



Amélioration de la croissance du maïs (*Zea mays* L. var. LG 60, Poaceae) par des traitements à la colchicine.

*Alexis Nicaise LEPENGUE¹; Isaac MOUARAGADJA¹; Mamadou CHERIF²; Séverin AKE²; Bertrand M'BATCHI¹

¹Laboratoire de Biodiversité Ecologie et Physiologie végétale, Unité de recherche Agrobiologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM) ; BP 067 Franceville, Gabon

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

*Correspondant Email: lepengue_nicaise@yahoo.fr Tel/Fax : (00241) 67 77 36 / 07684362 / 06764738

Originally Submitted on 7th February 2012. Published online at www.m.elewa.org on April 30, 2012.

RESUME :

Objectifs: Le Gabon est un pays à forte dépendance alimentaire. Pour inverser cette tendance, plusieurs solutions, parmi lesquelles, l'intensification des productions agricoles locales ont été envisagées. Le présent travail s'inscrit dans ce cadre et vise à améliorer les rendements du maïs par induction de la variabilité intra spécifique.

Méthodologies et résultat: Les graines de cette plante ont pour cela été traitées par trempage pendant 24 h et 48 h dans des solutions de colchicine de concentrations respectives 5% et 15%. Les paramètres morphométriques végétaux étudiés étaient la germination des graines, les croissances longitudinale et diamétrale des tiges et la surface foliaire des plantes. Les résultats obtenus ont montré que la colchicine réduisait significativement ($p= 0,05$) les taux de germination des graines de maïs. Les organes germés ont cependant présenté des croissances longitudinale, diamétrale des tiges et de surface foliaire améliorées et significativement supérieures à celles des plantes témoins. Ces résultats sont vraisemblablement liés à l'action mutagène de cette substance. La colchicine améliore donc la croissance du maïs et pourrait servir à la sélection des plantes agronomiquement rentables.

Mots clés : Maïs, Colchicine, Germination, Hauteur, Diamètre, Feuilles

Improving the growth of maize (*Zea mays* L. var. LG 60, Poaceae) using colchicine treatments.

Abstract:

Objectives: Gabon is a country with a high dependence on food. In order to resolve this problem, several solutions including intensification of local production were considered. This work deals with the improvement of maize yields by the intraspecific variability induction.

Methodology and results: Hence, maize seeds were treated by soaking for 24 hrs and 48 hrs in colchicine solutions with respective concentrations 5% and 15%. Plant's parameters evaluated were seed germination, stem longitudinal and diameter increase and foliar area growth. Results showed that colchicine's treatments decrease significantly maize seed germination. But stem longitudinal and diameter growth and foliar areas increase were significant. These phenomena probably results from the mutagenic action of this compound. Hence the uses of colchicine solutions may be envisaged to improve maize production in Gabon.

Key words: Maize, Colchicine, Germination, Diameter, Level, Leaves

INTRODUCTION

Après plus de 40 ans de dépendance pétrolière, l'économie gabonaise a commencé depuis une dizaine d'années, à se diversifier avec la création de nouvelles filières de développement (Feumetio, 2002 ; Meyo Bibang, 2003). Le secteur agricole a particulièrement tiré profit de cette réforme, par l'augmentation des budgets d'investissement du ministère de tutelle, et l'encouragement des initiatives agricoles privées. De nombreux instituts et centres de recherche scientifique du pays ont ainsi été restructurés, pour soutenir la production locale (Lépengué *et al.*, 2009). Pour accompagner cet effort de promotion agricole nationale, l'unité de recherche a développé depuis une dizaine d'années plusieurs projets d'étude dans différents domaines agronomiques : protection des cultures, conservation des fruits post-récolte, culture *in vitro*, et amélioration variétale des plantes (Lépengué *et al.*, 2007 ; Lépengué *et al.*, 2008 ; Lépengué *et al.*, 2009). Si dans les deux premiers domaines, les résultats obtenus sont relativement prometteurs, l'amélioration variétale, n'a en revanche produit aucune donnée satisfaisante à ce jour. Les essais

