

MAG/581.3-02/02

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE  
HOUARI BOUMEDIENE (U.S.T.H.B.) ALGER

N° d'Ordre .....  
N° S.I.R.C. ....

INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE

B1A392

# THESE

Présentée à l'U.S.T.H.B. pour l'Obtention  
DU GRADE DE MAGISTER  
EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : BIOLOGIE VEGETALE

par

M<sup>lle</sup> OUAFI Saïda

Administré sous le N° B1A309  
Date 2007-11-23  
Cote .....

## ETUDE CHIMIOTAXONOMIQUE PAR LES FLAVONOIDES DES CULTIVARS DU PALMIER-DATTIER (*Phœnix dactylifera* L.)

Soutenue Publiquement le 20 Décembre 1987  
Devant le Jury Composé des

- |                                   |               |
|-----------------------------------|---------------|
| Mme G. KESRI .....                | Président     |
| Mme N. BOUNAGA .....              | Rapporteur    |
| Mr Ph. LEBRETON .....             | Co-Rapporteur |
| Mr B.Y. MEKLATI .....             | } Examineur   |
| Mr R.A. BRAC DE LA PERRIERE ..... |               |
| Melle F. AID .....                |               |



Ce mémoire résume des travaux réalisés au laboratoire de botanique de l'U.R.Z.A sous la direction de Madame BOUNAGA N., Maitre de conférences à l'U.S.T.H.B et directrice de \*l'U.R.Z.A. Pour cela nous tenons à lui exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude pour nous avoir proposé le sujet et avoir suivi notre travail malgré un emploi du temps très chargé.

Que Madame KESRI G., maitre de conférences à l'U.S.T.H.B soit remerciée pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury et nous avoir ouvert les portes de son laboratoire.

Monsieur le professeur LEBRETON PH., de l'Université CLAUDE BERNARD (LYON I) à bien voulu nous recevoir dans son laboratoire, sa compétence son aide, ses précieux conseils, permettent aujourd'hui de présenter ce travail.

Monsieur MEKLATI B.V., professeur de chimie à l'U.S.T.H.B, a accepté de juger ce travail, qu'il en soit remercié.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à Monsieur BRAC DE LA PERRIERE chercheur à l'U.R.Z.A, pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, son sens de collaboration et sa participation au jury.

Melle AID F., chargée de cours à l'U.S.T.H.B a bien voulu juger ce travail qu'elle trouve ici nos sincères remerciements.

Nous voudrions adresser notre gratitude et notre respect à Melle DELLAMONIC G., professeur à l'Université CLAUDE BERNARD, pour son aide lors de la correction de ce mémoire.

Nous tenons aussi à remercier Monsieur ZAKI A., chef de station de l'I.N.R.A d'ADRAR pour l'accueil et l'aide lors de la collecte du matériel végétal.

-----

\* U.R.Z.A : Unitée de Recherche sur les Zones Arides.

*Que Mesdames BOUGUEDOURA, RAHMANIA F., trouvent ici le témoignage de notre gratitude pour leur aide et encouragements.*

*Nous avons beaucoup apprécié l'atmosphère du laboratoire de phytochimie de LYON et l'accueil de l'équipe qui l'anime entre autre JOSIANE, CLAIRE, CHRISTINE, MARIE-ROSE...*

*Nos sincères remerciements vont à nos collègues du laboratoire : Rabéa, Karima, Dalila, Louisa, Fatma, Atika et Aicha, pour leurs encouragements et l'ambiance dans le travail.*

*Nous ne saurons terminer sans adresser nos remerciements à Sadjia pour avoir assuré avec beaucoup de soins la frappe de ce mémoire.*

*Enfin à tous ceux dont les conseils nous ont permis d'engager et de poursuivre ce travail, nous disons merci.*

*\*-----\**

Avant-propos :

Introduction : ..... 1

CHAPITRE I. : Généralités :

