

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique

Université Ibn Khaldoun de Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences de la nature et de la vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme des Etudes Supérieur en Sciences
Biologiques

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Génétique moléculaire et amélioration des plantes

Thème :

**L' effet de stress hydrique sur l' activité d' α amylase des
graines de la Quinoa (*Quinopoduim Quinoa willd*) au
cours de la germination**

Membres de jury :

***Président: M^r Adda Ahmad**

***Examineur :M^{me} Chahbar Safia**

***Promoteur : M^r Chouhim Kada**

***Co-promoteur : M^r Bouamama Lagraa**

Présenté par :

*** Messaoud Amina**

*** Mouffok Hamida**



Remerciements

-Nous remercions tout d'abord "ALLAH" le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et nous avoir donné le courage, la force; la volonté et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.

-Nous tenons ensuite à remercier chaleureusement, Mr Chouhím Kada notre directeur de mémoire, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, et sa gentillesse.

-Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury:


☞ Mr Adda Ahmed ☞ Mme Chahber Safia

Et tous mes enseignants et le personnel de la faculté des sciences de la nature et de la vie .

-Nous remercions aussi :

☞ aux travailleurs du laboratoire pour l'aide qui nous a donné.

☞ Enfin mes remerciements vont s'adresser à tout ceux qui ont contribué pour la réalisation de ce travail...





Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mon père : qu'Allah l'accorde le paradis

Ma mère : pour sa patience

*Les deus être les plus chère au monde pour tout leur
tendress et les sacrifices*

A Més chères frères ,et sœurs

A mon Chéré petit frère ANESS

A mes collègues

(Khalida ,fatima,Meriem,Hawariya)

A tout la famille Mouffok

A tout mes amis d'enfance et mes voisin

A les étudiants de la promotion 2018 /2019

Hamida



Dédicaces

*C'est avec une immense reconnaissance que je
dédie
ce modeste travail :*

*À ma raison d'exister mes parents qui m'ont
éclairée mon chemin qui m'ont encouragés
et soutenus tout au long de ces Cinq ans d'études aussi
pour leurs soutien et disponibilité pendant les moments
difficiles pour réaliser ce travail.*

*À la mémoire de mon père qui était la raison
de mon éducation et bien être aucune dédicace ne
saurait estimer l'amour le respect et surtout de la fierté
que j'ai pour vous.*

*À mes soeurs et leurs enfants spécialement
wíaam*

A mon chère frère.

*À mes chères «Nadía » et son époux ,« Asmaa
»*

À mon binôme « Hamída »

A mon âme sœur «Nadía »

A ma famille

*À mes amies : Fatima ,Khadidja ,Mokhtaria
À tous les enseignants de notre filière qui ont été le
guide de notre éducation .*

Amína

LISTE DES ABRÉVIATION :

APG :	Classification phylogénétique
°C :	Degré Celsius
FAO :	Organisation des Nation pour l'alimentation et L' Agriculture
cm :	Centimètre
ddl :	degré de libertie
h :	heure
LMR :	Longueur moyenne de la racicule
M :	mètre
g :	gramme
mm :	millimètre
n° :	Numéro
pH :	Potentiel hydrique
R. :	répétition
T :	Température
% :	Pourcentage
NaOH :	Hydroxyde de sodium
DNS :	acide denitrosalicylique
K/N. :	Tartrate
Mn :	minute
al :	Collaborateurs
nm :	micromètre

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Distribution géographique de la culture traditionnelle de <i>Quinoa</i> en Amérique du Sud. I	3
Figure 2: photo représentative des graines de quinoa	5
Figure 3: Courbe théorique d'imbibition (Source : Bio DEUG)	14
Figure 4: graines de quinoa utilisées	18
Figure 5 : les solutions de saccharose	19
Figure 6 : dispositif expérimental des graines mise en germination	19
Figure 7 : Poids frais (g) des graines du génotype titicaca de quinoa en fonction du temps d'imbibition soumises aux différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.....	24
Figure 8 : Poids frais (g) des graines du génotype Q5 de quinoa en fonction du temps d'imbibition soumises aux différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.	25
Figure 9 : Evolution du taux d'hydrolyse de l'amidon en maltose chez deux génotypes de quinoa (titicaca et Q5) en fonction différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.	26
Figure 10 : longure radriculaire du génotype Q5 et titi caca de quinoa en fonction du temps d'imbibition soumises aux différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.	28

L I S T E D E S T A B L E A U X

Tableaux 1 : Analyse de variance Anova en seuil (P= 0.05) de la variation du poids des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa*) soumises aux différents niveaux hydriques. ...**23**

Tableau 2 : Analyse de variance Anova en seuil (P= 0.05) de l'activité de l' α -amylase extraite des graines des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa*) soumises aux différents niveaux hydriques.26

Tableau des matières

Listes des figures

Listes des tableaux

Listes des abréviations

Introduction 1

Chapitre I : Généralité sur le quinoa

I-Présentation du Quinoa 3

I- 1- Origine et systématique 3

a)Classification de Cronquist (1981)..... 4

b) Classification APG III (2009)..... 4

I-2 - graines de Quinoa 4

I - 3- Physiologie du quinoa 5

a) Résistance à la sécheresse 6

b) Résistance au froid..... 6

I-4-Génétique et diversité du quinoa 7

I-5- Variétés de quinoa 7

I-6 Intérêt Agro-économique..... 8

1) Propriété..... 8

2) Propriété médicinale 8

3) Utilisations 8

Chapitre II : Germination et stress hydrique

II-1- Stress abiotiques 11

II-1-1- stress hydrique 11

II- 2-germination des graines 12

II-2-1-Concept et processus	12
II-2-2-dormance	13
II-2-3-Physiologie et biochimie de la germination	13
a)Phase d'imbibition	13
b) Phase de germination stricto sensu	14
c)Phase de post-germination	14
II-3- L'amidon.....	15
II-3-1-Structure de l'amidon	15
a)L'amylose	15
b) L'amylopectine	15
II-3-2- dégradation de l'amidon	15
a)L' α - amylase	15
b) L' β –amylase.....	15
c) L' α -glucoside	16
II -4- L' α amylase.....	16
a)Structure	16
b) Source de l' α amylase	16
c)Mécanisme d'action	16

Chapitre III : Matériel et méthode

III-1-Objectif	18
III-2-Matériel végétal	18
III-3- Conduite de l'essai.....	18
III-4– Conditions de préparation des graines pour les tests de germination	18
III-5- Protocol expérimental	18

a)La préparation des solutions de saccharose	19
III-6- Etude de l'activité de l' α amylase des graines de quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> L) 20	
III-6-1-Dosage de l'activité de l' α -amylase des graines en germination	20
a) Extraction de complexe enzymatique	20
b) Dosage de l'activité de α -amylase	20
c)Réalisation de courbe d'étalonnage	21
III-7- le paramètre de croissance (morphologique).....	21
III-8-Traitement statistique	21

Chapitre IV : ANALYSE DES RESULTATS

Analyse des résultats	23
IV-1-Test d'imbibition des graines du quinoa	23
IV-2-L'activité de l' α -amylase extraite des graines des graines de quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>) soumises aux différents niveaux hydriques.	25
IV-3 - La longueur de la racicule	27

Chapitre V : Discussion et Conclusion

Discussion et Conclusion	31
Références bibliographiques	35

Introduction

Introduction

Introduction

L'agriculture dans les zones semi - arides en Algérie est caractérisé par la prédominance de la céréaliculture .La céréaliculture occupe dans l'agriculture algérienne une place dominante , tant par la superficie , trois millions d'hectares emblavés annuellement , représentant 40% de la superficie agricole utile (SAU) , que par l'importance que représente les produits céréaliers dans le régime alimentaire de l'Algérien ,une consommation annuelle moyenne par habitant de 211 kg (**MADR, 1978**).

La sécheresses ou stress hydrique à été définit comme une baisse ou un excès de la disponibilité de la' eau dans le milieu d'installation de telle culture (**LAMAZE et al., 1994**).

La sécheresse est l'une des catastrophes naturelles les plus dévastatrices Paralyant la production alimentaire, provoquant l'épuisement des pâturages, la désorganisation Des marché et à l' extrême de nombreuse pertes de la vie humaines et animales. La sécheresse sévit en Algérie depuis plusieurs années, contenue de fragiliser les agriculteurs, qui ont toujours été intéressé par la description des variétés qu'ils cultivent (**FAO , 2013**).

Les chénopodiacées développent des réponses physiologiques pour assurer leurs approvisionnements en eau tout en préservant leur métabolisme. Elles sont capables de lutter contre ce phénomène en produisant des composés dits osmoprotecteurs (**CALU, 2006**). L'ajustement osmotique est l'un des mécanismes adaptatifs principal qui comporte l'accumulation des molécules en réponse à un stress hydrique (**ZHANG et al., 1999**) grâce à l'induction des gènes impliqués dans la synthèse des acides aminés comme la proline (**DIMARTINO et al., 2003**), la glycine betaïne, (**SHEN et al., 2002, WANG et SHOWALTER, 2004**), des hormones tels que l'acide abscissique, capable dans certains cas de causer l'expression des gènes dans les plantes confrontées à un stress hydrique (**CAIRNEY et al., 1995**), les sucres totaux et réducteurs et les protéines totales (**ZERRAD et al., 2006**). Chez plusieurs espèces végétales, le sel induit également des modifications quantitatives et qualitatives dans la synthèse des protéines détectables par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (**RAMAGOPAL, 1987**).

Le Quinoa (chenopodium Quinoa) est une plante herbacée de la famille des amrantacée originaire d'Amérique du sud, elle se distingue par sa grande capacité de' adaptation aux différent stress abiotique , La quantité nutritionnelle de ses graines due notamment à une haute teneur en protéines et excellente balance en acides aminés (**MARIE HERBILLON ,**

Introduction

2015) . Le quinoa présente aussi des avantages sur le plan médicinales en raison de son efficacité contre plusieurs maladie (anémie, diarrhée, tuberculose) (FAO, 2013).

