

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

par
Vincent de Moor

ÉTUDE SUR LA COMPOSITION DES GLYCOSIDES
DU SAPIN BAUMIER *ABIES BALSAMEA* (L.) MILL.

1994



Mise en garde/Advice

Afin de rendre accessible au plus grand nombre le résultat des travaux de recherche menés par ses étudiants gradués et dans l'esprit des règles qui régissent le dépôt et la diffusion des mémoires et thèses produits dans cette Institution, **l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** est fière de rendre accessible une version complète et gratuite de cette œuvre.

Motivated by a desire to make the results of its graduate students' research accessible to all, and in accordance with the rules governing the acceptance and diffusion of dissertations and theses in this Institution, the **Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** is proud to make a complete version of this work available at no cost to the reader.

L'auteur conserve néanmoins la propriété du droit d'auteur qui protège ce mémoire ou cette thèse. Ni le mémoire ou la thèse ni des extraits substantiels de ceux-ci ne peuvent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

The author retains ownership of the copyright of this dissertation or thesis. Neither the dissertation or thesis, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

RÉSUMÉ

Les glycosides sont une classe de composés qui présentent une grande panoplie de structures. À ce jour, leur rôle biologique n'a été traité que superficiellement dans la littérature. Ce projet porte sur la caractérisation des glycosides du sapin baumier et particulièrement de la partie aglyconique volatile qui les compose. Les objectifs spécifiques du projet sont :

1. Identifier les aglycones volatils des glycosides des aiguilles du sapin baumier et en établir la composition relative moyenne sur 15 individus.
2. Identifier quelques aglycones monoterpéniques liés en cooccurrence par leur teneur avec les monoterpènes de l'huile essentielle.
3. Identifier les structures phényles propanes liées susceptibles de participer à la biosynthèse de la lignine.
4. Caractériser d'une façon préliminaire quelques fonctions des structures moléculaires des composés isolés par CLHP préparatif à l'aide de la spectroscopie IR et UV-visible.
5. Établir pour quelques glycosides, l'évolution de la productivité primaire nette au cours de la saison estivale.

Note :

L'annexe 1 a été ajoutée lors de la correction du document. Il est axé sur le traitement statistique des données quant à l'établissement des chimiotypes ; de l'influence de la période de collecte ; et de la cooccurrence entre composés libres et liés. Il rend une interprétation plus objective des données et traduit un meilleur cheminement scientifique à la validation des résultats et à leur compréhension.



Vincent de la Torre

REMERCIEMENTS

La motivation profonde, suscitée au long d'un projet de recherche, naît du besoin d'assouvir sa curiosité quant aux hypothèses posées. Il va sans dire que l'intérêt manifesté en regard du projet dépend des ressources disponibles correspondant au plan d'oeuvre du travail et atteint son apogée lors de la présentation des résultats. Le soutien moral, la collaboration et l'aide apportés tout au long du cheminement par l'intermédiaire des membres de ma famille, de mes collègues de classe et de mes amis et particulièrement des professeurs et du personnel technique du département des sciences fondamentales m'ont été d'un grand secours.

Ainsi, je tiens à souligner le support de Monsieur François-Xavier Garneau, directeur de mon projet de maîtrise, de Monsieur Guy Collin, mon co-directeur et de Monsieur John ApSimon comme correcteur externe. Je remercie Mesdames France-Ida Jean et Hélène Gagnon pour l'aide technique apportée et Monsieur André Barette pour la disponibilité de certains produits chimiques et équipements de laboratoire. Je remercie mon ami d'enfance Michel Couillard pour la conception cartographique du site d'échantillonnage.

Je vous laisse donc à la lecture de ce mémoire, qui je l'espère, permettra de puiser des informations pertinentes à vos propres recherches.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIÈRES	iii
LISTE DES FIGURES	v
LISTE DES TABLEAUX	vi
LISTE DES ANNEXES	vii

CHAPITRE 1

"Revue de la littérature"

1.1 Introduction générale	2
1.2 Les chimiotypes comme variété d'espèces végétales	5
1.3 L'huile essentielle du sapin baumier	8
1.4 Les glycosides chez les végétaux : rôles et intérêts	10
1.5 La biogenèse des produits volatils libres et liés	15
1.6 Les objectifs de recherche	17

CHAPITRE 2

"Matériel et méthodes"

2.1 Phylogénie du sapin baumier <i>Abies balsamea</i>	20
2.2 Échantillonnage	20
2.3 Analyse de l'huile essentielle	26
2.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau	27
2.3.2 Identification des composés volatils	
2.3.2.1 Indice de Kovats	32
2.3.2.2 Spectrométrie de masse	34
2.3.3 Composition relative des composés volatils	35
2.4 Détermination des chimiotypes	36

2.5	Analyse des glycosides	40
2.5.1	Macération du matériel végétal	40
2.5.2	Les hydrolyses enzymatiques	41
2.5.3	Analyse des aglycones volatils	42
2.5.4	Caractérisation des structures moléculaires	
2.5.4.1	Séparation par chromatographie flash	44
2.5.4.2	Isolation de composés par CLHP préparatif .	46
2.5.4.3	Caractérisation par spectroscopie	48
2.5.5	Analyse de la partie glucidique	49
2.5.5.1	Identification par acétylation d'alditols	50
2.6	Évolution de la productivité primaire nette	51
CHAPITRE 3		
"Résultats et discussion"		
3.1	Caractérisation de l'huile essentielle	54
3.1.1	Analyse de l'huile essentielle	54
3.1.2	Rendement de l'huile essentielle	57
3.2	Identification des chimiotypes	58
3.2.1	Test du Khi-carré	58
3.2.2	Analyse de variance à deux dimensions	63
3.3	Caractérisation des glycosides	66
3.3.1	Les aglycones volatils	66
3.3.2	La partie glucidique	74
3.3.3	Caractérisation spectroscopique des composés [A], [B], [D] et [E]	75
3.4	Relation biochimique entre composés volatils libres et liés	77
3.5	Relation entre monoterpènes, glycosides et le développement de la plante	80
CONCLUSION		86
GLOSSAIRE		90
BIBLIOGRAPHIE		91
ANNEXES		96

LISTE DES FIGURES

1.	Représentation photographique du sapin baumier	4
2.	Modèle simplifié de la biosynthèse des monoterpènes	10
3.	Métabolisme secondaire chez les végétaux	16
4.	Métabolisme du glucoside de (+)-néomenthyle	17
	Site d'échantillonnage :	
5a.	Cartographie du site	22
5b.	Description du site	23
6.	Spécificité de l'entraînement à la vapeur d'eau	28
7.	Montage expérimental de l'entraînement à la vapeur d'eau	30
8.	Schéma de l'analyse des composés volatils libres et liés	43
9.	Montage d'une chromatographie flash	44
10.	Diagramme des valeurs centrées réduites des 4 monoterpènes	61
11.	Distribution de la composition relative des 4 monoterpènes	64
12.	Teneurs des monoterpènes libres et liés en cooccurrence	78
	Graphique sur l'évolution de la productivité primaire nette :	
13.	Pour des alcools aromatiques liés	82
14.	Pour des monoterpènes liés	83

LISTE DES TABLEAUX

1.	Phylogénie du sapin baumier	21
2.	Plan d'échantillonnage	25
3.	Caractéristiques des individus composant l'échantillon	26
4.	Conditions d'opération des chromatographes en phase gazeuse	32
5.	Progression de la chromatographie flash	46
6.	Paramètres des analyses spectroscopiques	49
7.	Données chromatographiques et spectrométriques de l'huile essentielle	55
8.	Identification et composition relative de l'huile essentielle	56
9.	Distribution des fréquences de variation des teneurs	62
10.	Analyse de variance à deux dimensions, résultats sommaires [Δ^3 -carène]	65
11.	Analyse de variance à deux dimensions, résultats sommaires des 4 composés	66
12.	Données chromatographiques et spectrométriques des aglycones volatils	70
13.	Identification et teneur moyenne des aglycones volatils	72
14.	Données chromatographiques des dérivés d'alditols	76
15.	Données spectroscopiques IR des composés [A], [B], [D] et [E]	76

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1.	Analyse statistique corrigée	96
* Composition de l'huile essentielle du sapin baumier :		
Annexe 2.	De l'échantillonnage du 3 juin 1993	105
Annexe 3.	De l'échantillonnage du 1er octobre 1993	107
Annexe 4.	Reproduction de chromatogrammes (huile essentielle)	109
* Composition des aglycones volatils :		
(Échantillonnage du 3 juin 1993) :		
Annexe 5.	Analyse (sur colonne DB-5 avec l'enzyme <i>Cellulase</i>)	111
Annexe 6.	Analyse (sur colonne Supelcowax-10 avec la <i>Cellulase</i>)	117
Annexe 7.	Analyse (sur colonne DB-5 avec la β - <i>Glucosidase</i>)	121
Annexe 8.	Analyse (sur colonne Supelco-10 avec la β - <i>Glucosidase</i>)	127
(Échantillonnages subséquents de juillet à octobre 1993) :		
Annexe 9.	Analyse (sur colonne DB-5 avec la <i>Cellulase</i>)	130
Annexe 10.	Reproduction de chromatogrammes (aglycones volatils)	151
* Données relatives aux composés isolés par CLHP préparatif :		
Annexe 11.	Reproduction de chromatogrammes (CLHP analytique)	153
Annexe 12.	Spectres IR et UV-visible des composés A, B, D et E isolés par CLHP préparatif	156
* Annexes complémentaires :		
Annexe 13.	Spectres de masse des monoterpènes libre et lié en cooccurrence et les structures moléculaires	161
Annexe 14.	Synonymes (anglicisés) de quelques aglycones répertoriés ...	167
Annexe 15.	Description de l'activité des enzymes ⁽⁴⁴⁾	169

CHAPITRE 1

"Revue de la littérature"

1.1 Introduction générale :

Le sapin baumier *Abies balsamea* (L.) Mill. (Pinacées), voir figure 1, est un arbre monoïque. Son écorce est lisse et ponctuée de vésicules résinifères. Il a des branches verticillées et étagées. Ses feuilles en forme d'aiguille sont disposées de part et d'autre de la tige sur un même plan. Il a des cônes dressés à écailles minces. C'est le plus septentrional de tous les sapins du monde, atteignant la latitude Nord de 58° dans l'Ungava. Il s'accommode de tous les habitats mais il préfère un climat froid et un sol constamment humide. Durant une période de 4 à 5 ans sa croissance est lente, ensuite elle s'accélère jusqu'à l'âge de 60 ans, pour diminuer et s'abolir vers 150 ans. Bien qu'un adulte produise des graines tous les ans, il se reproduit également par marcottage⁽¹⁾.

Son bois léger, mou, à grain grossier et assez blanc est destiné à des usages secondaires (bois de pulpe, etc.). Son écorce fournit un produit universellement connu sous le nom de "baume du Canada" et "gomme de sapin" au Québec servant au montage de préparations microscopiques et à l'assemblage optique. Il a été un des éléments essentiels de la médecine populaire des Canadiens français qui l'utilisaient à titre de remède antiscorbutique, d'antiseptique sur les blessures et de cataplasmes sur les brûlures⁽¹⁾.

Les glycosides, (ou hétérosides) constituent les principes actifs de plusieurs drogues végétales⁽²⁾. Ils résultent de la combinaison du groupe réducteur d'un sucre et du groupement hydroxyle, thiol ou amine de l'aglycone, avec élimination d'eau, pour former une liaison acétale. Ainsi, on parle de O-glycoside, S-glycoside, N-glycoside et parfois de C-glycoside dépendant de l'atome. L'attachement de ou des unité(s) glucidique(s) s'effectue en un ou plusieurs points sur l'aglycone et peut parfois se lier au même point en formant une chaîne polyosidique de quelques glucides. Ils regroupent un large éventail de structures qui s'apparentent à divers types de produits naturels.

Le carbone de la fonction acétale du glycoside est anomérique, du moins en absence d'acide. Il répond négativement aux tests de Fehling et de Tollens car ce sont des glucides non réducteurs. Ces glucides sont indifférents aux réactifs qui attaquent les groupes carbonyles, une telle protection peut s'avérer utile en synthèse et en analyse structurale⁽³⁾.

Ce projet consiste à caractériser les glycosides présents chez *Abies balsamea*. De plus, les objectifs spécifiques ont permis de vérifier la cooccurrence entre monoterpènes libre et lié, de caractériser les alcools phényles propanes et de vérifier l'évolution des compositions sur la base du développement de la plante. L'aspect expérimental est également discuté afin de souligner les limites des résultats. La compréhension des rôles dévolus à ces composés doit être approfondi, c'est l'intention avouée de l'auteur.

Représentation photographique du sapin baumier



Fig. 1

a) Cônes

b) Feuillage

c) Écorce

d) Arbre

1.2 Les chimiotypes comme variété d'espèces végétales :

La teneur des terpènes majeurs versus leur fréquence observée chez une espèce ne se confond pas nécessairement à une distribution normale⁽⁴⁾. Ce fait semble démontrer que la biosynthèse des monoterpènes n'est contrôlée que par quelques gènes⁽⁵⁾. Cet aspect est utilisé en chimiotaxonomie pour la classification des espèces. Une telle étude n'est possible que si la composition présente une faible variation sur un même individu et entre individus d'une même espèce par rapport à celle observée chez les autres espèces⁽⁶⁾. De plus, leur variation saisonnière doit être limitée⁽⁷⁾.

Le sapin baumier présente une chimiovariation entre population de l'Est et de l'Ouest du continent. Elle serait expliquée par une évidence paléobotanique. Zavarin et Snajberk⁽⁴⁾ concluent de leur résultat que la ségrégation observée de la population *Abies balsamea* entre l'Est et l'Ouest du continent est tributaire de la longue séparation de la population au cours d'une glaciation durant laquelle, une altération génétique sur *Abies balsamea* a conduit à l'apparition de *Abies fraseri* à l'Est. Ils mentionnent également la possibilité d'un cline relatif à un gradient de précipitation pour *Abies balsamea*. Hunt et von Rudloff⁽⁶⁾ suggèrent que *Abies lasiocarpa*, *Abies balsamea* et *Abies fraseri* proviennent du même ancêtre originaire du Nord Ouest de l'Amérique et qu'*Abies balsamea* présenterait une introgression avec *Abies Lasiocarpa* à

l'Ouest du continent. La population occidentale d'*Abies balsamea* constituerait un cline entre les deux espèces.

Le sapin baumier présente à lui seul, une grande variabilité dans la teneur de certains monoterpènes^(4,7). L'utilisation de calculs statistiques du Khi-carré pour arriver à des corrélations systématiques⁽⁴⁾ et de programmes informatisés à l'établissement de contour d'agréations des populations⁽⁸⁾ permet d'arriver à ces conclusions. Les variations saisonnières observées semblent négligeables lorsque le feuillage est collecté de la fin août jusqu'à mars alors que celui collecté en été a démontré une variation significative spécialement dans les nouvelles pousses⁽⁶⁾.

Kenzo Kawai et al⁽⁹⁾ ont observé sur deux populations d'*Abies sachalinensis* une chimiovariation pour deux groupes de sesquiterpènes, soit le groupe de la juvabione et celui de l'épijuvabione. Cette chimiovariation réside en la présence unique de l'un des deux isomères. Ils ont utilisé l'élévation du site comme variable exogène et l'âge des individus comme variable endogène, mais le faible effectif de l'échantillonnage ne permet pas de détecter une influence de ces dernières.

Un aspect du projet a consisté à identifier les monoterpènes libres qui présentent une chimiovariation importante pour le sapin baumier. Cette étape est la prémisse pour retracer les composés monoterpéniques liés en cooccurrences avec ces derniers.

Sur la base d'un équilibre chimique existant entre ces deux formes d'entité, un même échantillon d'individus présentera un même patron de la distribution des teneurs du monoterpène lié qu'au composé libre qui lui est associé. Comme la constante d'équilibre chimique ne varie que si les conditions du milieu changent, le rapport entre les deux formes libre et liée doit demeurer constant pour une même période d'échantillonnage. Donc, la cooccurrence entre monoterpènes libre et lié sera observée par le patron des teneurs dans l'échantillon. Cette cooccurrence n'est possible que si le métabolisme est intimement associé entre composés libre et lié⁽¹⁰⁾.

La méthodologie consiste à caractériser l'huile essentielle de chaque individu sur un échantillon représentatif afin d'attribuer le patron des teneurs respectif à chaque monoterpène libre. L'huile essentielle est analysée par deux systèmes chromatographiques capillaires en phase gazeuse dont l'un à double colonne capillaire (CG) équipé de détecteurs à ionisation par la flamme (FID). L'autre système est couplé à un spectromètre de masse (CG-SM). Les composés sont identifiés au moyen du calcul des indices de Kovats et par spectrométrie de masse. Leur composition relative est établie à partir des chromatogrammes du système équipé de détecteurs FID sans correction des facteurs de réponse. Pour chaque composé majeur répertorié, on procède à un test statistique du Khi-carré^(*) afin de comparer leur distribution des teneurs à une distribution normale. Cette chimiovariabilité correspond à la non conformité d'une

distribution normale des fréquences centrées réduites des compositions relatives obtenues d'un échantillon représentatif. Une analyse de variance à deux dimensions^(*) permet de restituer la variabilité observée en ses composantes dimensionnelles : la période de collecte, la variation inter-individuelle et celle attribuée à l'erreur expérimentale. Ce test nous assure que la variabilité des teneurs observées n'est relative qu'à la variation inter-individuelle et non entre période de collecte. La période de collecte représente un biais nécessitant d'être contrôlé.

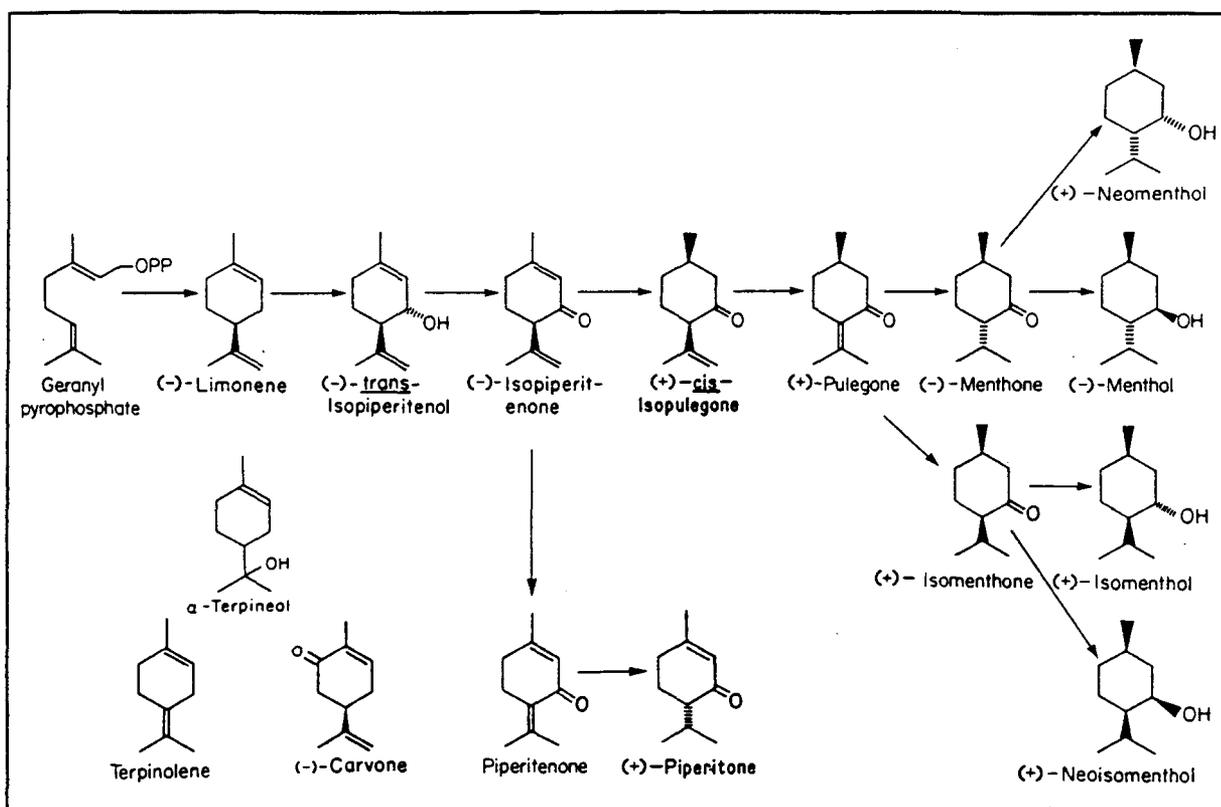
1.3 L'huile essentielle du sapin baumier :

Les composés de l'huile essentielle ont déjà été identifiés pour le sapin baumier⁽⁷⁾. La biosynthèse des monoterpènes est bien commentée dans le volume Abrégé de biochimie végétale⁽²⁾. Leur origine émane du cycle de la dégradation des glucides en acide pyruvique. Ce dernier se transforme en acétyl-CoenzymeA (CoA) qui réagit avec une autre molécule d'acétyl-CoA sous l'influence d'une β -cétotiolase pour former l'acétoacétyl-CoA. Une enzyme fixe une troisième molécule d'acétyl-CoA produisant le β -hydroxy- β -méthylglutaryl-CoA, lequel par réduction du groupement carboxyle combiné au CoA se

(*) Voir annexe 1

transforme en deux étapes par le NADPH en acide mévalonique. L'acide mévalonique est alors phosphorylé à deux reprises par l'ATP produisant le pyrophosphate de 5-mévalonyle. Ainsi activée et en présence d'ATP, cette molécule est convertie en pyrophosphate d'isopentényle par la perte de gaz carbonique, de phosphate et d'ATP. Ce dernier s'isomérisé en pyrophosphate de diméthylallyle précurseur de tous les terpènes. Deux de ces molécules se combinent pour former le pyrophosphate de géranyle intermédiaire à la synthèse des monoterpènes (C_{10}). L'addition subséquente d'autres unités de pyrophosphate de diméthylallyle conduit à la formation de pyrophosphate de farnésyle précurseur des sesquiterpènes (C_{15}) puis de pyrophosphate de géranylgeranyle qui est à l'origine des diterpènes (C_{20}), etc. Les terpènes prennent différentes structures et se retrouvent sous différents états d'oxydation. Un tel modèle a été étudié pour *Abies balsamea*⁽¹⁰⁾. La figure 2 présente un modèle schématisé de la biosynthèse des monoterpènes des espèces *Mentha*⁽¹¹⁾. Ce modèle qui présente la séquence chronologique de l'apparition des monoterpènes libres est conforme à la théorie biogénétique, selon laquelle les premiers constituants de la chaîne sont pauvres en hydrogène.

Modèle simplifié de la biosynthèse des monoterpènes

Fig. 2 Rodney Croteau⁽¹¹⁾

1.4 Les glycosides chez les végétaux : rôles et intérêts

Rôles des glycosides :

Le rôle des glycosides est à ce jour mal défini⁽¹²⁾ et leur très grande variété leur promulguerait des fonctions diversifiées⁽²⁾. Suite à diverses expériences, les hypothèses suivantes ont vu le jour :

Certains les considèrent comme des produits de déchet ou d'élimination des substances toxiques. Les phénols, substances nocives qui se forment fréquemment lors du métabolisme secondaire, seraient ainsi neutralisés. Les études sur des plantes résistantes, telles que les graminées et les céréales ont démontré qu'ils forment des conjugués hydrosolubles avec les sucres⁽¹³⁾. Le 2,4-D, l'acide (dichloro-2,4 phénoxy) acétique utilisé comme désherbant en agriculture, se retrouve en partie métabolisé dans la plante sous forme glucosidique^(14, 15).

Plusieurs travaux ont suggéré que les glycosides participeraient à la biosynthèse de la lignine. Merkx et Svendsen⁽¹⁶⁾, Marcinowski et al⁽¹⁷⁾ et Siegel⁽¹⁸⁾ traitent de ce sujet. Merkx et Svendsen⁽¹⁶⁾ ont conclu à la participation des glycosides dans la biosynthèse de la lignine du fait de la présence d'eugénol lié, un composé de la classe des phényles propanes, qui a été retracé chez beaucoup de végétaux. Siegel⁽¹⁸⁾ a établi une voie de conversion de l'eugénol et autres para-hydroxyphénylpropanes en lignine. Marcinowski et al⁽¹⁷⁾ ont recherché les sites impliqués à la transformation de la coniférine (l'alcool coniférylique β -D-glucoside) en lignine.

Se référant à plusieurs travaux, Rodney Croteau⁽¹¹⁾ conclut que les glycosides ont un rôle d'agent de transport de dérivés monoterpéniques puisque le lieu de leur catabolisme est différent de leur site de synthèse. Les monoterpènes ainsi transportés seraient transformés en lipides dans les racines

ou les rhizomes et permettraient de recycler le carbone ou d'être éventuellement oxydés pour produire de l'énergie.

Hoque⁽¹⁹⁾ affirme que le rapport relatif entre le *p*-hydroxy acétophénone lié et libre varie en réponse à un stress chez l'épinette de Norvège causant ainsi un jaunissement des aiguilles lorsque le rapport du composé libre est élevé. Ce fait amène à conclure que la glycosylation serait un moyen de protection utilisé par la plante pour inhiber la toxicité de certains composés comme ceux de la classe des composés phénoliques.

Aujourd'hui, on s'accorde à dire que les glycosides sont des agents de transport et d'entreposage des aglycones. Ils permettent le recyclage du carbone et de l'énergie. Ils sont liés au métabolisme des composés terpéniques et agissent comme intermédiaires à la biosynthèse de la lignine.

Stahl-Biskup et al⁽¹²⁾ affirment que le sujet n'a été abordé que superficiellement et que des observations récentes contredisent les hypothèses émises. Ils citent : "On ne peut réellement conclure à leur implication dans la biosynthèse ou le métabolisme de l'huile essentielle tel que décrit par Banthorpe et Mann⁽²⁰⁾, Francis et Allcock⁽²¹⁾ et Croteau⁽²²⁾ ou qu'ils ne doivent avoir comme unique fonction le rôle d'agent de transport de terpènes et autres volatils comme le mentionnent Skopp et Hörster⁽²³⁾". Leur rôle concernant leur implication dans le métabolisme de huile essentielle n'est pas tant évident. Les faits rapportés font mention de la faible similarité existant entre les structures glycosidiques

et monoterpéniques en regard de la grande panoplie de structures rencontrées pour l'huile essentielle et limitées pour celles des glycosides. Ce fait présume que leur rôle à cet égard est réduit. La solubilité de terpènes alcooliques et phénoliques n'est pas très différente s'ils sont libres ou liés glycosidiquement. Ainsi, à 20 °C, le thymol lié glycosidiquement montre un peu plus de solubilité que le thymol libre, atténuant son objet comme agent de transport. Stahl-Biskup et al⁽¹²⁾ proposent, comme Hoque⁽¹⁹⁾, que la plante, pour se protéger efficacement des effets toxiques causés par les composés lipophiliques oxygénés volatils, a développé la glycosilation *in vitro* comme moyen de protection afin d'inhiber leur toxicité. Ce modèle de glycosylation restreint le choix des composés monoterpéniques pouvant être glycolysés à ceux présentant une fonction oxygénée telle un alcool.

Bien que toutes hypothèses soient discutables, elles sont utiles pour développer une méthodologie expérimentale afin de poursuivre l'étude du métabolisme secondaire des végétaux. C'est ainsi que Schulz et Stahl-Biskup⁽²⁴⁾ ont recherché la cooccurrence dans les deux classes de monoterpènes libres et liés, des composés présentant une structure similaire à la pinocamphone et l'isopinocamphone qui sont les monoterpènes les plus représentatifs chez *Hyssopus officinalis* L. (Lamiaceae). Ils ont analysé les composés libres et liés dans différentes parties physiologiques de la plante à trois stages de développement. Leurs résultats ne leur ont pas permis de supporter ou de

désapprouver l'hypothèse de la participation des glycosides dans le métabolisme ou le catabolisme de l'huile essentielle.

Intérêts des glycosides :

Tout comme la recherche des rôles dévolus aux glycosides motivait les scientifiques, l'intérêt qu'on leur portent est tout aussi intéressant. Ainsi, quelques articles scientifiques concernant l'identification de ces composés prennent leur origine dans l'activité phytothérapeutique reconnue chez l'espèce dont ils sont issus. La revue des publications sur les terpènes glycosylés de Pfander et Stoll⁽²⁵⁾ mentionne la grande activité biologique des triterpènes glycosylés à présenter un caractère antiviral, antitumoral, spermicide et contraceptif. K. P. Tiwari et Minocha⁽²⁶⁾ mentionnent en prémisses à leur article que plusieurs espèces *Abies* sont regardées comme agent carminatif, expectorant, stomachique, toxique, et astringent. Rappelons que la résine de sapin baumier a fait partie des remèdes des canadiens français⁽¹⁾. Comme il est aisé d'identifier chez la plante hôte les composés susceptibles de présenter ce caractère thérapeutique, la recherche de tels composés se poursuit.

On considère également qu'ils peuvent être une source d'arôme supplémentaire pouvant être exploitée, idée qui a été évoquée lors de la 7e journée internationale des Huiles essentielles à Digne-les-Bains où Ambid et

Feron⁽²⁷⁾ ont présenté une communication titrée : Les glycosides : intérêt dans l'industrie des arômes et des parfums. Günata et al⁽²⁸⁾ ont entrepris l'analyse des glycosides de quelques variétés de raisins, afin de vérifier leur impact sur les arômes des vins élaborés. Leurs résultats démontrent que les glycosides influent de façon marquée sur la qualité.

1.5 La biogenèse des produits volatils libres et liés :

Un schéma du métabolisme secondaire chez les végétaux est présenté à la figure 3. Les principales voies de biosynthèse des produits naturels y figurent. Bien que plusieurs classes de composés y soient présentées, l'accent est porté sur la biosynthèse des monoterpènes et des phényles propanes.

Lorsque les premiers travaux portant sur la participation des glycosides dans le métabolisme des monoterpènes parurent, la séquence (pyrophosphate de géranyle > géranyle- β -D-glucoside > monoterpènes) les désignait comme précurseurs des monoterpènes. Des travaux subséquents, relatifs à leur déplacement du site de biosynthèse au site du catabolisme pour permettre le recyclage du carbone et de l'énergie, les ont plutôt associés à un mécanisme de transport des monoterpènes.

Métabolisme secondaire chez les végétaux

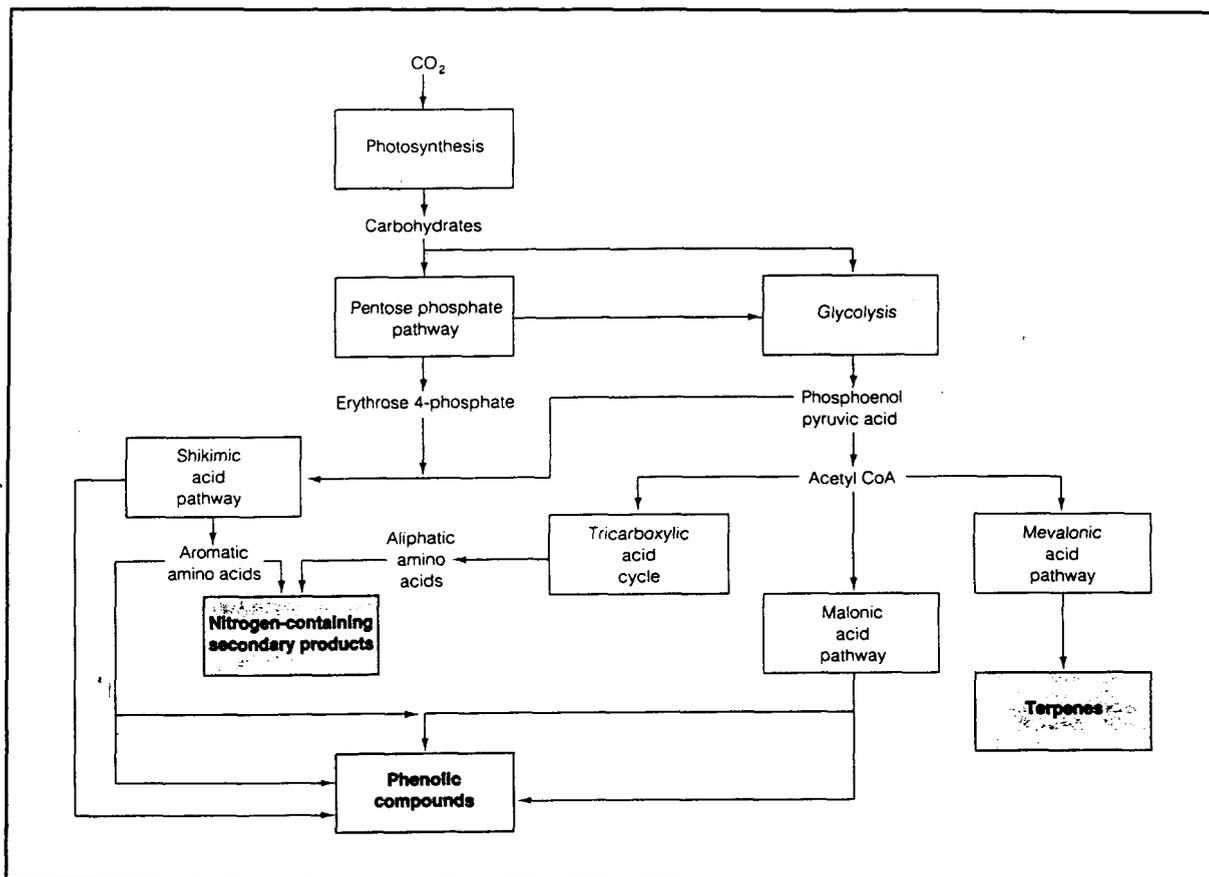


Fig. 3 Taiz et Zeiger⁽²⁹⁾

Encore aujourd'hui, la réponse est incomplète et d'autres études seront nécessaires à établir leur rôle exact face aux terpènes. La figure 4 présente la séquence réactionnelle impliquée dans le métabolisme du néomenthyle glucosylé, dont le produit final est assimilable par les microorganismes comme une source de carbone et d'énergie. Le maintien de l'équilibre métabolique et catabolique serait l'objet des glycosides chez la plante⁽¹²⁾.

Métabolisme du glucoside de (+)-Néomenthyle

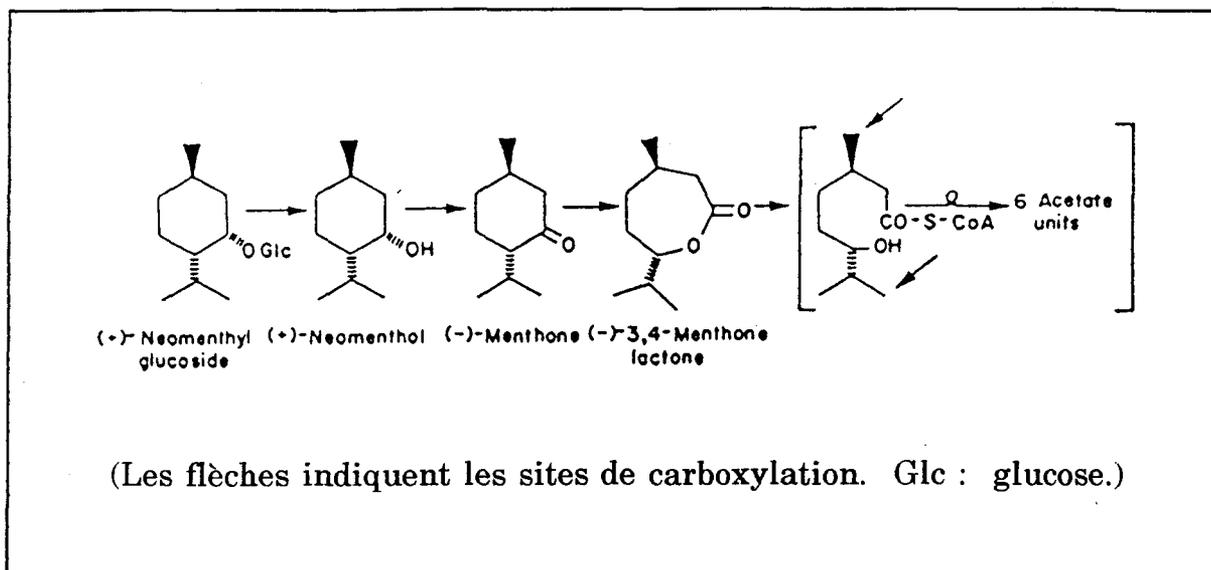


Fig. 4 Rodney Croteau⁽¹¹⁾

1.6 Les objectifs de recherche :

Le but principal de ce projet consiste à caractériser les composés volatils liés des aiguilles. L'identification et la teneur relative des glycosides ont été établies sur un échantillon de 15 individus. Les objectifs secondaires visaient d'une part à vérifier l'existence d'un lien métabolique entre monoterpènes libres et liés en corrélation de la cooccurrence des teneurs respectives. Un test statistique basé sur la cooccurrence de ces deux classes de composés^(*) est de

(*) Voir annexe 1

nature à fournir une nouvelle approche à la compréhension du métabolisme des végétaux pour les espèces présentant une chimiovariation importante de leur monoterpènes. En second, on a observé l'évolution de la teneur de ces composés à différents stages de développement durant la période de croissance pour étudier les variations de la productivité primaire nette (P_n) de ces métabolites dans les feuilles, cette P_n consiste en la quantité de glycosides emmagasinée dans les feuilles par unité de temps. Cette P_n est un bon indicateur de la productivité primaire (P) définie comme étant la quantité totale de glycosides emmagasinée et consommée dans les feuilles. Les alcools phényles propanes ont été répertoriés afin de retracer de possibles intermédiaires à la biosynthèse de la lignine. Finalement, quelques composés isolés par chromatographie liquide haute performance (CLHP préparatif) ont été étudiés au moyen des techniques spectroscopiques courantes de l'infrarouge (IR) et de l'ultraviolet et visible (UV-visible).

CHAPITRE 2

"Matériel et méthodes"

2.1 Phylogénie du sapin baumier *Abies balsamea* :

La phylogénie du sapin baumier *Abies balsamea*⁽¹⁾ conduit à la lignée des pinacées qui appartiennent au groupe des plantes vasculaires. Il fait partie de la division des spermatophytes. Les spermatophytes se divisent en deux sous-divisions: les gymnospermes dont le sapin baumier fait partie et les angiospermes. Cette sous-division des gymnospermes comprend un groupe relativement peu nombreux de plantes vasculaires, dont la plupart sont communément désignées sous le nom de conifères. L'ovule de ces plantes, qui n'est pas complètement enveloppé dans un ovaire, n'est le siège que d'une seule fécondation : celle de l'oosphère qui donne par développement l'embryon proprement dit. La classification botanique de l'espèce est schématisée au tableau 1.

2.2 Échantillonnage :

Les paramètres estimés utiles à caractériser les individus de l'échantillon et les procédures liées à la collecte du matériel végétal ont été tirés de la littérature^(6, 7, 9).

Tableau 1

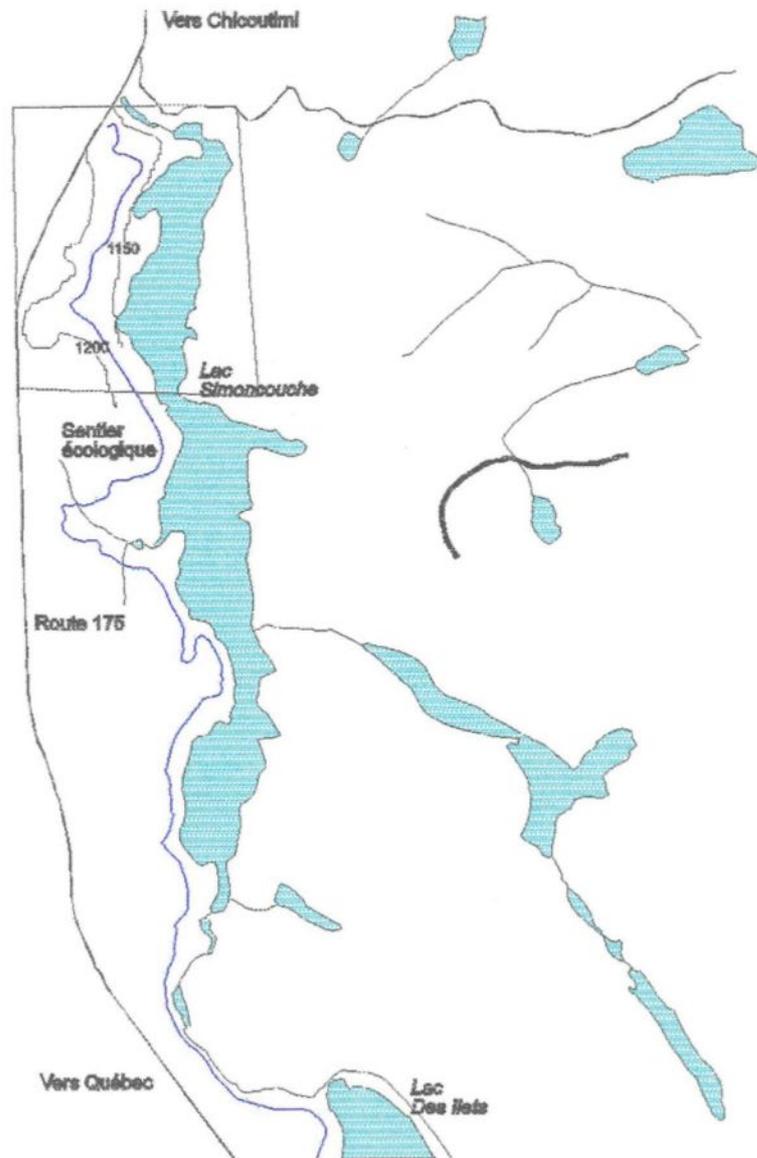
Phylogénie du sapin baumier

Plantes terrestres à organes différenciés							
Non vasculaires		Vasculaires					
Bryophytes		Cryptogames vasculaires			Plantes à graines		
Hépa- tiques	Mousses	Lycopo- diales	Équisé- tales	Filicales	sans pistil	Plantes à fleurs (angiospermes)	
					Gymno- spermes	Dicoty- lédones	Monoco- tylédones
					Conifères		

Description du site d'échantillonnage :

Le site est localisé dans le secteur écologique du lac Simoncouche à l'extrémité Nord-Ouest du lac (latitude 48°15' ; longitude 71°15'), voir la figure 5a. L'élévation du site se situe dans la fourchette des 340-360 m. La figure 5b présente le type de sol et la végétation forestière rencontrés. Le sable, le gravier et la tourbe épaisse sablonneuse caractérisent le type de sol, alors que la végétation forestière est constituée de feuillus avec résineux. L'échantillon est composé de quinze individus. Trois individus sont localisés du côté Sud d'un chemin menant au lac et douze autres sont répartis sur les bordures du sentier écologique longeant la rive Ouest du lac. Leur localisation près du chemin et du sentier réduit l'effet du gradient d'ensoleillement qui existe entre l'étage

Secteur écologique Lac Simoncouche Parc des Laurentides 1994



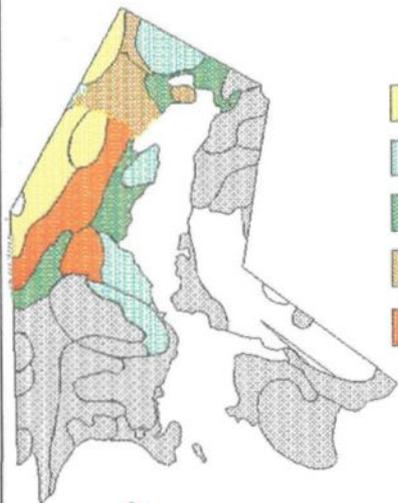
Source: Groupe de Recherche
en Productivité Végétale

Michel Couillard

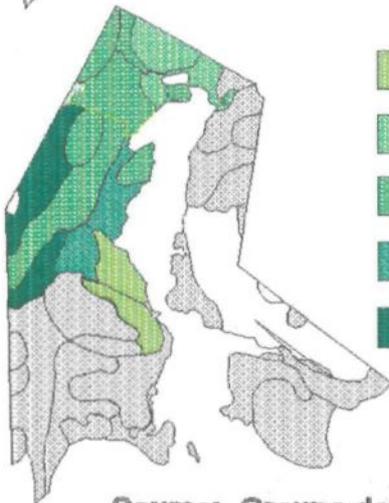
Fig. 5a

Fig. 5b

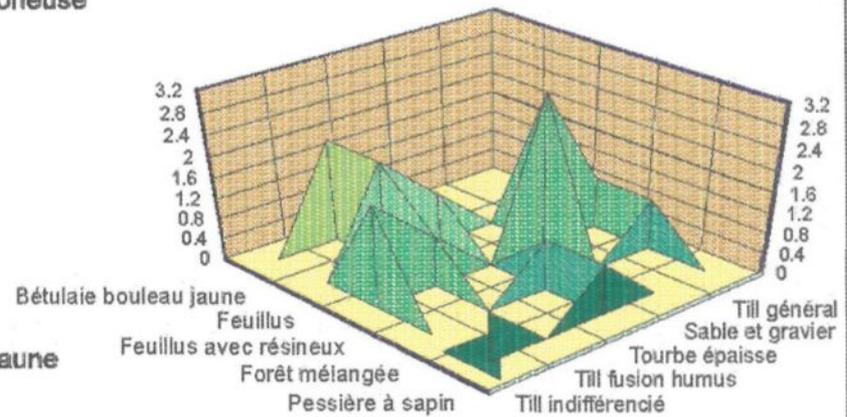
Site d'échantillonnage Secteur nord sentier écologique Lac Simoncouche 1994



- Till indifférencié et de fusion
- Till de fusion et humus sur roc
- Tourbe épaisse sablonneuse
- Sable et gravier
- Till général



- Bétulaie à bouleau jaune
- Feuillus
- Feuillus avec résineux
- Forêt mélangée
- Pessière à sapins



Source: Groupe de Recherche en
Productivité Végétale

Michel Couillard

supérieur et le sous étage généralement observé dans la forêt. Les individus ne dépassent pas six mètres de hauteur et leur accès en est facilité.

