

Essai de Détermination des Causes de Dormance de Quelques Variétés Locales de Riz

NGUYỄN-THỊ-NGỌC-LANG

MAI TRẦN-NGỌC-TIẾNG

Laboratoire de Physiologie végétale

Faculté des Sciences. Saigon

(Travail réalisé grâce à une subvention accordée par le Centre National de la Recherche Scientifique et l'aide de la direction des Recherches et des Etudes Agronomiques du Viêt-Nam).

INTRODUCTION

Malgré l'apparence de maturité au moment de leur récolte, certaines variétés de riz ne se montrent pas capables de germer même dans les conditions externes les plus favorables. Cela est probablement dû aux facteurs internes qui sont par exemple : l'immaturité physiologique des graines, la présence d'inhibiteurs ou l'absence des substances de croissance. Nous nous sommes proposées, dans cette étude, de mettre en évidence la présence des inhibiteurs comme celle des substances de croissance et de briser la dormance de quelques variétés locales de riz.

MATERIELS ET METHODES

A. — Mise en évidence des zones inhibitrices et stimulatrices :

Nous prenons comme matériels d'étude deux variétés de riz (le Nàng Phê Muôn et le Lua Xiêm) récoltées respectivement à Gia-Dinh au mois de Février et à Cholon en Septembre et qui nous ont été fournies aussitôt après la récolte par l'office du Riz de Saigon.

Les essais de germination ont été effectués dès livraison et ont montré que les variétés Nàng Phêt et Lua Xiêm sont complètement dormantes à la récolte. Cette dormance dure environ 2 à 3 mois. Ces variétés sont ensuite conservées dans des flacons scellés mis dans le deep-freezer à -20°C .

Pour déterminer les substances de croissance et les inhibiteurs, nous cherchons d'abord à localiser les zones inhibitrices et stimulatrices de la croissance des coléoptiles de Riz et d'Avoine dans les chromatogrammes des extraits étherés de ces graines de riz, dormantes et levées.

La technique employée est celle de la chromatographie par bande sur papier filtre Whatman N° 1.

a) *Extraction :*

30g à 40g de graines (Nàng Phêt ou Lua Xiêm) de chaque lot dormant et levé sont préalablement broyées et extraites séparément avec 100 ml d'éther à 25°C (16). Le résidu est extrait de nouveau avec 100 ml d'éther éthylique pendant 2 heures. Les filtrats sont réunis et concentrés sous pression réduite jusqu'à 2 ml.

b) *Chromatographie :*

L'extrait concentré est appliqué en une ligne horizontale sur du papier Whatman N° 1. Le chromatogramme est développé dans une solution d'isoproponol : ammoniacque : eau (10:1:1) par la méthode descendante. Il est ensuite séché et divisé en 10 bandes chacune correspondant à un Rf déterminé. Le témoin est constitué par une bande identique du chromatogramme mais qui n'a pas reçu d'extrait. Chacune de ces bandes est ensuite découpée en petits fragments qui sont élués pendant 24 heures avec 5 ml d'eau distillée quand il s'agit du test sur la croissance totale des coléoptiles, ou avec 10 ml d'eau lorsqu'il s'agit de test sur leur croissance directe.

c) *Essais biologiques :*

1. Test sur la croissance totale des coléoptiles de riz :

Des graines décortiquées de riz de la même variété sont mises à germer sur du papier filtre légèrement humecté d'eau distillée. Lorsque leur coléoptile a atteint 1-2 mm de long, 10 graines germées ayant des coléoptiles de même longueur sont mises dans chacune des boîtes contenant les bandes. Deux ou trois jours après, les coléoptiles sont mesurés et la moyenne des longueurs totales des coléoptiles est calculée pour chaque bande (16).

2. Test sur la croissance directe des coléoptiles de riz :

Soupçonnant que dans le test précédent la présence des sommets des coléoptiles et celle des premières feuilles pourraient influencer sur les résultats, nous avons employé le test sur la croissance directe des coléoptiles de Riz.

Des semences de riz de la même variété sont préalablement imbibées d'eau pendant 24 heures à la lumière, puis mises à germer sur du papier filtre humecté d'eau distillée. Lorsque les coléoptiles mesurent 15 à 20mm, on prélève des segments de 2mm de long à partir de 2mm du sommet. Ces segments, dont la feuille interne a été préalablement enlevée, sont laissés flottés dans les éluats des bandes correspondant aux différents Rf. Leurs longueurs ont été mesurées au bout de 2 jours et leur moyenne a été notée. L'activité de chaque Rf sur la croissance des coléoptiles est donnée par le pourcentage de croissance par rapport au témoin.