La germination est considérée comme une étape critique dans le cycle de développement de la plante. La germination est régulé par des caractéristiques génotypique mais aussi par des conditions environnementales et en particulier par la disponibilité de la' eau dans le sol. La mobilisation des réservés de la graine et leurs métabolisme Sont modulés en permanence en réponse aux changements des conditions environnementales.

L'objectif de notre travail est l'étude de l'activité de l' α amylase au cours de la germination des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa* L) soumises au stress hydrique

Notre travail est structuré en deux parties, la première partie est représenté des généralités sur le quinoa, germination, stress hydrique, activité amylasique, la deuxième partie représenté le matériel et méthode utilisées, l'expérimentation ainsi que les résultats obtenus et leur interprétation.

Synthese Bibliographique

Chapitre -1-

Généralité sur le Quinoa

I- Présentation du Quinoa

I- 1 Origine et systématique

Le quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd.*) est une espèce native d'Amérique du Sud, originaire de la région andine et plus particulièrement des hauts plateaux (Altiplano) bolivien et péruvien (MUIJICA ET *al.*, 2001). Les régions où elle est plus cultivée sont à des altitudes de 3000 à 4000 mètres à la Bolivie et au Pérou (BELHABIB , 2005). Pendant la période Inca, il a toutefois occupé après le maïs une place prédominante parmi les plantes à graines (JACOBSEN ET STOLEN ,1993). Après la conquête espagnole dans la région au XVIème siècle, la culture et l'utilisation du quinoa ont connu un important déclin à cause de l'introduction de cultures européennes (blé, orge) ; de plus, les colons espagnols semblent en avoir activement découragé la culture en raison de son statut religieux dans la société Inca, qui considérait le quinoa comme une graine sacrée (CUSACK, 1984 ; JACOBSEN et STOLEN, 1993). Ce n'est qu'au XXème siècle que la culture du quinoa a progressivement redémarré. Actuellement, le quinoa est cultivée en Europe et aux Etats Unis (BENLHABIB, 2005).

Selon les traces archéologiques découvertes dans les grottes d'Ayacucho au Pérou, cette Chénopodiacée aurait été domestiquée il y a 6.400 à 7.800 ans (BRACK EGG, 2003). Elle est cultivée et consommée depuis des siècles par les populations indigènes de Colombie, Équateur, Pérou, Bolivie et Chili (Gandarillas, 1979).



Figure 01 : Distribution géographique de la culture traditionnelle de *Quinoa* en Amérique du Sud. I. (d'après Geerts S., 2008).

Le quinoa appartient à la sous-famille des Chenopodioideae de la famille Amaranthaceae. Dans la sous-famille Chenopodioidea, environ 368 espèces ont été classées comme tolérantes aux stress abiotiques, soit environ 28% de la famille, bien plus que n'importe quelle autre famille ou sous-famille (**Orcutt et Nilsen , 2000**). Le quinoa est une plante dicotylédone angiosperme de la famille des Chénopodiacées. Depuis 2009, une nouvelle classification dite phylogénétique (APG III) range le quinoa dans la Famille des Amaranthaceae, mais nous continuerons de nous référer à la classification de Cronquist .

a) Classification de Cronquist (1981)

- ⇒ **Règne** :Plantae
- ⇒ **Division** :Magnoliophyta
- ⇒ **Classe** : Magnoliopsidae
- ⇒ **Sous-classe** : Caryophyllidae
- ⇒ **Ordre** :Caryophyllales
- ⇒ **Famille** :Chenopodiaceae
- ⇒ **Genre** : Chenopodium

b) Classification APG III (2009)

- ⇒ **Ordre** : Caryophyllales
- ⇒ **Famille** :Amaranthaceae
- ⇒ **Nom binomial** : henopodium quinoa Willd., (1798)

Le nom botanique complet du quinoa, *Chenopodium quinoa* Willd.

I-2 graines de Quinoa

Les graines de quinoa constituent l'aliment de base des peuples andins d'Amérique du Sud depuis plusieurs milliers d'années (Il y a une quarantaine d'années, l'Europe a redécouvert cette culture et ses propriétés nutritionnelles remarquables. Le quinoa est souvent confondu avec les céréales comme le blé, le riz ou le maïs (monocotylédones de la famille des Poaceae), de sorte qu'il est considéré aujourd'hui comme une « pseudocéréale ». Cependant, en tant que membre de la famille des Amaranthaceae (autrefois placé dans celle des Chenopodiaceae), le quinoa produit des graines dicotylédones qui se distinguent morphologiquement des grains de céréales.



Figure 02 : les graines de Quinoa (Photo IRD)

I- 3- Physiologie du quinoa

L'ample distribution géographique de la quinoa témoigne de la grande faculté d'adaptation de l'espèce puisqu'on peut en cultiver divers écotypes depuis le niveau de la mer au Chili, jusqu'à plus de 4.000 m d'altitude sur l'Altiplano boliviano-péruvien, sous des climats allant du froid aride jusqu'au tropical humide. L'espèce est tolérante à diverses contraintes abiotiques comme la sécheresse, les radiations UV, le gel et la salinité des sols, ce qui en a fait une espèce candidate pour les tests de culture en station orbitale (**Schlick et al., 1996**).

Le quinoa est une plante de type C3, parfois considérée à tort comme peu efficace dans la fixation du carbone (**Tapia et al., 1979**). Comparant différentes variétés de quinoa de l'Altiplano central (**Bois et al., 2006**) ont constaté leur survie jusqu'à - 4 °C, un seuil de tolérance proche de celui d'un cultivar sensible des vallées du Pérou étudié par (**Jacobsen et al., 2005**). Dans cette dernière étude, les plantes de quinoa au stade 12 feuilles soumises à - 4 °C pendant 4 heures avaient un taux de survie de 70 % dans le cas du cultivar originaire de la vallée, et jusqu'à 90 % pour la forme provenant de l'Altiplano. Les divergences observées entre ces études réalisées en serre suggèrent une interaction possible de l'humidité de l'air dans la tolérance au gel et plaident pour la réalisation d'expériences écophysiologiques *in situ*. La fonction des vésicules riches en oxalate de calcium et en pigments présentes à la surface des jeunes feuilles et des inflorescences n'est pas encore éclaircie, mais on suppose qu'elles protègent la plante de l'excès de radiation solaire et l'aident à résister à la sécheresse en intervenant dans les relations hydriques ou en formant un microclimat autour des feuilles (**Tapia et al., 1979 ; Mujica et al., 1999 ; Izquierdo et al., 2001 ; Bois et al., 2006**).

Si l'humidité du sol diminue trop, la plante arrête sa croissance, la tige devient fibreuse et le système racinaire se fortifie, permettant à la plante de résister jusqu'à trois mois de

sécheresse. Dans ces mêmes conditions, le développement de la plante devient plus asynchrone, une partie de la panicule produisant des grains, tandis que d'autres fleurs continuent à se former ou entrent en anthèse (**Mujica et al., 1999**). La quantité d'eau requise par la plante dans l'Altiplano central de Bolivie est approximativement de 385 mm pour 5 mois et demi de vie physiologique (**Tapia et al., 1979**). Cette quantité correspond plus ou moins aux précipitations de la période d'été, ce qui démontre que la quinoa est adaptée au régime moyen des pluies dans cette zone.

a) Résistance à la sécheresse

Bien que le quinoa présente divers mécanismes de résistance au stress hydrique, la sécheresse reste un des facteurs les plus courants de baisse des rendements en grain, même si des sécheresses modérées en début de cycle peuvent avoir un effet positif d'endurcissement des plantes (**Bosque et al., 2003**). La résistance à la sécheresse met en jeu différents mécanismes morphologiques, anatomiques, phénologiques et biochimiques énumérés (**Jacobsen et al., 1998**) ainsi que (**Jensen et al., 2000**) signalent que la résistance du quinoa à la sécheresse est liée à des valeurs généralement basses de potentiel osmotique plutôt qu'à une véritable capacité d'ajustement de ce potentiel en réponse à un stress hydrique donné. La conductance stomatique ne montre pas non plus de sensibilité particulière au stress hydrique. En revanche, des valeurs élevées de photosynthèse nette et de surface spécifique des jeunes feuilles favoriseraient la vigueur des plantes et l'absorption rapide de l'eau du sol en début de cycle et, par conséquent, une meilleure tolérance aux sécheresses ultérieures (**Jensen et al., 2000**). Face au stress hydrique, la quinoa montre un bon maintien de ses capacités photochimiques, ce qui explique la récupération rapide et complète de l'activité physiologique dès que l'alimentation en eau redevient normale (**Bosque et al., 2003 ; Winkel et al., 2002**).

b) Résistance au froid

L'effet du gel sur la plante est différent selon son intensité et sa durée, mais aussi selon les phases phénologiques où il se produit, l'humidité relative de l'air et le géotype. Il est généralement admis que la température minimale limite de croissance pour le quinoa est de -5°C (**Bois et al., 2006**). Des observations au champ ont montré des variétés résistantes jusqu'à -14°C au stade plantule (**Vacher et al., 1998**), voire jusqu'à -16 à -18°C d'après **Catacora et Canahua (1992)** durant les premiers stades de croissance. Les phases les plus sensibles sont la mise en place de l'épi, la floraison et le stade grain laiteux (**Canahua et Rea, 1979**). **Jacobsen et al. (2000a, 2005)** ont trouvé une baisse de rendement inférieure à 10%

consécutivement à un gel de -4°C au stade deux feuilles, mais de 66% lorsque le gel se produit au stade floraison.

I-4 Génétique et diversité du quinoa

Le quinoa a été domestiqué dans les Andes il y a 5.000 à 7.000 ans (**Brack Egg, 2003**) et soumise à un processus d'amélioration de plusieurs de ses caractéristiques dans une vaste gamme d'environnements, allant des hauts plateaux semi-arides aux vallées tropicales et au littoral du Pacifique. La quinoa cultivée présente ainsi une grande variabilité génétique qui se traduit par une diversité de couleur des tiges, des inflorescences et des graines, de forme et de taille des inflorescences (Figure 5), de teneur en protéines, de contenu en saponine et dans la présence ou non de cristaux d'oxalate de calcium sur les feuilles.

