

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE . EL-HARRACH (ALGER)

T H E S E

de DOCTORAT d'ETAT ès Sciences

Spécialité : Sciences Agronomiques

Option : Sciences Alimentaires et Nutrition

présentée par :

Mr BENKEBLIA Noureddine

***Biochimie et Physiologie de l'oignon Allium cepa L.
Etude des paramètres physiologiques, biochimiques et
technologiques de la germination des bulbes au cours de la
conservation***

Soutenue le : 8 Juin 2000 devant la commission de jury :

| | | |
|------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| GUEZLANE Louardi | Professeur | Président |
| SELSELET-ATTOU Ghalem | Professeur | Rapporteur |
| VAROQUAUX Patrick | Directeur de Recherches | co/Rapporteur |
| ALBAGNAC Guy | Directeur de Recherches | Examineur |
| KAID-HARCHE Meriem | Professeur | Examinatrice |
| FORTAS Zohra | Professeur | Examinatrice |

| | |
|-------------------------------|----|
| INTRODUCTION et PROBLEMATIQUE | 13 |
|-------------------------------|----|

2) Ionisation

3) Les traitements chimiques

PARTIE IBIOCHIMIE ET PHYSIOLOGIE DE L' OIGNON *Allium cepa* L.DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

| | |
|---|----|
| Introduction | 17 |
| 1) La composition | 18 |
| 1.1) Les carbohydrates | 20 |
| 1.1.1) Les oligosaccharides | 20 |
| 1.1.2) Les Fructanes | 20 |
| 1.2) Les composés phénoliques | 22 |
| 2) La respiration | 24 |
| 2.1) L' intensité respiratoire (IR) | 26 |
| 2.2) La respiration anaérobie | 26 |
| 2.3) La production d' Ethylène | 27 |
| 2.4) Le <i>Km</i> "apparent" | 29 |
| 3) facteurs influençant la respiration | 31 |
| 3.1) Facteurs internes | 31 |
| 3.1.1) Espèce et génotype | 31 |
| 3.1.2) Stade de développement à la récolte | 31 |
| 3.1.3) La composition | 31 |
| 3.2) Facteurs Externes | 32 |
| 3.2.1) La température | 32 |
| 3.2.2) La composition gazeuse de l'atmosphère | 32 |
| 3.2.3) Les rayonnements | 35 |
| 3.2.4) Les inhibiteurs chimiques | 35 |
| 3.2.5) Autres facteurs | 36 |

MATERIEL

| | |
|---------------------|----|
| 1) Matériel végétal | 38 |
|---------------------|----|

METHODES

| | |
|---|----|
| 2) Ionisation | 38 |
| 3) Les traitements chimiques | 38 |
| 4) Analyse des oligosaccharides | 38 |
| 5) Analyse des fructanes | 39 |
| 6) Analyses des composés phénoliques | 40 |
| 6.1) Extraction et dosage | 40 |
| 6.2) Purification des composés phénoliques | 41 |
| 6.3) Essais d'identification des composés phénoliques | 41 |
| 6.3.1) Spectre UV | 42 |
| 6.3.2) Analyse HPLC | 42 |
| 6.3.3) Analyse Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) | 43 |
| 6.3.4) Analyse IR à Transformé de Fourier (FT-IR) | 43 |
| 7) Mesure de l'intensité respiratoire (IR) | 43 |
| 8) Mesure de l'intensité fermentaire | 44 |
| 8.1) La production de CO ₂ sous anoxie | 44 |
| 8.2) La production d'éthanol | 45 |
| 8.3) La production d'éthylène | 45 |
| 9) Détermination du <i>Km</i> "apparent" | 46 |

RESULTATS et DISCUSSION

| | |
|--|----|
| 1) Les oligosaccharides | 50 |
| 2) Les fructanes | 50 |
| 3) Les composés phénoliques | 51 |
| 3.1) Essai d'identification des composés phénoliques | 53 |
| 4) Les paramètres respiratoires | 54 |
| 4.1) Le métabolisme aérobie | 54 |
| 4.1.1) l'Intensité Respiratoire (IR) | 54 |

| | |
|--|----|
| 4.1.1.1) Effet de la température | 55 |
| 4.1.1.2) Effet de la germination | 56 |
| 4.1.1.3) Effet de l'ionisation | 57 |
| 4.1.1.4) Effet des inhibiteurs chimiques | 59 |
| 4.1.2) La production d'Ethylène | 61 |
| 4.1.3) Le <i>Km</i> apparent | 62 |
| 4.2) Le métabolisme anaérobie | 63 |
| CONCLUSION | 68 |