Procédures expérimentales :

Les branches sont prélevées à différentes hauteurs à l'aide d'un sécateur muni d'un manche télescopique. Le diamètre hauteur poitrine (DHP) est mesuré lors du premier et du dernier échantillonnage. L'âge approximatif des individus a été établi en octobre par le décompte des cernes de croissance sur 2 carottes prélevées du tronc à près de 30 cm du sol à l'aide d'un carottier de Pressler⁽³⁰⁾. Le matériel végétal consiste de branches fournies en aiguilles prélevées à différents niveaux. Le matériel est déposé dans un sac en jute identifié au numéro de l'individu. Pour l'analyse de l'huile essentielle, 3 branches par individu sont prélevées au 3 juin et au 1er octobre. Les branches sont conservées à -12 °C dans une pièce réfrigérée et les analyses sont réalisées au cours des 2 semaines ultérieures aux périodes de collecte. Une partie du matériel végétal échantillonné au 3 juin est conservée pour l'analyse des aglycones sur chacun des individus. Les échantillonnages subséquents du 1er juillet, août, septembre et octobre 1993 ont été réalisés selon cinq regroupements d'individus. Ces regroupements reposaient sur une composition homogène des monoterpènes Δ^3 -carène, pipéritone et thymol obtenue de

l'analyse de l'huile essentielle des échantillons du 3 juin. L'échantillon consiste en 2 branches par individu pour les regroupements populeux A et C, puis de 3 branches pour les moins populeux B, D et E, voir le plan d'échantillonnage résumé au tableau 2. Ces branches sont disposées sur du papier buvard et laissées à sécher aux conditions de la pièce durant plus de 3 semaines. Les aiguilles seules sont alors prélevées et disposées dans des sacs de papier brun, format lunch. Les sacs sont entreposés à la température ambiante pour analyse ultérieure des aglycones. Le tableau 3 met en relief les caractéristiques de chaque individu composant l'échantillon.

Tableau 2
Plan d'échantillonnage

Date de collecte	Branches collectées	Paramètres étudiés (nombre, mode de collecte)
3 Juin 1993	3 (50-100cm)	Huile essentielle et glycosides (15, individuel)
1 ^{er} juillet	2 ou 3 (20-30cm)	glycosides (5, regroupement)
1 ^{er} août	2 ou 3 (20-30cm)	glycosides (5, regroupement)
1 ^{er} septembre	2 ou 3 (20-30cm)	glycosides (5, regroupement)
1 ^{er} octobre	3 (50-100cm)	Huile essentielle (15, individuel) et glycosides (5, regroupement)

Tableau 3

Caractéristiques des individus composant l'échantillon

Individu #	DHP (cm)		Âge (année)	Regroupement ⁽¹⁾
	3 juin	1er octobre		
1	9,1	9,6	33	A, C
2	7,2	7,2	23	A, C
3	6,0	6,5	22	C
4	5,8	6,3	29	A, C
5	7,9	8,1	26	B, C
6	9,9	10,1	27	B, C
7	10,8	11,3	26	A, C
8	9,0	9,5	25	A, C
9	6,9	7,3	22	A, C
10	7,6	7,9	22	A, C
11	9,7	10,5	21	A
12	10,5	10,9	19	B, D
13	7,7	8,3	28	D
14	8,0	8,6	25	A
15	7,7	7,9	27	E

(1) Les regroupements sont caractérisés par les compositions relatives de : A (Δ^3 -carène > 10%) ; B (absence de Δ^3 -carène) ; C (pipéritone < 0,5%) ; D (pipéritone > 10%) ; E (Thymol ~ 3,2%) établie sur le matériel collecté au 3 juin 1993.

2.3 Analyse de l'huile essentielle :

Hunt et von Rudloff⁽⁶⁾ ont établi que les mesures quantitatives des terpènes chez *Abies balsamea* permet une étude chimiotaxonomique des populations orientale et occidentale. Zavarin et Snajberk⁽⁴⁾ ont utilisé les calculs statistiques afin de corréliser systématiquement leurs résultats. À la suite des expériences préliminaires de Hunt et von Rudloff⁽⁶⁾ sur la faible

variation de la composition individuelle de la fin août jusqu'à mars et aux conclusions de von Rudloff et Granat⁽⁷⁾ "Puisque l'huile des ramilles et des bourgeons ne présente pas une grande variation en automne et en hiver, une variation sur le plan géographique ou une différenciation taxonomique grossière peut être obtenue de la composition des terpènes à partir du feuillage total". Un simple test du Khi-carré, fondé sur la normalité des fréquences observées, permet de comparer les distributions centrées réduites des fréquences de compositions relatives observées pour chaque composé de l'huile essentielle à une distribution normale centrée réduite. Ce test permet d'identifier les composés présentant une chimiovariation importante. Scherrer⁽³¹⁾ mentionne les conditions d'application du test du Khi-carré : au moins 80% des classes doivent contenir une fréquence de 5 éléments et si l'effectif total est inférieur à 20, il faut appliquer la méthode exacte. L'utilisation de trois classes de 5 éléments permet de répondre aux conditions d'application du test "voir annexe 1".

2.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau :

La première étape consiste à extraire les composés de l'huile essentielle. Comme le démontre la figure 6 tirée de la publication⁽³²⁾, la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau est spécifique aux composés apolaires qui constituent l'huile essentielle. Le principe exige que les produits à entraîner

Spécificité de l'entraînement à la vapeur d'eau

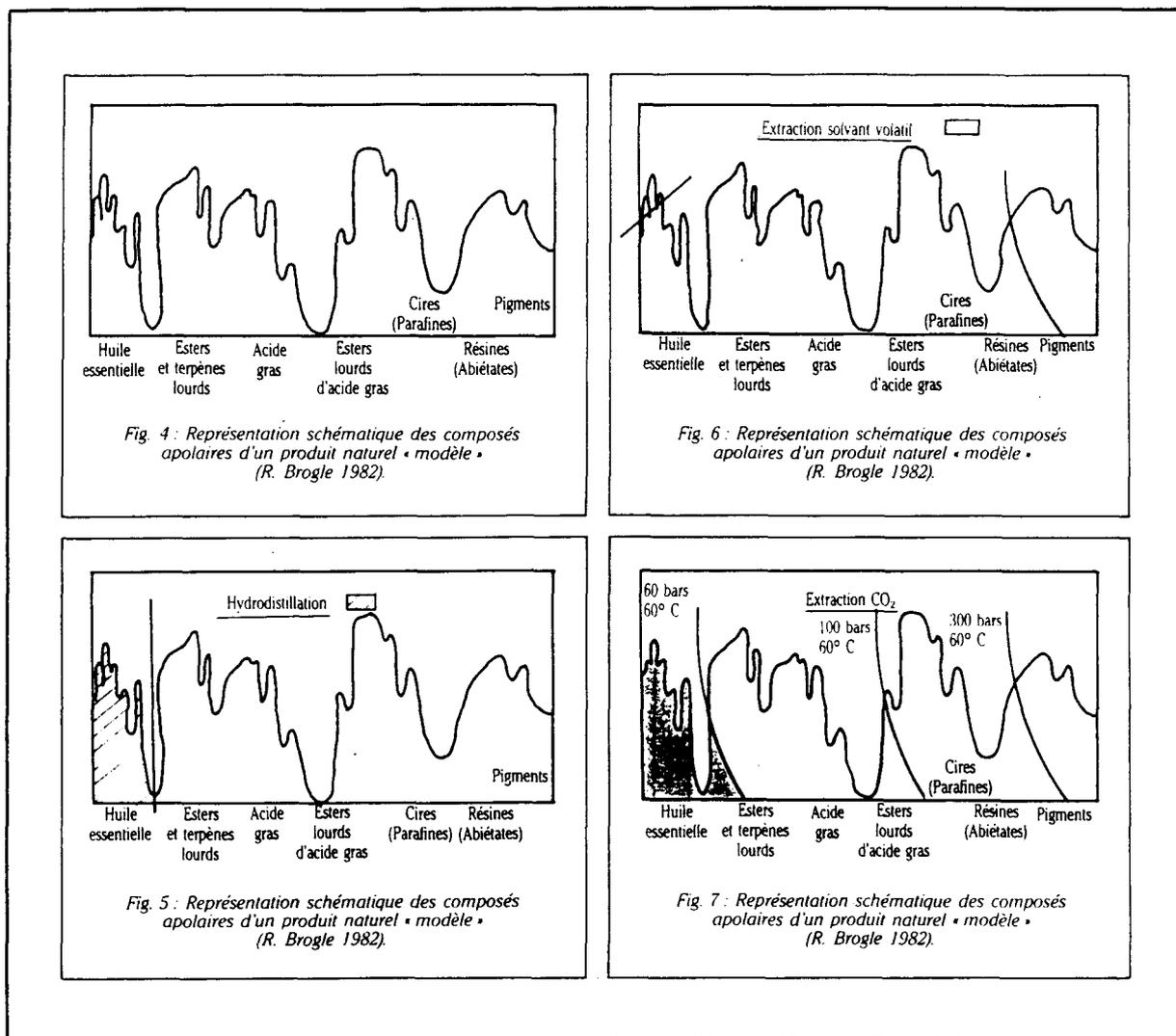


Fig. 6 Parfums, cosmétiques, arômes, No. 71, pp. 61-67⁽³²⁾

possèdent une tension de vapeur suffisante à la température d'ébullition. De plus, ils doivent être libres dans la matrice végétale. Le facteur limitant la technique est relié à la réactivité de quelques composés qui, en présence d'eau,

conduisent à la formation d'artefacts. Comme exemple, les acétates d'alcools tertiaires qui peuvent subir une hydrolyse. Les résultats de Sandra Simard et al⁽³³⁾ semblent démontrer que la durée de l'entraînement à la vapeur doit être suffisante pour obtenir un patron de la composition qui puisse être représentatif de l'individu.

Procédures expérimentales :

Le montage expérimental, présenté à la figure 7, consiste en un ballon de 5 litres rempli à 80% d'eau distillée servant de générateur de vapeur. Ce ballon est muni d'un long tube de verre étroit pour maintenir une pression stable et d'un autre tube de diamètre plus élevé en forme de coude. Ce dernier est raccordé au moyen d'un tube de caoutchouc à un tube de verre immergé dans un ballon de 5 litres servant d'extracteur. Ce ballon est rempli à moitié d'eau distillée auquel est ajoutée 136 g de ramilles fraîches découpées en morceaux. Les ramilles : tiges, aiguilles et bourgeons sont choisis en proportion des extrémités des ramifications des branches prélevées du même individu. Via un réfrigérant, ce dernier ballon est connecté au ballon collecteur de 2 litres dans lequel est versé 200 ml d'eau distillée, 100 ml de pentane et 50 g de chlorure de sodium. Le ballon collecteur est disposé sur un bain de glace pour maintenir une température froide. On génère la vapeur, à l'aide d'un brûleur

Montage expérimental de l'entraînement à la vapeur d'eau

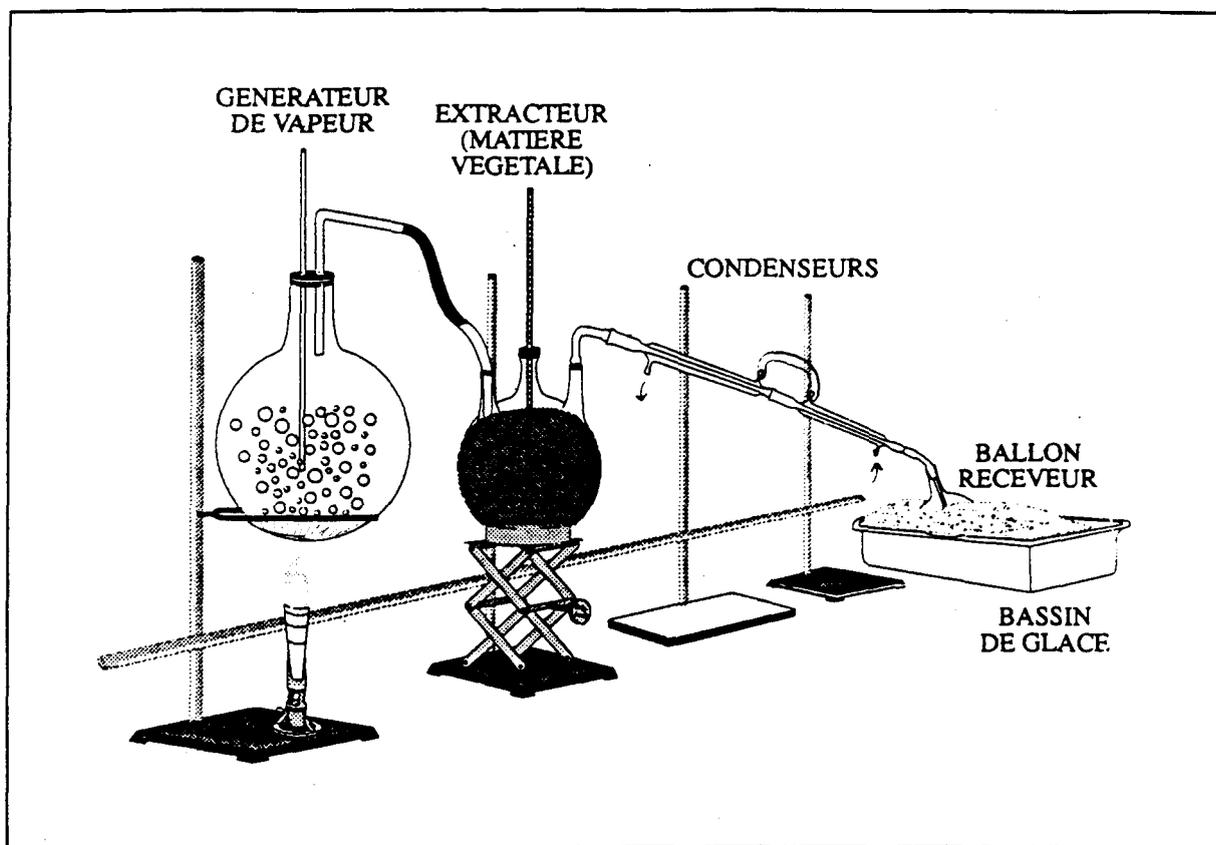


Fig. 7 Mémoire de Martine Lessard

Bunsen disposé sous le premier ballon. La suspension de ramilles est barbotée par un débit constant de vapeur. L'entraînement à la vapeur commence lorsque la première goutte de distillat est recueillie dans le ballon collecteur et se termine 2 heures après en cessant le chauffage. Dans la solution collectrice, on dissout une seconde portion de 50 g de $\text{NaCl}^{(a)}$. Les volumes recueillis représentent près de 1,2 l. La phase pentanique est décantée de la phase

aqueuse, puis la phase aqueuse subit deux extractions liquide-liquide avec 50 ml de pentane afin de compléter l'extraction des composés apolaires du distillat. Les fractions organiques sont regroupées et la solution résultante est séchée avec Na_2SO_4 anhydre et filtrée dans un ballon volumétrique de 200 ml contenant 5,00 ml d'une solution standard. Cette dernière consiste en 1,526 g de tétradécane dilué au volume de 500 ml avec de l'éthanol. Le volume est complété avec du pentane et la solution est analysée par chromatographie gazeuse.

L'huile essentielle est analysée par chromatographie capillaire en phase gazeuse. Un système chromatographique double colonne (CG) munit de détecteurs FID et un second système couplé à un spectromètre de masse (CG-SM) ont été utilisés. Les conditions d'opération des systèmes chromatographiques sont présentées au tableau 4. Les résultats sont présentés au chapitre 3, voir les tableaux 7 et 8.

(a) Cette dernière portion de sel a été oubliée lors du traitement des échantillons du 3 octobre 1993.

Tableau 4

Conditions d'opération des chromatographes en phase gazeuse

Paramètres	CG (double colonne)	CG-SM
Instruments	Chromatographes Hewlett Packard 5890	
Gaz vecteur	Hélium (1ml/min)	
Injecteur	Type partage (1%) Volume injecté : 2,0 µl et/ou Type direct ^(a) Volume injecté : 0,2 µl	Type partage (1%) Volume injecté : 2,0 µl
Intégrateur	3390A	
Colonne	Apolaire DB-5, L=30 m, di=0,25 mm et Polaire Supelcowax-10, 30 m, 0,25 mm	Apolaire DB-5, L=30 m, di=0,25 mm ou Polaire Supelcowax-10, 30 m, 0,25 mm
Détecteur	Ionisation par la flamme FID	Détecteur de masse sélective séries HP-5972, type quadropole
Mode d'élution	1. 40 °C, 2 min, isothermique 2. 40 °C à 210 °C, 2 °C/min, gradient linéaire 3. 210 °C, 33 min, isothermique	

(a) L'injecteur de type direct a été utilisé pour l'analyse quantitative de l'huile essentielle sur colonne Supelcowax-10.

2.3.2 Identification des composés volatils :

2.3.2.1 Indice de Kovats :

E. Kovats a élaboré une méthode pour caractériser sur une échelle absolue les temps de rétention. Cet indice est en principe affranchi des

conditions d'opération du chromatographe⁽³⁴⁾. Pour un composé, la nature de la colonne est la seule variable qui puisse affecter son indice. Cela permet de comparer directement les résultats d'un chromatogramme à l'autre, d'un équipement à l'autre, d'un laboratoire à l'autre et d'une époque à l'autre. Souvent, la concordance est excellente. Un autre aspect de l'utilisation de la table des indices de Kovats est qu'elle suit une loi d'additivité. Puisque les hydrocarbures aliphatiques saturés servent à établir cette échelle, un groupe méthylène (-CH₂-) supplémentaire représente une incrémentation de 100 unités sur l'échelle des indices pour une même colonne. Ainsi, la famille des acétates d'alcool aliphatique ou celle d'ester d'acide gras présentant le même spectre de masse pourront être identifiés en tenant compte de l'écart observé entre les indices de Kovats respectif à l'inconnu et du composé parent utilisé comme référence. Le radical de la chaîne manquante pourra être déduit par le nombre de centaines d'unités de différence observé. Ce fait s'applique également pour détecter un nombre restreint de fonctions organiques présentes dans la molécule. Les composés de taille comparable possédant les mêmes fonctions organiques présentent une différence similaire de leurs indices de Kovats entre deux colonnes de nature différente. Cette propriété jouit du même principe d'additivité que les méthylènes ce qui permet de proposer quelques groupements fonctionnels à la structure. Ainsi, l'écart observé des indices de Kovats entre les colonnes apolaire DB-5 et polaire Supelcowax-10 est d'environ 30 à 52

unités pour les alcènes ; de 450 à 460 unités pour les alcools primaires ; etc. Le laboratoire d'analyse et de séparation d'essences végétales (LASEVE) possède une banque de données des indices de Kovats pour environ 450 composés. Le calcul des indices de Kovats est établi par l'équation [1].

$$IK_a = 100N + 100n [(\log tr_a - \log tr_N) / (\log tr_{N+n} - \log tr_N)] \quad [1]$$

Où :

IK_a : Indice de Kovats calculé pour le composé a .

N : Nombre de carbones de l'hydrocarbure au temps de rétention postérieur au composé a .

n : Nombre d'atomes de carbone de différence entre 2 hydrocarbures adjacents.

tr_a : Temps de rétention du composé a .

tr_N : Temps de rétention de l'hydrocarbure adjacent postérieur au composé a .

tr_{N+n} : Temps de rétention de l'hydrocarbure adjacent ultérieur au composé a .

2.3.2.2 Spectrométrie de masse :

Un spectromètre de masse peut être couplé à un chromatographe en phase gazeuse CG-SM. Ce système permet en une étape, de séparer les constituants du mélange et d'obtenir une empreinte du patron des fragments moléculaires caractéristiques de chaque composé. Les données spectrométriques

servant à l'identification des composés sont tirées de la littérature⁽³⁵⁾ ou de la banque de données informatisées NBS75K incluse dans le logiciel HPG1034C qui est géré de la station "Chemstation" opérant sous Windows de Microsoft. Ce système est intégré à l'instrument pour en simplifier son utilisation. Cette technique permet de lever bien des ambiguïtés.

2.3.3 Composition relative des composés volatils :

La composition relative se réfère à la teneur d'un composé par rapport à l'ensemble des composés de la classe à laquelle ils appartiennent. Ainsi, chez le sapin baumier, le santène appartient à la classe des composés volatils libres et spécifiquement à l'huile essentielle, alors que le myrténol appartient aux composés volatils liés glycosidiquement et spécifiquement à la classe des monoterpènes liés.

Plusieurs auteurs utilisent la composition relative pour définir la teneur des composés. Les auteurs von Rudloff et Granat⁽⁷⁾ mentionnent l'impossibilité d'établir ces données en concentration absolue du fait des changements importants qui se produisent dans la matrice végétale au cours de la croissance de la plante, excluant la possibilité d'avoir une référence stable. Les mesures des compositions relatives sont donc tirées directement de l'aire des pics obtenus

sur le chromatogramme d'un système équipé d'un détecteur à ionisation par la flamme FID sans considération des facteurs de réponse.

Comme un standard interne est ajouté dans chaque échantillon analysé, la composition relative a été corrigée pour rétablir la teneur réelle des composés dans le matériel végétal. La présence du standard interne permet de déterminer le rapport des rendements relatifs entre différents : individus ; périodes de collecte ; ou entre classe de composés volatils libres et liés.

2.4 Détermination des chimiotypes :

À la suite de la caractérisation de l'huile essentielle des échantillons du 3 juin, on a appliqué le test statistique du Khi-carré^(*) sur les teneurs pour chaque monoterpène de l'huile essentielle. Le test permet de comparer les distributions de fréquence observée à une distribution normale afin d'identifier les chimiovariations importantes. Les résultats ont permis de former des regroupements d'individus pour les collectes subséquentes de juillet, août, septembre et octobre 1993. Ce test déjà utilisé par Zavarin et Snajberk⁽⁴⁾ leur a permis de comparer la distribution des monoterpènes libres à une distribution normale.

(*) Voir annexe 1

La première étape consiste à énoncer les deux hypothèses de travail, à savoir l'hypothèse nulle (H_0) et l'hypothèse de travail (H_1) :

H_0 : Le composé présente une variation de sa teneur conforme à une distribution normale pour l'échantillon considéré.

H_1 : Le composé présente une variation de sa teneur non conforme à une distribution normale pour l'échantillon considéré.

La seconde étape consiste à choisir le nombre de classes, tout en respectant les conditions d'application du test. Comme l'échantillon est composé de 15 individus, trois classes équiprobables de 5 éléments sont possibles.

La troisième étape consiste à retracer, d'une table statistique de l'aire limitée $f(z)$ par la courbe normale centrée réduite, les valeurs des cotes z des 2 bornes qui délimitent les classes de fréquence équiprobable. Les valeurs z tabléées sont -0,43 et 0,43. Pour ces valeurs, la fonction $f(z)$ prend les probabilités (0,3336 et 0,6664), délimitant bien 3 aires équiprobables.

La quatrième étape consiste à effectuer une transformation de la variable composition relative des données de l'échantillon du 3 juin tabléées en annexe 2 en une distribution centrée réduite de sa variation par rapport à la moyenne calculée pour chaque composé.

La cinquième étape vise à répertorier la fréquence des variations dans l'une des 3 classes délimitées par les bornes $]-\infty, -0,43[$, $[-0,43, 0,43]$ et $]0,43, \infty[$. Puis il ne reste plus qu'à procéder au test du Khi-carré.

À la suite du test, il faut s'assurer que la période de collecte n'affecte pas significativement la variation des compositions. Von Rudloff et Granat⁽⁷⁾ observent une faible variation des compositions durant l'automne et l'hiver comparativement à l'été pour les nouvelles pousses et de 4 à 6 semaines avant l'éclosion des bourgeons au printemps. Une analyse de variance à deux dimensions^(*) se révèle un test statistique approprié pour restituer la variation totale observée en ses trois composantes : soient les deux variables dimensionnelles que sont la période de collecte et les variations inter-individuelles, la troisième étant associée à l'erreur expérimentale. Le test nous assure de l'identité de la variable causant les variations des compositions de manière significative. Elle tient compte simultanément des effets dus à la période de collecte et des différences inter-individuelles, réduisant ainsi le biaisement. Les données sont tirées des annexes 2 et 3 et les calculs du volume de Richard Bertrand⁽³⁶⁾. À noter qu'au 3 juin, les bourgeons n'étaient pas éclos, tandis qu'au premier juillet ils l'étaient. Par leur faible apport pondéral sur le feuillage, les bourgeons affectent peu la composition annuelle contrairement aux

(*) Voir annexe 1

nouvelles pousses qui ont une forte représentation pondérale. Également, lors de la dernière collecte en octobre, cette date est ultérieure à la période où les nouvelles pousses présentent une forte variation de la teneur des monoterpènes⁽⁷⁾.

La première étape de l'analyse de variance à deux dimensions consiste à disposer les mesures de compositions sous forme de matrice. Les colonnes sont identifiées au numéro de l'individu et les lignes aux périodes de collecte. Les moyennes sont établies au bout de chaque ligne et chaque colonne, puis la moyenne est calculée pour l'ensemble des données.

La seconde étape consiste à calculer la somme des carrés totaux (S.C.T.) c'est à dire la somme des carrés due à la première variable indépendante (S.C.V.1), la variation individuelle et la somme des carrés due à la seconde variable indépendante (S.C.V.2), la période de collecte.

La dernière étape porte sur la comparaison des carrés moyens. Les carrés moyens sont établis en divisant chaque somme des carrés par les degrés de liberté correspondants. La statistique à employer est la valeur estimée F_1 distribuée selon une loi F avec : $c-1 = 15-1 = 14$ degrés de liberté pour la variable variation inter-individuelle ; $l-1 = 2-1 = 1$ degré de liberté pour la variable période de collecte ; et $(c-1)(l-1) = 14$ degrés de liberté au dénominateur.

2.5 Analyse des glycosides :

Les procédures expérimentales sont basées d'après les articles de Stengele et Stahl-Biskup⁽³⁷⁾, Jean et al⁽³⁸⁾, Garneau et al⁽³⁹⁾. L'extraction liquide-liquide avec le pentane est une technique fiable pour restituer le patron représentatif des aglycones apolaires volatils libérés par hydrolyse enzymatique des extraits, des tests préliminaires ayant permis de bien déterminer les conditions expérimentales pour l'obtention des aglycones.

Procédures expérimentales :

2.5.1 Macération du matériel végétal :

Le matériel végétal, 25,0 g d'aiguilles séchées et broyées à l'aide d'un moulin Thomas Wiley (Anachemia science), est disposé dans un erlenmeyer de 500 ml. L'extraction des glycosides procède par macération du matériel avec 200 ml d'une solution composée à 70% de méthanol dans l'eau (v/v), durant 24 h, sous agitation à 100 rpm, à T.P.N. La solution est filtrée sous pression réduite et le méthanol est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C. L'élimination des composés volatils libres présents est effectuée par extraction liquide-liquide consécutive avec 6 portions de dichlorométhane et 3 de pentane

du même volume de 50 ml. La dernière portion de pentane est combinée avec celle d'autres échantillons de matière végétale traités. La solution résultante est séchée avec Na_2SO_4 anhydre, filtrée par gravité sur papier qualitatif et réduite au volume de 1 ml à l'aide de l'évaporateur rotatif. La solution est alors transvasée dans un vial de 8 ml puis laissée évaporer à sec. Du dichlorométhane, 200 μl , est ajouté pour solubiliser le résidu et une analyse par chromatographie gazeuse confirme l'absence de composés volatils. La solution aqueuse contenant les glycosides est conservée à 4 °C jusqu'à l'étape ultérieure de l'hydrolyse enzymatique.

2.5.2 Les hydrolyses enzymatiques :

L'hydrolyse enzymatique consiste en l'ajout aux solutions aqueuses d'environ 90 ml de volume, de 100 mg de *β -Glucosidase* extrait d'amende fourni par Sigma ou de 600 mg de *Cellulase* extrait de *Aspergillus niger* de ICN biochemical. On ajoute 10 ml d'une solution tampon d'acétate de sodium 1N à pH 5,0. Les solutions sont mises à incuber à 37 °C sous agitation à 100 rpm durant 24 h. Les aglycones libérés sont alors extraits par deux portions de 50 ml de pentane. La solution combinée est séchée avec Na_2SO_4 anhydre, filtrée par gravité sur filtre Millipore et réduite au volume de 1 ml. La solution est transvasée dans un vial de 8 ml puis évaporée à sec. Un ajout de 200 μl d'une

solution permet de solubiliser les constituants. Cette solution consiste à 5,00 ml de la solution standard de tétradécane complétée au volume de 200 ml avec du dichlorométhane. La concentration du standard interne des solutions aglyconiques est la même que pour celles de l'huile essentielle. Seuls le volume total des solutions à analyser (200 μ l et 200 ml) et la nature et la quantité de matériel végétal utilisé sont différents : 25,0 g d'aiguilles séchées et 136 g de ramilles fraîches (tiges, aiguilles et bourgeons). Il est donc possible de déterminer semi-quantitativement le rapport massique existant entre les deux classes de composés volatils libres et liés par chromatographie gazeuse.

2.5.3 Analyse des aglycones volatils :

La solution contenant les aglycones est analysée comme l'huile essentielle. La composition relative des composés est tirée directement de l'aire des pics des chromatogrammes sans correction pour les facteurs de réponse. L'intégration du signal commence après 4 minutes excluant les mesures sur le pentane, l'éthanol et le dichlorométhane de l'analyse. Le pourcentage relatif des aglycones volatils est rétabli en excluant celui du standard ajouté. Un schéma des procédures de l'analyse des composés volatils libres et liés de la matrice végétale est présenté à la figure 8.

Schéma de l'analyse des composés volatils libres et liés

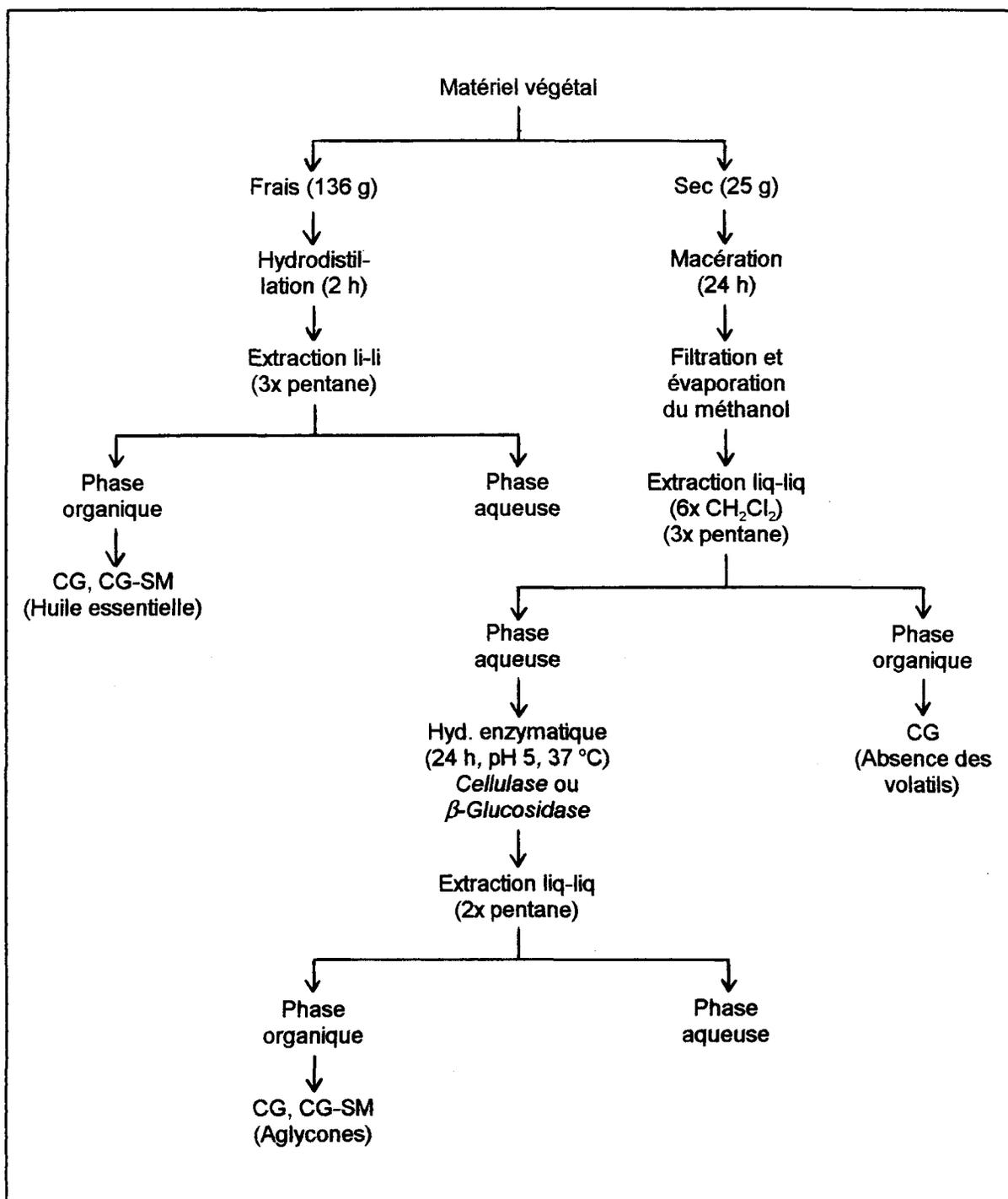


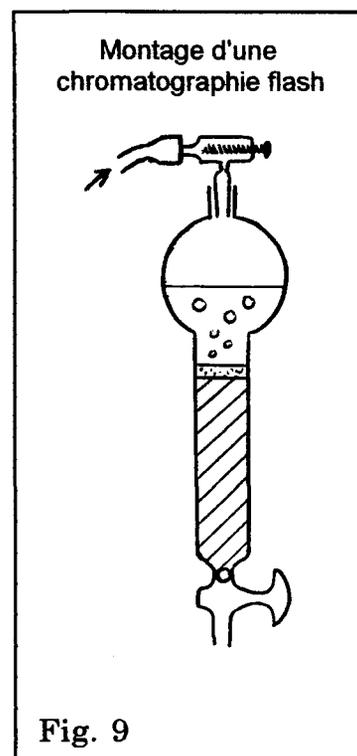
Fig. 8

2.5.4 Caractérisation des structures moléculaires :

2.5.4.1 Séparation par chromatographie flash :

Les extraits sont obtenus de la macération de 200 g d'aiguilles séchées et broyées dans 1 l du mélange méthanol, eau ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$: 70/30) (v/v) durant 16 h. La solution est filtrée sur celite, puis le volume est réduit jusqu'à l'obtention d'un sirop à l'aide d'un évaporateur rotatif à près de 40 °C. Le volume est ramené à 40 ml par ajout de méthanol. Les conditions optimales de la séparation des glycosides de la matrice sont établies au moyen de la chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice 60 F₂₅₄.

La chromatographie flash (chromatographie éclairée) consiste en une colonne de verre (60 cm par 5 cm) munie à son extrémité supérieure d'une valve qui permet de contrôler la pression d'air exercée, voir le montage en figure 9. Son extrémité inférieure est munie d'un robinet contrôlant le débit de l'éluant. Un morceau de laine de verre est déposé à sa base. Une suspension de 102 g de gel de silice 60 (EM Science) dans 300 ml de pentane est ajoutée tout en agitant afin de réduire la présence d'air. La phase



fixe est décantée et du celite est ajouté. Le solvant est alors ajusté au niveau supérieur de la phase fixe. Puis un extrait des regroupements E et D (voir tableau 3, page 26) ont été successivement chromatographié. Des mélanges de solvants de polarité croissante ont été employés. Les fractions sont recueillies par volume de 20 ml et vérifiées par CCM. Les glycosides sont révélés par une lampe UV, des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ sont utilisées (un révélateur chimique spécifique aux sucres aurait été plus adéquat). La phase mobile est l'acétate d'éthyle, méthanol (AcOEt/MeOH : 80/20). La salicine est utilisée comme référence ($R_f \sim 0.33$). La pression du système est ajustée pour conserver un débit constant. Les données expérimentales pour le premier essai sont résumées au tableau 5.

Les modifications suivantes ont été apportées aux procédures pour la chromatographie de l'extrait du regroupement D. Deux macérations successives ont permis de recueillir près de six fois plus d'extrait brut, soit 20 g plutôt que 3,3 g. La phase mobile consistait en un mélange isocratique ternaire composé de (CHCl₃/MeOH/H₂O : 73/24/3) (v/v) qui semble démontrer une bonne efficacité à la séparation des glycosides. La phase fixe consistait à 135 g de gel de silice pour obtenir un rapport hauteur/diamètre de 8/1. L'extrait brut a été élué sur colonne par chromatographie flash en trois séquences alternées par le reconditionnement de la colonne avec deux mélanges de solvant : le premier composé de 400 ml d'une solution (MeOH/Eau : 75/25) (v/v) et le second de

Tableau 5

Progression de la chromatographie flash

Phase mobile ^(a)			Observations pour le regroupement E
Portion #	Composition (%)	Volume (ml)	
1	AcOEt : Pentane (70:30)	300	-
2	AcOEt (100)	250	-
3	AcOEt : MeOH (98:2)	250	Solide spongieux de couleur jaune pâle 2,15 g récupéré (R _f ~ 0,27 - 0,30)
4	AcOEt : MeOH (95:5)	200	
5	AcOEt : MeOH (90:10)	250	
6	AcOEt : MeOH (80:20)	200	-
7	AcOEt : MeOH (75:25)	300	0,20 g (R _f ~ 0,13)

(a) AcOEt : Acétate d'éthyle ; MeOH : Méthanol

100 ml du mélange ternaire servant à l'élution. Le matériel récupérée riche en glycosides est de 9,28 g. Ces fractions contrôlées par CCM (R_f ~ 0,36) pour ce mélange ternaire, correspond à celui de la salicine utilisée comme référence.

2.5.4.2 Isolation de composés par CLHP préparatif :

Les conditions optimales de l'isolation des glycosides sont déterminées par la chromatographie liquide haute performance analytique (CLHP analytique). L'instrument est un Perkin-Elmer Série 4, mode gradient. La colonne

analytique à phase inversée LC-18 de Supelcowax, est d'une longueur de 15 cm et d'un diamètre interne de 4,6 mm. Le volume injecté est de 20 μ l d'une solution de 5 mg/ml. Les paramètres étudiés ont été la polarité et le débit du solvant, la longueur d'onde du détecteur et l'atténuation de l'intégrateur. L'aspect général du chromatogramme obtenu, la résolution des pics et leur distribution, constituent les critères de sélectivité des conditions d'opération, voir en annexe 11 quelques exemples de chromatogrammes obtenus par CLHP analytique.

La CLHP préparatif est un système à mode isocratique utilisant une pompe Eldex Laboratories au débit de 10 ml/min, une colonne préparative à phase inversée Dynamax-60A C18 83-221-C, d'une longueur de 25 cm, d'un diamètre interne de 22,5 mm et d'une capacité de séparation de 50 mg, un injecteur à boucle Rheodyne de 200 μ l et un détecteur à 254 nm couplé à un intégrateur HP-3396 série II. La solution injectée est concentrée à 0,25 g/ml. La chromatographie commence avec l'élution d'un mélange (MeOH/Eau : 70/30) (v/v) durant 15 min suivie du mélange ternaire (MeOH/Eau/Acétonitrile : 25/50/25) (v/v). Plusieurs injections (10 et 15) de chacun des extraits enrichies en glycosides obtenus par la chromatographie flash sont nécessaires pour isoler suffisamment de matériel. Les fractions sont recueillies dans des erlenmeyers identifiés aux pics majeurs observés sur les chromatogrammes et choisis, de préférence, parmi ceux élués par le système de solvant binaire méthanol/eau.

La pureté des fractions est vérifiée par CLHP analytique. Le méthanol est évaporé et la solution est transvasée dans un contenant pour lyophilisation. Les contenants sont déposés au congélateur à -18°C durant 2 jours. Puis ils sont fixés sur le lyophilisateur durant plus de 2 jours. Les composés blanchâtres sont récupérés dans des vials de 8 ml. Ainsi, 0,99 g d'extrait riche en glycosides provenant du regroupement E (individu #15) et 1,5 g extrait du regroupement D (individus #12-13) ont été chromatographiés. Ceci a permis d'isoler 9 composés identifiés par les lettres A à I, voir en annexe 11, pour caractérisation ultérieure par spectroscopie IR et UV-visible, voir en annexe 12.

