

Etude des huiles essentielles de feuilles du groupe de la mandarine clémentine. Utilisation taxonomique.

J.M. ORTIZ MARCIDE, J.L. TADEO LLUCH, F.J. DIAZ LLANOS
A. ESTELLES ADAM*

ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES DE FEUILLES DU GROUPE
DE LA MANDARINE CLEMENTINE.
UTILISATION TAXONOMIQUE

J.M. ORTIZ MARCIDE, J.L. TADEO LLUCH,
F.J. DIAZ LLANOS et A. ESTELLES ADAM

Fruits, Fev. 1983, vol. 38, n° 2, p. 125-131.

RESUME - Des analyses effectuées sur les huiles essentielles de feuilles de dix cultivars de mandarinier 'Clementina' (*Citrus clementina* HORT. ex TANAKA) ont permis, grâce à l'examen statistique des résultats, d'observer la présence d'un groupe homogène dans lequel sont inclus la plupart des cultivars considérés. 'Clemenvilla' est le plus éloigné, ce qui s'explique par son origine hybride probable.

INTRODUCTION

La clémentine est une mandarine précoce, d'un grand intérêt dans le Bassin méditerranéen. D'après TRABUT (16), son origine serait un hybride de la mandarine méditerranéenne (*C. deliciosa* TENORE) pollinisée par une variété ornementale du *C. aurantium* L., connue sous le nom de 'Granito'. Plus récemment, CHAPOT (7) a conclu que la clémentine serait vraisemblablement identique à la mandarine 'Canton' décrite par TRABUT (16). TANAKA (15) donne le nom de *C. clementina* à cette mandarine et SWINGLE (14) la considère comme une variété dans le groupe des mandarines, ou comme un hybride plus proche des oranges douces [*C. sinensis* (L.) OSBECK].

Bien que relativement récente, la mandarine clémentine est à l'origine de quelques mutations, d'après la description de BLONDEL (3), chacune d'elles est caractérisée par le

nombre de pépins, l'époque de maturité, la fertilité, etc. Cinq mutations gemmaires ou de rameaux sont récemment apparues en Espagne (4). 'Hernandina', mutation à maturité tardive de clémentine, a été étudiée et caractérisée par BONO (5).

Plusieurs études sur des composés biochimiques de la clémentine ont été réalisées. Les amino-acides libres dans le jus et leur variation furent analysés en diverses localités italiennes (17). Les fractions caroténoïdées dans la clémentine et quelques autres agrumes furent étudiées par BENK et SEIBOLD (2). Les huiles essentielles des mandarines ont été analysées, mais nous n'avons pas relevé de références d'analyses antérieures propres aux cultivars de clémentine observés dans ce travail.

Nous avons considéré dans cette étude le groupe des clémentines, du point de vue systématique. Les huiles essentielles des feuilles ont été étudiées dans ce but, car elles sont taxonomiquement fiables et utiles pour l'identification des agrumes (12, 10), comme cela a été vérifié dans d'autres genres de Rutacées (11) et dans plusieurs autres groupes

* - Département de Citriculture, INIA - CRIDA 07 - Moncada (Valencia) Espagne.

botaniques (13). L'apparition de nouvelles mutations de clémentine d'intérêt commercial pendant les dernières décades, nous a amenés à la réalisation de ce travail pour vérifier si ces mutations peuvent être incluses dans le même groupe taxonomique.

MATERIEL ET METHODE

Pour cette étude, dix cultivars de clémentine sont choisis (tableau 1). L'époque de récolte est la plus importante caractéristique agronomique donnant lieu à la sélection et à la propagation de ces cultivars. Il y a également des différences morphologiques de taille ou de forme des feuilles, de couleur de l'écorce, etc., dans quelques-unes des variétés du tableau 1.

'Monreal' est un ancien cultivar avec pépins. 'Fina' a fait son apparition à Nules (Espagne) ; sa période de récolte est d'environ 20 à 30 jours plus tardive. 'Oroval' est une variété de plus en plus cultivée donnant une bonne production.

