



Action de l'acide gibbérellique sur la croissance de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon

[Gibbrelic acid effect on *Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa* growth in Gabon]

*Alexis Nicaise LEPENGUE¹; André MULUWAY KALEND¹ Koné DAOUDA²; Séverin AKE²; Justin YATTY KOUADIO³; Michel ZOUZOU²; Bertrand M'BATCHI¹

¹Laboratoire de Physiologie Végétale et Protection des plantes, Unité de recherche Agrobiologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM) ; BP 067 Franceville, Gabon Tel/Fax : (00241) 67 77 36 / 07684362 / 06764738

²Laboratoire de Physiologie végétale, UFR Biosciences, Université de Cocody-Abidjan ; 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Physiologie végétale, Université de Abobo-Adjame, 02 BP 801 02 Abidjan ; Côte d'Ivoire.

*Correspondant : Email: lepengue_nicaise@yahoo.fr

Originally Submitted on 15th September 2011. Published online at www.m.elewa.org on January 29, 2012.

Résumé : La roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) est une plante alimentaire et médicinale du Gabon. Ces différents usages provoquent chez ce végétal, de nombreuses ruptures de stocks en toutes saisons. Le présent travail a été initié pour améliorer la production de cette plante, par l'emploi de la gibbérelline (GA-3), un stimulateur de croissance. Ses graines ont pour cela été prétraitées pendant 48 h dans différentes solutions de GA-3 et cultivées en serre. L'effet hormonal a été évalué par mesure de 4 paramètres morphométriques : la germination des graines, les croissances longitudinale et diamétrale des tiges, et les surfaces foliaires des plantes. Les résultats ont montré que toutes les concentrations de GA-3 induisaient des augmentations des taux de croissance des 4 paramètres étudiés. Les effets les plus significatifs ont été produits par les traitements de GA-3 de concentrations $10^{-2}M$, avec des taux d'augmentation supérieurs à 30%, dans chaque cas. L'emploi de la GA-3 à cette teneur peut donc être envisagé dans l'amélioration de la production des plantes de la roselle.

Mots clés : Roselle, Gibbérelline, Graines, Croissance, Stimulation, Tiges

Abstract : Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) is mainly used in Gabon for its medicinal and food properties. This has resulted in the scarcity of the roselle products in local markets. The present study deals with the improvement of local roselle production. Hence, roselle seeds were pretreated for 48 hr in gibberellic acid solutions, farmed in a green house. Four growth parameters were then measured: seed germination, stem longitudinal, diametric growth and leaf area. Results showed that GA-3 solutions improved every measured biological parameters levels. Significant effects were obtained with $10^{-2}M$ concentration and the rise of measured parameters higher than 30% in each case. Consequently, low GA-3 concentration, around $10^{-2} M$ should be used in roselle improvement program.

Keywords: Roselle, Gibberellic acid, Seeds, Growth, Induction, Stems.

INTRODUCTION

La roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) est une plante maraîchère de grande valeur commerciale et alimentaire au Gabon. Ses feuilles sont en effet consommées comme légumes dans plusieurs recettes culinaires locales, et ses calices utilisés pour l'extraction d'une boisson rafraîchissante au goût acidulé, le jus d'oseille, aussi appelée bissap en Afrique de l'Ouest, ou thé d'Abyssine au Maghreb (Stevels, 1990). Les infusions de cette plante sont également recommandées en pharmacopée pour les traitements de scorbut, de cholestérol et de diverses autres infections microbiennes (Chenu et al , 1986). La roselle a aussi des vertus thérapeutiques de digestif, tonifiant, laxatif, cardiorégulateur, purgatif, diurétique etc. (Lépengué et al , 2008). En raison de ces multiples usages, les productions de cette plante sont constamment épuisées, sur les marchés gabonais, malgré l'intensification des surfaces de culture périurbaines observées ces dix dernières années (Lépengué et al , 2010). Le problème est aggravé par l'absence des procédés de conservation fiables, susceptibles d'atténuer les pénuries de

contre-saison. Par ailleurs, la croissance démographique soutenue, l'urbanisation rapide et l'exode rural de ces dernières années sont apparus comme de nouvelles donnes que n'intègre pas forcément l'agriculture itinérante actuelle, et qui exigent la substitution de cette dernière par des pratiques modernes et intensives. C'est pour cette raison que la présente étude a été initiée. Elle vise à améliorer les rendements de la roselle, par augmentation des biomasses végétales à l'aide des hormones de croissance. La gibberelline (GA-3), a été choisie pour ses propriétés stimulatrices des croissances intercalaires, mises en évidence chez la tomate (Groot et al , 1987), le maïs (Carpita & kanabus, 1988), et le blé (Keyes et al , 1990). Comme cette hormone n'a jamais été utilisée sur la roselle, un spectre étendu de concentrations a été testé pour déterminer les doses utiles et exclure les teneurs inadéquates susceptibles d'endommager les plantes. Les paramètres morphométriques mesurés étaient : la germination des graines, la croissance primaire et secondaire des tiges, et la surface foliaire des plantes.

