

Article de recherche

Reçu: 07 Décembre 2020/Accepté: 30 Décembre 2020

Évolution saisonnière des terpènes de l'écorce et des aiguilles chez le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.)

S. Moutchou^{*1}, Y. Badjah-Hadj-Ahmed², M. Khemici¹, F. Aïd³

¹ Institut National de la Recherche Forestière - (INRF) B.P. 37 Chéraga, Alger, Algérie

² Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-chimique (CRAPC) B.P. 248 El Alia, BabEzzouar, Alger, Algérie

³ Laboratoire de Physiologie Végétale (LPBO), Faculté des Sciences Biologiques- USTHB. B.P. 32 El Alia, BabEzzouar, Alger, Algérie

* Auteur correspondant : moutchouaida@yahoo.fr

ملخص

تهدف هذه المقالة إلى دراسة الاختلاف الموسمي للتربينات القشرية والأوراق في الصنوبر. أظهرت النتائج أنه في فصل الشتاء، يمثل مجموع أحادي التربين و سيسكويتربينيس 70% والألكانات 25% والإسترات 3.7%. في الربيع، تشكل المونوتربين و سيسكويتربينيس 76% من الإجمالي والإسترات 3%. في الصيف يكون جزء أحادي و سيسكويتربينيس 80% والإسترات 19%، بينما في الخريف 91% من المكونات أحادية و سيسكويتربينيس. في اللحاء، تشكل أحادي و سيسكويتربينيس الجزء الأكبر من البنزين. تمثل 78% في الشتاء و 96.6% في الربيع و 96.4% في الصيف و 100% في الخريف. توجد الإسترات فقط في فصل الشتاء بمعدل 16%. في كل من الأنسجة، يعتبر ترانس بيتاكاريوهيلين و ألفا هومولين هما المركبان الرئيسيان في فئة سيسكويتربينيس ويتم اكتشافهما على مدار العام. بالنسبة لفئة مونوتربينيس، تم العثور على α -بينيني و سابينيني في اللحاء بمستويات كبيرة تختلف على مدار العام. في الإبر، يوجد نوعان من مونوتربينيس في جميع الفصول (α -بينيني و β -بينيني). أربعة موجودة فقط في مواسم معينة (الكامفين والليمونين والأوكالينتول في الخريف والشتاء والسابينين في الصيف).

الكلمات المفتاحية: كروماتوغرافيا الغاز، مطحنة الصنوبر، ملامح تربين، التباين الموسمي.

summary

This article aims to study the seasonal variation of cortical and leaf terpenes of *Pinus halepensis* Mill. The results show that in winter, the sum of monoterpenes and sesquiterpenes represents 70%, alkanes 25% and esters 3.7%. In spring, monoterpenes and sesquiterpenes constitute 76% of the total and esters 3%. In summer the mono- and sesquiterpene fraction is 80% and the esters 19%, while in autumn 91% of the constituents are mono and sesquiterpenes. In the bark, the mono- and sesquiterpenes constitute the majority fraction of the gasoline. They represent 78% in winter, 96.6% in spring, 96.4% in summer and 100% in autumn. Esters are present only in winter at a rate of 16%. In both tissues *trans*- β -caryophyllene and α -humulene are the major compounds in the sesquiterpene class and are detected throughout the year. For the monoterpene class, α -pinene and sabinene are found in the bark with significant levels varying over the year. In needles, two monoterpenes are present in all seasons (α -pinene and β -pinene). Four are present only in certain seasons (camphene, limonene and eucalyptol in fall and winter and sabinene in summer).

Keywords: gas chromatography, *Pinus halepensis* Mill., Terpene profiles, seasonal variability.

Résumé

Cet article se propose d'étudier la variation saisonnière des terpènes corticaux et foliaires de *Pinus halepensis* Mill. Les résultats montrent qu'en hiver, la somme des monoterpènes et des sesquiterpènes représente 70%, les alcanes 25% et les esters 3,7%. Au printemps, les monoterpènes et les sesquiterpènes constituent 76% du total et les esters 3%. En été la fraction mono- et sesquiterpénique est de 80% et les esters de 19%, alors qu'en automne 91% des constituants sont des mono et sesquiterpènes. Dans l'écorce, les mono- et les sesquiterpènes constituent la fraction majoritaire de l'essence. Ils représentent 78% en hiver, 96,6% au printemps, 96,4% en été et 100% en automne. Les esters sont présents uniquement en hiver à un taux de 16%. Dans les deux tissus le *trans*- β -caryophyllène et l' α -humulène sont les composés majoritaires dans la classe des sesquiterpènes et sont détectés toute l'année. Pour la classe des monoterpènes, on retrouve l' α -pinène et le sabinène dans l'écorce avec des taux importants variant au cours de l'année. Dans les aiguilles, deux monoterpènes sont présents en toutes saisons (l' α -pinène et le β -pinène). Quatre sont présents seulement en certaines saisons (le camphène, le limonène et l'eucalyptol en automne et en hiver et le sabinène en été).

Mots-clés : chromatographie en phase gazeuse, *P. halepensis* Mill., profils terpéniques, variabilité saisonnière.