Parmi les sélections plus récentes, on peut inclure des cultivars tels que 'Guillermina', actuellement la clémentine la plus précoce ; 'Tomatera', 'Arrufatina', 'Esbal', 'Hernandina' variété tardive provenant d'une mutation de rameau récemment apparue à Picasent (Espagne), et 'Clemenvilla' variété d'origine inconnue. De brèves descriptions de quelques-uns de ces cultivars se trouvent dans l'étude effectuée par JUAREZ et al. (9).

Pour l'extraction des huiles des feuilles, environ 200 g de feuilles saines à maturité physiologique, issues de la dernière pousse, sont utilisés ; le prélèvement est effectué tout autour de l'arbre à différentes hauteurs et emplacements. Pour l'échantillonnage on choisit dix arbres au hasard pour chaque répétition et cultivar à l'exception de 'Tomatera' et 'Monreal', dont les échantillons ont été prélevés sur le même arbre, puisqu'au moment de l'échantillonnage il n'y en avait pas d'autres répondant aux normes de prélèvement.

Quatre répétitions ont été faites en mars, juin, septembre et décembre 1979. Les échantillons ont été prélevés entre 9 et 11 heures du matin, afin d'éviter l'incidence de la variation diurne sur la composition de l'huile des feuilles (1, 8).

Les feuilles échantillonnées ont été gardées dans un coffre avec de la glace pour le transport et stockées dans une chambre froide jusqu'à la distillation faite dans un délai ne dépassant pas 48 heures.

Les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur Osterizer avec adjonction de 1 litre d'eau distillée. La distillation était faite par entraînement de vapeur avec un appareil Clevenger pendant 2 heures. L'huile obtenue a été chromatographiée immédiatement à l'aide d'un chromatographe gaz-liquide (CGL) Perkin Elmer 900 muni d'un détecteur d'ionisation de flamme.

Les paramètres de l'opération ont été les suivants : température de l'injecteur 200°C ; colonne avec température programmée de 60 à 180°C avec un accroissement de 3°C/mn. Le temps d'analyse pour chaque échantillon était de 40 minutes ; les colonnes d'acier inox, 2 m x 0.3 m (d.e.) remplies avec 3 p. 100 de SE 52 (silicone-méthyl phényl) sur Gaz Chrom Q de 80/100 mailles. Le gaz vecteur est l'azote, avec un flux de 50 ml/mn. Le volume d'échantillon injecté était de 0,2 µl. Les aires des pics ont été calculées avec un Minigrator Perkin Elmer, imprimant les données se rapportant à la composition de pourcent et temps pour chacun des échantillons.

L'identification des pics a été obtenue par la comparaison des temps de rétention, avec trois colonnes différentes, utilisant des standards purifiés qui ont été trouvés présents dans les huiles essentielles de feuilles d'autres agrumes.

L'analyse statistique a été obtenue à l'aide d'un ordinateur CDC CYBER Système 172 de la Section de Traitement de l'Information de l'I.N.I.A. au programme ES 124 pour la performance de l'Analyse de Composants principaux sur matrice de données, par colonne, d'après CAILLEZ et al. (6).

TABLEAU 1 - Cultivars de mandarine clémentine inclus dans cette étude.

Cultivar	Epoque de récolte	Localité	Abréviation
'Arrufatina'	octobre-novembre	Villarreal	ARR
'Clemenules'	novembre-décembre	Villarreal	CLE
'Clemenvilla'	décembre-février	Villalonga	CVI
'Esbal'	octobre-novembre	Almenara	ESB
'Fina'	novembre-décembre	Almenara	FIA
'Fina'	novembre-décembre	Picasent	FIP
'Fina'	novembre-décembre	Villarreal	FIV
'Guillermina'	octobre-novembre	Almenara	GUI
'Hernandina'	janvier-février	Picasent	HER
'Monreal'	novembre-décembre	Picasent	MON
'Oroval'	octobre-novembre	Picasent	ORO
'Tomatera'	octobre-novembre	Villarreal	TOM