- I.- Chimiotaxonomie : définition et importance : ..... 4
- II.- Interêt des flavonoïdes comme marqueurs  
biochimiques : ..... 5
- III.- Généralités sur les flavonoïdes : ..... 6
- IV.- Rôle biologique des molécules flavoniques : ..... 9
- V.- Utilisation des flavonoïdes en chimiotaxonomie : ... 11

CHAPITRE II. : Matériel et méthodes :

Méthodes d'analyse

- 1.- Collecte du matériel : ..... 13
- 2.- Analyse flavonique : ..... 15
  - 2-1.- Protocole expérimental pour les aglycones  
flavoniques : ..... 15
    - a)- Phase butanolique : proanthocyanes : ..... 18
    - b)- phase étherée : flavones-flavonols : ..... 19
  - 2-2.- Protocole expérimental pour les  
hétérosides : ..... 20
  - 2-3.- Technique d'analyse structurale : ..... 22
    - 2-3-1.- Séparation et purification : ..... 22
    - 2-3-2.- Identification des composés : ..... 28

CHAPITRE III. : Distribution des flavonoïdes dans les  
palmes du palmier-dattier :

- I.- Recherche du niveau le plus riche en flavonoïdes  
au sein d'une même palme : la palme moyenne : .... 33

.../...

1.- Résultats des dosages : .....	33
2.- Résultat du test statistique de comparaison de moyenne : .....	37
2-1.- Constat de la variabilité : .....	37
2-2.- Résultat du test de comparaison de moyenne : .....	38
3.- Discussion des résultats : .....	39
II.- Recherche du niveau le plus riche en flavonoïdes dans la couronne de palmes : .....	42
1.- Résultats des dosages : .....	42
2.- Résultats du test statistique de comparaison moyenne : .....	46
3.- Discussion des résultats : .....	48
<u>CHAPITRE IV. : Analyse structurale des flavonoïdes du palmier-dattier :</u>	
A)- Analyse structurale des aglycones flavoniques du <u>phoenix dactylifera</u> : .....	50
I.- Identification des proanthocyanidines : .....	50
II.- Identification des flavones-flavonols : .....	52
B)- Analyse structurale des formes hétérosidiques natives du palmier - dattier : .....	66
C)- Discussion des résultats : .....	85
<u>CHAPITRE V. : Etude comparative, quantitative et qualitative, en flavonoïdes des 9 Cultivars de palmier - dattier :</u>	
I.- Recherche d'une variation quantitative en flavonoïdes inter-cultivars : .....	87

1.- Résultats :	87
2.- Discussion des résultats :	90
a)- Constat de la variabilité intra-cultivar :	90
b)- Variabilité inter-cultivar ; résultats des tests statistiques :	91
II.- Recherche d'une variation qualitative inter-cultivars en flavonoïdes :	97
A)- Résultats et discussion :	97
1.- Proanthocyanidines :	97
2.- Flavones - flavonols :	98
3.- Flavanonol :	106
4.- Les hétérosides flavoniques :	107
Conclusions générales :	112
Abréviations utilisées :	116
Bibliographie :	117

\*-----\*

-°°- I N T R O D U C T I O N -°°-  
-----

Le palmier-dattier Phoenix dactylifera L est une espèce monocotylédone appartenant à la famille des palmées. C'est un arbre des régions sahariennes qui joue un rôle essentiel dans le développement et l'équilibre biologique de ces régions. Son fruit la "datte" présente un intérêt diététique particulier d'où l'importance du palmier-dattier sur le plan économique pour les pays producteurs de dattes. Ainsi l'ALGERIE occupe une place de choix à l'échelle mondiale par la quantité et la qualité d'une de ses meilleures variétés: la "DEGLETNOUR".

Cependant les palmiers sont attaqués par une maladie appelée localement "BAYOUD" qui décime des palmeraies entières, et la variété DEGLETNOUR est très sensible.