Les résultats de différents croisements montrent que la quinoa présente une hérédité monogénique avec allélisme multiple pour la couleur rouge des feuilles, cette dernière dominant sur le pourpre et le vert, et le pourpre dominant le vert. La présence de couleur au niveau des aisselles des feuilles est un caractère dominant (**Tapia et al., 1979 ; Izquierdo et al., 2001**). Concernant la forme de l'inflorescence, on observe une ségrégation de 3 glomériformes pour 1 amaranthiforme. La stérilité mâle est nucléocytoplasmique, avec une descendance de 3 fertiles et 1 stérile dans le croisement avec une plante fertile mâle (**Izquierdo et al., 2001**).

I-5 Variétés de quinoa

Les quinoas peuvent être divisés en cinq groupes de variétés répartis par zones d'adaptation écologique :

⇒ *Quinoas des vallées arides (Junin) et des vallées humides (Cajamarca)* : les quinoas des vallées se distinguent entre ceux des cultures irriguées dans les vallées inter-andines (Urubamba au Pérou et Cochabamba en Bolivie) et ceux qui poussent dans des conditions pluviales au Pérou.

⇒ *Quinoas de l'Altiplano (blancs autour du lac Titicaca et colorés dans la zone agro-écologique de Suni)* : Ces variétés sont cultivées dans des conditions climatiques se caractérisant par de faibles précipitations et des températures favorables (cas du lac Titicaca).

-Quinoa des déserts de sel (sud de la Bolivie) : Ce groupe des quinoas résistent à des conditions xérophytiques extrêmes. Ils réussissent à se développer en exploitant l'humidité des trous pratiqués pour les semis.

-Quinoas du niveau de la mer au Chili : Ces quinoas sont les mieux adaptés aux conditions humides avec des températures plus régulières.

- Quinoas de la zone agro-écologique Yunga et des subtropique.

I-6 Intérêt Agro-économique

1) Propriété

Le *Quinoa* a un potentiel nutritif important. Elle se caractérise par une teneur élevée en protéines : 14 à 21 %, contre 7 à 12 % chez la plupart des céréales (blé, riz, maïs, orge, etc.) (Ayala et al., 2001 ; Bhargava et al., 2006). La teneur en protéine n'est pas seulement plus haute, mais le *Quinoa* est aussi une des meilleures sources de protéine parce que les graines contiennent les neuf acides aminés essentiels et peuvent pour cette raison être facilement assimilées par le corps. Beaucoup de minéraux essentiels comme le calcium, le fer, le zinc, le magnésium et le phosphore, des vitamines importantes comme A, C, B1 B, et E se trouvent tous dans cette «graine miracle».

Elle est également riche en acides gras non saturés essentiels et contient de l'acide gras Omega-3 comme on le trouve aussi dans le poisson. Un autre avantage décisif par rapport aux céréales est que ces graines ne contiennent pas de gluten et ont ainsi un potentiel allergique plus faible que le blé et autres céréales (Roscher, 2013).

2) Propriété médicinale

Les propriétés curatives de l'échantillon ou de certaines de ses parties (racine, tige, feuille ou grain), type de pathologie soignée, formes de préparation et noms traditionnels. Exemples de quelques maladies : Anémie, Diarrhée, Tuberculose, Rhumatisme, Mal d'altitude, Fatigue, Fracture, Hypocalcémie, Diurétique, Antifébrile,... (FAO, 2013).

3) Utilisations

Les principales utilisations du quinoa peuvent être résumées comme suit :

- Alimentation humaine : On peut consommer les graines, les feuilles tendres jusqu'au début de la panicule (teneur en protéines peut atteindre 33% de la matière sèche).
- Industrie alimentaire : Les grains et la farine de quinoa peuvent servir à la préparation de la plupart des produits de l'industrie de la farine. Le quinoa peut être associé aux légumineuses telles que les fèves, les haricots rouges afin d'améliorer la qualité nutritionnelle.
- Alimentation animale : La plante entière sert de fourrage vert.

- Utilisations médicinales : Les feuilles, tiges et graines de quinoa servent à diverses applications médicinales grâce à leurs propriétés cicatrisantes, anti-inflammatoires, analgésiques (mal de dents) et désinfectantes des voies urinaires.
- Autres utilisations industrielles : Au quinoa est associé toute une gamme de sous-produits destinés à l'alimentation, à la cosmétique, aux applications pharmaceutiques et à d'autres utilisations. (**Cercam, 2014**).

Chapitre -2-

Germination et Stress

Hydrique

II – Stress abiotiques

Les plantes en général exigent des conditions environnementales optimales pour une croissance normale, mais elles sont souvent sujettes à des facteurs extrêmes de potentiels hydriques, température et salinité, en engendrant différents types de stress (**Hopkins, 2003**).

Ces dernières années, la définition du terme stress a été généralisée, ainsi qu'elle est maintenant employée comme référence pour les plantes supérieures et inférieures et même pour les micro-organismes, par opposition à l'utilisation originale impliquant l'homme et les animaux.

Le physiologiste canadien Hans Selye, qui a inventé le terme les années 1930, a cru que les capacités de l'organisme à s'adapter sont liées à la concentration et l'effort entrepris à mobiliser les systèmes de défense de cet organisme (**Chernyad'ev, 2005**).

Toutefois, le stress biologique est un concept mécanique, défini comme étant une force appliquée sur un objet par unité de surface. En réponse à cette force externe, l'objet développe une force ou change de dimension (**Hopkins, 2003**).

Les plantes rencontrent souvent des environnements inhabituels extrêmes, mais les principaux stress abiotiques qu'elles perçoivent sont : le stress thermique, le stress salin et le stress hydrique.

I1-1- stress hydrique

Le stress hydrique occupe une place particulière du fait de sa fréquence et de la place que l'eau occupe dans les phénomènes métaboliques. Son rôle dans la photosynthèse, le transport et l'accumulation, ainsi que dans la multiplication et le grandissement cellulaire, l'eau a un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes (**Mazliak, 1995 ; Heller et al., 1998 ; Hopkins, 2003 ; Enixon, 2004**).

La sécheresse est un terme météorologique défini par la période pluviale insuffisante qui conduit le plus souvent à un déficit hydrique (**Hermez, 1996**).

Hsiao (1973) a défini le déficit hydrique comme étant la situation dans laquelle le potentiel hydrique et la turgescence de la plante sont assez réduits au point de perturber le déroulement optimal des différentes fonctions.

Le déficit hydrique se produit dans le cas où la quantité d'eau évapo-transpirée excède celle absorbée à partir du sol (**Levitt, 1980 ; Acevedo, 1991 ; Blum, 1996 ; Enixon, 2004**).

Le déficit hydrique est considéré comme une perte modérée d'eau interne menant à une fermeture des stomates et par conséquent une limitation des échanges gazeux (**Tardieu and Dreyer, 1997**). La dessiccation est une perte d'eau plus accentuée qui peut potentiellement conduire à une interruption du métabolisme, une déstructuration cellulaire et éventuellement un arrêt de l'activité enzymatique (**Smirnoff, 1993 ; Martre, 1999**).

Les contraintes hydriques connues sont de deux types ; édaphiques et atmosphériques : les contraintes édaphiques, qui correspondent à une disponibilité en eau réduite dans le sol. La cinétique d'établissement d'un déficit hydrique édaphique est lente et dépend de la vitesse de dessèchement du sol. Elles sont qualifiées de contraintes statiques, car elles se manifestent même en absence de flux d'eau à travers la plante (**Martre et al., 1999 ; Martre et al., 2000**).

En ce qui concerne les contraintes atmosphériques, lorsque la demande évaporatoire augmente, les pertes d'eau par transpiration créent un flux d'eau dans la plante, qui du fait des résistances aux mouvements d'eau dans le sol et la plante, entraînent une altération de l'état hydrique de la plante. Ce type de contraintes est qualifié de dynamique, car elles sont associées à la circulation de l'eau dans la plante. Les contraintes dynamiques peuvent se définir par l'intensité de la transpiration, elle-même définie par la demande évaporatoire, qui est essentiellement déterminée par la température des feuilles d'une part, et par l'humidité et la température de l'air d'autre part. Une forte demande évaporatoire amplifie les conséquences d'un dessèchement du sol sur l'état hydrique de la plante et sur sa croissance (**Martre, 1999 ; Martre et al., 2000**).

II- 2-germination des graines

II-2-1-Concept et processus

La germination est une stade physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase du développement de la plantule, elle commence dès que la graine sèche est hydratée (**Anzala, 2006**).

Plusieurs auteurs adoptent la conception de (**Bewley, 1997**) qui définit la germination d'une graine comme étant la somme des événements qui commencent avec l'imbibition et se termine par l'émergence d'une partie de l'embryon, généralement la radicule, à travers les tissus qui l'entourent.

Nivot (2005) rapporte que l'eau est d'abord absorbée par les ouvertures naturelles de la graine, puis diffusée à travers ses tissus. Les cellules devenues turgescentes, la graine grossit

alors en volume et devient davantage perméable à l'oxygène et au dioxyde de carbone. À la suite de l'hydratation, sous l'effet de la dilatation de la graine, les téguments s'ouvrent, et l'embryon subit des changements métaboliques qui réamorcent sa croissance.

Des enzymes commencent à dégrader les réserves contenues dans l'albumen ou dans les cotylédons, et les nutriments parviennent aux régions en croissance de l'embryon (**Delgado et al ., 1994**). La synthèse de nouvelles molécules donne lieu à une augmentation en taille de l'embryon jusqu'à ce que ce dernier émerge de la graine (**Bray et al ., 2000**). Le premier organe à émerger de la graine est généralement la radicule qui constitue la racine embryonnaire (**Gimeno-Gilles, 2009**). S'ensuit l'émergence de l'épicotyle et des cotylédons, qui constituent la partie aérienne de la plantule (**Nivot, 2005**).

Mais pour mieux comprendre le processus de la germination, il est préférable d'élucider la constitution de son site de déroulement, la graine.

II-2-2-dormance

En règle générale, les graines mûrissent, deviennent quiescentes puis germent dès que l'eau, l'oxygène et la température favorable seront disponibles (**Srivastava, 2002**). Néanmoins, il arrive chez plusieurs espèces qu'après la quiescence, les graines ne germeront pas et entrent en dormance, bien que les conditions environnementales leur sont optimales (**Heller et al ., 2004**).