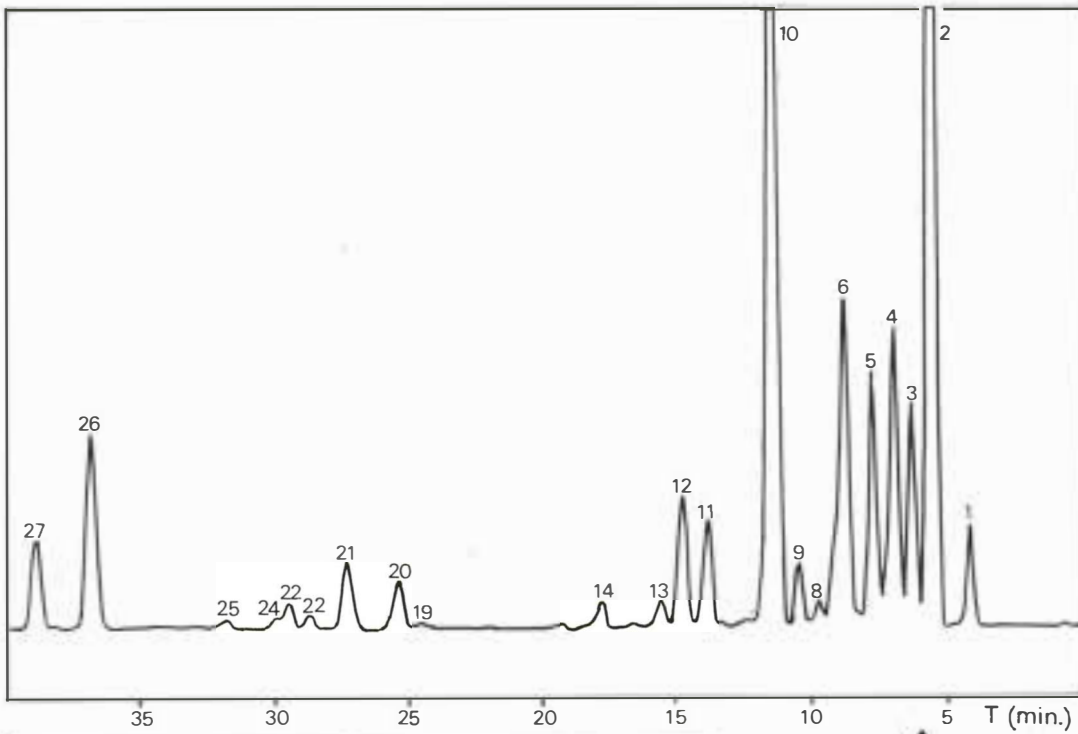


Figure 1 - Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles de mandarine clémentine 'Fina'.