1. Introduction

Les terpènes sont des hydrocarbures insaturés, fréquents chez les conifères. Ils dérivent tous de l'isoprène, unité fondamentale de formule C_5H_8 . Les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) et les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$) constituent les fractions les plus volatiles de ces essences (Kesselmmeir et Staudt, 1999 ; Lerdeau et Gray, 2003) alors que les diterpènes ($C_{20}H_{34}$) représentent les composés les plus stables (Fady, 1990). Chez le pin d'Alep, *Pinus halepensis*, les structures associées à cette activité sont les cellules épithéliales entourant les canaux résinifères des aiguilles, du cortex primaire et des tissus conducteurs (bois et phloème) (Benayoun et Ikan, 1980 ; Baradat et al. 1995). La production des terpènes est liée à deux compartiments cellulaires : le chloroplaste et le cytosol (Wanke et al. 2001 ; Clomburga et al. 2019). La synthèse des monoterpènes, des diterpènes et des caroténoïdes est photodépendante, elle a lieu dans les chloroplastes, selon la voie 1-désoxy-D-xylulose-5-phosphate (DOXP) (Eisenreich et al. 2001).

D'autre part, les sesquiterpènes sont synthétisés dans le compartiment cytosol/réticulum endoplasmique, lieu de formation du farnesylpyrophosphate (FPP), sesquiterpène obtenu par condensation du géranylpyrophosphate (GPP) et l'isopentenylpyrophosphate (IPP) en présence d'une prényltransférase (Lichtenthaler, 1999), selon la voie classique du mévalonate (Mahmoud et Croteau, 2001).

Les terpènes sont des marqueurs à déterminisme génétiques, ils permettent de déceler les différences intra (Fady, 1990). Les teneurs en monoterpènes dans les organes adultes sont sous contrôle génétique (Baradat et al. 1991 in Baradat et al. 1995) et peuvent varier selon les facteurs biotiques et abiotiques (Llusia et Penuelas, 1998 ; 1999 ; Langenheim, 1994 ; Niinemets et al. 2002). Les principaux facteurs abiotiques sont la température (Tingey et al. 1980 ; Penuelas et Llusia., 1999 a), la lumière (Penuelas et Llusia., 1999 b) ainsi que la disponibilité en eau (Penuelas et Llusia, 1997). La composition terpénique peut varier selon l'espèce (Roussis et al. 1995, 2000 ; Adams, 2000 ; Krause-Baranowska et al. 2002), le lieu de prélèvement sur l'individu, (Yani, 1989 ; Fady, 1990 ; Staudt et al. 2000 ; Holubova et al. 2001 ; Michelozzi, 2008),

l'âge des tissus (Baradat et Marpeau-Bézar, 1988 ; Nault, 2003), ou du substrat (Turtola et al. 2002). L'étude de la variation saisonnière de l'émission des terpènes volatils et semi-volatils a montré la présence d'un taux particulièrement élevé en période chaude (Porter et al. 1998 ; Nault, 2003 ; Staudt et al. 2002 ; Michelozzi, 2008). Dans des conditions de stress hydrique, les stomates se ferment et le taux de terpènes augmente dans l'espace intercellulaire empêchant l'évaporation de l'eau (Yani et al. 1993), alors que l'élévation de la température favorise le phénomène d'émission (Llusia et al. 2006).

Le pin d'Alep est une espèce méditerranéenne. Il prospère dans des conditions climatiques caractérisées par un été chaud et long coïncidant avec de faibles précipitations, une température élevée et une forte luminosité (Nahal, 1986). Il présente une variabilité morphologique sur toute son aire de répartition (Kadik, 1987). De nombreuses études sur l'huile essentielle extraite des aiguilles ont mis en évidence des chémotypes (Dob et al. 2005 ; 2007 ; Abi-Ayad et al. 2011). Pour mieux comprendre cette différence nous nous sommes intéressés dans une première approche à l'effet de la saison sur les proportions relatives (exprimées en %) des terpènes dans les tissus foliaires et corticaux. Les résultats de cette recherche fourniront des informations sur la composition qualitative et quantitative des extraits foliaires et corticaux et l'organe le plus stable vis-à-vis des fluctuations environnementales en vue d'études de chimiotaxonomie.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

Les échantillons de tissus, aiguilles et cortex (écorce+ liber) proviennent de la forêt naturelle de Bouchaoui située dans l'étage bioclimatique subhumide, à une altitude de 115 mètres. Les prélèvements ont été effectués en quatre campagnes et ce, à raison d'une récolte par saison, sur des rameaux latéraux de l'année, aoûtés et situés sur le tiers supérieur de l'arbre. La population de pin d'Alep comporte des sujets adultes d'âges différents, mais suffisamment éloignés du stade juvénile pour que

la teneur relative en terpènes soit stabilisée (Baradat et al. 1972).

Pour chaque peuplement, nous avons constitué un échantillon moyen issu d'un mélange en quantité égale de tissus (prélevés sur un rameau/arbre) provenant de 30 individus différents. La récolte a été effectuée sur des arbres sains, ne présentant pas des coulées de résine ou de piqûres d'insectes. Les rameaux prélevés ont été placés dans des sacs en plastique hermétiquement clos et conservés au froid (+ 2° C).

2.2 Extraction et dosage

Après élimination des aiguilles, les tissus corticaux (écorce + liber) ont été broyés, pesés et mis à macérer séparément dans du pentane. Ce solvant permet d'obtenir un extrait brut renfermant de nombreux composés, dont les hydrocarbures terpéniques en C₁₀ et C₁₅, mais aussi des terpènes oxygénés, des lipides, des stérols, des alcanes et des pigments. Ces derniers constituants pouvant interférer avec l'analyse en chromatographie phase gazeuse ou nuire à leur sensibilité, un pré-fractionnement a été réalisé.

La séparation des hydrocarbures terpéniques du reste de la fraction dissoute a été réalisée en plaçant l'extrait pentanique sur une colonne chromatographique en verre (longueur : 20 cm. diamètre : 1cm.) remplie de gel de silice 60 (Merck 70-230 mesh). L'élution des hydrocarbures a été obtenue par percolation du mélange pentane-éther diéthylique ; l'éluat a été ensuite concentré sous courant d'azote.

