

SEMENCES DE SORGHO [(SORGHUM BICOLOR (L) MOENCH)] DANS LE PROCESSUS DE CERTIFICATION AU MALI.

Dioncounda Camara¹, dioncoundac@yahoo.fr
Karim Dagno², karimdagno@yahoo.fr
Oumar Niangado³, oniangado@afribonemali.net

1. Laboratoire des semences, Sotuba-Bamako.
2. IER/CRRA de Sotuba-Bamako.
3. Fondation SYNGENTA, Bamako.

Résumé

Un lot commercial de semences doit satisfaire à un ensemble de critères de qualité et les aspects sanitaires en raison de l'incidence croissante des parasites transmis par les semences sont plus préoccupants. L'échantillonnage a été réalisé dans les zones agro écologiques du Mali. La technique de prise d'échantillons en 3 endroits distincts du lot décrite par l'ISTA a été utilisée. Ainsi, 32 échantillons ont été constitués. Les isolements des microorganismes ont été effectués sur milieu PDA (Patato Dextrose Agar). L'identification des microorganismes a été faite sur base des descriptions faites par RIEUF, 2008 ; Ahmed *et al.*, 1993; BARNETT *et al.*, 1972 et DAGNO, 2006. Les résultats obtenus montrent que trois genres de champignons responsables des moisissures de semences sont présents : *Aspergillus* sp (37%), *Fusarium* sp (16%) et *Curvularia* sp (16%). Deux pathogènes ont été observés sur un échantillon *Fusarium* sp et *Aspergillus* sp avec 19% ; *Aspergillus* sp et *Curvularia* sp (12%). Les résultats nous permettent d'affirmer que les semences de variétés locales et améliorées identifiées sont infectées par les moisissures. Cette activité d'analyse sanitaire était le chaînon manquant dans le processus de certification du Laboratoire des semences du Mali.

Mots-clés : Champignon, moisissure, semences, locales, améliorées, sorgho, Mali.

Abstract:

The quality of the seed is in relation to the genetic progress an essential factor of success of a culture and the agricultural productivity. A commercial seed lot must therefore meet a set of quality criteria such as the absence of foreign material or seeds, optimum moisture content, a high germination rate and the absence of any pathogens. Health aspects due to the increasing incidence of seed-borne parasites are more of a concern and tend to become the factor of variation in seed lot quality today. Sampling was carried out in the storage warehouses of research institutes (IER, ICRISAT ...), companies and / or seed industries and village producers. The technique of taking samples in 3 different places from the batch described by the ISTA was used. Bags are randomly selected at the top, middle and bottom of each lot. Thus, 32 samples were made. The isolations of the microorganisms were carried out on PDA (Patato Dextrose Agar) medium. The identification of microorganisms was made on the basis of the descriptions made by RIEUF, 2008; Ahmed *et al.*, 1993; BARNETT *et al.*, 1972 and DAGNO, 2006. The results show that three kinds of fungi responsible for seed mold have been identified: *Aspergillus* sp (37%), *Fusarium* sp (16%) and *Curvularia* sp (16%). Two pathogens were observed on a sample *Fusarium* sp and *Aspergillus* sp with 19%; *Aspergillus*

sp and *Curvularia* sp (12%). The results allow us to affirm that the seeds of local and improved varieties identified are infected by molds. This health analysis activity was the missing link in the certification process at the Mali Seed Laboratory.

Key words: fungus, mould, seed, local and improved varieties, sorghum, Mali.

Introduction

Les pays du Sahel et le Mali en particulier sont affectés par une sérieuse crise économique et sociale due à la chute de la productivité des cultures. Cette crise est en grande partie liée aux problèmes climatiques qui sévissent dans le sahel. Le faible niveau et la mauvaise répartition des pluies ont fortement diminué la production agricole en particulier celle céréalière.

Les maladies comme l'anthraxnose, la bande de suie, le charbon allongé, le charbon couvert, les moisissures des graines provoquent d'importantes pertes de rendement (Diourté, 2000 ; Mallé, 2012). Ces maladies sont causées par divers agents en particulier les microorganismes pathogènes. En plus des virus et des bactéries pathogènes, les champignons toxigènes constituent un danger réel pour la santé de l'homme et de l'animal par la sécrétion de substances hautement toxiques au cours de leur prolifération sur ou dans les aliments d'origine végétale notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, grains, fourrages ainsi que les aliments composés et manufacturés ou dans les aliments d'origine animale. Les champignons sont la principale cause de dégradation des semences encours de stockage et occupent le deuxième rang derrière les insectes comme cause de détérioration et de pertes des graines (CCA, 2012).