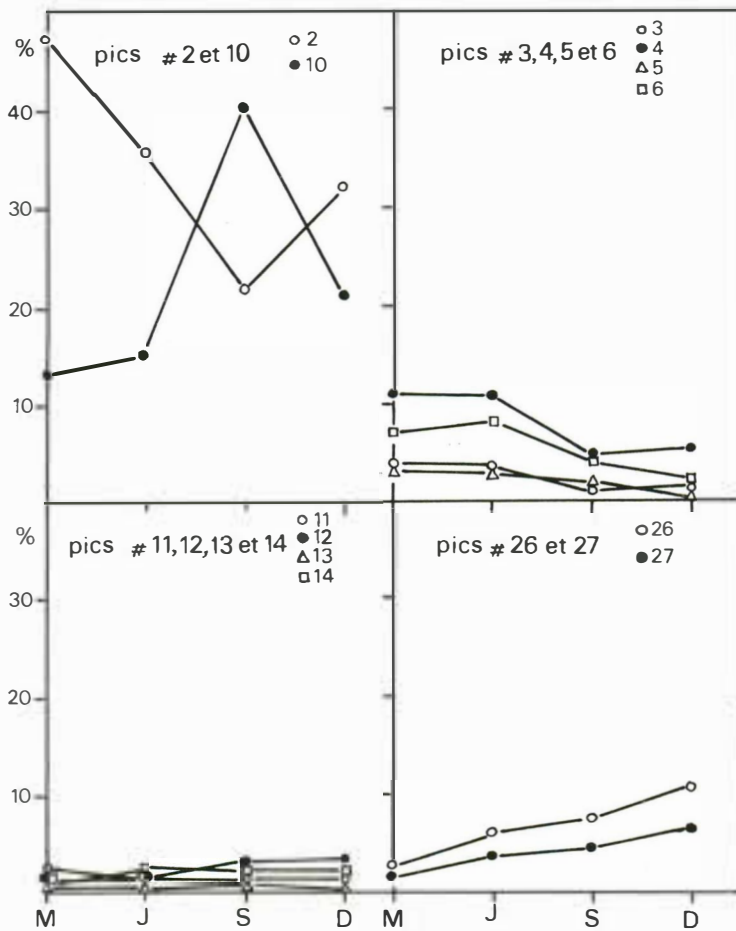


Figure 2 - Variation saisonnière des principaux constituants de l'huile essentielle des feuilles de mandarine clémentine 'Fina'.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les cultivars cités dans cette étude se rapportent à la description générale de la clémentine (SWINGLE, 14), bien que des différences morphologiques et physiologiques aient été observées chez quelques-uns d'entre eux. L'époque de récolte varie, comme on peut le voir au tableau 1.

'Guillermina' peut se récolter vers le milieu d'octobre et 'Hernandina' vers la fin du mois de février ; les cultivars restant ont des époques de récolte comprises entre ces deux dernières. 'Hernandina' se caractérise par ses feuilles plus grandes et plus foncées, branches brun foncé et fleurs rigides avec pétales plus épais et de moindre diamètre. 'Tomatera' doit son nom à sa couleur rougeâtre intense pendant la maturité, 'Monreal' est une variété avec pépins, 'Clemenvilla' donne un fruit de forte consistance qui le rend avantageux pour le transport et le stockage.

Des différences de moindre importance peuvent être observées pour le reste des cultivars.

La composition des huiles essentielles des feuilles est semblable dans tous les cas. La figure 1 montre le chromatogramme d'huile essentielle de feuilles de clémentine 'Fina'.

Le profil chromatographique des pics donne le modèle obtenu d'après les autres cultivars avec quelques différences qui seront examinées ci-après.

La composition de l'huile essentielle a une variation saisonnière quantitative mais non qualitative. La figure 2 montre la variation des pics principaux pour le cultivar 'Fina'. Les pics, 26, 27, 4 et 6 se trouvent dans une situation intermédiaire, tandis que les autres sont assez stables au long de l'année.

Le tableau 2 récapitule la composition des huiles essentielles des feuilles. Chacun des chiffres représente la moyenne de 4 échantillonnages saisonniers par cultivar. Ces moyennes ont été calculées afin d'éviter l'incidence de la variation saisonnière sur les quantités pour chaque pic.

TABLEAU 2 - Pourcentages des constituants de l'huile essentielle des feuilles de cultivars de Clémentine.