L'analyse des extraits a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gaz de type HP 6890 Hewlett Packard muni d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne capillaire utilisée est une colonne apolaire HP 5 MS (5% de diphényle, 95% de diméthylpolysiloxane), de 30 mètres de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25µm d'épaisseur de film. Le gaz vecteur est l'azote (débit de 0,62 ml/mn). L'analyse chromatographique a été effectuée selon un gradient de température allant de 60°C jusqu'à 280°C à raison de 2°C/mn. Une série d'alcanes consécutifs (C₅ à C₂₈) a été injectée dans les mêmes conditions, pour déterminer les indices de rétention selon l'équation de Van den Dool et Cratz (1963). La teneur de chaque constituant dans l'essence totale (hydrocarbures monoterpéniques, sesquiterpéniques et diterpéniques) a été calculée

par intégration automatique de la surface des pics sur les chromatogrammes et exprimée en pourcentage.

Tous les constituants des essences ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention et de leurs spectres de masse avec les spectres de référence publiés dans les principales bases de données connues (NIST, 1999. Terpene Library of Finningan). L'appareil utilisé était un chromatographe gazeux de type Hewlett Packard 6890 équipé d'un détecteur à spectrométrie de masse MSD 5973 avec ionisation par impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70eV. La colonne utilisée était du type HP 5 MS de 30 mètres de longueur, 0,25mm de diamètre et 0,25µm d'épaisseur de film. Le débit du gaz vecteur (hélium) était de 0,5mL/mn et la température de l'injecteur de 250° C.

3. Résultats

3.1 Évolution saisonnière des terpènes de l'écorce

Les terpènes corticaux s'individualisent en 7 familles de composés terpenoidiques. Les monoterpènes et les sesquiterpènes représentent les principales fractions. Les autres composés sont représentés par les esters, cétones hydrocarbures et diterpènes en moindre proportions voire à l'état de traces.

Le taux des monoterpènes augmente depuis l'hiver (2,4 %) jusqu'à l'été, pour atteindre 70%, ce taux diminue légèrement en automne. À l'inverse, le taux de sesquiterpènes est au maximum en hiver (74%) puis diminue progressivement en été (69 %) pour atteindre un minimum de 30% en automne. Nous constatons la présence d'esters en hiver avec un pourcentage de 18%. Les autres saisons les esters sont à l'état de traces (Tableau 1).

Dans l'essence de l'écorce de pin, deux monoterpènes sont majoritaires : l'α-pinène et le β-myrcène

L'α-pinène est rencontré avec un taux légèrement élevé au printemps (19%), il diminue de moitié en été (10%) et augmente en automne jusqu'à atteindre 17% de l'essence totale. En hiver il n'existe qu'à l'état de traces.

Le β-myrcène est à l'état de trace en hiver, démarre son accumulation au printemps (2%) ; il est très abondant (53%) en été, puis diminue progressivement en automne (43%).

Parmi les sesquiterpènes, le trans β-

Tableau 1. Composition en terpénoides des tissus corticaux exprimée en % selon les saisons. L'extraction a été réalisée sur un échantillon moyen de 30 arbres issus de la forêt de Bouchaoui (*tr: trace).

Famille chimique	Composés	Hiver	Printemps	Été	Automne
MONOTERPÈNES	Tricyclène	0,54	-	-	-
	α-pinène	-	19,24	9,98	17,45
	α-pinène	-	0,38	0,21	0,24
	Camphène	1,09	tr*	-	-
	Sabinène	0,13	-	1,07	0,12
	β-myrcène	0,16	1,92	53,69	43,36
	α-phellandrène	-	3,85	2,72	-
	δ-3-carène	0,25	tr*	2,47	3,74
	Limonène+eucalyptol	0,23	1,92	-	-
	β-phellandrène	-	tr*	-	1,05
	γ-terpinène	-	tr*	-	0,14
	α-terpinolène	-	-	0,44	-
	Totale	2,4	27,31	70,58	66,1
SESQUITERPÈNES	α-copaène	0,25	0,57	0,24	0,33
	β-bourbonène/ α-élémane	-	-	0,26	-
	Trans β-Caryophyllène	58,28	58,69	21,47	24,66
	α-gurjunène	0,21	-	-	-
	α-guaiène	-	-	0,21	-
	α-humulène	11	10	3,58	4,22
	β-farnésène	0,14	tr*	-	0,52
	caryophyllène 9 épi	0,23	tr*	-	0,15
	γ-murolène	0,24	0,38	-	0,23
	Germacrène D	1,09	tr*	-	tr*
	β-sélinène	1,67	-	0,15	0,42
	α-farnésène	0,12	tr*	-	-
	γ-cadinène	1,09	tr	-	0,14
	Totale	74,32	69,64	25,91	30,67
ESTERS	Benzaldehyde	2,19	tr*	-	-
	Citronellylformate	0,17	-	0,32	-
	Bornylacétate	0,21	0,38	-	-
	Menthylacétate	0,21	0,38	-	-
	Geranyl formate	-	-	0,32	-
	Nerylacétate	0,27	tr*	-	-
	Geranyl acétate	0,43	-	-	-
	Phenylethylisovalérate	14,76	tr*	0,64	0,52
	Totale	18,24	0,76	1,28	0,52
ALCOOLS	Linalool	-	-	-	0,24
	α-terpinéol	-	-	-	0,31
	Abiétol néo	0,35	tr*	1,07	0,51
	Totale	0,35	tr*	1,07	1,06
CÉTONES	Fenchone+α-terpinolène	0,23	-	-	1,95
HYDROCARBURE SATURÉS	Nonane	1,56	tr*	tr*	tr*
	Decane	1,09	-	-	-
	Totale	2,65	tr*	tr*	tr*
DITERPÈNES	Néocembrene	1,67	1,92	1,07	-

caryophyllène et l' α -humulène sont majoritaires et ils sont détectés toute l'année. Le trans β -caryophyllène a des taux pratiquement stables et similaires (58%) en hiver et au printemps, puis il diminue pour se stabiliser à 24 % en été et en automne. L' α -humulène suit le même mode d'évolution. Il est de 10% en hiver et au printemps, son pourcentage diminue pour atteindre 3% à 4% en automne et en été.