PARTIE II

BIOCHIMIE ET PHYSIOLOGIE DE LA DORMANCE DE

L' OIGNON *Allium cepa* L.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

| | |
|--|----|
| Introduction | 73 |
| 1) La dormance | 74 |
| 1.1) Définition | 74 |
| 1.2) Classification | 74 |
| 2) Biochimie de la dormance | 76 |
| 2.1) Les carbohydrates | 76 |
| 2.2) Les composés phénols | 76 |
| 2.3) La peroxydase | 77 |
| 3) Physiologie de la dormance | 77 |
| 3.1) Le Froid | 77 |
| 3.2) La respiration | 78 |
| 3.3) Le <i>Km</i> apparent | 79 |
| 3.4) Autres facteurs | 79 |
| 4) Les hormones et la dormance de l'oignon | 80 |

| | |
|----------------------------------|----|
| 4.1) Les promoteurs | 80 |
| 4.1.1) Les Auxines | 80 |
| 4.1.2) Les Gibbérellines | 82 |
| 4.1.3) Les Cytokinines | 83 |
| 4.1.4) L'Ethylène | 83 |
| 4.2) Les inhibiteurs | 84 |
| 4.2.1) L'Acide Abscissique (ABA) | 84 |

MATERIEL

| | |
|---------------------|----|
| 1) Matériel végétal | 88 |
|---------------------|----|

METHODES

| | |
|-----------------------------------|----|
| 2) Application du froid | 88 |
| 3) Autres traitements | 88 |
| 3.1) L'Ionisation | 88 |
| 3.2) L'HM et le CIP | 88 |
| 3.3) Le STS | 89 |
| 4) Détermination des paramètres | 89 |
| 4.1) La germination | 89 |
| 4.2) Les oligosaccharides | 89 |
| 4.3) Les phénols totaux | 90 |
| 4.4) La peroxydase | 90 |
| 5) Applications des phytohormones | 90 |
| 6) Analyse statistique | 91 |

RESULTATS et DISCUSSION

| | |
|---|-----|
| 1) Effet du froid sur la levée de dormance | 93 |
| 2) Variations biochimiques au cours de la levée de dormance | 95 |
| 2.1) Variation des oligosaccharides | 95 |
| 2.2) Variation des phénols | 98 |
| 2.3) Variation de la peroxydase | 100 |

| | |
|--|-----|
| 3) Effet des hormones sur la levée de dormance | 103 |
| 3.1) L'Acide Naphtalène acétique (NAA) | 103 |
| 3.2) La Benzyladenine (BA) | 105 |
| 3.3) La Gibbérelline (GA ₃) | 108 |
| 3.4) L'éthylène (éthrel) | 110 |
| 3.5) L'acide Abscissique (ABA) | 113 |
| 3.6) Effet des facteurs hormonaux sur la levée de dormance des bulbes ionisés | 115 |
| 4) Analyse statistique | 117 |

| | |
|------------|-----|
| CONCLUSION | 119 |
|------------|-----|

PARTIE III

TECHNOLOGIE DE LA CONSERVATION DE L' OIGNON

Allium cepa L.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

| | |
|--|-----|
| Introduction et problématique | 124 |
| 1) Le froid | 126 |
| 2) L' Ionisation | 126 |
| 3) Les inhibiteurs chimiques | 128 |
| 4) Les atmosphères modifiées | 129 |
| 5) Le choc au Protoxyde d'azote (N ₂ O) | 130 |
| 6) Autres techniques | 131 |
| 6.1) Le choc CO ₂ | 131 |
| 6.2) Les rayons UV | 132 |

MATERIEL

| | |
|---------------------|-----|
| 1) Matériel végétal | 135 |
|---------------------|-----|

METHODES

| | |
|--|-----|
| 2) Les traitements ionisants | 135 |
| 3) Les traitements chimiques | 135 |
| 4) L'Entreposage | 136 |
| 5) L'Intensité Respiratoire | 136 |
| 6) Les oligosaccharides | 136 |
| 7) Les fructanes | 136 |
| 8) L'Acide Ascorbique | 136 |
| 9) La flore fongique | 137 |
| 10) Dosage des résidus des inhibiteurs (HM et CIP) dans les bulbes | 137 |
| 10.1) Résidus du Maléique Hydrazide (HM) | 137 |
| 10.2) Résidus du Carbamate | 138 |
| 11) Les atmosphères modifiées | 139 |
| 12) Le choc N ₂ O | 140 |
| 13) Analyse statistique | 141 |