3. Test sur la croissance directe des coléoptiles d'Avoine (variété Victory).

Des essais identiques ont été pratiqués sur la croissance directe des coléoptiles d'Avoine (variété Victory) que nous avons fait venir du laboratoire « Allemanna Svenka Utsadesaktiebolaget » (Svalof Suède).

Les résultats sont figurés dans les graphiques V et VI.

B. — Essais d'identification des giberellines :

Comme les gibberellines sont connues comme substances stimulant la germination des graines (12) nous avons tenté de les identifier dans les graines de riz de la variété étudiée.

La technique employée est celle de la chromatographie par bande sur papier Whatman N° 1, avec le même solvant : isopropanol-ammoniaque : eau (10:1:1).

La révélation du chromatogramme se fait avec une solution de $KMnO_4$ 0,5% et les gibberellines, s'il existe, apparaîtront en taches jaune (13).

C. — Essais pour briser la dormance :

a) *Du Lua Xiêm :*

Les graines décortiquées de Lua Xiêm sont trempées dans certaines substances connues comme stimulatrices de la germination telles que : l'acide gibberellique, l'acide indolylacétique à différentes concentrations. Elles sont ensuite mises à germer sur du papier filtre humecté de la solution dans laquelle elles ont été trempées pendant 48 heures. On compte ensuite les graines qui sont germées et le pourcentage de germination est calculée pour chaque concentration.

b) *Du Nàng Phét Muôn :*

Les graines de riz dormantes sont trempées dans certaines substances connues comme stimulatrices de la germination telles que : l'acide gibberellique, la thiourée, à différentes concentrations. Elles sont ensuite mises à germer sur du papier filtre humecté de la solution dans laquelle elles ont été trempées pendant 48 heures. On compte ensuite les graines qui sont germées et le pourcentage de germination est calculé pour chaque concentration.

D'autre part, les graines dormantes de Nàng Phê Muôn contenues dans une enveloppe ouverte sont soumises à une incubation dans une étuve à 50° - 52°C à 7 jours (7). Elles sont ensuite mises à germer sur du papier filtre humecté d'eau distillée.

RESULTATS ET DISCUSSION

A. — Localisation des zones stimulatrices et inhibitrices :

a) *Test sur la croissance totale des coléoptiles de riz :*

1. En comparant les différents histogrammes des extraits éthers de la variété Nàng Phê Muôn en période de dormance on observe 3 bandes inhibant la croissance totale des coléoptiles de riz et correspondant aux Rf :