2.5.4.3 Caractérisation par spectroscopie :

Pour caractériser les structures moléculaires, les techniques spectroscopiques sont utilisées. La spectroscopie ultraviolet-visible (Uv-visible) informe sur le type de liaison double et l'infrarouge (IR) informe sur le type de groupement fonctionnel présent dans la molécule. Le tableau 6 résume les paramètres utilisés. Les spectres infrarouge et ultraviolet-visible des composés [A], [B], [D] et [E] sont présentés en annexe 12.

Tableau 6

Paramètres des analyses spectroscopiques

Paramètres	UV-visible	Infrarouge
Instrument utilisé	Spectronic 2000 de Bausch and Lomb	M2010 de Midac corporation
Échantillon	Dissous dans CH ₃ OH	Pastille KBr
Plage d'ondes	500-200 nm	4000-600 cm ⁻¹
Mesures	Spectre λ(max)	Spectre bandes principales

2.5.5 Analyse de la partie glucidique :

La méthode est basée sur l'acétylation des alditols de sucres⁽³⁾. Elle consiste à hydrolyser le glycoside pour en libérer le(s) glucide(s). Le groupement carbonyle du glucide est alors réduit en fonction hydroxyle, le produit de réaction étant appelé alditol. Puis, l'alditol subit une acétylation de ses fonctions hydroxyles. Les dérivés produits sont analysés par chromatographie gazeuse. Des dérivés obtenus sur des sucres naturels préparés de la même manière permettent l'identification de la partie glucidique par ajout standard. La résonance magnétique nucléaire RMN peut elle aussi permettre de caractériser les sucres en comparant les déplacements chimiques du carbone des composés isolés à ceux des glucides de glycosides décrits dans la littérature.

2.5.5.1 Identification par acétylation d'alditols :

Procédures :

La réduction des sucres procède en dissolvant dans l'eau distillée 200 mg de trois hexoses naturels utilisés comme standard : D-(+)-mannose, β -D-(+)-glucose et le D-(+)-galactose, alors que les phases aqueuses qui résultaient de l'hydrolyse enzymatique du composé [A] ou des hydrolyses acides des extraits chromatographiés des regroupements D et E, sont utilisées telles qu'elles. On ajoute 200 mg de NaBH_4 aux solutions. Les solutions sont agitées 2 heures à 20 °C, puis acidifiées par ajout de résine Dowex-50 x8 H^+ . Les solutions sont filtrées et les filtres lavés. Les solutions sont évaporées à sec sous pression réduite à 40 °C. L'acide borique formé est retiré en évaporant successivement 3 portions de 40 ml de méthanol.

Pour acétyler les alditols formés : Aux ballons contenant les cristaux on ajoute 1 ml de pyridine et 1 ml d'anhydride acétique. Les ballons sont fermés hermétiquement et disposés 2 heures à l'étuve à 75 °C. On ajoute 40 ml de toluène qui est évaporé à sec à 50 °C. On dissout les solides dans 3 ml de chloroforme, 2 ml supplémentaire est utilisé pour bien rincer les ballons. Les solutions sont séchées avec Na_2SO_4 anhydre, filtrées et disposées dans des vials qui sont entreposés à 4 °C jusqu'à l'analyse ultérieure.

Analyse des alditols acétylés : Les solutions sont analysées par CG. Les conditions d'opération du système chromatographique sont : injecteur (250 °C), mode partage, volume injecté 2 μ l ; Détecteur FID (290 °C) ; Four (195 °C, 15 min ; 5 °C/min ; 240 °C, 1 min) ; colonne apolaire DB-1, 30 m, di=0,25 mm. Les standards sont analysés à tour de rôle, puis un mélange des 3 standards est injecté. Les échantillons sont à leur tour analysés. Puis par ajout standard du dérivé du glucose, les sucres des glycosides sont caractérisés. Les mesures des temps de rétention sont rapportés au tableau 14 du chapitre 3.

2.6 Évolution de la productivité primaire nette :

Les compositions relatives sont comparées sur la base des périodes d'échantillonnage en divisant la teneur des composés avec celui du standard interne. Comme la concentration du standard interne est constante pour chaque échantillon, les données mensuelles sont directement comparées. Les biais sont significatifs à cette étape puisque les conditions d'échantillonnage ont différé, le nombre de branches diverge entre regroupements et l'apport du matériel végétal de chaque individu n'est pas quantitatif. L'étude s'est donc limitée à la productivité primaire nette de ces composés qui se définit comme étant la quantité de glycosides emmagasinés dans une période définie. Les résultats

sont présentés sous forme de graphique aux figures 13 et 14 pour quelques composés aromatiques et monoterpéniques liés.

CHAPITRE 3

"Résultats et discussion"

3.1 Caractérisation de l'huile essentielle :

3.1.1 Analyse de l'huile essentielle :

Le tableau 7 présente les données ayant servi à l'identification des composés de l'huile essentielle. Les indices de Kovats (I.K.) sur les colonnes apolaire DB-5 et polaire Supelcowax-10 et la différence calculée des indices (Δ) pour chaque composé constituent les données chromatographiques. Les 6 principaux fragments de masse (m^+/e) de même que celui constituant le fragment massique le plus élevé comme étant la masse moléculaire (M^+/e) y sont donnés avec leur intensité respective (%) et constituent les données spectrométriques. Le tableau 8 présente le nom des composés répertoriés, leur teneur moyenne et l'écart-type observés pour les 15 individus aux 2 périodes de collecte. L'identification procède via la banque NBS75K du système CG-SM, de Adams⁽³⁵⁾ et des indices de Kovats de la banque LASEVE. Les compositions relatives sont tirées des chromatogrammes de la colonne Supelcowax-10, les valeurs apparaissent aux annexes 2 et 3. Deux chromatogrammes d'une analyse de l'huile essentielle, obtenus des colonnes DB-5 et Supelcowax-10, ont été reproduits en annexe 4.

Tableau 7

Données chromatographiques et spectrométriques de l'huile essentielle

Données chromatographiques ⁽¹⁾					Données spectrométriques						
DB-5			S-10	Δ	m ⁺ /e (%)					M ⁺ /e	
#	T.R.	I.K.	I.K.								
1	8,21	888	<1000	-	79, 94(87), 77(24), 91(20), 122(17), 41(14)					122(16)	
2	9,92	924	<1000	-	93, 91(37), 41(36), 77(31), 79(27), 92(27)					136(15)	
3	10,58	936	1008	72	93, 91(47), 92(40), 77(38), 79(31), 41(30)					136(6)	
4	11,31	949	1049	100	93, 121(51), 41(49), 79(44), 91(39), 67(35)					136(10)	
5	12,95	974	1092	118	93, 41(65), 69(38), 91(31), 77(30), 79(30)					136(7)	
6	14,15	991	1155	164	41, 93(55), 69(49), 91(15), 53(13), 79(12)					136(1)	
7	15,09	1004	1135	131	93, 91(55), 77(45), 79(39), 41(35), 92(28)					136(12)	
8	16,28	1028	1182	154	68, 93(78), 67(70), 79(35), 94(28), 121(27)					136(25)	
9	16,28	1028	1188	160	93, 91(43), 77(33), 136(24), 79(19), 94(14)					136(24)	
10	18,41	1065	1232	167	93, 91(64), 77(47), 43(29), 79(28), 41(27)					136(27)	
11	20,08	1091	1373	282	81, 69(54), 41(50), 80(14), 67(13), 53(11)					152(8)	
12	20,36	1095	1272	177	93, 121(77), 91(71), 77(58), 136(56), 79(55)					136(56)	
13	21,40	1110	1540	430	43, 41(93), 71(88), 55(61), 93(54), 69(40)					>93(54)	
14	21,95	1117	1563	446	81, 41(67), 43(67), 80(58), 69(33), 67(33)					>121(11)	
15	22,63	1126	1549	423	43, 93(44), 41(39), 79(30), 77(28), 91(22)					>139(13)	
16	23,84	1142	1609	467	43, 44(59), 93(49), 41(44), 91(29), 77(24)					>139(11)	
17	23,84	1142	1491	349	95, 41(98), 81(79), 55(53), 69(46), 67(37)					152(4)	
18	23,91	1142	1572	430	43, 71(81), 41(45), 69(36), 86(27), 96(22)					>139(3)	
19	24,55	1145	-	-	41, 69(58), 55(36), 95(28), 43(21), 44(20)					>121(11)	
20	25,07	1147	1679	532	95, 44(70), 41(44), 43(31), 55(22), 110(16)					>139(1)	
21	25,55	1163	1584	421	71, 43(71), 41(55), 93(46), 111(37), 55(32)					>111(37)	
22	26,49	1174	1686	512	59, 43(53), 93(46), 121(30), 81(30), 41(27)					>139(2)	
23	26,92	1179	-	-	148, 147(59), 77(52), 121(49), 117(43), 91(36)					>149(5)	
24	31,73	1249	1714	465	82, 110(64), 41(40), 95(37), 54(22), 109(19)					152(7)	
25	34,20	1287	1559	272	43, 95(69), 41(39), 93(34), 121(24), 55(20)					196(1)	
26	34,89	1298	2169	871	135, 91(27), 150(25), 115(18), 77(15), 51(12)					150(25)	
27	41,11	1383	1746	363	69, 43(90), 41(84), 68(38), 93(24), 67(20)					>136(5)	
28	42,71	1397	-	-	178, 91(71), 103(51), 107(45), 77(40), 41(39)					178(100)	

(1). Les conditions d'opération des chromatographes en phase gazeuse sont au tableau 4.
Le tiret (-) indique que le composé n'a pas été retracé sur la colonne concernée.

Tableau 8

Identification et composition relative de l'huile essentielle

DB-5		Nom du composé	Composition relative (%) ⁽¹⁾			
#	I.K.		Au 3 juin 1993		Au 1 octobre 1993	
			Moyenne	Écart-type	Moyenne	Écart-type
1	888	Santène	3,17	0,93	2,29	0,64
2	924	Tricyclène	0,56	0,17	0,74	0,24
3	936	α -Pinène	7,95	1,94	6,74	1,60
4	949	Camphène	5,58	1,67	6,62	1,98
5	974	β -Pinène	31,19	6,28	37,37	6,94
6	991	β -Myrcène	1,20	0,33	1,33	0,33
7	1004	Δ^3 -Carène	10,30	8,26	10,40	8,37
8	1028	Limonène	3,54	2,22	3,94	2,76
9	1028	β -Phéllandrène	6,79	3,76	7,57	3,96
10	1065	γ -Terpinène	0,64	0,43	0,23	0,10
11	1091	Fenchone	0,58	1,12	0,24	0,53
12	1095	Terpinolène	0,80	0,38	0,99	0,45
13	1110	Linalol	0,44	0,30	0,32	0,23
14	1117	Fenchol	t	-	t	-
15	1126	Hydrate de <i>cis</i> -pinène	0,28	0,37	0,14	0,21
16	1142	Hydrate de <i>trans</i> -pinène	0,18	0,25	t	-
17	1142	Camphre	0,58	0,48	0,28	0,29
18	1142	Hydrate de camphène	0,53	0,36	0,37	0,25
19	1145	Citronellal	t	-	t	-
20	1147	Bornéol	0,91	0,37	0,45	0,30
21	1163	Terpinéol-4	0,53	0,27	0,31	0,22
22	1174	α -Terpinéol	1,41	0,60	0,61	0,21
23	1179	Estragole	t	-	t	-
24	1249	Pipéritone	2,60	6,02	1,60	3,81
25	1287	Acétate de bornyle	17,95	6,44	15,85	5,29
26	1298	Thymol	0,71	1,99	0,46	1,30
27	1383	Acétate de géranyle	0,02	0,06	0,08	0,19
28	1397	Méthyl eugénol	t	-	t	-

- (1). La composition relative porte sur 15 analyses à chacune des périodes d'échantillonnage. Les résultats sont tirés des lectures des chromatogrammes de la colonne Supelcowax-10. La lettre " t " réfère à une composition relative inférieure à 0,02%.

3.1.2 Rendement de l'huile essentielle :

L'entraînement à la vapeur durat 2 heures. Le rendement de l'huile essentielle du matériel végétal frais a été de 0,27% au 3 juin et de 0,70% au 1er octobre. Le résultat est établi par l'équation [2].

$$R(\%) = (qté_{st}) / (C_{st} \times qté_{mv}) \times 100\% \quad [2]$$

Où : R(%) : Le rendement en poids frais de l'huile essentielle
 qté_{st} : Quantité du standard de la solution analysée (0,01526 g)
 C_{st} : Composition relative moyenne du standard (4,2% ou 1,6%)
 qté_{mv} : Quantité de matériel végétal frais employé (136 g)

$$R(\%) \text{ au 3 juin} = (0,01526 \text{ g}) / (0,042 \times 136 \text{ g}) \times 100\% = 0,27\%$$

$$R(\%) \text{ au 1er oct.} = (0,01526 \text{ g}) / (0,016 \times 136 \text{ g}) \times 100\% = 0,70\%$$

Les résultats semblent démontrer que la quantité d'huile essentielle dans le feuillage est supérieure en automne d'environ 2,6 fois par rapport au printemps. Cette productivité accrue est sans doute causée par la grande activité biosynthétique résultante des nouvelles pousses. Von Rudloff et Granat⁽⁷⁾, quant à eux, obtiennent des rendements comparables en automne comme en hiver et dénotent que les variations observées se produisent sur les bourgeons de 4 à 6 semaines avant leur éclosion et au milieu de l'été sur les

nouvelles pousses. Les nouvelles pousses peuvent affecter le rendement global en été, contrairement aux bourgeons qui représentent un faible apport pondéral sur le matériel végétal. L'identification des composés de l'huile essentielle du sapin baumier correspond bien à celle de la littérature récente⁽⁷⁾. La composition relative obtenue sur le feuillage total semble s'intégrer aux étendues observées dans les publications^(4, 6, 7, 10).

3.2 Identification des chimiotypes :

3.2.1 Test du Khi-carré^(*) :

À la suite de la caractérisation de l'huile essentielle, on a procédé au test statistique du Khi-carré sur les distributions de fréquence des teneurs de chaque composé pour tous les individus de l'échantillon du 3 juin afin d'identifier les composés présentant une variation de leur composition relative non conforme à la distribution normale. Les résultats ont amené à former des regroupements d'individus A, B, C, D et E, pour les collectes ultérieures au 3 juin. Le regroupement A inclut les individus numérotés 1-2-4-7-8-9-10-11-14 pour lesquels la teneur en Δ^3 -carène est supérieure à 10%. Le regroupement B inclut

(*) Voir annexe 1

les individus numérotés 5-6-12 dont la teneur en Δ^3 -carène est négligeable ~0%. Le regroupement C inclut les individus numérotés 1-2-3-4-5-6-7-8-9-10 dont la teneur en pipéritone est inférieure à 0,5%. Le regroupement D inclut les individus 12-13 dont la teneur en pipéritone est d'au moins 10%. Le regroupement E constitué de l'individu #15 est considéré comme un témoin et a une teneur en thymol de 3,21% au 3 juin.

L'exemple suivant illustre bien les calculs impliqués dans ce test. La valeur centrée réduite de la variation de la composition du pipéritone, par rapport à la moyenne, se calcule par l'équation [3]. La donnée est tirée de l'annexe 2 et concerne l'individu #1 :

$$V_{[\text{pipéritone}]} = (x_i - \bar{x})/s \quad [3]$$

$$V_{[\text{pipéritone}]} = (0,22-2,60)/6,02 = -0,39$$

Lorsque les valeurs centrées réduites sont établies, voir la figure 10, les éléments sont répertoriés dans leur classe respective, voir le tableau 9. Ainsi l'individu #1 se situe dans la classe délimitée par les bornes [-0,43, 0,43] pour le monoterpène pipéritone.

Ensuite on procède au calcul de la valeur estimée non biaisée (X^2) par la formule [4] :

$$X^2 = \sum [(f_{\text{obs}} - f_{\text{th}})^2 / f_{\text{th}}] \quad [4]$$

Où f_{obs} : Les fréquences observées sur l'échantillon.
 f_{th} : La fréquence théorique de la classe considérée.

La valeur estimée X^2 est comparée à la valeur critique que l'on obtient de la table de la distribution du Khi-carré. Cette valeur est dépendante du nombre de degrés de liberté (ν) laquelle correspond à $(n-1)$ où n représente le nombre de classes^(*). La table donne pour $\nu = (n-1) = (3-1) = 2$, la valeur critique $X^2_{\alpha} = 5,99$ pour un seuil de probabilité (α) de 95%, appelé aussi seuil d'incertitude $(1-\alpha)$ de 5%. La valeur estimée X^2 pour le $\Delta 3$ -Carène est donc :

$$X^2 = [(5-5)^2/5 + (5-5)^2/5 + (5-5)^2/5] = 0$$

Comme la valeur estimée $X^2=0$ est inférieure à la valeur critique $X^2_{\alpha}=5,99$ au seuil de probabilité α de 95%, l'hypothèse H_0 est retenue. L'interprétation en est que le $\Delta 3$ -Carène présente une distribution normale de sa composition relative dans l'huile essentielle malgré sa composition individuelle hétérogène chez *Abies balsamea*. La figure 10 présente les diagrammes en batons des valeurs centrées réduites pour 4 monoterpènes qui

(*) Voir annexe 1

présentent une composition relative moyenne élevée et une grande variation de leur distribution respective. Le tableau 9 donne les distributions de fréquence pour ces composés avec leur valeur estimée X^2 . Les valeurs sont tirées des analyses de l'échantillonnage du 3 juin présenté à l'annexe 2.

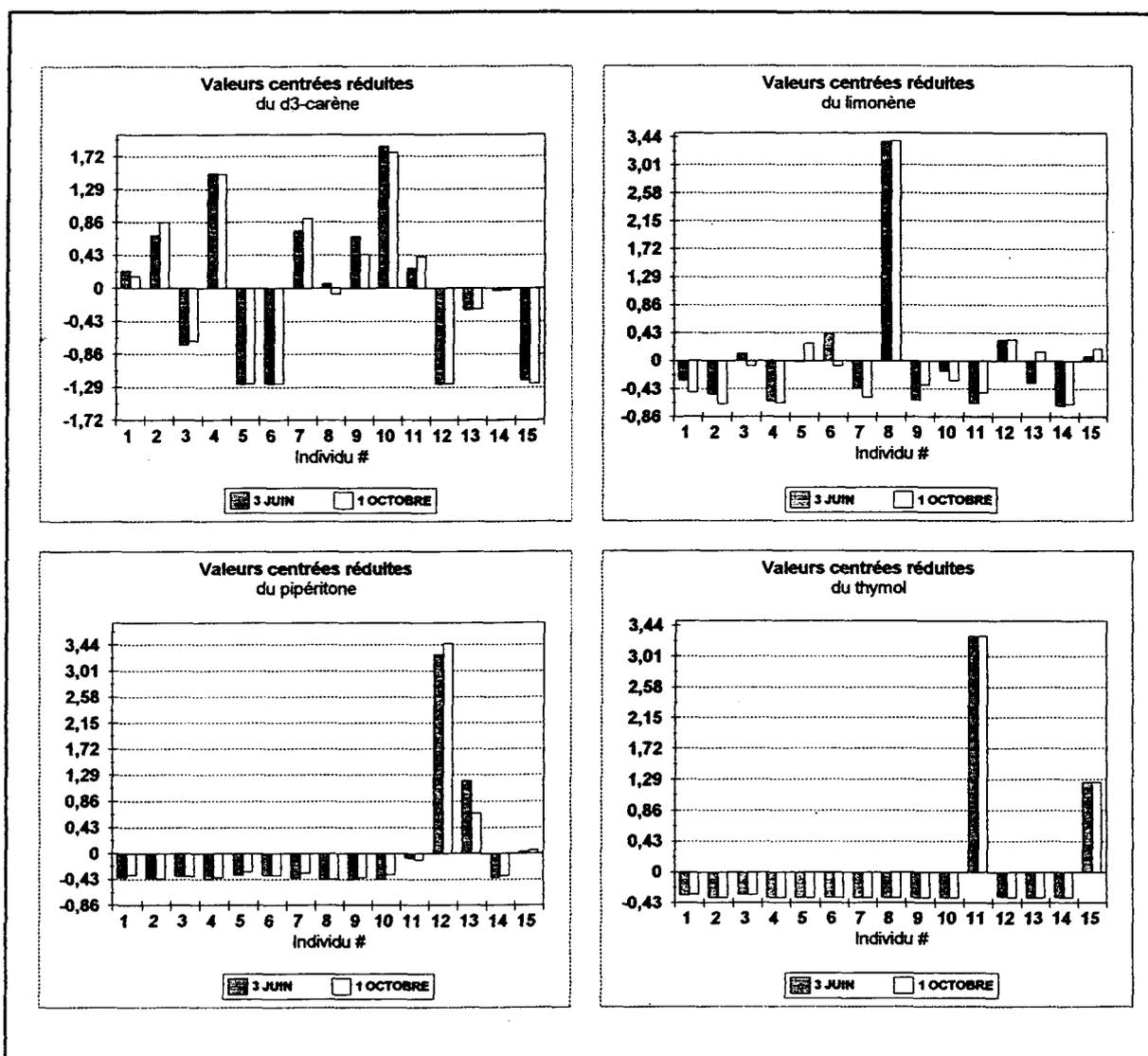


Fig. 10 Diagrammes des valeurs centrées réduites des 4 monoterpènes.

Tableau 9

Distribution des fréquences de variation des teneurs

Identification du composé	Fréquence observée entre classes équiprobables			Valeur estimée χ^2
	$] -\infty, -0,43[$	$[-0,43, 0,43]$	$] 0,43, +\infty [$	
$\Delta 3$ -Carène	5	5	5	0
Limonène	5	9	1	6,4
Pipéritone	0	13	2	19,6
Thymol	0	13	2	19,6

L'interprétation des valeurs estimées présente le limonène, le pipéritone et le thymol comme des composés ayant une distribution de leur teneur non conforme à une distribution normale dans l'échantillon. En terme écologique, la population de sapin baumier du site d'échantillonnage présente une chimiovariation significative pour ces 3 composés, au seuil d'incertitude de 5%. La figure 11 présente la distribution de leur teneur respective dans l'échantillon. Sans doute qu'un échantillon plus représentatif d'au moins 40 individus et l'utilisation de 5 classes pour répertorier les éléments auraient permis d'éliminer le doute quant à l'exclusion du $\Delta 3$ -carène puisque sa composition est nulle pour les 3 individus (5-6-12) alors qu'elle dépasse 10% pour 10 autres individus, voir annexe 2. L'effectif de 15 individus ne permet pas de dégager une forme bimodale de la distribution des compositions relatives pour le $\Delta 3$ -carène.

3.2.2 Analyse de variance à deux dimensions^(*) :

Il faut maintenant s'assurer que la période de collecte n'affecte en rien la composition de l'huile essentielle. Tel que cité à l'introduction, von Rudloff et Granat⁽⁷⁾, concluent à une faible variation de la composition observée durant l'automne et l'hiver, permettant l'étude chimiotaxonomique sur le feuillage intégral (feuilles, tiges et bourgeons). Hunt et von Rudloff⁽⁶⁾ mentionnent à la suite de leur résultats que l'été n'est pas une période appropriée à la collecte pour effectuer une étude chimiotaxonomique. La cause est la grande variation des teneurs observée sur les nouvelles pousses. Un test statistique approprié, l'analyse de variance à deux dimensions de la teneur des composés versus la période de collecte, permet de vérifier si la période de collecte est une composante significative de la variation des compositions observées. Les résultats sommaires, au tableau 10 pour le Δ^3 -Carène et au tableau 11 pour les 4 composés monoterpéniques, présentent la variable "période de collecte" comme un biais négligeable sur la variation observée des compositions relatives contrairement à la variable "inter-individuelle" qui a un impact élevé.

(*) Voir annexe 1

L'interprétation écologique est que seules les différences individuelles affectent la variation des compositions observées, alors que la période de collecte ne l'influence pas de façon significative. Les données sont tirées des annexes 2 et 3 et les calculs sont tirés du volume de Richard Bertrand⁽³⁶⁾.

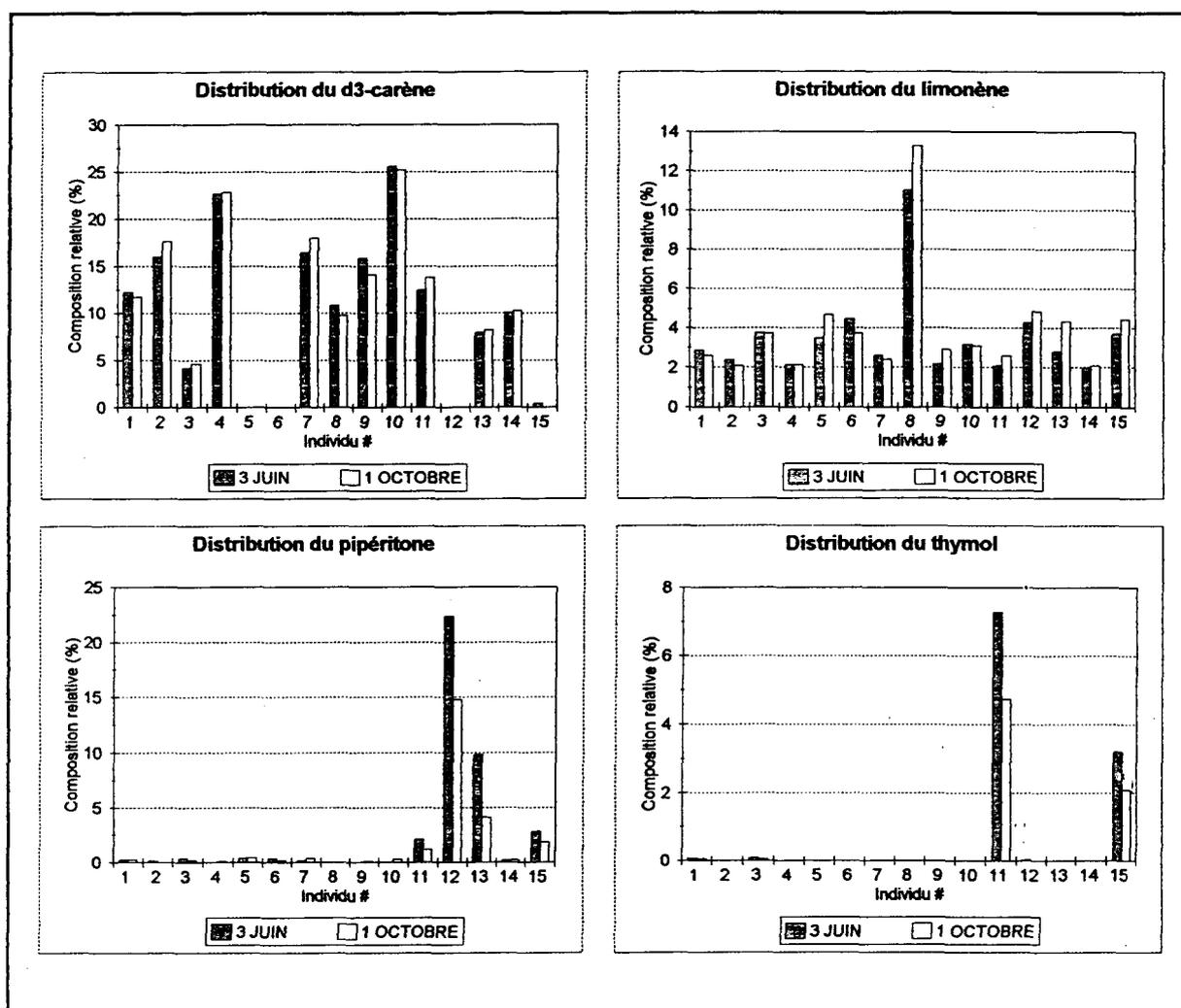


Fig. 11 Distribution de la composition relative des 4 monoterpènes.

La méthode élaborée pour retracer les glycosides des monoterpènes semble fiable car les variables exogènes^(a) sont sous contrôle. Les valeurs estimées de la dimension "période de collecte" sont inférieures à la valeur critique de la table ($F_e < F_c$) pour un seuil d'incertitude de 5%. L'analyse révèle que les périodes de collecte du 3 juin et du 1er octobre sont appropriées à l'identification des composés présentant une grande variation de leur teneur pour l'huile essentielle sans que cette variation soit affectée par la période de collecte.

Tableau 10

Analyse de variance à deux dimensions, résultats sommaires [Δ 3-Carène]

Source de variation	Somme des carrés	Nbr de degrés de liberté	Coefficient moyen	F estimé	F critique
Totale	1936	29	66,75		
Inter-individuelle	1930	14	137,8	326	2,48
Période de collecte ^(a)	0,071	1	0,071	0,17	4,60
Expérimentale	5,92	14	0,42		

- (a) Le biais d'avoir omis la seconde portion de 50 g de NaCl lors de l'extraction liquide-liquide du distillat au 3 octobre est inclus dans la variable période de collecte. Comme la valeur estimée F_e est inférieure à la valeur critique F_c pour ces 4 composés, le biais résultant est négligeable.

Tableau 11

Analyse de variance à deux dimensions, résultats sommaires des 4 composés

Variable	F _e				F _c (α=95%)
	Δ3-Carène	Limonène	Pipéritone	Thymol	
Inter-individuelle	326	38,7	17,6	22,4	2,48
Entre période de collecte ^(a)	0,17	3,78	2,73	1,93	4,60

3.3 Caractérisation des glycosides :

L'identification et la composition relative des aglycones volatils ont été établies selon les mêmes techniques chromatographiques que pour l'huile essentielle. Un rapport quantitatif entre composés volatils libres et liés a été évalué. Quatre composés isolés par CLHP préparatif ont été analysé sommairement au moyen de la spectroscopie IR et UV-visible.

3.3.1 Les aglycones volatils :

L'identification et l'analyse des glycosides exigeraient de les isoler tous pour les caractériser par des moyens appropriés. Une voie plus simple consiste à fragmenter les molécules sans transformer leur structure pour en changer les propriétés physiques. Ainsi, beaucoup d'aglycones sont volatils et peuvent être

analyser par la chromatographie gazeuse. À partir de solutions glycosidiques préalablement débarrassées des composés volatils libres, l'objectif de cette partie du travail a consisté à scinder la liaison glycosidique au moyen d'enzymes spécifiques, d'extraire les aglycones du milieu et de les analyser par la chromatographie gazeuse. Un avantage indéniable obtenu par cette méthode est de permettre de répertorier un grand nombre d'aglycones. Son inconvénient majeur est la promiscuité des temps de rétention de plusieurs composés qui conduit à des mesures quantitatives erronées, d'où l'importance de contrôler les résultats sur les deux colonnes afin d'identifier les composés interférant entre eux. Plusieurs pics chromatographiques se sont souvent révélés être constitués de plus d'un composé. Les paramètres de la sensibilité du détecteur et de l'intégrateur avaient été sélectionnés au préalable afin de limiter la détection des composés présentant une teneur significative mais sans négliger sur leur dénombrement. Il fallait un juste milieu limitant d'un côté la résolution de certains pics trop faibles ou mitoyens par rapport à la représentativité qualitative du patron pour chaque individu. C'est ainsi que l'on a pu répertorier les composés volatils liés aux monoterpènes libres. De plus, des aglycones spécifiques à certains individus ont été détectés significativement sans pouvoir les relier aux monoterpènes de l'huile essentielle, il semble bien que le sujet ne se tarira pas de sitôt concernant la diversité que peut toucher la chimiotaxonomie.

En présence du tampon d'acétate de sodium, la *cellulase* a semblé moins spécifique à hydrolyser les glycosides que la *β -glucosidase* vu que plusieurs esters et phtallates sont apparus sur les spectres de masse lesquels étaient absent si le tampon n'était pas ajouté. Ces composés étaient absents pour les échantillons hydrolysés avec la *β -glucosidase*. Comme les mêmes solvants, réactifs et matériel végétal étaient utilisés dans l'une ou l'autre procédure expérimentale, les différences observées n'ont pu provenir que de l'activité spécifique des enzymes, voir annexe 15. La *cellulase* a révélé une plus grande activité à hydrolyser les composés terpéniques liés alors que la *β -glucosidase* a révélé une plus grande activité à l'hydrolyse des composés aromatiques. C'est ce qui a orienté le choix des structures pour les composés inconnus. En exemple, les deux isomères (1276, 1973) et (1282, 1988) en cooccurrence avec la pipéritone présentent avec la *cellulase* les teneurs respectives de 2,67% et 0,68% alors qu'avec la *β -glucosidase* ils affichent les teneurs respectives de 0,30% et 0,47%. Les composés sont de la famille des monoterpènes vu la teneur élevée obtenue par la *cellulase* et les indices de Kovats ont pu être assorti correctement entre les 2 colonnes par les écarts des compositions relatives observées. L'utilisation des deux enzymes a donc permis d'avoir un bon aperçu du patron de la distribution des glycosides chez l'espèce. Afin de limiter l'analyse aux glycosides, les esters et les phtallates sont exclus du tableau 13. Les données sont tablées aux annexes 5 à 9, deux chromatogrammes sont en annexe 10.

Le tableau 12 résume les données chromatographiques et spectrométriques des aglycones volatils libérés par hydrolyse enzymatique avec les deux enzymes. Le tableau 13 exprime les moyennes des compositions relatives limitées aux aglycones représentatifs dont le patron correspondait entre les 2 colonnes, afin d'éliminer l'erreur découlant de composés mitoyens. Les données individuelles obtenues sur la collecte du 3 juin, sont tablées aux annexes 5, 6, 7 et 8 selon l'enzyme (*Cellulase* ou *β -Glucosidase*) et la colonne capillaire (apolaire DB-5 ou polaire Supelcowax-10) utilisés. Les données relatives de juillet à octobre sont en annexe 9.

Lors du contrôle de l'absence de composés volatils libres sur les derniers extraits pentaniques préalable à l'hydrolyse enzymatique, le maltol s'est révélé présent. Sa grande solubilité dans l'eau a sans doute contribué à le maintenir en solution aqueuse malgré les extractions répétées au dichlorométhane et au pentane. Le maltol a néanmoins été considéré comme faisant partie des aglycones volatils et bien qu'il ne se retrouvait pas entraîné par la vapeur d'eau lors de l'extraction de l'huile essentielle, il était vraisemblablement présent dans le milieu aqueux de la suspension des ramilles. Les composés très polaires comme le maltol sont solubles en milieu aqueux, ils ne codistillent pas avec l'eau comme le prédit la loi de Dalton, ils ont plutôt tendance à distiller. Cette propriété réduira la représentativité qualitative des aglycones polaires si une méthode utilisant un montage de type Likens-Nickerson est utilisée comme dans

Tableau 12

Données chromatographiques et spectrométriques des aglycones volatils

Données chromatographiques ⁽¹⁾				Données spectrométriques ⁽¹⁾							
#	DB-5		S-10	Δ	m ⁺ /e (%)						M ⁺ /e ⁽²⁾ ?
	T.R.	I.K.	I.K.								
1	6,35	841	1326	485	56,	41(74),	43(55),	42(44),	69(37),	55(13)	>84(3)
2	7,08	861	1386	525	41,	67(92),	82(43),	55(40),	42(24),	69(24)	100(2)
3	7,71	877	1361	484	56,	43(58),	55(49),	41(44),	42(40),	69(32)	>84(5)
4	9,16	908	1333	425	45,	43(18),	55(15),	41(15),	44(13),	83(6)	>101(1)
5	13,80	983	1569	586	67,	68(97),	94(75),	79(64),	53(32),	41(22)	112(14)
6	16,89	1033	1875	842	79,	108(99),	107(68),	77(64),	51(25),	91(16)	108(99)
7	17,70	1048	-	-	98,	55(48),	41(34),	69(26),	56(24),	97(21)	140(19)
8	18,23	1057	-	-	98,	55(48),	41(34),	69(26),	56(24),	97(21)	140(19)
9	19,48	1077	1437	360	59,	43(53),	94(53),	111(36),	93(35),	55(35)	155(5)
10	19,51	1077	-	-	105,	77(74),	51(25),	50(13),	106(9),	78(6)	106(9)
11	22,32	1118	1958	840	126,	71(38),	43(27),	55(24),	97(16),	69(11)	127(8) ⁱ
12	22,51	1121	1908	787	91,	92(60),	122(36),	65(17),	51(7),	77(7)	122(36)
13	25,88	1163	1693	530	95,	110(20),	41(16),	93(10),	55(10),	67(9)	>139(7)
14	26,43	1170	1735	565	68,	94(71),	59(65),	67(51),	43(50),	79(21)	>155(7)
15	26,43	1170	1762	592	68,	94(71),	59(65),	67(51),	43(50),	79(21)	>155(7)
16	27,47	1181	-	-	43,	135(77),	91(24),	119(12),	65(11),	92(10)	150(9)
17	28,17	1189	1954	765	138,	123(93),	95(24),	67(18),	77(13),	55(12)	138
18	28,36	1191	1784	593	79,	91(44),	108(31),	77(21),	41(18),	93(14)	152(6)
19	28,88	1197	1798	601	121,	93(92),	79(59),	91(49),	77(37),	124(30)	152(3)
20	31,05	1232	2122	890	105,	77(50),	51(15),	106(7),	50(6),	78(3)	136(3)
21	31,98	1247	-	-	164,	121(65),	93(56),	149(49),	136(49),	91(33)	164
22	33,59	1272	2008	736	119,	91(21),	150(19),	117(13),	120(12),	77(7)	150(19)
23	33,70	1274	2076	802	83,	84(87),	55(49),	125(42),	41(42),	69(37)	168(34)
24	33,83	1277	1973	696	69,	87(65),	55(65),	41(57),	97(43),	127(42)	170(9)
25	34,19	1282	1942	660	79,	91(69),	41(34),	77(34),	121(34),	43(33)	134(5)
26	34,22	1282	1988	706	69,	87(65),	55(62),	41(57),	97(44),	98(44)	170(9)
27	35,40	1300	2190	890	135,	150(31),	91(15),	115(13),	136(10),	77(7)	151(3) ⁱ
28	39,56	1357	2364	1007	164,	149(33),	131(26),	77(25),	91(25),	103(22)	164
29	39,83	1361	-	-	139,	69(38),	79(35),	83(32),	121(29),	81(26)	152(3)
30	40,28	1366	1940	574	153,	97(29),	69(28),	79(19),	41(13),	77(11)	>153
31	40,38	1368	-	-	164,	149(46),	91(29),	77(28),	55(24),	103(24)	164
32	41,17	1375	-	-	139,	69(40),	83(36),	121(28),	79(27),	41(27)	152(2)
33	41,18	1378	2066	688	131,	162(57),	103(48),	161(29),	77(28),	51(16)	163(6) ⁱ
34	42,09	1389	2263	873	109,	43(87),	67(52),	137(49),	94(30),	69(30)	152(14)
35	42,16	1390	2559	1169	151,	152(93),	81(27),	109(21),	123(15),	108(10)	153(9) ⁱ

Tableau 12 (suite)

Données chromatographiques et spectrométriques des aglycones volatils

Données chromatographiques					Données spectrométriques	
DB-5			S-10	Δ	m^+e (%)	M^+e ?
#	T.R.	I.K.	I.K.			
36	42,38	1393	-	-	124, 109(89), 43(64), 55(57), 41(56), 70(49)	168(28)
37	43,96	1418	-	-	98, 126(49), 69(37), 41(31), 124(31), 125(31)	168(2)
38	44,62	1430	-	-	59, 164(54), 43(46), 81(31), 55(28), 121(25)	164(54)
39	48,40	1492	-	-	43, 41(68), 79(42), 44(40), 55(38), 94(34),	>138(32)
40	49,75	1514	2596	1082	151, 182(47), 123(14), 52(7), 152(7), 108(6)	183(6) ⁱ
41	51,67	1543	2701	1158	126, 98(99), 97(81), 95(48), 41(46), 55(39)	168(27)
42	51,84	1546	>2800	-	107, 164(48), 43(29), 77(15), 94(13), 121(13)	164(48)
43	52,46	1555	-	-	151, 166(42), 152(10), 77(7), 123(6), 95(5)	167(4) ⁱ
44	56,20	1611	2364	753	43, 192(59), 66(26), 95(23), 180(22), 123(19)	222(1)
45	56,75	1622	2413	791	135, 43(71), 107(53), 151(33), 93(29), 190(26)	208(5)
46	57,25	1632	-	-	137, 182(44), 138(31), 77(9), 122(8), 123(7)	183(5) ⁱ
47	57,41	1635	-	-	108, 109(27), 43(19), 152(13), 45(11), 91(10)	152(13)
48	57,43	1635	2550	911	119, 43(56), 121(28), 159(19), 93(16), 107(16)	195(4)
49	57,64	1639	-	-	108, 43(62), 107(38), 135(34), 109(28), 150(24)	>153(22)
50	58,19	1650	2598	948	121, 136(70), 43(60), 93(58), 119(57), 107(50)	>161(4)
51	61,47	1710	-	-	43, 206(29), 123(29), 119(26), 135(24), 121(23)	206(29)
52	63,19	1740	-	-	147, 178(67), 119(24), 91(17), 65(12), 118(10)	179(7) ⁱ
53	67,87	1825	-	-	208, 177(77), 145(56), 51(37), 89(36), 77(31)	209(12) ⁱ
54	72,71	1924	-	-	74, 87(59), 43(49), 41(37), 55(31), 75(19)	227(1)
55	77,86	2027	-	-	91, 92(8), 65(7), 107(4), 108(4), 51(3)	244(8)
56	79,38	2061	-	-	138, 111(69), 41(34), 95(31), 55(31), 69(31)	264(1)
57 (3)	85,66	2191	-	-	91, 65(11), 92(7), 44(7), 53(6), 51(5)	244(4)
58	43,04	-	1687	-	107, 135(81), 91(42), 150(50), 79(45), 80(44)	150(50)
59	52,94	-	1865	-	93, 67(87), 79(64), 81(53), 121(53), 77(44)	154(19)
60	56,74	-	1936	-	94, 93(77), 79(74), 67(73), 121(64), 107(56)	154(24)
61	62,14	-	2038	-	117, 91(90), 118(65), 92(39), 77(27), 44(26)	136(25)
62	62,81	-	2052	-	74, 87(71), 55(65), 43(53), 41(46), 83(41)	158(11)
63	72,58	-	2257	-	91, 162(41), 103(18), 92(16), 121(16), 77(11)	162(41)
64	75,17	-	2315	-	43, 71(84), 67(62), 55(40), 41(36), 68(28)	>137(15)
65	79,16	-	2401	-	121, 147(56), 180(36), 91(19), 122(18), 162(15)	181(4) ⁱ

- (1) Les conditions d'opération des systèmes chromatographiques sont présentées au tableau 4 ; les indices de Kovats sont ceux obtenus par le système CG-SM ; l'identification réfère à la banque NBS75K du système informatique intégré, de Adams⁽³⁵⁾ et de la publication⁽⁴²⁾.
- (2) (?) : Incertitude sur plusieurs attributions ; (i) : Pic isotopique $M^+ + 1$; (>) : Masse moléculaire sous évaluée.
- (3) Les composés 58 à 65 n'ont été retracés que par la colonne polaire Supelcowax-10 ; le tiret (-) indique un indice non retracé sur la colonne.