de création variétale des plantes de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*, Malvaceae) par polyploïdisation à la colchicine (un alcaloïde extrait du colchique d'automne, *Colchicum autumnale* L., Liliaceae) n'ont en effet jamais conduit aux résultats escomptés (Lépengué *et al.*, 2010). Plusieurs raisons ont été avancées pour expliquer cet échec. La nature du matériel végétal a notamment été mise en cause : la roselle serait un matériel difficilement inductible, donc inadapté à ce genre de manipulations biologiques. C'est pour éprouver cette hypothèse déterminante à l'extension de l'essai aux autres plantes que la présente étude a été proposée. Les graines de roselle y ont été remplacées par celles du maïs (*Zea mays* L. var. LG 60, Poaceae), un matériel biologique théoriquement plus inductible (Bordes *et al.*, 1997). Ce travail a donc pour but d'étudier l'inductibilité de la variabilité intra spécifique du maïs par les traitements de colchicine. Les paramètres morphométriques végétaux mesurés sont : la germination des graines, la croissance des tiges et la surface foliaire des plantes.

MATERIEL ET METHODES

Matériels : Le matériel végétal utilisé était le maïs blanc (*Zea mays* L. var. LG 60, Poaceae). Il a été choisi pour son inductibilité, sa facilité culturale et sa forte valeur marchande au Gabon (Makita Ngadi & M'batchi, 1989).

Méthodes

Mise en place de l'essai : Deux cent quarante (240) graines de maïs de bonne qualité germinative (provenant du Département de Biologie de l'université de Sciences et Techniques de Masuku, l'USTM) ont été désinfectées par immersion pendant 5 min. dans 1 L d'hypochlorite de sodium 1%, desséchés entre 2 épaisseurs de papier buvard (Lépengué *et al.*, 2010) et réparties en 6 lots de 40 unités. Les différents lots de graines ont ensuite respectivement été trempés dans 500 ml d'eau distillée (témoin), et de colchicine 5% et 15% (Lépengué *et al.*, 2010). La colchicine est un alcaloïde antiméiotique extraite du colchique d'automne (*Colchicum autumnale*, Liliaceae) ; elle nous a été fournie sur commande par la société Sigma Aldrich de France. Après 24 h et 48 h d'incubation, chaque lot de graines a été rincé dans 3 L d'eau distillée, desséché

entre 2 épaisseurs de papier buvard, et ensemencé dans des boîtes de culture de forme cylindrique, contenant 1 dm³ de sol de texture argilo limoneuse préalablement stérilisé par autoclave pendant 30 min. à 120 °C (Mouaragadja & M'batchi, 1998). Quatre graines de maïs ont été semées par boîte de culture ; ce qui correspond à 10 boîtes par traitement, donc à 60 boîtes pour les 6 traitements de l'échantillonnage (Témoin 1 : Graines traitées à l'eau distillée pendant 24 h ; Témoin 2 : Graines traitées à l'eau distillée pendant 48 h ; Traitement 1 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 24 h ; Traitement 2 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 24 h ; Traitement 3 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 48 h ; Traitement 4 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 48 h). Les cultures 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 pot de culture a quotidiennement été arrosé par 500 ml d'eau distillée, jusqu'à la fin de l'expérimentation au 28^e jour.

Effet de la colchicine sur la germination des graines de maïs : Le nombre de graines de maïs germées dans chaque traitement a été comptabilisé 96 h après la mise en semis des organes, selon les méthodes de Askri *et al.* (2007), et l'inhibition de germination (% Ig) calculée à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Ig} = \frac{G_t - G_e}{G_e} \times 100 \quad [1]$$

Où G_t est le nombre de graines germées dans les 25 boîtes témoins (eau distillée); et

G_e , celui des graines germées dans les 25 boîtes d'un essai (colchicine 5% ou 15%).

Effet de la colchicine sur les croissances longitudinale et diamétrale des plantes : La croissance longitudinale des plantes de maïs a été mesurée au 28^e jour avec un décimètre (du sol à la première fourche), et la croissance diamétrale déterminée à l'aide d'un pied à coulisse numérique (Fisherbrand, $P \pm 0.01$ mm) placé au niveau du collet (Lépengué *et al.*, 2007). L'impact des traitements de colchicine sur chaque type de croissance a été

déterminé en tenant compte des moyennes des mesures essais et témoins, sur le modèle de l'équation [1]. **Impact de la colchicine sur la surface foliaire des plantes de maïs :** La surface foliaire des plantes de maïs a été mesurée au 28^e jour à l'aide d'un papier calque transparent de rapport 80 g/m². La technique a consisté à découper ledit papier aux dimensions de la feuille, et à peser les masses (balance Ohaus Analytic 60) des répliques sectionnées (Lépengué *et al.*, 2007). Les surfaces foliaires ont ensuite été déterminées par proportionnalité, 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 obtenues soumises à une analyse de variance, à un critère d'évaluation, au logiciel Statistica 6.0. Les moyennes des mesures ont ensuite été discriminées (suivant chaque témoin), à l'aide des tests de comparaisons multiples de Newman-Keuls, au seuil de 5%.