L'importance de la semence comme facteur d'amélioration de la productivité et de la production agricoles n'est plus à démontrer. L'emploi de semences de qualité contribue dans une large mesure à l'augmentation des rendements des cultures de 30 à 40% (FAO, 2010).

Pour s'assurer de cette qualité, les analyses au laboratoire sont une étape clé du processus de certification des semences. Cette analyse concerne le test d'humidité, la pureté variétale, la pureté spécifique, le test de germination et l'analyse sanitaire.

La certification de semences de sorgho est l'aboutissement d'un processus de contrôle permettant au service de contrôle de qualité de s'assurer que les semences qui lui sont présentées possèdent :

- ✓ Un minimum de pureté variétale ;
- ✓ Un bon état physiologique et un bon état sanitaire.

En effet, les semences ne doivent véhiculer aucun organisme pathogène (bactérie, champignon, nématode, virus ou larves d'insectes) ni graines de plantes parasites. C'est pourquoi il est nécessaire, compte-tenu des niveaux de développement du pays, que les mêmes conditions de rigueur soient appliquées en matière d'exigence de la qualité des lots. En effet, l'analyse sanitaire qui est pourtant indispensable dans le schéma de certification de l'ISTA, n'est pas effectuée par le laboratoire de semences. Les raisons sont le manque de matériel de travail et de personnel qualifié. Après ce contrôle incomplet au laboratoire, le certificat de garantie de la qualité des semences est délivré aux producteurs.

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de 32 échantillons de graines de sorgho prélevés dans différentes zones agro-écologiques du Mali (Kayes, Koulikoro, Sikasso, Tombouctou, Gao et Bamako). Les échantillons ont été prélevés sur des semences issues des variétés locales et améliorées en cours de stockage dans les magasins.

1.2 Méthodes

Trente-deux (32) échantillons en provenance de cinq régions et du District de Bamako ont été analysés. Tous les échantillons ont été collectés pendant la saison sèche fraîche d'où des relevés de températures basses pour une zone tropicale avec des pourcentages d'humidité relative élevés.

1.2.1 Echantillonnage des semences

Les échantillonnages ont été réalisés dans les magasins de stockage de la recherche, dans certaines Sociétés ou Industries Semencières ainsi que chez les producteurs villageois. Au total trente deux (32) échantillons ont été prélevés. Pour ce faire, un échantillon d'un (1) kg de sorgho a été prélevé dans chaque magasin de stockage. L'échantillonnage a concerné les semences issues des variétés locales et améliorées. Aussi, les paramètres écologiques en l'occurrence les coordonnées GPS, température du magasin de stockage ainsi que l'hygrométrie ont été prises.

Parmi les lots des échantillons prélevés, les semences de variétés locales représentent (50%) et celles améliorées (50%). Les semences de variétés améliorées en l'occurrence : G3 (25%) et les R1 et R2 représentent respectivement (13%) ; (12%) dans l'ensemble des échantillons prélevés.

1.2.2 Préparation du milieu de culture

Pour la Description du Protocole Commun de Laboratoire (PCL) : préparation d'un litre de PDA qui permet de couler 40 boîtes de pétri, nous avons pesé : 39g de PDA ; Mesurer 1000 ml d'eau distillée ; Verser 1000 ml d'eau distillée dans un Erlen Meyer de 2 litres contenant 39g de PDA, bien agiter ; Autoclaver à 120°C pendant 15 mn.

Après autoclavage, le milieu est coulé sous flux dans les boîtes de pétri après un léger refroidissement. Ensuite, les boîtes coulées ont été emballées dans du papier film et conservées à la température ambiante.

Identification de la mycoflore des semences de sorgho, méthode d'isolement

Pour chaque échantillon des grains ont été prélevés en vue de réaliser un isolement. Les échantillons ont été désinfectés à l'hypochlorite de sodium à 2% pendant 15 mn puis rincés dans de l'eau distillée stérile avant d'être déposés sur le milieu PDA. Pour le milieu de culture

et la méthode d'identification, le PDA a été utilisé. On a réalisé trois points d'inoculation à partir d'un échantillon sur le milieu d'une seule boîte de Pétri de PDA et les boîtes inoculées sont incubées à 25°C±2.