0.0 — 0.2

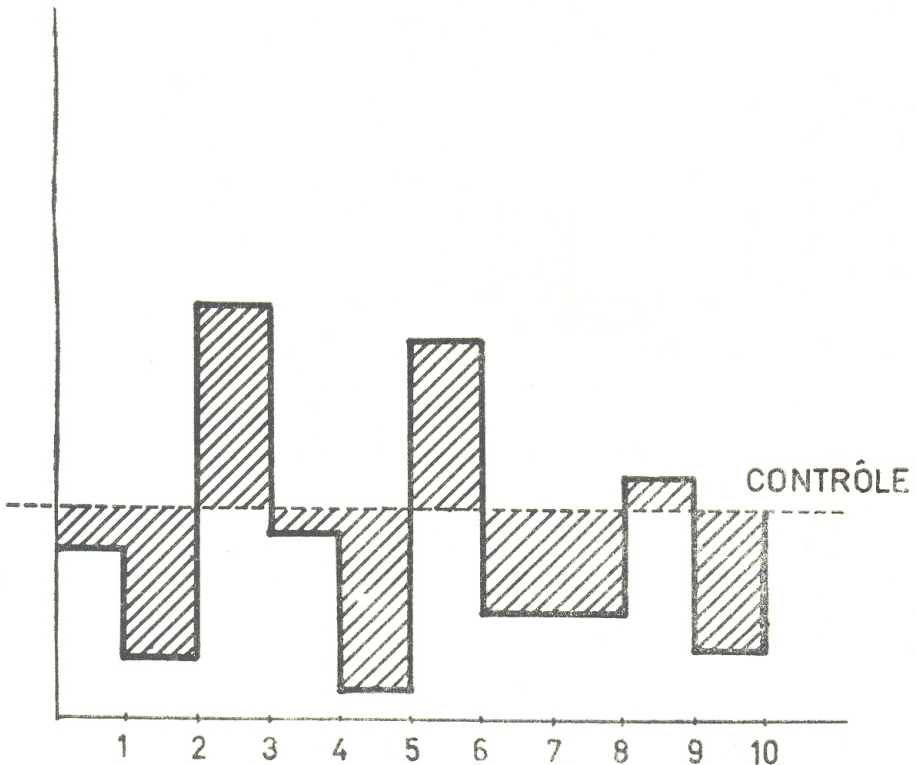
0.4 — 0.5

0.9 — 1.0

tandis que les zones de croissance correspondant aux Rf : 0.2 — 0.3
0.5 — 0.6

Graphique I

% de croissance

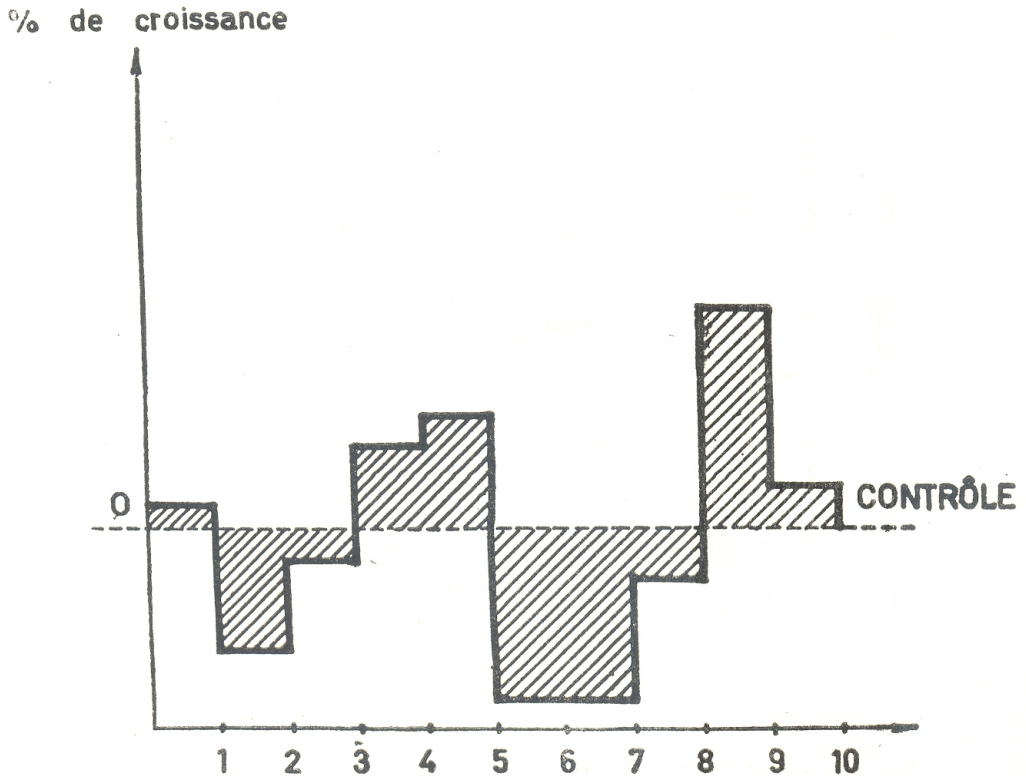


Zônes inhibitrices dans le chromatogramme de l'extrait étheré de « Nàng Phê muôn » (dormant)

Test sur la croissance totale des coléoptiles de riz.