RESULTATS

Effets de la colchicine sur la germination des graines de maïs : L'action de la colchicine sur la germination des graines de maïs a donné les résultats présentés aux figures 1A et 1B. Leur analyse a révélé

que cet alcaloïde réduisait significativement ($p = 0,05$) les taux de germination des grains de maïs (tableaux 1 et 2).

Tableau 1 : Effet des solutions de colchicine de concentration 5% et 15% sur la germination des graines de maïs, après 24h de trempage.

	Témoin 24h	Traitement 1	Traitement 2
	Moyenne 72,000	Moyenne 64,000	Moyenne 50,000
Témoin 24h		0,002908*	0,000235*
Traitement 1 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 24 h ;	0,002908*		0,000356*
Traitement 2 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 24 h ;	0,000235*	0,000356*	

* : Les moyennes de germination entre les traitements sont significatives au seuil de 5%. Différences significatives marquées à $P < 0,05$

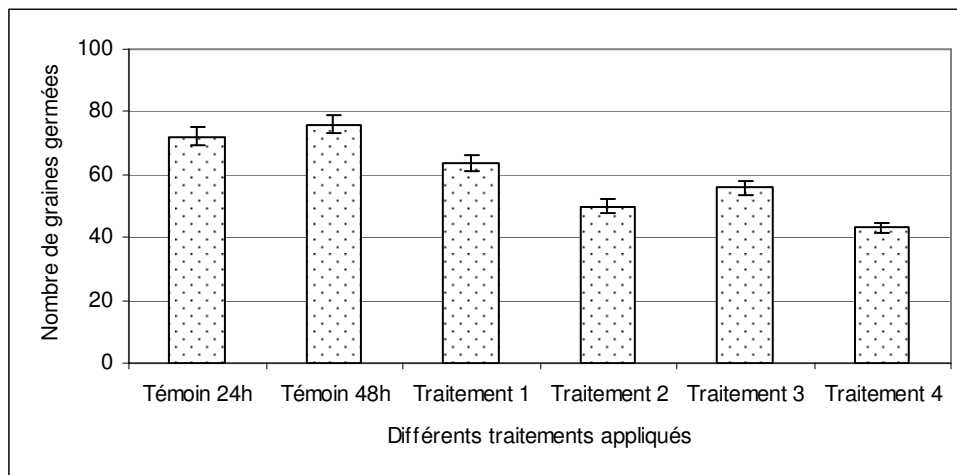
Tableau 2 : Effet des solutions de colchicine de concentration 5% et 15% sur la germination des graines de maïs, après 48h de trempage.

	Témoin 48h	Traitement 3	Traitement 4
	Moyenne 76,000	Moyenne 56,000	Moyenne 43,000
Témoin 48h		0,000251*	0,000227*
Traitement 3 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 24 h ;	0,000251*		0,000420*
Traitement 4 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 24 h ;	0,000227*	0,000420*	

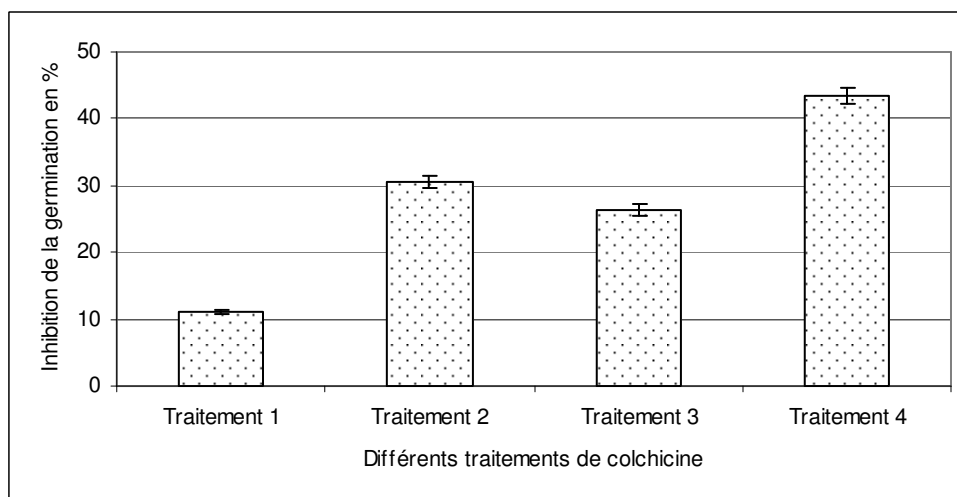
* : Les moyennes de germination entre les traitements sont significatives au seuil de 5%. Différences significatives marquées à $P < 0,05$