Parmi les esters, le phényléthylisovalérate est présent en hiver avec un taux de 18%. Durant les autres saisons, il est faiblement représenté. Les autres familles de terpénoides ont des proportions assez faibles avec une présence saisonnière hétérogène notamment en ce qui concerne les cétones et les hydrocarbures (Tableau 1).

3.2. Évolution saisonnière des terpènes des aiguilles

Les aiguilles de pin contiennent 8 classes de composés. Il s'agit des monoterpènes, sesquiterpènes, esters, alcanes alcools, cétones, éthers-oxydes, hydrocarbures et diterpènes (Tableau 2). Le taux de monoterpènes est maximal en été (74%), il diminue régulièrement en automne-hiver jusqu'à 38% pour atteindre un minimum de 21% au printemps. Les sesquiterpènes sont présents à un taux de 22% en hiver; leur proportion augmente en période de floraison (56%), puis elle diminue jusqu'à 7% en été et augmente de nouveau en automne (44%). Quant aux esters, ils sont présents en faible proportion de l'automne au printemps (7%) puis augmentent en été (19%). Les alcanes sont relativement abondants en hiver (25%).

Les cétones ont une proportion constante de l'automne à l'hiver (9%), diminue de moitié au printemps et disparaissent en été.

Les alcools, les éthers-oxydes et les diterpènes sont présents irrégulièrement durant toute l'année avec des taux plus ou moins faibles.

Au total 51 composés ont été identifiés (Tableau 2). Dans les aiguilles, 5 monoterpènes sont retrouvés. Ils sont présents toutes les saisons.

C'est le cas de l' α -pinène avec des taux très variables d'une saison à une autre : 21% en hiver, 2% au printemps, 7% en été : et 13% en automne. Le camphène est présent en hiver (15%) et en automne (5%). Le sabinène est mis en évidence dans l'essence uniquement en été (51%). Le limonène en mélange avec l'eucalyptol est absent en été, faible-

ment représenté de l'automne à l'hiver (1%) alors qu'au printemps il constitue 9% de l'essence totale. Le pinane est un hydrocarbure majoritaire en hiver (20%) alors qu'en automne il est de 3%. Les autres saisons, il est à l'état de trace. La fenchone en mélange avec l' α -terpinolène est présente à 9% de l'automne à l'hiver, à 2% au printemps. Elle est absente en été.

Le trans β -caryophyllène est un sesquiterpène prépondérant dans l'essence du pin d'Alep. Sa proportion est assez élevée par rapport aux autres constituants de l'essence. Elle varie d'une saison à une autre (17% en hiver, 36% au printemps, 2% en été et 35% en automne).

L' α -humulène est également un sesquiterpène qui est présent toute l'année (2% en hiver, 11% au printemps, 4% en été et 6% en automne).

Le phényléthylisovalérate est un ester retrouvé en hiver, au printemps et en automne à de faibles proportions (3 à 5%). Son maximum est observé en été (19%).

4. Discussion

Les terpènes foliaires ont fait l'objet de nombreuses études basées sur la technique d'hydrodistillation (Tazerouti et al. 1993 ; Dob et al. 2007 ; Abi-Ayad et al. 2011 ; Fekih et al. 2014). Alors que les travaux liés à la composition terpénique des extraits corticaux du pin d'Alep en Algérie sont rares. Une seule publication fait état de la composition terpénique des tissus corticaux (Baradat et al. 1995). Ces auteurs ont relevés 3 terpènes majoritaires identiques à ceux trouvés dans notre étude, à savoir l' α -pinene, β -myrcene, β -caryophyllene et l' α -humulene. Des différences sur le plan qualitatif mentionnant la notion d'écotype ont été signalées chez le pin d'Alep (Staudt et al. 2000). La saisonnalité terpénique des tissus foliaires et corticaux trouvée ici a été déjà démontrée par (Adams, 1970 ; Powel et Adams, 1973 ; Zafra et Garcia, 1976 ; Nerg et al. 1994 ; Nault, 2003 ; Arraiza et al. 2012 ; Saeb et Gholamrezaee, 2012 ; Rodrigues-Corrêa et Fett-Neto, 2013 ; Romon et al. 2017).

Les terpenes foliaires ont fait l'objet de nombreuses études basées sur la technique d'hydrodistillation (Tazerouti et al. 1993 ; Dob et al. 2007 ; Abi-Ayad et al. 2011 ; Fekih et al. 2014). Alors que les travaux liés à la composition terpénique des extraits corticaux du pin d'Alep en Algérie sont ra-

Tableau 2 (à suivre). Composition en terpénoides des tissus foliaires exprimée en % selon les saisons. L'extraction a été réalisée sur un échantillon moyen de 30 arbres issus de la forêt de Bouchaoui (*tr: trace).