La durée de culture est au minimum de 3 à 7 jours.

Examen des cultures

Pour toutes les cultures obtenues après 3 à 7 jours d'incubation, l'identification est fondée sur la technique décrite par (DAGNO, 2006) selon les caractéristiques liées à la couleur des colonies (vue de face et de revers).

Préparation des frottis de moisissures pour la microscopie

Des champignons sont examinés au microscope en tant que frottis humides. Pour préparer un frottis humide, on utilise une aiguille d'inoculation pour récupérer une petite partie de la colonie comportant les structures conidiophores. L'échantillon est prélevé sur la bordure de la colonie car les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores n'est pas excessif (DAGNO, 2006 ; DAGNO et al. 2011). De plus, on prend les structures qui peuvent enfermer les spores (Cléistothèce) etc., près du centre de la colonie, où la probabilité de trouver des spores à maturité est la plus grande.

2. Résultats

Les résultats de la fréquence d'isolement des moisissures en fonction des échantillons de semence par région sont présentés dans le tableau 1.

Tous les échantillons analysés sont contaminés par des moisissures. Plusieurs genres sont trouvés. Ce sont principalement des moisissures de stockage comme *Aspergillus* (37%), *Fusarium* (16%) et *Curvularia* (16%). Il y a eu aussi des contaminations mixtes dont *Fusarium/Aspergillus* (19%) et *Aspergillus/Curvularia* (12%).

Tableau 1 : Fréquence d'isolement des moisissures suivant les zones agro écologiques.

Région/District	Mycoflore	Moyennes des fréquences (%)
Koulikoro	<i>Aspergillus</i> sp.	69
	<i>Fusarium</i> sp.	31
	<i>Curvularia</i> sp.	31
District de Bamako	<i>Aspergillus</i> sp.	73
	<i>Fusarium</i> sp.	45
	<i>Curvularia</i> sp.	36
Kayes	<i>Aspergillus</i> sp.	100
	<i>Fusarium</i> sp.	33
Sikasso	<i>Aspergillus</i> sp.	100
Gao	<i>Aspergillus</i> sp.	100
Tombouctou	<i>Curvularia</i> sp.	100

Les échantillons de semences de variétés locales ont été prélevés chez les paysans tandis que les semences de variétés améliorées ont été prélevées chez les producteurs. L'identification

des champignons a révélé un total de trois (03) genres de moisissures (champignon) dans presque toutes les régions du Mali. Le résultat des analyses révèle que la variété Jakunbé représente 9% tandis que la variété Tiandougou coura et l'hybride Pablo représentent 6% de l'ensemble des échantillons et les autres variétés représentent 3% de la totalité des variétés analysées (Tableau 2).

Tableau 2 : Variétés de semences prélevées par zones agro écologiques

VARIETES	Semences de variétés locales prélevées chez les paysans	Semences de variétés améliorées prélevées chez les producteurs	Catégories de semences			% de variétés prélevées
	Locale	G3	R1	R2		
Bargaloussa	6%	0%	0%	0%	3%	
Bimbagalawili	6%	0%	0%	0%	3%	
Débéra	6%	0%	0%	0%	3%	
Fadda	0%	13%	0%	0%	3%	
Fambè A	0%	13%	0%	0%	3%	
Fambè B	0%	13%	0%	0%	3%	
Gadiaba	6%	0%	0%	0%	3%	
Jakunbé	0%	0%	25%	50%	9%	
Jakunbé	0%	0%	25%	0%	3%	
Jakunbé	0%	0%	25%	0%	3%	
Jakunbé	0%	0%	25%	50%	9%	
Kémarifing	6%	0%	0%	0%	3%	
Koumouka	6%	0%	0%	0%	3%	
Lata 3	0%	13%	0%	0%	3%	
Makonoka	6%	0%	0%	0%	3%	
N'Ganiablé	6%	0%	0%	0%	3%	
N'Ganiaka	6%	0%	0%	0%	3%	
N'Guénièfing	6%	0%	0%	0%	3%	
Niarouma	6%	0%	0%	0%	3%	
Niobléni	6%	0%	0%	0%	3%	
Pablo	0%	13%	0%	25%	6%	
Pablo	0%	13%	25%	0%	6%	
Péké	0%	13%	0%	0%	3%	
S-8	0%	0%	0%	25%	3%	
Samboni	0%	13%	0%	0%	3%	
Samongo	6%	0%	0%	0%	3%	
Séguétana	6%	0%	0%	0%	3%	
Sobiné	6%	0%	0%	0%	3%	
Soubatimi	0%	13%	0%	0%	3%	
Tiandougoucoura	0%	0%	50%	0%	6%	
Tiandougoucoura	0%	0%	0%	50%	6%	
Tiémokonio	6%	0%	0%	0%	3%	