MATERIEL ET METHODES

Matériel : Le matériel végétal employé est la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*), une plante maraîchère de la famille des Malvaceae. Le cultivar RV2 caractérisé par des tiges de coloration verte et des feuilles de teinte rouge, a été choisi pour sa forte valeur commerciale au Gabon (Lépengué et al , 2008).

Méthodes

Mise en place de l'essai : Trois cent vingt (320) graines de roselle du cultivar RV2, gracieusement offertes par le Département de Biologie de l'Université de Sciences et Techniques de Masuku (USTM), de bonne qualité germinative, ont été désinfectées par trempage pendant 5 minutes dans 1 L d'hypochlorite de sodium 1%. Elles ont ensuite été desséchées entre 2 épaisseurs de papier buvard (Lépengué et al , 2010), divisées en 8 lots de 40 graines, et incubées chacun dans un bêcher contenant 500 ml des solutions d'acide gibberellique de concentrations variant entre $10^{-8}M$ et $10^{-1}M$ (Lépengué et al , 2008). Un lot témoin de 40 graines a été traité avec 500 ml d'eau distillée, suivant le même procédé.

Après 24 h d'incubation, les graines ont été ensemencées dans des boîtes de culture de forme cylindrique, contenant chacun 1 dm³ de sol de texture argilo limoneuse, préalablement stérilisé par autoclave pendant 30 min. à 120 °C. Quatre (4) graines de roselle ont été semées par boîte de culture ; ce qui correspond à 10 boîtes par traitement, et à 90 unités pour tout l'échantillonnage. Les préparations ont ensuite été transférées dans une serre métallique de dimensions 15 x 10 x 2,5 m³, recouverte d'un film de polyéthylène étanche et transparent, d'épaisseur 180 µm (Lépengué et al , 2007). Chaque boîte de culture a quotidiennement été arrosée par 500 ml d'eau distillée jusqu'à la fin de l'expérimentation au 42^e jour.

Impact de la gibberelline sur la germination des graines : Le nombre de graines germées dans chaque traitement a été déterminé après 48 h de culture, par la méthode de Askri et al (2007), et l'inhibition de germination (% Ig) calculée à partir de la formule suivante :

$$\% Ig = \frac{Gt - Ge}{Ge} \times 100$$

Où Gt est le nombre de graines de roselle germées dans les 10 boîtes témoins ; et Ge, le nombre de graines germées dans les 10 boîtes d'un essai considéré.

Impact de la gibberelline sur les croissances primaires et secondaires des plantes : La hauteur des plantes de roselle (croissance primaire) a été mesurée au 42^e jour, à l'aide d'un décamètre, par évaluation de la distance allant du sol à la première fourche foliaire, et leur diamètre (croissance secondaire) déterminée à l'aide d'un pied à coulisse numérique (Fisherbrand, P± 0.01 mm), placé au niveau du collet (Lépengué et al., 2007). L'impact des traitements d'acide gibberellique sur les 2 formes de croissance (primaire et secondaire) a été déterminé, comme précédemment, à partir des moyennes des mesures essais et témoins [1].

Impact de la gibberelline sur la surface foliaire des plantes de roselle : La surface foliaire des plantes a été

[1]

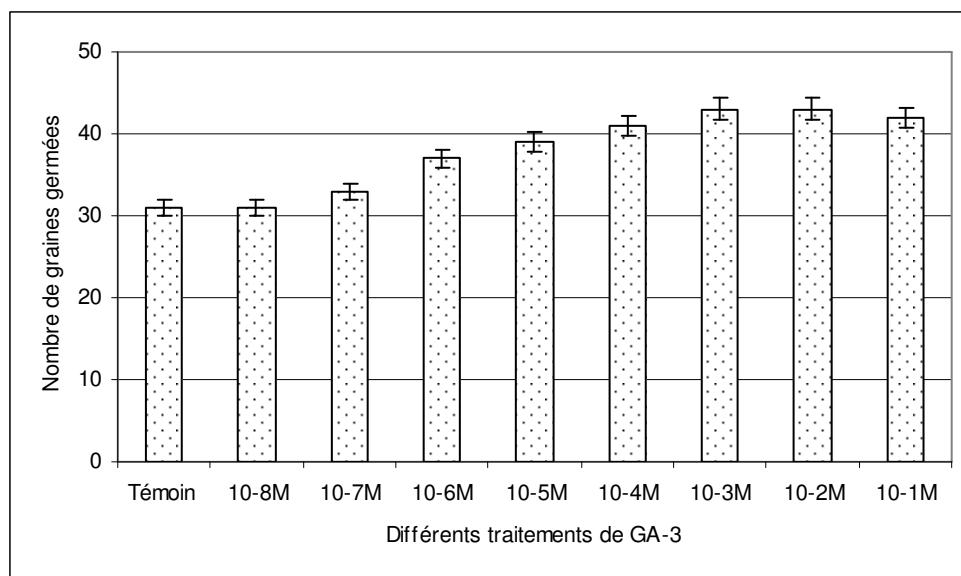
mesurée au 42^e jour, à l'aide d'un papier calque transparent de 80 g/m². La technique consistait à découper le papier aux dimensions de la feuille, et à déterminer à la balance (Ohaus Analytic 60), la masse des répliques sectionnées. Les surfaces foliaires ont ensuite été déduites par correspondance des masses, et leurs variations calculées à partir des moyennes des valeurs essais et témoins, sur le modèle de l'équation [1].