Famille chimique	Composés	Hiver	Printemps	Été	Automne
MONOTERPÈNES	Tricyclène	-	-	-	0,77
	α -pinène	20,99	2,4	6,93	12,71
	Camphène	14,85	-	-	5,56
	Sabinène	tr*	-	51,25	-
	β -pinène	1,24	3,42	9,82	13,35
	α -phellandrène	tr*	-	tr*	1,11
	δ -3-carène	-	4	tr*	0,35
	Limonène+eucalyptol	0,68	9,6	-	1,55
	β -ocimène	-	0,76	-	1,89
	γ -terpinène	-	0,47	-	0,74
	4-carène	-	-	5,78	-
	β -phellandrène	-	0,71	-	-
	Total	37,76	21,36	73,78	38,03
SESQUITERPÈNES	δ -élémane	tr	0,26	-	-
	Ylangène		0,74		-
	α -copaène	0,62	0,71	-	-
	Trans β -Caryophyllène	17,1	36	2,5	35,61
	β -gurjunène	tr*	-	-	0,12
	α -guaïène	1,04	-	-	0,12
	α -humulène	2,66	10,8	4,43	6
	α -farnésène	tr*	0,35	-	tr*
	γ -muurolène	tr*	1,02	-	0,13
	Germacrène D	0,48	2,4	-	1,11
	β -sélinène	0,4	2,5	-	-
	β -farnésène	0,16	1	-	0,23
	γ -cadinène	-	-	-	-
	δ -cadinène	-	-	-	1,11
	Total	22,46	55,78	6,93	44,43
ALDEHYDES	Benzaldehyde	tr*	0,57	-	-
ESTERS	Benzyl alcool	0,33	2,4	-	tr*
	Acide acétique 2phenyl ester	-	0,47	-	-
	Citronellylformate	-	0,28	-	-
	Bornylacétate	-	0,5	-	-
	Phenylethylisovalérate	3,43	2,72	19,26	5
	Total	3,76	6,37	19,26	5
ALCOOLS	Linalool	0,52	2,87	-	-
	Terpin-4-ol	tr*	1	-	tr*
	Menthol	-	0,31	-	-
	α -terpinéol	-	0,47	-	-
	Spathulenol	-	-	-	0,44
	Guaïol	-	1	-	-
	Abiétolnéo	-	1	-	-
	Total	0,52	6,65	0	0,44

Tableau 2 (suite). Composition en terpénoides des tissus foliaires exprimée en % selon les saisons. L'extraction a été réalisée sur un échantillon moyen de 30 arbres issus de la forêt de Bouchaoui (*tr: trace).

Famille chimique	Composés	Hiver	Printemps	Été	Automne
CÉTONES	Fenchone+ α -terpinolène	9,35	2,63	-	9,34
	Camphor	-	1,43	-	tr*
	Menthone		1,22	-	-
	Total	9,35	5,28	0	9,34
ETHERS-OXIDES	Caryophyllèneoxide	0,65	-	-	-
	Humulène époxyde II	-	1	-	0,22
	Total	0,65	1	0	0,22
HYDROCARBURE SATURÉS	Trans-pinane	19,95	-	-	3,33
	Nonane	2,63	-	tr*	tr*
	Decane	2,29	-	tr*	tr*
	Total	24,87	0	0	3,33
DITERPÈNES	Cembrene	-	2,39	-	-
	Néocembrene	-	0,47	-	-
	Total	0	2,86	0	0

res. Une seule publication fait état de la composition terpénique des tissus corticaux (Baradat et al. 1995). Ces auteurs relèvent 3 terpènes majoritaires identiques à ceux trouvés dans notre étude, à savoir l' α -pinène, β -myrcène, β -caryophyllène et l' α -humulène.

En suivant l'évolution des terpènes majoritaires dans les tissus foliaires et corticaux du pin d'Alep en fonction des saisons (Tableau 3), on remarque une certaine hétérogénéité pour certains composés quant à la présence ou absence. Ce fait résulterait de l'action des facteurs physiologiques (protection contre le stress oxydatif, hydrique, thermique), effets écologiques (signaux attracteurs de pollinisation, dissuasifs herbivores) environnementaux (Turtola et al. 2002 ; Penuelas et Llusia, 2003 ; Angioni et al. 2006 ; Alessio et al. 2008).

Les hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques représentent leurs taux les plus élevés (80,21% et 87,86% respectivement) en saison d'automne qui correspond à la fin d'élongation de la pousse chez le pin d'Alep. (Powel et Adams, 1973) notèrent également une proportionnalité entre la synthèse des terpènes et la croissance chez *Juniperus scopulorum*. Lakusic et al. (2013) classèrent cette augmentation du taux terpénique en trois types d'huiles essentielles chez *Salvia officinalis*. L'huile essentielle des jeunes feuilles nommée ("yl-oils"), ("early-ol-oils") correspondent aux feuil-

les préadultes et ("late-ol-oils") pour les feuilles adultes.

Les différences trouvées pour l' α -pinène et β -myrcène entre les tissus foliaires et corticaux concordent avec ceux trouvés par (Michelozzi et al. 2008) sur les semis de pin d'Alep âgés d'une année en provenance d'Italie. Ces mêmes auteurs mentionnèrent également la présence de sabinène, δ -3-carène et β -pinène en quantités modérées.

Croteau et Sood, (1985) ; Bernard-Dagan et al. (1988) justifient le déclin monoterpénique après la période d'élongation (Sénescence), au catabolisme qui libèrent des composés oxygénés, acétylés et de l'énergie qui serviront d'intermédiaires dans la biosynthèse terpénique au printemps.