Les baisses obtenues dépendaient de la concentration de la colchicine et des temps d'exposition des graines à cette substance. Les effets les plus significatifs ont été observés dans les cas des traitements des organes à

colchicine 15% pendant 24 h, et à la colchicine 15% pendant 48 h, avec des germinations respectives de 50 et 43 graines, correspond à des réductions de germination de 30,55% et 43,42%.



A



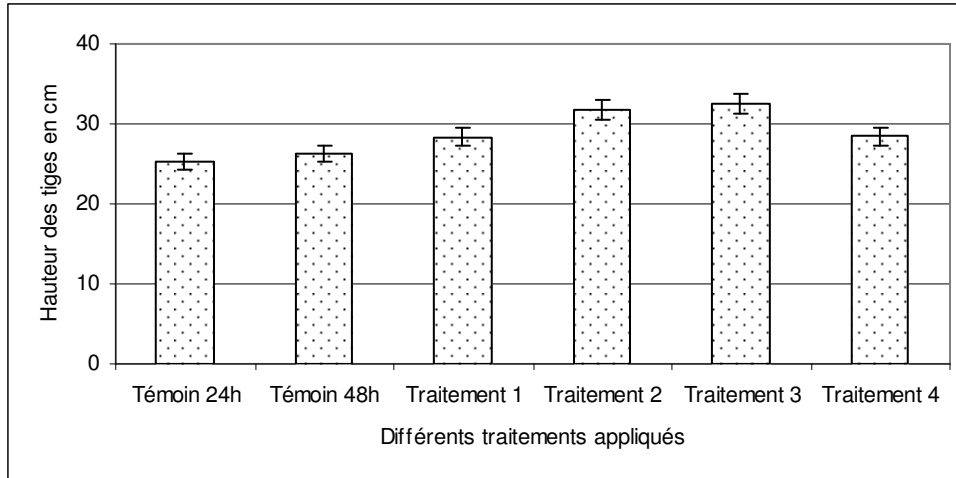
B

Figure 1 : Effet de la colchicine sur la germination des graines de maïs en serre, avec en A, le nombre de graines germées, et en B l'inhibition de germination par rapport aux témoins.

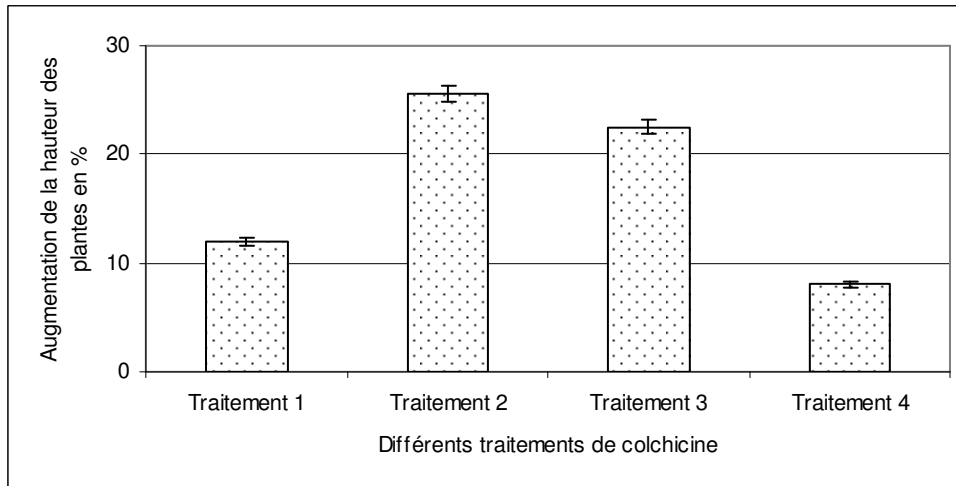
Légende : Traitement 1 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 24 h ; Traitement 2 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 24 h ; Traitement 3 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 48 h ; Traitement 4 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 48 h ;