identification des pics	numéro de pic	Cultivars (*)											
		ARR	CLE	CVI	ESB	FIA	FIP	FIV	GUI	HER	MON	ORO	TOM
α - pinène	1	0,70	1,34	0,69	0,79	0,85	1,11	1,28	1,40	1,18	0,83	0,74	0,69
	2	23,76	33,71	19,17	26,57	21,80	34,07	34,23	43,83	34,49	27,73	23,34	25,79
β - myrcène	3	1,93	2,90	2,19	2,25	2,19	2,87	2,98	3,17	2,73	2,44	1,96	2,64
	4	5,14	6,75	4,83	5,46	5,17	5,97	7,82	3,26	5,10	4,36	3,37	5,47
+ limonène	5	4,67	2,13	3,68	2,29	1,99	3,39	2,51	2,60	3,19	2,65	2,33	2,23
	6	3,64	5,08	8,29	4,85	4,62	5,51	6,06	2,87	3,39	5,41	4,76	5,90
-	7	-	0,65	-	-	0,74	0,12	-	0,98	0,72	-	-	-
-	8	0,22	0,15	0,07	0,18	0,17	0,21	0,20	0,40	0,11	0,13	0,23	0,17
-	9	0,99	1,08	0,94	1,02	1,00	0,89	1,10	0,71	0,89	0,87	0,73	1,12
linalol	10	26,17	19,69	16,69	27,13	25,14	24,34	22,40	20,66	23,25	22,88	23,64	25,60
citronellal	11	6,67	2,18	3,13	2,88	1,91	1,60	1,69	0,93	0,87	2,08	0,96	3,77
	12	1,70	4,18	2,36	3,07	4,26	3,30	2,27	5,60	4,27	3,15	4,09	3,29
-	13	1,04	0,87	0,41	0,87	0,96	0,75	0,66	1,05	0,88	0,57	0,79	0,91
citronellol	14	7,78	2,48	3,95	2,70	2,38	1,49	1,62	1,20	1,23	0,73	0,70	4,01
	15	1,23	0,19	0,44	0,05	0,06	-	0,05	0,06	-	0,04	-	0,36
-	16	1,90	0,45	0,41	0,09	0,03	-	-	0,08	-	0,36	-	0,67
-	17	-	-	0,57	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	18	-	-	0,22	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	19	2,47	0,61	3,85	0,54	0,78	0,47	0,29	0,15	0,31	0,24	0,64	0,95
-	20	0,87	0,94	1,07	0,99	1,07	1,32	1,09	0,60	0,98	1,53	2,34	1,27
-	21	0,99	1,12	1,31	1,66	2,15	1,62	1,30	0,88	1,52	2,10	3,33	1,43
-	22	0,42	0,22	2,86	0,26	0,37	0,26	0,23	0,17	0,20	0,53	1,14	0,28
-	23	0,28	0,34	0,44	0,64	1,05	0,42	0,32	0,20	0,38	1,60	1,85	0,48
-	24	0,12	-	0,29	0,14	0,43	-	-	-	-	0,27	-	-
-	25	0,09	0,23	2,18	0,28	0,46	0,21	0,22	0,08	0,31	0,43	0,71	0,19
-	26	4,33	7,10	11,50	9,04	12,31	6,04	6,80	4,90	8,33	10,11	13,57	7,47
-	27	1,94	5,15	6,23	5,62	6,75	3,19	3,97	2,95	5,01	8,14	8,06	3,89
	3+ 4+ 5+ 6	15,38	16,85	18,99	14,85	13,97	17,64	19,37	11,90	14,41	14,86	12,42	16,24
	2+ 10	49,93	53,40	35,86	53,70	46,94	58,41	56,63	64,49	57,74	50,61	46,98	51,39

* - identification des cultivars dans le tableau 1.

