,07 abc	42 bc
<i>H. spiciferum</i>	0,83 abcd	38 c
<i>H. australiensis</i>	0,63 bcd	45 bc
<i>E. nigrum</i>	0,43 cd	28 c
Témoin	0,08 d	8 d

Deux résultats lus sur la même colonne sont significatifs s'ils ne sont pas affectés par la même lettre

Les pourcentages les plus élevés de grains altérés sont attribués aux mêmes espèces avec 50% pour *F. moniliforme*, 60% pour *C. lunata* et 55% pour *H. oryzae*.

D'après les résultats des analyses statistiques, on peut subdiviser les espèces testées en deux classes. La première comprend *F. moniliforme*, *C. lunata*, *H. oryzae*, *H. sativum*, *H. spiciferum*, *H. australiensis* qui peuvent être considérées comme les pathogènes les plus agressifs. La seconde classe comprend *E. nigrum*.

Les résultats obtenus montrent que les champignons isolés des lésions foliaires et des semences de riz sont capables de provoquer la ternissure des grains. Certains d'entre eux se montrent plus agressifs. C'est le cas de *F. moniliforme*, *C. lunata*, *H. oryzae*, *H. sativum*, *H. spiciferum* dont les indices de ternissure varient entre 0,52 et 1,63 chez les variétés Arco et Taibonnet.

DISCUSSION & CONCLUSION

Comme l'a mentionné Esuruoso *et al.* (1975), les champignons les plus fréquemment isolés à partir des grains de riz peuvent être des pathogènes majeurs ou mineurs, suivant leur importance économique (Bedi & Dhliwal 1971).

Parmi les espèces majeures impliquées dans la décoloration des grains figurent *C. lunata*, *F. moniliforme*, *Nigrospora* spp., *H. oryzae* (Duraiswamy & Mariappan, 1983).

F. moniliforme est transmis fréquemment par les semences (Ould sidi Ahmed, 1989). Ce champignon provoque ainsi la décoloration des grains de riz (Bedi & Dhliwal, 1971).

Les grains sérieusement infectés se décolorent, tirant parfois au rose sous l'effet de la présence des masses conidiennes (Hino & Furuta, 1968).

La présence de *F. moniliforme* peut contribuer fortement à la réduction de la qualité des grains.

Les champignons comme *Helminthosporium* et *C. lunata* sont des espèces redoutables causant des maladies maculaires des feuilles (Bouslim *et al.*, 1997; Ennaffah *et al.*, 1999; Ouazzani Touhami *et al.*, 2000). Elles doivent être considérées également comme de sérieux adversaires des semences.

C. lunata est considérée par certains auteurs (Duraiswamy & Mariappan, 1983) comme un champignon provoquant la décoloration des grains. Cette affection revêt une gravité non

négligeable en raison du faible pouvoir germinatif du paddy (Querijoro *et al.*, 1993; Jin *et al.*, 1994). Nos résultats sont conformes à ceux qui ont été avancés par Rao & Salam (1954), Agarwal *et al.* (1989) qui ont signalé que lorsque les conditions sont favorables (humidité supérieure à 65%), le degré d'infection des grains de riz peut atteindre 60%.

Les grains stockés dans des conditions plus ou moins aléatoires de conservation (forte humidité, haute température et séchage insuffisant) peuvent être, en magasin, infectés par *H. oryzae* dont les spores sont situées sur les balles (Angladette, 1966).

La détérioration des semences augmente lorsque les conditions de température et d'humidité sont favorables au développement des micro-organismes (Christensen, 1969; Harrison & Perry, 1976; Bothast, 1978).

Les glumelles sont envahies en profondeur, le caryopse se couvre de taches brunes, tandis que la faculté germinative des grains diminue (Angladette, 1966).

Les champignons attaquant les grains après récolte provoquent, en effet, la décoloration de ces grains. Celle-ci serait due soit à la haute activité métabolique d'organismes cryptogamiques dans certains caryopses, soit à l'action directe ou indirecte d'une ou plusieurs espèces ou de combinaisons de diverses espèces (Angladette, 1966).

Le même auteur avance, également, que cette action peut être directe lorsque les organismes cryptogamiques font eux-mêmes la synthèse des pigments ou indirecte sur les pigments existant dans le péricarpe du caryopse.

En dehors de la flore bactérienne qui intervient dans le changement de couleur du grain, la flore cryptogamique existant sur le grain, après récolte, évolue et se transforme au cours du stockage.

La décoloration des grains s'accompagne d'une altération de leur qualité (Duraiswamy & Mariappan, 1983), d'une réduction de la viabilité des semences et d'un dépérissement des plantules avant ou après l'émergence (Hassikou, 2000).

Il est bon de noter que la prévalence d'un groupe de champignons ne reflète pas obligatoirement le

niveau d'activité métabolique cryptogamique. Nombreux sont les organismes fongiques pouvant rester à l'état de latence.

En admettant que le changement de couleur des grains provienne d'une moisissure de stockage, le grand pourcentage des grains échauffés n'apparaît que lorsque le débit de l'air ambiant de l'enceinte de stockage est faible; l'air chaud et humide favorise l'infection cryptogamique (Angladette 1966).