Effets de la colchicine sur la croissance longitudinale du maïs : Les résultats de l'effet de la colchicine sur la croissance longitudinale des tiges du maïs ont montré que cette substance induisait des augmentations significatives de leurs tailles (figure 2A). Toutes les plantes traitées à la colchicine ont dans l'ensemble présenté des hauteurs supérieures à celles

des plantes témoins. Les meilleurs impacts ont été obtenus dans les cas des traitements de graines à la colchicine 5% pendant 48 h (36,71 cm), et à la colchicine 15% durant 24 h (34,54 cm). Ces hausses correspondent à des augmentations de croissance respectives de 25,63% et 22,49% (figure 2B).



A



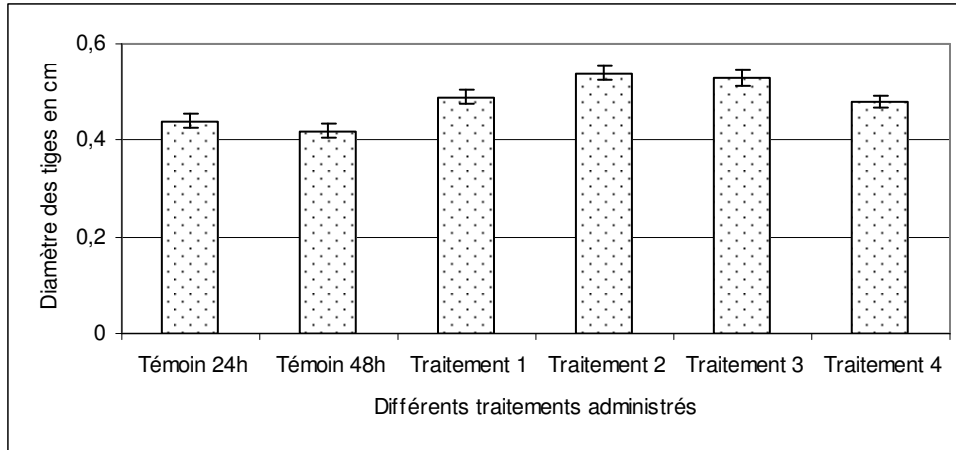
B

Figure 2 : Effet de la colchicine sur la croissance longitudinale des plantes de maïs en serre, avec en A, la hauteur des tiges, et en B l'augmentation des tailles par rapport aux témoins.

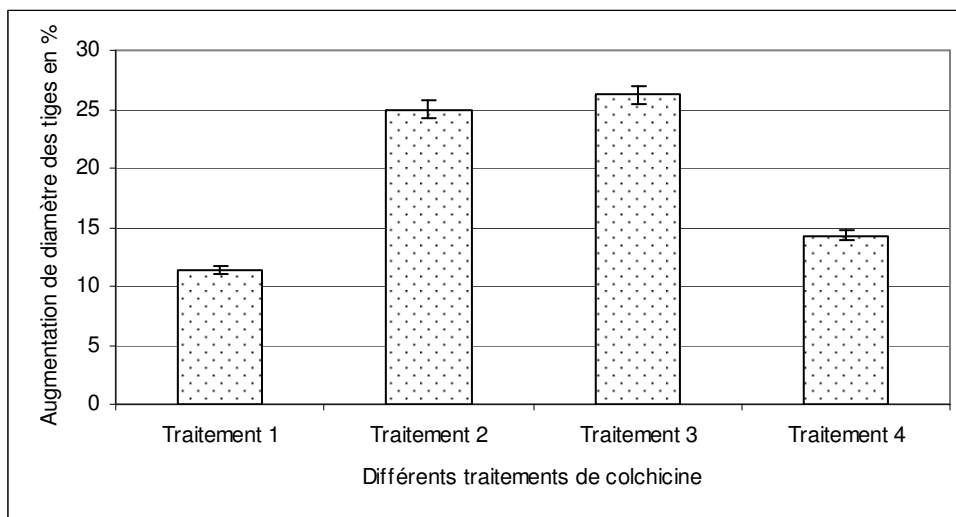
Légende : Traitement 1 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 24 h ; Traitement 2 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 24 h ; Traitement 3 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 48 h ; Traitement 4 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 48 h ;