Répétitions et analyses statistiques : Toutes les expériences de ce travail ont été répétées 3 fois et les données recueillies soumises à une analyse de variance, à un critère d'évaluation, au logiciel Statistica 6.0. Les différentes moyennes obtenues ont ensuite été discriminées par les tests de comparaisons multiples de Newman-Keuls, au seuil de 5%

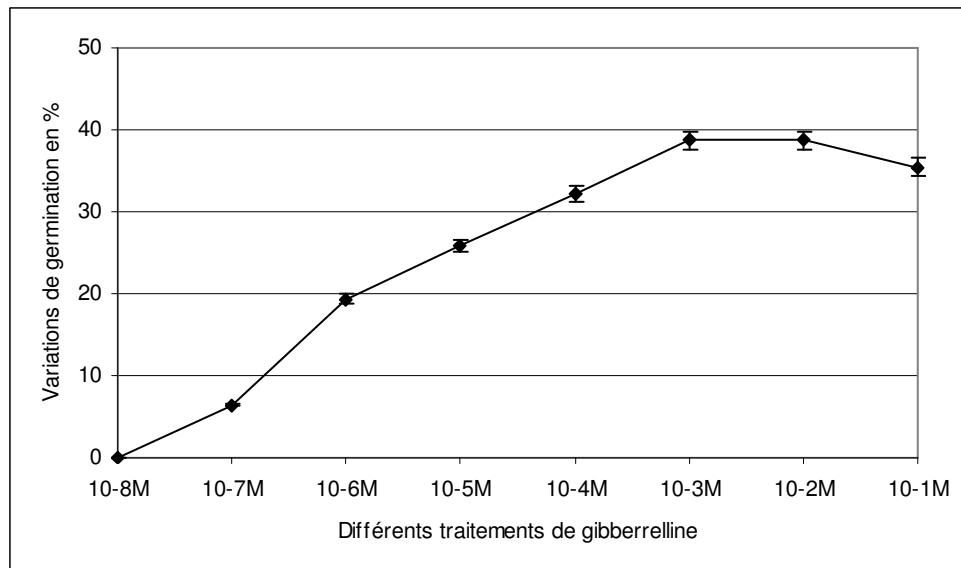
RESULTATS

Impact de la gibberelline sur la germination des graines de roselle : Le prétraitement des graines de roselle à la gibberelline a stimulé la germination de ces organes (figure 1A et 1B). A de petites concentrations (comprises entre 10⁻⁸ M et 10⁻⁷ M), les augmentations induites ont été faibles et non significatives au seuil de 5%. Les effets statistiquement significatifs n'ont débuté

qu'à partir des concentrations de 10⁻⁶ M, avec des hausses optimales de 38.72%, à la concentration de 10⁻² M (figure 1B et Tableau I). Le nombre de graines germées dans les boîtes traitées a alors été supérieur à celui des boîtes témoins. Au-delà de cette teneur, les effets de stimulation ont commencé à baisser, tout en restant significatifs, au seuil de 5%.



A



B

Figure 1 : Effet de la GA-3 sur la germination des graines de roselle après 48 h de prétraitement, avec en A le nombre de graines germées, et en B le pourcentage de germination par rapport au témoin.