La maladie est actuellement localisée au niveau des palmeraies de l'ouest mais constitue une menace importante pour les palmeraies de l'est qui produisent les dattes d'exportation. Elle est provoquée par un champignon pathogène: Fusarium oxysporum fsp albedinis.

Parmi les moyens de lutte déployés contre cette maladie figure la recherche de cultivars résistants et de bonne qualité dattière. D'où la nécessité de recenser le potentiel génétique du palmier-dattier, qui est constitué par une multitude de clones sélectionnés par le cultivateur sur la base de la qualité, la précocité...

Toutefois ce travail s'est heurté au problème que pose la détermination du Phoenix dactylifera L. Etant dioïque et hétérozygote il ne se reproduit pas fidèlement par graines. Les semis ne donnent que 50% de pieds femelles qui ne sont jamais identiques, aux pieds mères. Les fruits ne possèdent donc plus les caractères organoleptiques de ceux de la mère. C'est pour cette raison que pour conserver la qualité des fruits les phoeniculteurs multiplient végétativement les individus sélectionnés, par la mise en culture de rejets. Pour les palmiers-dattiers femelles on parle alors de variété ou de cultivar que DEMARLY (1977) définit comme étant une variété traditionnelle constituée par un ensemble d'individus connus sous la même appellation. Ce regroupement se fait de façon plus ou moins artificielle, les caractères que l'on invoque habituellement pour distinguer les cultivars les plus courants, sont liés surtout au fruit (forme, couleur, consistance, etc...). Les palmiers mâles ne peuvent être différenciés que par les caractères tirés du port et de l'aspect des palmes et folioles. Aussi est-il impossible de dire que tel plant mâle correspond à tel cultivar femelle.



Devant une telle situation la recherche de marqueurs du cultivar s'est imposé .Les travaux qui sont engagés dans ce sens au sein de l'U.R.Z.A sont orientés suivant deux axes:

.Le premier concerne la recherche de marqueurs liés aux caractères morphologiques de l'arbre, BENKHELIFA( 1985 ) .

.Le second reside dans la recherche de marqueurs biochimiques. Le travail exposé dans ce mémoire s'inscrit dans le deuxième axe puisque nous avons choisi d'étudier les flavonoïdes du palmier dattier. Ce choix a été dicté par le fait que les composés phénoliques en général et plus particulièrement les flavonoïdes sont impliqués dans la chimiotaxonomie de plusieurs classes de végétaux et dans les mécanismes de résistance aux maladies

Dans un premier chapitre nous ferons un bref exposé sur la chimiotaxonomie et les composés flavoniques .

Les méthodes d'extraction et d'identification des flavonoïdes figureront de façon détaillée dans le second chapitre .

Avant d'aborder la chimiotaxonomie du Phoenix dactylifera L par les composés flavoniques nous traiterons successivement :

.De la distribution des flavonoïdes au sein d'un même arbre;au niveau d'une même palme puis au niveau de la couronne de palmes.

.De l'identification des composés flavoniques présent dans les folioles de palmes.

Enfin le dernier chapitre sera consacré à la comparaison qualitative et quantitative en flavonoïdes des cultivars étudiés ,dans le but de voir si éventuellement les flavonoïdes peuvent constituer des marqueurs génétiques du cultivar pour le palmier dattier.