Tableau 13

Identification et teneur moyenne des aglycones volatils

#	DB-5	Identification du composé (fit) ⁽¹⁾	Composition (%) ⁽²⁾	
	I.K.		Cell.	β -Glu.
1	841	4-Méthyl pentanol (83)	0,36	0,49
2	861	<i>cis</i> -Hex-3-én-1-ol (94)	0,25	0,39
3	877	Hexanol (83)	0,23	0,26
4	908	Heptan-2-ol (83)	0,27	0,24
6	1033	Alcool benzylique (97)	3,10	3,98
9	1077	<i>cis</i> -Linaloxyde furanoïde (91)	0,30	0,05
11	1118	Maltol (93)	0,42	2,07
12	1121	Alcool phényléthylique (91)	2,23	2,50
13	1163	Bornéol (91)	7,18	0,87
14	1170	<i>cis</i> -Linaloxyde pyranoïde	-	-
15	1170	<i>trans</i> -Linaloxyde pyranoïde	-	-
16	1181	<i>p</i> -Cymén-8-ol (87)	-	-
17	1189	2-Méthoxy-4-méthyl phénol (94)	0,15	0,29
18	1191	Myrténol (91)	0,57	0,42
20	1232	2-Hydroxy acétophénone (90)	1,75	4,76
21	1247	Thymoquinone ⁽³⁵⁾	5,70	4,87
24	1276	Monoterpénol	2,67	0,30
26	1282	Monoterpénol (isomère de #24)	0,68	0,47
27	1300	Thymol (91)	1,38	0,22
28	1357	Eugénol (97)	-	-
31	1368	<i>iso</i> -Eugénol (96)	-	-
33	1378	Cinnamate de <i>trans</i> méthyle (87)	-	-
35	1390	Vanilline (91)	-	-
37	1418	6-Hydroxypipéritone (72) ⁽⁴²⁾	-	-
40	1514	Vanillate de méthyle (91)	-	-
41	1543	7-Hydroxypipéritone (95) ⁽⁴²⁾	1,20	3,42
42	1546	4-(<i>p</i> -Hydroxyphényl) butan-2-one (90)	-	-
43	1555	2,4-Dihydroxy-3-méthyl acétophénone (86)	-	-
52	1740	3-(<i>p</i> -Hydroxyphényl) prop-2-énoate de méthyle (97) — colonne (S-10) —	-	-
58	1687	4,6,6-Triméthyl bicyclo[3.1.1]hept-3-én-2-one (91)	-	-
59	1865	<i>trans p</i> -Menth-2-én-7-ol (98)	-	-
60	1931	1-(β ,4-Diméthyl cyclohex-3-ényl) éthanol (94)	-	-
61	2038	Benzènepropanol (90)	-	-
62	2052	9-Oxo nonanoate de méthyle (91)	-	-
63	2257	α -Hydroxy benzènepropanoate de méthyle (86)	-	-
65	2401	1-(<i>p</i> -Méthoxyphényl)-3-méthyl propanol (91)	-	-

(1) : Fit : qualité de correspondance avec NBS75K.

(2) : Moyennes tirées des annexes 5 et 7.

les travaux de Svendsen et Merckx⁽⁴⁰⁾ ou van den Dries et Svendsen⁽⁴¹⁾. Il a été également très difficile d'établir avec certitude la relation des indices de Kovats entre les deux systèmes chromatographiques CG et CG-SM. L'écart observé, surtout entre les colonnes Supelcowax-10, est expliqué par le fait que les colonnes employées sur le système couplé au spectromètre de masse sont neuves, alors que celles équipant le système à doubles colonnes couplées aux détecteurs FID sont vieilles, leur usage répété a dénaturé ces dernières. Les données présentées aux tableaux 12 et 13 réfèrent aux indices de Kovats du système CG-SM, alors que les données aux tableaux 7 et 8 et des annexes 2, 3 et 5 à 9 réfèrent aux indices de Kovats calculés à partir des données recueillis sur les vieilles colonnes.

Le rapport quantitatif des composés libres de l'huile essentielle sur celui des aglycones volatils est inclus à titre d'information subjective. Ce rapport n'a pas d'interprétation précise, il exprime simplement un rapport pondéral entre ces deux classes de composés. Puisque la concentration du standard interne est la même dans les solutions injectées sur CG pour l'huile essentielle que pour les aglycones volatils et que seuls la composition relative, la quantité de matériel végétal et les volumes des solutions injectées diffèrent pour ces deux types d'analyse, le rapport massique R entre les deux classes de composés libres et liés peut être évalué à l'aide de l'équation [5]. Afin d'homogénéiser au mieux le résultat, la composition moyenne du tétradécane utilisé comme standard est

tirée des valeurs de l'annexe 2 pour l'huile essentielle et de l'annexe 7 pour les aglycones volatils obtenus de la colonne DB-5.

$$R = 2 \times (C_{sta} \times V_h \times Q_a) / (C_{sth} \times V_a \times Q_h) \quad [5]$$

- où :
- C_{st} : La composition moyenne relative du standard C_{14} dans l'huile essentielle ($C_{sth} = 4,2$) ; dans les solutions aglyconiques ($C_{sta} = 3,4$)
 - V : Le volume résultant des solutions (200 ml pour l'huile V_h) ; (200 μ l pour les solutions aglyconiques V_a)
 - Q : La quantité de matériel végétal utilisé pour l'extraction (136 g pour l'huile Q_h) ; (25 g pour les aglycones volatils Q_a)
 - 2 : Un facteur de correction approximatif pour tenir compte de la différence entre le matériel végétal frais et séché.

$$R = 2 \times (3,4 \times 200\,000 \times 25) / (4,2 \times 200 \times 136) = 298$$

Donc, l'huile essentielle a un rapport massique 300 fois plus élevé que les composés volatils liés, excluant la composante des glucides. Cette donnée n'est qu'une information subjective, car l'extraction quantitative de l'huile essentielle et des glycosides n'est pas assurée.

3.3.2 La partie glucidique :

Le composé [A] n'est pas un glycoside malgré le résultat positif de l'analyse du dérivé acétylé de l'alditol, car une analyse spectroscopique

préliminaire de résonance magnétique nucléaire du carbone RMN (^{13}C) a démontré l'absence de glucide. La cause probable de l'erreur provient de la contamination de l'échantillon lors des manipulations.

Le tableau 14 présente les données chromatographiques à l'identification des sucres, via la méthode des dérivés d'alditols, pour le composé [A] hydrolysé par voie enzymatique et d'extraits chromatographiés des regroupements D et E hydrolysés par voie acide à pH 1.

La CLHP analytique des fractions recueillies par CLHP préparatif a donné des puretés de l'ordre de 90 à 97%. L'extrait par chromatographie flash du regroupement D donne 3 pics majeurs dans une région antérieure de celle des hexoses utilisés comme standard, indiquant possiblement la présence de pentoses considérant le fait que les pics sont regroupés comme pour les 3 hexoses. Seule la caractérisation qualitative des sucres a importé dans cette partie.

3.3.3 Caractérisation spectroscopique des composés [A], [B], [D] et [E] :

Les spectres UV-visible des composés donne un λ_{max} à ~206 nm indiquant la présence de liaisons alcènes conjuguées. Les données IR sont au tableau 15. Les spectres IR et UV-visible des composés [A], [B], [D] et [E] sont présentés en annexe 12.

Tableau 14

Données chromatographiques des dérivés d'alditols

Paramètres	Temps de rétention (minute)	Observations
D-(+)-mannose β -D-(+)-glucose D-(+)-galactose	21,688 21,248 21,801	Les pics des 3 dérivés glucidiques sont bien séparés lorsqu'ils sont injectés ensemble
glucide du composé [A]	20,864 (4,6%) 21,245 (91,8%) 21,414 (3,6%)	L'ajout standard avec le glucose ne donne qu'un pic
Extrait du regroupement D	14,609 (37,0%) 15,285 (36,8%) 16,423 (26,2%)	Les temps de rétention sont antérieurs aux hexoses et sont regroupés
Extrait du regroupement E	-	Aucun pic

Tableau 15

Données spectroscopiques IR des composés [A], [B], [D] et [E]

Bande d'absorption		Composé	Interprétation des fonctions
λ (cm ⁻¹)	Intensité		
3000-3500	Forte	A, B, D, E	Alcool
2950-3000	Faible	A, B, D, E	Alcène
2000-3000	Faible	A, B, D, E	Alcane
1644	Forte	D	Alcène
1606-15	Forte	A, B, D, E	Alcènes (conjuguée ou aromatique)
1515-1519	Moyenne	A, B, E	
1470	Moyenne	A	
1370-1372	Faible	A, B, E	
1277-1282	Forte	A, B, E	
1249-1254	Moyenne	A, D	Alcool
1141	Forte	A	Alcool
1074-1076	Forte	B, D, E	Éther
1031	Forte	A, B, E	Alcène ou éther

3.4 Relation biochimique entre composés volatils libres et liés :

Les résultats conduisent à l'identification de deux monoterpènes libres pour lesquels des aglycones en cooccurrence ont été retracés. Cette identification résulte de la cooccurrence du patron des teneurs entre les classes de composés libres et liés qui ont été observés dans un échantillon de 15 individus jugé représentatif de la population dont il est tiré, voir les critères énumérés par Scherrer concernant le test du Khi-carré. Les structures des aglycones élucidées par spectrométrie de masse, présentent une forte ressemblance au niveau de leur structure respective avec celles des monoterpènes libres qui leur sont associés, voir les spectres de masse et les structures présentés en annexe 13. Au pipéritone [3-méthyl-6-(1-méthyléthyl) cyclohex-2-én-1-one] correspond trois aglycones en cooccurrence : le monoterpène 7-hydroxypipéritone ou [3-hydroxyméthyl-6-(1-méthyléthyl) cyclohex-2-én-1-one] (1543, 2701) dont le spectre de masse est décrit dans la littérature⁽⁴²⁾ et deux isomères non identifiés (1276, 1973) et (1282, 1988). Le thymol [3-méthyl-6-(1-méthyléthyl) phénol] a quant à lui deux aglycones en cooccurrence, soient : le thymol (1300, 2190) et le thymoquinone [3-méthyl-6-(1-méthyléthyl) cyclohexa-2,5-diene-1,4-dione] (1247, -) dont le spectre de masse apparaît à la référence⁽³⁵⁾. La figure 12 présente les distributions des teneurs pour ces composés volatils libres de l'huile essentielle et liés des aglycones en

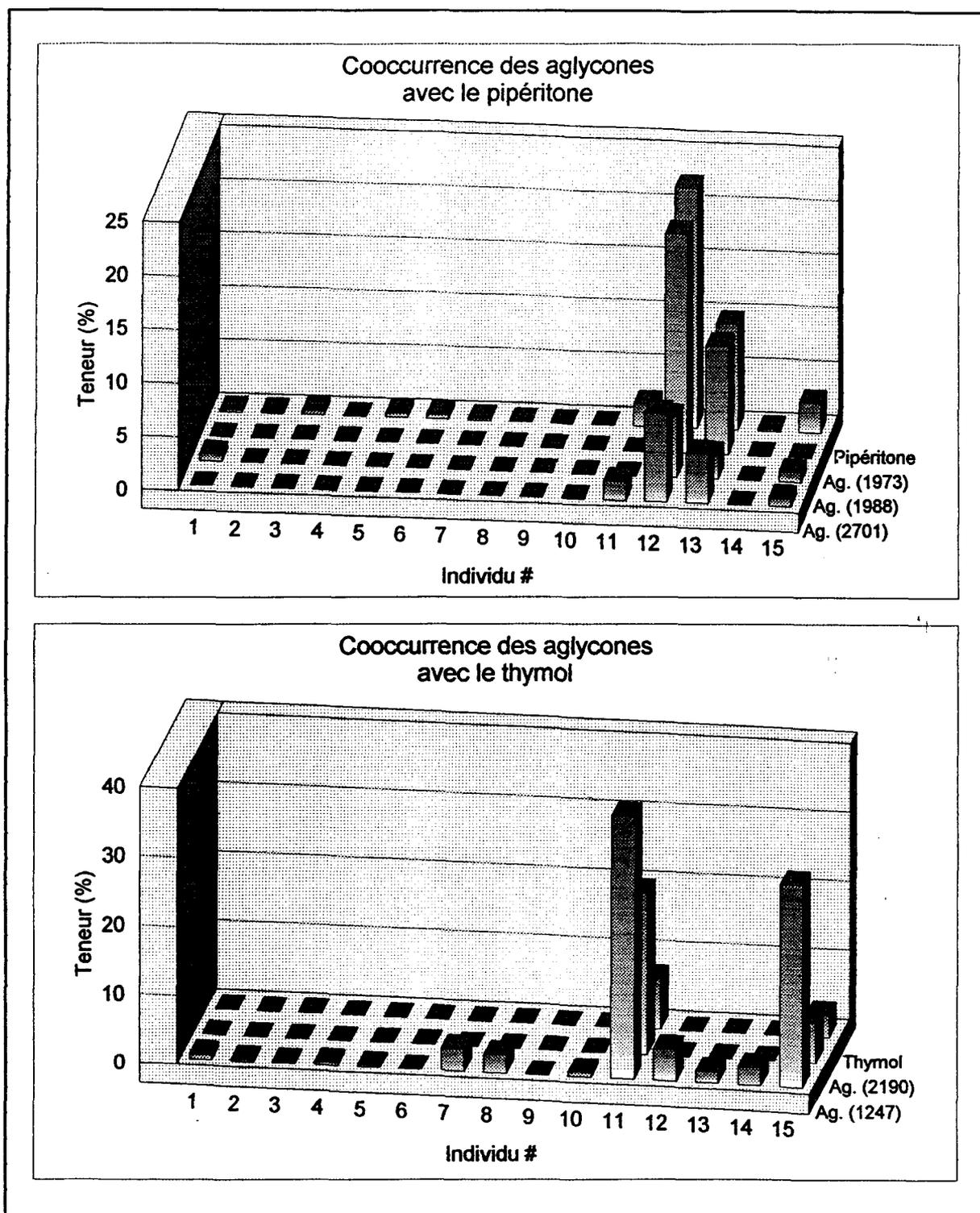


Fig. 12 Teneurs des monoterpènes libres et liés en cooccurrence.

cooccurrence provenant de l'hydrolyse enzymatique avec la *Cellulase*, les valeurs ont été tirées du chromatogramme sur colonne Supelcowax-10, lequel présente une plus faible fréquence du rapprochement entre les pics qui affectent les valeurs quantitatives, sauf dans le cas du thymoquinone qui n'a été retracé que sur la colonne DB-5.

D'après les résultats, un lien entre les deux classes de composés libres et liés semble établi. Pour les monoterpènes libres, il semble réduit aux composés qui présentent une fonction oxygénée, car aucun lien n'a pu être établi pour le Δ^3 -carène et le limonène lesquels présentent une variation importante de leur teneur. Les dérivés glycosilés majeurs correspondants ont quant à eux une nouvelle fonction oxygénée, suggérant une participation des glycosides à un mécanisme d'oxydation des monoterpènes dans le cas où ils sont considérés comme participant au catabolisme de ces derniers.

L'huile essentielle présente d'autres monoterpènes oxygénés pour lesquels aucune cooccurrence de composition n'a pu être établie avec des composés volatils liés. Ces monoterpènes : le fenchone ; le linalol ; le fenchol ; les hydrates de (cis et trans)-pinène ; l'hydrate de camphène ; le citronellal ; le bornéol ; le terpinéol-4 ; le α -terpinéol ; l'acétate de bornyle ; et l'acétate de géranyle n'ont pas de composés liés auxquels ils peuvent être associés de manière significative. Pour ces composés, une faible teneur empêche un suivi par cooccurrence de composition, ou bien la fonction organique oxygénée n'est

pas facilement glycosilée par le mécanisme biosynthétique de la plante. Ainsi, la fonction ester des acétates de bornyle et de géranyle ou la fonction éther des hydrates ne conduiraient pas directement à une glycosilation comme observé pour les fonctions alcool et cétone.

Plusieurs composés sont soupçonnés d'appartenir à la classe des monoterpènes liés vu l'observation de même spectre de masse mais à des temps de rétention différents, donc d'isomères. Les données chromatographiques et spectrométriques relatives à ces composés apparaissent au tableau 12. Les composés en paire sont par ordre numérique le (7 et 8), (14 et 15), (24 et 26), (28 et 31), (29 et 32) et (55 et 57).

3.5 Relation entre monoterpènes, glycosides et le développement de la plante:

Au 3 juin, les bourgeons n'étaient pas éclos. Lors de l'échantillonnage de juillet, les bourgeons ont laissé place aux nouvelles pousses. Une diminution marquée de la teneur relative des monoterpènes libres a été observée pour le pipéritone et le thymol comparativement à la plupart des autres monoterpènes de l'huile essentielle, voir figure 11. Cette diminution relative a été de l'ordre de 38% pour le pipéritone et de 35% pour le thymol entre la collecte du 3 juin et du 1er octobre, voir les annexes 2 et 3. Mais comme le rendement de l'huile essentielle en octobre a été supérieur à juin sur un rapport de 2,6 fois, la

quantité réelle de pipéritone et de thymol dans la matière végétale a augmentée. Pour quelques composés aromatiques et monoterpéniques liés on a tracé des diagrammes représentant l'évolution de la productivité primaire nette (P_n), voir les figures 13 et 14, laquelle correspond à la quantité de glycosides emmagasinée dans les feuilles excluant celle que la plante a utilisée pour sa respiration durant l'unité de temps choisie. La quantité d'aglycone est indiquée comme étant l'inverse de la composition du standard interne, tirée de la colonne Supelcowax-10 car elle ne présente pas de pics rapprochés. Cette courbe, voir le graphique en bas et à droite de la figure 13 qui permet, au moyen des tracés de la fonction inverse de la composition du standard interne, de visualiser l'évolution de la productivité primaire nette au cours des périodes d'échantillonnage.

Les données relatives à la teneur du standard interne révèlent que la productivité primaire nette de ces composés se maintient de juin à septembre pour diminuer en octobre. La P_n est en corrélation avec le cycle du développement de la plante, la croissance est forte durant la période estivale de juin à septembre et diminue en octobre à la période de dormance. Cette P_n est l'image de la productivité primaire (P) laquelle inclue en supplément les glycosides utilisés par le métabolisme de la plante mais qui ne peut être mesuré vu leur transformation en produits de réaction.

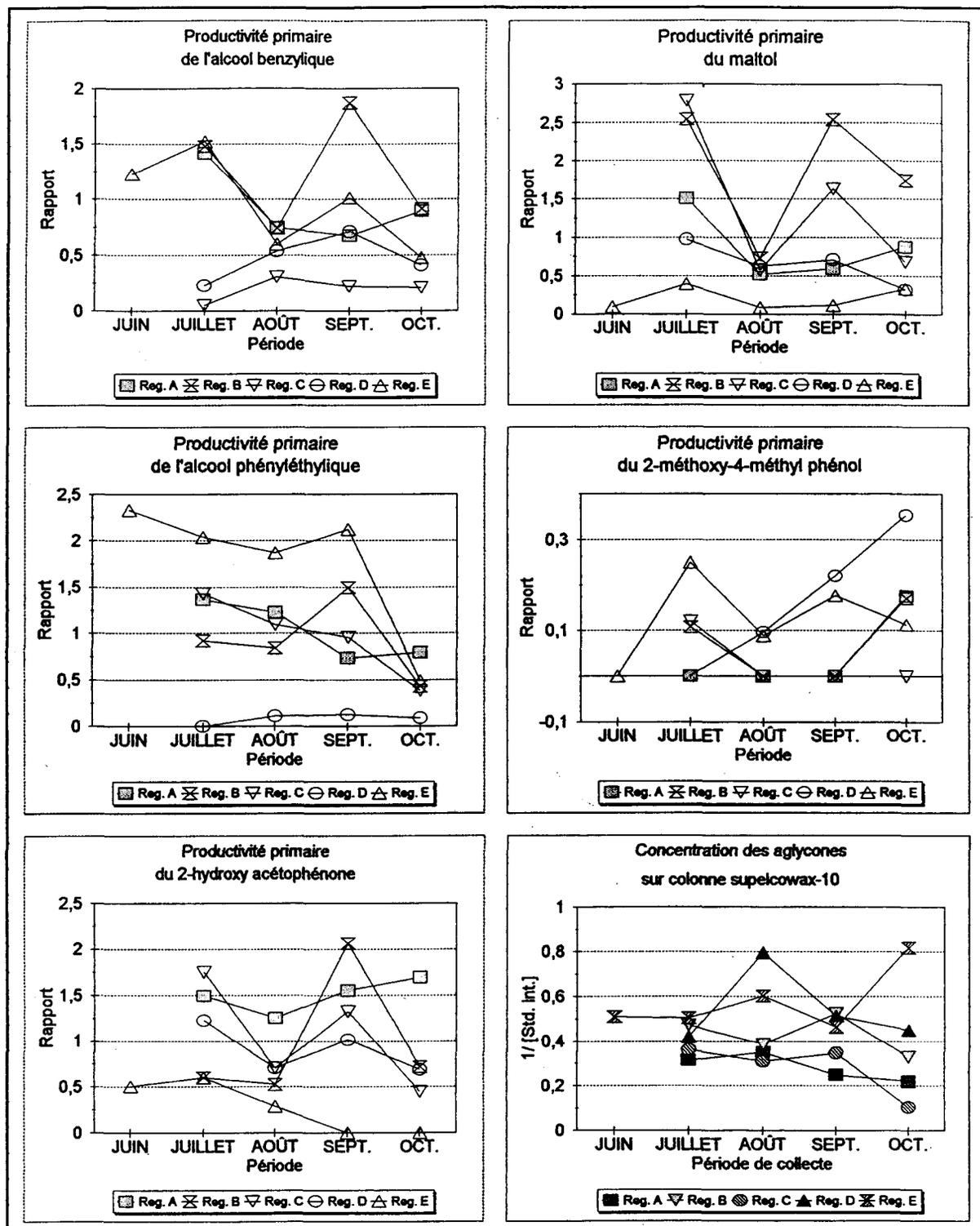


Fig. 13 Productivité primaire nette de quelques composés aromatiques liés.

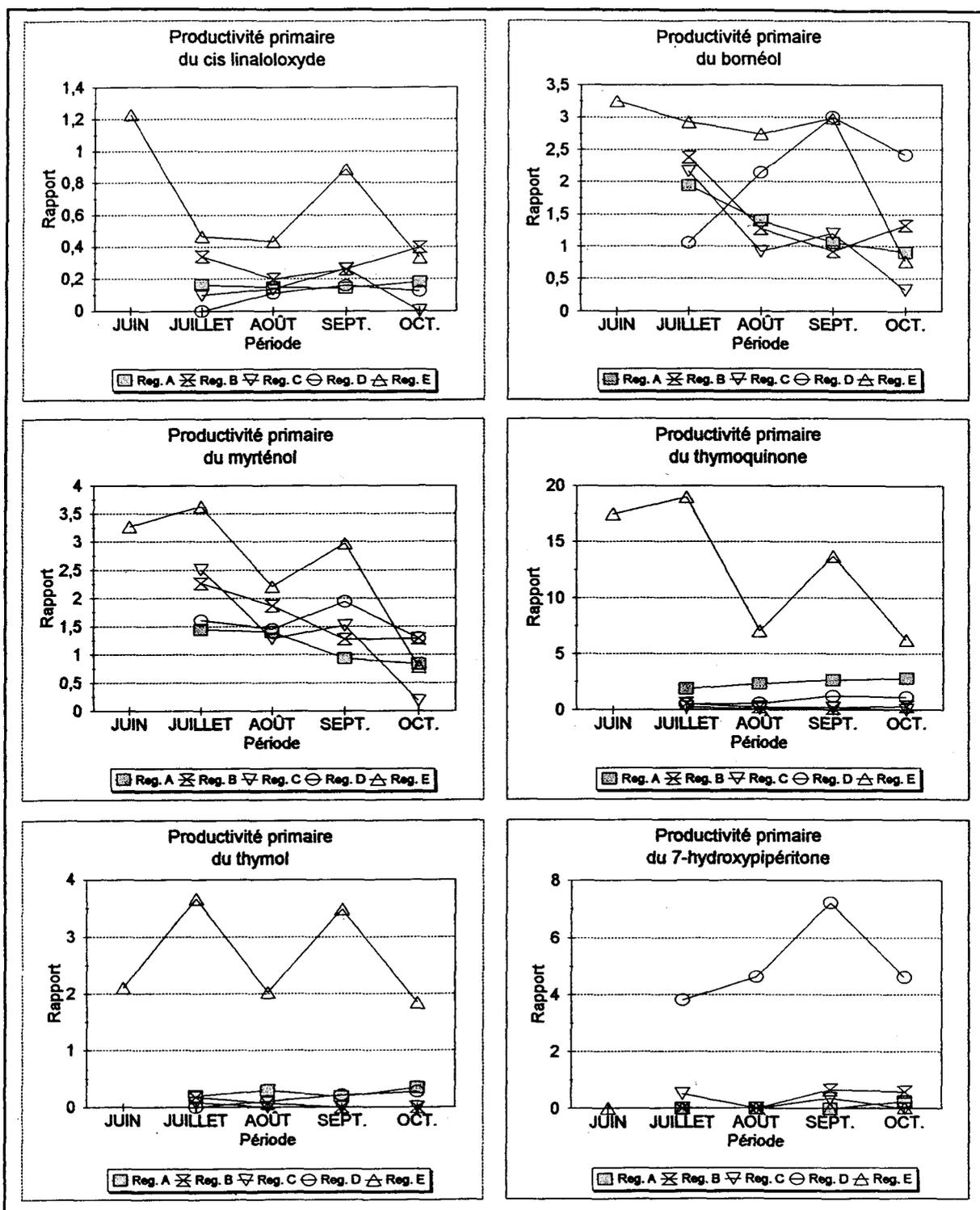


Fig. 14 Productivité primaire nette de quelques monoterpènes liés.

Mentionnons que les résultats sont présentés par regroupement d'individus afin d'homogénéiser le plus possible les mesures entre elles, car le nombre de branches prélevées lors des échantillonnages variaient en fonction du regroupement considéré. Malgré les soins apportés, des pertes de produits sont survenues lors des extractions liquide-liquide, affectant les mesures de la productivité primaire nette P_n . Néanmoins ces pertes sont négligeables pour les compositions relatives ou teneurs qui sont basées sur une échelle relative.

On observe que les composés liés qui présentent une cooccurrence avec les monoterpènes de l'huile essentielle tels le thymol, le thymoquinone et le 7-hydroxypipéritone, voir la figure 15, ont leur courbe du rapport élevé pour le regroupement concerné. La courbe se démarque des autres courbes pour chaque période de collecte, d'où la possibilité de vérifier cette cooccurrence à n'importe quelle période de l'année.

Concernant les structures phényles propanes rencontrées, mentionnons la présence de l'eugénol, de l'isoeugénol et du 3-(*p*-hydroxyphényl) prop-2-énoate de méthyle. Ces composés ne sont pas distribués de façon homogène chez tous les individus. Leur composition n'est également pas très élevée. L'alcool coniférylique, un phényle propane caractéristique chez les gymnospermes, n'a pas été retracé chez *Abies balsamea*, il aurait fallu étudié les glycosides dans les ramilles pour escompter une plus grande teneur de ces dérivés phényles propanes. Une autre substance, le 4-(*p*-hydroxyphényl) butan-2-one (1546, -),

a été retrouvée chez *Abies webbiana* à la différence que la cétone est sous une forme hydroxylée⁽⁴³⁾. Cet aglycone n'a été retrouvé qu'à une faible teneur pour *Abies balsamea*.

CONCLUSION

La population de sapin baumier au secteur écologique du lac Simoncouche présente une grande variabilité de la teneur pour quelques monoterpènes. Ces composés ont été caractérisés par spectrométrie de masse et par leurs indices de Kovats sur les colonnes DB-5 et Supelcowax-10. Parmi eux, quatre monoterpènes ont été choisis pour la grande variation de leur composition relative, ce sont respectivement : le Δ^3 -carène (1004, 1135) ; le limonène (1028, 1182) ; le pipéritone (1249, 1714) ; et le thymol (1298, 2169). Le limonène, le pipéritone et le thymol présentaient une distribution non conforme à une distribution normale. Parmi eux, le pipéritone et le thymol présentent une cooccurrence de leur composition avec des glycosides. Au pipéritone, sont associés trois glycosides dont deux sont des isomères. Les aglycones sont : le 7-hydroxypipéritone (1543, 2701) qui est le composé majeur et les deux isomères non identifiés (1276, 1973) et (1282, 1988) qui sont soupçonnés être des monoterpénols. Le thymol est associé à deux aglycones soient le composé majeur le thymoquinone (1247, -) et le thymol (1300, 2190).

Bien que le β -pinène représente le monoterpène libre majeur chez l'espèce, aucun composé glycosidique n'a pu lui être associé par cooccurrence des compositions observées. Le thymoquinone représente l'aglycone majeur de l'ensemble des composés volatils liés lorsque le thymol est détecté dans l'huile

essentielle à aussi peu que 3,2%. L'aglycone majeur (1543, 2701) associé au pipéritone constitue également une forte teneur des composés volatils liés lorsque le pipéritone est significatif dans l'huile essentielle. Le rapport de coexistence entre les deux entités (forme libre et liée) semble constant lorsqu'il s'agit de monoterpènes oxygénés libres présentant une chimiovariation. Elle est observée par la cooccurrence de leur distribution indiquant une voie biosynthétique directe entre ces composés⁽¹⁰⁾, alors que ce rapport ne semble pas en cooccurrence pour les monoterpènes oxygénés libres qui présentent une distribution normale dans l'échantillon, indiquant une voie biosynthétique indirecte avec ces composés⁽¹⁰⁾. En général, la structure élucidée des aglycones associés aux monoterpènes libres montre un état d'oxydation plus élevé, auquel cas la séquence (monoterpène oxygéné > glycosylation > oxydation) ou la voie inverse (composé oxydé > glycosylation > réduction) prendrait place dans le mécanisme biochimique impliquant la glycosylation. Un composé identifié comme étant le 6-hydroxypipéritone (1418, -) ne présente aucune cooccurrence de sa composition avec l'un ou l'autre monoterpène libre malgré la ressemblance de leur structure, laissant sous-entendre la spécificité du mécanisme biochimique en jeu.

Les principaux aglycones répertoriés dans le royaume végétal^(12, 25), qu'on retrouve également chez le sapin baumier sont : le *cis*-hex-3-én-1-ol, le *n*-hexanol, l'alcool benzylique, l'alcool phényléthylique, le bornéol, le myrténol, le

thymol, l'eugénol. Alors que les composés identifiés suivants, plus spécifiques au sapin baumier, sont : le 4-méthyl pentanol, l'heptan-2-ol, le maltol, le cis-linaloloxyde le thymoquinone, le 6-hydroxypipéritone et le 7-hydroxypipéritone.

Les résultats amènent à conclure que les glycosides participent de façon spécifique au métabolisme de l'huile essentielle. Cette participation semble proéminente pour les monoterpènes oxygénés présentant une chimiovariation marquée tels le pipéritone et le thymol et les résultats semblent démontrer qu'un individu de l'espèce *Abies balsamea* produisant ces monoterpènes induira la glycosylation de façon marquée sur ces derniers. Puisque certains auteurs proposent que la glycosylation est une forme de protection pour neutraliser certains composés^(12, 19), ces monoterpènes pourraient être exogènes à son métabolisme normal, ce qui induirait la glycosylation comme réponse immunitaire. La provenance de ces monoterpènes découlerait de l'introggression d'une autre espèce, d'un cline environnemental ou d'une altération génétique chez l'hôte. Il est entendu que le rôle des glycosides n'est pas limité à cette seule fonction⁽¹²⁾.

Quelques composés phényles propanes retracés chez le sapin baumier tels l'eugénol, l'iso-eugénol et le *p*-hydroxyphényl prop-2-énoate de méthyle sont susceptibles de participer à la biosynthèse de la lignine comme souligné par Merx et Svendsen⁽¹⁶⁾. L'alcool coniférylique répandu chez les gymnospermes, n'a pas été retrouvé chez *Abies balsamea*, cette absence peut s'expliquer par la

polarité élevée du composé qui inhibe son extraction par le pentane. Ainsi, il ne serait pas détectable aux conditions expérimentales utilisées. Plusieurs autres composés volatils liés ont été répertoriés pour le sapin baumier, mais tous n'ont pu être identifiés avec certitude.

La productivité primaire nette reliée à ces composés, observée par l'évolution que prend la fonction inverse de la teneur du standard interne (voir la figure 13) est élevée au début de juin à août, période où la croissance est la plus prononcée. Elle diminue quelque peu en septembre alors que la croissance est pratiquement achevée. Puis, elle chute en octobre à la période de dormance. L'observation des graphiques aux figures 13 et 14 ne permet pas de distinguer des différences entre composés aromatiques et terpéniques. Ceci laisse entendre que le développement de la plante est le facteur déterminant de la glycosylation.

Les glycosides jouent sur plusieurs fronts dans le métabolisme végétal et il serait intéressant d'élaborer de nouvelles approches pour une compréhension plus approfondie de leurs fonctions. Comme exemple, une étude similaire portant sur la cooccurrence de composés libre et lié pour une espèce présentant une chimiovariation devrait présenter ; pour différentes parties physiologiques (feuille, bois, résine et racine) sur un échantillon représentatif, une évolution des structures moléculaires en cooccurrence. Ce qui permettrait d'approfondir la compréhension des mécanismes biochimiques chez les végétaux.

GLOSSAIRE

- Aglycone :** (ou génine) : Fragment du glycoside n'appartenant pas à la famille des glucides.
- Chimiovariation :** (Chemovariation en anglais) : Dispersion de la teneur d'un composé, dans une population donnée, qui ne soit pas conforme à une distribution de fréquence normale.
- Cline :** Gradient géographique d'un caractère phénotypique ou physiologique donné dans une série de populations contiguës. Le caractère varie parallèlement à la variation du milieu.
-  chantillon :** Ensemble d'éléments qui soit représentatif de la population d'où il est tiré.
- Glucide :** Anciennement hydrates de carbone, ce sont les sucres naturels de formule empirique $C_n(H_2O)_n$.
- Glycoside :** (ou hétéroside) : Désigne la classe de composés constituée d'un aglycone associé à un ou plusieurs glucides. Les glucides peuvent être fixés en un point formant une chaîne polyosidique ou en des points différents. Il résulte de la formation d'une liaison entre le groupe réducteur du glucide et d'un hétéroatome de l'aglycone. On parle de O-glycoside si l'hétéroatome est un oxygène ; de S-glycoside s'il s'agit du soufre ; etc., bien que peu fréquents, des C-glycosides existent.
- H t roatome :** Tout atome autre que le carbone et l'hydrogène.
- Introgression :** Dispersion naturelle des gènes d'une espèce à l'intérieur d'une autre espèce par hybridation interspécifique suivie de plusieurs rétrocroisements avec le parent local.
- Terp ne :** Entité isoprène dont la classification repose sur leur contenu carboné (nombre d'unités isoprènes).

BIBLIOGRAPHIE

1. Frère Marie Victorin, Flore Laurentienne, Les presses de l'université de Montréal, Montréal, 2e ed., 925p, sept 1964
2. J.-L. Guignard, Abrégé de biochimie végétale, Masson et Cie, Paris, 214p, 1974.
3. K. Peter C. Vollhardt, Traité de chimie organique, éditions du renouveau pédagogique inc., Belgique, c1990, 1275p.
4. Eugene Zavarin and Karel Snajberk, Geographical variability of monoterpenes from *Abies balsamea* and *Abies. fraseri*, *Phytochemistry*, Vol. 11, pp. 1407-21, 1972
5. R. C. Wilkinson, J. W. Hanover, J. W. Wright and R. H. Flake, Genetic variation in the monoterpene composition of white spruce, *For. sci.*, Vol. 17, No. 1, pp. 83-90, 1971
6. R. S. Hunt and E. von Rudloff, Chemosystematic studies in the genus *Abies*. I. Leaf and twig oil analysis of alpine and balsam firs, *Can. j. bot.*, Vol. 52, pp. 477-487, 1974
7. E. von Rudloff and M. Granat, Seasonal variation of the terpenes of the leaves, buds and twigs of balsam fir (*Abies balsamea*), *Can. j. bot.*, Vol. 60, pp. 2682-2685, 1982
8. R. H. Flake, E. von Rudloff and B. L. Turner, Quantitative study of clinal variation in *Juniperus virginiana* using terpenoid data, *Proc. natl. acad. sci.*, Vol. 64, pp. 487-94, 1969
9. Kenzo Kawai, Chika Takahashi, Tamie Miyamoto, Atsushi Numata, Hisakatsu Iwabushi and Masahiro Yoshikura, Chemical differences between two populations of *Abies sachalinensis*, *Phytochemistry*, Vol. 32, No. 2, pp. 331-4, 1993
10. Eugene Zavarin, Qualitative and quantitative co-occurrence of terpenoids as a tool for elucidation of their biosyntheses, *Phytochemistry*, Vol. 9, pp. 1049-63, 1970

11. Rodney Croteau, Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids, Chem. rev., Vol. 87, pp. 929-954, 1987
12. E. Stahl-Biskup, Glycosidically bound volatiles- a review 1986-1991, Flavour and fragrance journal, Vol. 8, pp. 61-80, 1993
13. Programme international sur la sécurité des substances chimiques (IPCS), Critères d'hygiène de l'environnement 29, Acide (dichloro-2,4 phénoxy) acétique (2,4-D), c. 1984, Imprimé en Finlande, Organisation mondiale de la santé, Genève, 181p.
14. Robert. H. Hamilton, Jacob Hurter, Jon K. Hall and Charles D. Ercegovich, Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxy-acetic Acid by Bean Plants, J. agr. food chem, Vol. 19, No. 3, pp. 480-3, 1971
15. Chao-shieung Feung, Robert H. Hamilton and Francis H. Witham, Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by soybean cotyledon callus tissues cultures, J. agr. food chem., Vol. 19, No. 3, pp. 475-9, 1971
16. I. J. M. Merckx and A. Baerheim Svendsen, Occurrence and possible role of glycosidic bound eugenol and 2-methoxy-4-vinylphenol in the lignin biosynthesis of some lamiaceae, Planta medica, Vol. 55, pp. 88-89, 1989
17. S. Marcinowski, H. Falk, D. K. Hammer, B. Hoyer and H. Grisebach, Appearance and localization of a β -Glucosidase hydrolysing coniferin in spruce (*Picea abies*) seedlings, Planta, Vol. 144, pp. 161-165, 1979
18. S. M. Siegel, The biosynthesis of lignin: Evidence for the participation of cellulose as sites for oxydative polymerization of eugenol, J. am. chem. soc., Vol. 78, pp. 1753-55, 1956
19. E. Hoque, Norway spruce dieback: occurrence, isolation and biological activity of p-hydroxy acetophenone and p-hydroxy acetophenone-O-glucoside and their possible roles during stress phenomena, European j. of forest pathology, Vol. 15, No. 3, pp. 129-45, 1985
20. D. V. Banthorpe and J. Mann, Monoterpene glucosides from petals of *Tanacetum vulgare*, Phytochemistry, Vol. 11, pp. 2589-2591, 1971
21. Francis and Allcock, Phytochemistry, Vol. 8, pp. 1339-, 1969

22. Rodney Croteau, *Planta med.*, Vol. 57, S10, 1991
23. K. Skopp and H. Hörster, *Planta med.*, Vol. 29, pp. 208-, 1976
24. Gudrun Schulz and Elizabeth Stahl-Biskup, Essential oils and glycosidic bound volatiles from leaves, stems, flowers and roots of *Hyssopus officinalis* L. (Lamiaceae), *Flavour and fragrance journal*, Vol. 6, pp. 69-73, 1991
25. H. Pfander and H. Stoll, terpenoid glycosides, *Natural product reports*, Institute of organic chemistry, University of Berne, Berne, Switzerland, pp. 66-95, 1991.
26. K. P. Tiwari and P. K. Minocha, A chalcone glycoside from *Abies pindrow*, *Phytochemistry*, Vol. 19, pp. 2501-2503, 1980.
27. C. Ambid et G Feron, Les glycosides: intérêt dans l'industrie des arômes et des parfums, Acte d'un colloque, (École national supérieur agronomique de Toulouse. Laboratoire de biotechnologie végétale, 145, avenue de Muret, 31076 Toulouse Cédex)
28. Y. Z. Günata, C. L. Bayonove, R. L. Baumes and R. E. Cordonnier, The aroma of grapes. 1. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components, *J. Chromatogr.*, Vol. 331, pp. 83-90, 1985.
29. Lincoln Taiz and Eduardo Zeiger, Plant physiology, c. 1991, The benjamin/ Cummings publishing company inc., Redwood city, California 94065, 559p.
30. Serge Payette et Francis Boudreau, Évolution postglaciaire des hauts sommets alpins et subalpins de la Gaspésie, *Can. j. earth sci.*, Vol. 21, pp. 319-35, 1984
31. Bruno Scherrer, Biostatistique, c 1984, gaëtan morin éditeur, Boucherville, Québec, 850p.
32. Patrick Pellerin, Extraction au CO₂ supercritique des matières premières naturelles aromatiques principe et exemples, *parfums cosmétiques arômes*, No. 71, pp. 61-67, oct-nov 1986

33. Sandra Simard, Jean Marie Hachey and Guy J. Collin, The variations of essential oils composition during the extraction process. The case of *Thuja occidentalis* L. and *Abies balsamea* (L.) Mill, Journal of wood chemistry and technology, Vol. 8, No. 4, pp. 561-73, 1988
34. France-Ida Jean et Guy J. Collin, Analyse des produits naturels par chromatographie gazeuse capillaire (CGC), Communication présentée au 61e congrès de l'ACFAS à Rimouski, Mai 1993
35. Robert P. Adams, Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy, c1989, Academic Press Inc., San Diego, California, 302p.
36. Richard Bertrand, Pratique de l'analyse statistique des données, c1986, Presses de l'université du Québec, Sillery, Québec, 379p.
37. Michael Stengele and Elisabeth Stalh-Biskup, Glycosidically bound volatiles in peppermint (*Mentha piperita* L.), J. essent. oil res., Vol. 5, pp. 13-19, 1993
38. France-Ida Jean, François-X. Garneau, Guy J. Collin and Mohammed Bouhajib, The essential oil and glycosidically bound volatile compounds of *Taxus canadensis* Marsh, J. ess. oil res., Vol. 5, pp. 7-11, 1993
39. François X. Garneau, Mohammed Bouhajib, Guy J. Collin and Michel Gagnon, The glycosidically bound volatile compounds of *Picea mariana* (Mill.) B. S. P., J. essent. oil res., Vol. 6, pp. 1345-8, 1993
40. A. Baerheim Svendsen and Y. M. Merckx, Recovery of some polar volatile compounds by combined hydrodistillation-solvent extraction using a Likens-Nickerson apparatus, Scientia Pharmaceutica, Vol. 58, pp. 25-27, 1990
41. J. M. A. van den Dries and A. Baerheim Svendsen, A simple method for detection of glycosidic bound monoterpenes and other volatile compounds occurring in fresh plant material, Flavour and fragrance journal, Vol. 4, pp. 59-61, 1989
42. Guillermo Delgado and Maria Yolanda Rios, Monoterpenes from *Chrysactinia mexicana*, Phytochemistry, Vol. 30, No. 9, pp. 3129-31, 1991

43. Sudip K. Sarkar, Gurudas Poddar and Shashi B. Mahato, Glucosides from *Abies webbiana*, *Planta medica*, Vol. 53, No. 2, pp. 219-20, 1987
44. Heinz Bielka, B. L. Horecker, W. B. Jakoby, P. Karlson, B. Keil, C. Liébecq, B. Lindberg, E. C. Webb, A. E. Braunstein, W. E. Cohn, H. B. F. Dixon, Y. P. Jeannin, O. H.-Ostenhof, K. L. Loening and G. P. Moss, Enzyme nomenclature, c1979, Academic Press, inc., New-York, 606 p.