2. Les histogrammes des extraits étherés de cette même variété mais sortie de la dormance montrent 2 zones de croissance correspondant aux Rf : 0.3 — 0.5
0.8 — 1.0
et 3 zones d'inhibition Rf : 0.1 — 0.2
0.5 — 0.6

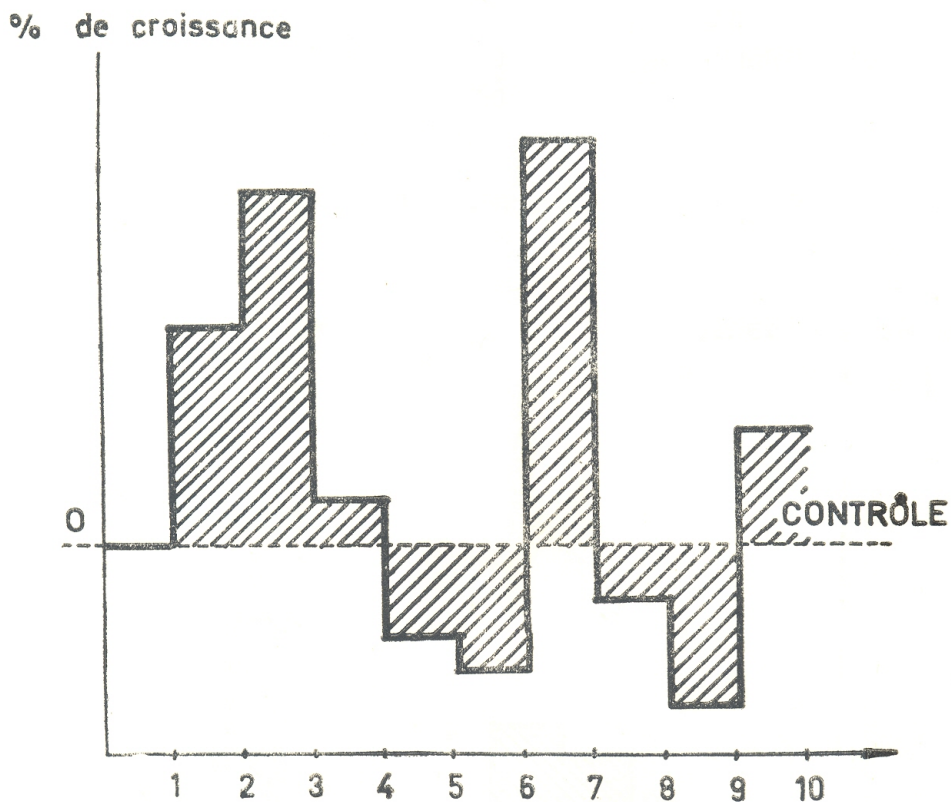
Graphique II



*Zônes stimulatrices dans le chromatogramme de l'extrait étheré de « Nãng Phết muôn » (réveillé)
Test sur la croissance totale des coléoptiles de riz.*

3. Les histogrammes obtenues de la variété Lua Xiêm montrent 2 zones inhibitrices correspondant aux Rf : 0.4 — 0.6
0.7 — 0.9

Graphique III



*Zônes inhibitrices dans le chromatogramme de l'extrait
éthéré de « Lua Xiêm »*

Test sur la croissance totale des coléoptiles.

b) *Test sur la croissance directe des coléoptiles de riz :*

Pour la variété Nàng Phêt déjà réveillée les histogrammes montrent
2 zônes de croissance correspondant aux Rf : 0.4 — 0.5

0.8 — 0.9

Les zônes inhibitrices sont situées dans les zônes ayant les Rfs
suivants :

0.0 — 0.1

0.6 — 0.7

0.9 — 1.0 (graphique IV)