La dormance est une caractéristique spécifique des graines qui peut se définir comme le blocage de la germination d'une graine intacte et viable malgré des conditions environnementales favorables (**Finch-Savage et Leubner-Metzger, 2006**). Ceci permet à la graine d'échapper une germination spontanée qui pourrait survenir trop précocement (**Bewley et Black, 1994**).

II-2-3-Physiologie et biochimie de la germination

D'après **Hopkins (2003)** et **Heller et al. (2004)** la cinétique de prise d'eau permet de caractériser la germination en trois phases:

a. Phase d'imbibition : C'est une étape rapide et réversible ; caractérisée par une entrée massive et passive d'eau ; elle se déroule même si la graine n'est pas viable (**Aalanz, 2006**). Cette entrée d'eau, servant à hydrater les tissus, est accompagnée d'une augmentation de la consommation d'oxygène attribuée à l'activation des enzymes mitochondriales (**Chaussat, 1999**). Les structures et les enzymes nécessaires à cette reprise d'activité sont

supposé avoir résisté à la déshydratation et être présentes dans les graines sèches (Bewley, 1997).

b. Phase de germination stricto sensu : caractérisée par une stabilité de la prise d'eau et de l'oxygène (Heller et al., 2004). L'hydratation des tissus et des enzymes est totale ; l'activité respiratoire est ralentie (Anzala, 2006). C'est à ce stade que se préparent les événements métaboliques associés à l'allongement de la radicule qui émerge du tégument (Gimeno-Gilles, 2009). Cette émergence, rendue possible grâce à l'élongation des cellules (BEWLEY, 1997), coïncide avec la fin de la deuxième étape et la perte de la tolérance à la dessiccation (HELLER et al., 2004).

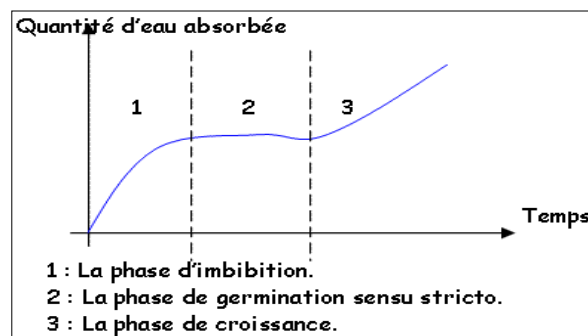


Figure 03: Courbe théorique d'imbibition (Source : Bio Deug).

D'après (Anzala, 2006) l'eau entrée rend mobiles et active les phytohormones hydrosolubles en stock dans la graine telles que les gibbérellines qui sont véhiculées vers la couche à aleurones où elles vont activer la synthèse d'hydrolases, α -amylases, nucléases et protéinases, nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire.

Ainsi, ajoute la même source :

- **Les α -amylases :** hydrolysent l'amidon stocké dans l'albumen et libèrent des molécules de glucose, substrat du métabolisme respiratoire.
- **Les nucléases :** permettent la libération d'acides nucléiques impliqués dans la formation des cytokinines, hormones qui stimulent la division cellulaire.
- **Les protéases :** lysent les réserves protéiques qui favorisent la formation de phytohormones telles que l'auxine responsable de l'élongation des cellules.

c. Phase de post-germination : distinguée par une reprise de l'absorption d'eau et une élévation de la consommation d'oxygène, dues probablement à l'activité des enzymes néosynthétisées (Anzala, 2006). Certains auteurs ne considèrent pas cette phase comme faisant partie de la germination au sens strict (Hopkins, 2003).

III- L'amidon

Selon **Lafon et al. (1996)**, l'amidon est la principale forme de réserve de glucides contenus dans les amyloplastes ou temporairement dans les chloroplastes. On le met facilement en évidence avec de l'eau iodée avec laquelle il donne une coloration bleue. L'amidon est un glucide complexe (polyoside) de réserve pour les végétaux supérieurs ; il constitue une réserve d'énergie et de nutriment nécessaire pour survivre à la mauvaise saison, il permet stocker des nutriments glucidiques dans les cellules sans se dissoudre dans l'eau (**Bayuelo et al., 2002**) sa formule brute ($C_6H_{10}O_5$) (**Vallade, 2002**).

III-1-Structure de l'amidon

D'après **Lafon et al. (1996)** l'amidon est un glucane ; il est formé de très nombreux maillons glucose en fait ; il est constitué d'un mélange de molécules d'amylose et d'amylopectine, en proportion variable selon le tissu considéré.

a) L'amylose

Est une chaîne linéaire de n maillons (D-Glucopyranose) liés entre eux par liaison α (1-4) n varie de 300 à 1000 selon les espèces de masse molaire voisine de 300000.

b) L'amylopectine

est une chaîne ramifiée ; la ramification est liée par liaison α (1-6) sur des chaînes de n unités du D-Glucopyranose liées par liaison α (1-4).

III-2- dégradation de l'amidon

La dégradation de l'amidon en glucose nécessite l'invention de plusieurs hydrolases qui sont synthétisées en abondance dans la couche d'aleurone et qui migrent vers l'albumen. L'amylase est un enzyme digestif qui brise les polysaccharides ; l'amylase joue un rôle important dans la dégradation de l'amidon avec une grande spécificité.

a) L' α -amylase :

Est une α -1,4-Glucanase qui brise les liens α (1-4) glucidiques à l'intérieur des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine pour finalement donner des molécules de maltose (disaccharide de α -glucose) (**Heller et al., 2000 ; Wang et al., 2008**).

b) L' β -amylase

Est une α -1,4-D-Glucane maltohydrolase elle attaque les amyloses à chaîne linéaire à partir de l'extrémité non réduite en libérant du maltose (**Hopkins, 2003**).

c) L' α -glucoside

L'étape final de la dégradation de l'amidon est l'hydrolyse du maltose en deux molécules de glucose par l' α -glucoside les oses obtenus sont alors directement utilisable par l'embryon (Levy, 1998) .

II -3- L' α amylase

C'est une enzyme ubiquitaire synthétisé dans tous les genres de la vie. L' α amylase est une enzyme en agissant, hydrolyse de façon aléatoire les liaisons Alpha (1-4) et conduit à la formation d'oligosaccharides linaires et dextrans. (Janecek, 1994) L' α amylase est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires de type endoglycanase de la classe des hydrolases.

a) Structure de l' α amylase

L' α amylase a une structure tridimensionnelle capable de se lier au substrat, et par l'action des groupes catalytiques hautement spécifiques, favorise la rupture des liaisons Glycosidiques. Ce sont des glycoprotéines renfermant 478 acides aminés repartis en deux domaines globulaires appelés A (1 à 380 résidus) et B (381 à 478 résidus) ; ces domaines sont associés par une chaîne polypeptidique constituée principalement de résidus hydrophobe.

La partie glucidique est formée essentiellement de mannose, le résidu constituant le site de fixation du substrat.

Ce sont des métallo-enzyme à calcium (un ion calcium par molécule). (Chiba *et al.*, 1988) Ces ions sont nécessaires à l'activité enzymatique et au maintien de la stabilité de la structure en acides aminés de l'enzyme qui varie d'une souche à l'autre. (Fogarty *et al.*, 1980

b) Source de l' α amylase

L' α -amylase peut être d'origine animale (salive et du pancréas des mammifères) d'origine végétale, ou d'origine microbienne.

c) Mécanisme d'action

L' α amylase d'origine végétale, animale ou microbienne agit sur les polysaccharides (Amidon, glycogène) L' α amylase appartient à la famille des endo-amylases qui catalyse l'hydrolyse initiale de l'amidon en oligosaccharides plus courts (résidus glucose terminaux), les liaisons alpha (1,6) ne peuvent être clivées par l' α -amylase.

Les alphas amylases présentent la possibilité d'attaquer les chaînes d'amylopectine de deux façons différentes : soit en se fixant sur une chaîne et y effectuer plusieurs cycles de coupures (attaque multienzymatique) c'est le cas de l'amylase pancréatique ; soit en se fixant sur une chaîne pour y effectuer une coupure puis après libération des produits, se détacher de la chaîne pour attaquer une autre chaîne (attaque préférentielle) c'est le cas des amylase de *Bacillus subtilis* ou d'*Aspergillus oryzae*

Latie Expérimental

,

Chapitre -3-

Matériel et Méthode

III-1-Objectif

L'objectif de ce travail est d'analyser l'activité de l' α amylase au cours de la germination des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa* L) soumises au stress hydrique.

III-2- Matériel végétal

Les semences du *Quinoa* (*Chenopodium Quinoa*) utilisées dans les essais de germination ont été fournies par le centre international d'agriculture Biosaline à Dubai. on a utilisées deux variétés de *Quinoa* (**Titi caca et Q5**).



Figure 04: les graines de Quinoa (photo original)

III-3- Conduite de l'essai

L'expérimentation est conduite au niveau de laboratoire de la faculté des Sciences la Nature et de la Vie de l'université de Tiaret.

III-4- Conditions de préparation des graines pour les tests de germination

D'abord les graines sont désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 1 % en les trempant pendant 3 minutes, puis rincées à l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les traces du chlore. Les semences mises à germer sont disposées dans des boîtes de Pétri stériles de 10 cm de diamètre garnies de deux couches de papier buvard.

III-5- Protocol expérimental

Chaque essai de germination est conduit en 3 répétitions à raison de 10 graines par boîtes de Pétri, imbibées d'eau distillée (10 ml) servant de témoin ou de solution de

saccharose à des concentrations différentes, 10%, 20%, et 30%. Les essais de germination sont effectués à une température de 25°C.

a) La préparation des solutions de saccharose

Le stress hydrique a été appliqué sur les graines de quinoa en utilisant des concentrations croissantes de la solution de saccharose 10%, 20% et 30% qui sont préparées comme suit :

La solution à 10% de saccharose est obtenue en mettant 10g de saccharose dans 100 ml de l'eau distillé, la même procédure est appliquée pour les autres concentrations de la solution de saccharose à 20% (20g dans 100ml d'eau distillée) et à 30% (30g de saccharose diluée dans 100ml d'eau distillée).