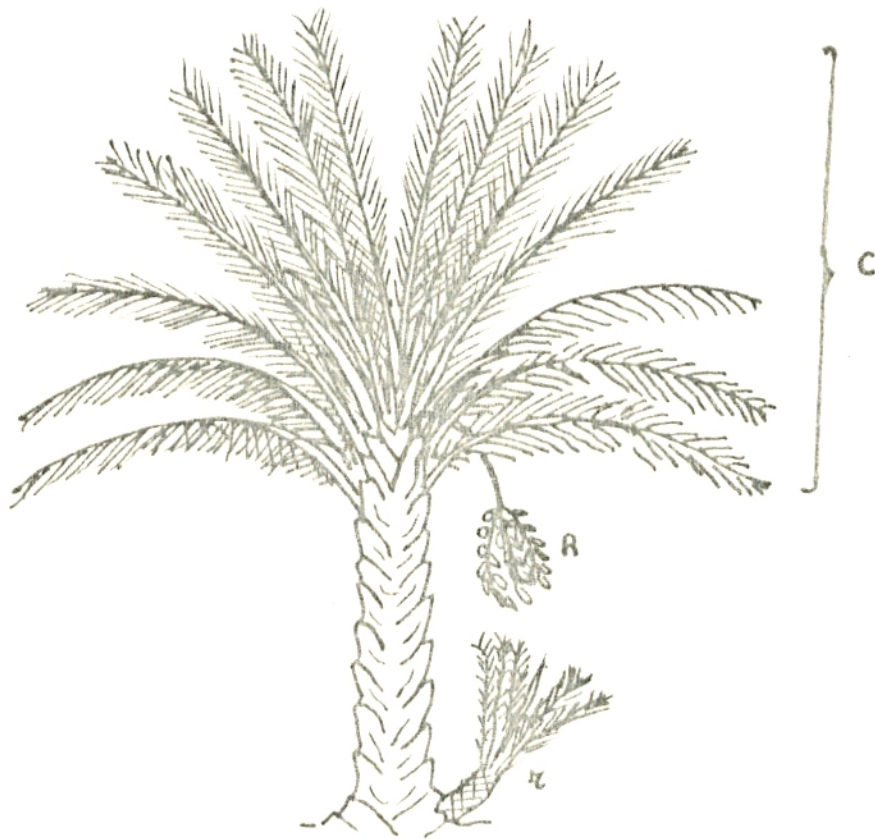


PLANCHE HORS TEXTE : Phoenix dactylifera L. , palmier-dattier.

R: Régime de dattes .

r: rejet .

C: Couronne de palmes .

-°0°- CHAPITRE - I. : GENERALITES -°0°-

-----

## 1.- CHIMIOTAXONOMIE : Définition et importance.

- . En 1804 AUGUSTE-PYRANE de Candolle publiait à Paris un mémoire intitulé "Essai sur les propriétés médicinales des plantes comparées avec leurs formes extérieures et leur classification naturelle". On peut dire que ce savant, botaniste et médecin, fonda avec cette publication la discipline que nous appelons aujourd'hui chimiotaxonomie, branche de la science qui s'occupe de la classification des toxons d'après leurs caractères chimiques.
- . L'apport de la chimiotaxonomie à la botanique systématique peut s'exercer à des niveaux différents, depuis la classe ou l'ordre jusqu'à la variété ou la race, en passant par le genre et l'espèce.
- . Au niveau de la classe, rappelons que la classification des algues est basée sur la présence de pigments particuliers (phycopheine, phycoerythrine, etc...) aboutissant à la différenciation en algues brunes ou phéophycées rouges ou rhodophycées etc...).
- . Du point de vue des familles, la chimiotaxonomie permet parfois d'inclure de petites familles, de position systématique incertaine, dans des ordres bien déterminés (Hamamelidacées, Saxifragacées).
- . Au niveau du genre, la chimiotaxonomie apporte des arguments en faveur soit de la proximité des diverses espèces, soit de l'hétérogénéité et de la fragmentation en sous-genres.
- . Au niveau de l'espèce et de la subdivision en variétés, les possibilités de la chimiotaxonomie sont peut être encore plus grandes. Ainsi BAKER et SMITH (in PARIS ~~et al~~ 1965) ont pu classer plus de 300 espèces d'Eucalyptus au moyen des caractères de leurs huiles essentielles (terpènes).

.../...