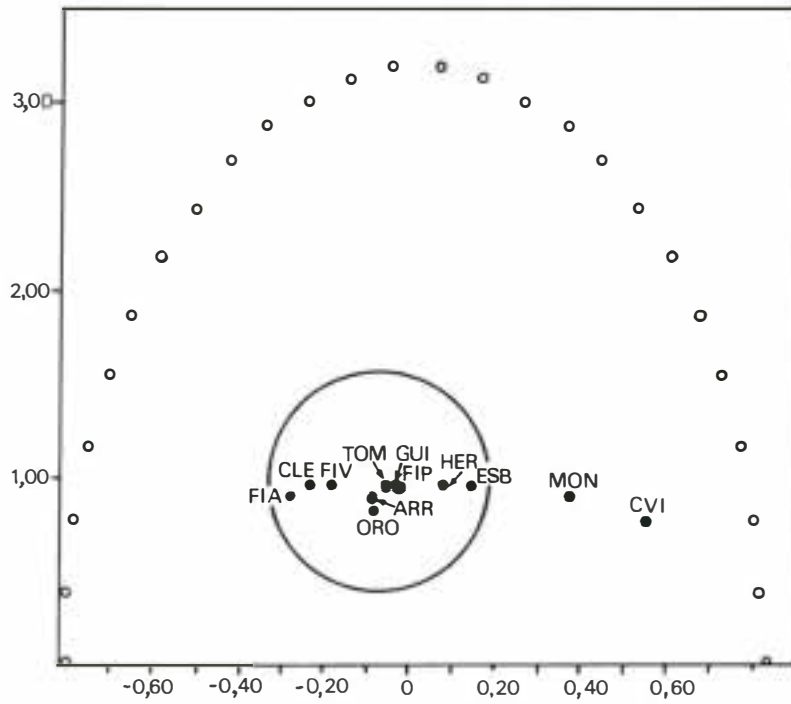


Figure 3 - Groupement statistique des cultivars de mandarine clémentine (voir tableau 1 pour l'abréviation).

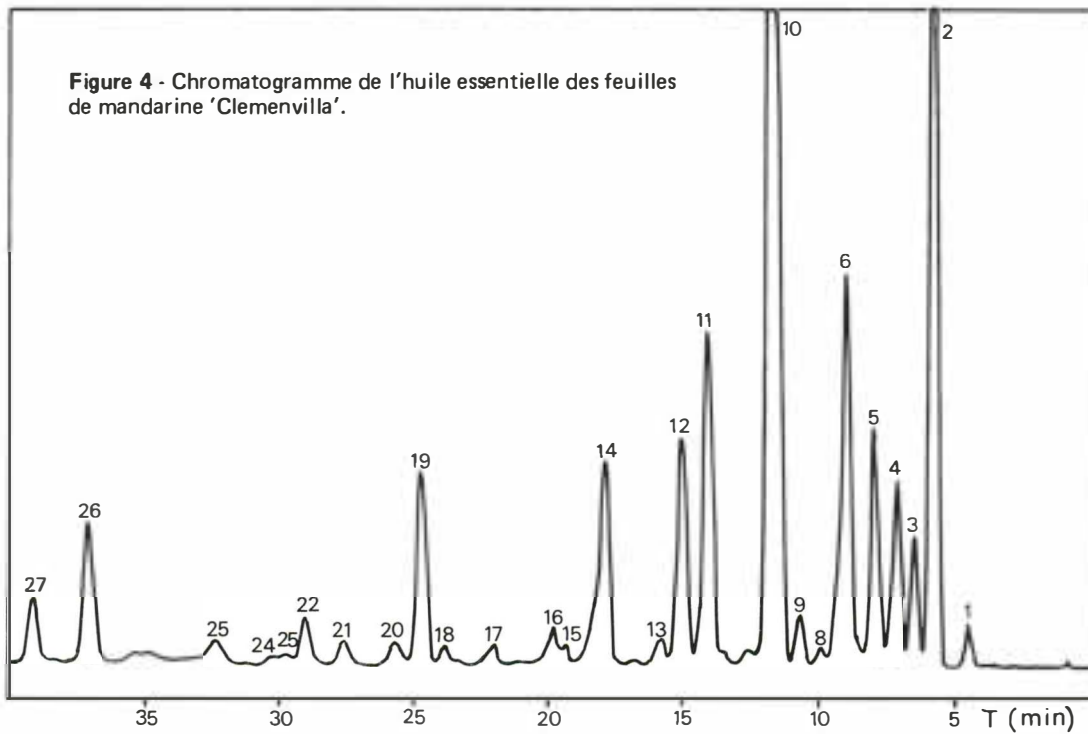


Figure 4 - Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles de mandarine 'Clemenvilla'.