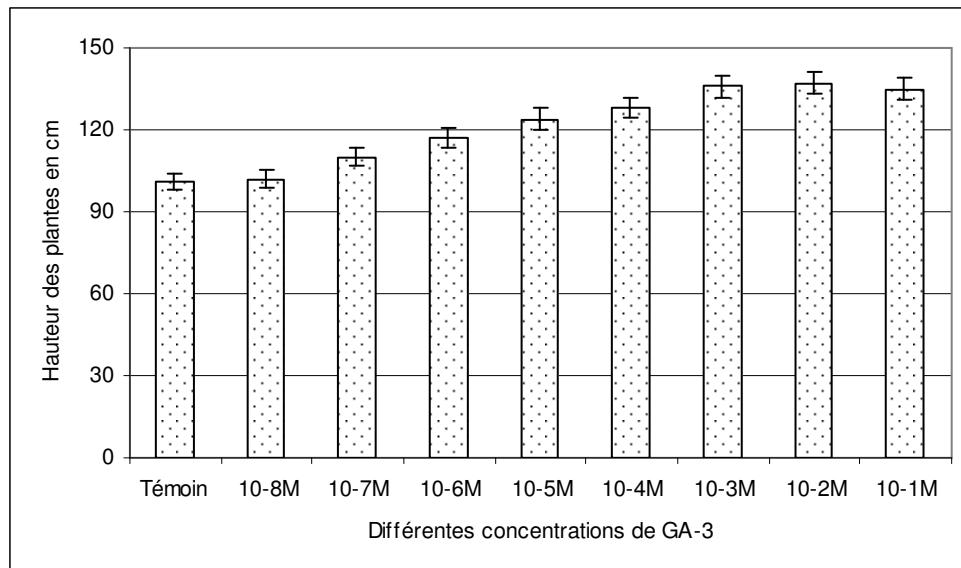
Tableau I : Effet de différentes concentrations de gibberellines (GA-3) sur la germination des graines de la roselle, après 48 h de prétraitement.

STAT. STAT. ELEMENT.	Test Newman-Keuls; Variable: VAR2 (ga3 et roselle.sta) Différences significatives marquées à $p < ,05000$									
	VAR1	{1} M=31,000	{2} M=42,000	{3} M=43,000	{4} M=43,000	{5} M=41,000	{6} M=39,000	{7} M=37,000	{8} M=33,000	{9} M=31,000
Témoin	{1}									
10-1M	{2}	,000176*	,000176*	,000176*	,000178*	,000178*	,000195*	,000635*	,005424*	,413888
10-2M	{3}	,000178*	,524355	,524355	,795093	,795093	,524355	,154200	,021256*	,000254*
10-3M	{4}	,000178*	,795093	,795093	1,000000	,413888	,078098	,008306*	,000195*	,000167*
10-4M	{5}	,000195*	,524355	,524355	,413888	,575280	,575280	,112876	,011540*	,000216*
10-5M	{6}	,000635*	,154200	,154200	,078098	,112876	,210455	,210455	,045758*	,000482*
10-6M	{7}	,005424*	,021256*	,021256*	,008306*	,011540*	,045758*	,210455	,002991*	,000482*
10-7M	{8}	,413888	,000254*	,000254*	,000195*	,000216*	,000482*	,002991*	,018326*	,002991*
10-8M	{9}	1,000000	,000165*	,000165*	,000167*	,000178*	,000168*	,000482*	,002991*	,210455

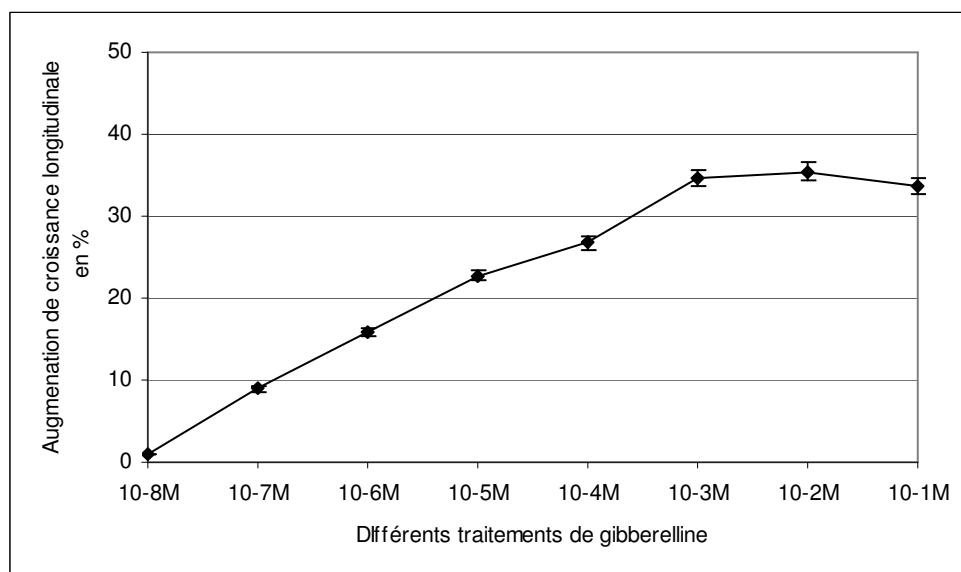
* : La différence de germination entre 2 traitements de GA-3 est significative au seuil de 5%.

