

Étude de l'état sanitaire des semences du riz

Soumya HANNIN *, Khadija HASSIKOU *, Rachid BENKIRANE *,
Amina OUAZZANI TOUHAMI * & Allal DOUIRA *[□]

(Reçu le 11/09/2002 ; Accepté le 14/07/2003)

دراسة تركيبية الفطريات المحمولة ببذور الأرز بالمغرب

أجرينا دراسة لفطريات بذور الأرز وخاصة الطفيليات منها. ولقد اعتمدنا في منهجيتنا على طريقتين متكاملتين. الأولى استعملنا فيها الورق النشاف المبلل بالماء والثانية حاولنا فيها تحسين الطريقة الأولى وذلك بالقيام بزرع البذور المحضنة على الورق النشاف في وسط غذائي (PDA). وأظهرت النتائج أن من أهم الفطور المصاحبة للبذور تنتمي إلى 13 جنس. تعتبر الطريقة الثانية المحسنة من أهم الطرق التي تسمح بتكاثر جيد لبعض الأجناس.

الكلمات المفتاحية: الأرز- البذور - الفطر - طرق العزل

Étude de l'état sanitaire des semences de riz

Pour l'étude de la mycoflore des semences de riz, notamment certains champignons parasites, deux méthodes différentes mais complémentaires ont été utilisées: la méthode du buvard et la méthode du buvard modifiée (méthode du buvard combinée à la méthode de la plaque agar). Les résultats ont permis de mettre en évidence 13 espèces appartenant à différents champignons. La méthode du buvard modifiée s'avère plus intéressante et permet de détecter davantage le pourcentage de contamination. Les espèces fongiques les plus fréquentes sont *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus nigricans* suivies par *Aspergillus* sp., *Trichoderma harzianum*, *Curvularia lunata* et *Helminthosporium* sp. (*H. oryzae*, *H. spiciferum* et *H. australiensis*).

Mots clés: Riz - Semences - Champignons - Buvard - Buvard modifié

Study of the composition of fungi flora associated with the rice seeds

Study of the mycoflora of rice seed, especially of certain parasitic fungi, was carried. Two different methods but complementary to each other were used: blotter test and modified blotter test (blotter test combined with plate agar method). The results show thirteen species belonging to various fungi. However, the modified blotter test appears interesting in the detection of fungi associated to rice seeds. The most frequent species were *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternata* and *Rhizopus nigricans* followed by *Aspergillus* sp., *Trichoderma harzianum*, *Curvularia lunata* and *Helminthosporium* sp. (*H. oryzae*, *H. Spiciferum* and *H. Australiensis*).

Key words: Rice seeds - Fungi - Blotter test - Modified Blotter test

* Laboratoire de Botanique et de Protection des Plantes, Faculté des Sciences de Kénitra, Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc

[□] Auteur correspondant; e-mail: douiraallal@hotmail.com

INTRODUCTION

La plupart des micro-organismes qui s'attaquent aux semences sont considérés économiquement néfastes du fait qu'ils sont capables de provoquer de sévères maladies en plein champ après le semis (Lepoivre & Semal, 1989).

En outre, d'autres micro-organismes ont des effets néfastes sur la qualité des semences (Harman, 1983). Ces dernières constituent également un moyen efficace pour la distribution et la dissémination des agents pathogènes d'une région géographique à une autre (Shakya *et al.*, 1985).

Parmi les micro-organismes transmis par les semences, on note:

- les champignons;
- les bactéries;
- les nématodes;
- les virus.

Mais ce sont les champignons qui sont les agents les plus transmis par cette voie (Omar *et al.*, 1986).

Le développement des micro-organismes, en particulier des champignons sur ou dans les grains de riz en fin du cycle végétatif de la plante, provoque des dégâts très importants.

L'efficacité de la lutte contre le développement de ces micro-organismes dépend de plusieurs facteurs.

En effet, en plus de l'état initial des grains à conserver ou à consommer, l'identification des contaminants et de leurs particularités biologiques s'avère indispensable pour choisir un moyen de lutte approprié et efficace.

De même, le succès de toute culture dépend avant tout de la qualité des semences utilisées.

Dans ce travail, on se propose d'étudier la mycoflore associée aux semences du riz.

En effet, la connaissance de cette mycoflore et des dommages qu'elle occasionne aux semences, plantules et plants est essentielle pour les programmes de multiplication et pour l'amélioration et la maîtrise de la conservation des grains.