Figure 05 : Les solutions de saccharose. (Photo original)

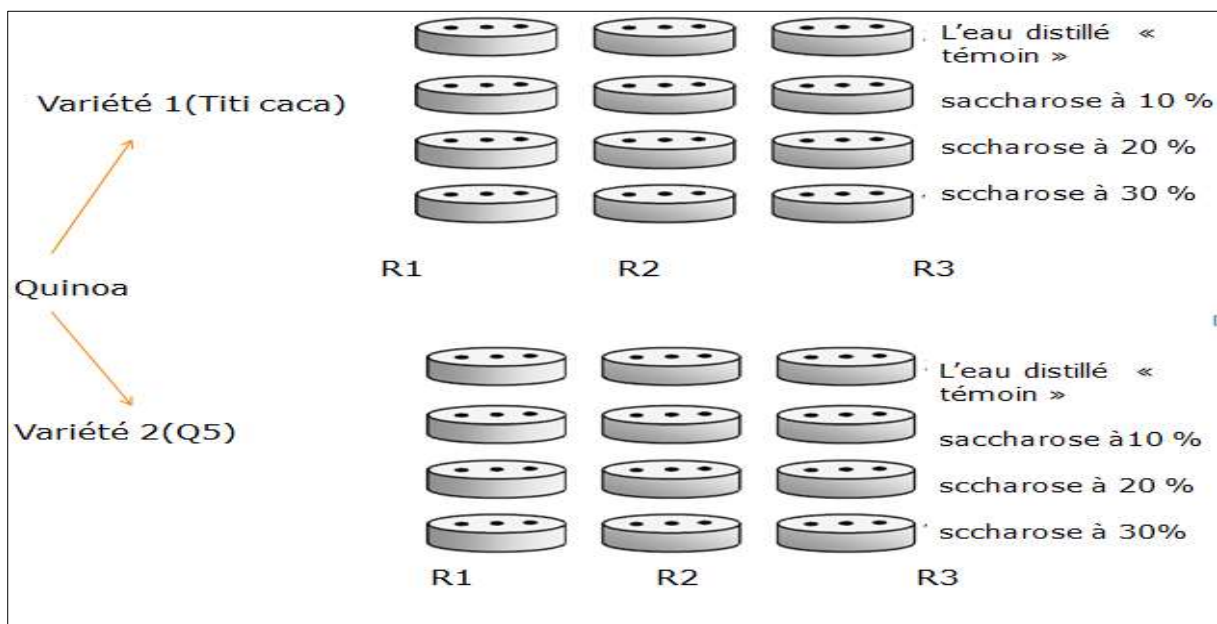


Figure 06: dispositif expérimental des graines mises à germer sous l'effet du stress hydrique.

III-6- Etude de l'activité de l' α amylase des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa* L)

La deuxième partie est basé préalablement sur l'évaluation de l'imbibition des graines mises en germination dans des différents milieux de germination, en pesant les graines à raison de 20 graines par boîte de Pétri à différent temps après imbibition (chaque 3 heures), jusqu'à l'apparition de la radicule (début de croissance). Ce test est nécessaire pour déterminer la durée convenable à laquelle l'extraction de l' α -amylase et l'analyse de son activité doivent être effectuées.

III-6-1-Dosage de l'activité de l' α -amylase des graines en germination

Au cours de la germination des graines l'activité de l'amylase est indisponible pour la remobilisation de la ressource glucidique mises en réserve sous la forme d'amidon.

L'activité de l' α -amylase est mesurée selon la méthode de Bernfeld(1955). Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du pouvoir réducteur du maltose libéré lors de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon, l'intensité de la coloration est proportionnelle de la quantité du maltose libéré (**Bernfeld, 1955**). L'activité enzymatique est exprimée par μ mol de maltose libéré par minute.

a) Extraction de complexe enzymatique

L'extraction de complexe enzymatique est produite en deux temps du processus de germination des graines.

Le substrat de l'extraction est constitué de 4g de graines issus des différents l'ensemble est broyé dans 12ml de solution tampon acétate à PH 4,8 et filtré.

Le filtrat est recueilli dans un tube eppendorf de 1,5 puis centrifugé pendant 10 minutes à 8000g le surnageant est récupéré (extrait A)

b) Dosage de l'activité de α -amylase

Dans les tubes à essai on ajoute à 1ml de l'extrait (A) 0,5 ml de solution amidon à 1% de base d'amidon et solution tampon acétate PH 4,8 passe au vortex et laisser incuber au bain marie à 25°C pendant 10 minutes, on ajoute 0,5 ml du réactif (A) contenant 28 ml de NaOH(2N), 0,4g DNS, 12g de tartrate (K,Na) 40 ml d'eau distillé permettant l'inhibition de l'hydrolyse et le dosage simultané du maltose formé l'ensemble est mis dans un bain marie à 100°C

pendant 5 mn puis refroidi . Le lecteur de la densité optique s'est fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde $\lambda = 530$ nm.

c) Réalisation de courbe d'étalonnage

La réduction en milieu alcalin de l'acide 3-5 par le maltose provoque une coloration orangée dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en glucide.

A partir d'une solution mère maltose (1g/l) on réalise dans les tubes à essai une a des dilutions ($1/10 * 1/5 * 1/3 * 1/2$) atteignant un volume final de 1 ml.

On prélève 0.5 ml de chaque dilution dans des tubes à essai a lequel n ajoute 0.5ml de réactif constitue de 70ml de NaOH2N d'acide 3-5 dinitro salicylique, 30 g de tartrate K/Na et 100 ml d'eau distillée.

L'ensemble est mélange délicatement les tubes sont placés dans un bain marie bouillant pendant 5 min ensuite refroidis par un jet d'eau froide dans lesquels on ajute 5ml d'eau distillée le dosage est effectué par spectrophotomètre a une longueur d'onde d'absorption de $\lambda = 530$ nm.

III-7- longueur de la radicule

Porte sur la croissance de la radicule de la quinoa en mesurant après 72 heures de germination la longueur de la radicaire à l'aide d'une règle graduée.

III-8-Traitement statistique

Les résultats obtenus ont subi un traitement statistique par l'analyse de la variance à l'aide de logiciel SPSS. Analyse de variance Anova.

Chapitre 4.

Analyse des Résultats

Analyse des résultats

IV-1-Test d'imbibition des graines du quinoa

Le processus d'imbibition des graines présente une étape primordiale pour la réalisation de la germination. Ainsi la vie latente caractérisant les différentes semences est imposée principalement par une déshydratation accentuée lors de la maturité physiologique des graines. L'évaluation de l'imbibition de l'eau par les graines se fait par les mesures du poids, en fonction du temps soumises au stress hydrique en utilisant des concentrations croissantes de la solution de saccharose 10%, 20% et 30%, pour tester les réponses du gombo et déterminer les différentes phases de la germination, notamment la phase stricto sensu. D'après Heller et *al.* (2004), c'est une phase caractérisée par une stabilisation de l'absorption de l'eau et par une forte activité enzymatique, indispensable pour que la germination ait lieu. Cet essai nous servira à déterminer la durée optimale à laquelle nous procédons à l'extraction de l'enzyme α -amylase et l'analyse de son activité.

Les résultats obtenus dans le tableau 1, montrent que le processus d'absorption de l'eau exprimé par le poids frais des graines est influencé par les variations des niveaux hydriques ($p < 0.001$). Cependant la nature du génotype utilisée ne provoque pas des variations notables de ce paramètre ($p > 0.05$). Ainsi qu'aucune distinction génotypique n'est observée à la suite de la conduite du stress hydrique ($p > 0.05$).

Tableau 1 : Analyse de variance Anova en seuil ($P = 0.05$) de la variation du poids des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa*) soumises aux différents niveaux hydriques.

Source	D	Signification
Niveau hydrique	10,627	0.000
génotype	0,454	0,502 ns
Niveau hydrique * génotype	2,579	0,057 ns

ns : non significative

La figure 1 montre que la situation hydrique exprimée par les différentes concentrations de saccharose a réduit les niveaux d'absorption des graines du génotype titicaca mises en germination. On distingue 3 phases, la première dure 10 heures au cours de laquelle le poids frais pour l'ensemble des graines augmente rapidement quel que soit la situation hydrique.

Le poids maximum des graines est enregistré pour le témoin (0,0453 g), il subit une réduction lorsque la concentration du saccharose augmente (augmentation du stress hydrique).

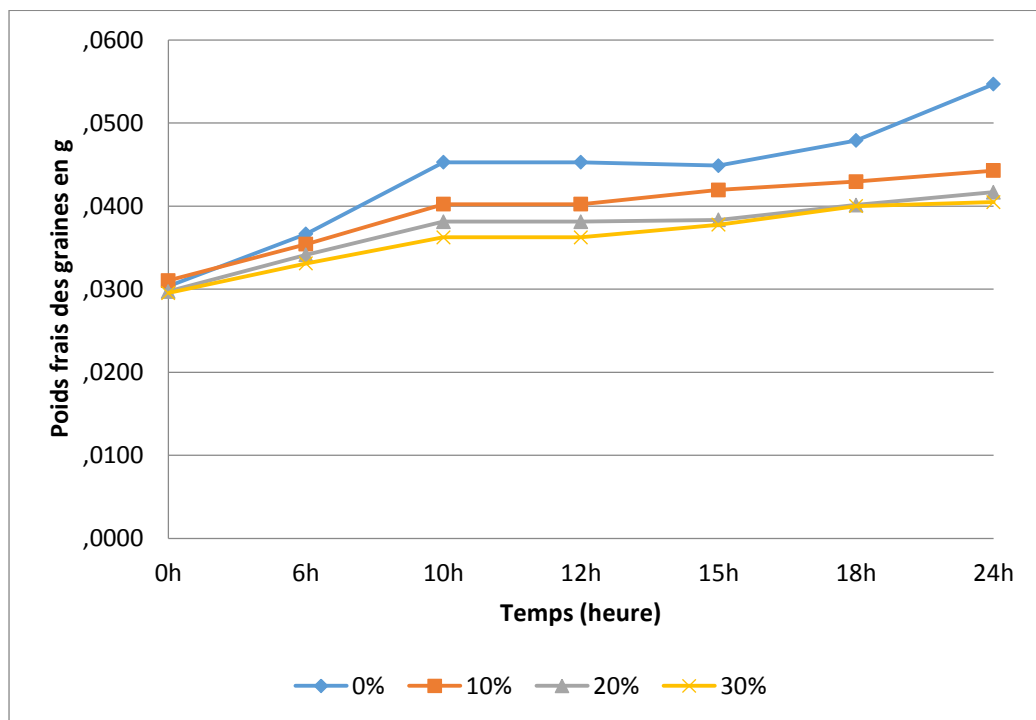


Figure 7 : Poids frais (g) des graines du génotype titicaca de quinoa en fonction du temps d'imbibition soumises aux différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.