ANNEXE 1

Analyse statistique corrigée

Cette annexe reprend le traitement statistique des données décrit dans le mémoire car les tests utilisés étaient inadéquats. Les résultats ont conduit aux mêmes conclusions vu la robustesse des tests préalablement utilisés. Ils ont été remplacés pour répondre aux contraintes découlant de l'effectif restreint de l'échantillon, de la non normalité des distributions rencontrées et de la dépendance des éléments des échantillons du 3 juin et du 1er octobre 1993.

C'est pourquoi le test du Khi-carré a été remplacé par le test non paramétrique de Kolmogorov-Smirnov en vue de contrôler la normalité des distributions rencontrées, en fait le test du Khi-carré aurait dû être utilisé avec 4 classes, car pour obtenir un nombre de degré de liberté minimum de 1 pour réaliser le test ($\gamma = c-k$), il faut retrancher 3 des (c) classes lorsque l'on compare à une distribution normale, car 2 paramètres sont estimés ; la moyenne et l'écart-type et un troisième est imposé ; l'effectif. Puisqu'il ne reste que 3,75 éléments (15/4) qui se distribuent par classe, la condition d'avoir 5 éléments dans 80% des classes n'est plus respecté, ce qui affecte l'exactitude du test. Le test de Kolmogorov-Smirnov exige que la variable testée soit continue et la teneur est une mesure continue.

L'analyse de variance à deux dimensions (ou deux critères de sélections) n'est pas appropriée car l'indépendance des données est une condition d'application de ce test, le fait d'utiliser les mêmes individus aux deux périodes d'échantillonnages invalide les conclusions du mémoire qui si reportent. Un test non paramétrique appelé test de Wilcoxon pour échantillons appariés est utilisé pour vérifier l'effet de la variable période de collecte sur la variation observée des teneurs.

Afin de vérifier la cooccurrence observée, entre quelques monoterpènes de l'huile essentielle et certains aglycones provenant de l'hydrolyse enzymatique des glycosides des échantillons collectés au 3 juin, un test non paramétrique appelé coefficient de corrélation de rang de Kendall a été employé. Ce test démontre sans ambiguïté l'existence d'une relation de cooccurrence entre ces entités qui est exprimée par la dépendance des deux variables, donc d'un possible mécanisme biochimique intimement associé au métabolisme de l'huile essentielle et des glycosides, du moins pour certains d'entre eux. Cette cooccurrence s'exprime par un équilibre chimique entre les 2 entités monoterpènes libres et liés.

Le calcul détaillé pour chacun des tests non paramétriques est présenté dans cette annexe, l'exemple de calcul est suivi d'un tableau récapitulatif donnant les résultats pour l'ensemble des paramètres étudiés.

Il serait prudent de prendre connaissance de ces résultats avant de prendre pour acquis le constat établi dans le mémoire concernant l'interprétation des tests du Khi-carré et de l'analyse de variance à deux dimensions.

TEST DE KOLMOGOROV-SMIRNOV

Énoncé : La distribution des teneurs du $\Delta 3$ -carène dans l'échantillon est conforme à une distribution normale pour la population de sapin baumier concernée.

Hypothèse : H_0 : La distribution du composé $\Delta 3$ -carène répond à une loi normale.
 H_1 : La distribution du composé $\Delta 3$ -carène ne répond pas à une loi normale.

Calcul du test : Consiste à rechercher la plus grande différence existant entre les fréquences cumulées et observées et les fréquences relatives cumulées et théoriques.

Règles de décision : L'hypothèse H_0 est rejetée si la valeur D_{obs} est supérieur à D_α . La valeur critique D_α , au seuil α de 1% = 0,2535 ; voir son calcul p. 381 de la littérature⁽¹⁾.

Exemple de calcul pour le composé $\Delta 3$ -carène

X_i	Z_i	$F_n(X_i)$	$F_n(Z_i)$	$ F_n(X_i) - F_n(Z_i) $
0,00	-1,25	0,2000	0,1056	0,0944
0,00	-1,25	0,2000	0,1056	0,0944
0,00	-1,25	0,2000	0,1056	0,0944
0,43	-1,20	0,2667	0,1151	< 0,1516 >
4,19	-0,74	0,3333	0,2296	0,1037
7,93	-0,29	0,4000	0,3859	0,0141
10,08	-0,03	0,4667	0,4880	0,0213
10,80	0,06	0,5333	0,5239	0,0094
12,17	0,23	0,6000	0,5910	0,0090
12,41	0,26	0,6667	0,6026	0,0641
15,83	0,67	0,7333	0,7486	0,0153
15,98	0,69	0,8000	0,7549	0,0451
16,45	0,74	0,8667	0,7704	0,0963
22,70	1,50	0,9333	0,9332	0,0001
25,57	1,85	1,0000	0,9678	0,0322

Calcul : $Z_i = (X_i - \bar{x})/s$ (valeur centrée réduite) ; $F_n(X_i)$ est la fonction de répartition empirique des X_i ; $F_n(Z_i)$ est la fonction de répartition théorique tirée de la table de l'aires limitées par la courbe normale centrée réduite ; $|F_n(X_i) - F_n(Z_i)|$ est la différence absolue des valeurs empiriques et théoriques ; $D_{obs} = 0,1516$ qui est l'écart absolu maximum calculé.

(1) Bickel and Doksum, Mathematical statistics, c 1977, Holden-Day Inc., California, 493p.

Décision statistique : La valeur observée D_{obs} est inférieure à la valeur critique D_{α} pour α de 1% ($D_{obs} < D_{\alpha}$) : $0,1516 < 0,2535$. Donc on ne peut rejeter l'hypothèse H_0 .

Interprétation : La teneur en $\Delta 3$ -carène s'avère distribuée conformément à une distribution normale dans la population de sapin baumier au secteur du lac Simoncouche.

TABLEAU RÉCAPITULATIF DU TEST DE KOLMOGOROV-SMIRNOV
Concernant les autres monoterpènes de l'huile essentielle

Composé	D_{obs}	Test	$D_{0,01}$	Décision statistique
Santène	0,155	<	0,254	On ne peut rejeter H_0
Tricyclène	0,139	<	"	"
α -Pinène	0,194	<	"	"
Camphène	0,109	<	"	"
β -Pinène	0,076	<	"	"
β -Myrcène	0,095	<	"	"
$\Delta 3$ -Carène	0,152	<	"	"
Limonène	0,274	>	"	H_0 est rejeté au seuil de 1%
β -Phéllandréne	0,179	<	"	On ne peut rejeter H_0
Fenchone	0,352	>	"	H_0 est rejeté au seuil de 1%
Terpinolène	0,183	<	"	On ne peut rejeter H_0
Linalol	0,138	<	"	"
hydrate de cis-Pinène	0,301	>	"	H_0 est rejeté au seuil de 1%
hydrate de trans-Pinène	0,211	<	"	On ne peut rejeter H_0
Camphre	0,187	<	"	"
hydrate de Camphène	0,182	<	"	"
Bornéol	0,113	<	"	"
4-Terpinéol	0,179	<	"	"
α -Terpinéol	0,140	<	"	"
Pipéritone	0,374	>	"	H_0 est rejeté au seuil de 1%
acétate de Bornyle	0,151	<	"	On ne peut rejeter H_0
Thymol	0,492	>	"	H_0 est rejeté au seuil de 1%
acétate de Géranyle	0,515	>	"	"

Interprétation biologique :

Lorsqu'on rejete H_0 au seuil significatif de 1%, la distribution des teneurs du composé, dans la population concernée, ne répond pas à une loi normale. Possiblement que ce composé peut être à l'origine d'une chimiovariété particulière chez le sapin baumier.

TEST DE WILCOXON POUR ÉCHANTILLONS APPARIÉS

Question : La période de collecte peut-elle affectée la teneur en $\Delta 3$ -carène?

Choix du test : Les deux échantillons sont appariés car les analyses ont été faites sur les mêmes individus. Les données sont recueillies sur une échelle continue et leurs distributions sont non conforme à des distributions normales, sauf pour le $\Delta 3$ -carène. Il faut donc utiliser un test non paramétrique. Enfin comme $n < 60$, il faut appliquer un test pour petit échantillon.

Hypothèses : H_0 : La période de collecte n'a pas d'effet sur la variation des compositions.
 H_1 : La période de collecte a un effet sur la variation des compositions observées.

Calcul du test : Le test consiste à calculer la somme T+ des rangs des différences positives ($X_{1i} > X_{2i}$) et la somme T- des rangs des différences négatives ($X_{1i} < X_{2i}$) et de considérer seulement la plus petite valeur absolue des deux comme étant T_{obs} .

Règles

de décision : H_0 est rejeté au seuil significatif de 1% si la valeur observée T est inférieur à $T_{\alpha/2}$.

Exemple de calcul de la valeur de T pour le $\Delta 3$ -carène

3 juin	1er oct.	d_i	Rang de $ d_i $	T+	T-
12,17	11,71	0,46	6,5	6,5	
15,98	17,60	-1,62	11		-11
4,19	4,65	-0,46	6,5		-6,5
22,70	22,83	-0,13	1,5		-1,5
0,00	0,00	0,00			
0,00	0,00	0,00			
16,45	17,96	-1,51	10		-10
10,80	9,75	1,05	8	8	
15,83	14,06	1,77	12	12	
25,57	25,22	0,35	4	4	
12,41	13,83	-1,42	9		-9
0,00	0,00	0,00			
7,93	8,18	-0,25	3		-3
10,08	10,21	-0,13	1,5		-1,5
0,43	0,00	0,43	5	5	
Total des T_{obs} :				35,5	-42,5

Décision statistique : Comme $T_{obs} > T_{\alpha/2}$ ($35,5 > 15$), alors on ne peut rejeter H_0 .

Interprétation : La période de collecte n'ammène pas une variation significative de la composition.

TABLEAU RÉCAPITULATIF DU TEST DE WILCOXON POUR ÉCHANTILLONS APPARIÉS
Concernant les monoterpènes de l'huile essentielle non conforme à une distribution normale

Composé	T _{obs}	Test	T _{0,005}	Décision statistique
Δ3-Carène	35,5	>	15	On rejette H ₀ au seuil de 1%
Limonène	28	>		"
Fenchone	0	<		On ne peut rejeter H ₀
hydrate de <i>cis</i> -Pinène	3	<		"
Pipéritone	33,5	>		On rejette H ₀ au seuil de 1%
Thymol	0	<		On ne peut rejeter H ₀
acétate de Géranyle	0	<		"

Interprétation biologique :

Lorsqu'on rejette H₀ au seuil significatif de 1%, il y a une variation significative de la teneur du composé en fonction des périodes de collectes. Donc le fenchone, l'hydrate de *cis*-pinène, le thymol et l'acétate de géranyle subissent une variation significative de leur composition en fonction de la période de collecte.

TEST DE SIGNIFICATION DU COEFFICIENT DE KENDALL

Question : La relation de cooccurrence, entre monoterpènes de l'huile essentielle et des aglycones liés glycosidiquement, mesurée par le coefficient de Kendall est-elle significative?

Condition : Aucune condition n'est attachée au test de signification du coefficient de corrélation de Kendall.

Hypothèses : H₀ : Les deux variables sont indépendantes.
H₁ : Les deux variables sont dépendantes.

Test : Comme n est compris entre 10 et 30, on utilise le test de signification reposant sur l'équation :

$$Z_t = t \left(\frac{9n(n-1)}{2(2n+5)} \right)^{1/2} - \left(\frac{18}{n(n-1)(2n+5)} \right)^{1/2}$$

Le coefficient de corrélation de rang de Kendall (t) est calculé par la formule suivante :

$$t = \frac{2S}{[n(n-1) - \sum_x t_x(t_x - 1)] [n(n-1) - \sum_y t_y(t_y - 1)]^{1/2}}$$

où : t_x(t_x - 1) et t_y(t_y - 1) représentent les corrections d'ex aequo apporté en x et y.
k : représente le nombre d'ex aequo dans une série donnée d'ex aequo en x.
l : représente le nombre d'ex aequo dans une série donnée d'ex aequo en y.
n : l'effectif de l'échantillon égale à 15.

Distribution de la variable auxiliaire : Si l'hypothèse H_0 est vraie, la variable Z_t , obéit à une loi normale centrée réduite.

Règle de décision : L'hypothèse H_0 est rejetée au seuil significatif (α) si $|Z_t|$ est supérieur à la valeur critique $Z_{\alpha/2}$ qui égale 1,96 pour $\alpha = 5\%$; et de 2,58 pour $\alpha = 1\%$.

Exemple de calcul du coefficient de corrélation de Kendall entre l'aglycone 7-hydroxypipéritone (X_i) et le pipéritone (Y_i)

X_i	Y_i	R_x	R_y	Pointage	Correction <i>ex aequo</i>
0,00	0,00	2,5	6	4	$t_x(t_x-1) = 4(4-1) = 12$
0,00	0,00	2,5	6	4	
0,00	0,00	2,5	6	4	$t_y(t_y-1) = 11(11-1) = 110$
0,00	0,00	2,5	6	4	
0,16	0,00	5	6	4	
0,17	0,00	6	6	4	
0,19	0,00	7	6	4	
0,22	0,00	8	6	4	
0,36	0,00	9	6	4	
0,40	0,00	10	6	4	
0,43	0,00	11	6	4	
2,12	1,77	12	13	1	
2,77	0,79	13	12	2	
9,79	4,63	14	14	1	
22,38	8,21	15	15	0	
			S =	48	

Calculs : $t = 2 \cdot 48 / [15(15-1) - 12] [15(15-1) - 110]^{1/2} = 0,682$

$Z_t = 0,682 (9 \cdot 15(15-1) / 2(2 \cdot 15 + 5))^{1/2} - (18 / 15(15-1)(2 \cdot 15 + 5))^{1/2} = 3,54 - 0,04 = 3,50$

Décision statistique : La valeur de Z_t est supérieur à la valeur critique $Z_{\alpha/2}$ ($3,50 > 2,58$). L'hypothèse H_0 est donc rejetée au seuil significatif de 1%.

Interprétation biologique :

La relation entre la teneur en pipéritone et la teneur de l'aglycone 7-hydroxypipéritone est hautement significative. Il y a donc cooccurrence entre le pipéritone de l'huile essentielle et l'aglycone 7-hydroxypipéritone provenant de l'hydrolyse enzymatique des glycosides. Cette relation indique, pour ces deux composés, l'existence d'un lien étroit entre le métabolisme de l'huile essentielle et celui des glycosides.

TABLEAU RÉCAPITULATIF DU TEST DE SIGNIFICATION DU COEFFICIENT DE KENDALL
pour les couples en cooccurrence (aglycone, monoterpène libre)

Composé (aglycone, monoterpène)	Z_t	Test	$Z_{0,025}$	$Z_{0,005}$	Décision statistique
(7-hydroxy., pipéritone)	3,50	>	1,96	2,58	Comme $Z_t > Z_{\alpha/2}$, alors
(Inc.[1282, 1961], pipé.)	2,66	>	1,96	2,58	H_0 est rejeté au seuil
(Inc.[1288, 1977], pipé.)	2,02	>	1,96		significatif d'au moins
(thymol, thymol)	3,44	>	1,96	2,58	5%.
(thymoquinone, thymol)	3,05	>	1,96	2,58	

Interprétation biologique :

Les aglycones 7-hydroxypipéritone, les inconnus (1282, 1961) et (1288, 1977) présentent une relation de cooccurrence avec le monoterpène libre pipéritone. De même pour les aglycones thymol et thymoquinone qui présentent une relation de cooccurrence avec le monoterpène libre thymol. La relation observée découle de la présence d'un équilibre chimique entre chacune des entités de classe différente (aglycone de l'hydrolyse enzymatique du glycoside et *monoterpène* de l'huile essentielle), cette relation démontre un lien métabolique étroit entre ces entités.

ANNEXE 2

**Composition de l'huile essentielle du sapin baumier
de l'échantillonnage du 3 juin 1993**

Composition relative (%) de l'huile essentielle des 15 individus échantillonnés le 3 juin 1993

DB-5 IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
888	3,58	2,88	4,64	1,89	3,79	4,49	4,10	3,98	2,12	2,53	1,83	3,64	2,50	2,47	3,06	3,17	0,93
924	0,50	0,57	0,81	0,40	0,90	0,64	0,66	0,54	0,48	0,74	0,23	0,44	0,37	0,56	0,54	0,56	0,17
936	9,82	6,76	8,14	6,19	11,36	11,19	5,63	7,99	6,33	7,74	5,16	8,06	10,32	7,57	6,99	7,95	1,94
949	4,66	5,92	8,03	3,76	8,57	6,49	6,52	5,46	4,60	7,68	2,55	4,62	3,92	5,63	5,29	5,58	1,67
974	40,88	32,59	28,95	37,56	25,64	34,72	37,90	29,93	34,01	18,78	27,19	21,29	27,93	36,21	34,23	31,19	6,28
991	1,22	1,54	0,99	1,77	0,63	1,13	1,16	1,50	1,32	1,26	1,20	0,72	0,84	1,67	1,04	1,20	0,33
1004	12,17	15,98	4,19	22,70	0,00	0,00	16,45	10,80	15,83	25,57	12,41	0,00	7,93	10,08	0,43	10,30	8,26
1028	2,88	2,40	3,78	2,15	3,51	4,48	2,60	11,03	2,18	3,18	2,09	4,28	2,79	2,00	3,71	3,54	2,22
1028	7,64	8,42	3,74	9,38	3,55	4,16	5,12	6,04	5,57	2,89	17,79	4,96	7,62	10,27	4,72	6,79	3,76
1065	0,78	0,38	0,00	0,43	0,53	0,96	0,35	0,00	1,12	0,53	0,76	0,43	0,54	1,48	1,25	0,64	0,43
1091	0,09	0,22	0,17	0,00	3,64	0,00	0,00	0,00	0,64	0,00	0,44	0,22	0,41	0,00	2,91	0,58	1,12
1095	0,61	0,97	0,54	1,57	0,33	0,43	0,55	0,75	1,12	1,35	1,34	0,43	0,79	0,72	0,58	0,80	0,38
1110	0,82	0,56	0,14	0,11	0,67	0,60	0,40	0,00	0,27	0,14	0,42	0,89	0,46	0,18	0,93	0,44	0,30
1126	0,07	0,13	0,00	0,14	0,09	0,22	0,00	0,00	0,17	0,08	0,73	0,57	1,35	0,18	0,48	0,28	0,37
1142	0,03	0,17	0,00	0,07	0,05	0,11	0,00	0,00	0,22	0,00	0,46	0,51	0,87	0,00	0,26	0,18	0,25
1142	0,31	0,13	0,42	0,09	1,25	0,22	0,95	0,47	0,15	0,14	1,03	1,57	0,24	1,05	0,68	0,58	0,48
1142	0,17	0,34	0,86	0,18	0,68	0,85	0,25	0,25	0,68	0,20	0,52	0,19	0,58	0,83	1,42	0,53	0,36
1147	0,36	0,90	0,96	0,33	1,13	1,23	0,74	1,06	0,53	1,43	0,84	1,26	0,51	1,52	0,82	0,91	0,37
1163	0,32	0,66	0,28	0,44	0,23	0,31	0,31	0,40	0,66	0,58	0,91	1,25	0,53	0,40	0,67	0,53	0,27
1174	0,70	1,04	1,45	0,64	1,45	2,41	0,73	1,59	2,18	0,68	1,32	1,28	1,70	1,53	2,45	1,41	0,60
1249	0,22	0,16	0,36	0,00	0,43	0,40	0,17	0,00	0,00	0,00	2,12	22,38	9,79	0,19	2,77	2,60	6,02
1287	11,29	15,52	29,66	8,95	29,88	23,65	15,14	18,23	17,43	22,98	9,01	17,36	15,05	14,77	20,29	17,95	6,44
1298	0,07	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,28	0,02	0,00	0,00	3,21	0,71	1,99
1383	0,00	0,00	0,18	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
Autres	0,82	1,77	1,64	1,10	1,69	1,31	0,27	0,00	2,39	1,50	2,39	3,62	2,96	0,70	1,27	1,56	0,98
(Std)	2,61	4,89	3,62	2,56	3,17	5,15	2,13	6,75	6,77	2,54	3,37	3,77	5,05	4,83	5,46	4,18	1,50

- Entrainement à la vapeur durant 2 hrs. de 136g. de ramilles fraîches coupées.
- La composition relative est obtenue par l'aire sous les pics des chromatogrammes : colonne Supelcowax-10 ; normalisé sans le standard interne et sans correction des facteurs de réponse.
- Le standard interne utilisé : Tétradécane: (1,526g/500ml : 5,00ml dilué à 200 ml avec l'extrait pentanique).
- Les composés sont ordonnés selon l'éluion (#) observé de la colonne apolaire "DB-5".
- Moy : moyenne des 15 individus ; s : écart-type.
- L'identification est effectuée au moyen des indices de Kovats calculés et des spectres de masse comparés aux banques de données de LASEVE et NBS75K respectivement ; voir les tableaux #7 et 8.

ANNEXE 3

**Composition de l'huile essentielle du sapin baumier
de l'échantillonnage du 1er octobre 1993**

Composition relative (%) de l'huile essentielle des 15 individus échantillonnés le 3 oct. 1993

DB-5 IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
888	3,07	2,20	2,41	1,16	3,40	2,41	2,45	2,27	1,78	2,00	1,39	2,68	2,36	1,54	3,15	2,29	0,64
924	0,57	0,68	1,14	0,40	1,10	1,01	0,54	0,73	0,64	0,98	0,32	0,67	0,65	0,74	0,92	0,74	0,24
936	7,83	5,39	9,48	5,55	9,37	8,98	5,23	5,89	5,33	7,35	5,62	5,31	8,12	6,01	5,73	6,74	1,60
949	5,02	6,47	9,46	3,81	10,08	8,30	5,96	6,22	5,74	8,99	3,09	6,48	5,88	6,10	7,70	6,62	1,98
974	45,05	36,91	35,61	39,56	33,82	46,80	38,95	36,12	41,20	18,73	32,83	31,10	37,10	45,12	41,67	37,37	6,94
991	1,34	1,40	1,22	1,86	0,70	0,95	1,49	1,49	1,68	1,49	1,55	0,87	1,38	1,64	0,96	1,33	0,33
1004	11,71	17,60	4,65	22,83	0,00	0,00	17,96	9,75	14,06	25,22	13,83	0,00	8,18	10,21	0,00	10,40	8,37
1028	2,61	2,10	3,73	2,15	4,68	3,74	2,39	13,28	2,91	3,10	2,60	4,86	4,33	2,10	4,46	3,94	2,76
1028	7,96	8,51	4,23	10,12	5,51	5,08	5,72	6,92	6,15	2,80	19,64	6,60	7,86	10,87	5,53	7,57	3,96
1065	0,19	0,30	0,15	0,35	0,12	0,10	0,25	0,15	0,27	0,39	0,38	0,31	0,20	0,18	0,16	0,23	0,10
1091	0,03	0,00	0,00	0,00	1,74	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,22	0,00	0,19	0,00	1,31	0,24	0,53
1095	0,76	1,00	0,86	1,83	0,53	0,45	0,60	0,69	1,31	1,87	1,51	0,79	1,10	0,84	0,74	0,99	0,45
1110	0,70	0,35	0,24	0,00	0,43	0,36	0,57	0,06	0,09	0,22	0,31	0,79	0,19	0,09	0,36	0,32	0,23
1126	0,00	0,00	0,05	0,08	0,00	0,04	0,00	0,00	0,06	0,00	0,37	0,60	0,61	0,06	0,17	0,14	0,21
1142	0,02	0,00	0,02	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
1142	0,18	0,00	0,14	0,00	0,41	0,06	0,87	0,18	0,05	0,09	0,59	0,74	0,08	0,59	0,23	0,28	0,29
1142	0,06	0,28	1,05	0,15	0,48	0,27	0,47	0,12	0,39	0,20	0,23	0,30	0,36	0,46	0,70	0,37	0,25
1147	0,23	0,24	0,26	0,04	0,59	0,22	0,37	0,38	0,29	0,91	0,36	1,22	0,48	0,63	0,51	0,45	0,30
1163	0,19	0,35	0,15	0,32	0,00	0,11	0,28	0,18	0,34	0,48	0,49	0,96	0,33	0,19	0,30	0,31	0,22
1174	0,34	0,64	0,48	0,39	0,41	0,57	0,84	0,59	0,82	0,55	0,63	1,17	0,60	0,50	0,85	0,61	0,21
1249	0,23	0,00	0,18	0,09	0,45	0,20	0,36	0,00	0,09	0,29	1,18	14,80	4,13	0,20	1,82	1,60	3,81
1287	11,08	15,29	22,22	8,38	25,63	19,16	14,58	14,86	14,97	22,75	7,02	17,81	13,56	11,53	18,87	15,85	5,29
1298	0,06	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,74	0,00	0,00	0,00	2,09	0,46	1,30
1383	0,00	0,00	0,74	0,19	0,13	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,19
Autres	0,78	0,29	1,46	0,76	0,42	1,04	0,32	0,12	1,67	1,59	1,12	1,95	2,30	0,38	1,78	1,06	0,69
(Std)	1,29	2,48	1,03	1,39	1,34	1,10	1,74	1,84	2,00	1,79	1,71	1,55	1,22	1,46	1,49	1,56	0,38

- Entraînement à la vapeur durant 2 hrs. de 136g. de ramilles fraîches coupées.
- La composition relative est obtenue par l'aire sous les pics des chromatogrammes : colonne Supelcowax-10 ; normalisé sans le standard interne et sans correction des facteurs de réponse.
- Le standard interne utilisé : Tétradécane: (1,526g/500ml : 5,00ml dilué à 200 ml avec l'extrait pentanique).
- Les composés sont ordonnés selon l'élution (#) observé de la colonne apolaire "DB-5".
- Moy : moyenne des 15 individus ; s : écart-type.
- L'identification est effectuée au moyen des indices de Kovats calculés et des spectres de masse comparés aux banques de données de LASEVE et NBS75K respectivement ; voir les tableaux #7 et 8.

ANNEXE 4

**Reproduction de chromatogrammes
(huile essentielle)**

ANNEXE 5

Composition des aglycones volatils
(échantillonnage du 3 juin 1993)

Analyse (sur colonne DB-5 avec l'enzyme Cellulase)

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULOSE
SUR LA COLONNE DB-5 DES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 3 JUIN 1993

112

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
843	0,00	0,18	0,00	0,55	0,28	0,71	0,98	0,47	0,24	0,31	0,32	0,92	0,00	0,00	0,44	0,36	0,32
864	0,00	0,00	0,00	0,29	0,52	0,57	0,34	0,27	0,44	0,22	0,11	0,57	0,00	0,00	0,36	0,25	0,22
865	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04
867	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,11
878	0,00	0,00	0,00	0,46	0,14	0,36	0,49	0,37	0,23	0,26	0,13	0,26	0,00	0,34	0,34	0,23	0,17
909	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,61	0,16	0,00	0,98	0,00	0,00	1,24	0,00	0,27	0,54
953	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,28	0,23	0,25	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,08	0,13
982	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08
985	0,28	0,89	0,00	2,15	0,37	0,57	1,08	0,80	0,72	1,37	0,61	0,59	0,44	0,67	0,22	0,72	0,52
990	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,05
992	0,00	0,19	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,07
1039	8,23	1,82	0,63	6,99	2,67	3,87	3,36	3,50	2,09	2,58	0,57	1,12	1,65	5,40	2,07	3,10	2,24
1048	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,15
1051	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00	0,02	0,07
1060	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,03	0,13
1067	0,00	0,42	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,17
1079	0,00	0,27	0,00	0,37	0,33	0,00	0,75	0,51	0,50	0,36	0,38	0,26	0,65	0,00	0,19	0,30	0,24
1083	0,79	1,09	0,20	0,75	1,16	4,12	2,65	0,41	0,91	0,27	0,13	0,65	0,71	1,11	2,07	1,14	1,07
1100	0,45	0,40	0,21	0,27	0,53	0,50	0,45	0,79	0,34	0,35	0,14	0,34	0,45	0,00	0,36	0,37	0,18
1105	0,00	0,25	0,00	7,09	15,03	3,91	14,88	6,34	4,02	4,04	4,47	7,47	9,68	0,00	4,54	5,45	4,86
1106	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
1114	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,21	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,05	0,12
1120	0,62	1,37	1,04	0,65	0,93	0,00	0,39	0,00	0,47	0,39	0,00	0,35	0,00	0,00	0,16	0,42	0,43
1123	0,61	1,96	0,00	4,36	2,26	2,30	0,45	0,00	4,05	11,85	0,00	0,00	0,96	0,73	3,92	2,23	3,08
1127	0,00	0,00	0,00	0,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,58	0,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,26
1142	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,09
1147	0,53	0,53	0,18	0,46	0,42	0,39	0,29	0,87	0,90	0,49	0,78	0,41	0,47	0,00	0,50	0,48	0,24
1149	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,23	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,09
1153	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,20	0,00	0,00	0,00	0,05	0,10
1155	0,00	0,18	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,17	0,18	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,10
1165	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,09
1171	7,05	11,36	14,52	2,87	3,97	7,92	3,29	12,09	9,50	8,03	3,31	8,62	5,34	4,32	5,47	7,18	3,56
1174	0,76	1,44	0,34	0,40	0,38	0,84	0,83	0,00	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,81	0,72	0,49	0,44
1178	0,00	0,71	0,24	0,40	0,57	0,41	0,00	0,39	0,40	1,00	0,16	0,00	0,39	0,43	0,35	0,36	0,27
1180	0,00	0,53	0,00	1,31	0,43	1,06	1,85	1,07	2,24	1,83	0,77	0,80	2,75	0,00	1,95	1,11	0,87
1184	0,25	0,25	0,00	0,63	0,00	0,00	0,36	0,00	0,21	0,35	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,19
1186	1,18	2,14	0,46	1,04	0,45	0,00	0,64	0,29	0,32	0,70	0,31	0,20	0,47	0,39	0,00	0,57	0,54
1192	0,57	1,61	0,40	1,24	0,95	0,37	0,44	0,95	1,08	1,62	0,00	0,88	0,92	0,00	0,00	0,73	0,54
1193	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,14
1196	0,70	0,37	0,51	0,89	0,45	0,67	0,51	0,51	0,40	0,46	0,46	0,51	1,06	0,00	0,20	0,51	0,26

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULOSE
SUR LA COLONNE DB-5 DES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 3 JUIN 1993

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1199	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04
1205	2,11	2,00	7,02	2,00	3,06	7,31	2,27	3,96	5,04	4,28	1,28	2,70	6,37	1,54	5,51	3,76	2,05
1224	0,25	0,60	0,24	0,70	0,00	0,36	0,51	0,00	0,43	0,62	0,11	0,16	0,00	0,00	0,15	0,28	0,25
1225	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,09
1231	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,13
1240	0,71	2,89	0,81	0,00	0,00	2,15	3,33	1,84	5,42	0,32	1,49	0,00	2,92	3,46	0,85	1,75	1,60
1243	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,10
1245	0,00	0,26	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,13
1256	0,76	0,30	0,19	0,50	0,29	0,00	3,34	2,69	0,00	0,72	38,16	4,72	1,70	2,67	29,43	5,70	11,6
1262	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,18
1263	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,26	0,88	0,17	0,00	0,00	0,00	0,12	0,24
1267	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,05
1279	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,38	0,56	0,42	0,61	0,28	0,43	0,00	0,00	0,26	0,26	0,30
1282	0,77	0,83	0,38	0,84	0,58	0,50	5,44	2,22	0,81	1,01	0,85	13,81	6,21	4,60	1,23	2,67	3,63
1288	0,00	0,33	0,00	0,86	0,00	0,00	0,50	0,00	0,47	0,88	0,64	4,34	2,20	0,00	0,00	0,68	1,17
1290	0,00	0,36	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,20
1294	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,32	0,04	0,10
1299	0,82	0,45	0,32	0,47	0,31	0,00	1,44	1,00	0,35	0,79	0,24	0,53	0,00	0,00	0,37	0,47	0,40
1302	2,44	0,43	0,34	0,37	0,59	0,00	0,41	0,84	0,39	0,36	7,92	0,77	1,77	0,55	3,54	1,38	2,04
1307	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,12	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,32
1308	0,35	0,23	0,00	0,39	0,80	0,00	0,44	0,00	0,61	0,00	0,00	0,29	0,53	0,00	0,85	0,30	0,30
1310	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,12
1318	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
1328	0,00	0,19	0,00	0,38	0,27	0,00	0,00	0,42	0,00	0,31	0,22	0,00	0,00	0,59	0,16	0,17	0,19
1334	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,10
1336	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
1343	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,14
1344	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,90	0,46	0,33	0,00	0,23	0,00	0,00	1,00	0,33	0,24	0,34
1349	0,00	0,34	0,00	0,31	0,25	0,00	0,33	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,15
1357	0,00	0,00	0,00	0,45	0,00	0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,62	1,04	0,37	0,19	0,32
1358	1,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,27	0,57	0,00	0,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,58
1360	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,45
1361	0,00	1,76	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,50
1362	0,23	0,00	1,80	1,28	0,44	0,00	4,12	0,81	0,22	0,42	0,17	3,95	0,55	0,00	0,19	0,94	1,35
1367	1,25	1,06	0,59	1,13	0,78	0,63	0,59	0,69	0,68	0,65	1,29	0,78	0,95	1,42	0,33	0,86	0,31
1370	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,07
1373	0,00	0,72	1,90	1,82	0,54	0,00	0,75	1,07	0,48	1,06	0,28	0,90	0,00	1,72	0,00	0,75	0,67
1374	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,64	0,26	0,00	0,00	0,00	0,06	0,17
1375	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,09
1376	0,00	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	0,27	0,42	0,41	0,00	0,00	0,00	0,12	0,18

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
SUR LA COLONNE DB-5 DES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 3 JUIN 1993

114

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1380	0,87	0,50	0,00	0,85	0,33	0,00	0,00	0,00	0,61	0,43	1,54	0,62	0,52	1,10	0,00	0,49	0,46
1383	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,21
1383	0,77	0,88	0,89	1,30	0,84	0,00	0,34	0,00	0,62	0,76	0,93	0,00	0,86	0,00	0,38	0,57	0,42
1387	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,58	0,00	0,00	0,00	0,04	0,15
1390	0,88	1,37	1,29	0,97	0,41	0,47	0,43	1,94	0,91	0,65	0,50	0,44	0,77	1,01	0,25	0,82	0,46
1391	0,42	0,57	0,39	0,56	0,00	0,00	0,00	0,59	0,26	0,38	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,24	0,24
1393	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,07
1396	22,10	11,48	40,47	8,83	22,98	25,60	17,53	14,29	18,88	10,24	3,84	6,65	20,44	39,63	17,16	18,68	10,7
1421	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,00	0,07	0,3
1423	1,95	0,00	0,34	0,94	0,00	0,00	0,00	0,86	1,01	0,00	2,01	0,00	0,65	0,00	0,00	0,52	0,71
1427	0,00	1,62	0,00	0,00	0,00	0,00	2,09	0,00	0,00	4,11	0,00	0,73	0,65	0,00	0,30	0,63	1,16
1431	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
1436	0,00	0,00	0,00	0,72	0,38	0,00	0,65	0,56	0,80	0,48	0,35	0,50	0,38	0,00	0,35	0,34	0,28
1439	1,12	0,82	0,84	0,62	0,70	0,73	0,71	0,71	0,63	0,70	0,60	1,37	0,00	0,77	0,59	0,73	0,29
1452	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,66	0,00	0,00	0,00	0,04	0,17
1461	1,48	0,59	0,97	1,39	1,77	0,00	1,17	1,02	1,11	1,01	1,17	0,48	1,23	0,00	0,62	0,93	0,51
1464	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08
1465	0,50	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,18
1474	0,00	0,00	0,15	0,30	0,32	0,00	0,00	0,32	0,58	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,13	0,18
1491	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	0,00	0,00	0,00	0,53	0,09	0,24
1501	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1503	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,44	0,88	0,00	0,00	0,00	0,31	0,15	0,27
1508	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,44	0,41	0,00	0,00	0,07	0,16
1511	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,09
1518	0,00	0,23	0,00	0,00	0,67	0,00	0,82	0,00	0,32	0,00	0,00	0,28	0,62	0,00	0,19	0,21	0,28
1522	2,26	0,88	0,89	1,46	0,89	0,75	1,14	1,13	1,06	0,73	0,71	0,83	1,31	0,00	0,60	0,98	0,49
1534	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
1537	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
1541	0,00	0,00	0,00	0,32	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,12
1546	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,22	0,05	0,13
1552	0,57	0,43	0,00	0,75	0,36	0,00	0,00	0,00	0,27	0,00	1,13	0,00	0,00	0,42	0,75	0,31	0,36
1553	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1555	0,00	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,21
1556	0,82	0,00	0,00	0,66	0,47	0,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,81	4,57	0,00	0,00	1,20	2,90
1565	0,00	0,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,11
1574	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,10
1580	1,67	1,88	0,76	0,96	0,84	0,95	0,60	0,96	1,31	1,37	0,44	0,30	1,29	1,47	0,57	1,02	0,46
1582	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08
1588	0,51	0,46	0,23	0,32	0,33	0,26	0,00	0,30	0,45	0,61	0,20	0,00	0,44	0,53	0,22	0,32	0,18

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
SUR LA COLONNE DB-5 DES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 3 JUIN 1993

116

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
2064	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,16
2070	2,06	1,11	3,94	1,47	3,60	15,33	0,95	2,04	0,74	1,02	1,00	0,36	1,63	3,92	0,47	2,64	3,71
2095	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,07
2170	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,10
2206	0,69	0,00	0,00	1,73	0,57	0,00	1,24	0,00	0,55	1,95	0,27	0,00	0,00	0,00	0,28	0,49	0,66
2316	0,00	0,00	0,00	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,95	0,00	0,00	0,12	0,28
Autres	2,64	1,13	0,56	1,62	1,12	2,19	1,35	1,84	1,39	0,96	1,09	1,75	1,03	2,51	1,93	1,54	0,60
(Std)	3,47	3,01	2,76	2,98	2,10	2,66	2,26	3,61	2,61	2,53	1,68	2,10	3,53	4,46	1,66	2,76	0,77

- Macération durant 24 h de 25,0 g d'aiguilles séchées et broyées.
- La composition relative est obtenue par l'aire sous les pics des chromatogrammes : colonne DB-5 ; normalisé sans le standard interne et sans correction des facteurs de réponse.
- Le standard interne utilisé pour solubiliser les aglycones après hydrolyse enzymatique : 200 µl d'une solution préparée avec (1,526 g de tétradécane / 500 ml d'éthanol : 5,00 ml dilué à 200 ml avec du dichlorométhane).
- Les composés sont ordonnés selon l'ordre d'éluion (#) observé à la colonne apolaire DB-5.
- L'identification est effectuée au moyen des indices de Kovats (IK) calculés et des spectres de masse avec l'aide des banques de données de LASEVE et NBS75K respectivement.