Les échantillons prélevés (Figure 2) sont issus des races guinea en majorité (94%) et caudatum (6%).

La race guinea est la plus utilisée et préférée par les paysans à cause de sa bonne conservation, sa consistance pour la préparation du tô. Par contre, la race caudatum est utilisée pour le cous-cous dans la région de Kayes, au Nord il est utilisé pour le sorgho de décrue ainsi que Yélimané et Nara d'où le faible taux d'utilisation (6%).

Le programme sorgho de l'IER repose principalement sur la race guinea car les variétés issues d'elle sont adaptées aux conditions climatique du Mali d'où l'essentiel des variétés vulgarisées.

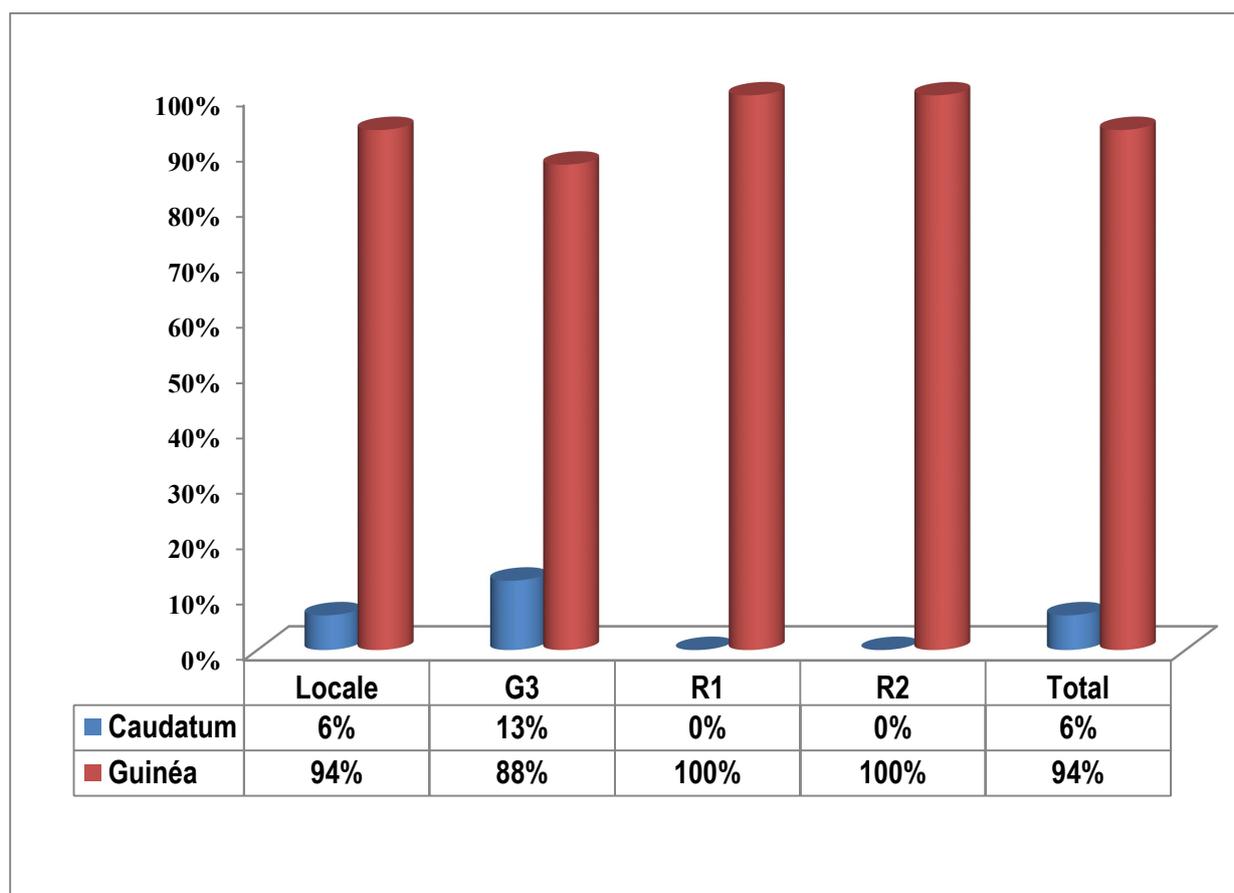


Figure 2 : pourcentage de races analysées.