La seconde phase est caractérisée par une stabilité de l'imbibition durant les deux heures suivants. Au-delà, les poids frais des graines évoluent de manière différente. En effet, les graines témoins atteignent un poids frais de 0,0547 g. Ce poids chute de manière décroissante sous l'effet du stress hydrique pour représenter 0,0443 g sous le traitement à 10% de saccharose, 0,0417 g sous 20% de saccharose ; sous la concentration 30% de saccharose, le poids frais diminue fortement jusqu'à 0,0405 g.

Les résultats obtenus dans la figure 2, indique que la situation hydrique provoque la réduction du niveau d'absorption des graines du génotype Q5 mises en germination. La phase d'imbibition dure 12 heures au cours de laquelle le poids frais pour l'ensemble des graines augmente rapidement quel que soit la situation hydrique. Le poids maximum des graines est enregistré pour le témoin (0,0436 g), il subit une réduction lorsque la concentration du saccharose augmente (augmentation du stress hydrique).

De 12 à 15 heures de germination, on remarque que le poids des graines reste constant justifiant la phase de la stabilité de l'imbibition. Au-delà, les poids frais des graines évoluent de manière différente. En effet, les graines témoins atteignent un poids frais de 0,0453 g.

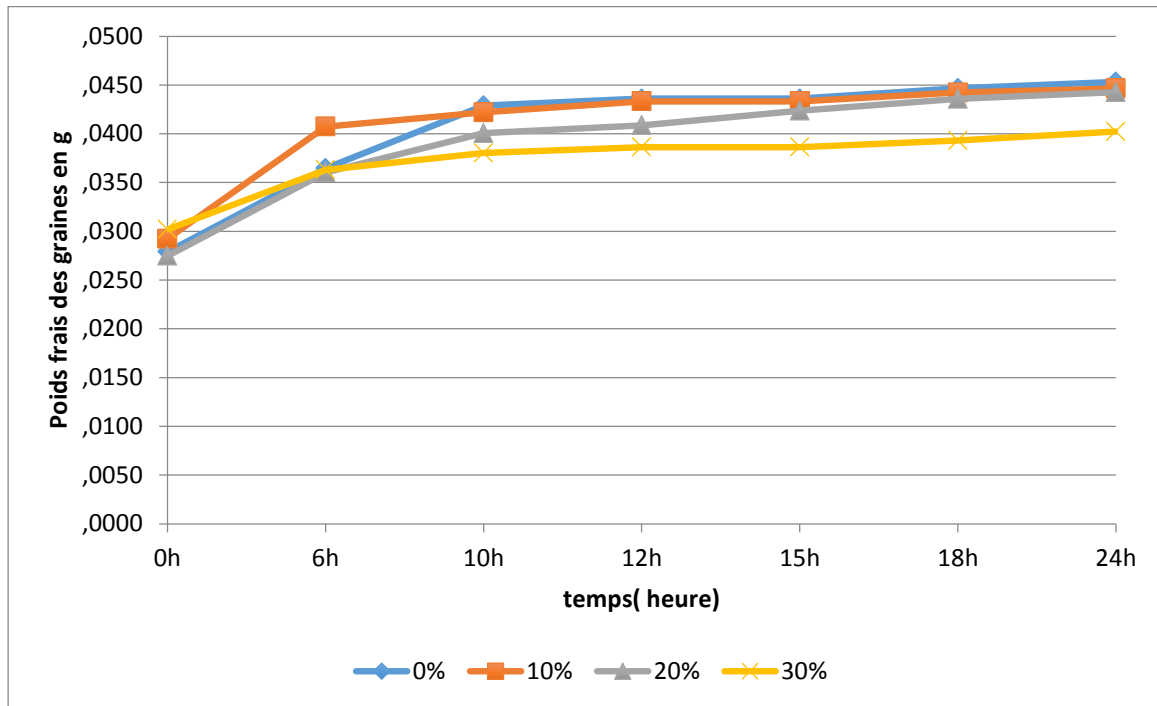


Figure 8 : Poids frais (g) des graines du génotype Q5 de quinoa en fonction du temps d'imbibition soumises aux différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.

Ce poids chute de manière décroissante sous l'effet du stress hydrique pour représenter 0,0446 g sous le traitement à 10% de saccharose, 0,0443 g sous 20% de saccharose ; sous la concentration 30% de saccharose, le poids frais diminue fortement jusqu'à 0,0402 g.

IV-2-L'activité de l' α -amylase extraite des graines des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa*) soumises aux différents niveaux hydriques.

Nous adoptons le temps 12 heures comme temps optimal auquel nous procédons à l'extraction de l'enzyme et l'analyse de son activité.

L'analyse des résultats obtenus dans le tableau 2 démontre que les variations de l'activité de l' α -amylase extraite des graines en germination ne sont pas influencées par les variations des niveaux hydriques ($p > 0,05$).

Tableau 2 : Analyse de variance Anova en seuil (P= 0.05) de l'activité de l'α-amylase extraite des graines des grains de quinoa (*Chenopodium quinoa*) soumises aux différents niveaux hydriques.

Source	D	Sig
Niveau hydrique	0,304	0,822 ns
génotype	9,087	0,008 ns
Niveau hydrique * génotype	1,348	0,294 ns

ns : non significative

Cependant la nature du génotype utilisée ne provoque pas des variations notables de ce paramètre ($p > 0.05$). Ainsi qu'aucune distinction génotypique n'est observée à la suite de la conduite du stress hydrique ($p > 0.05$).

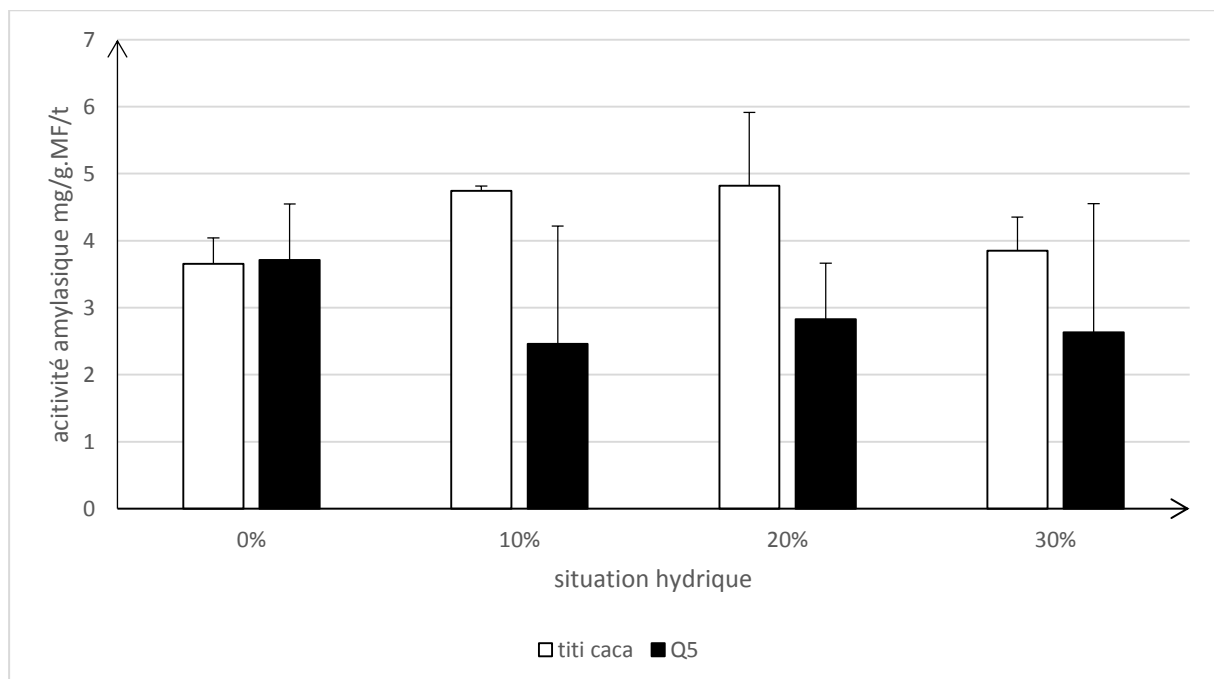


Figure 9: Evolution du taux d'hydrolyse de l'amidon en maltose chez deux génotypes de quinoa (titi caca et Q5) en fonction différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.

La figure 9 montre que l'évolution de l'activité amylasique n'est pas uniforme pour les deux génotypes ; Les variations de l'activité amylasique ne dépendent pas de l'augmentation du niveau hydrique que ce soit chez le génotype titicaca ($r=0.102$) ou Q5 ($r=-0.225$).

Pour le témoin, l'activité de l' α -amylase exprimé par le taux d'hydrolyse de l'amidon est de $3,65 \pm 0,385$ mg/g.MF/t chez les graines de titicaca, et de $3,71 \pm 0,83$ mg/g.MF/t chez le génotype Q5 présentant une activité un peu élevée. Au niveau de la concentration 10% de saccharose, elle augmente en inscrivant $4,7439 \pm 0,06$ mg/g.MF/t chez les graines de titicaca, et le génotype Q5 enregistre une valeur de $2,45 \pm 1,75$ mg/g.MF/t qui est cette fois faible par rapport au génotype titicaca. Sous la concentration 20% de saccharose, l'activité de l' α -amylase est encore plus importante comparativement au témoin avec $4,82 \pm 1,09$ mg/g.MF/t chez le génotype titicaca et $2,82 \pm 0,43$ mg/g.MF/t chez le génotype Q5. En présence de la concentration 30% de saccharose, elle diminue en inscrivant $3,85 \pm 0,5$ mg/g.MF/t chez les graines de titicaca, et le génotype Q5 enregistre une valeur de $2,63 \pm 1,92$ mg/g.MF/t qui est faible par rapport au génotype titicaca.