- . En outre l'étude chimique des constituants des végétaux ou phytochimie, s'est développée grâce au progrès de la chimie extractive et à l'apparition de nouvelles méthodes d'analyses telles que la chromatographie sous ses différentes formes (chromatographie sur papier, sur colonne, en couche mince, en phase gazeuse, liquide à haute performance), l'électrophorèse, la spectrophotométrie etc.....
- . A l'heure actuelle, la chimiotaxonomie a quitté le domaine de l'empirisme pour connaître des fondements rationnels empruntés à la biologie moléculaire : comme tout autre caractère (morphologique, anatomique, etc...), la présence d'une molécule reflète une fraction du génôme par l'enchaînement causal A.D.N. — A.R.N. messenger — protéine enzymatique — substrat — produit final de l'anabolisme.

## II.- Interêt des flavonoïdes comme marqueurs biochimiques.

- . Les flavonoïdes, composés phénoliques, apparaissent généralement combinés à des sucres ; ces hétérosides sont souvent localisés dans la vacuole de la cellule. Ce sont des substances qui possèdent un bon nombre de propriétés requises pour constituer de bons marqueurs biochimiques.
- . Les flavonoïdes constituent les métabolites "secondaires" les plus largement distribués dans le règne végétal.
- . On en connaît une douzaine de classes (RIBERAUGAVON, 1969) à l'intérieur desquelles chaque squelette moléculaire de base présente toutes les variations possibles dans son degré d'oxydation, de méthylation ou de glycosylation (HARBORNE, 1967).
- . Outre leur bonne distribution botanique, ces composés phénoliques sont donc dotés d'une diversité structurale très forte qui autorise des possibilités de variations pouvant être aisément mesurées. En effet, la présence de doubles liaisons et de substituants variés permet leur détection avec une grande sensibilité.

- . Leur apparente inutilité (ou utilité secondaire) est aussi un avantage du point de vue marquage biochimique en ce sens que plus une molécule est indispensable moins elle tendra à varier d'un taxon à un autre.
- . En définitive on peut dire que cette diversité des flavonoïdes est organisée, elle semble ne pas être le fruit du hasard mais résulter de la pression de sélection autorisant un marquage très fin. D'où l'importance des composés flavoniques dans la chimiotaxonomie, très souvent utilisée avec succès à de telles fins dans les groupes botaniques les plus divers. Ces marqueurs permettent par leur finesse non seulement de compléter, mais de remplacer parfois les méthodes classiques.

### III.- Généralités sur les flavonoïdes.

- . Les flavonoïdes sont des composés phénoliques issus du métabolisme secondaire. On rassemble sous ce terme toutes les molécules biochimiques dont la structure ne se rattache pas directement aux glucides, lipides, protéines, ou acides aminés et qui possèdent aux moins un noyau aromatique.
- . Toutefois le métabolisme secondaire est dépendant du métabolisme primaire, car la synthèse de ces produits dérive plus ou moins directement des voies glucidiques, lipidiques, etc... Les voies du métabolisme secondaire en général, et celles du métabolisme phénolique en particulier, aboutissent à un très grand nombre d'édifices moléculaires autorisant des formules phénotypiques d'une extrême diversité.
- . Cette richesse moléculaire est la traduction de séquences biogénétiques plus ou moins longues, ou plus ou moins ramifiées. Ces séquences se greffent ici sur un tronc métabolique central (chalcone - flavanone - flavanonol) qui dérive de la voie de l'acide shikimique grâce à deux enzymes clefs : la phényl - alanine ammoniac - lyase, et de la voie acétate grâce à une troisième enzyme : la chalcone - synthetase (fig : 1). Suivant que l'on