Effets de la colchicine sur la croissance diamétrale du maïs : La figure 3A présente les résultats de l'effet de la colchicine sur la croissance diamétrale des tiges de maïs, en serre. Leur examen a ressorti que toutes les plantes traitées à la colchicine présentaient des tiges significativement plus grosses et plus vigoureuses que les plantes témoins. Les plus grands effets ont été

enregistrés chez les plantes soumises au traitement de la colchicine 5% pendant 48 h, et à la colchicine 15% pendant 24 h, avec des diamètres respectifs de 0,54 cm et 0,53 cm. Ces hausses équivalent à des croissances diamétrales respectives de 25% et 26,20% (figure 3B).



A



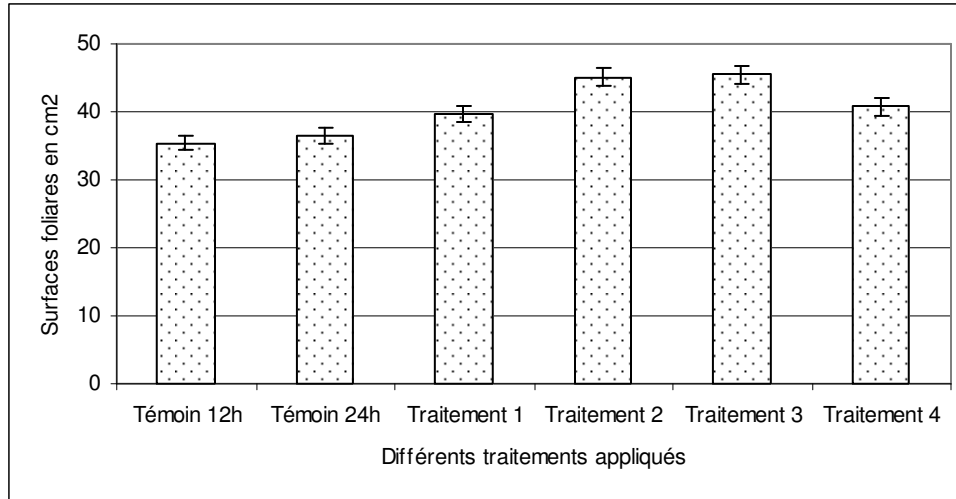
B

Figure 3 : Effet de la colchicine sur la croissance diamétrale des plantes de maïs en serre, avec en A, le diamètre des tiges, et en B la variation des grosseurs par rapport aux témoins.

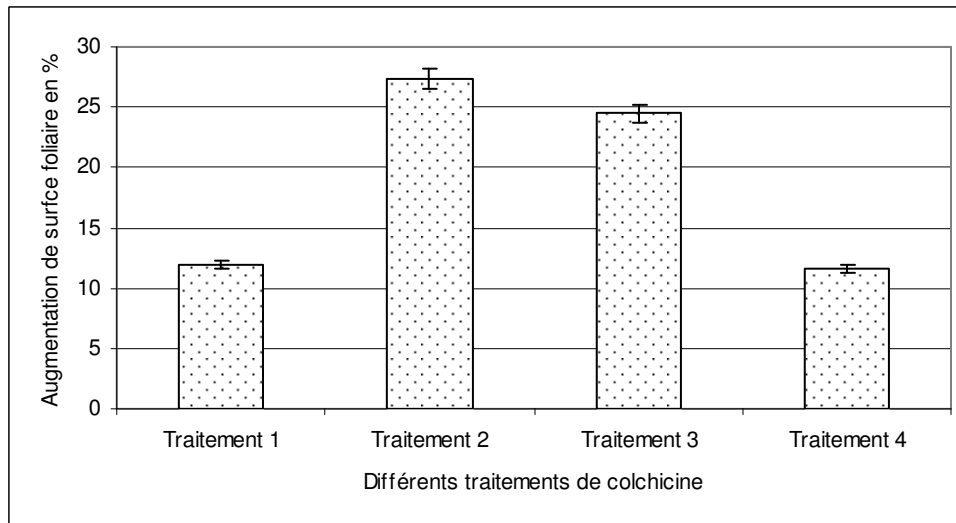
Légende : Traitement 1 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 24 h ; Traitement 2 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 24 h ; Traitement 3 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 48 h ; Traitement 4 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 48 h ;