Par ailleurs, dans certains pays producteurs du riz, il est devenu obligatoire de faire des tests de

post-contrôle sur toutes les semences qui devront être certifiées (Sevilla & Guerrero, 1983).

MATÉRIEL & MÉTHODES

1. Matériel végétal

Cette étude a porté sur les grains de six variétés de riz, largement cultivées dans la région du Gharb:

- Triomphe.
- Bahja.
- Nachat.
- Samar.
- Maghreb.
- Hayat ramenées de l'ASCARI.

Ces grains infectés naturellement présentent parfois à leur base ou à leur sommet des taches brunes à brun foncé.

2. Étude de la mycoflore des semences de riz

L'étude de la mycoflore associée aux semences de riz a été réalisée en appliquant deux méthodes de détection.

- La méthode du buvard.
- La méthode du buvard modifiée dans notre laboratoire.

2.1. Méthode du buvard

Des tests comparatifs internationaux ont été menés afin de normaliser les méthodes d'essais pour les principales affections cryptogamiques du riz se transmettant par les semences.

La méthode du buvard a été recommandée dans le cadre des règles internationales pour l'analyse des semences (ISTA, 1985), afin de détecter les différents champignons dans les échantillons de riz.

Cette méthode consiste à tester 400 grains de chaque variété à raison de 25 grains par boîte de Pétri de 90 mm de diamètre.

Ces grains n'ayant subi aucun traitement préliminaire sont placés sur trois rondelles de papier filtre (buvard) et humidifiées avec de l'eau distillée stérile.

L'incubation des boîtes de Pétri a lieu à une température de 22°C sous une alternance de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité

pendant huit jours. Les grains sont ensuite examinés au microscope optique pour observer la présence de champignons.

2.2. Méthode du buvard modifiée

400 grains de chaque variété sont incubés de la même manière que précédemment.

Après huit jours d'incubation, les grains sont repiqués sur milieu PDA et incubés une deuxième fois à l'obscurité et à 28°C.

Six jours après incubation, les secteurs des champignons développés peuvent être observés sur le milieu de culture.

L'examen microscopique des grains et des différentes colonies développées permet d'identifier la mycoflore des grains de riz à l'aide de certaines clés de détermination (Barnett, 1960; Bernoit & Mathur, 1970; Ellis, 1971 & 1976; Chidambaram *et al.*, 1973).

Le pourcentage moyen de chaque espèce de champignons est calculé pour les six variétés de riz testées par les deux méthodes de détection.

2.3. Présentation des résultats

Le taux de contamination est calculé selon la procédure décrite par Ponchet (1966). Ce taux représente le nombre de micro-organisme isolés par 100 grains pour chaque variété.

Quatre répétitions ont été réalisées pour chaque variété de riz testée.

3. Analyse statistique

Le traitement statistique des données a porté sur l'analyse de la variance et le test PPDS (la plus petite différence significative) au seuil de 5%, après transformation en $\sin^{-1} \sqrt{p}$ où p désigne le taux de contamination des semences.

RÉSULTATS

L'examen macroscopique et microscopique des différents caractères culturaux des champignons isolés à partir des semences des différentes variétés de riz testées a permis de distinguer au total 13 espèces de champignons suivant les deux méthodes de détection utilisées (Tableaux 1 & 2).

Le classement portant sur les pourcentages moyens de contamination par les champignons isolés selon les deux méthodes de détection est effectué selon le test PPDS.

L'analyse de la variance a montré des différences significatives entre les différents champignons détectés suivant les deux méthodes.

L'examen des tableaux 1 et 2 montre que les grains de certaines variétés de riz hébergent certains champignons mais pas d'autres.

Tableau 1. Taux de contamination des grains de six variétés de riz par différents champignons, détectés selon la méthode du buvard