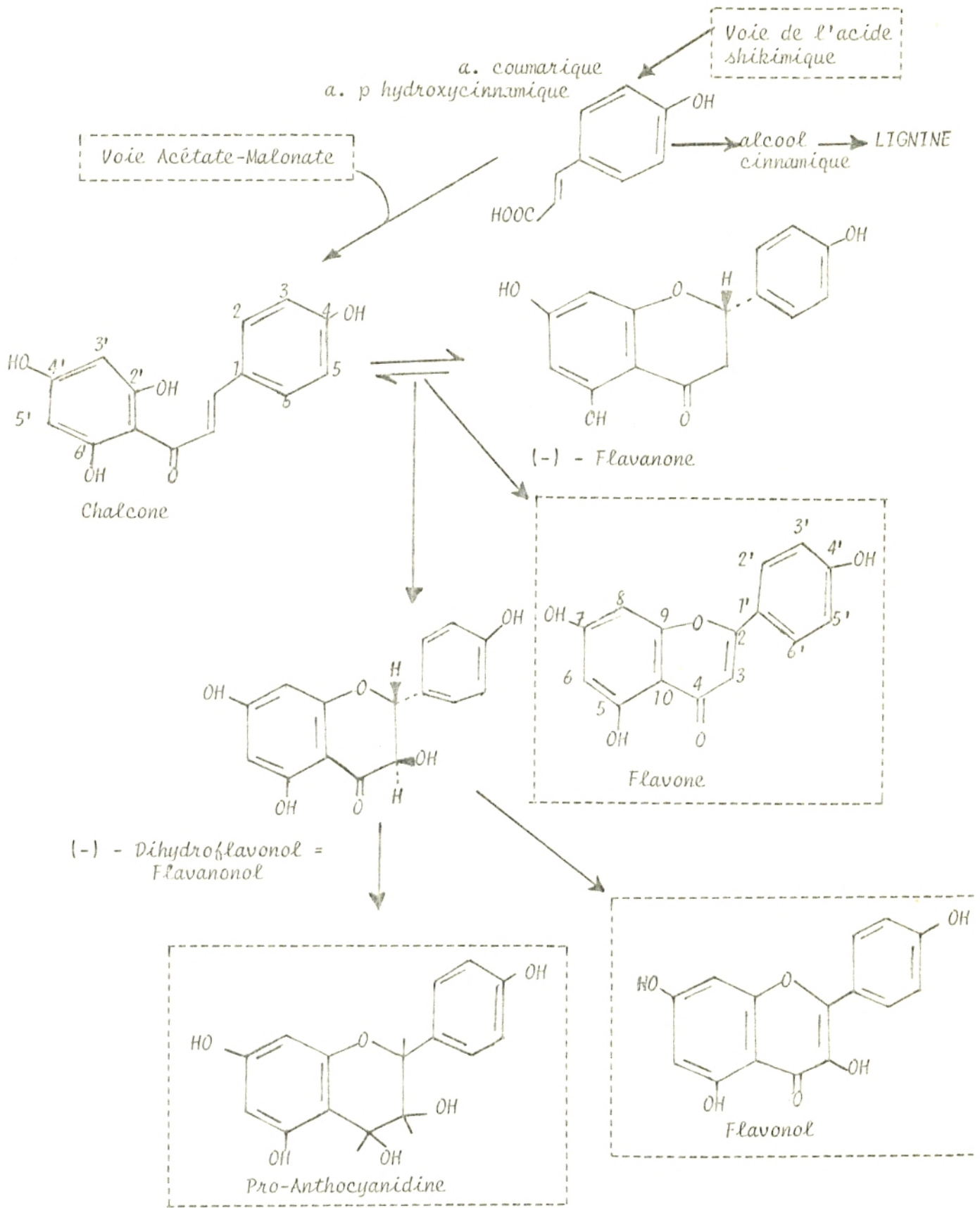
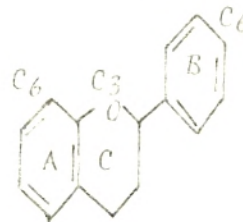


FIG.1 : Relations biogénétiques entre composés flavoniques.  
(D'après GRISEBACH, WONG et HALBROCK rapportés par MARKHAM 1982).

ait affaire aux Monocotylédones ou aux Dicotylédones, le substrat serait soit la tyrosine soit la phénylalanine (HARBORNE 1973).