Le tableau 5 indique que sur les variétés prélevées, (50%) de colonies vues de face sont de couleur blanches et (13%) sont de couleur blanche/grise clair.

Tableau 3 : Couleurs de colonie vue de face et revers

Couleur Face	Semences de variétés locales prélevées chez les paysans	Semences de variétés améliorées prélevées chez les producteurs			% de colonies
	Catégories de semences				
	Locale	G3	R1	R2	
Blanche	63%	13%	25%	100%	50%
Grise	6%	0%	25%	0%	6%
Grise foncée	6%	0%	0%	0%	3%
Grise claire	6%	0%	25%	0%	6%
Marron foncée	6%	0%	0%	0%	3%
Marron blanche	6%	0%	0%	0%	3%
Verte	0%	13%	0%	0%	3%
Verte claire	0%	13%	0%	0%	3%
Rose	6%	0%	0%	0%	3%
Blanche/grise claire	0%	38%	25%	0%	13%
Blanche/marron	0%	13%	0%	0%	3%
Blanche/marron foncée	0%	13%	0%	0%	3%

Les couleurs de colonies en face (Tableau 3) sont en majorité relative blanche soit (50%), la couleur blanche/grise claire représente (13%) et la couleur grise, grise claire représente (6%) de la totalité de l'échantillon.

La figure 3 montre un certain nombre de moisissures observés sur les échantillons prélevés. Parmi ces moisissures, l'*Aspergillus* sp, représente (37%), *Fusarium* sp. et *Curvularia* sp. représentent chacune 16% des pathogènes.

Deux autres ont été également observés sur un même échantillon à savoir *Fusarium* sp. et *Aspergillus* sp dont le pourcentage d'infection est de 19% en fin l'*Aspergillus* sp. et *Curvularia* sp. (12%) en tant que pathogènes mixtes sur le même échantillon.