Dans le cortex, le β -caryophyllène et α -humulène présentent leur maximum au mois de février. Cette hausse de proportion serait liée à un rôle allélopathique (Robert et al. 2012). L'extrait cortical se différencie également par sa contenance en diterpénoides. Leurs taux est important en phase de croissance, le thunbergol représente 56,56% de l'extrait total en été. Zhao et al. 2011, montrèrent que la synthèse du thunbergol est induite *Picea abies* suite aux attaques d'IPS typophagus. De même (Buratti et al. 1990) trouvèrent un taux élevé en diterpènes oxygénés dans les aiguilles de *Pinus sylvestris* infestées par Diprionpini en saison chaude.

Tableau 3. Évolution des terpènes majoritaires dans les tissus foliaires et corticaux en fonction des saisons. (*tr: trace)

Composés	Écorce				Feuilles			
	Hiver	Printemps	Été	Automne	Hiver	Printemps	Été	Automne
α-pinène		19,24	9,98	17,45	20,99	2,4	6,93	12,71
Camphène					14,85			5,56
Trans-pinane					19,95			3,33
Sabinène					tr		51,25	
β-pinène					1,24	3,42	9,82	13,35
β-myrcène	0,16	1,92	53,69	43,36				
Limonène+eucalyptol	0,23	1,92	-	-	0,68	9,6	-	1,55
δ-3carène	0,25	tr	2,47	3,74	-	4	tr	0,35
4-carène							5,78	
Fenchone+α-terpinolène	0,23			1,95	9,35	2,63	-	9,34
Trans-β-,Caryophyllène	58,28	58,69	23,47	24,66	17,1	36	2,50	35,61
α-Humulène	11	10	3,58	4,22	2,66	10,8	4,43	6
Phenylethylisovalérate	14,76	0,76	0,64	0,52	3,43	2,72	19,26	5

L'échantillonnage effectué en été a coïncidé avec la période de dormance chez le pin d'Alep. Cette phase est propice au développement des insectes et des pathogènes chez les conifères, (Roussis et al. 1995).

Dans les aiguilles les monoterpènes présentent un taux élevé en été (48,85%) et bas en hiver (17,97%). Ces résultats corroborent avec ceux de (Penuelas et Llusia, 1997 ; Penuela et Llusia 1999 a ; Penuela et Llusia 1999 b ; Llusia et al. 2006 ; Blanch et al. 2009). Ils relèvent un taux en monoterpènes élevé en saison chaude et bas en période froide dans les aiguilles de jeunes semis de pin d'Alep en provenance d'Espagne. Par leurs propriétés lipophiles, les monoterpènes augmentent la fluidité et la stabilité des membranes cellulaires les rendant plus résistantes au stress oxydatif (Penuelas et Llusia, 2002). Par contre les sesquiterpènes présentent un minimum en été 18,7% et un maximum en automne. Des fluctuations pratiquement similaires pour le β-caryophyllène et l'α-humulène ont été relevés par (Llusia et Penuelas, 1998) sur les tissus foliaires d'autres espèces méditerranéennes.

5. Conclusion

L'écorce et les aiguilles du pin d'Alep ont une composition terpénoidique très différente ; en outre,

celle-ci change énormément selon la saison, aussi bien du point de vue qualitatif que quantitatif, pour chaque famille de composés. L'écorce contient les monoterpènes, sesquiterpènes et les esters. Les hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques constituent la totalité de l'essence corticale, sauf en hiver. D'autres classes de terpénoides sont alors présentes, mais leurs quantités sont très faibles. Il s'agit des diterpènes, des alcools et des aldéhydes. Les éthers-oxydes et les cétones sont inexistantes.

En revanche, les aiguilles sont beaucoup plus riches en composés terpéniques répartis selon trois familles : les monoterpènes, les sesquiterpènes et les esters qui sont présents durant toute l'année, avec des teneurs très variables. Quant aux alcanes, ils ont été détectés en automne et en hiver. L'écorce est caractérisée par une plus grande stabilité de la composition quantitative des monoterpènes et des sesquiterpènes et ce, depuis l'été jusqu'à l'automne. Les prélèvements d'échantillons réalisés en automne devraient donc convenir pour les études de chimiotaxonomie.

Remerciements

Cette recherche a été financée dans le cadre d'un projet PNR/MERS. Nous exprimons nos vifs remerciements aux personnels technique de la cir-

conscription de la forêt de Bouchaoui ainsi que celui du laboratoire du CRAPC/USTHB pour l'aide technique