c) *Test sur la croissance directe des coléoptiles d'Avoine (variété Victory):*

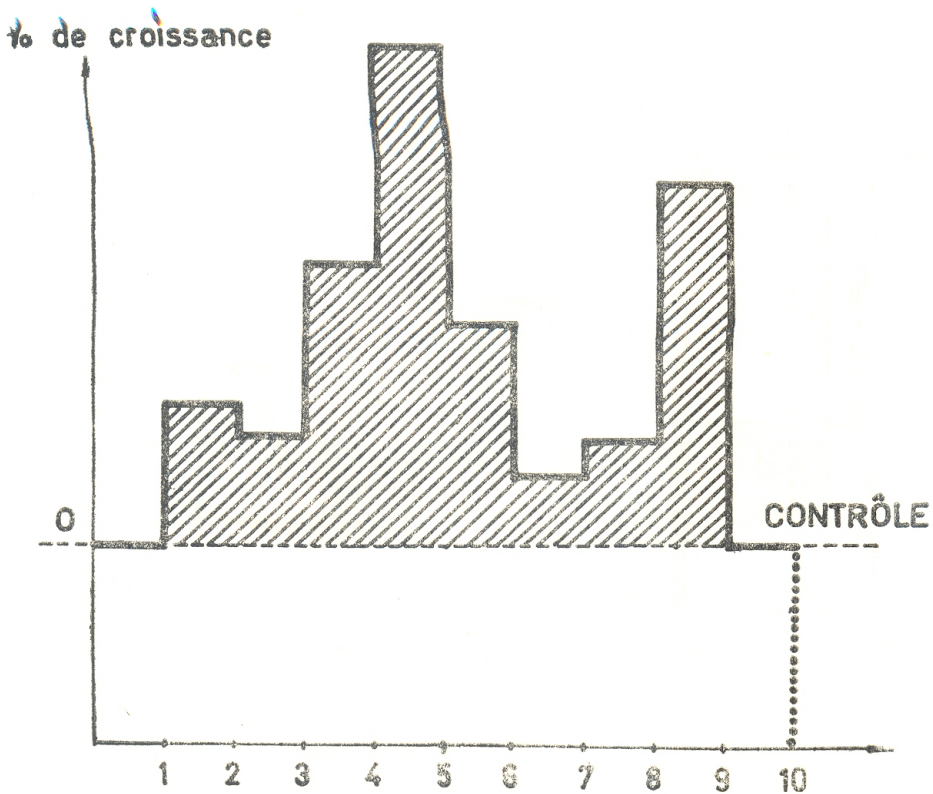
Les histogrammes obtenues des extraits éthérés de la variété Nàng Phêt dormante montre 3 zones d'inhibition correspondant aux Rf :

- 0.1 — 0.2
- 0.3 — 0.5
- 0.8 — 1.0

et 2 zones de croissance Rf :

- 0.2 — 0.3
 - 0.7 — 0.8
- (graphique VI p. 368)

Graphique IV



Zones stimulatrices dans le chromatogramme de l'extrait
éthéré de « Nàng Phêt muôn » (réveillé)
Test sur la croissance directe des coléoptiles de riz.

Pour les histogrammes des extraits des graines Nàng Phêt réveillées, les zones de croissance semblent correspondre aux Rf :

- 0.3 — 0.5
- 0.8 — 0.9

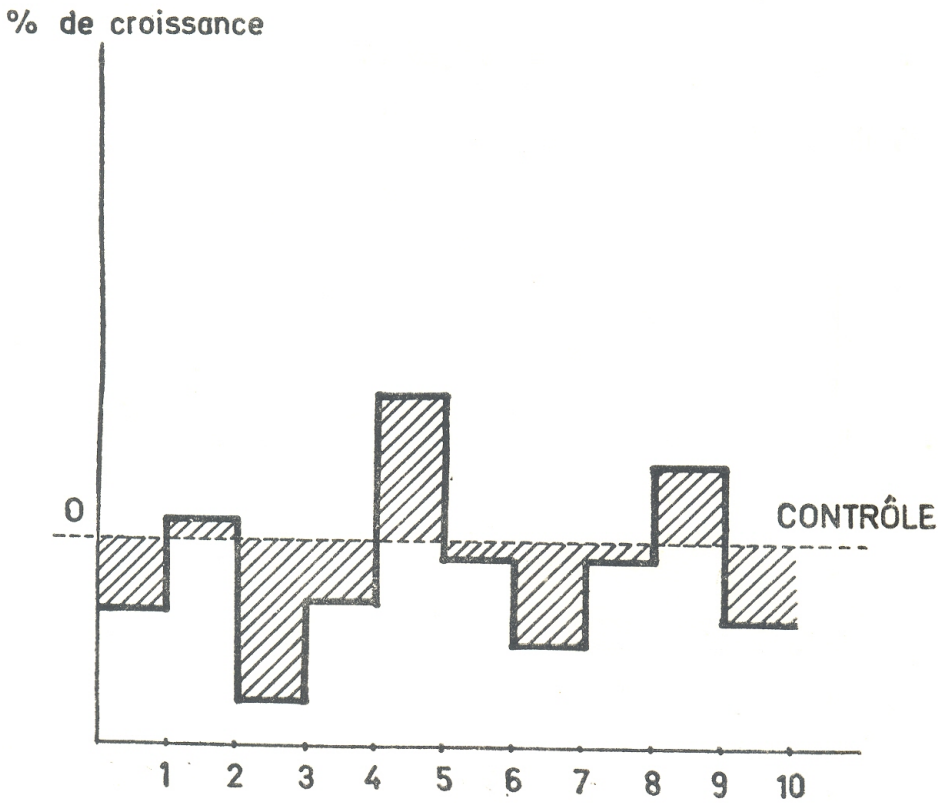
et les zones d'inhibition aux Rf :

0.2 — 0.3

0.6 — 0.7

0.9 — 1.0

Graphiques V



*Zônes stimulatrices dans le chromatogramme de l'extrait
éthéré de « Nàng Phét muôn » (réveillé).*

Test sur la croissance directe des coléoptiles d'avoine.