Champignons	Variétés					
	Nachat	Maghreb	Bahja	Samar	Hayat	Triomphe
<i>Alternaria alternata</i>	-	36 d	60 b	80 a	36 c	60 d
<i>Aspergillus sp.</i>	-	48 c	70 a	-	24 d	-
<i>Cladosporium herbarum</i>	60 a	-	-	-	8 h	64 c
<i>Curvularia lunata</i>	-	8 h	12 f	8 g	20 e	76 a
<i>Epicoccum nigrum</i>	-	20 f	-	16 e	-	8 i
<i>Fusarium moniliforme</i>	28 d	80 a	20 e	40 b	48 a	72 b
<i>Gliocladium sp.</i>	36 c	-	-	-	20 e	-
<i>Helminthosporium sp.*</i>	-	32 e	24 d	8 g	20 e	40 g
<i>Helminthosporium oryzae</i>	-	-	-	12 f	-	24 h
<i>Nigrospora sphaerica</i>	-	72 b	-	-	12 g	-
<i>Rhizopus nigricans</i>	56 b	14 g	28 c	29 d	40 d	-
<i>Spegazziana tessartha</i>	-	-	-	-	-	56 e
<i>Trichoderma harzianum</i>	16 e	36 d	28 c	32 c	16 f	44 f

Deux résultats lus sur la même colonne diffèrent significativement s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

* *Helminthosporium spiciferum* et *Helminthosporium australiensis*.

Tableau 2. Taux de contamination des grains de six variétés de riz par différents champignons, détectés selon la méthode du buvard modifiée

Champignons	Variétés					
	Nachat	Maghreb	Bahja	Samar	Hayat	Triomphe
<i>Alternaria alternata</i>	-	68 d	80 b	84 a	64 a	88 a
<i>Aspergillus sp.</i>	-	64 e	100 a	16 f	24 g	-
<i>Cladosporium herbarum</i>	76 b	-	20 h	-	8 i	64 d
<i>Curvularia lunata</i>	-	40 g	13 j	8 h	40 d	76 c
<i>Epicoccum nigrum</i>	-	32 i	16 i	18 e	-	20 h
<i>Fusarium moniliforme</i>	36 e	100 a	24 g	60 c	56 b	80 b
<i>Gliocladium sp.</i>	64 c	-	-	-	36 e	-
<i>Helminthosporium sp.*</i>	-	44 f	36 e	10 g	28 f	56 e
<i>Helminthosporium oryzae</i>	-	-	40 d	-	-	40 g
<i>Nigrospora sphaerica</i>	-	84 b	-	-	20 h	-
<i>Rhizopus nigricans</i>	92 a	80 c	60 c	76 b	44 c	-
<i>Spegazziana tessartha</i>	-	-	-	-	-	76 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	44 d	36 h	32 f	48 d	28 f	52 f

Deux résultats lus sur la même colonne diffèrent significativement s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

* *Helminthosporium spiciferum* et *Helminthosporium australiensis*.

En effet, *Spegazziana tessartha* n'a été isolé qu'à partir des grains de la variété Triomphe.

Le pourcentage de contamination des grains de cette variété par *Spegazziana tessartha* est de l'ordre de 56% suivant la méthode du buvard et de 76% selon celle du buvard modifiée. *Alternaria alternata* et *Curvularia lunata* sont également détectés sur des grains des variétés de riz testées, à l'exception des grains de la variété Nachat qui sont les moins attaqués.

Par contre, *Trichoderma harzianum* et *Fusarium moniliforme* colonisent les grains de toutes les variétés de riz.

Le pourcentage de contamination des grains est fonction de la méthode utilisée.

En effet, suivant la méthode du buvard, le pourcentage de contamination des grains de la variété Maghreb par *Fusarium moniliforme* est de l'ordre 80%, mais selon la méthode du buvard modifiée, cette valeur peut atteindre 100%.

La méthode du buvard et celle du buvard modifiée permettent de mettre en évidence les champignons qui peuvent être hébergés par les grains de riz.

Les résultats qui figurent sur les tableaux 3 et 4 montrent qu'avec les facteurs isolats et variétés confondues, la méthode du buvard modifiée s'avère beaucoup plus intéressante que celle du buvard pour la détection des champignons.

Ainsi, parmi les champignons les plus importants détectés selon les deux méthodes, on trouve *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus sp.*, *Trichoderma harzianum*., *Curvularia lunata* et *Helminthosporium sp.* (*H. oryzae*, *H. spiciferum* et *H. Australiensis*).