On remarque que l'activité de l' α -amylase est faible mais de façon non significative chez le génotype Q5 par rapport au génotype titi caca du quinoa.

IV-3 - longueur de la racicule

Cette phase de croissance a été suivie en mesurant après 72 heures la longueur de la racicule des graines du de quinoa en centimètre.

Les résultats obtenus dans le tableau 1, montrent que la longueur radiculaire des graines des deux génotypes est très influencée par les variations des niveaux hydriques ($p<0.001$). Cependant la nature du génotype utilisée ne provoque pas des variations notables de ce paramètre ($p>0.05$).

La réponse aux variations des niveaux hydriques des deux génotypes est très différentes ($P<0.001$).

Tableau 2 : Analyse de variance Anova en seuil ($P= 0.05$) de la longueur de la racicule des graines des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa*) soumises aux différents niveaux hydriques.

La figure 3 montre que la situation hydrique exprimée par les différentes concentrations de saccharose a réduit les niveaux d'absorption des graines du génotype titicaca mises en germination.

Source	D	Sig
Niveau hydrique	1205,150	0,000
génotype	1,405	0,248 ns
Niveau hydrique * génotype	12,549	0,000

La situation hydrique a influencé de manière très significative la longueur de la racine des graines des deux génotypes du quinoa, en d'autres termes la réduction est très importante des racines quand le stress est élevé ($r=-0941^{**}$).

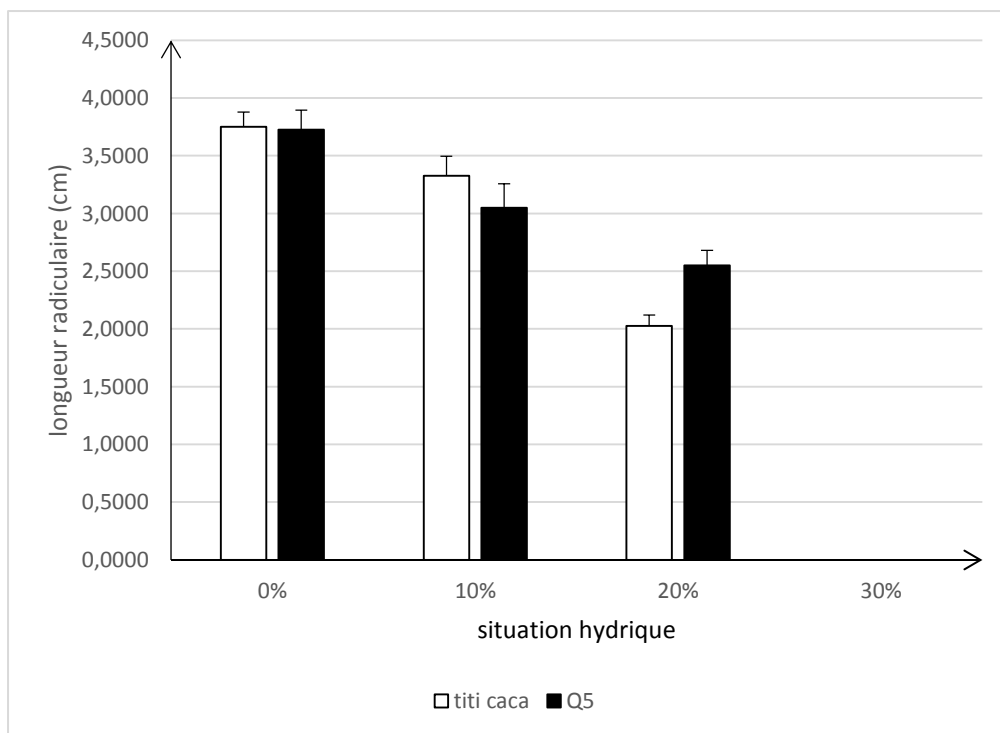


Figure 10 : longure radriculaire du génotype Q5 et titi caca de quinoa en fonction du temps d'imbibition soumises aux différents niveaux hydriques exprimés par des concentrations de saccharose.

Pour le témoin, la longueur de la radicule est de $3,75 \pm 0,12$ cm chez les graines de titicaca, et de $3,72 \pm 0,17$ cm chez le génotype Q5 présentant une longueur un peu faible. Au niveau de la concentration 10% de saccharose, elle diminue en inscrivant $3,32 \pm 0,17$ mg/g.MF/t chez les graines de titicaca, et le génotype Q5 enregistre une valeur de $3,05 \pm 0,2$ cm qui est faible par rapport au génotype titicaca. Sous la concentration 20% de saccharose, la longueur radiculaire est encore plus faible comparativement au témoin avec $2,02 \pm 0,09$ cm chez le génotype titicaca qui a diminué beaucoup plus que le génotype Q5 en enregistrant une valeur de $2,55 \pm 0,12$ cm. En présence de la concentration 30% de saccharose, aucune graine n'a germé.

On remarque que la longueur de la radicule est faible de façon significative chez le génotype titi caca qu'au génotype Q5 du quinoa.

Chapitre -5-

Discussion et Conclusion

Discussion et Conclusion

La germination correspond au passage de l'état de vie ralentie à l'état de vie active, les réserves qui jusque-là assuraient le métabolisme résiduelle de l'embryon vont être activement métabolisés pour assurer la croissance de la plantule (**Lauernt et Ahmed, 1991**). Lorsque les conditions sont favorables, l'embryon reprend sa croissance et la graine germe.

Selon **Johnsson et al. (2000)**, le processus d'imbibition est une étape physiologique, primordiale pour la germination des graines des différentes espèces végétales.

Blum (1989), indique que l'évaluation de la teneur en eau des tissus constitue un paramètre de référence de la prédiction du déficit hydrique qui s'exprime par des pertes de turgescence des tissus végétaux. Cette stratégie regroupe l'ensemble des mécanismes qui permettent à la plante de maintenir un potentiel hydrique élevé, évitant la déshydratation des tissus et le maintien de son métabolisme cellulaire. Cette situation peut s'opérer grâce à deux voies principales ; la première consiste en une meilleure efficacité d'absorption de l'eau, à travers une modification de la dynamique de croissance (**Mukherjee et al., 1991**).

La germination des graines et la levée de la plante constituent des phases critiques pour la productivité de l'espèce et devient alors un facteur déterminant pour la réussite de la croissance des plantes dans les milieux salés (**Saritha et al., 2007**).

La synthèse de l' α -amylase est initiée au niveau de la couche des cellules à aleurone quand la germination commence (**Sirou et al., 1990 ; Sugimoto et al., 1998**) où l'environnement inductible est conditionné par les gibbérellines endogènes (**Xiaolu Zou et al., 2008**) au niveau des graines en germination.

Pour cette raison nous avons opté à étudier l'activité de l' α amylase au cours de la germination des graines de quinoa (*Chenopodium quinoa* L) soumises au stress hydrique par l'application de concentrations croissantes de la solution de saccharose, 10%, 20% et 30% suivie par la mesure de la longueur radriculaire après 72 heures de la germination de ces graines.

Les résultats enregistrés mènent aux conclusions suivantes :

Le processus d'imbibition des graines présente une étape primordiale pour la réalisation de la germination, exprimé par le poids frais des graines est influencé par les variations des niveaux hydriques ($p < 0.001$), en d'autre terme la situation hydrique provoque

la réduction du niveau d'absorption des graines des deux génotypes du quinoa mises en germination ($r=-0.256^{**}$).

Sous de la concentration 30% de saccharose, aucune graine n'a germé.

La réponse des deux génotypes titicca et Q5 aux différents niveaux hydriques est presque similaire ($r=0,036$).

Selon **Hardegre et Emmeriche (1994)** et **AlmnsouriL et al. (2001)** l'imbibition dépend inévitablement de la quantité d'eau disponible mais elle est grandement conditionnée par la qualité chimique de cette eau. L'imbibition ne se réalise que si les forces de liaisons de l'eau soient faibles.

Cette étude sur le processus d'imbibition des graines, permet de déterminer les différentes phases de la germination, notamment la phase stricto sensu, qui est, d'après Heller (2004), caractérisée par une stabilisation de l'hydratation et de l'activité respiratoire à un niveau élevé et qui succède la phase d'imbibition correspondant à une forte hydratation.

Le test d'imbibition utilisé nous a servi de déterminer la durée optimale à laquelle nous procédons à l'extraction de l'enzyme α -amylase et l'analyse de son activité. Pour cela on a adopté le temps 12 heures comme temps optimal.

Les variations de l'activité de l' α -amylase extraite des graines en germination exprimé par le taux d'hydrolyse de l'amidon ne dépendent pas de l'augmentation du niveau hydrique que ce soit chez le génotype titicaca ($r=0.102$) ou Q5 ($r=-0.225$).

On remarque que l'activité de l' α -amylase est faible mais de façon non significative chez le génotype Q5 par rapport au génotype titi caca du quinoa.

Selon Heller (2004), dès la fin de la phase d'imbibition, les réserves de l'albumen ou des cotylédons sont mobilisées. Les enzymes hydrolytiques nécessaires à l'hydrolyse des réserves et leur mobilisation sont alors synthétisées en abondance.

La germination des graines, marquée par la prolifération et la croissance cellulaire engendrent le développement de la racicule de l'embryon (**Schiefelbein et al., 1997**).

La phase de croissance a été suivie en mesurant après 72 heures la longueur de la racicule des graines du de quinoa en centimètre.

La situation hydrique a influencé de manière très significative la longueur de la racine des graines des deux génotypes du quinoa, en d'autres termes la réduction est très importante des racines quand le stress est élevé ($r=-0,941^{**}$).

On remarque que la longueur de la racine est faible de façon significative chez le génotype titi caca qu'au génotype Q5 du quinoa.