Effets de la colchicine sur la croissance diamétrale du maïs : Les données de surface foliaire générées par les traitements des graines de maïs à la colchicine ont été résumées aux figures 4A et 4B. Leur dépouillement a révélé que cet alcaloïde induisait des augmentations significatives des surfaces foliaires des tiges de maïs, aboutissant à la formation des plantes

de feuilles surdimensionnées. Les plus fortes hausses ont été enregistrées chez les graines traitées à la colchicine 5% pendant 48 h, et à la colchicine 15% pendant 24 h, avec des surfaces foliaires respectives de 45,14 cm² et 45,45 cm², correspondant à des augmentations de 27,37% et 24,45%.



A



B

Figure 4 : Effet de la colchicine sur la croissance des feuilles de maïs en serre, avec en A, les surfaces foliaires des plantes, et en B leur augmentation par rapport aux témoins.

Légende : Traitement 1 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 24 h ; Traitement 2 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 24 h ; Traitement 3 : Graines traitées à la colchicine 5 % pendant 48 h ; Traitement 4 : Graines traitées à la colchicine 15 % pendant 48 h ;

DISCUSSION

Les résultats de ce travail ont montré que les deux traitements de colchicine (5% et 15%) réduisaient significativement les taux de germination des graines de maïs, proportionnellement aux temps d'incubation des organes. La compréhension totale de ce phénomène nécessite des études supplémentaires, en biologie moléculaire, pour suivre la traçabilité de la colchicine, et localiser ses différents organites cibles. Toutefois, en tenant compte des propriétés biochimiques générales de cette molécule, on peut suggérer que l'inhibition de la germination des graines

de maïs résulte de son action cytostatique sur les cellules végétales, pendant la division cellulaire (Maillet, 2000). En effet, la colchicine est une substance antimototique, capable de se complexer aux microtubulines d'actine des cellules hôtes, et empêcher la réalisation de l'anaphase pendant la division mitotique. Les cellules sont alors dites bloquées en métaphase. Beaucoup d'entre elles ne survivent pas cependant à ces perturbations métaboliques artificielles (Heller *et al.*, 2006) et meurent par intoxication, entraînant la perte de l'organe entier. Des résultats

similaires ont déjà été rapportés par Lépengué *et al.* (2010), sur la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*, Malvaceae), Hassein *et al.* (2001) sur *Vicia narbonensis* (Fabaceae) et Bakry *et al.* (2007) sur le bananier plantain (*Musa acuminata* L., Musaceae). De tels effets laissent suggérer que l'action de la colchicine dans notre travail, pourrait reposer sur les mêmes types de mécanismes moléculaires. De nombreuses cellules seraient alors détruites au cours des perturbations mitotiques. L'impact serait suffisamment significatif pour provoquer la mort des plusieurs graines, et expliquer les forts pourcentages d'inhibition de germination observés.

Les résultats de cette étude ont également montré que les plantes qui survivaient aux traitements de colchicine présentaient des caractères morphométriques (croissances longitudinale, croissance diamétrale, surface foliaire) supérieurs à ceux des témoins. Ces résultats sont certainement liés à l'action mutagène de cet alcaloïde sur les cellules végétales, comme l'a suggéré Vouillamoz (2000) sur l'hysop (*Hysopus officinalis* L., Lamiaceae). En effet, l'action antimitotique de la colchicine conduit presque toujours aux mutations chromosomiques, lorsque les cellules survivent aux blocages métaphasiques (Evans, 1989). Dans ce cas, le lot de chromosomes dédoublés ne parvient pas à migrer vers les pôles cellulaires. Ce qui empêche la séparation chromosomique, et la formation de 2 cellules filles. L'unique cellule formée renferme alors

CONCLUSION

La colchicine réduit significativement la germination des graines de maïs. Les plantes apparues présentent cependant des caractères morphométriques agronomiquement intéressants. Elles sont vigoureuses, avec des tailles, des grosseurs et des surfaces foliaires significativement supérieures à celles des témoins. De