Impact de la gibberelline sur la croissance longitudinale des plantes de roselle : Les résultats de l'effet de la gibberelline sur la croissance longitudinale des plantes de roselle ont été présentés aux figures 2A et 2B. Leur analyse a révélé que cette substance induisait des augmentations des hauteurs des tiges de la roselle. Ce qui a conduit à l'apparition des plantes de tailles supérieures à celles des témoins. Ces hausses ont été proportionnelles aux concentrations de

gibberelline appliquées, jusqu'à la dose de 10^{-2} M, où elles atteignaient les valeurs extrêmes de 35,45%. Au delà de cette limite, les hauteurs des plantes ont commencé à baisser pour correspondre à 33,66%, à la concentration de 10^{-1} M. L'analyse statistique a montré que malgré ce large spectre d'augmentations de croissance, les effets significatifs ($p < 0,05$) ne débutaient qu'à partir de la concentration de 10^{-6} M (figure 2B).



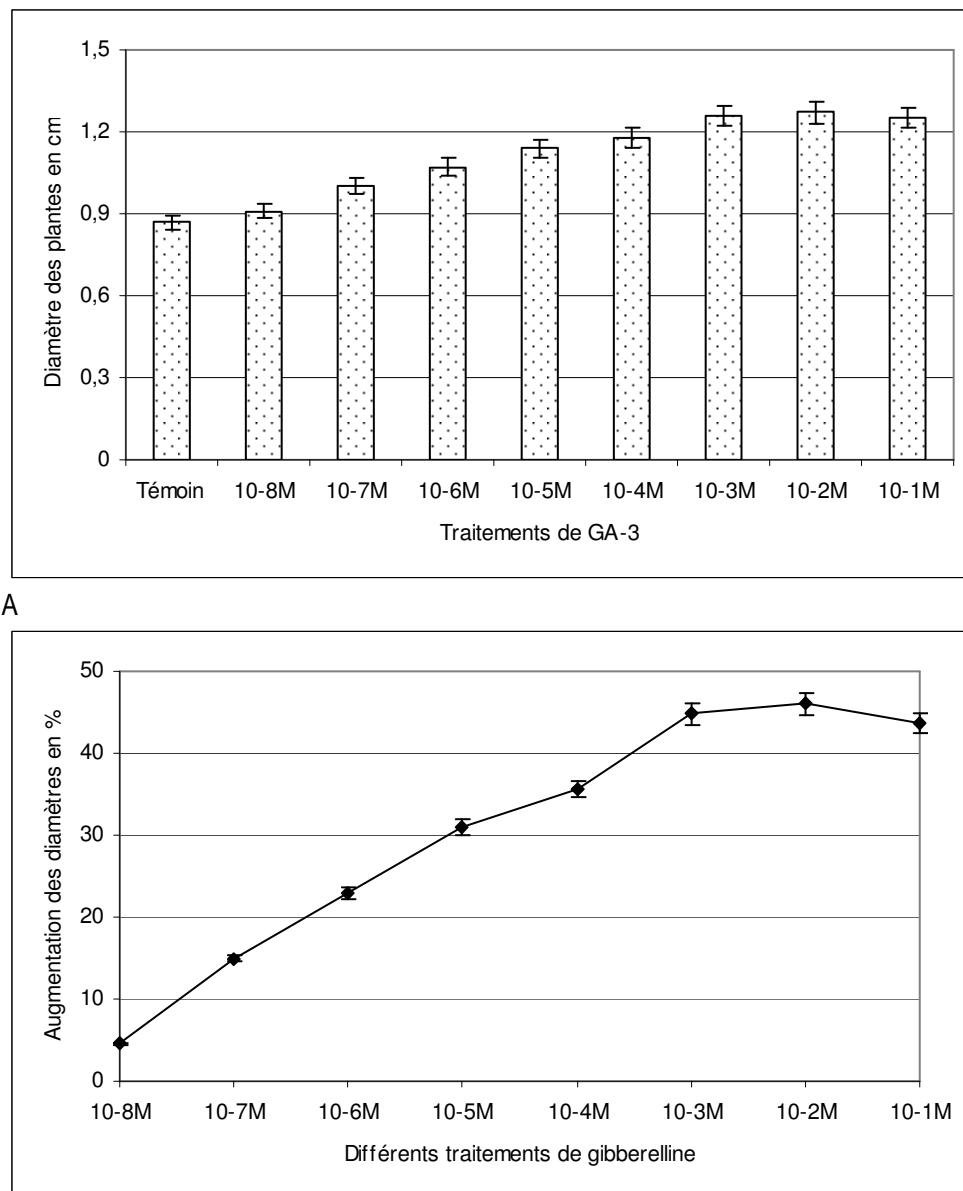
A



B

Figure 2 : Effet de la GA-3 sur la croissance longitudinale des tiges de roselle, avec en A, les hauteurs des tiges 42 j après le prétraitement et en B, les taux de croissance relativement au témoin.