ANNEXE 6

Composition des aglycones volatils
(échantillonnage du 3 juin 1993)

Analyse (sur colonne Supelcowax-10 avec l'enzyme Cellulase)

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
SUR LA COLONNE SUPELCOWAX-10 DES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS AU 3 JUIN 1993

118

IK	Individu #															MOY	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1315	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,93	1,71	0,00	0,00	1,97	0,98	0,00	0,00	0,00	0,37	0,68
1420	0,52	1,26	0,00	0,88	1,31	5,55	3,59	0,00	1,28	0,00	0,00	0,90	0,00	1,34	3,34	1,33	1,62
1554	0,00	0,99	0,00	2,42	0,91	0,00	1,43	0,00	1,42	1,88	1,43	0,80	0,00	0,00	0,00	0,75	0,82
1558	0,00	0,00	0,00	0,00	2,61	0,00	0,00	0,93	5,11	0,00	0,00	0,00	1,95	0,00	0,68	0,75	1,45
1609	0,00	0,00	0,00	8,37	18,64	0,00	20,41	6,90	4,46	4,86	6,16	10,09	9,09	0,00	6,66	6,38	6,45
1619	0,00	0,38	0,00	0,50	0,50	4,06	0,00	0,00	0,00	0,00	2,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	1,18
1625	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,36	0,00	0,71	1,77	0,74	0,00	1,37	0,00	0,00	0,66	0,44	0,62
1659	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,20
1676	8,27	15,27	15,56	2,98	3,99	9,67	2,86	16,45	12,14	10,89	7,70	11,54	6,92	3,90	9,26	9,16	4,55
1683	0,00	0,72	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,62	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,66	0,20	0,30
1717	0,80	1,59	0,28	0,00	0,43	1,12	0,93	0,00	0,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,94	1,35	0,55	0,56
1746	0,00	0,91	0,95	1,88	0,76	1,41	3,15	0,94	4,36	2,49	2,35	1,25	5,36	0,00	4,56	2,02	1,67
1748	0,00	1,19	0,48	0,00	1,21	1,26	0,00	1,07	0,00	2,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,79
1754	0,00	0,62	0,67	0,00	0,41	0,00	0,00	0,69	0,70	1,12	0,00	0,58	0,00	0,00	0,51	0,35	0,37
1770	1,08	0,47	0,53	1,20	0,55	0,85	0,70	0,00	0,51	0,66	1,04	0,67	1,34	0,00	0,54	0,68	0,38
1782	2,16	2,45	7,96	2,25	3,86	10,50	2,65	5,23	6,77	6,09	2,81	3,60	8,86	1,95	9,61	5,12	2,98
1829	0,00	0,00	0,00	0,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,24
1835	0,00	1,25	0,31	1,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,73	1,26	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,55
1842	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,09
1848	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,41	0,74	0,00	0,00	0,00	0,21	0,64
1853	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,39
1870	12,02	3,11	0,93	11,83	4,00	6,23	6,13	5,96	3,46	4,74	1,82	2,08	2,72	9,18	4,25	5,23	3,43
1888	0,00	0,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,18
1898	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,89	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67	1,77	5,30
1904	0,00	2,89	0,00	6,67	0,00	3,42	0,00	0,00	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,93	1,94
1923	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,14	0,00	0,00	0,96	0,00	0,00	0,00	0,43	0,17	0,38
1932	0,00	0,56	0,00	1,57	0,00	0,00	0,98	0,00	0,85	1,69	1,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,62
1939	0,00	3,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,80
1945	1,93	0,00	0,60	0,93	0,67	0,00	1,13	0,00	0,00	0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	0,60
1953	0,00	2,03	0,00	0,93	1,01	0,00	0,00	0,00	1,25	2,18	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,53	0,78
1961	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	20,35	9,99	0,00	0,00	2,02	5,69
1977	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	2,24	0,00	0,95	0,63	1,51
1983	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	1,02	0,44	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,61	0,24	0,37
1989	0,97	0,00	0,00	0,66	0,84	0,00	0,84	0,87	0,00	0,69	0,69	0,67	0,00	0,00	0,00	0,42	0,41
2000	0,00	0,00	0,42	1,28	0,00	0,00	0,00	1,10	0,75	1,18	0,82	0,76	0,00	0,00	0,00	0,42	0,51
2001	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08
2022	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,20
2036	0,00	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	0,08	0,20
2048	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,96	0,10	0,28
2063	0,97	1,15	0,43	0,76	0,68	0,00	8,57	3,19	1,10	1,35	1,87	0,63	0,00	7,81	2,08	2,04	2,63

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULOSE
SUR LA COLONNE SUPELCOWAX-10 DES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS AU 3 JUIN 1993

119

S-10

IK	Individu #															MOY	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
2085	0,00	0,00	0,20	1,04	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,35
2137	0,00	0,00	0,00	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	0,47	0,49	0,00	0,00	0,58	0,21	0,33
2150	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,07
2156	0,00	0,00	0,00	1,24	0,00	0,00	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,38
2170	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	23,42	0,00	0,00	0,00	5,85	1,95	6,13
2174	3,11	0,00	0,24	0,39	0,00	0,00	0,00	1,05	0,33	0,00	0,00	0,99	2,38	0,00	0,00	0,57	0,96
2180	0,00	0,00	0,41	1,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,36
2197	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,06	0,23
2218	0,00	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	0,54	0,00	0,00	0,00	0,12	0,26
2231	0,00	0,81	0,66	0,82	0,00	0,00	0,00	1,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,40
2243	0,43	1,20	0,74	0,62	0,00	0,00	0,00	1,68	0,60	0,38	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,43	0,52
2248	29,24	16,24	48,50	12,11	30,98	39,44	22,72	20,05	27,49	14,51	11,84	10,66	34,93	59,57	31,67	27,33	14,24
2255	0,00	0,00	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,15
2266	0,00	0,61	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,10	0,21
2269	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,03	0,11
2272	0,60	0,00	0,89	1,38	1,61	0,00	1,13	0,85	0,82	0,65	1,20	0,00	1,54	0,00	0,00	0,71	0,60
2281	0,00	0,00	0,00	0,83	0,00	0,00	0,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,28
2296	0,58	0,58	0,37	0,00	0,54	0,00	1,13	1,40	0,44	0,63	0,44	0,49	0,00	2,27	0,00	0,59	0,61
2301	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,52
2310	0,71	0,98	0,00	0,63	0,85	0,00	0,69	0,00	0,53	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,38
2313	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,13
2329	0,00	0,00	0,65	0,71	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,26
2333	0,00	0,00	0,26	0,97	0,25	0,00	0,49	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,30
2346	0,00	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,13
2355	0,76	0,00	0,48	0,85	0,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,31
2367	0,62	2,17	0,42	0,56	0,56	0,00	0,00	0,83	0,53	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,57
2380	0,92	0,50	0,00	0,64	0,54	0,00	6,03	1,66	0,49	0,90	0,91	0,00	0,00	8,48	0,56	1,44	2,45
2389	0,61	0,69	0,00	0,00	0,59	0,55	0,00	0,00	0,49	0,47	0,00	1,09	0,00	0,00	0,63	0,34	0,36
2392	1,41	0,00	0,00	0,00	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,39
2395	0,00	2,69	1,22	1,70	1,23	1,30	0,00	2,75	1,03	0,00	1,41	0,42	0,00	0,89	0,00	0,98	0,93
2399	0,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,64	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,44
>2400	0,00	0,99	0,50	0,82	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,93	0,00	0,00	0,28	0,42
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,93	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,27
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,15
	2,05	1,55	1,13	1,83	1,00	1,21	0,69	1,22	1,08	0,49	1,08	1,13	0,00	0,00	0,00	0,96	0,63
	0,75	0,00	0,00	0,67	0,28	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,28
	1,36	2,19	0,00	0,73	0,96	0,79	0,00	2,20	1,50	1,35	0,76	1,31	1,34	0,00	1,11	1,04	0,69
2533	5,68	4,13	1,89	3,25	0,53	4,81	0,93	4,11	1,90	1,24	4,18	3,16	1,86	0,00	0,99	2,58	1,73
	3,40	2,74	1,16	0,85	0,86	0,73	1,04	0,75	1,12	0,53	0,94	1,10	0,00	1,67	0,00	1,13	0,91
	3,23	2,86	1,14	3,14	1,60	1,26	1,31	1,81	2,00	1,40	1,81	1,81	1,94	0,00	0,93	1,75	0,85

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
SUR LA COLONNE SUPELCOWAX-10 DES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS AU 3 JUIN 1993

IK	Individu #															MOY	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
	0,88	0,84	0,00	0,75	0,25	0,00	0,00	0,00	0,44	0,00	1,23	0,60	0,00	0,00	0,00	0,33	0,42
	1,39	0,42	0,78	0,92	0,19	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,43
	1,05	0,35	0,25	1,12	0,00	0,67	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27	0,40
2645	2,80	1,94	1,16	2,07	0,99	0,88	0,81	0,00	0,40	0,85	0,00	0,00	0,00	1,98	0,00	0,93	0,91
2661	4,26	0,00	1,22	1,89	1,06	2,35	0,00	2,00	1,94	1,11	1,17	0,78	0,00	0,00	0,76	1,23	1,15
2701	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,77	8,21	4,63	0,00	0,79	1,03	2,34
	0,97	2,51	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	0,70
	2,14	5,86	1,13	3,18	1,57	0,00	1,30	4,45	1,22	3,02	0,00	1,32	0,00	0,00	0,00	1,68	1,78
Autres	1,26	5,37	2,88	5,12	5,05	0,00	3,82	1,67	3,46	3,99	2,22	2,76	1,98	-0,00	0,00	2,64	1,85
(std)	2,45	2,08	1,29	2,42	1,86	2,31	2,07	2,30	2,20	2,34	2,42	1,82	3,69	4,29	1,96	2,37	0,73

- Origine des échantillons : macération durant 24 h de 25,0 g d'aiguilles séchées et broyées.
- La composition relative est obtenue par l'aire sous les pics des chromatogrammes : colonne Supelcowax-10 ; normalisé sans le standard interne et sans correction des facteurs de réponse.
- Le standard interne (voir annexe 5) car il s'agit du même échantillon injecté sur le système double colonne.
- Les composés sont ordonnés selon l'ordre d'éluion observé à la colonne polaire Supelcowax-10.
- L'identification est effectuée au moyen des indices de Kovats (IK) calculés et des spectres de masse avec l'aide des banques de données de LASEVE et NBS75K respectivement.

ANNEXE 7

Composition des aglycones volatils
(échantillonnage du 3 juin 1993)

Analyse (sur colonne DB-5 avec l'enzyme β -Glucosidase)

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA B-GLUCOSIDASE 122
 SUR LA COLONNE DB-5 SUR LES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS AU 3 JUIN 1993

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
842	1,19	2,59	0,74	0,89	0,82	1,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	0,74
863	0,79	0,81	1,04	0,47	1,99	0,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,59
864	0,00	0,71	0,53	0,75	1,18	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,39
866	0,65	1,64	0,00	1,84	2,70	1,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,55	0,90
878	0,56	0,89	0,48	0,87	0,48	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,34
904	0,00	0,00	3,21	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,82
952	0,00	0,41	0,00	0,49	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,16
983	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,03
984	1,25	1,75	1,38	2,95	0,68	1,13	1,06	0,40	0,62	1,31	0,68	0,48	0,00	0,00	0,00	0,91	0,78
989	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04
993	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,11
1038	7,12	2,13	3,50	9,55	5,23	9,11	2,62	4,35	3,72	4,21	1,04	1,63	1,40	1,47	2,69	3,98	2,72
1047	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06
1080	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	0,00	0,00	0,05	0,20
1099	0,71	0,00	0,72	0,28	0,63	0,44	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	0,24	0,29
1113	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,04	0,11
1119	1,14	9,29	1,03	3,84	6,38	1,22	1,09	0,87	2,24	1,08	0,00	1,49	0,58	0,76	0,00	2,07	2,57
1122	0,00	1,98	0,00	4,63	1,09	4,98	0,00	0,00	1,60	16,84	0,00	0,44	0,00	0,00	5,99	2,50	4,47
1143	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08
1146	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,14
1151	0,43	0,00	0,40	0,26	0,59	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,20
1165	0,00	0,59	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,22
1169	0,89	1,02	2,41	0,66	1,37	1,26	1,39	0,92	0,87	0,41	0,35	0,70	0,00	0,00	0,77	0,87	0,61
1172	1,69	3,67	1,78	1,02	1,66	3,89	3,74	0,53	3,00	0,51	0,17	0,64	1,31	2,33	4,54	2,03	1,42
1177	0,00	0,66	0,94	0,55	1,40	0,84	0,00	0,57	0,67	1,90	0,37	0,00	0,86	1,26	1,39	0,76	0,56
1179	0,00	0,00	0,00	0,34	0,20	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	0,00	0,00	0,00	0,08	0,15
1183	0,51	0,82	0,00	0,75	0,00	0,00	0,79	0,00	0,43	0,61	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,34
1185	0,84	1,18	0,47	0,93	0,21	0,00	0,96	0,00	0,44	0,76	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,43
1190	0,59	0,00	0,00	0,31	0,29	0,65	0,00	0,00	0,00	0,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,27
1194	1,70	0,83	1,40	1,47	0,77	1,11	0,94	0,92	0,71	0,61	0,87	1,09	1,49	0,00	0,00	0,93	0,49

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA B-GLUCOSIDASE 123
 SUR LA COLONNE DB-5 SUR LES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS AU 3 JUIN 1993

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1203	1,50	1,56	7,86	1,10	2,96	5,94	2,07	1,93	2,78	1,70	0,48	0,89	3,40	0,95	2,96	2,54	2,00
1224	0,00	0,00	0,00	0,41	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,13
1225	0,00	0,00	0,00	0,42	0,16	0,42	0,75	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,25
1240	2,39	8,08	5,18	0,35	0,27	6,24	10,24	5,13	17,13	0,77	2,78	0,00	4,83	6,40	1,59	4,76	4,61
1245	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,31	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,13
1254	4,71	0,98	1,28	0,63	0,37	0,00	5,26	2,26	0,00	0,45	41,45	4,88	0,00	0,00	10,87	4,87	10,6
1262	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,13
1264	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,12
1269	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,12
1276	0,00	0,00	0,00	0,47	0,18	0,00	0,52	0,52	0,41	0,38	0,31	0,68	0,00	0,00	0,00	0,23	0,25
1281	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00	2,14	1,64	0,00	0,00	0,30	0,67
1286	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,56	0,00	3,31	2,17	0,00	0,00	0,47	0,97
1288	0,49	0,00	0,00	0,26	1,25	0,00	0,00	0,00	1,13	0,61	0,49	0,00	0,90	0,00	1,18	0,42	0,49
1296	0,00	0,00	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,16
1297	1,48	0,72	0,88	0,67	0,64	0,40	2,73	1,64	0,51	0,83	0,39	0,78	0,00	1,48	0,00	0,88	0,71
1303	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,65	0,00	0,00	0,00	1,43	0,22	0,54
1304	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,16
1306	0,87	0,00	0,52	0,40	2,44	0,46	0,89	1,40	1,13	0,33	0,33	0,57	1,32	0,00	2,54	0,88	0,78
1308	1,09	0,00	0,73	0,19	0,38	0,00	1,06	0,52	0,00	0,34	0,00	0,73	0,00	0,00	0,00	0,34	0,40
1318	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	0,06	0,21
1330	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,08	0,00	0,12	0,29
1333	0,53	0,00	0,52	0,20	0,22	0,00	0,83	0,60	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,28
1341	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,02	0,09
1343	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,22
1350	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,00	0,46	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,15
1355	1,09	1,69	1,37	0,52	0,00	0,56	0,76	1,70	1,20	0,00	0,00	1,88	1,18	0,00	1,14	0,87	0,67
1359	0,00	0,00	0,00	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,33
1361	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,69
1363	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,05
1365	2,65	1,58	1,68	1,63	1,92	1,61	2,96	2,04	2,57	2,22	3,86	2,20	3,51	4,00	1,93	2,42	0,82
1370	0,00	0,00	3,51	0,00	0,00	0,18	1,12	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,84	1,90	0,00	0,53	0,99
1371	0,84	0,00	0,00	0,77	1,43	0,69	2,14	1,62	0,79	1,70	0,48	1,20	1,77	1,86	1,01	1,09	0,66
1373	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,68	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,19

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA B-GLUCOSIDASE 124
 SUR LA COLONNE DB-5 SUR LES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS AU 3 JUIN 1993

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1378	1,00	0,50	0,52	0,85	0,70	0,66	1,29	0,87	1,39	0,86	3,94	0,73	1,11	3,16	0,79	1,23	0,99
1379	0,00	0,00	0,00	0,56	0,00	0,00	1,29	0,00	0,00	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,38
1381	0,00	0,00	0,92	0,57	0,27	0,72	0,00	1,10	0,83	0,00	0,44	0,00	0,00	1,26	0,72	0,46	0,45
1388	1,63	2,21	4,79	2,98	1,63	2,46	2,95	8,74	3,44	3,01	2,05	2,17	3,25	4,81	2,57	3,25	1,80
1393	0,00	0,00	1,19	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,31
1394	1,64	1,75	6,47	1,26	3,37	5,76	3,32	2,33	2,66	1,99	0,74	1,06	4,84	9,34	13,04	3,97	3,45
1415	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,14
1427	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,26	1,22	3,17	2,42	0,00	2,43	0,77	1,18
1428	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,21
1432	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	0,55	0,00	0,78	0,00	0,00	0,00	0,17	0,31
1446	1,47	1,57	1,23	1,14	1,75	1,72	2,62	1,51	2,27	1,90	1,02	3,27	0,89	0,94	3,31	1,77	0,78
1451	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,63	0,00	0,00	0,00	0,11	0,42
1463	0,00	0,00	0,00	0,25	0,23	0,00	0,58	0,00	0,81	0,32	0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,25
1465	0,73	0,00	0,00	0,00	0,32	0,00	0,66	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,25
1471	0,00	0,00	0,58	0,62	0,82	0,42	0,96	1,18	2,00	0,57	0,22	0,75	0,00	0,00	0,00	0,54	0,56
1503	0,00	0,00	0,65	0,45	0,33	0,34	0,00	0,00	0,00	0,37	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,22
1508	0,00	0,00	0,44	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,20	1,10	0,87	0,00	0,00	0,24	0,36
1511	0,00	0,00	0,55	0,64	0,28	0,35	0,00	0,00	0,00	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,23
1516	0,00	0,00	0,00	0,00	1,73	0,31	2,01	0,00	0,64	0,00	0,24	0,50	1,12	0,00	0,00	0,44	0,67
1533	0,00	0,00	0,00	0,29	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,14
1549	0,76	0,56	0,00	1,06	0,63	0,39	0,00	0,38	0,90	0,37	3,50	26,09	13,15	0,00	3,57	3,42	7,10
1553	0,92	0,00	0,00	0,64	0,69	1,46	0,58	0,71	0,00	1,13	0,00	0,00	0,84	0,00	0,93	0,53	0,49
1566	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,09
1578	2,32	2,14	1,06	1,93	2,03	1,95	1,49	2,32	3,15	2,25	1,11	0,89	3,92	6,39	2,19	2,34	1,36
1588	1,08	0,88	0,53	0,83	0,93	0,74	0,76	0,98	1,46	1,06	0,57	0,00	1,71	2,96	1,01	1,03	0,66

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA B-GLUCOSIDASE 126
SUR LA COLONNE DB-5 SUR LES 15 INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS AU 3 JUIN 1993

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
2075	0,68	0,97	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,30
2094	0,00	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	1,74	0,00	0,00	0,20	0,49
2204	2,95	0,00	0,00	3,85	1,72	0,00	2,61	0,00	2,22	3,24	0,93	1,02	0,00	0,00	0,00	1,24	1,41
2315	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	5,23	0,00	0,00	0,47	1,36
Autres	3,03	3,70	3,59	3,69	2,82	3,91	3,16	3,92	3,11	2,15	1,53	2,27	4,51	7,56	3,63	3,51	1,37
(std)	2,95	3,57	3,46	3,56	2,74	3,76	3,07	3,77	3,02	2,11	1,51	2,22	4,31	7,03	3,50	3,37	1,25

- Macération durant 24 h de 25,0 g d'aiguilles séchées et broyées.
- La composition relative est obtenue par l'aire sous les pics des chromatogrammes : colonne DB-5 ; normalisé sans le standard interne et sans correction des facteurs de réponse.
- Le standard interne utilisé pour solubiliser les aglycones après hydrolyse enzymatique : 200 µl d'une solution préparée avec (1,526 g de tétradécane / 500 ml d'éthanol : 5,00 ml dilué à 200 ml avec du dichlorométhane).
- Les composés sont ordonnés selon l'ordre d'éluion (#) observé à la colonne apolaire DB-5.
- L'identification est effectuée au moyen des indices de Kovats (IK) calculés et des spectres de masse avec l'aide des banques de données de LASEVE et NBS75K respectivement.

ANNEXE 8

Composition des aglycones volatils
(échantillonnage du 3 juin 1993)

Analyse (sur colonne Supelcowax-10 avec l'enzyme β -Glucosidase)

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA B-GLUCOSIDASE
 SUR LA COLONNE SUPELCOWAX-10 DES 15 INDIVIDUS AU 3 JUIN 1993

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1315	1,04	3,85	3,58	0,90	0,92	1,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,76	1,28
1353	0,00	0,00	0,00	0,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,16
1377	0,00	0,00	0,00	0,00	2,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,53
1420	0,00	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,10
1554	0,00	0,00	0,68	4,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	1,29
1558	2,52	2,95	2,11	0,00	1,69	1,65	1,49	0,00	0,00	1,41	1,30	0,00	0,00	0,00	0,00	1,01	1,06
1562	0,00	0,00	0,00	0,00	0,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,18
1619	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,27
1647	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08
1659	0,00	0,00	0,00	0,00	0,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,28
1676	0,00	0,00	1,37	0,00	0,73	0,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,42
1700	0,00	0,00	0,95	0,45	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,31
1708	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,18
1717	2,52	6,99	2,29	1,82	2,56	5,34	6,20	0,75	5,29	0,84	0,00	1,07	2,54	4,08	7,27	3,30	2,39
1746	0,00	0,00	0,63	0,00	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,21
1748	0,00	1,91	1,70	1,28	2,43	1,71	0,00	1,36	2,08	3,01	1,23	0,00	1,57	3,04	2,58	1,59	1,00
1754	0,00	0,00	0,97	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,26
1770	2,39	1,42	1,54	1,91	1,01	1,27	1,31	1,35	1,26	0,74	2,02	1,40	2,72	0,00	0,00	1,36	0,75
1782	2,94	2,30	10,25	1,42	4,33	6,97	3,26	2,99	4,78	2,01	1,47	1,66	5,53	1,83	5,39	3,81	2,46
1829	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	1,01	0,00	0,00	0,69	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,42
1835	1,81	0,00	0,00	1,61	0,00	0,00	1,68	0,00	1,45	1,49	1,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65	0,83
1837	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,15
1848	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,35
1870	12,92	4,84	5,13	14,88	8,28	13,34	4,93	7,44	7,02	6,71	3,15	1,99	0,00	1,60	3,62	6,39	4,44
1904	0,00	2,88	0,00	6,40	0,88	6,70	0,00	0,00	1,52	23,73	0,00	0,00	0,00	0,00	9,74	3,46	6,41
1923	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,00	0,78	1,11	0,00	1,68	0,00	0,00	0,30	0,55
1932	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,00	1,04	0,00	0,00	0,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,35
1945	1,95	0,00	0,97	0,00	0,60	0,00	1,74	0,96	0,00	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,67
1961	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,12	2,66	0,00	0,00	0,39	1,02
1977	1,54	0,00	0,00	0,45	0,27	0,00	1,48	0,83	0,00	0,96	0,00	5,12	2,90	0,00	1,98	1,04	1,44
1983	0,00	0,00	0,00	0,53	3,69	0,00	0,81	1,57	1,73	0,64	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65	1,02
1989	0,00	0,00	0,00	0,75	2,69	0,00	0,00	0,00	1,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	0,76
2000	0,00	9,74	0,00	0,79	0,00	0,00	0,00	0,92	0,00	0,87	0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,89	2,48
2022	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,45
2028	0,00	0,00	0,00	0,78	0,47	0,00	1,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,33
2036	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,14
2090	0,00	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,19
2116	0,00	0,00	0,75	0,00	0,00	0,00	1,00	0,78	0,00	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,35
2137	0,00	0,00	0,00	0,60	3,51	0,79	0,90	0,00	1,98	0,00	0,78	1,76	3,37	0,00	5,02	1,25	1,58
2174	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,10	0,00	0,00	0,00	1,39	0,37	1,09

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA B-GLUCOSIDASE
SUR LA COLONNE SUPELCOWAX-10 DES 15 INDIVIDUS AU 3 JUIN 1993

IK	Individu #															Moy.	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
2180	0,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,25
2197	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	5,22	0,00	0,00	0,38	1,34
2199	0,00	1,79	0,00	0,00	0,25	0,00	1,42	0,00	0,00	0,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,56
2212	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,64	0,00	0,00	2,27	0,00	0,19	0,60
2218	0,00	0,00	3,63	0,00	0,87	0,00	1,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	1,01
2231	0,00	0,00	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	1,37	0,00	0,63	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,45
2248	0,97	2,32	4,12	2,77	1,58	1,96	2,20	8,80	3,38	2,41	3,23	1,10	2,87	5,31	1,91	2,99	1,96
2255	3,19	0,00	9,30	1,91	4,76	6,22	3,91	2,98	4,61	2,89	7,94	2,76	7,13	16,08	21,85	6,37	5,76
2261	0,00	0,00	0,00	0,71	0,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,92	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,38
2266	0,00	0,00	2,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,66
2269	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	0,00	1,17	0,00	0,00	0,82	0,00	0,00	1,54	3,13	0,00	0,50	0,89
2296	1,10	0,00	1,11	0,93	1,64	0,57	2,17	2,82	1,35	1,14	0,00	0,76	0,00	1,53	1,01	1,08	0,79
2301	1,58	0,00	1,12	0,88	0,50	0,00	0,00	0,00	1,40	0,74	8,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99	2,18
2310	1,39	2,29	0,00	0,87	2,04	0,87	2,67	1,77	1,99	1,62	1,84	1,07	2,59	0,00	1,19	1,48	0,82
2313	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,43
2329	0,00	0,00	1,39	1,00	0,64	1,00	0,96	0,78	0,95	0,80	1,03	0,00	1,53	0,00	0,00	0,67	0,54
2333	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,25
2346	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	0,00	0,00	0,47	0,75	1,43	0,00	0,00	0,00	0,26	0,49
2355	0,00	0,00	1,21	1,28	0,85	0,82	0,85	0,00	0,00	0,83	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,44	0,50
2367	0,00	1,52	0,00	0,37	0,38	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,40
2380	0,00	0,00	0,00	0,00	0,44	0,00	1,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,38
2392	1,29	1,41	0,92	0,73	1,74	1,42	2,17	0,00	1,95	1,35	1,69	3,16	2,19	1,92	3,95	1,73	0,95
2533	20,36	9,13	4,20	7,90	8,02	6,93	7,84	7,11	10,12	4,22	6,72	7,34	7,56	13,28	6,50	8,48	3,95
2645	9,05	13,23	4,57	11,50	10,16	15,25	10,75	13,97	10,21	6,56	7,82	10,10	11,68	14,95	5,84	10,38	3,23
2661	7,92	7,15	4,62	3,16	3,02	6,01	4,95	7,72	6,40	2,91	3,79	0,00	7,80	6,50	6,57	5,24	2,29
2701	0,00	0,00	0,00	0,00	0,72	1,12	0,00	0,00	0,00	1,00	4,53	21,03	12,61	0,00	3,43	2,96	6,00
>2800	0,00	6,36	0,00	5,28	4,15	0,00	1,58	12,74	5,95	7,45	3,24	5,37	0,00	4,41	0,00	3,77	3,65
	0,00	0,00	12,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,31	0,00	0,00	0,00	1,60	4,24
Autres	23,50	17,92	15,55	16,56	16,10	17,05	23,42	19,00	23,24	15,26	20,73	18,45	14,31	20,08	10,77	18,13	3,64
(Std)	4,38	5,80	4,16	4,57	3,79	4,82	4,23	4,97	4,29	2,39	3,34	3,15	6,52	9,34	4,48	4,68	1,63

- Origine de l'échantillon : macération durant 24 h de 25,0 g d'aiguilles séchées et broyées.
- La composition relative est obtenue par l'aire sous les pics des chromatogrammes : colonne Supelcowax-10 ; normalisé sans le standard interne et sans correction des facteurs de réponse.
- Le standard interne (voir annexe 7) car il s'agit du même échantillon injecté sur le système double colonne.
- Les composés sont ordonnés selon l'ordre d'élution observé à la colonne polaire Supelcowax-10.
- L'identification est effectuée au moyen des indices de Kovats (IK) calculés et des spectres de masse avec l'aide des banques de données de LASEVE et NBS75K respectivement.

ANNEXE 9

Composition des aglycones volatils
(échantillonnages du 1er de juillet, août, septembre et octobre 1993)

Analyse (sur colonne DB-5 avec l'enzyme Cellulase)

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 JUILLET 1993**

131

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)									
#	DB-5		S-10	Delta	3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E				
	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR							Nom			
1	9,832	842	1312	470	9,832	4-Méthyl pentanol	0,79	0,34	0,00	0,00	0,00				
2	10,836	863			10,836	cis Hex-3-én-1-ol	3,16	1,13	0,00	0,00	0,00				
					10,913		0,69	0,00	0,00	0,00	0,00				
					11,002		1,41	0,00	0,00	0,00	0,00				
					11,582	Hexanol	1,05	0,34	0,00	0,00	0,00				
3	11,582	878			11,582	Hexanol	1,05	0,34	0,00	0,00	0,00				
4	13,422	909	1318	409	13,422	Heptan-2-ol	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00				
					16,346		0,24	0,14	0,00	0,00	0,00				
					18,793		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					18,953		0,68	0,37	0,08	0,00	0,00				
					19,353		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
6	22,625	1040	1861	821	19,686		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					22,625	Alcool benzylique	4,09	3,25	2,51	0,59	2,43				
					23,269		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					23,370		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					23,975		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					24,768		0,00	0,36	0,00	0,00	0,00				
					25,266	1079		25,266		0,32	0,00	0,11	0,52	0,00	
					25,534	1082	1418	336	25,534	cis Linaloloxide	0,47	0,74	0,23	0,00	0,74
					26,691	1098			26,691		0,31	0,25	0,19	0,00	0,26
					27,158	1106	1613	507	27,158	Benzoate de méthyle	11,12	3,25	0,09	7,96	1,67
11	28,302	1120			27,322		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					27,778		0,00	0,32	0,00	0,00	0,00				
					28,302	Maltol	4,35	5,57	6,44	2,52	0,63				
12	28,510	1121	1896	775	28,510	Alcool phényléthylrique	3,95	2,02	3,31	0,00	3,25				
					28,904		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					30,138		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					30,430	1147		30,430		0,51	0,25	0,21	0,43	0,32	
					30,785			30,785		0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	
13	32,507	1171	1677	506	30,948		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					31,231		0,00	0,00	0,09	0,00	0,00				
					32,098		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					32,507	Bornéol	5,61	5,24	5,01	2,72	4,67				
					32,783	1172		32,783		0,27	0,85	0,68	0,00	0,76	
					33,196	1177		33,196		0,00	0,00	0,23	0,00	0,22	
					33,413	1181		33,413	Benzylate de méthyle	1,05	0,24	0,29	2,68	0,88	
					33,739	1183		33,739		0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	
					33,968	1185		33,968		0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	
					34,484	1190		34,484		0,00	0,24	0,28	0,00	0,40	
17	34,826	1196			34,580		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					34,826	2-Méthoxy-4-méthyl phénol	0,56	0,54	0,58	0,43	0,26				

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 JUILLET 1993

132

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10		Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR	Nom						
					35,162			0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
18	35,530	1205	1782	577	35,530	Myrténol		4,18	4,96	5,80	4,16	5,79
	36,713	1222			36,713			0,37	0,26	0,46	0,00	0,15
	36,882	1224			36,882			0,00	0,00	0,16	0,00	0,00
					37,253			0,00	0,00	0,41	0,00	0,00
	37,747	1241	1747	506	37,747			4,32	1,31	4,05	3,17	0,95
					38,019			0,00	0,00	0,12	0,00	0,00
					38,149			0,00	0,00	0,17	0,00	0,00
21	38,693	1256			38,693	Thymoquinone		5,47	1,23	0,60	1,28	30,31
					39,107			0,00	0,00	0,29	0,00	0,00
	39,205	1261			39,205			0,45	0,41	0,41	0,00	0,00
					39,411			0,00	0,30	0,22	0,00	0,00
	40,207	1279			40,207			0,49	0,41	0,51	0,32	0,26
24	40,426	1282	1961	679	40,426	(33.61) Monoterpéol ?		1,27	5,51	0,92	6,58	1,46
26	40,841	1288	1977	689	40,841	(34.18) Monoterpéol ?		0,61	1,81	0,51	3,28	0,00
	41,019				41,016			0,00	0,28	0,24	0,00	0,00
					41,252			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	41,621	1299			41,621	(34.95)		0,63	0,58	0,69	0,32	0,44
27	41,861	1301	2168	867	41,861	Thymol		0,58	0,40	0,20	0,00	5,86
					42,145			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	42,220	1306			42,220			0,54	0,63	0,88	0,00	1,07
					42,388			0,00	0,24	0,23	0,00	0,00
					42,985			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	43,830	1328			43,830			0,00	0,25	0,20	0,00	0,20
					44,165			0,00	0,24	0,18	0,00	0,00
					44,258			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,830			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,903			0,00	0,00	0,34	0,00	0,42
	45,277	1349			45,277			0,29	0,43	0,52	0,34	0,19
	45,849	1358			45,849			0,00	0,00	0,27	0,00	0,00
	45,984	1359			45,984			1,50	0,00	0,00	1,61	0,83
					46,083			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					46,200			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	46,294	1363			46,294			0,00	2,56	1,02	0,52	0,15
28	46,626	1367			46,626	Eugénol		1,02	1,05	1,19	0,45	0,31
					46,906			0,00	0,00	0,00	0,00	0,17
	47,138	1373			47,138			0,55	0,52	0,63	0,00	0,22
	47,213	1375			47,213			0,33	0,31	0,00	0,78	0,00
					47,261			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	47,397	1376			47,397			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 JUILLET 1993

133

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10		Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR	Nom						
	47,643	1380				47,643		0,00	0,62	0,58	0,36	0,39
						47,906		0,71	1,20	0,51	0,37	0,69
	47,974	1385	2077	692		47,974		2,47	0,00	0,54	21,78	0,00
						48,220		0,00	0,47	0,30	0,00	0,00
	48,445	1388				48,445		0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
	48,620	1390				48,620		0,00	0,35	0,30	0,00	0,00
						48,684		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48,988	1396	2358	962		48,988		9,32	12,23	17,95	6,49	14,31
						50,490		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	50,671	1421				50,671		1,63	0,00	0,00	0,00	0,00
						50,822		0,00	0,00	1,54	0,00	0,30
						51,106		0,00	1,65	0,58	0,00	0,00
	51,431	1437				51,431		0,00	0,37	0,28	0,32	0,12
	51,588	1436				51,588		0,41	1,68	0,73	0,00	1,08
	52,300	1452				52,300		0,00	0,54	0,28	0,26	0,00
	52,892	1461				52,892		0,55	0,00	0,31	1,35	0,34
						53,177		0,00	0,00	0,30	0,00	0,00
						53,299		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	53,662	1470				53,662		0,00	0,43	0,55	0,00	0,00
	54,743					54,743		0,00	0,00	0,00	0,00	0,84
	55,374	1502				55,374		0,00	0,00	0,24	0,59	0,00
	55,509					55,509		0,00	0,21	0,49	0,00	0,28
	55,781	1508				55,796		0,00	0,00	0,18	1,08	0,00
	56,019	1507				56,019		0,00	0,00	0,25	0,00	0,00
	56,445	1518				56,445		0,00	0,51	0,43	0,31	0,20
	56,753	1523				56,753		0,75	0,43	0,33	0,72	0,37
						57,472		0,00	0,16	0,19	0,00	0,20
						57,712		0,00	0,00	0,08	0,00	0,00
	57,936	1540				57,936		0,00	0,00	0,00	0,40	0,00
						58,333		0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
	58,698	1549				58,698		1,04	0,00	0,00	0,00	1,28
	58,759	1553				58,759		0,00	0,00	0,69	0,00	0,00
	58,876					58,918		0,67	9,39	0,00	0,00	0,00
41	58,987	1553	2701	1148		58,987	7-Hydroxypipérone	0,00	0,00	1,19	9,86	0,00
						59,609		0,00	0,00	0,11	0,00	0,00
						60,184		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	60,657	1581				60,657		0,59	0,30	0,60	0,43	0,71
						60,775		0,00	0,45	0,33	0,00	0,00
	61,350	1588				61,350		0,00	0,15	0,34	0,00	0,27

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 JUILLET 1993

134

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)				
DB-5		S-10 Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	TR						
				63,431		0,00	0,30	0,00	0,00	0,00
63,608	1630			63,608		1,42	0,93	1,69	0,64	0,55
				64,110		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,182	1641			64,182		2,12	1,95	2,10	1,72	0,90
64,469				64,469		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,685	1650			64,685		1,67	1,93	2,51	0,46	0,62
64,875	1653	>2400		64,875		1,68	2,20	2,49	1,02	0,87
65,070	1657			65,070		0,62	0,64	0,66	0,43	0,00
65,265				65,275		0,72	0,76	0,91	0,00	0,68
65,368	1659			65,368		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
				65,759		0,31	0,43	0,39	0,00	0,18
				66,014		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
66,619	1685			66,619		0,00	0,00	0,08	0,54	0,00
66,958	1686			66,958		0,00	0,00	0,26	0,00	0,00
67,850	1702			67,850		0,00	0,38	0,00	0,00	0,00
67,960				67,932		0,67	0,49	1,25	0,00	0,75
				68,239		0,00	0,35	0,00	0,00	0,00
68,910	1720			68,910		0,00	0,23	0,00	0,00	0,17
69,106	1728			69,106		3,10	2,23	3,11	1,77	1,31
69,522	1731			69,522		0,00	0,32	0,27	0,00	0,00
				69,772		0,51	0,66	1,15	0,00	0,33
				69,834		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
70,369	1750			70,369		0,51	0,00	0,00	1,49	0,24
70,769				70,769		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
71,737	1774			71,737		0,85	0,88	1,32	0,55	0,52
				72,379		0,00	0,00	0,29	0,00	0,43
				73,223		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
73,880	1806			73,880		0,00	0,00	0,20	0,00	0,00
75,044	1830			75,044		0,79	1,32	1,09	0,00	0,81
75,296	1839			75,296		0,81	0,30	0,49	0,93	0,41
				76,360		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
				76,987		0,00	0,17	0,00	0,00	0,00
79,925	1930			79,925		0,39	0,13	0,15	0,90	0,25
				80,307		0,00	0,00	0,19	0,00	0,00
81,773	1965			81,773		0,00	0,23	0,58	0,29	0,18
				84,214		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
				84,589		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
				85,759		0,00	0,00	0,14	0,00	0,68
				86,019		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
				86,352		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 JUILLET 1993**

135

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10	Delta	3 Juin	Nom	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.							
							0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
87,272	2066	>2400			86,942		0,00	0,78	0,74	0,00	0,51
					87,272		0,00	0,00	0,00	0,70	0,00
					88,574		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					92,644		0,00	0,78	0,37	0,00	0,69
94,878	2204				94,878		0,00	0,00	0,00	1,12	0,00
104,041	2316				104,102		0,00	0,00	0,00	1,12	0,00
					Autres composés		1,75	1,35	5,23	2,43	1,82
					Tétradécane (standard) sur DB-5		2,81	2,15	2,26	2,52	1,57
					Tétradécane (standard) sur Sup-10		3,19	2,12	2,77	2,39	1,98

- Le rapport de la concentration du standard interne sur celui des autres composants (aglycones) est constant d'un regroupement à l'autre, d'un mois à l'autre.
- Les données des compositions relatives du standard interne sur la colonne Supelcowax-10 sont exemptes d'interférences provenant de pics adjacents et sont utilisées dans le cadre de l'établissement de l'évolution de la productivité primaire nette (Pn) des glycosides.
- Les échantillons sont traités de la même manière que ceux de l'annexe 4, permettant d'utiliser l'individu #15 (reg. E) dans l'établissement des courbes de la productivité primaire nette (Pn).
- La numérotation (#) de l'ordre d'éluion sur colonne DB-5 est assortie à la même numérotation des tableaux 12, 13 et de l'annexe 14.

- Les regroupements d'individus sont caractérisés par les analyses d'huile essentielle du 3 juin 1993 :

- A : Individus 1-2-4-7-8-9-10-11-14, avec composition relative en delta-3 carène supérieure à 10%.
- B : Individus 5-6-12, avec composition relative en delta-3 carène ~ 0%.
- C : Individus 1-2-3-4-5-6-7-8-9-10, avec composition relative en pipéritone inférieure à 0,5%.
- D : Individus 12-13, avec composition relative en pipéritone supérieure ou égale à 10%.
- E : Individu 15, avec composition relative en thymol de ~3,2%.