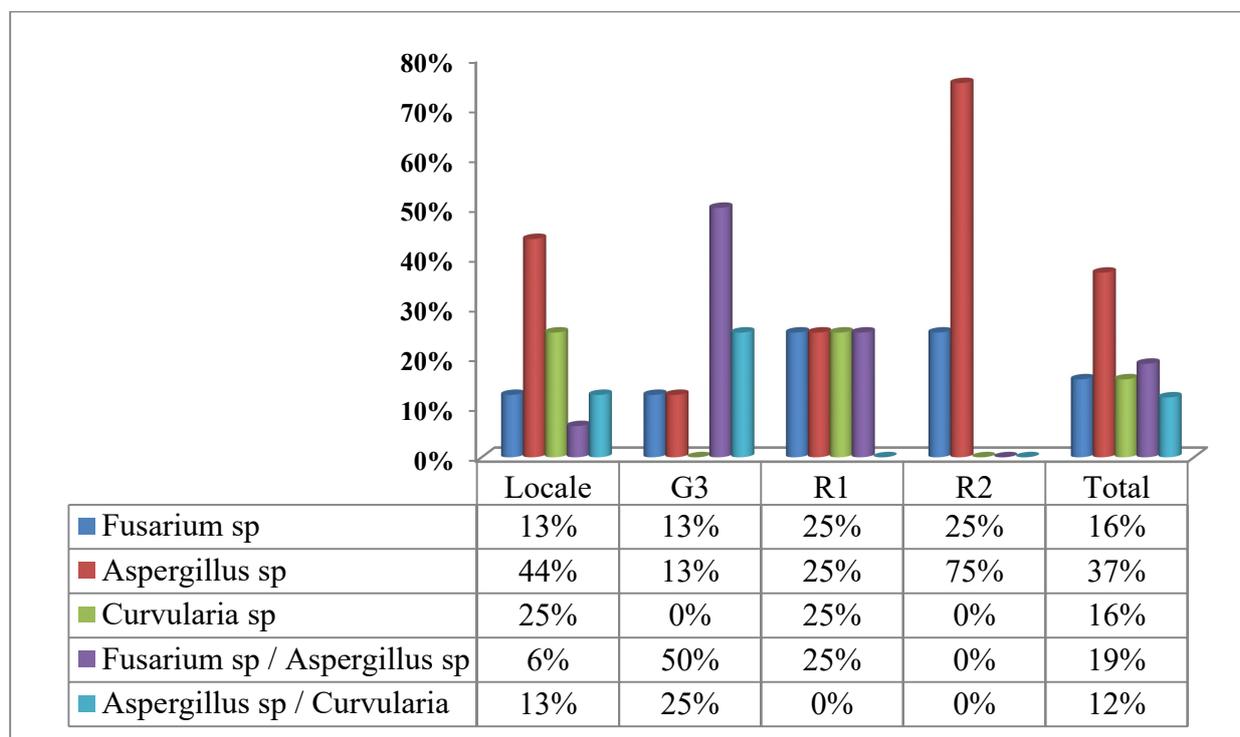


Figure 3 : pourcentage de moisissures identifiées.

Le degré d'infection par les moisissures sur les échantillons prélevés est le suivant : *Aspergillus* sp (62%), *Fusarium* sp (19%) et *Curvularia* sp (19%) (Figure 24).

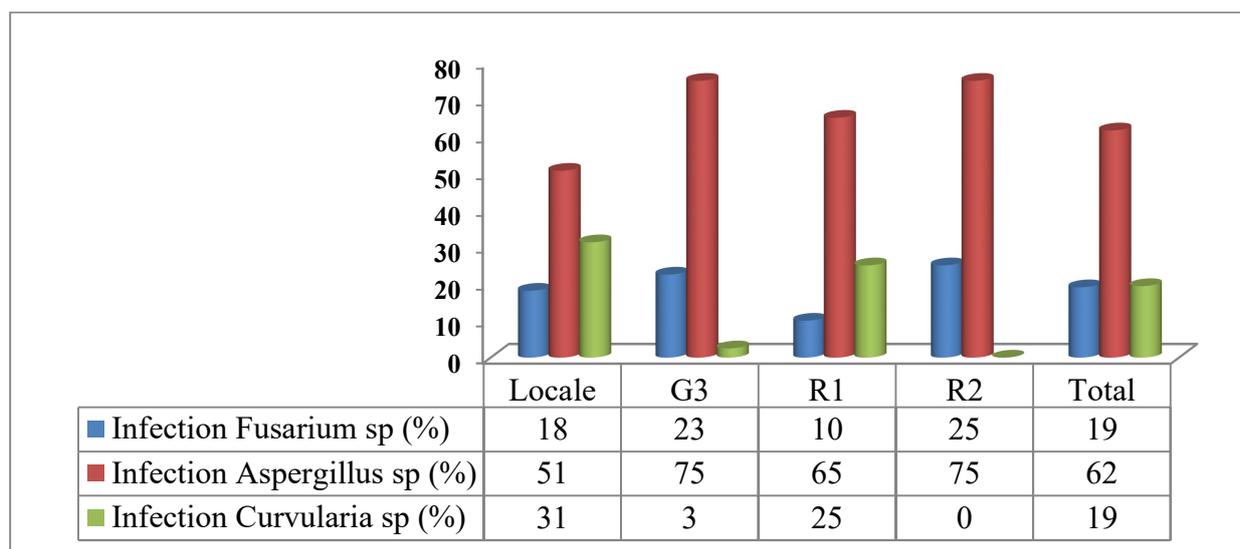


Figure 4 : Pourcentage d'infection par type de moisissures observées (%)

Parmi ces moisissures, *Aspergillus* sp. représente (37%), *Fusarium* sp et *Curvularia* sp. représentent respectivement (16%) des moisissures. Deux autres ont été également observés sur un même échantillon à savoir *Fusarium* sp et *Aspergillus* sp. dont le pourcentage d'infection est de (19%) en fin *Aspergillus* sp. et *Curvularia* sp (12%).