On peut conclure en disant que le stress hydrique provoque la réduction du niveau d'absorption des graines des deux génotypes du quinoa mises en germination, ainsi que les variations de l'activité de l' α -amylase extraite des graines du quinoa en germination exprimé par le taux d'hydrolyse de l'amidon ne dépendent pas de l'augmentation du niveau hydrique. La réduction de la longueur racinaire de la graine de quinoa est très importante quand le stress hydrique est élevé. Pour l'ensemble de ces paramètres étudiés, la réponse des deux génotypes titicca et Q5 du quinoa aux différents niveaux hydriques est presque similaire.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Listes des références

- **ANZALA F.J, 2006.** Contrôle de la vitesse de germination chez la Maïs (*Zea mays*) étude de la voie de Biosynthèse des acides aminés issus de l' aspartation et recherche de QTLs, thèse de doctorat ; Université d' Angers ; 148P.
- **ALMANSOURI M, KINET J.M , LUTTS S, 2001.** Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.).*Plant and soil* 231: 243-254
- **BAYUELO- JIMÉNEZ J.S , GRAIGR. and LYNCH J. P, 2002.** Salinity tolerance of *Phaseolus* species during germination and early seedling growth, *Crops Sc* 42. 1584-1594.
- **BENKOLLI M et BOUZEGHAIA B, 2016.** Étude biochimiques de dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) sous l' effet D' un stress oxydatif génère par un stress hydrique .Mémoire. Université , Mentouri. Constantine . P 1- 5 - 23.
- **BOIO, 2006.** Réponse of some Andean cultivars of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to temperature : effets on germination , phenology , growth and freezing . *EUR. J . Agron .*, 25 , 299- 308.
- **BOSQUE SHLEMEUR R, VANE DAMME P&JACOPSEN SE, 2003.** Ecophysiological analysis of drought and Salinity stress of Quinoa (*Chenopodium quinoa* .) *Food Rev . Ont.*, 19, 11@- 119.
- **BRACK EGG A, 2003.** Peru, diez mil años de domesticación . *Yima : Éditorial Bruno*
- **BEWLEY J.D, 1997.** Seed germination and plant dormancy , *Plant cell* 9 ,1055.
- **BOUCHOUKH I, 2010.** Comportement écophysiological de deux chénopodiacées des genres *Atriplex* et *Spinacia* soumises au stress salin P 16-29-6-35.
- **BLUM A, 1989.** Breeding methods for drought resistance. In « *Plant under stress* » JONES, H.G., FLOWRES, T.J.and JONES, M.B. Eds. Cambridge University Press, Cambridge, p. 197-215.
- **CABIDO M, ATEKA N, ASTEGIANO M, 1997.** Distribution of C3 and C4 grasses along and altitudinal gradient un central Argentina . *J. Biogeogr* 24, 197-204.
- **CHEANFI H , BOUZERZOUR H , AIDAOUIA ET SACI A, 2006.** Yield response of durum Wheat (*Triticum durum* Desf) Cultivar Waha to deficit irrigation under Semi - aride growth conditions. *Asian Journal plant Science* . 5; 854- 860.
- **FAO, 2011.** The state of Food insecurity on the world , Food and Agriculture Organisation of the United Nation , Rome <http://www.FAO.org> - Accessed : com 2013.

Références Bibliographiques

- **GANDARILLAS H, 1982.** El cultivo de la Quinoa , la paz Ministerio de Asuntos CompeSinos y Agropecuzria , Cento international de invetigaciones para et desarrollo.
- **GiLBERT, 2004.** Biologie du développement . 2éme édition . Traduction de 7 ème édition américaine .
- **HELLER R, ENAULT R ET LANCE C, 2004.** Physiologie végétale 2 (développement) Ed Dunod , Paris , France . P 64- 260.
- **HELLER R, ESNAULT R, LANCE C, 2004.** Physiologie végétale TOME I : développement .Edit Dunod. Paris .P :64-260.et TomeII
- **HARDEGRE S P, EMMERICH W E, 1994.** Seed germination response to polyethylene glycol (PEG 6000) solution depth. Seed. Sci &Technol., 22: 1-7.
- **HOPKINGS W, G, 2003.** Physiologie végétale 2ème èdition De Borck Bruxelles : P 309 - 362.
- **INDGE B , 2007.** La biologie de A à Z . Ed Dunod , Paris , France P 123 , 130.
- **JACOBSEN S, E MUJICA and JENSEN C, R, 2003.** The résistance of Quinoa (chenopodium quinoa Willd) to adverces abiotic factors . Food Reviens international 19 P 99 - 109.
- **JOHANSSON I, KARLSSON M, JOHANSSON U, LARSSON C, KJELLBOM P, 2000.** The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance. Biochem Biophys Acta1465:324-342.
- **KARA S ET ZERGUINE M, 2016.** Dosage des anthocyanes et de la glycine bêtine en conditions de stress hydrique et étude des mécanismes de tolérance chez dix variétés du blé dur (Triticum durum Desf) .Mémoire. Université des Frères Mentouri Constantine 1 P 1-9-19-28-29-34.
- **LAMAZE T , TOUSH D, SARDA X ,GRIGNON C, DEIGNY-THIS D, MONNEVEUX P, et BELHASSEN E, 1994.** Résistance des plantes à La sècheresse : mécanismes physiologique . le sèlectionneur Français ; 45,75,85.
- **LABDELLI AMINA, 2009.** Influence du déficit hydrique sur la physiologie de germination chez le blé dur (activité des amylases) ,.Mémoire. Université Ibn khaldoun de Tiaret . P 31.
- **LAFON J.P, THRAUD- PRAYERC ET LEVYG, 1996.** Biochimie structurale in Biologie des plantes cultivées . Tome1 : organisation physiologie de la nutrition 2eme édition . Tec et D'oc . Lavoisier .

Références Bibliographiques

- **LAURENT B, AHMED B, 1991.** La germination des semences en condition sèche. Science et changement planétaire, 1991. Volume 2, numéro 4. P : 239-249.
- **LEVYG, 1998.** Biologie des plantes cultivées . 2ème édition. . Paris ; pp:24- 27.
- **LEZZAR ET MEZIANI, 2015.** Recherche in silico et conception d' amorce des gènes de tolérance au stress abiotique chez le blé. Mémoire . Université des Frères Mentouri Constantine 1, p3-10.
- **MALLEK E , 2001.** Influence de la salinité sur certains aspects physiologique et métabolique de la tolérance au sel de tomates sensibles et Résistante thèse de doctorat en UFR de biologie . Paris : Science de la Nature.
- **MARIE HERBILLON, 2015.** Bioemco .ccsd . Cnrs.fr.
- **MUJICA A et CANAHUA A, 1989.** Fases fenológica del cultivo de la quinoa (chenopodium quinoa Willdenow) . On Curso Taller , Fenología de cultivos andinos y uso de la información geomeeteorológica. Salcedo, 7- 10 agosto, INIAA, EEZA-ILLPA, PICA, PICA. Peno, Peru. P.23-27.
- **MUKHEREJEE S, BRAHMACHARI S.K, and SARKAR H.K, 1991.** Variability study of root system in breed wheat (*Triticum aestivum* L.) at normal and restricted irrigation regimes. Environment and Ecology 9, p. 739-743
- **BNHABIB O, 2005.** Avis de l' Anes Saisine n 2011-SA-0188.
- **PACHO et MORLON, 1978.** Los sistemas radicales de las plantas de interés económico en el Altiplano de Puno : un estudio preliminar . Puno , 20p.
- **RAVEN , JOHNSON, LOSOS, SIGNER, 2007.** Biologie 7 Boeck et Larcier. 763P.
- **SCHIEFELBEIN, J. W., MASUCCI, J. D., AND WANG, H. 1997.** Building a root: The control of patterning and morphogenesis during root development. Plant Cell 9: 1089– 1098
- **SUGIMOTO N, TAKEDA G, NAGATO Y, YAMAGUCHI J, 1998.** Temporal and spatial expression of the α -amylase gene during seed germination in rice and barley. Plant Cell Physiol. 39, 323-333
- **SARITHA V, KURIAKOSE PRASAD MNV, 2007** Cadmium stress affects seed germination and seedling growth in *Sorghum bicolor* (L.) Moench by changing the activities of hydrolyzing enzymes. Plant growth regulation, 54: 143-156.
- **SIROU Y, LECOMMANDEUR D, LAURIERE C, 1990.** Specific enzymatic micro assays of α -amylase and β -amylase in cereals. J. Agric. Food Chem. 38, 171-177.

Références Bibliographiques

- **THRAUD-PRAYERC, 1998.** Biologie des plantes cultivées. 2ème édition. Paris ;pp 45- 58.
- **TAPIA MARIO, FRONT COVER, 1979 .** la Quinoa ya la hamea ; Cultivos andinos _Serie tibros y Materiales Educativos - 49; **Bogotá; IICH CIID. Vacher J.J., 1989 ; Losriesgos.**
- **TAPIA , 2000.** Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación . Quinoa (chenopodium quinoa Will) ancestral cultivo andino aliment del presente futuro. Mujica , A ., Jacobsen , S. E ., Izquierdo, J ., Marathe , J. P. et FAO(des) . CIP, UNAP. FAO, CD Cultivos Andinos, version 1.0 Santiago, Chile
- **WANG J. R, WEI Y. M, LONG X.Y, YANG ,Z.H.,NEVOE, BAUM B. R and ZHENG L, 2008.** Molecular evolution of dimeric. - amylase inhibitor genes in Wild emmer Wheat and its ecological association . Research article . BioMedcentral.
- **WILSON HD, 1990.** Quinoa and relatives (chenopodium Sect , chenopodium Subsect . celluleta. Econ . Bot , 454,93, 1102- Brack EggA., 2003. Pero., diez mil años de domestica tima ; Editorial Bruno.
- **XIAOLU ZOU, DAWN NEUMAN, and QINGXI J. SHEN, 2008.** Interactions of Two Transcriptional Repressors and Two Transcriptional Activators in Modulating Gibberellin Signaling in Aleurone Cells. Plant Physiology, Vol. 148, pp. 176–186