RESULTATS et DISCUSSION

| | |
|---|-----|
| 1) L'Intensité respiratoire | 143 |
| 2) Les oligosaccharides | 145 |
| 3) Les fructanes | 150 |
| 4) La germination | 151 |
| 5) Les pourritures | 155 |
| 6) Les résidus des inhibiteurs | 157 |
| 7) L'acide ascorbique | 160 |
| 7.1) Effet de l'ionisation sur l'acide ascorbique | 160 |
| 7.2) Variation de l'acide ascorbique durant l'entreposage | 162 |
| 8) La flore fongique | 164 |
| 8.1) Effet de l'ionisation sur la flore fongique | 164 |
| 8.2) La flore fongique durant l'entreposage | 166 |
| 9) Les atmosphères modifiées | 170 |
| 10) Le choc N ₂ O | 173 |

| | |
|---------------------------------|-----|
| 10.1) Effet sur la germination | 173 |
| 10.2) Effet sur les pourritures | 174 |
| 11) Analyse statistique | 176 |

| | |
|-------------------|-----|
| CONCLUSION | 177 |
|-------------------|-----|

| | |
|----------------------------|-----|
| CONCLUSION GENERALE | 179 |
|----------------------------|-----|

| | |
|-------------------|--|
| REFERENCES | |
|-------------------|--|

| | |
|---------------|--|
| ANNEXE | |
|---------------|--|

Biochemistry and Physiology of Onion bulb *Allium cepa* L.
Study of the Physiological, Biochemical and Technological
parameters of sprouting of the bulbs during storage.

La conservation et la préservation de l'oignon (comme tous les autres produits végétaux comestibles) nécessite une connaissance approfondie de leur caractéristiques physiologiques, biochimiques et leur comportement dans différentes conditions.

Le bulbe d'oignon variété Rouge AMPOSTA présente des activités physiologiques respiratoires (respiration, production d'éthylène) et fermentaires (production de CO₂ en anoxie, production d'éthanol) modérées comparativement à d'autres produits végétaux. Cependant, en plus de la température, d'autres facteurs (comme l'ionisation et les inhibiteurs chimiques) semblent avoir un effet de ralentissement sur ces activités. La composition du bulbe proche de tous les oignons rouges, présente deux particularités qui sont la présence de certains aglycones anthocyaniques (la delphinidine et la pétonidine) ainsi que la pauvreté en fructanes hautement polymérisés (degré de polymérisation supérieur à 8).

La dormance du bulbe d'oignon semble être très affectée par les basses températures, et un froid intermédiaire (10 – 12°C) paraît un facteur efficace à sa levée. Néanmoins, l'implication de certains composés comme les phénols et la peroxydase, ainsi que certains facteurs hormonaux comme les auxines et les cytokinines paraissent avoir un rôle primaire; alors que l'éthylène semble jouer un rôle beaucoup plus secondaire.

Le froid et l'ionisation sont des techniques efficaces pour la conservation de l'oignon, alors que les inhibiteurs chimiques (HM et CIP) le sont moins. Durant la conservation, la température a un effet très sensible sur tous les paramètres physiques (germination, pourritures) et physiologiques (intensité respiratoire, *Km.app*); alors que les paramètres biochimiques comme les oligosaccharides, les fructanes et l'acide ascorbique ne paraissent pas être affectés. Mais par comparaison, l'effet de l'ionisation et des inhibiteurs chimiques semble plus modéré sur ces paramètres.

Les atmosphères modifiées pourraient constituer une bonne alternative pour la conservation de l'oignon surtout avec l'utilisation de certains emballages adaptés à la physiologie du végétal. Le choc au protoxyde azote (N₂O) n'est pas encore bien clair, et il est nécessaire d'établir la reproductibilité de la technique et son application. De même, l'effet fongistatique du N₂O appliqué en choc doit encore être précisé.

Mot clés : Oignon – Respiration – *Km.app* – Dormance – Froid – Hormones – Ionisation – HM – CIP – MAP – N₂O – Conservation

Key Words: Onion – Respiration – *Km.app* – Dormancy – Cooling – Hormones – Ionisation – HM – CIP – N₂O – Storage

**Biochemistry and Physiology of onion bulb *Allium cepa* L.
Study of the Physiological, Biochemical and Technological
parameters of sprouting of the bulbs during storage.**

Summary

Preservation and storage of onion (as other edible vegetable crops) requires not only detailed analyses of their physiological and biochemical characteristics, but also an analysis of their behaviour under different conditions.