B. — Essais d'identification des gibberellines :

Les essais faits pour identifier les gibberellines ne donnent aucun résultat positif.

C. — Essai de briser la dormance :

a) *Du Lua Xiêm* :

1. L'acide gibberellique donne des résultats suivants :

Les concentrations au-dessus de 800 mg/l et au-dessous de 600 mg/l ne donnent aucun effet.

Les concentrations entre 600 mg/l et 800 mg/l provoquent une ébauche de germination mais de cette ébauche ne sortent ni coléoptile ni radicule.

2. Les graines décortiquées et stérilisées traitées par l'acide gibberellique à 800 mg/l toute les semaines après la récolte donnent les résultats suivants :

— à partir de la première semaine : 15% présentent une ébauche de germination.

— à partir de la deuxième et de la troisième semaine 25% germent dont 15% montrent une coléoptile de 4 mm au bout de trois jours mais aucune radicule ne sort de cet embryon.

3. L'acide indolylacétique ne donne aucun résultat.

4. Apartir de la quatrième semaine les graines de Lua Xiêm décortiquées et mises dans de l'eau distillée pure donnent des embryons ayant de fines et grêles radicules dépourvues de poils absorbants.

b) *Du Nàng Phêt Muôn* :

— Acide gibberellique :

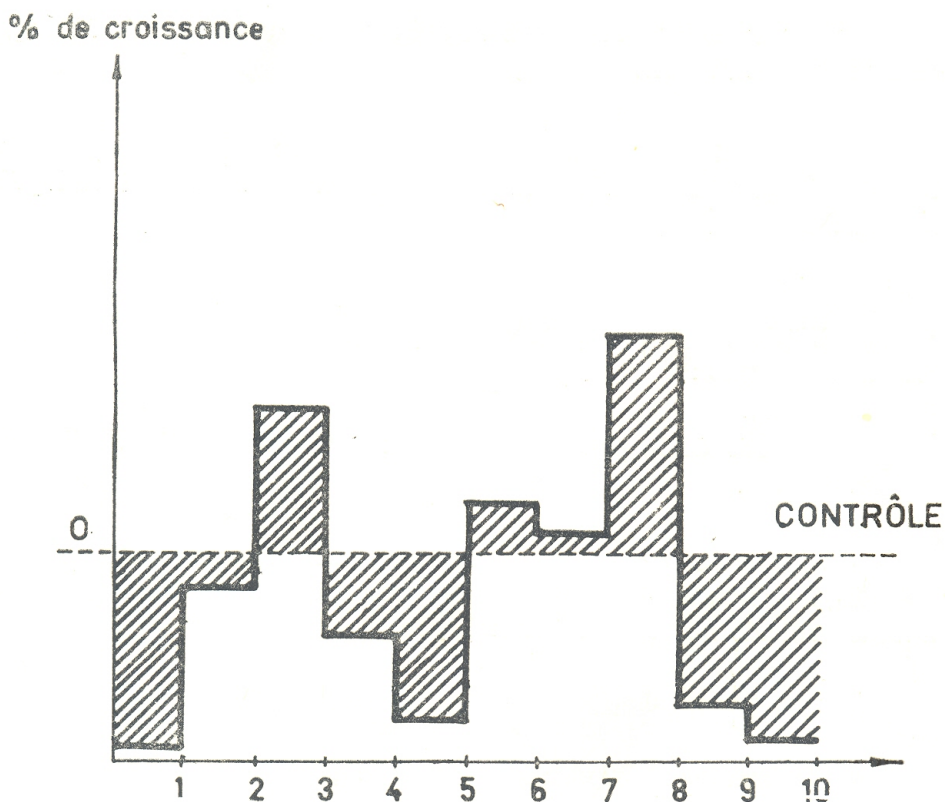
500 ppm	40%	germination
800 ppm	47%	—
1.000 ppm	65%	—

— Thiourée

1.000 ppm	44%	—
-----------	-----	---

On peut noter d'autre part que la dormance de la variété Nàng Phêt Muôn est complètement levée par une incubation à 50°C pendant 5 jours. La germination de ces graines incubées paraît normale.