Tableau 3. Taux de contamination des grains de six variétés de riz confondues par différents champignons, détectés selon la méthode du buvard

Champignons	Variétés
<i>Alternaria alternata</i>	45,33 b
<i>Aspergillus sp.</i>	23,66 e
<i>Cladosporium herbarum</i>	22 f
<i>Curvularia lunata</i>	20,66 g
<i>Gliocladium sp.</i>	9,33 i
<i>Epicoccum nigrum</i>	44 c
<i>Fusarium moniliforme</i>	48 a
<i>Helminthosporium sp.*</i>	20,66 g
<i>Helminthosporium oryzae</i>	6 j
<i>Nigrospora sphaerica</i>	14 h
<i>Rhizopus nigricans</i>	27,83 d
<i>Spegazziana tessartha</i>	9,33 i
<i>Trichoderma harzianum</i>	28,66 d

Deux résultats lus sur la même colonne diffèrent significativement s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

* *Helminthosporium spiciferum* et *Heminthosporium australiensis*.

Tableau 4. Taux de contamination des grains de six variétés de riz confondues par différents champignons, détectés selon la méthode du buvard modifiée

Champignons	Variétés
<i>Alternaria alternata</i>	64 a
<i>Aspergillus sp.</i>	34 d
<i>Cladosporium herbarum</i>	28 e
<i>Curvularia lunata</i>	29,5 e
<i>Epicoccum nigrum</i>	14,33 h
<i>Fusarium moniliforme</i>	59,33 b
<i>Gliocladium sp.</i>	16,66 g
<i>Helminthosporium sp.*</i>	29 e
<i>Helminthosporium oryzae</i>	13,33 hi
<i>Nigrospora sphaerica</i>	17,33 f
<i>Rhizopus nigricans</i>	58,66 d
<i>Spegazziana tessartha</i>	12,66 i
<i>Trichoderma harzianum</i>	40 c

Deux résultats lus sur la même colonne diffèrent significativement s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

* *Helminthosporium spiciferum* et *Helminthosporium australiensis*.

Selon la méthode du buvard et celle du buvard modifiée, le pourcentage de contamination varie respectivement entre 48% et 59,33% pour *Fusarium moniliforme*, entre 45,33% et 64% pour *Alternaria alternata*, entre 28,66% et 40% pour *Trichoderma harzianum*, entre 27,43% et 58,66% pour *Rhizopus nigricans*, entre 20,66% et 29% pour *Helminthosporium sp. (H. spiciferum et H. australiensis)*, entre 20,66% et 29,5% pour *Curvularia lunata* et entre 23,66% et 34% pour *Aspergillus sp.*

Le tableau 5 montre que les pourcentages moyens de contamination des grains pour les six variétés de riz confondues sont moyennement corrélés avec les deux méthodes de détection utilisées à en juger par la valeur $r = 0,69$.

Tableau 5. Comparaison entre l'efficacité de la méthode buvard et celle du buvard modifiée pour la détermination de différentes espèces contaminant les grains des variétés de riz

Var. X & Var. Y	Moyenne	Écart-Type	R
Variétés confondues "b"	24,55026*	13,60958*	0,693240
Variétés confondues "bm"	32,07179*	17,91948*	

"b": buvard; "bm": buvard modifiée

DISCUSSION & CONCLUSION

Dans cette étude, on a constaté que *Fusarium moniliforme* et *Trichoderma harzianum* sont hébergés par les grains de toutes les variétés de riz testées, suivis d'*Alternaria alternata*, *Helminthosporium sp. (H. oryzae, H. spiciferum et H. australiensis)*, *Rhizopus nigricans* et de *Curvularia lunata*.

Certains travaux réalisés dans notre laboratoire ont montré que *Curvularia lunata* (Hassikou *et al.*, 1997), *Helminthosporium spiciferum* (Ennaffah *et al.*, 1999), *Helminthosporium australiensis* (Ouazzani Touhami *et al.*, 2000) sont capables de provoquer des symptômes foliaires typiques sur différentes variétés de riz largement cultivées au Maroc. Ces trois pathogènes sont obtenus à partir des lésions foliaires des plantes.

Helminthosporium oryzae, décelé au niveau des semences de riz, est un parasite redoutable dans les rizières marocaines (Bouslim, 1996).

En effet, les isolats obtenus à partir des lésions foliaires et des semences sont très agressifs vis-à-vis de toutes les variétés de riz cultivées au Maroc (Bouslim *et al.*, 1997).

Certains pays ont inclus *Helminthosporium oryzae* parmi les agents pathogènes visés par la réglementation des importations (Neergaard, 1980).

En Inde, d'après cet auteur, les échantillons de semences de riz sur lesquels une infection de *Helminthosporium oryzae* est détectée lors des contrôles phytosanitaires de routine, sont rejetés et détruits par le laboratoire de quarantaine des plantes.