Impact de la gibberelline sur la croissance diamétrale des plantes de roselle : Le dépouillement des résultats de croissance diamétrale des tiges des plantes de roselle a révélé que la gibberelline augmentait la circonférence de ces végétaux (figure 3A et 3B). Les végétaux traités à cette substance ont alors présenté des ports plus volumineux que ceux des organes témoins. Mais les effets n'ont été significatifs ($p<0,05$) qu'à partir des concentrations de 10^{-6} M, avec des taux de croissance

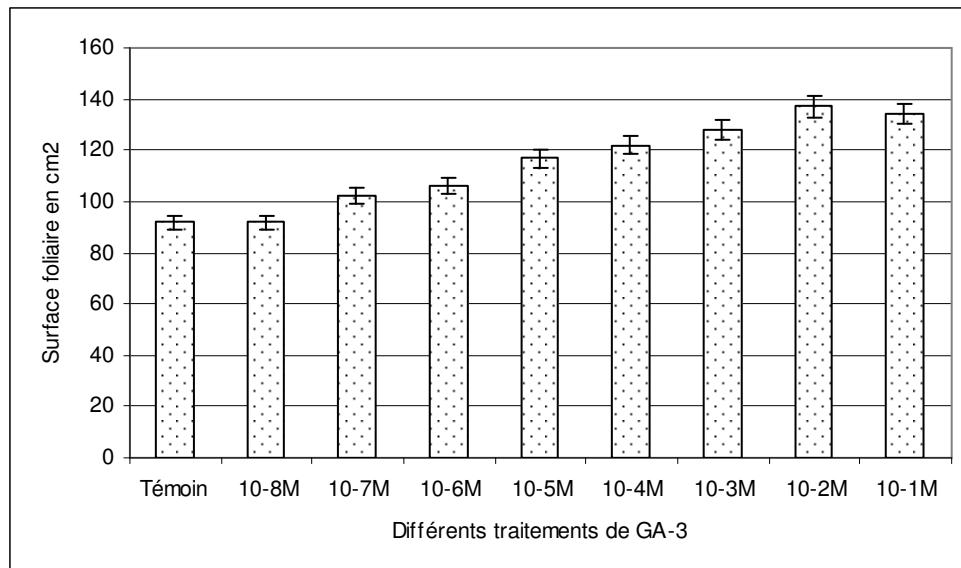


B

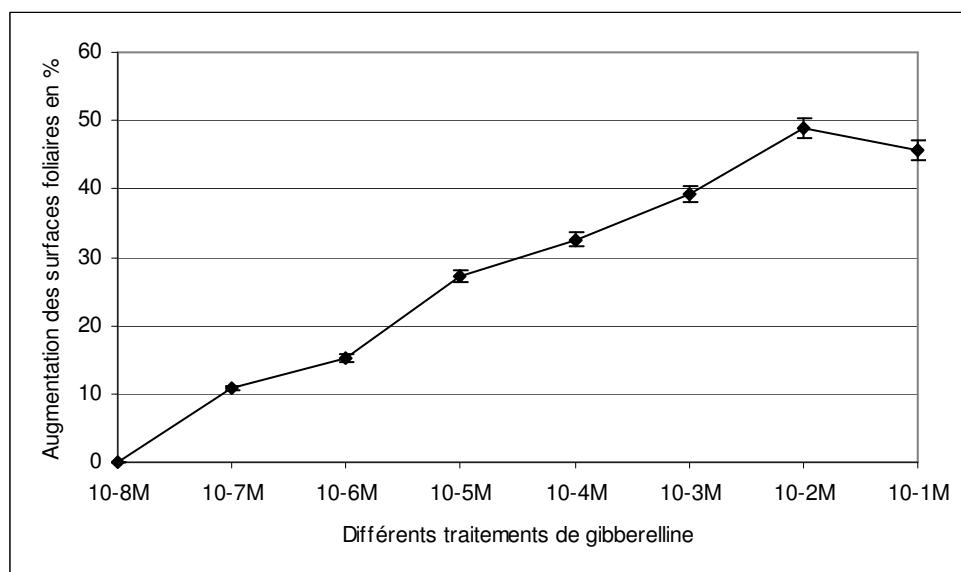
Figure 3 : Effet de la GA-3 sur la croissance radiale des tiges de roselle, avec en A, les diamètres des tiges 42 j après le prétraitement et en B, les taux de croissance relativement au témoin.

Effet de la gibberelline sur la croissance des surfaces foliaires des plantes de roselle : Les données de l'impact des traitements de gibberelline sur la croissance des surfaces foliaires des plantes de roselle ont été synthétisées et présentées aux figures 4A et 4B. De leur analyse il ressort que ce paramètre morphologique, à l'image des 3 premiers (germination des graines, croissances longitudinale et diamétrale des tiges), est avantageusement affecté par cette hormone.