Graphique VI



*Zônes inhibitrices dans le chromatogramme de l'extrait étheré de « Nàng Phêt muôn » (dormant)
Test sur la croissance directe des coléoptiles d'avoine.*

DISCUSSION

Il serait évidemment plus logique et plus convaincant d'employer comme test biologique les essais de germination en faisant germer les graines dormantes de Nàng Phêt Muôn sur les différentes bandes stimulatrices des histogrammes provenant des extraits des graines levées et les graines non dormantes sur les bandes inhibitrices. Les tests employés dans nos expériences, malgré une légère différence, due peut-être à la sensibilité du matériel employé, prouveraient néanmoins la présence des inhibiteurs et des substances stimulatrices sur la croissance du coléoptile d'Avoine (Victory) et des variétés de Riz considérées.

Le tableau suivant établit un parallélisme entre les localisations des substances stimulatrices et inhibitrices des graines dormantes et levées de la variété Nang Phêt.

	Graines dormantes	Graines levées
	Rf	RF
zônes inhibitrices	0.0—0.2	0.2—0.3
	0.3—0.5	0.6—0.7
	0.8—1.0	0.9—1.0
zônes stimulatrices	0.2—0.3	0.3—0.5
	0.5—0.8	0.8—0.9

Il nous permet de déduire qu'au cours de la dormance les zônes inhibitrices efficaces sont disparues excepté une correspondant à Rf 0.9—1.0. Elles sont remplacées par certaines substances stimulatrices ayant les mêmes Rfs : 0.3—0.5 et 0.8—0.9.

Les essais effectués avec l'acide gibberellique et la thiourée ont prouvé l'efficacité de ces substances sur la dormance de la variété Nang Phêt, tandis que leurs effets sur la croissance des racicules de la variété Lua Xiêm ne sont pas très concluants parce que la formation des racines de riz semble être influencé par des facteurs d'origine génétique (3).

Une incubation à 50°C des graines Nang Phêt lève complètement leur dormance.

Les résultats obtenus nous amènent à penser que :

- les inhibiteurs seraient tués par une incubation à 50°C.
- ils seraient contreattaqués par les substances de croissance apportées par l'extérieur comme l'acide gibberellique et la thiourée à forte dose.
- ils seraient transformés au cours de la période de dormance en d'autres produits non efficaces ou remplacés par d'autres substances stimulatrices non encore déterminées.
- les substances de croissance nouvellement formées au cours de la dormance seraient-elles identiques à l'acide gibberellique ?

Des essais ultérieurs sont tentés pour déterminer la nature de ces inhibiteurs comme leur action physiologique sur la variété Nang Phêt considérée.

RESUME

Le but de ce travail est de chercher les causes de dormance de deux variétés locales de riz Nàng Phê et Lua Xiêm complètement dormantes au moment de la récolte. Pour cet effet des essais sont tentés pour localiser les substances de croissance et des inhibiteurs dans les histogrammes de ces graines. L'effet des différentes bandes du chromatogramme obtenu avec l'extrait éthéré des graines de riz sur la croissance directe des coléoptiles de riz et d'Avoine (variété Victory) semble montrer que les inhibiteurs des graines dormantes seraient localisés dans les zones Rf 0.2 — 0.3 et 0.8 — 1.0 et les substances de croissance des graines réveillées seraient localisées dans les zones Rf 0.3 — 0.5 et 0.8 — 0.9.

Des essais sont tentés employant quelques substances de croissance telles que l'acide gibberellique et la thiourée. L'acide gibberellique jusqu'à 1000 ppm ne permet que 50% de germination du Nàng Phê Muôn et semble avoir un faible effet sur l'épicotyle des Lua Xiêm.

L'incubation à 50°C pendant 5 jours des graines brise complètement la dormance de la variété Nàng Phê.

ABSTRACT

In this paper attempts are made to identify the possible causes of Dormancy in two varieties of local rice seeds : Nàng Phê and Lua Xiêm.