Fusarium moniliforme occupe la première position parmi les champignons isolés à partir des grains de riz.

Ce pathogène transmis fréquemment par les semences (Rheeder *et al.*, 1990) provoque également la décoloration des grains de riz (Bedi & Dhaliwal, 1971).

Sa fréquence d'isolement indique qu'il peut contribuer à la réduction de la qualité des grains de riz, mais son pouvoir pathogène mérite d'être étudié au Maroc.

En général, les *Fusarium* sp. sont considérés comme des contaminants redoutables des grains (Roy & Baruah, 1972).

En effet, ils exercent une action importante sur la germination, l'émergence et la croissance des plantules (Van Wyk *et al.*, 1988) et masquent la présence d'autres champignons par le phénomène de compétition pour le même substrat (Rheeder *et al.*, 1990).

Fusarium moniliforme est principalement implanté dans l'embryon, mais aussi dans les glumes, le pédicelle et les glumelles (Hino & Furuta, 1968). Les grains sérieusement infectés se décolorent, virant parfois au rose sous l'effet de la présence des masses conidiennes.

En Thaïlande, Kanjanasoon (1965) a enregistré 1 à 31% d'infection chez les plantules issues des semences d'apparence saine, mais provenant de champs infectés par la maladie.

Christensen (1969) a montré que la prédominance inégale de certaines espèces sur ou dans les grains dépend de l'interaction de certains facteurs écologiques inconnus.

Après l'étude de l'interaction des champignons des grains, Delhate (1968) a montré que le premier champignon colonisant le grain peut prendre la position dominante; les espèces mineures ont, en général, une courte vie et peuvent être remplacées par les espèces dites dominantes.

Les observations faites par Delhate (1968) et Christensen (1969) peuvent expliquer nos résultats concernant la différence de la dominance relative des champignons trouvés dans les grains des variétés de riz testées, ainsi que la présence ou l'absence de certains champignons.

La décoloration et les taches développés sur les grains constituent un obstacle à l'obtention d'une production de semences saines surtout lorsque les pluies surviennent en fin du cycle végétatif. Des tonnes de semences sont rejetées chaque année en raison de leur faible faculté germinative.

Les champignons les plus fréquemment isolés à partir des grains de riz peuvent être des pathogènes mineurs ou majeurs (Esuruoso *et al.*, 1975), selon leur importance économique (Bedi & Dhalinal, 1971; Esuruoso *et al.*, 1975; Reddi & Khare, 1979; Supriaman & Palmer 1979).

Parmi les espèces majeures impliquées dans la décoloration des grains figurent *Fusarium moniliforme.*, *Nigrospora* sp., *Helminthosporium oryzae*, *Epicoccum nigrum* et *Curvularia lunata*. Cette décoloration s'accompagne d'une altération de la qualité des grains (Duraiswamy & Mariappan, 1983).

L'infection des grains par les pathogènes majeurs affecte souvent leur taux de germination et entraîne une diminution de la vigueur des plantules voire leur dépérissement (Bautista & Opina, 1991).

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

En effet, lorsque les grains sont exposés à certains micro-organismes, les réactions de dégradation des lipides peuvent avoir lieu.

Ces lipides sont considérés comme une source importante d'énergie pour la germination des semences. Ces réactions de dégradation peuvent être catalysées par deux enzymes principales, la lipase et la lipoxygénase (Allen & Ory, 1983).

Plusieurs champignons peuvent être utiles pour lutter contre certains parasites hébergés par les grains.

En effet, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Rhizopus nigricans* et *Trichoderma viride* contribuent à la réduction de la contamination des grains de certaines céréales par des micro-organismes et améliorent le pourcentage de germination de ces grains (Paul & Mishra, 1994; Ouazzani Touhami *et al.*, 1999).

Par contre, certaines espèces d'*Aspergillus* sp. produisent des aflatoxines capables de détériorer les grains stockés (Vidhyasekaran *et al.*, 1970).

Les deux méthodes de détection de la mycoflore du riz indiquent que les champignons peuvent être isolés par n'importe quelle méthode.

Cependant, la méthode de buvard modifiée s'avère plus intéressante. En effet, certaines spores qui ne sont pas visualisées sous microscope peuvent se développer sur milieu de culture, ce qui permet

d'estimer davantage le taux de contamination de chaque espèce fongique.