En analysant le tableau 2, on peut constater que les pics 2 et 10 sont les principaux composants de l'huile. Réunis, ils représentent près de 50 p. 100 ou plus, excepté le cas de 'Clemenvilla' pour lequel ce chiffre atteignait seulement 35,8 p. 100. Les pics 26 et 27 sont typiques des clémentines lorsqu'on les compare à des analyses d'autres groupes de mandarines. Le pic 26 varie entre 4 et 13 p. 100 approximativement, et le pic 27 entre 2 et 8 p. 100. Les pics 3, 4, 5 et 6 ont une aire assez semblable, entre 2 et 8 p. 100 pour chacun d'eux ; ils sont également intéressants pour caractériser le groupe. La zone entre les pics 19 et 25 est moins importante, environ 6 p. 100 de la composition totale de l'huile. Le pic 1 a une bonne stabilité, entre 0,7 et 1,4 p. 100.

Les différences de sol et de climat semblent jouer un rôle peu important dans cette étude, bien que les cultivars ne se trouvaient pas dans les mêmes conditions. Cependant 'Fina' a été utilisé comme témoin ; il a été échantillonné dans trois localités (tableau 1) comprenant les zones géographiques sur lesquelles l'étude a été réalisée. Le tableau 2 montre qu'il n'existe pas une grande variation pour un même cultivar en diverses localités, comme l'indique les colonnes FIA, FIP et FIV représentant le cultivar 'Fina' à Almenara, Picasent et Villareal, respectivement.

Les pics 1, 3, 5, 10, 11 et 14 ont été identifiés par la méthode indiquée plus haut. Leurs composants sont présentés dans la colonne de gauche du tableau 2.

La figure 3 est une représentation graphique bidimensionnelle des résultats de l'Analyse des Composants principaux. La proximité entre les cultivars englobés dans le cercle représenté (pour la plupart, ceux étudiés) dénote leur importante corrélation.

'Monreal' est légèrement éloignée de ce groupe, ce qui peut être lié à l'origine de cette variété : une «vieille lignée»

avec pépins, à partir de laquelle quelques autres cultivars plus récents proviennent, par mutation gemmaire ou de rameaux. 'Clemenvilla' n'est pas incluse dans ce groupe non plus. Cet éloignement des autres cultivars dénote une moindre corrélation.

'Clemenvilla' possède ainsi quelques caractères morphologiques et physiologiques, comme la couleur de l'écorce, la fermeté du fruit et l'époque de maturité, qui la rendent un peu différente des autres cultivars. Son chromatogramme montre (figure 4) des différences quantitatives comparative-ment aux autres. Une possibilité d'expliquer ces différences serait l'origine hybride de ce cultivar, quoique nous n'ayons pas de précision à ce sujet. Des études plus approfondies seraient nécessaires pour confirmer cette théorie.

Ce travail permet de démontrer que les huiles essentielles des feuilles du clémentinier ont un modèle chromatographique général qui, dans ses grandes lignes, correspond à celui de la figure 1 (sauf pour 'Clemenvilla'). L'analyse des huiles essentielles des feuilles des différents cultivars de clémentine ne permet pas de les distinguer entre eux puisque la variation saisonnière pour un même cultivar est parfois supérieure à la variabilité entre deux cultivars différents. Par contre, la composition de l'huile des feuilles paraît être un bon critère pour inclure un cultivar dans le groupe lorsque l'analyse rapporte un profil en correspondance avec le modèle de la figure 1, à condition que les caractères morphologiques amènent à la même conclusion.

Nous pouvons conclure que tous les cultivars étudiés se trouvent étroitement liés, excepté 'Clemenvilla', et doivent être considérés comme variétés de la même espèce, *C. clementina* HORT. ex TANAKA.