Le processus de décoloration des grains de riz est un processus complexe, lié à l'expression d'agents phytopathogènes, entre autres, les champignons.

Il ressort de ces analyses qu'un certain nombre d'espèces comme *Fusarium moniliforme*, *Curvularia lunata*, *Helminthosporium oryzae* et *Nigrospora oryzae* sont des espèces majeures impliquées dans la décoloration des grains de riz.

Les indices de ternissure et les pourcentages d'altération présentés par *C. lunata*, *H. oryzae* et *F. moniliforme* donnent une idée sur la capacité d'action réelle de ces pathogènes sur les grains de riz.

Les dommages occasionnés peuvent s'accroître ou diminuer selon les conditions de stockage des grains. Il est à signaler également, au vu des résultats, que les grains de la variété Taibonnet sont plus résistants que ceux de la variété Arco.

REMERCIEMENTS

Ce travail entre dans le cadre du Projet Pars AGRO 156.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Agarwal PC, Carmen NM & Mathur SB (1989) Seed borne disease and seed health testing of rice. *CAB. International Mycological Institute* 56-103
- Angladette A (1966) Le riz, G. P. Maisson neuve et Larose. Paris V^{ème} p 609-669. *Ann Rev Phytopathol* 16: 83-101
- Bedi PS & Dhaliwal DS (1971) Spermiosphere of rice variety native from different states of India. *India Phytopathol* 23: 708-710
- Bothast RJ (1978) Fungal deterioration and related phenomena in cereals, legumes and oil seeds, pp 210-243 in post-harvest biology and Biotechnology H.O. Hultin and Milner, eds. Food and Nutrition Press. Inc., Westport. Ct., 462 p.

- Bouslim F, Ennaffah B, Ouazzani Touhami A, Douira A & El Haloui NE (1997) Pathogénie comparée de quelques isolats marocains d'*Helminthosporium oryzae* vis-à-vis de certaines variétés de riz (*Oryza sativa*). *Al Awamia* 10: 9-18
- Christensen CM (1969) Influence of moisture content temperature and time of storage up on invasion of rough rice by storage fungi. *Phytopathology* 59: 145-148
- Duraiswamy WS & Mariappan V (1983) Biochemical of discolored rice grain. *International Rice Research Newsletter* 8: 3
- Ennaffah B, Ouazzani Touhami A, El Yachioui M & Douira A (1999) Pathogenic capacity of *Helminthosporium speciferum*: foliar parasite of rice in Morocco. *Journal of Phytopathology* 147: 377-379
- Esuruoso OF, Komolafe CO & Aluko MO (1975) Seedborne fungi of rice (*Oryza sativa*) in Nigeria. *Seed Sci Technol* 3: 661-666
- Harrison JG & Perry DA (1976) Studies on the mechanisms of barley seed deterioration. *Ann Appl Biol* 84: 57-62
- Hassikou K (2000) Contribution à l'étude de *Curvularia lunata*, agent causal de curvulariose du riz au Maroc. Application de quelques moyens de lutte chimique et biologique. Thèse de Doctorat National, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra 187 p.
- Hino T & Furuta T (1968) Studies on the control of Bakanae of rice plants, caused by *Gibberella fujikuroi*. II. Influence of flowering season on rice plants and seed transmission through flower infection. *Bulletin of the Chugoku Agricultural Experiment Station E2* pp. 97-110
- Jin MZ, Cair Y, Zhang QS & Lin WC (1994) Preliminary study of symptoms and pathogen of coloured rice grains *Plant Protection* 20: 7-8
- Ouazzani Touhami A, Ennaffah B, El Yachioui M & Douira A (2000) Pathogénie comparée de 4 espèces d'*Helminthosporium* obtenues à partir des plantes malades du riz au Maroc. *Journal of Phytopathology* 148: 221-226
- Ould Sidi Ahmed (1989) Contribution à l'étude des maladies des semences de riz (*Oryza sativa* L.) au Maroc. Mémoire de fin d'études de l'ENA de Meknès. Option: Technique et développement 38 p.
- Prabhu AS & Viera NR (1989) Sementes de arroz infectadas por *Dreschlera oryzae*: germinação, transmissão e controle. *Boletim de Pesquisa, Goiania, EMBRAPA. CNRAF* 7: 1-36

- Querijoro MM, Saso EG & Sevilla EP (1993) Preliminary study of fungi associated with discolored rice seeds (*Oryza sativa*) and its effect on germination. Pest Management Council of the Philippines, Inc., College laguna Phillipines. Departement of Agriculture pp. 63-65
- Rao PN & Salam MA (1954) *Curvularia* species from discoloured grains from Hyderabad. *J Indian Bot Soc* 33: 268-271
- Rotem J (1978) Host and enviromental influence on sporulation *in vivo*. *Ann Rev Phytopathol* 16: 83-101
- Vidhasekaran P (1980) The use of dichloro methane to incorporate fungicides into rice seed for control of *Drechlera oryzae*. *Seed Science and Technology* 8: 257-362
- Zeigler RS & Hoyos E (1987) Distribution of fluorescent *Pseudomonas* spp. causing grain and sheath discoloration of rice in Latin America. *Plant Dis Reprtr* 71: 896-900