Treize espèces peuvent donc être isolées par la méthode du buvard ou par celle du buvard modifiée à partir des grains des variétés de riz largement cultivées au Maroc.

Certaines espèces, fort bien connues, ont un large spectre de répartition et ont également un impact économique significatif (*Helminthosporium oryzae*).

D'autres prennent de l'ampleur depuis quelques années comme c'est le cas d'*Helminthosporium spiciferum*., *Helminthosporium australiensis* et *Curvularia lunata* (Ouazzani Touhami, 2000).

Pyricularia oryzae, considéré comme parasite foliaire redoutable dans les rizières marocaines (Ouazzani Touhami, 2000) et qui est connu par son attaque des grains, n'a pas été isolé ni par la méthode du buvard ni par la méthode du buvard modifiée. Aluko (1969) a signalé que le taux d'infection des grains de riz par *Pyricularia oryzae* est de l'ordre de 8%. Ce taux peut dépasser 81% pour *Helminthosporium oryzae*.

La transmission de *Pyricularia oryzae* des semences (Awoderu, 1974) aux plantes a été démontré par Neergaard (1980). Cet auteur a signalé également qu'une infection modérée au champ pouvait se traduire par 7 à 8% d'infection des semences.

Au niveau des grains, *Pyricularia oryzae* est signalé par de petites taches grises ou verdâtres sur les glumelles correspondant à des conidiophores courts et délicats portant de petits amas de conidies.

Il arrive, mais rarement, que le champignon recouvre la totalité de la semence. Sous microscope, *Pyricularia oryzae* peut parfois être confondu avec *Cladosporium* et sur milieu de culture. Ce champignon est toujours dominé par les saprophytes et les pathogènes y compris les *Helminthosporium* sp.

On pense que la méthode du buvard doit être encore modifiée. En effet, pour détecter toutes les conidies qui se développent sur les grains incubés, il faut les détacher dans l'eau distillée stérile (1 ml) et vérifier leur morphologie sous microscope.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Allen JA & Ory RL (1983) Lipid degradation during seed deterioration. *The American phytopathological Society* 73 (2): 315, In symposium: deterioration mechanisms in seed
- Aluko MO (1969) Relative prevalence of blast and brown leaf spot on Upland rice in Nigeria. *Plant Disease Rep* 53: 875-877
- Awoderu VA (1974) Rice disease in Nigeria. *PANS* 20: 416
- Barnett HL (1960) Illustrated genera of Imperfect Fungi. Burgess publishing company, 224 p.
- Bautista EA & Opina OS (1991) Isolation, identification and pathogenicity tests of seed-born fungi associated with cowpea seed. Manila (Philippines), 1p.
- Bedi PS & Dhaliwal DS (1971) Spermatozophore or rice variety Native 1 from different states of India. *India phytopathol* 23: 708-710
- Benoit MA & Mathur SB (1970) Identification of species of *Curvularia* on rice seed. *Reprint of Proc Int Seed Test ASS* 35:99-119
- Bothast RJ (1978) Fungal deterioration and related phenomena in cereals, legumes and oil seeds. pp 210-243 In: Pustharvest Biology and Biotechnology H.O. Hultin & Milner, eds. Food and Nutrition Press. Inc., Westport. CT. 462 p.
- Bouslim F (1996) Contribution à l'étude de l'helminthosporiose du riz au Maroc due à l'*Helminthosporium oryzae*. Thèse de 3^{ème} cycle. Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences de Kénitra, 148p.
- Bouslim F, Ennaffah B, Ouazzani Touhami A, Douira A & El Haloui NE (1997) Pathogène comparée de quelques isolats marocains d'*Helminthosporium oryzae* vis-à-vis de certaines variétés du riz. *Al Awamia* 10: 9-18
- Chidambaram P, Mathur SB & Neergaard P (1973) Identification of seed-borne Drechlera species. Hdbok on seed health testing, Published by the International seed testing Association AS-NLH, Norway, 1974. Saertryk of Fiesia x, 3: 165-207
- Christensen CM (1969) Influence of moisture content temperature and time of storage up on invasion of roug rice by storage fungi. *Phytopathology* 59: 145-148
- Delhate J (1968). Experimental study of infection of grain moulds. *Revue Mycol* 33: 43-70