Quant à 'Clemenvilla', les différences qu'il représente nous font supposer qu'il n'appartient pas à cette même espèce, mais serait plutôt un hybride d'origine inconnue.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS (R.P.) et HAGERMAN (A.). 1977.
Diurnal variation in the volatile terpenoids of *Juniperus scopulorum* (Cupressaceae).
Amer. J. Bot., 64 (3), p. 278-285.
- BENK (E.) et SEIBOLD (H.). 1966.
Zum Nachweis eines Zusatzes von Mandarinen und Tangerinenäften zu Orangesaft.
Dtsch. Lebensmittel Rdsch., 62, p. 396.
- BLONDEL (L.). 1969.
La sélection clonale du clémentinier.
C.R. de la Réunion de la Comm. Agrotech. du C.A.Z.F. Agadir, Maroc, Fev. 1969, p. 58-64.
- BONO (R.). 1978.
Nuevas variedades.
Levante Agrícola, 12, p. 35-37.
- BONO (R.) et FERNANDEZ DE CORDOVA (L.). 1978
Características del fruto y de la planta de la 'Clementina Hermantina'.
Anales I.N.I.A., S. Prod. Vegetal, 8, p. 129-139.
- CAILLETZ (F.), MAILLES (J.F.), NAKACHE (J.P.) et PAGES (J.P.). 1971.
en : Analyse des données multidimensionnelles.
Centre d'Etudes économiques d'Entreprises, Paris.
- CHAPOT (H.). 1963.
La clémentine.
Al Awamia (Rabat), 7, p. 1-34.
- HOPFINGER (J.A.). 1975.
Diurnal fluctuation of mono and sesquiterpenes of 'Valencia' orange [*Citrus sinensis* (L.) OSBECK] leaf oils.
Thesis, June 1975. Plant Science. Univ. of California.
- JUAREZ (J.), NAVARRO (L.) et GUARDIOLA (J.L.). 1976.
Obtention de plantes nucellaires de divers cultivars de clémentiniers au moyen de la culture de nucelles 'in vitro'.
Fruits, 31 (12), p. 751-762.
- PIERINGER (A.), EDWARDS (C.J.) et WOLFORD (R.W.). 1964.
The identification of citrus species and varieties by instrumental analysis of citrus leaf oils.
Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 84, p. 204-212.
- SCORA (R.W.), DUESCH (G.) et ENGLAND (A.B.). 1969.
Essential leaf oils in representatives of the Aurantioideae (*Rutaceae*).
Amer. J. Bot., 56 (9), p. 1094-1102.

12. SCORA (R.W.), ENGLAND (A.B.) et CHANG (D.). 1969.
Taxonomic affinities within the Rough lemon group (*Citrus jambhiri* LUSH.) as aided by gas chromatography of their essential leaf oils.
Proc. 1st. Int. Citrus Symp., 1, p. 441-450.
13. SMITH (P.N.). 1976.
En : The Chemotaxonomy of Plant.
Arnold Ed., p. 119-127.
14. SWINGLE (W.T.). 1943.
The botany of *Citrus* and its relatives of the orange subfamily.
En : *Webber. H.J., and L.D. Batchelor (eds.)*
The Citrus Industry, 1, p. 129-474. *University of Calif. Press, Berkeley and Los Angeles.*
15. TANAKA (T.). 1954.
Species problem in *Citrus* (Revisio aurantiacearum IX).
Jap. Soc. Prom. Sci. Ueno, Tokyo, p. 152.
16. TRABUT (L.). 1926.
La Clémentine, les hybrides du *Citrus nobilis*.
Dir. Agr. Bot. (Algeria), Bul. 67.
17. ZAMORANI (A.), RUSSO (C.), LANZA (C.M.) et CATALDI (M.C.). 1973.
Ricerche sulle sostanze azotate degli agrumi. Nota III. Gli amminoacidi liberi nel succo di clementine.
Essenze Derivati Agrumari, p. 217-235.




E. E. AZOULAY & C°

tous les fruits
exotiques

2. rue des Tropiques
E 108-94538 RUNGIS Cedex
tél. 687.25.40 · télex · 270079