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 AOÛT 1993**

136

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)								
#	DB-5		S-10	Delta	3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E				
	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR							Nom			
1	9,832	842	1312	470	9,832	4-Méthyl pentanol	0,35	0,00	0,00	0,42	0,20				
2	10,836	863			10,836	cis Hex-3-én-1-ol	2,28	0,68	1,46	0,71	0,11				
					10,913		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					11,002		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					11,582	Hexanol	0,95	0,27	0,60	0,35	0,29				
4	13,422	909	1318	409	13,422	Heptan-2-ol	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00				
					16,346		0,00	0,00	0,00	0,10	0,06				
					18,793		0,00	0,00	0,00	0,06	0,00				
					18,953		0,46	0,18	0,27	0,39	0,14				
					19,353		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
6	22,625	1040	1861	821	19,686		0,00	0,00	0,00	0,07	0,11				
					22,625	Alcool benzylique	2,08	2,01	2,12	1,60	1,78				
					23,269		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					23,370		0,00	0,00	0,00	0,13	0,00				
					23,975		0,00	0,00	0,00	0,18	0,00				
					24,768		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					25,266	1079			25,266		0,93	0,77	1,03	0,16	0,00
9	25,534	1082	1418	336	25,534	cis Linaloloxide	0,40	0,54	0,45	0,32	1,28				
					26,691		0,26	0,18	0,00	0,29	0,34				
					27,158	1106	1613	507	27,158	Benzoate de méthyle	21,00	27,39	32,25	3,35	0,74
11	28,302	1120			27,322		0,00	0,00	0,00	0,06	0,00				
					27,778		0,00	0,14	0,00	0,38	0,20				
					28,302	Maltol	1,46	1,97	1,96	1,85	0,26				
12	28,510	1121	1896	775	28,510	Alcool phényléthylique	3,41	2,28	3,71	0,32	5,52				
					28,904		0,00	0,00	0,00	0,00	0,20				
					30,138		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					30,430	1147			30,430		0,64	0,34	0,43	0,39	0,32
					30,785				30,785		0,00	0,00	0,00	0,16	0,10
13	32,507	1171	1677	506	30,948		0,00	0,00	0,00	0,08	0,00				
					31,231		0,00	0,00	0,00	0,10	0,08				
					32,098		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					32,507	Bornéol	3,88	3,44	3,11	6,33	8,08				
					32,783	1172			32,783		0,42	0,22	0,00	0,37	0,76
					33,196	1177			33,196		0,00	0,00	0,00	0,85	0,23
					33,413	1181			33,413	Benzylate de méthyle	1,72	2,98	3,55	0,63	0,40
					33,739	1183			33,739		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					33,968	1185			33,968		0,20	0,00	0,00	0,16	0,11
					34,484	1190			34,484		0,00	0,00	0,00	0,28	0,26
17	34,826	1196			34,580		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					34,826	2-Méthoxy-4-méthyl phénol	0,57	0,32	0,00	0,64	0,31				

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 AOÛT 1993

137

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10		Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR	Nom						
					35,162			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	35,530	1205	1782	577	35,530	Myrténol		3,89	5,04	4,34	4,30	6,52
	36,713	1222			36,713			0,00	0,29	0,00	0,48	0,29
	36,882	1224			36,882			0,00	0,00	0,00	0,18	0,12
					37,253			0,00	0,00	0,00	0,10	0,32
	37,747	1241	1747	506	37,747			3,48	1,42	2,39	2,07	0,85
					38,019			0,00	0,00	0,00	0,09	0,00
					38,149			0,00	0,00	0,00	0,20	0,25
21	38,693	1256			38,693	Thymoquinone		6,50	0,67	0,33	1,76	20,79
					39,107			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	39,205	1261			39,205			0,53	0,19	0,00	0,44	0,28
					39,411			0,00	0,00	0,00	0,41	0,21
	40,207	1279			40,207			0,45	0,27	0,32	0,42	0,31
24	40,426	1282	1961	679	40,426	(33.61) Monoterpéno ?		1,12	3,73	0,67	9,87	1,23
26	40,841	1288	1977	689	40,841	(34.18) Monoterpéno ?		0,29	1,08	0,00	3,79	0,14
	41,019				41,016			0,00	0,00	0,00	0,00	0,43
					41,252			0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
	41,621	1299			41,621	(34.95)		0,35	0,34	0,00	0,59	0,34
27	41,861	1301	2168	867	41,861	Thymol		0,82	0,19	0,00	0,29	5,98
					42,145			0,00	0,00	0,00	0,00	0,46
	42,220	1306			42,220			0,35	0,29	0,00	0,50	0,35
					42,388			0,00	0,00	0,00	0,33	0,00
					42,985			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	43,830	1328			43,830			0,24	0,00	0,00	0,17	0,14
					44,165			0,00	0,00	0,00	0,13	0,00
					44,258			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,830			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,903			0,00	0,00	0,00	0,26	0,44
	45,277	1349			45,277			0,29	0,18	0,19	0,35	0,00
	45,849	1358			45,849			0,00	0,00	0,43	0,28	0,00
	45,984	1359			45,984			0,83	0,82	0,00	0,00	0,00
					46,083			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					46,200			0,00	0,00	0,00	0,81	0,00
	46,294	1363			46,294			0,29	0,55	0,56	0,34	0,00
28	46,626	1367			46,626	Eugéno ?		0,93	0,64	0,56	2,93	0,48
					46,906			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	47,138	1373			47,138			0,31	0,00	0,30	0,52	0,27
	47,213	1375			47,213			0,00	0,00	0,00	0,00	0,27
					47,261			0,52	0,58	0,39	0,54	0,00
	47,397	1376			47,397			0,39	0,33	0,32	0,00	0,00

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 AOÛT 1993

138

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10	Delta	3 Juin	Nom	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	TR							
	47,643	1380			47,643		0,79	0,24	0,00	0,74	0,33
					47,906		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	47,974	1385	2077	692	47,974		4,34	9,50	10,73	0,78	0,20
					48,220		0,00	0,00	0,00	0,54	0,00
	48,445	1388			48,445		0,00	0,00	0,00	0,22	0,16
	48,620	1390			48,620		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					48,684		0,31	0,00	0,42	0,33	0,00
	48,988	1396	2358	962	48,988		8,05	7,73	8,78	6,59	21,46
					50,490		0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
	50,671	1421			50,671		1,33	0,00	0,00	0,27	0,00
					50,822		0,00	0,00	0,00	0,22	0,29
					51,106		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	51,431	1437			51,431		0,70	0,36	0,26	1,59	0,00
	51,588	1436			51,588		0,70	0,43	0,00	1,31	1,21
	52,300	1452			52,300		0,00	0,19	0,00	0,89	0,15
	52,892	1461			52,892		0,95	1,16	0,00	0,63	0,00
					53,177		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					53,299		0,00	0,00	0,00	0,21	0,00
	53,662	1470			53,662		0,13	0,00	0,00	0,38	0,00
	54,743				54,743		0,00	0,00	0,00	0,00	0,55
	55,374	1502			55,374		0,21	0,28	0,00	0,00	0,00
	55,509				55,509		0,18	0,00	0,00	0,39	0,16
	55,781	1508			55,796		0,00	0,40	0,00	0,19	0,00
	56,019	1507			56,019		0,00	0,00	0,00	0,15	0,00
	56,445	1518			56,445		0,22	0,31	0,00	0,45	0,28
	56,753	1523			56,753		1,00	1,01	0,93	0,44	0,19
					57,472		0,00	0,27	0,00	0,00	0,00
					57,712		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	57,936	1540			57,936		0,17	0,22	0,00	0,00	0,00
					58,333		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	58,698	1549			58,698		0,60	0,00	0,51	0,00	0,00
	58,759	1553			58,759		0,00	3,66	0,88	0,00	1,60
	58,876				58,918		0,39	1,34	0,00	0,00	0,00
41	58,987	1553	2701	1148	58,987	7-Hydroxypipérone	0,00	0,00	0,00	13,65	0,00
					59,609		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					60,184		0,00	0,22	0,00	0,00	0,00
	60,657	1581			60,657		0,44	0,00	0,00	0,22	0,29
					60,775		0,00	0,00	0,00	0,36	0,00
	61,350	1588			61,350		0,19	0,00	0,00	0,12	0,14

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 AOÛT 1993

139

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)				
DB-5		S-10 Delta		3 Juin	Nom	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.			TR				
					63,431		0,00	0,00	0,00	0,39	0,00
63,608	1630				63,608		1,03	0,57	1,07	0,55	0,29
					64,110		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,182	1641				64,182		1,21	1,57	1,34	0,72	0,43
64,469					64,469		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,685	1650				64,685		0,87	0,47	0,50	1,53	0,53
64,875	1653	>2400			64,875		0,70	0,64	0,32	2,28	0,84
65,070	1657				65,070		0,39	0,25	0,00	0,51	0,17
65,265					65,275		0,53	0,00	0,00	0,57	0,37
65,368	1659				65,368		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
65,759	1666				65,759		0,00	0,00	0,00	0,41	0,18
					66,014		0,00	0,00	0,00	0,25	0,00
66,619	1685				66,619		0,35	0,30	0,52	0,11	0,00
66,958	1686				66,958		0,46	0,00	0,00	0,29	0,18
67,850	1702				67,850		0,00	0,31	0,37	0,27	0,66
67,960					67,932		0,00	0,00	0,00	0,29	0,00
					68,239		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
68,910	1720				68,910		0,00	0,00	0,00	0,00	0,15
69,106	1728				69,106		1,86	1,97	2,35	1,26	0,67
69,522	1731				69,522		0,00	0,00	0,00	0,19	0,15
69,757					69,772		0,00	0,34	0,00	0,78	0,64
					69,834		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
70,369	1750				70,369		0,91	1,37	1,93	0,12	0,00
70,769					70,769		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
71,737	1774				71,737		0,61	0,23	0,43	0,77	0,38
					72,379		0,00	0,00	0,00	0,22	0,28
					73,223		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
73,880	1806				73,880		0,34	0,00	0,00	0,00	0,10
75,044	1830				75,044		0,36	0,69	0,40	0,34	0,33
75,296	1839				75,296		0,45	0,71	0,80	0,21	0,17
76,360					76,360		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					76,987		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
79,925	1930				79,925		0,52	0,52	0,96	0,08	0,00
					80,307		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
81,773	1965				81,773		0,31	0,22	0,30	0,18	0,11
					84,214		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					84,589		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					85,759		0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
					86,019		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					86,352		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 AOÛT 1993**

140

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10		Delta	3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR						
					86,942		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
87,272	2066	>2400			87,272		0,19	0,45	0,00	0,00	0,22
					88,574		0,00	0,18	0,00	0,00	0,00
					92,644		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
94,878	2204				94,878		0,00	0,00	0,00	0,20	0,17
104,041	2316				104,102		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
						Autres composés	5,19	1,59	4,45	3,88	3,39
						Tétradécane (standard) sur DB-5	2,71	2,63	3,28	2,87	2,87
						Tétradécane (standard) sur Sup-10	2,85	2,59	3,25	1,26	1,66

- Le rapport de la concentration du standard interne sur celui des autres composants (aglycones) est constant d'un regroupement à l'autre, d'un mois à l'autre.
- Les données des compositions relatives du standard interne sur la colonne Supelcowax-10 sont exemptes d'interférences provenant de pics adjacents et sont utilisées dans le cadre de l'établissement de l'évolution de la productivité primaire nette (Pn) des glycosides.
- Les échantillons sont traités de la même manière que ceux de l'annexe 4, permettant d'utiliser l'individu #15 (reg. E) dans l'établissement des courbes de la productivité primaire nette (Pn).
- La numérotation (#) de l'ordre d'élution sur colonne DB-5 est assortie à la même numérotation des tableaux 12, 13 et de l'annexe 14.

- Les regroupements d'individus sont caractérisés par les analyses d'huile essentielle du 3 juin 1993 :

- A : Individus 1-2-4-7-8-9-10-11-14, avec composition relative en delta-3 carène supérieure à 10%.
- B : Individus 5-6-12, avec composition relative en delta-3 carène ~ 0%.
- C : Individus 1-2-3-4-5-6-7-8-9-10, avec composition relative en pipéritone inférieure à 0,5%.
- D : Individus 12-13, avec composition relative en pipéritone supérieure ou égale à 10%.
- E : Individu 15, avec composition relative en thymol de ~3,2%.

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 SEPTEMBRE 1993**

141

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)					
#	DB-5		S-10 Delta		3 Juin	Nom	Regroupement #	A	B	C	D	E
	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR							
1	9,832	842	1312	470	9,832	4-Méthyl pentanol		0,52	0,21	0,37	0,53	0,61
2	10,836	863			10,836	cis Hex-3-én-1-ol		3,05	2,40	3,09	0,58	0,33
					10,913			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					11,002			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	11,582	878			11,582	Hexanol		1,15	0,58	0,92	0,27	0,50
4	13,422	909	1318	409	13,422	Heptan-2-ol		0,76	0,00	0,41	0,00	0,00
	16,346	952			16,346			0,00	0,00	0,00	0,14	0,00
					18,793			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	18,953	984			18,953			0,60	0,18	0,46	0,33	0,00
					19,353			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	19,686				19,686			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	22,625	1040	1861	821	22,625	Alcool benzylique		2,44	3,22	3,92	1,49	2,15
					23,269			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					23,370			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					23,975			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	24,768				24,436			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	25,266	1079			25,266			0,71	0,81	0,73	0,00	0,00
9	25,534	1082	1418	336	25,534	cis Linaloloxide		0,51	0,54	0,86	0,33	1,89
	26,691	1098			26,691			0,32	0,22	0,00	0,30	0,42
	27,158	1106	1613	507	27,158	Benzoate de méthyle		20,03	39,13	28,28	1,33	3,56
					27,322			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	27,778				27,818			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	28,302	1120			28,302	Maltol		2,13	3,61	5,33	1,49	0,25
12	28,510	1121	1896	775	28,510	Alcool phényléthylique		2,64	1,21	3,13	0,27	4,52
	28,904				28,904			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	30,138				30,138			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	30,430	1147			30,430			0,46	0,27	0,00	0,27	0,34
					30,785			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					30,948			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					31,231			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	32,098				32,098			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	32,507	1171	1677	506	32,507	Bornéol		3,81	1,91	3,91	6,30	6,35
	32,783	1172			32,783			0,27	0,19	0,00	0,50	0,73
	33,196	1177			33,196			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	33,413	1181			33,413	Benzylate de méthyle		1,77	3,37	1,82	0,19	0,83
	33,739	1183			33,739			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	33,968	1185			33,968			0,00	0,00	0,00	0,12	0,00
	34,484	1190			34,484			0,00	0,00	0,00	0,46	0,38
					34,580			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	34,826	1196			34,826	2-Méthoxy-4-méthyl phénol		0,00	0,00	0,00	0,48	0,00

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 SEPTEMBRE 1993

142

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)					
#	DB-5		S-10 Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR						
					35,162		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	35,530	1205	1782	577	35,530	Myrténol	3,36	2,65	4,97	4,07	6,32
	36,713	1222			36,713		0,21	0,15	0,00	0,50	0,00
	36,882	1224			36,882		0,00	0,00	0,00	0,19	0,00
					37,253		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	37,747	1241	1747	506	37,747		5,59	1,59	4,33	2,13	0,00
					38,019		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					38,149		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
21	38,693	1256			38,693	Thymoquinone	9,60	0,38	0,72	2,59	29,19
					39,107		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	39,205	1261			39,205		0,81	0,00	0,00	0,37	0,00
					39,411		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	40,207	1279			40,207		0,33	0,00	0,00	0,28	0,00
24	40,426	1282	1961	679	40,426	(33.61) Monoterpénoï ?	1,59	1,92	1,08	10,82	1,22
26	40,841	1288	1977	689	40,841	(34.18) Monoterpénoï ?	0,00	0,46	0,00	3,50	0,00
	41,019				41,016		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					41,252		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	41,621	1299			41,621	(34.95)	0,53	0,21	0,43	0,50	0,29
27	41,861	1301	2168	867	41,861	Thymol	0,67	0,00	0,00	0,44	7,41
					42,145		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	42,220	1306			42,220		0,00	0,18	0,00	0,53	1,00
					42,388		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					42,985		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	43,830	1328			43,830		0,00	0,00	0,00	0,19	0,00
					44,165		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,258		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,830		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,903		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	45,277	1349			45,277		0,36	0,23	0,00	0,25	0,00
	45,849	1358			45,849		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	45,984	1359			45,984		0,95	0,60	1,02	0,00	0,76
					46,083		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					46,200		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	46,294	1363			46,294		0,33	0,67	0,41	1,63	0,00
28	46,626	1367			46,626	Eugénoï	0,93	0,54	0,58	1,94	0,00
					46,906		0,00	0,00	0,00	1,15	0,00
	47,138	1373			47,138		0,65	0,00	0,00	0,60	0,00
	47,213	1375			47,213		0,46	0,31	0,00	0,00	0,00
					47,261		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	47,397	1376			47,397		0,40	0,28	0,00	0,30	0,00

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 SEPTEMBRE 1993

143

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)						
DB-5		S-10		Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR	Nom						
	47,643	1380				47,643		0,81	0,00	0,00	0,78	0,00
						47,906		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	47,974	1385	2077	692		47,974		1,76	4,75	1,66	0,26	0,00
						48,220		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48,445	1388				48,445		0,00	0,00	0,00	0,51	0,00
	48,620	1390				48,620		0,31	0,00	0,00	0,45	0,00
						48,684		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48,988	1396	2358	962		48,988		8,74	7,03	11,22	10,13	18,45
						50,490		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	50,671	1421				50,671		1,16	0,00	0,73	0,19	0,00
						50,822		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
						51,106		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	51,431	1437				51,431		0,21	0,14	0,00	0,20	0,00
	51,588	1436				51,588		0,00	0,00	0,00	1,50	0,94
	52,300	1452				52,300		0,00	0,00	0,00	0,97	0,00
	52,892	1461				52,892		0,99	1,50	0,85	0,43	0,00
						53,177		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
						53,299		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	53,662	1470				53,662		0,00	0,00	0,00	0,47	0,00
	54,743					54,743		0,00	0,00	0,00	0,00	0,54
	55,374	1502				55,374		0,00	0,13	0,00	0,00	0,00
	55,509					55,509		0,00	0,00	0,00	0,32	0,00
	55,781	1508				55,796		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	56,019	1507				56,019		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	56,445	1518				56,445		0,00	0,21	0,00	0,44	0,00
	56,753	1523				56,753		0,99	0,58	0,89	0,21	0,34
						57,472		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
						57,712		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	57,936	1540				57,936		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
						58,333		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	58,698	1549				58,698		0,83	0,00	0,00	0,00	0,00
	58,759	1553				58,759		0,00	1,80	0,50	0,00	1,52
	58,876					58,918		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
41	58,987	1553	2701	1148		58,987	7-Hydroxypipéritone	0,00	1,39	1,19	15,13	0,00
						59,609		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
						60,184		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	60,657	1581				60,657		0,53	0,00	0,00	0,30	0,00
						60,775		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	61,350	1588				61,350		0,00	0,00	0,00	0,16	0,00

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 SEPTEMBRE 1993

144

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10		Delta	3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR						
					63,431		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
63,608	1630				63,608		1,30	0,62	1,58	0,68	0,36
					64,110		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,182	1641				64,182		2,16	1,49	2,06	1,26	0,66
64,469					64,469		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,685	1650				64,685		1,27	0,42	1,60	2,03	0,57
64,875	1653	>2400			64,875		1,20	0,28	1,69	2,40	0,77
65,070	1657				65,070		0,48	0,00	0,00	0,62	0,00
65,265					65,275		0,58	0,00	0,00	0,79	0,00
65,368	1659				65,368		0,00	0,00	0,78	0,00	0,38
65,759	1666				65,759		0,00	0,00	0,00	0,55	0,00
					66,014		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
66,619	1685				66,619		0,36	0,32	0,00	0,00	0,00
66,958	1686				66,958		0,00	0,00	0,00	0,31	0,00
67,850	1702				67,850		0,00	0,00	0,00	0,33	0,61
67,960					67,932		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					68,239		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
68,910	1720				68,910		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
69,106	1728				69,106		3,05	2,05	2,88	1,78	1,37
69,522	1731				69,522		0,00	0,00	0,00	0,19	0,00
69,757					69,772		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					69,834		0,00	0,00	1,34	1,63	0,00
70,369	1750				70,369		0,65	1,21	0,00	0,00	0,00
70,769					70,769		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
71,737	1774				71,737		0,73	0,21	0,85	0,91	0,55
					72,379		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					73,223		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
73,880	1806				73,880		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75,044	1830				75,044		0,58	0,87	1,43	0,23	0,43
75,296	1839				75,296		0,59	0,78	0,68	0,00	0,00
76,360					76,360		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					76,987		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
79,925	1930				79,925		0,20	0,39	0,00	0,00	0,00
					80,307		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
81,773	1965				81,773		0,36	0,32	0,00	0,16	0,00
					84,214		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					84,589		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					85,759		0,00	0,00	0,00	0,00	0,46
					86,019		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					86,352		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 SEPTEMBRE 1993**

145

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10	Delta	3 Juin	Nom	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	TR							
				86,942			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
87,272	2066	>2400		87,272			0,00	0,46	0,63	0,00	0,30
				88,574			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
				92,644			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
94,878	2204			94,878			0,00	0,00	0,00	0,33	0,00
104,041	2316			104,102			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Autres composés							2,23	5,06	0,66	6,01	2,71
Tétradécane (standard) sur DB-5							3,48	2,03	3,16	2,05	2,08
Tétradécane (standard) sur Sup-10							4,04	1,91	2,88	1,94	2,16

- Le rapport de la concentration du standard interne sur celui des autres composants (aglycones) est constant d'un regroupement à l'autre, d'un mois à l'autre.
 - Les données des compositions relatives du standard interne sur la colonne Supelcowax-10 sont exemptes d'interférences provenant de pics adjacents et sont utilisées dans le cadre de l'établissement de l'évolution de la productivité primaire nette (Pn) des glycosides.
 - Les échantillons sont traités de la même manière que ceux de l'annexe 4, permettant d'utiliser l'individu #15 (reg. E) dans l'établissement des courbes de la productivité primaire nette (Pn).
 - La numérotation (#) de l'ordre d'élution sur colonne DB-5 est assortie à la même numérotation des tableaux 12, 13 et de l'annexe 14.
- Les regroupements d'individus sont caractérisés par les analyses d'huile essentielle du 3 juin 1993 :
- A : Individus 1-2-4-7-8-9-10-11-14, avec composition relative en delta-3 carène supérieure à 10%.
 - B : Individus 5-6-12, avec composition relative en delta-3 carène ~ 0%.
 - C : Individus 1-2-3-4-5-6-7-8-9-10, avec composition relative en pipéritone inférieure à 0,5%.
 - D : Individus 12-13, avec composition relative en pipéritone supérieure ou égale à 10%.
 - E : Individu 15, avec composition relative en thymol de ~3,2%.

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 OCTOBRE 1993**

146

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)									
#	DB-5		S-10	Delta	3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E				
	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR							Nom			
1	9,832	842	1312	470	9,832	4-Méthyl pentanol	0,37	0,49	0,00	0,39	0,25				
2	10,836	863			10,836	cis Hex-3-én-1-ol	0,93	1,35	1,31	0,39	0,49				
					10,913		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					11,002		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					11,582	Hexanol	0,44	0,47	0,00	0,13	0,25				
3	11,582	878			11,582	Hexanol	0,44	0,47	0,00	0,13	0,25				
4	13,422	909	1318	409	13,422	Heptan-2-ol	0,52	0,00	0,00	0,00	0,06				
					16,346		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					18,793		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					18,953	984	18,953		0,50	0,00	0,00	0,27	0,11		
					19,353		19,353		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
6	22,625	1040	1861	821	19,686		0,00	0,00	0,00	0,00	0,09				
					22,625	Alcool benzylique	3,49	3,02	1,01	1,08	2,08				
					23,269		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					23,370		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					23,975		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					24,768		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					25,266	1079	25,266		0,42	0,52	1,61	0,43	0,26		
9	25,534	1082	1418	336	25,534	cis Linaloloxide	0,70	1,30	0,00	0,32	1,44				
					26,691	1098	26,691		0,00	0,00	0,00	0,22	0,33		
					27,158	1106	1613	507	27,158	Benzoate de méthyle	10,18	21,42	38,99	7,58	8,17
					27,322		27,322		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
11	28,302	1120			27,778		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					28,302	Maltol	3,42	5,72	5,23	0,84	1,42				
					28,510	1121	1896	775	28,510	Alcool phényléthylique	3,09	1,41	2,95	0,23	2,13
12	28,904				28,904		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					30,138		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					30,430	1147	30,430		0,00	0,00	0,00	0,30	0,43		
					30,785		30,785		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
					30,948		30,948		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
					31,231		31,231		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
13	32,098				32,098		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
					32,507	1171	1677	506	32,507	Bornéol	3,53	4,36	2,48	6,37	3,34
					32,783	1172			32,783		0,00	0,36	0,00	0,16	0,61
					33,196	1177			33,196		0,00	0,00	0,00	0,00	0,15
					33,413	1181			33,413	Benzylate de méthyle	1,40	1,92	7,89	0,79	2,68
					33,739	1183			33,739		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					33,968	1185			33,968		0,00	0,00	0,00	0,17	0,14
					34,484	1190			34,484		0,69	0,56	0,00	0,93	0,49
					34,580				34,580		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					34,826	1196			34,826	2-Méthoxy-4-méthyl phénol	0,00	0,00	0,00	0,38	0,11

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 OCTOBRE 1993

147

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)				
#	DB-5		S-10	Delta	3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR						
					35,162		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	35,530	1205	1782	577	35,530	Myrténol	3,25	4,24	1,39	3,41	3,39
	36,713	1222			36,713		0,00	0,00	0,00	0,30	0,18
	36,882	1224			36,882		0,00	0,00	0,00	0,21	0,14
					37,253		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	37,747	1241	1747	506	37,747		6,61	2,36	3,43	1,80	0,00
					38,019		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					38,149		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
21	38,693	1256			38,693	Thymoquinone	10,93	1,00	0,00	3,04	27,11
					39,107		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	39,205	1261			39,205		0,00	0,00	0,00	0,10	0,04
					39,411		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	40,207	1279			40,207		0,00	0,00	0,00	0,17	0,15
24	40,426	1282	1961	679	40,426	(33.61) Monoterpénol ?	1,55	2,77	0,00	7,77	0,94
26	40,841	1288	1977	689	40,841	(34.18) Monoterpénol ?	0,00	0,27	0,00	2,88	0,10
	41,019				41,016		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					41,252		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	41,621	1299			41,621	(34.95)	0,00	0,00	0,00	0,32	0,16
27	41,861	1301	2168	867	41,861	Thymol	1,34	0,00	0,00	0,72	7,98
					42,145		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	42,220	1306			42,220		0,00	0,00	0,00	0,40	0,25
					42,388		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					42,985		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	43,830	1328			43,830		0,00	0,00	0,00	0,15	0,00
					44,165		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,258		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,830		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					44,903		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	45,277	1349			45,277		0,00	0,00	0,00	0,25	0,34
	45,849	1358			45,849		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	45,984	1359			45,984		1,48	1,19	0,00	0,00	0,00
					46,083		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					46,200		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	46,294	1363			46,294		0,47	0,40	0,00	2,20	0,07
28	46,626	1367			46,626	Eugénol	0,57	0,00	0,00	0,00	0,59
					46,906		0,00	0,53	0,00	0,87	0,11
	47,138	1373			47,138		0,66	0,00	0,00	0,74	0,15
	47,213	1375			47,213		0,00	0,00	0,00	0,33	0,24
					47,261		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	47,397	1376			47,397		0,00	0,00	0,00	0,38	0,24

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 OCTOBRE 1993

148

Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)						
DB-5		S-10		Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR	Nom						
	47,643	1380			47,643			0,00	0,00	0,00	0,62	0,20
					47,906			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	47,974	1385	2077	692	47,974			0,93	0,89	7,05	0,46	0,97
					48,220			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48,445	1388			48,445			0,00	0,00	0,00	0,32	0,11
	48,620	1390			48,620			0,00	0,00	0,00	0,39	0,20
					48,684			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48,988	1396	2358	962	48,988			12,08	15,36	8,86	10,71	10,23
					50,490			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	50,671	1421			50,671			1,38	0,00	0,00	0,00	0,00
					50,822			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					51,106			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	51,431	1437			51,431			0,00	0,00	0,00	0,42	0,16
	51,588	1436			51,588			0,00	0,77	0,00	1,07	0,58
	52,300	1452			52,300			0,00	0,00	0,00	0,99	0,17
	52,892	1461			52,892			0,80	0,88	1,59	0,95	0,63
					53,177			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					53,299			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	53,662	1470			53,662			0,00	0,00	0,00	0,28	0,00
	54,743				54,743			0,00	0,00	0,00	0,00	0,63
	55,374	1502			55,374			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	55,509				55,509			0,00	0,00	0,00	0,00	0,35
	55,781	1508			55,796			0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
	56,019	1507			56,019			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	56,445	1518			56,445			0,00	0,00	0,00	0,30	0,00
	56,753	1523			56,753			1,01	0,96	0,00	1,23	0,31
					57,472			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					57,712			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	57,936	1540			57,936			0,00	0,00	0,00	0,18	0,00
					58,333			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	58,698	1549			58,698			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	58,759	1553			58,759			1,09	3,32	0,00	0,00	1,30
	58,876				58,918			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
41	58,987	1553	2701	1148	58,987	7-Hydroxypipéritone		1,01	1,97	0,00	12,16	0,15
					59,609			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					60,184			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	60,657	1581			60,657			0,95	0,00	0,00	0,34	0,40
					60,775			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	61,350	1588			61,350			0,37	0,00	0,00	0,24	0,18

COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 OCTOBRE 1993

149

Données chromatographiques							Composition sur DB-5 (%)					
DB-5		S-10		Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
#	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR	Nom						
					63,431			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
63,608	1630				63,608			2,25	1,00	1,41	0,59	0,35
					64,110			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,182	1641				64,182			2,44	2,17	1,84	1,15	0,58
64,469					64,469			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,685	1650				64,685			2,97	1,93	0,00	2,06	0,50
64,875	1653	>2400			64,875			1,09	0,76	0,00	1,22	0,28
65,070	1657				65,070			0,00	0,00	0,00	0,44	0,00
65,265					65,275			0,00	0,00	0,00	0,52	0,00
65,368	1659				65,368			0,00	0,00	0,00	0,00	0,37
65,759	1666				65,759			0,50	0,00	0,00	0,35	0,11
					66,014			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
66,619	1685				66,619			0,60	0,52	0,00	0,71	0,33
66,958	1686				66,958			0,00	0,00	0,00	0,22	0,12
67,850	1702				67,850			0,91	0,00	0,00	0,36	0,00
67,960					67,932			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					68,239			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
68,910	1720				68,910			0,00	0,00	0,00	0,00	0,44
69,106	1728				69,106			3,59	2,98	3,03	1,64	0,93
69,522	1731				69,522			0,00	0,00	0,00	0,19	0,14
69,757					69,772			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					69,834			2,45	3,39	0,00	1,89	0,83
70,369	1750				70,369			0,00	0,58	0,00	0,50	0,41
70,769					70,769			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
71,737	1774				71,737			1,51	0,77	0,00	0,82	0,37
					72,379			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					73,223			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
73,880	1806				73,880			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75,044	1830				75,044			0,74	1,24	0,00	0,20	0,49
75,296	1839				75,296			1,06	1,06	1,61	0,75	0,62
76,360					76,360			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					76,987			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
79,925	1930				79,925			0,00	0,00	1,19	0,13	0,21
					80,307			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
81,773	1965				81,773			0,40	0,00	0,00	0,14	0,25
					84,214			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					84,589			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					85,759			0,00	0,00	0,00	0,15	0,49
					86,019			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					86,352			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

**COMPOSITION RELATIVE (%) DES AGLYCONES LIBÉRÉS PAR HYDROLYSE AVEC LA CELLULASE
DES REGROUPEMENTS D'INDIVIDUS ÉCHANTILLONNÉS LE 1 OCTOBRE 1993**

150

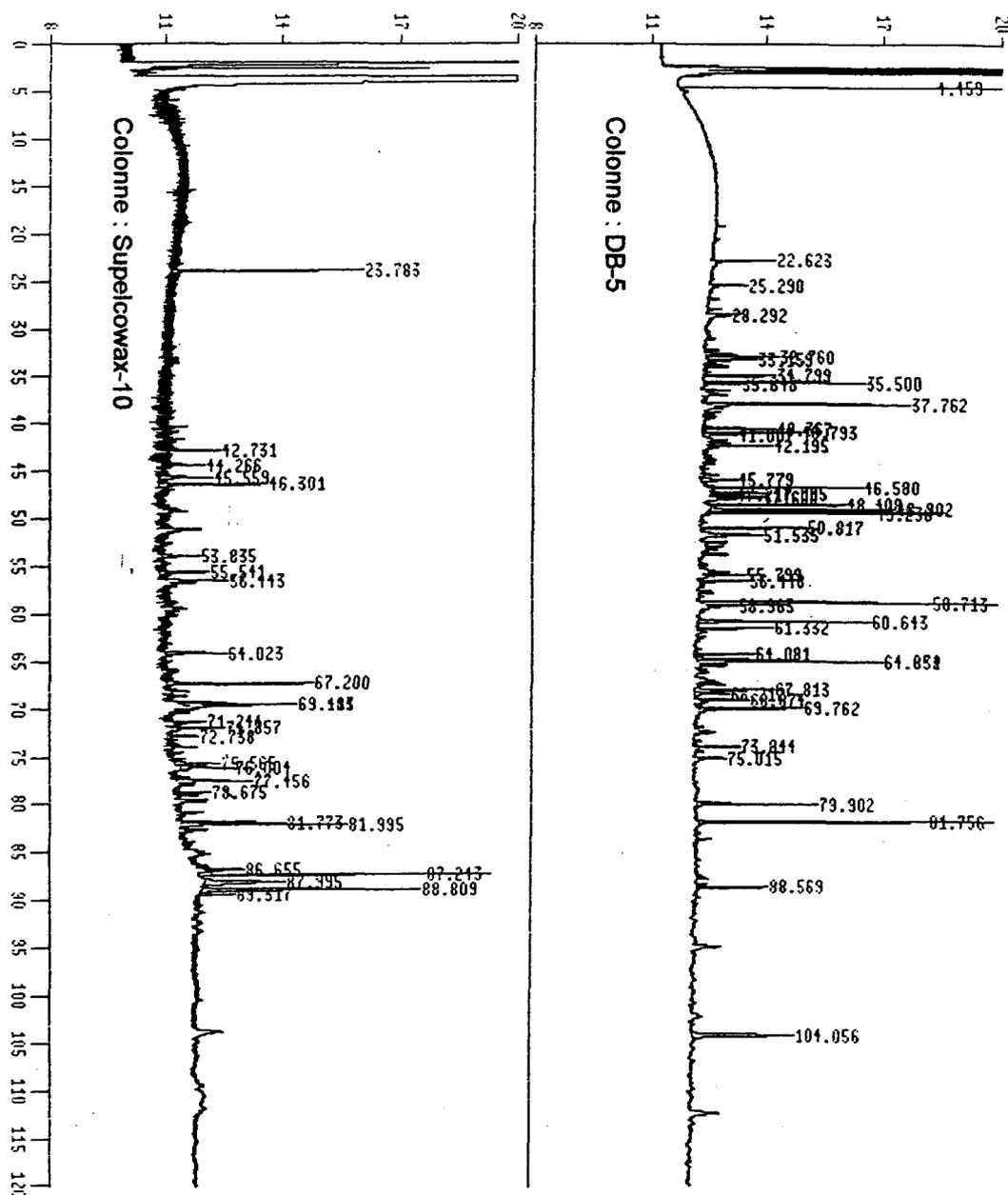
Données chromatographiques						Composition sur DB-5 (%)					
#	DB-5		S-10 Delta		3 Juin	Regroupement #	A	B	C	D	E
	T.R.	I.K.	I.K.	I.K.	TR						
					86,942		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	87,272	2066	>2400		87,272		0,61	1,99	0,00	0,15	0,30
					88,574		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
					92,644		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	94,878	2204			94,878		1,09	0,00	0,00	0,26	0,69
	104,041	2316			104,102		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
						Autres composés	1,62	1,79	7,14	7,87	7,16
						Tétradécane (standard) sur DB-5	3,76	3,19	7,16	2,57	4,17
						Tétradécane (standard) sur Sup-10	4,60	3,05	9,75	2,22	1,22

- Le rapport de la concentration du standard interne sur celui des autres composants (aglycones) est constant d'un regroupement à l'autre, d'un mois à l'autre.
 - Les données des compositions relatives du standard interne sur la colonne Supelcowax-10 sont exemptes d'interférences provenant de pics adjacents et sont utilisées dans le cadre de l'établissement de l'évolution de la productivité primaire nette (Pn) des glycosides.
 - Les échantillons sont traités de la même manière que ceux de l'annexe 4, permettant d'utiliser l'individu #15 (reg. E) dans l'établissement des courbes de la productivité primaire nette (Pn).
 - La numérotation (#) de l'ordre d'éluion sur colonne DB-5 est assortie à la même numérotation des tableaux 12, 13 et de l'annexe 14.
- Les regroupements d'individus sont caractérisés par les analyses d'huile essentielle du 3 juin 1993 :
- A : Individus 1-2-4-7-8-9-10-11-14, avec composition relative en delta-3 carène supérieure à 10%.
 - B : Individus 5-6-12, avec composition relative en delta-3 carène ~ 0%.
 - C : Individus 1-2-3-4-5-6-7-8-9-10, avec composition relative en pipéritone inférieure à 0,5%.
 - D : Individus 12-13, avec composition relative en pipéritone supérieure ou égale à 10%.
 - E : Individu 15, avec composition relative en thymol de ~3,2%.

ANNEXE 10

**Reproduction de chromatogrammes
(aglycones volatils)**

CHROMATOGRAMMES DU 3 JUIN (INDIVIDU #13)



End of plot. Time = 0.00 to 120.01 minutes Chart speed = 0.16 cm/min

RÉPRODUCTION DE CHROMATOGRAMMES (AGLYCONES VOLATILS)

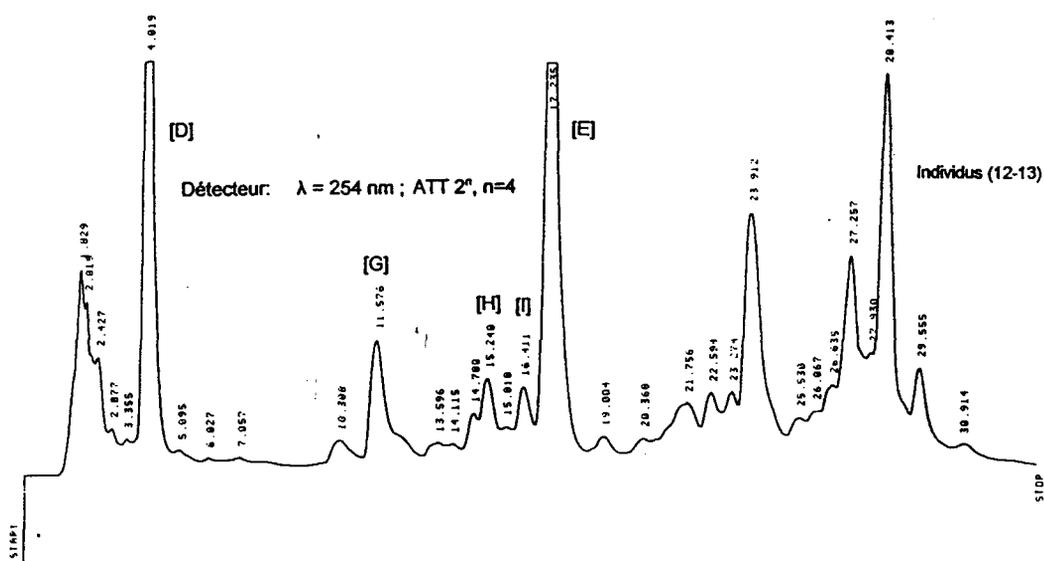
ANNEXE 11

**Reproduction de chromatogrammes
(CLHP analytique)**

CHROMATOGRAMMES (CLHP analytique)
D'EXTRAITS PURIFIÉS PAR CHROMATOGRAPHIE FLASH

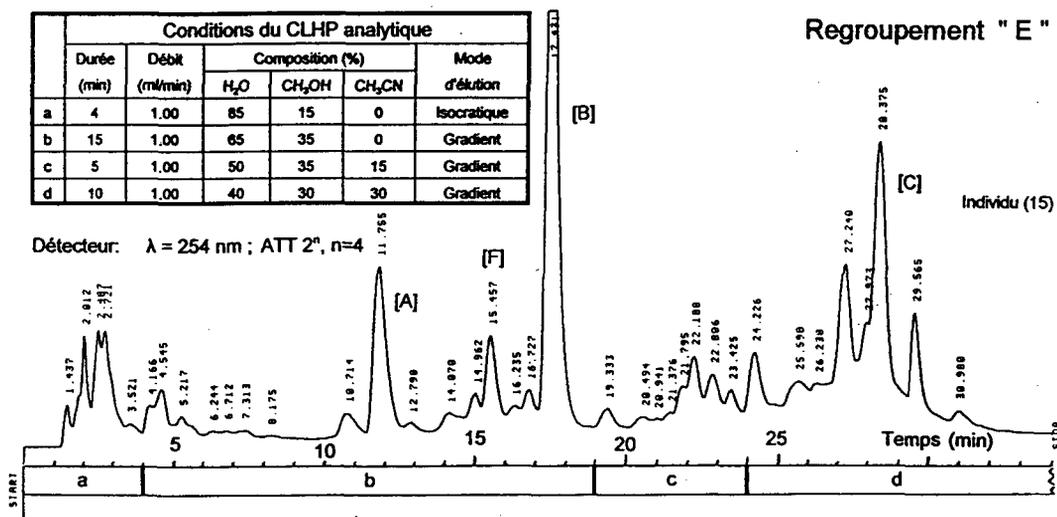
Composé : []

Regroupement " D "



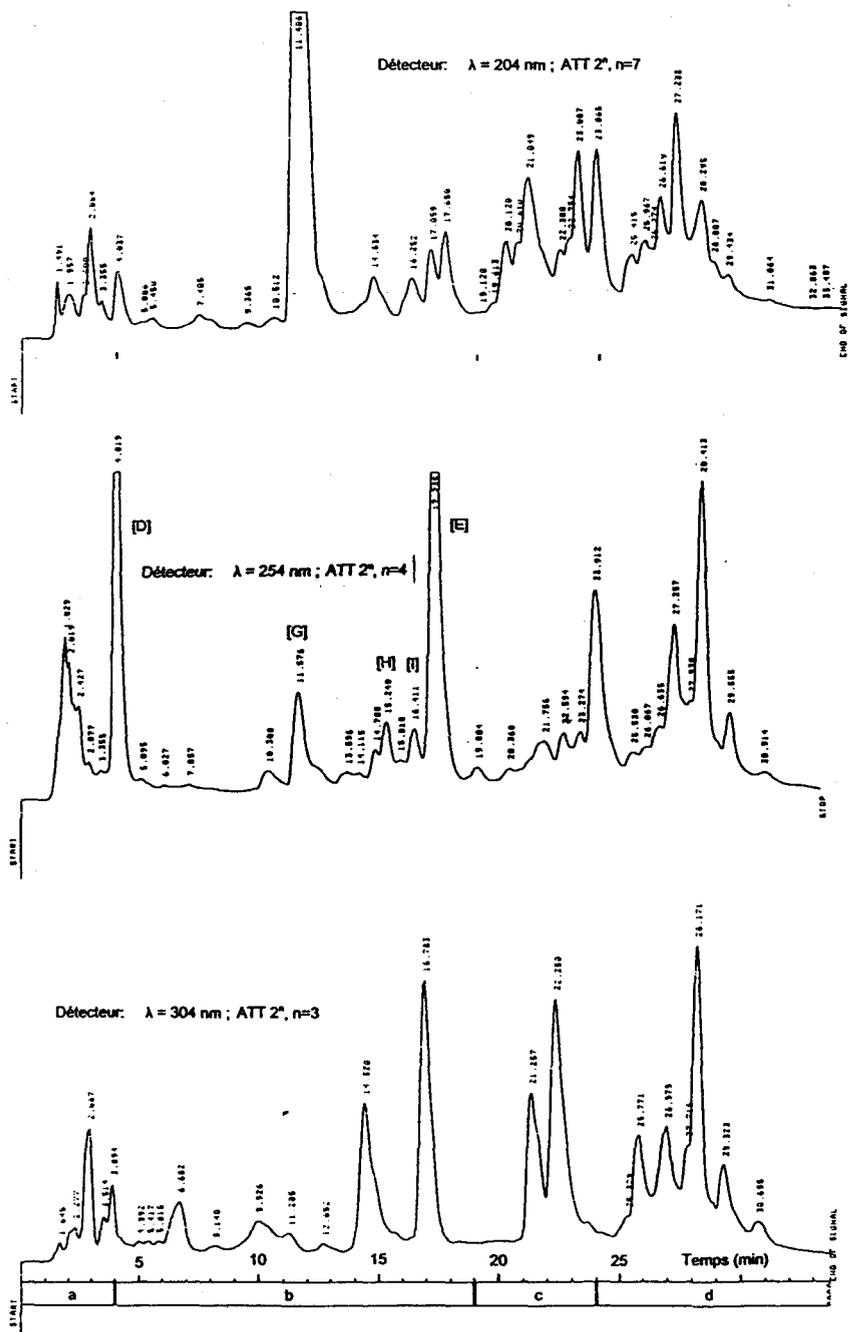
Conditions du CLHP analytique						
Durée (min)	Débit (ml/min)	Composition (%)			Mode d'étude	
		H ₂ O	CH ₃ OH	CH ₃ CN		
a	4	1.00	85	15	0	Isocratique
b	15	1.00	65	35	0	Gradient
c	5	1.00	50	35	15	Gradient
d	10	1.00	40	30	30	Gradient

Regroupement " E "



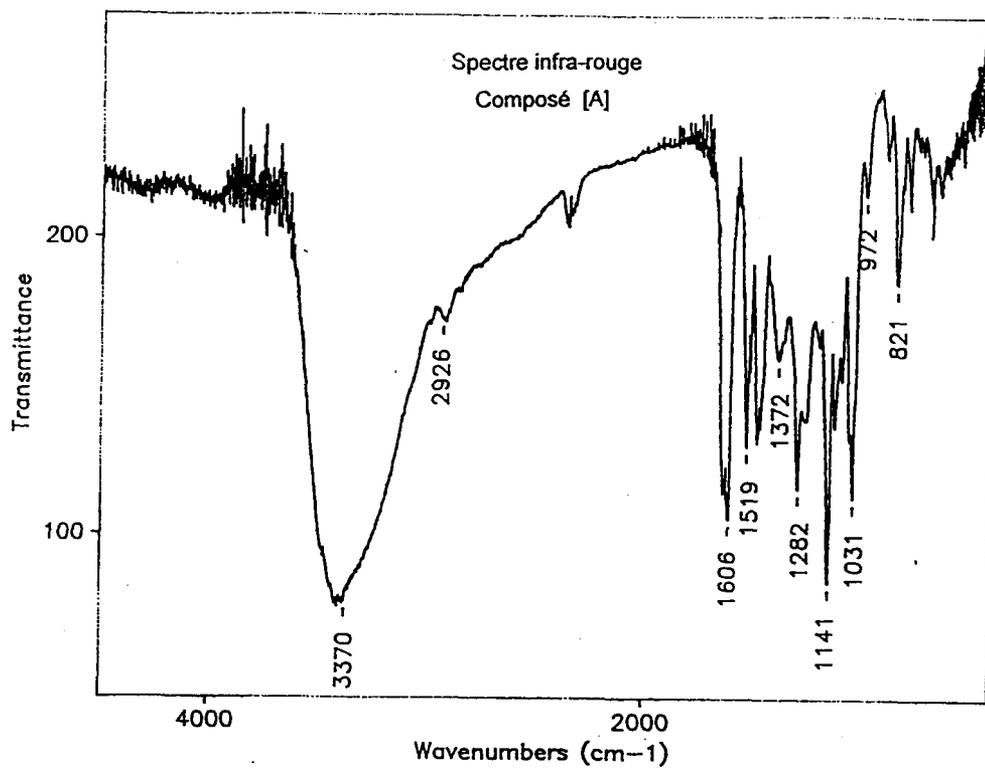
CHROMATOGRAMMES (CLHP analytique)
 DÉTECTEUR À DIFFÉRENTES LONGUEUR D'ONDE