- Duraiswamy VS & Mariappan V (1983) Biochemical properties of discolored rice. *International rice Research Newsletter* 8: 3
- Ellis MB (1971) Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 608 p.
- Ellis MB (1976) More Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England, 505 p.
- Ennaffah B, Ouazzani Touhami A & Douira A (1999) Pathogenic capacity of *Helminthosporium spiciferum*: foliar parasite of rice in Morocco. *Journal of Phytopathology* 147: 377-379
- Esuruoso OF, Komolafe CO & Aluko M O (1975) Seedborne fungi of rice (*Oryza sativa*) in Nigeria. *Seed Sci Technol* 3: 661-666
- Harman GE (1983) Mechanism of seed infection and pathogenesis. *The American Phytopathological Society* 73 (2):326-329. Symposium: Deterioration mechanisms in seed
- Hassikou K, Hassikou R & Douira A (1997) Behaviour of some cultivars in relation to *Curvularia lunata*. *Phytopathol med* 73: 445-457
- Harrison JG & Perry DA (1976) Studies on mechanisms of barley seed deterioration. *Ann Appl Biol* 84: 57-62
- Hino T & Furuta T (1968) Studies on control of Bakane disease of rice plants caused by *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) II. Influence on flowering season on rice plants and seed transmission through flower infection: *Bulletin of the Chugoku Agricultural Experiment station* E2: 97-110
- International Seed Testing Association (1985) International Rules for Seed Testing, Rules 1985 (edi. S.R. Draber). Zurich, Switzerland: ISTA
- Kanjanasoon P (1965) Studies on the Bakanae disease of rice in Thailand. PHD Thesis, Tokyo Universities, Japan
- Krishna S, Mathur SE & Neergard P (1977) Seed-borne organisms in some crops of Nepal. *Seed Sci and Technol* 5: 111-121
- Neergard P (1980) A Review on quarantine for seed India: National Academy of Sciences.
- Lepoivre P & Semal J (1989) La lutte biologique en phytopathologie. pp465-487 In traité de pathologie végétale. J. Semal, Ed. Presses agronomiques de Gembloux, Belgique
- Omar FM, Joop AG & Vanleur (1986) Seed production technology, 199 p.
- Ouazzani Touhami A, Ennaffah B, El Yachoui & Douira A (2000) Pathogénie comparée de 4 espèces d'*Helminthosporium* obtenues à partir des plantes du riz au Maroc. *Journal of Phytopathology* 148:221-226
- Ouazzani Touhami A, Hassikou K, El Yachoui M & Douira A (1999) Lutte biologique contre *Curvularia lunata* au niveau des grains de riz par l'utilisation de quelques espèces de *Trichoderma*. *Les cahiers de la recherche* Volume 1 (1): 21-31
- Paul MC & Mishra RR (1994) Seed germination and seedling vigour of Maize (*Zea mays* L.) as influenced by different fungicides. *Crop-Research-Hisar* 7(3): 454-460
- Ponchet A (1966). Étude des communautés mycopéricarpiques du caryopse de blé. *Ann Epiphyties* 17 (1). Hors séries I
- Reddi AB & Khare MN (1979). Seedborne fungi of rice in Madhga Pradesh and their significance. *India Phytopathol* 31: 300-303
- Rheeder JP, Marasas WFO & Van Wyk PS (1990) Fungal associations in corn kernels and effects on germination. *Phytopatology* 80: 131-134
- Roy AK & Baruah PK (1972) New record of fungi causing discoloration of rice grains. *Sci Cult* 38: 405-406
- Sevilla EP & Guerrero FC (1983) Production of quality seed in the Philippines. *Seed Sciences and Technology* 11: 1139-1143
- Shakya DD, Vinther F & Mathur SB (1985) World wide distribution of a bacterial Styrup pathogen of rice identified as *Pseudomonas avenae*. Contribution from the Danish Government institute of seed pathology for developing countries Copenhagen, Denmark. N°93. *Phytopath Z* 114: 256-259
- Supriaman J & Palmer I (1979) Seed pathology of rice in Indonesia. 1975-1978. *In Rice Res Newsl* 4: 13-14
- Van Wyk PJ & Marasas WFO (1988) Protection of maize seedlings by *Fusarium moniliforme* against infection by *Fusarium graminearum* in the soil. *Plant Soil* 107: 251-257
- Vidhyasekaran P, Subramanian CL & Gogvindaswamy CV (1970) Production of toxins by seedborne fungi and rôle in paddy seed spoilage. *Indian Phytopathol* 23: 518-525