Les plantes traitées ont alors présenté des feuilles plus grosses que les témoins. La courbe des variations de croissance obtenue présentait 2 phases, avec un pic d'augmentation de 48,91%, à la concentration de 10^{-2} M. Tous ces effets d'élévation de la surface foliaire ont été significatifs au seuil de 5%, à l'exception de ceux induits par les concentrations de 10^{-8} M et 10^{-7} M, dont les valeurs n'atteignaient pas 11% (figure 4B).



A



B

Figure 4 : Effet de la GA-3 sur la croissance des feuilles de roselle, avec en A, les surfaces foliaires 42 j après le prétraitement et en B, les taux de croissance relativement au témoin.

DISCUSSION

Les résultats de cette étude ont montré que la gibbérelline induisait l'augmentation des taux de germination des graines, des croissances longitudinales et diamétrales des tiges et celles des surfaces foliaires des plantes de roselle. Les effets les plus significatifs ont été obtenus dans l'intervalle de concentrations compris entre 10^{-3} M et 10^{-2} M. La gibbérelline constitue donc une importante hormone de stimulation de croissance des plantes de roselle. Des résultats similaires ont déjà été rapportés sur la tomate (Groot et

al., 1987), le pois (Swain, 1997) et le coton (Gokani & Thaker, 2002). Dans tous ces cas, les traitements de gibbérelline ont provoqué des hausses de croissance, et abouti aux fructifications rapides et améliorées des plantes. Les mécanismes d'action de cette hormone sont aujourd'hui assez bien connus (Heller et al., 2006). La gibbérelline agit, en effet, par stimulation des divisons méristématiques intercalaires des entrenoeuds des tiges (Hooley, 1994). Cette stimulation provient elle-même de l'effet coordonné de 2 actions indépendantes :

l'induction de la prolifération méristématique et l'elongation cellulaire (Inglese et al , 1998; Richards et al , 2001). La prolifération cellulaire consiste en une activation des divisions méristématiques, aboutissant à la différenciation de nouveaux tissus, donc à la formation des parenchymes corticaux et épidermiques (Pharis & King, 1985 ; Heller et al , 2006). De telles actions ont notamment été notées chez les cellules de maïs (Carpita & Kanabus, 1988), de blé (Keyes et al , 1990) ou de *Cajanus cajan* (Chudasama & Thaker, 2007) traités à la GA-3. L'elongation cellulaire quant à elle résulte de l'extension plastique des parois cellulaires (Cosgrove et al , 1989 ; Heller et al , 2006). Les distensions pariétales provoquent des allongements cellulaires qui conduisent à la croissance des tissus, et aux déboîtements des entrenoeuds (Richards et al , 2001 ; Nakayama et al , 2002) : C'est la croissance longitudinale. Dans notre travail, l'augmentation des paramètres morphométriques de la roselle traitée à la gibberelline pourrait reposer sur l'un ou l'autre (voire les deux) de ces actions physiologiques de croissance. Les cellules des organes traités croîtraient alors plus vite que celles des tissus témoins ; ce qui aboutirait à l'accélération de la croissance des indices morphologiques observée.

Les résultats de cette étude ont également montré que les concentrations non comprises dans l'intervalle 10^{-3} M

et 10^{-2} M produisaient de faibles effets de croissance des plantes de roselle. Dans le premier intervalle (10^{-8} M et 10^{-3} M), ces résultats peuvent être liés à des déficiences de teneurs d'hormone utilisée, comme l'ont suggéré Banyal et Rai (1983) sur *Brassica campestris*, et Groot et al (1987) sur la tomate. En effet, jusqu'à un seuil limite (spécifique à chaque plante), les effets d'une hormone sont proportionnels aux concentrations utilisées ; les plus petites doses induisant, les plus faibles effets, et les plus fortes concentrations engendrant les plus gros impacts (Hopkins, 2003). La baisse des paramètres de croissance des plantes traitées à des concentrations supérieures à 10^{-2} M semble liée à des débuts de toxicité chimique de la gibberelline, comme l'ont proposé Abdel Hady et al (2008) sur *Atropa belladonna* (Solanaceae). Selon ces auteurs, la gibberelline est un pesticide dont les concentrations élevées engendrent des toxicités aiguës sur les cellules animales et végétales, longtemps exposées à son action. Chez *Vigna radiata* (Fabaceae) par exemple, les travaux de Akbari et al (2008) ont révélé l'intoxication des cellules après une semaine de traitement à la GA-3 concentrée à 100 mg/l. La baisse des paramètres de croissance chez la roselle aux concentrations de gibberelline élevées (supérieures à 10^{-2} M) pourrait provenir des mécanismes physiologiques similaires.