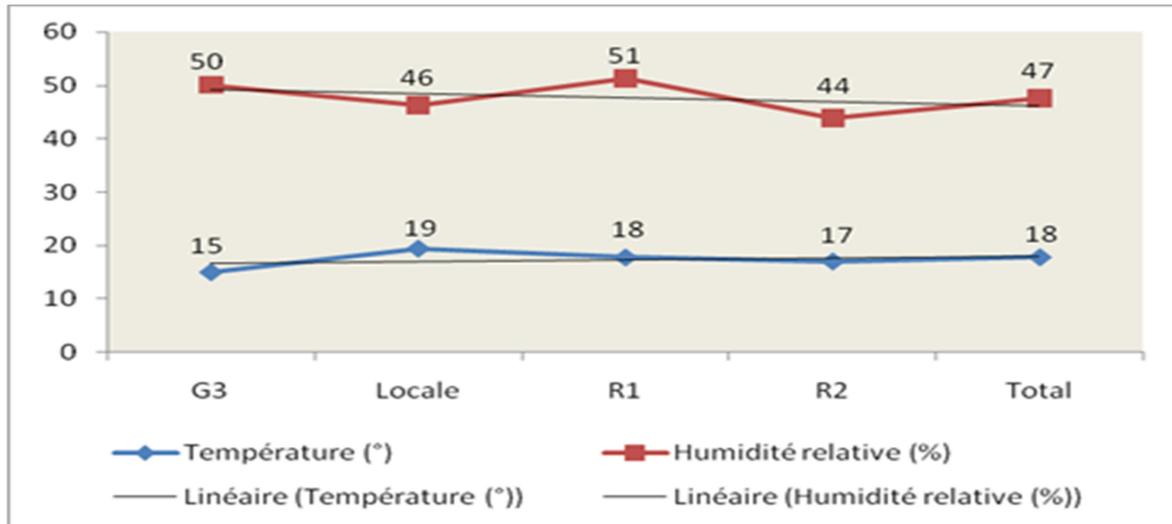


Figure 5 : Paramètres écologiques (Température, Humidité)

La température et l'humidité ont un impact sur le degré d'infestation des moisissures (Fig.5). Les genres *Fusarium* et *Aspergillus* sont reconnus comme les principaux agents de contamination dans les céréales notamment le sorgho. Ces proliférations fongiques et les productions d'aflatoxines ont lieu au champ (hygrométrie élevé et une température comprise entre 25 et 40°C) et au cours du stockage. Un tel scénario concerne de plus en plus souvent les zones tempérées avec le réchauffement climatique. Nos résultats ont porté également sur le taux d'infection en fonction des catégories de semences (locales et améliorées). Le résultat obtenu montre un taux d'infection paritaire de 50% locale et 50% améliorées.

3. Discussion

Les 18 échantillons de semences améliorées de sorgho candidates à la certification ont révélé une contamination 100% par les moisissures. Ces résultats obtenus sont validés par les travaux de BONZI (2013) qui a également observé un taux de contamination de 100% des semences par les moisissures au Burkina –Faso. Des résultats similaires ont été obtenus par Rémi (1997) et BABIRE (2004) en France et au Burkina respectivement. Les infestations de ces champignons sont dues en majeure partie aux conditions climatiques qui leur sont relativement favorables. Ainsi, la température et l'humidité étant des facteurs primordiaux pour le développement et la dissémination, ce qui pourrait expliquer le fort taux de contamination dans les différentes régions Berber et *al.* 2008) En effet, Berber et *al.* (2008) affirment que la fréquence de chaque espèce dépend des conditions d'humidité et de température favorables à son développement ce qui rend difficile sa conservation.

TOFFA (2015) découvre que la plus part des moisissures rencontrés lors de l'étude produisent des mycotoxines qui proviennent de leur métabolisme secondaire. Ils peuvent se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage et douées de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Un certain nombre des microorganismes (*Aspergillus* spp., *Fusarium* sp. et *Penicillium* spp.) identifiés lors de notre étude font partie de cette gamme de champignon cancérigènes pour l'homme et les animaux.