For this purpose, experiments are carried in order to localize the inhibitors and the growth substances in the histograms of the seeds extracts. Tests were made with coleoptile of the same variety of Rice and Avena coleoptile (variety Victory) and showed that inhibitors of the dormant seeds could be located at Rfs : 0.2 — 0.3 and 0.8 — 1.0 and growth substances of the non-dormant seeds could be located at Rfs 0.3 — 0.5 and 0.8 — 0.9.

Attempts were made to break the dormancy of the above varieties. Gibberellic acid and thiourea could give some effect Gibberellic acid at 1000 ppm allowed 50% germination on the Nàng Phê and seemed to have little effect on the epicotyle of the Lua Xiêm.

Incubation at 50°C during 5 days broke entirely the dormancy of the variety Nàng Phê.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — AMEN, R.O. — The concept of seed dormancy
Wallerstein Lab. Communic USA. — 1964, 27, 92, 7, 18.
- 2 — BLACK M. & WAREING P.F. — The rôle of germination inhibitors and oxygen
in the dormancy of the light sensitive seed of *Betula* spp.
Journal of Exp. Bot. 1959, 10, 134 - 145.
- 3 — BHADURI, P.N. & GHOSH. M. — Exised embryo culturing in the study of
inheritance of root types in Rice.
The Botanical Magazine ToHyô, 1965, 78, 928, 347 - 352.
- 4 — EVENARI, M. — Inhibitors of germination
Bot. Rev. 1949, 49, 150.
- 5 — FRANKLAND B. & WAREING P.F. — Changes in endogenous gibberellins in
relation to chilling of dormant seeds.
Nature 1962, 194, 313 - 314.
- 6 — HAROLD L. BIRD, JR & CHARLES T. PUGH. — A paper chromatography
separation of gibberellic acid and gibberellin A1.
Plant Physiol. 1958, 33 - 45.
- 7 — JENNINGS (P.R.) JESUS. — Effect of heat on breaking seed dormancy in Rice
Crop. Sc. USA, 1964, 5, 530 - 533.
- 8 — A.A. KHAN & N.E. TOLBERT. — Reversal of Inhibitors of seed germination by red
Light plus Kinetin
Physiol. Plant. 1965, 18, 1, 41 - 43.
- 9 — KOLLER, MAYER, KLEIN. — Seed germination
Ann. Rev. of Plant Phys. 1962, 13, 437 - 464.
- 10 — KOWES, E. & M. VARGA. — Examination of growth-inhibiting substances
separated by chromatography on fleshy fruits. Identification of the growth-
inhibiting zones on the chromatogram.
Acta Biologica. Szegediensis 1957, 3, 213 - 223.
— Comparative examination of water and ether soluble substances in dry
fruits. Phytion 1959, 20, 93 - 99.
- 11 — LEOPOLD, A.C. — Seed dormancy.
Plant growth and development. — Mc-Graw-Hill Publ. 1964, 311 - 332.
- 12 — A.M. MAYER & POLJAKOFF-MAYBER. — Dormancy, germination, inhibition and
stimulation. The germination of seeds — Pergamon Press — 1963, 61-100.
- 13 — NAYLOR J.M. & F.M. SIMPSON. — Dormancy studies in seed of *Avena*.
A gibberellin sensitive inhibitory mechanism in the embryo. Can.
jour. Bot. 1961, 39, 2, 281 - 295.
- 14 — A VEGIS. — Dormancy in Higher plants.
Ann. Rev. of Plant Phys. 1964, 15, 185 - 224.
- 15 — T.A. VILLIERS & P.F. WAREING. — The growth-substances content of dormant
fruits of *Fraxinus*. Journal of Exp. Bot 1965, 16, 48, 533 - 544.
- 16 — YUTAKA NURAKAMI. — A paper chromatography survey of gibberellins and
auxins in Immature seeds of Leguminous plants Bot. Mag. Tokio 1959, 10, 36
1959, 12, 316
- 17 — P.F. WAREING, C.F. EAGLES & P.M. ROBINSON. — Natural inhibitors as
dormancy agents Regulateurs naturels de la croissance végétale.
Edition du CNRS, 1964, 377 - 386.
- 18 — P.F. WAREING. — Endogenous inhibitors in seed germination and dormancy
Encycl. Plant Physiol. 1962, 15, 090 - 924.