Références

- Abi-Ayad, M., Abi-Ayad, F. Z., Lazzouni, H. A., Rebiahi, S. A., & Ziani-Cherif, C. (2011). Chemical composition and antifungal activity of Aleppo pine essential oil. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (22), 5433-5436.
- Adams, R. P. (1970). Seasonal variation of terpenoid constituents in natural populations of *Juniperus pinchotii* Sudw. *Phytochemistry*, 9(2), 397-402.
- Adams, R. P. (2000). Systematics of smooth leaf margin *Juniperus* of the western hemisphere based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(2), 149-162.
- Alessio, G. A., Peñuelas, J., Llusà, J., Ogaya, R., Estiarte, M., & De Lillis, M. (2008). Influence of water and terpenes on flammability in some dominant Mediterranean species. *International Journal of Wildland Fire*, 17(2), 274-286.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(12), 4364-4370.
- Arraiza, M. P., Arrabal, C., & López, J. V. (2012). Seasonal variation of essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) grown in Castilla-La Mancha (Central Spain). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40(2), 106-108.
- Baradat, P., & Marpeau-Bézar, A. (1988). Le pin maritime *Pinus pinaster* Ait: biologie et génétique des terpènes pour la connaissance et l'amélioration de l'espèce (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).
- Baradat, P., Bernard-Dagan, C., Fillon, C., Marpeau, A., & Pauly, G. (1972). Les terpènes du Pin maritime: aspects biologiques et génétiques. II hérédité de la teneur en monoterpènes. In *Annales des Sciences forestières*, 29(3), 307-334.
- Baradat, P., Michelozzi, M., Tognetti, R., Khouja, M. L., & Khaldi, A. (1995). Geographical variation in the terpene composition of *Pinus halepensis* Mill. Academic Publishing.
- Benayoun, J., & Ikan, R. (1980). The formation of terpenoids and their role in the metabolism of *Pinus halepensis* Mill. *Annals of Botany*, 45(6), 645-648.
- Bernard-Dagan, C. (1988). Seasonal variations in energy sources and biosynthesis of terpenes in maritime pine. In *Mechanisms of Woody Plant Defenses Against Insects* (pp. 93-116). Springer, New York, NY.
- Blanch, J. S., Penuelas, J., Sardans, J., & Llusia, J. (2009). Drought, warming and soil fertilization effects on leaf volatile terpene concentrations in *Pinus halepensis* and *Quercus ilex*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(1), 207.
- Buratti, L., Allais, J. P., Geri, C., & Barbier, M. (1990). Abietane and pimarane diterpene acid evolution in Scots pine *Pinus sylvestris* needles in relation to feeding of the pine sawfly, *Diprion pini* L. In *Annales des sciences forestières*, 47(2), 161-171.
- Clomburg, J. M., Qian, S., Tan, Z., Cheong, S., & Gonzalez, R. (2019). The isoprenoid alcohol pathway, a synthetic route for isoprenoid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(26), 12810-12815.
- Croteau, R., & Sood, V. K. (1985). Metabolism of monoterpenes: evidence for the function of monoterpene catabolism in peppermint (*Mentha piperita*) rhizomes. *Plant physiology*, 77(4), 801-806.
- Dob, T., Berramdane, T., & Chelghoum, C. (2007). Essential oil composition of *Pinus halepensis* Mill. from three different regions of Algeria. *Journal of essential oil research*, 19(1), 40-43.
- Dob, T., Berramdane, T., & Chelghoum, C. (2005). Chemical composition of essential oil of *Pinus halepensis* Miller growing in Algeria. *Comptes Rendus Chimie*, 8(11-12), 1939-1945.
- Eisenreich, W., Rohdich, F., & Bacher, A. (2001). Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. *Trends in plant science*, 6(2), 78-84.
- Fady, B. (1990). Variabilité génétique du sapin de Grèce (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).
- Fekih, N., Allali, H., Merghache, S., Chaïb, F., Merghache, D., El Amine, M., ... & Costa, J. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian pacific journal of tropical disease*, 4 (2), 97-103.
- Holubová, V., Hrdlicka, P., & Kuban, V. (2001). Age and space distributions of monoterpenes in fresh needles of *Picea abies* (L) Karst. determined by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 12 (4), 243-249.
- Kadik, B. (1987). Contribution à l'étude du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en Algérie: écologie, dendrométrie, morphologie (Doctoral dissertation).
- Kesselmeier, J., & Staudt, M. (1999). Biogenic volatile organic compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. *Journal of atmospheric chemistry*, 33(1), 23-88.
- Krauze-Baranowska, M., Mardarowicz, M., Wiwart, M., Pobłocka, L., & Dynowska, M. (2002). Antifungal activity of the essential oils from some species of