BIBLIOGRAPHIE

- Askri H, Rejeb S, Jebari H, Nahdi H. et 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.
- Bakry F, Paulo RN, Pichot S. et Jenny C, 2007. In liquid medium colchicine treatment induces non chimeral doubled-diploids in a wide range of mono-and interspecific diploid banana clones. Fruits 62 (1): 3-12.

tout l'équipement chromosomique en double exemplaire. Cette perturbation provoque l'apparition de nouveaux individus aux caryotypes dédoublés. Les végétaux produits par les parents diploïdes sont alors des tétraploïdes de la même espèce. Cette polyploïdisation a des conséquences cellulaires, physiologiques et morphologiques profondes, susceptibles d'affecter irréversiblement le phénotype même de la plante, et conduire à l'éruption de nouvelles variétés (Hassein *et al.*, 2001). Ce phénomène est particulièrement intéressant en amélioration variétale, car les caractères morphométriques et organoleptiques apparus peuvent être agronomiquement avantageux. Dans le cas du bananier par exemple Bakry *et al.* (2007) ont réussi à obtenir des cultivars aux caractères morphométriques améliorés par le biais de cette technique. Des effets similaires ont également été signalés chez *Lolium perenne* (Hague & Jones, 1987) et *alocasia* sp. (Nguyen *et al.*, 2003). L'augmentation des dimensions des plantes de maïs dans notre étude en réponse à l'action de la colchicine pourrait découler des mêmes mécanismes mutagènes. Les individus obtenus pourraient avoir des caryotypes dédoublés, donc différents de ceux des plantes mères. Des analyses cytogénétiques à venir devraient permettre d'éprouver cette hypothèse scientifique.

tels indices agronomiques devraient logiquement conduire à des productions améliorées, et permettre de sélectionner ces plantes comme des spécimens économiquement rentables.

- Bordes J, Dumas de Vaux R, Lapierre A. and Pollacsek M, 1997. Reliable detection haplodiploidization of maize (*Zea mays* L.) through induced gynogenesis assisted by glossy markers and its use in breeding. Agronomie 17 (5): 291-297
- Evans E, 1989. Cité par Vouillamoz J, 2009.
- Feumetio B, 2002. Les marchés émergents d'Afrique. Afrique Edit. Paris France, 106 p.
- Hague LM and Jones RN, 1987. Cytogenetics of *Lolium perenne*. Colchicine-induced variation in diploids. Theor. Appl. Genet. 74: 233-241.

- Hassen H, Combes D. and Boussaid M, 2001. Premiers essais de polyploïdisation chez *Vicia narbonensis* par l'utilisation de la colchicine. *Ecologia mediterranea* 27 (1) : 109-124.
- Heller R, Esnault R. et Lance C, 2006. Physiologie végétale. Développement. 6^e édition de l'Abrégé, édition Dunod, Paris France, 366 p.
- Lépengué AN, M'batchi B. et 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. et 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, M'batchi B, Mouaragadja, I. et Aké S, 2009. Etude de quelques caractéristiques physicochimiques du filtrat de culture de *Phoma sabdariffae* Sacc., agent pathogène de la roselle. *Science et Nature* 6 (2) : 95-105.
- Lépengué AN, Mouaragadja I. M'batchi B. et 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*.
- Maillet M, 2000. Biologie cellulaire : médecine, pharmacie 1^{ère} et 2^e année. Edition Masson, Paris France, 304 p.
- Makita Ngadi J. et M'batchi B, 1989. Etude de la fertilité de 2 substrats organiques utilisés comme amendement sur une culture de maïs (*Zea mays*, var LG 60). Réseau Africain du Compost : Rapport de la 1^{ère} conférence. Dakar, le 12 Septembre 1989.
- Meyo Bibang F, 2003. Le Gabon, le monde (nouvelle édition). Collection Hatier, Paris France, 80 p.
- Mouaragadja I. et M'batchi B, 1998. Etude et identification de la pourriture de l'oseille de Guinée au Gabon. *Fruits* 53 (1): 57-68.
- Nguyen TPT, Ureshino K, Miyajima I, Ozaki Y. et Okubo H, 2003. Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicines and oryzalin treatments. *Plant cell, tissue and organ culture.* 72 (1) : 19-25.
- Vouillamoz J, 2009. Domestication et sélection de *Hysopus officinalis* L. : polyploïdisation par la colchicine. Journée d'information sur les plantes aromatiques et médicinales, Conthey, 12 juin 2009.