CONCLUSION

L'acide gibberellique (GA-3) améliore la croissance de la roselle en serre. Cette action se traduit par des augmentations des taux de germination des graines, de croissance longitudinale et radiale des tiges, et de surfaces foliaires des plantes. La gamme de concentrations inductrices est large, et varie entre 10^{-8} M et 10^{-1} M, avec un effet significatif optimal à 10^{-2} M.

REFERENCES

- Abdel hady M.S. Okasha O.M. Soliman S.S.A. and tallat M. 1991. Effect of gamma radiation and gibberellic acid on germination and alkaloid production in *Atropa belladonna* L. Aust. J. Basic & Appl. Sci. 2 (3) : 401-405
- Akbari N, Barani M, Ahmadi H, 2008. Effect of gibberellic acid (GA-3) on agronomic traits of Green Gram (*Vigna radiata* L.) irrigated with different levels of saline water. World Applied Sciences Journal 5 (2) : 199-203.
- Askri H, Rejeb S, Jebari H, Nahdi H, Rejeb MN, 2007. Effet du chlorure de sodium sur la germination des graines de trois variétés de pastèque (*Citrus lanatus* L.). Science et changements planétaires/ Sécheresse 18 (1) : 51-55.
- Banyal S. and Rai VK, 1983. Reversal of osmotic stress effects by gibberellic acid in *Brassica campestris*. Recovery of hypocotyl growth, protein and RNA levels in the presence of GA. Physiol. Plant 59 : 111-114.
- Carpita NC. and Kanabus J, 1988. Chemical structure of cell walls of dwarf maize and changes by gibberellin. Plant Physiol. 88 : 671-678.
- Chenu J, Ouvry P, Lavergne R, 1986. Les plantes médicinales tropicales, tome 5. Edition Dareni, Libreville, 102 p.

- Chudasama RS. and Thaker VS, 2007. Relationship between gibberellic acid and growth parameters in developing seed and pod of pigeon pea. *Braz. J. Plant Physiol.* 19 (1) : 731-742.
- Cosgrove DJ. and Sovonick-Dunford SA, 1989. Mechanism of gibberellin-dependent stem elongation in peas. *Plant Physiol.* 89 : 184-191.
- Gokani SJ. and Thaker VS, 2002. Role of gibberellic acid in cotton fibre development. *J. Agric. Sci.* 138 : 255-260.
- Groot SPC, Bruinsma J, Karssen CM, 1987. The role of endogenous gibberellin in seed and fruit development of tomato: studies with a gibberellin-deficient mutant. *Physiol. Plant* 71 : 184-190.
- Heller R, Esnault R, Lance C, 2006. Physiologie végétale. Développement. 6^e édition de l' Abrégé, Éditions Dunod, Paris, 294 p.
- Hooley R, 1994. Gibberellins: perception, transduction and responses. *Plant Mol. Biol.* 26 : 1529-1555.
- Hopkins WG, 2003. Physiologie végétale. Edition de Boeck, Université de Bruxelles, Belgique, 532 p.
- Inglese P, Chessa I, La Mantia T, Nieddu G, 1998. Evolution of endogenous gibberellins at different stages of flowering in relation to return bloom of cactus pear (*Opuntia ficus - indica* L Miller). *Sci. Hort.* 73 : 45-51.
- Keyes G, Sorrells ME, Setter TL, 1990. Gibberellic acid regulates cell wall extensibility in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol.* 92 : 242-245.
- Lépengué AN, M'batchi B, Aké S, 2007. Impact de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur la croissance et la valeur marchande de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. *Rev. Ivoir. Sci. Technol.* 10 : 207-216.
- Lépengué AN, M'batchi B, Aké S, 2008. Production, caractérisation et utilisation des composés toxiques de *Phoma sabdariffae* Sacc. dans la sélection des cultivars résistants de roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. *Agronomie Africaine* 20 (1) : 59-67.
- Lépengué AN, Mouaragadjia I, M'batchi B, Aké S, 2010. Essai d'amélioration des productions de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*, Malvaceae) par les traitements à la colchicine. Soumis à *African Journal of Sciences and Technology*.
- Nakayama A, Park S, Zheng-Jun X, Nakajima M, Yamaguchi I, 2002. Immunohistochemistry of active gibberellins and gibberellin-inducible α-amylase in developing seeds of Morning Glory. *Plant Physiol.* 129 : 1045-1053
- Pharis RP. and King RW, 1985. Gibberellins and reproductive development in seed plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36 : 517-568.
- Richards DE, King KE, Ait-Ali T, Harberd NP, 2001. How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling. *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52 : 67-88.
- Stevens JMC, 1990. Légumes traditionnels du Cameroun. Une étude agrobotanique. Wageningen Agricultural University Papers 90 (1) : 15-24
- Swain SM, Reid JB, Kamiya Y, 1997. Gibberellins are required for embryo growth and seed development in pea. *Plant J.* 12 : 1329-1338.