4. Conclusion

Les semences jouent un rôle majeur dans l'amélioration de la production et de la productivité agricole. Elles constituent l'un des premiers facteurs de production en agriculture. En effet l'analyse sanitaire vient à point nommé afin de compléter les étapes du processus de la certification de semences d'origine végétale au Mali. Le travail réalisé a pour objectif d'évaluer la qualité sanitaire de semences améliorées produites par les entreprises et sociétés semencières par rapport à la semence locale. Au terme des travaux, les résultats que nous avons obtenus nous permettent d'affirmer clairement que les semences de variétés locales et améliorées prélevées respectivement dans les greniers et magasins des entreprises et sociétés semencières sont infectées par les moisissures. Il s'agit en l'occurrence de *Fusarium* sp et de *Curvularia* sp. Nous avons observé une prédominance de *Fusarium* sp dans les zones de Koulikoro (31%), District de Bamako (45%), Kayes (33%) et de *Curvularia* sp à Tombouctou (100%). Aucun de ces 2 agents de moisissures sur les semences de sorgho n'a été observé sur les échantillons des lots de semence de Sikasso et de Gao.

Par ailleurs, en plus de *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. (36%) ont été également observé sur les échantillons des lots de semences du District de Bamako. Ceci dénote une mauvaise condition de conservation des semences dans les différentes zones capitales régionales du Mali.

Cependant comme hypothèse, une mauvaise gestion post récolte augmenterait le taux de contamination de semences de sorgho après certification au laboratoire d'analyse de semences. Au regard des acquis de cette étude, il est nécessaire de tenir à l'esprit les questions de recherche suivantes pour les futures études :

- les semences locales sont-elles responsables de la distribution des maladies à l'échelle locale ?
- la contamination des semences certifiées encours de stockage prévente contribue-t-elle à la dissémination des maladies ?
- la disponibilité d'une carte de distribution des maladies dans les bassins sorghicoles permet-elle de diminuer le temps d'analyse des semences au laboratoire ?

Références

Ahmed K. M. & Ravinder Reddy, Ch. 1993: A Pictorial Guide to the Identification of Seedborne Fungi of Sorghum, Pearl Millet, Finger Millet, Chickpea, Pigeonpea, and Groundnut, 192 p.

BARNET H. L. & HUNTER, B.B. 1972: Illusted genera of imperfect fungi, 576 p.

BONZI S. 2013 : Evaluation de la mycoflore des semences de sorgho et de *Poaceae* sauvages,

analyse de la variabilité des isolats de *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema Dorenbosch et Van Kest. et recherche de méthodes de lutte alternatives.160p

BERBER F., OUAZZANI, TOUHAMI A., et DOUIRA A. 2008 : Identification de la mycoflore pathogène de *Sorghum bicolor* (L.) Moench, cultivé dans le Gharb et le Loukkos (Nord-ouest du Maroc). 7p.

BABIRE TG. 2004 : Etude de l'efficacité d'extrait végétaux contre les agents pathogènes fongiques transmis par les semences de mil et sorgho, 96 p.

CHAMPION R. 1997 : Identifier les champignons transmises par les semences, INRA-Paris, France, 385p.

COMMISSION du Codex Alimentarius, CCA. 2012 : Document de discussion sur les champignons et les mycotoxines dans le sorgho ; 6ème session Maastricht, Pays-Bas, 26– 30 mars 2012, 33 P.

DAGNO K., Crovadore J., Lefort L., Lahlali R. Lassois L. & Jijakli MH. 2011: *Alternaria jacinthicola*, a new fungal species causing blight leaf disease on water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach). *J. Yeast Fungal Res*: 99-105.

DAGNO K. 2006 :. Evaluation des microorganismes fongiques en tant qu'agents de lutte Biologique contre *Eichhornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach dans le bassin du fleuve Niger au Mali. DEA doc. Sci. agron. FUSAGx, Belgique. 102 p.

DIOURTE M. 2000 : Rapport de recherches, mise au point des méthodes de lutte intégrée contre les maladies du sorgho, Sotuba, 20 p.

FAO 2010 : Les semences dans les situations d'urgences. Manuel techniques, 83p.

MALLE, A. (2012). Criblage des variétés de sorgho améliorées pour leur résistance à l'anthracnose foliaires et aux moisissures des grains au Mali; mémoire de fin d'études, Centre Régional AGRHYMET, Niamey. 37p.

RIEUF P. 2008 : Clé d'identification des champignons rencontrés sur les cultures maraichères.75 p.

TOFFA DD. 2015 : Étude de la contamination de certains aliments d'origine végétale de la République du Niger les moisissures toxigènes, 252 p.