- the genus *Pinus*. Zeitschrift für Naturforschung C, 57(5-6), 478-482.
- Lakušić, B., Ristić, M., Slavkovska, V., Stojanović, D., & Lakušić, D. (2013). Variations in essential oil yields and compositions of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) at different developmental stages. Botanica Serbica, 37(2), 127-139.
- Langenheim, J. H. (1994). Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. Journal of chemical ecology, 20(6), 1223-1280.
- Lerdau, M., & Gray, D. (2003). Ecology and evolution of light-dependent and light-independent phyto-genic volatile organic carbon. New Phytologist, 157(2), 199-211.
- Lichtenthaler, H. K. (1999). The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. Annual review of plant biology, 50(1), 47-65.
- Llusià, J., & Peñuelas, J. (1998). Changes in terpene content and emission in potted Mediterranean woody plants under severe drought. Canadian Journal of Botany, 76(8), 1366-1373.
- Llusià, J., & Peñuelas, J. (1999). *Pinus halepensis* and *Quercus ilex* terpene emission as affected by temperature and humidity. Biologia Plantarum, 42(2), 317-320.
- Llusià, J., Peñuelas, J., Alessio, G. A., & Estiarte, M. (2006). Seasonal contrasting changes of foliar concentrations of terpenes and other volatile organic compound in four dominant species of a Mediterranean shrubland submitted to a field experimental drought and warming. Physiologia Plantarum, 127(4), 632-649.
- Mahmoud, S. S., & Croteau, R. B. (2001). Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by altering expression of deoxyxylulose phosphate reductoisomerase and menthofuran synthase. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(15), 8915-8920.
- Michelozzi, M., Tognetti, R., Maggino, F & Radicati, M. (2008). Seasonal variations in monoterpene profiles and ecophysiological traits in Mediterranean pine species of group "*halepensis*". Forest, 1(1), 37-50.
- N.I.S.T. (1999) National Institute of Standards and Technology. PC Version 1.7. The NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Perkin Elmer Corporation: Norwalk, CT.
- Nahal, I. (1986). Taxonomie et aire géographique des pins du groupe *halepensis*. Options Méditerranéennes, 1-9.
- Nault, J. R. (2003). Site temperatures influence seasonal changes in terpene composition in Douglas-fir vegetative buds and current-year foliage. Canadian journal of forest research, 33(11), 2269-2273.
- Nerg, A., Kainulainen, P., Vuorinen, M., Hanso, M., Holopainen, J. K., & Kurkela, T. (1994). Seasonal and geographical variation of terpenes, resin acids and total phenolics in nursery grown seedlings of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). New Phytologist, 128(4), 703-713.
- Niinemets, Ü., Reichstein, M., Staudt, M., Seufert, G., & Tenhunen, J. D. (2002). Stomatal constraints may affect emission of oxygenated monoterpenoids from the foliage of *Pinus pinea*. Plant Physiology, 130(3), 1371-1385.
- Peñuelas, J., & Llusià, J. (1997). Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*. Journal of Chemical Ecology, 23(4), 979-993.
- Peñuelas, J., & Llusià, J. (1999 a). Seasonal emission of monoterpenes by the Mediterranean tree *Quercus ilex* in field conditions: relations with photosynthetic rates, temperature and volatility. Physiologia Plantarum, 105(4), 641-647.
- Peñuelas, J., & Llusià, J. (2002). Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. New Phytologist, 155(2), 227-237.
- Peñuelas, J., & Llusià, J. (2003). BVOCs: plant defense against climate warming?. Trends in plant science, 8(3), 105-109.
- Peñuelas, J., & Llusià, J. (1999 b). Short term responses of terpenes emission rates to experimental changes of PFD in *Pinus halepensis* and *Quercus ilex* in Summer field conditions. Environmental Experimental Botany, 42 (1), 61-68.
- Porter N.G, Smale P.E, Nelson M.A, Hay A, Van Klink J.W & Dean C.M (1998). Variability in essential oil chemistry and plant morphology within a *Leptospermum scoparium* population. New Zealand Journal of Botany, 36, 125-133.
- Powell, R. A., & Adams, R. P. (1973). Seasonal variation in the volatile terpenoids of *Juniperus scopulorum* (Cupressaceae). American Journal of Botany, 60 (10), 1041-1050.
- Robert, C. A., Erb, M., Hibbard, B. E., Wade French, B., Zwahlen, C., & Turlings, T. C. (2012). A specialist root herbivore reduces plant resistance and uses an induced plant volatile to aggregate in a density-dependent manner. Functional Ecology, 26(6), 1429-1440.
- Rodrigues-Corrêa K.C. da S., Fett-Neto A.G. (2013). Seasonality and chemical elicitation of defense oleoresin production in field-grown slash pine under subtropical climate. Theoretical and Experimental Plant Physiology, 25(1), 56-61.
- Romón, P., Aparicio, D., Palacios, F., Iturrondobeitia, J. C., Hance, T., & Goldarazena, A. (2017). Seasonal terpene variation in needles of *Pinus radiata* (Pinales: Pinaceae) trees attacked by *Tomicus piniperda* (Coleoptera: Scolytinae) and the effect of limonene on beetle aggregation. Journal of In-

- sect Science, 17(5).
- Roussis V, Petrakis P.V, Ortiz A & Mazomenos B.E (1995). Volatile constituents of needles of five *Pinus* species grown in Greece. *Phytochemistry*, 39(2), 357-361.
- Roussis, V., Tsoukatou, M., Petrakis, P. V., Chinou, I., Skoula, M., & Harborne, J. B. (2000). Volatile constituents of four *Helichrysum* species growing in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(2), 163-175.
- Saeb, K., & Gholamrezaee, S. (2012). Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S547-S549.
- Staudt, M., Bertin, N., Frenzel, B., & Seufert, G. (2000). Seasonal variation in amount and composition of monoterpenes emitted by young *Pinus pinea* trees –implications for emission modeling. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 35(1), 77-99.
- Staudt, M., Rambal, S., Joffre, R., & Kesselmeier, J. (2002). Impact of drought on seasonal monoterpene emissions from *Quercus ilex* in southern France. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 107(D21), ACH-15.
- Tazerouti, F., Badjah-Hadj-Ahmed, A. Y., Meklati, B. Y., & Bobenrieth, M. (1993). Analyse des huiles essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. par CG-SM. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 26(3), 161-176.
- Tingey, D. T., Manning, M., Grothaus, L. C., & Burns, W. F. (1980). Influence of light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine. *Plant Physiology*, 65(5), 797-801.
- Turtola, S., Manninen, A. M., Holopainen, J. K., Levula, T., Raitio, H., & Kainulainen, P. (2002). Secondary metabolite concentrations and terpene emissions of Scots pine xylem after long-term forest fertilization. *Journal of environmental quality*, 31(5), 1694-1701.
- Van Den Dool, H., & Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 11, 463-471.
- Wanke, M., Skorupinska-Tudek, K., & Swiezewska, E. (2001). Isoprenoid biosynthesis via 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate/2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (DOXP/MEP) pathway. *Acta Biochimica Polonica*, 48(3), 663-672.
- Yani, A. (1989). Les terpènes du cyprès: étude physiologique lors d'un stress hydrique et utilisation en chimiotaxinomie (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).
- Yani, A., Pauly, G., Faye, M., Salin, F., & Gleizes, M. (1993). The effect of a long-term water stress on the metabolism and emission of terpenes of the foliage of *Cupressus sempervirens*. *Plant, Cell & Environment*, 16(8), 975-981.
- Zafra, M., & García-Peregrín, E. (1976). Seasonal variations in the composition of *Pinus halepensis* and *Pinus sylvestris* twigs and needles essential oil. *The Journal of Agricultural Science*, 86(1), 1-6.
- Zhao, T., Solheim, H., Långström, B., & Borg-Karlson, A. K. (2011). Storm-induced tree resistance and chemical differences in Norway spruce (*Picea abies*). *Annals of forest science*, 68(3), 657-665.