Regroupement " D "

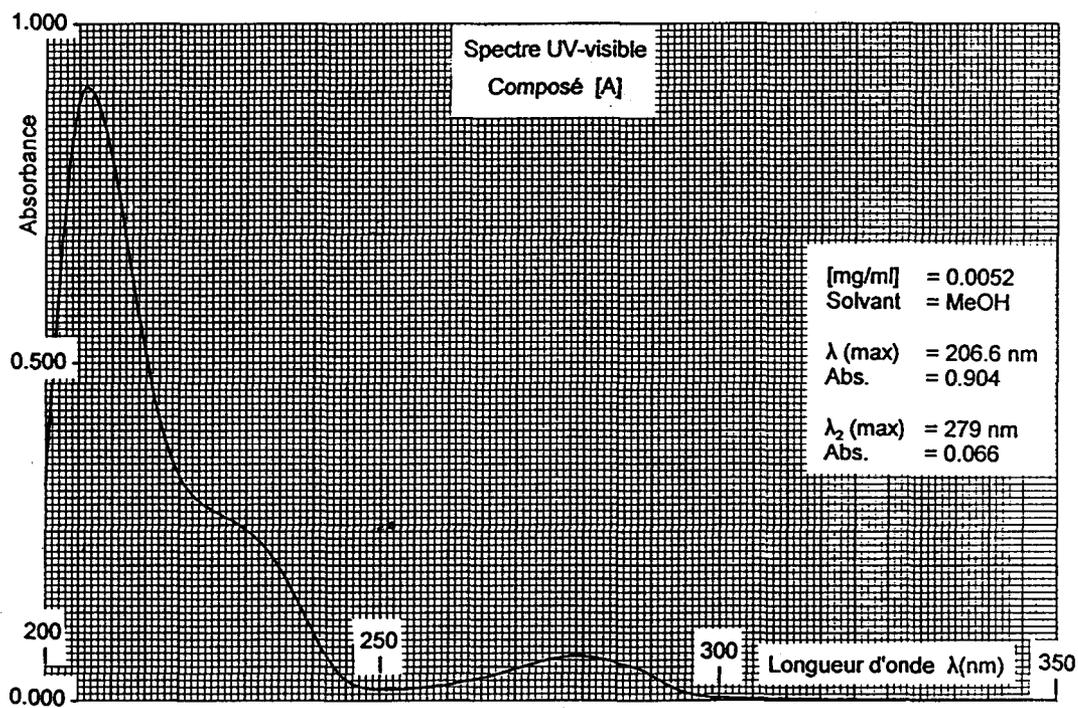


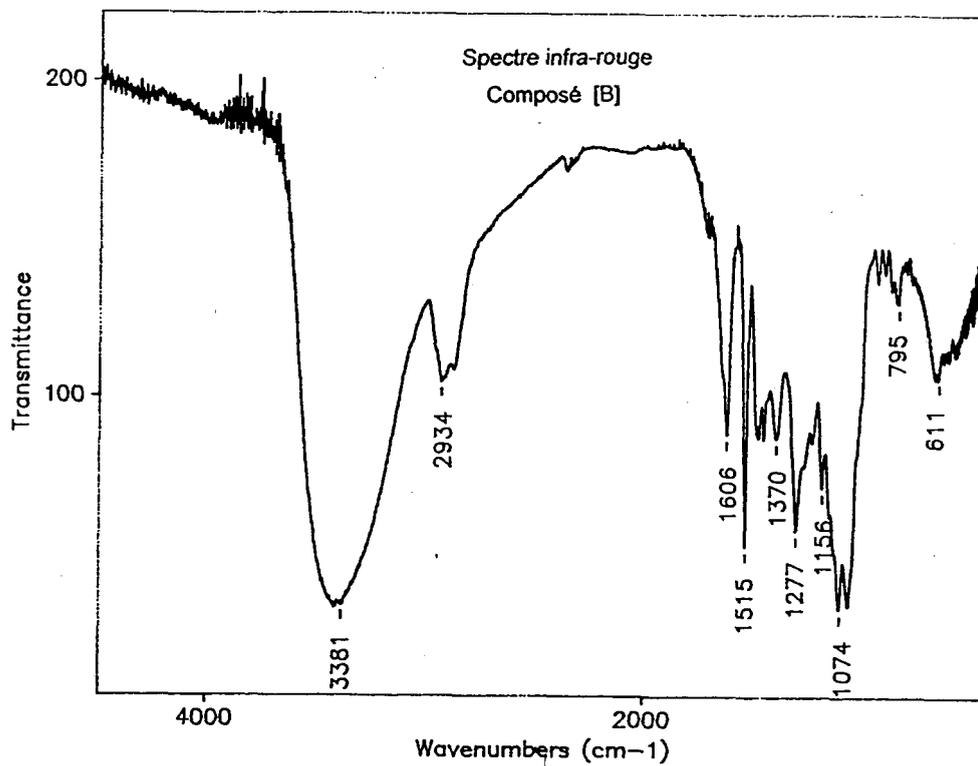
ANNEXE 12

**Spectres IR et Uv-visible des composés A, B, D et E
isolés par CLHP préparatif**

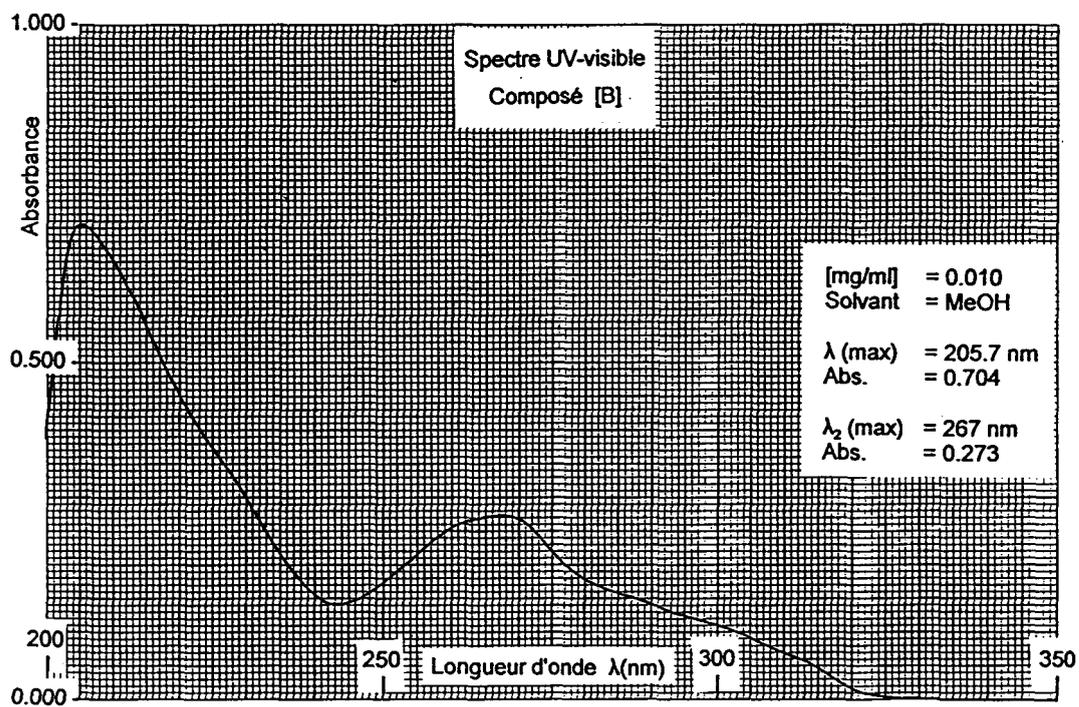


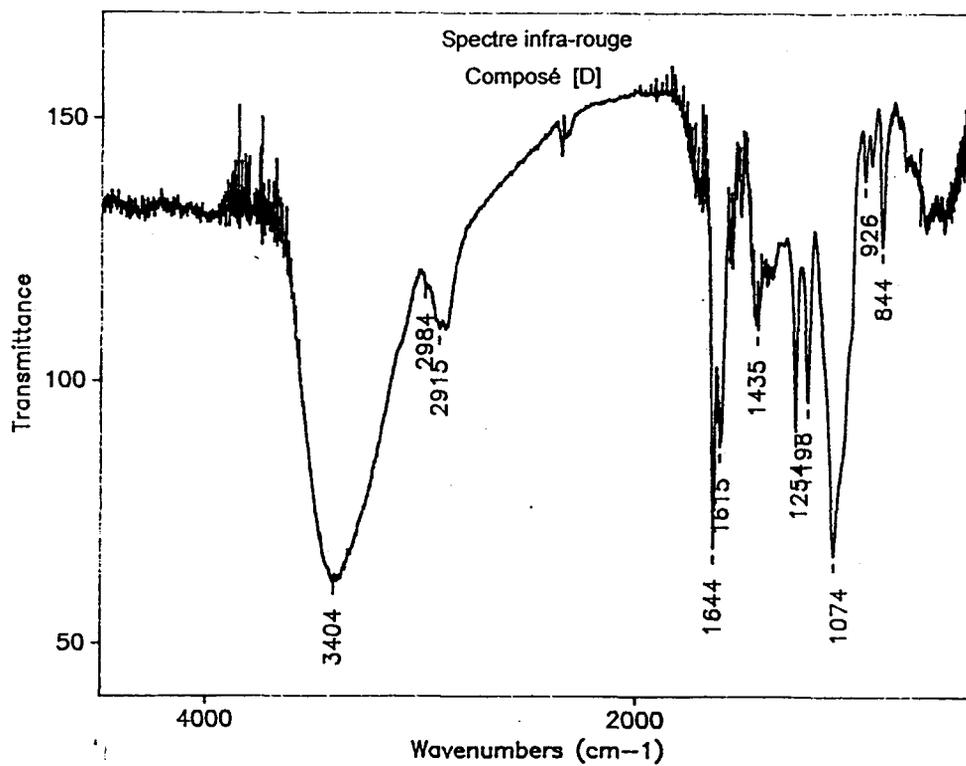
SPECTRONIC 2000

CAT. NO. 33-35-16
PRINTED IN U.S.A.

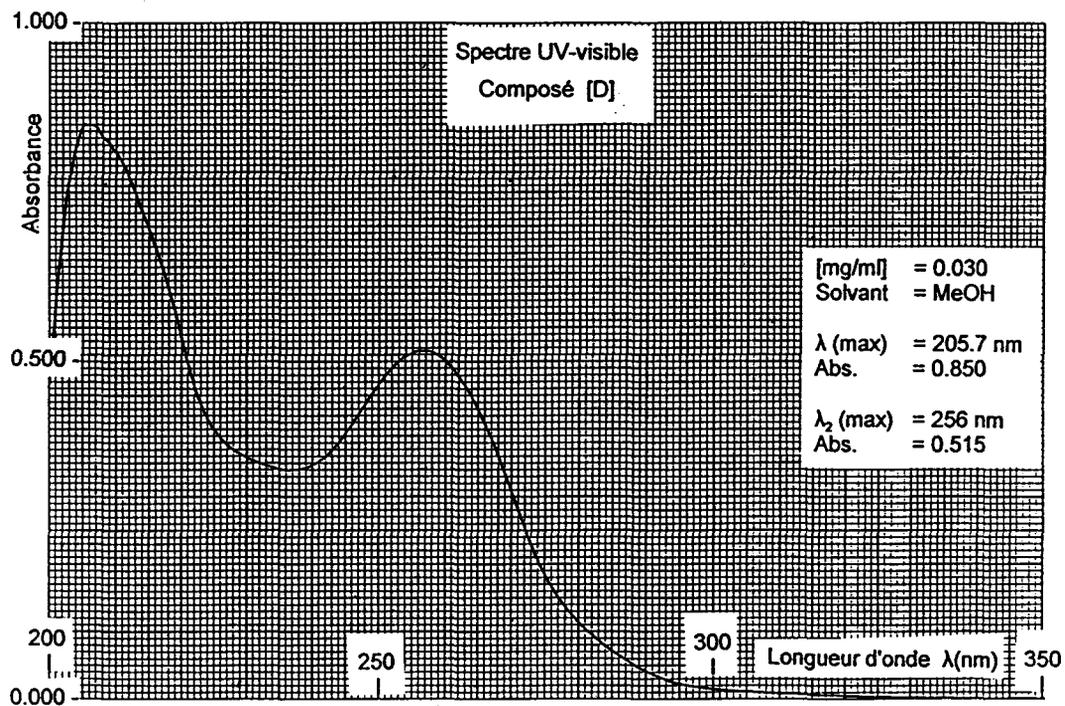


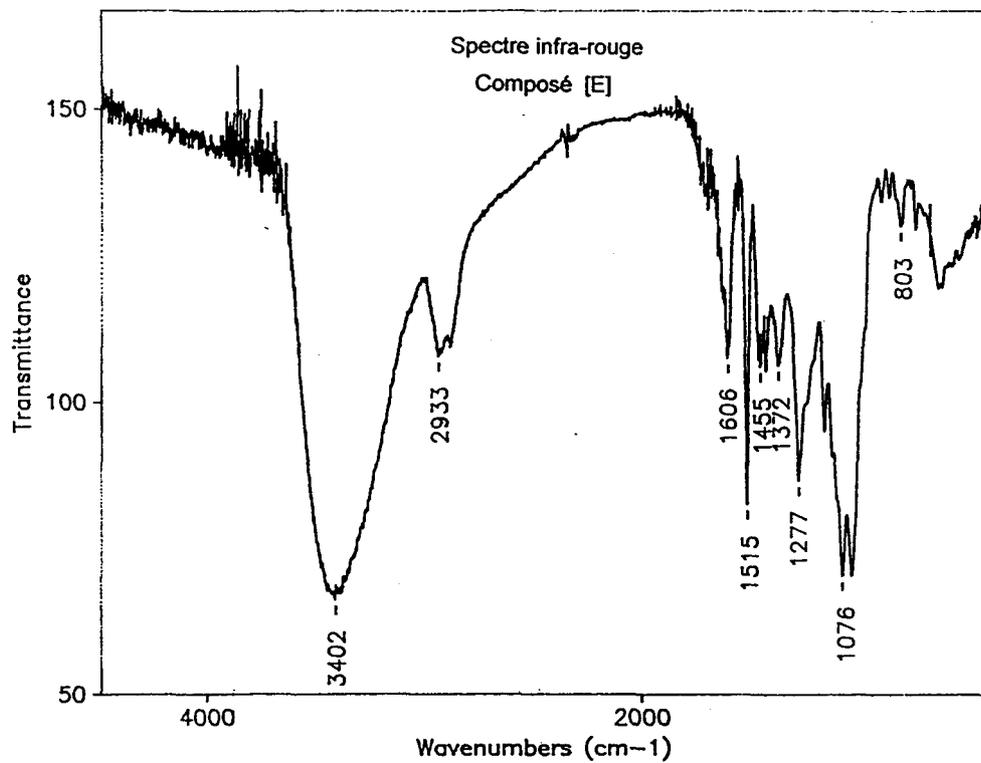
SPECTRONIC 2000

CAT. NO. 33-35-16
PRINTED IN U.S.A.

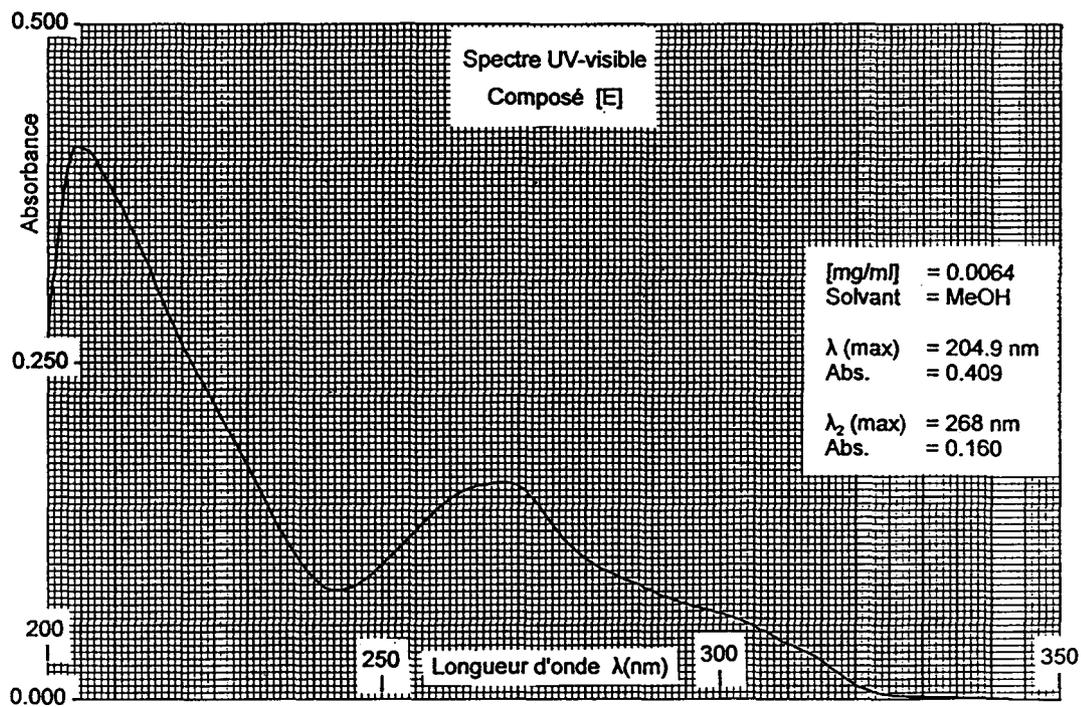


SPECTRONIC 2000

CAT. NO. 33-35-16
PRINTED IN U.S.A.

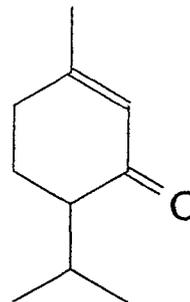


SPECTRONIC 8000

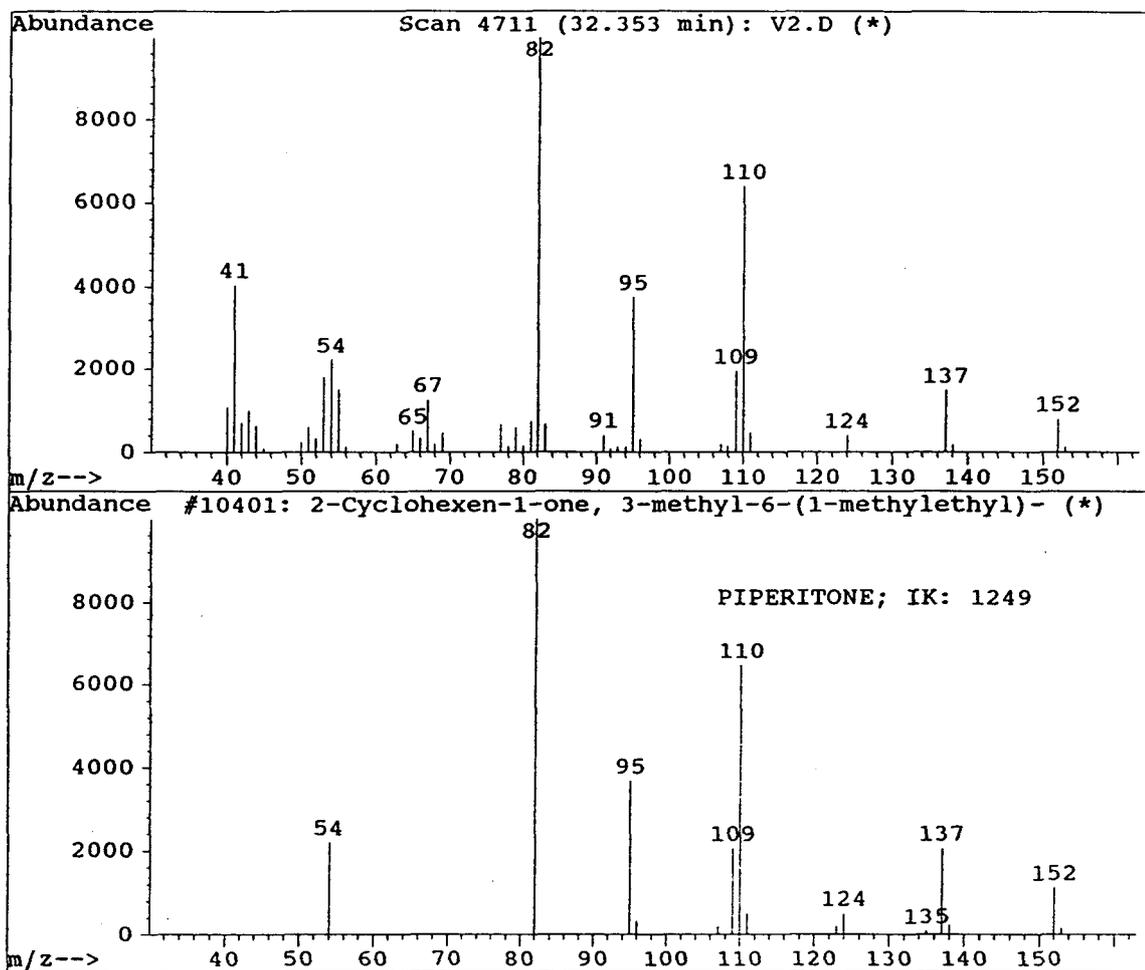
CAT. NO. 33-35-18
PRINTED IN U.S.A.

ANNEXE 13

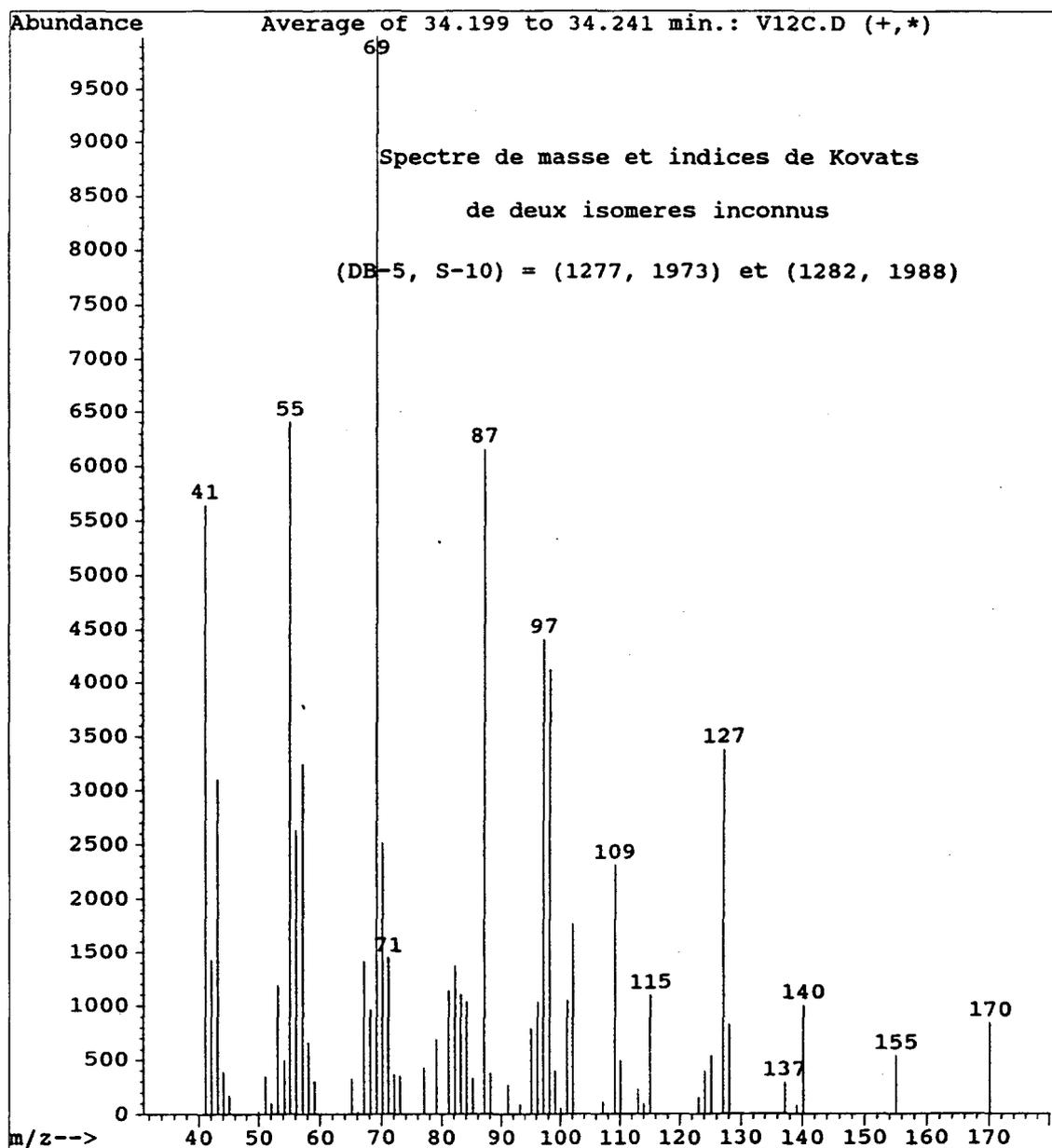
**Spectres de masse des monoterpènes libre et lié
en cooccurrence et les structures moléculaires**



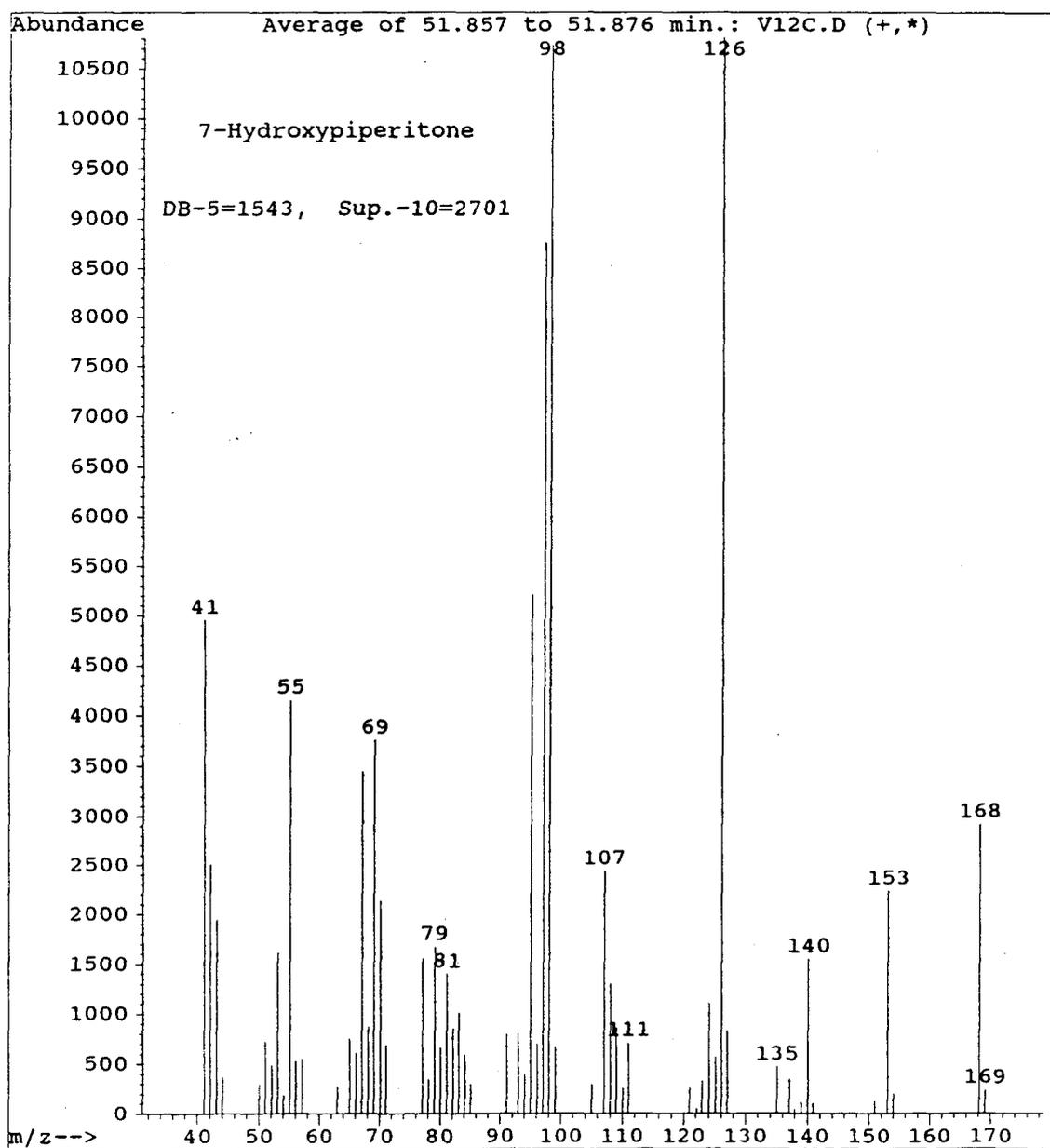
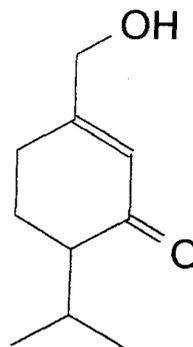
Library Searched : C:\DATABASE\NBS75K.L
Quality : 97
ID : 2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-



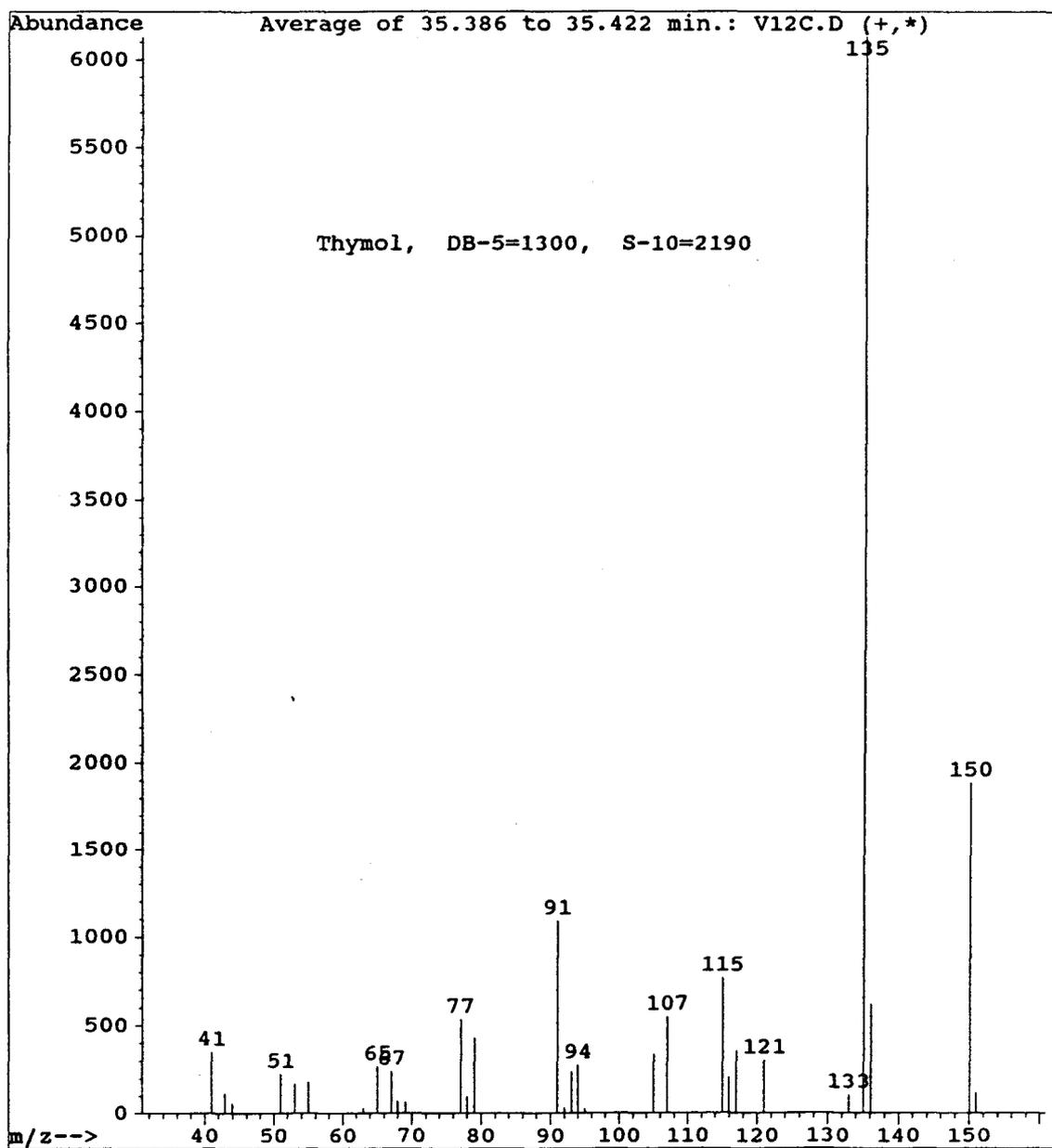
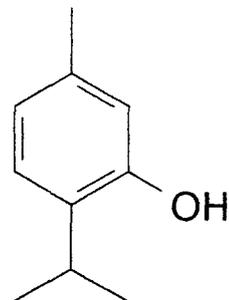
File : A:\V12C.D
Operator : Helene
Acquired : 24 Jan 94 10:56 am using AcqMethod HUILE1
Instrument : U.Q.A.C.
Sample Name: Sapin bamier, V12C
Misc Info : Inj. : 3,0 ul
Vial Number: 1

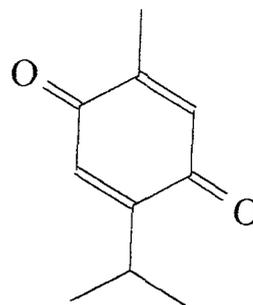


File : A:\V12C.D
Operator : Helene
Acquired : 24 Jan 94 10:56 am using AcqM
Instrument : U.Q.A.C.
Sample Name: Sapin bamier,V12C
Misc Info : Inj. : 3,0 ul
Vial Number: 1

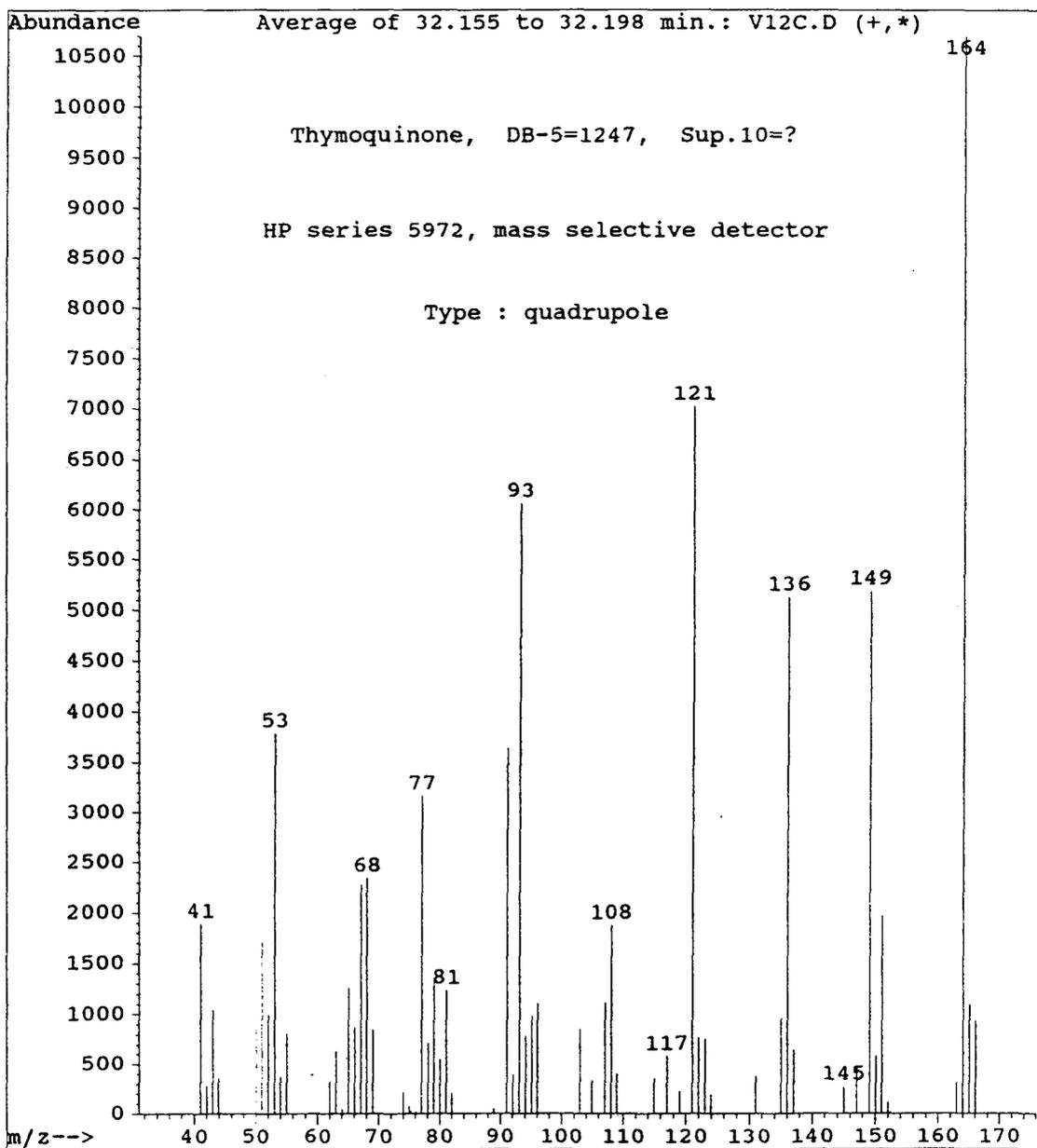


File : A:\V12C.D
Operator : Helene
Acquired : 24 Jan 94 10:56 am using AcqM
Instrument : U.Q.A.C.
Sample Name: Sapin bamier,V12C
Misc Info : Inj. : 3,0 ul
Vial Number: 1





File : A:\V12C.D
Operator : Helene
Acquired : 24 Jan 94 10:56 am using AcqM
Instrument : U.Q.A.C.
Sample Name: Sapin bamier,V12C
Misc Info : Inj. : 3,0 ul
Vial Number: 1



ANNEXE 14

Synonymes (anglicisés) de quelques aglycones répertoriés

Synonymes (anglicisés) de quelques aglycones répertoriés

# ^a	Nom	Formule	Synonymes (anglicisés)
1	4-Méthyl pentanol	C ₈ H ₁₄ O	4- Methyl pentanol
2	<i>cis</i> Hex-3-én-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	Hex-3-en-1-ol, <i>cis</i>
3	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	Hexyl alcohol * Amylcarbinol * Caproyl alcohol
4	Heptan-2-ol	C ₇ H ₁₆ O	Heptan-2-ol
5	Norbornéol	C ₇ H ₁₂ O	Bicyclo[2.2.1] heptan-2-ol
6	Alcool benzylique	C ₇ H ₈ O	Benzenemethanol * Benzenecarbinol
9	<i>cis</i> -Linaloloxide	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	2-Furanmethanol, 5-ethenyttetrahydro-, $\alpha,\alpha,5$ -trimethyl-, <i>cis</i>
11	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone
12	Alcool phényléthylique	C ₈ H ₁₀ O	Benzeneethanol * Ethanol, 2-phenyl- * PEA
13	Bornéol	C ₁₀ H ₁₈ O	Bicyclo[2.2.1] heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, endo-
16	<i>p</i> -Cymén-8-ol	C ₁₀ H ₁₄ O	Benzenemethanol, $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl-
17	2-Méthoxy-4-méthyl phénol	C ₈ H ₁₀ O ₂	Creosol
18	Myrténol	C ₁₀ H ₁₆ O	Bicyclo[3.1.1] hept-2-ene-methanol, 6,6-dimethyl-
20	2-Hydroxy acétophénone	C ₈ H ₈ O ₂	Ethanone, 2-hydroxy-1-phenyl-
21	Thymoquinone	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- * Mentha-3,6-diene-2,5-dione, <i>p</i> -
27	Thymol	C ₁₀ H ₁₄ O	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- * Cymen-3-ol, <i>p</i> -
28	Eugénol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)- * Allylguaiacol, 4-
31	<i>iso</i> -Eugénol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	2-methoxy-4-propenyl-phenol
33	Cinnamate de <i>trans</i> méthyle	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, methyl ester, (E)-
35	Vanilline	C ₈ H ₈ O ₃	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy- * Lioxin
37	6-Hydroxypipéritone	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	2-Cyclohexen-1-one, 4-hydroxy-3-methyl-6-(1-methylethyl)-
40	Vanillate de méthyle	C ₉ H ₁₀ O ₄	Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-, methyl ester
41	7-Hydroxypipéritone	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	2-Cyclohexen-1-one, 3-(hydroxymethyl)-6-(1-methylethyl)-

a) Le numéro (#) se réfère également aux composés des tableaux 12 et 13.

ANNEXE 15

Description de l'activité des enzymes⁽⁴⁴⁾

Description de l'activité des enzymes⁽⁴⁴⁾

1) Cellulase :

Réaction : Endohydrolyse de liaisons 1,4- β -glucosidique dans la cellulose, le lichenin et de β -D-glucanes de céréale.

Autre nom : Endo 1,4- β -glucanase.
(Nom systématique) : 1,4-(1,3 ; 1,4)- β -D-glucane, et 4-glucanohydrolase.

Commentaires : Hydrolysera également les liaisons 1,4- β -D-glucanes contenant des liens 1,3.

2) α -D-Glucosidase :

Réaction : Hydrolyse de liaisons terminales, non-réductrice de résidus 1,4-lié α -D-Glucose avec rejet de α -Glucose.

Autres noms : Maltase, Glucoinvertase, Glucosidosucrase.
(Nom systématique) : α -D-Glucoside glucohydrolase.

Commentaires : Ce métabolite couvre un groupe d'enzymes laquelle spécifiquement est dirigée majoritairement vers l'exohydrolyse de liaisons 1,4- α -glucosidique et de l'hydrolyse rapide d'oligosaccharides et aux polysaccharides lesquelles sont hydrolysés relativement lentement ou pas du tout.

3) β -D-Glucosidase :

Réaction : Hydrolyse de liaisons terminales, non-réductrice de résidus β -D-Glucose avec rejet de β -Glucose.

Autres noms : Gentiobiase, Cellobiase, Amygdalase.
(Nom systématique) : β -D-Glucoside glucohydrolase.

Commentaires : Ce métabolite a une grande capacité d'hydrolysée les β -D-Glucosides. Quelques exemples ont démontré la capacité d'hydrolysée des β -D-Galactosides, α -L-arabinosides et de β -D-Xylosides.