Onion bulb cv. Rouge AMPOSTA present a moderate respiratory activities (respiration, ethylene production) and fermentative activity (CO₂ and ethanol production) comparatively with other vegetables. Nevertheless, besides the temperature other factors (as ionisation and chemical inhibitors) seem to have a flagging effect on these activities. The composition of the bulb similar to other varieties, presents two particularities : the presence of certain anthocyanic aglycons (delphinidin and petunidin), and a slight presence of high polymerised fructans (more than 8 units).

Bulb dormancy of the bulb seems to be affected by low temperatures, and an intermediate cooling (10 – 12°C) is an efficient factor on breaking the dormancy. However, involvement of certain factors as phenolic compounds and peroxidase, as well as some hormonal factors as auxins and cytokinins seem to have a primary role in the break of dormancy, whereas ethylene seems to be secondary.

Refrigeration and ionisation are efficient techniques for onion storage, whereas chemical inhibitors (HM and CIP) are less efficient. During storage, temperatures have an sensitive effect on the physical (sprouting, rotting) and physiological parameters (respiration rate, *Km.app*), however biochemical parameters as oligosaccharides, fructans and ascorbic acid were not affected. Comparatively, effect of ionisation and chemical inhibitors on these parameters was moderate.

Modified atmospheres could be a good alternative for onion storage, especially with adjusted films to the physiology of the bulbs. The N₂O shock is not clearly grasped, and it is necessary to assure the reproducibility and the application of this technique. In the same way, fungistatic effect of N₂O applied in shock must be more clarified.

Key Words : Onion – Respiration – *Km.app*– Dormancy – Cooling –
Hormones – Ionisation – HM – CIP – N₂O - Storage

بيوكيمياء وفزيولوجيا البصل، *Allium cepa* L.

دراسة العوامل الفيزيولوجية، البيوكيميائية والتكنولوجية للنبات أثناء التخزين .

ملخص

إن حفظ وتخزين البصل (كسائر المواد النباتية الأخرى) تستلزم معرفة معمقة لخصائصه الفيزيولوجية، البيوكيميائية وتعاملها مع العوامل المختلفة.

البصل صنف " أحمر أمبوستا " (cv Rouge AMPOSTA) يتميز بخصائص فيزيولوجية تنفسية (تنفس هوائي، إنتاج إيثيلين C_2H_4 ، Km) وتخمرية (تنفس لا هوائي إنتاج CO_2 ، إنتاج كحول) متوسطة مقارنة مع خضر أخرى، إضافة إلى الحرارة فإن عوامل أخرى. (كالاتسعاعات والمثبطات الكيميائية) لها تأثير مبطأ على هذه العوامل. إن تركيب هذا الصنف من البصل يشبه تقريبا تركيب الأصناف الأخرى، ولكنه يتميز بخاصيتين : الأولى وجود بعض الأغليكونات (لا كريات) الأصباغ الأنثوسيانينية كالفلافونين و البتوبندين، وقلة الفروكتانات ذات مستوى تعدد أكبر من 8.

إن سيات البصل كثير التأثير بدرجات الحرارة المنخفضة، وأن البرد المتوسط ($10-12^{\circ}C$) عامل فعال للنبات، لكن بعض العوامل الهرمونية كالأوكسين والسيبتوكينين قد يكون لها دور أولي في الإنبات أما دور الإيثيلين فيظهر أنه ثانوي.

إن التبريد والإشعاعات ثغنيات فعالة لحفظ البصل، أما المثبطات الكيميائية (CIP, HM) فعاليتها أقل، أثناء التخزين. إن درجة الحرارة لها تأثير على كل العوامل الفيزيائية (إنبات- تعفن) والفيزيولوجية (تنفس) أما العوامل البيوكيميائية كالكبريتات قليلة التعدد، الفروكتانات وحمض الأسكوربيك لم تتأثر.

إن تأثير الإشعاعات والمثبطات الكيميائية على هذه العوامل يعتبر أقل مقارنة مع التبريد.

إن " الأجواء المتغيرة " يمكن أن تكون بديل للتقنيات الأخرى في حفظ البصل وخاصة باستعمال بعض مواد التغليف المتأقلمة مع فيزيولوجية النبات.

إن فعالية برونوكسيد الأزوت ليست واضحة بعد، وينبغي التأكد من تعديبية التقنية وتطبيقها. كما أن تنشيط هذا الغاز للخمائر والأعماق يجب أن يدقق.

كلمات مفتاحية . بصل- تنفس- *Km*- سيات- تبريد- هرمونات- إشعاعات- N_2O - MAP-

-CIP-HM- تخزين.