- Les flavonoïdes relèvent tous d'un squelette en C15 basé sur l'enchaînement C6 - C3 - C6, c'est-à-dire deux noyaux aromatiques liés par une unité en C3 qui peut former un troisième cycle. Par convention les trois cycles sont appelés A, B ou noyau latéral, et C ou hétérocycle, représentés comme suit :



- Cette structure de base est sujette à deux types de substitutions :
  - des O - substitutions : hydroxylation (OH)  
O - méthylation (O-CH3)  
O - glycosylation (O-osides)
  - des C - substitutions : C - méthylation (C-CH3)  
C - glycosylation (C-osides)
- Les formes de combinaisons les plus fréquentes sont des hétérosides faisant intervenir une liaison - C - O - C entre un hydroxyle alcoolique ou phénolique du composé phénolique et l'hydroxyle semi acétalique du C1 d'une molécule glucidique.
- Si, théoriquement, la molécule glucidique peut être fixée sur n'importe lequel des hydroxyles de la molécule de flavonoïde, en fait certaines positions sont privilégiées.
- Par exemple les anthocyanidines possèdent toujours une molécule de sucre en 3, éventuellement une deuxième molécule est fixée en 5. Dans le cas des flavones, les hétérosides possèdent le plus souvent une molécule de sucre en 7 et chez les flavonols, c'est la position 3 qui est privilégiée.



IV.- Rôle biologique des molécules flavoniques.

- . Au niveau des composés phénoliques, il est nécessaire de distinguer macromolécules et micromolécules.
- . Les macromolécules englobent tanins et lignines.
- . Les lignines "concernent" le végétal sous des aspects anatomiques (résistance mécanique), les tanins pour leurs propriétés écologiques (rôle anti-herbivore).
- . Le problème est autre avec les micromolécules, dont les flavonoïdes, présents en quantités faibles voire infimes.
- . Quel intérêt peut tirer le végétal de la synthèse de composés aussi diversifiés (plus de deux mille aglycones flavonoïdiques sont à l'heure actuelle connus, WOLLENWEBER et DIETZ (1981)) et en si petites quantités?
- . Les réponses apportées à cette question sont très différentes.
- . Entant que pigments, certains flavonoïdes contribuent à la coloration de nombreuses fleurs (CLAIR et al 1963), y compris dans l'U.V proche.
- . D'après CHARIERE (1972) l'hydrophobie du matériel flavonoïdique, aglycones des bourgeons, pourrait limiter les échanges gazeux et favoriser le repos hivernal.
- . Il pourrait y avoir un effet dans la croissance du végétal selon NITSCH et NITSCH (1961, 1962), STENLID (1963), ZUCKER et al (1965), par inhibition de l'action de l'AAO - Oxydase.
- . On peut avancer un rôle attractif lors de la pollinisation ou de la dissémination de certaines semences (TRONCHET, 1972).

.../...

- Au contraire un rôle repulsif peut s'exprimer dans des phénomènes de concurrence garantissant à une plante un certain contrôle de son environnement, comme dans les cas de résistance aux agressions parasitaires (bactéries, champignons, virus) introduisant ainsi la notion de phytoalexines (TANGUY, 1971).
- Une activité mutagène a pu être mise en évidence pour environ deux cents aglycones flavonoïdiques, RAVANEL et al (1987).  
Parmis ceux-ci trente produisent des altérations du génôme en agissant par décalage du code génétique et ou par substitution des paires de base de l'A.D.N.
- En outre les flavonoïdes présentent un intérêt thérapeutique certain souligné par les travaux de ROSLER et al (1984), selon ces chercheurs les flavonoïdes pourraient être utilisés dans les traitements des cataractes d'origine diabétique ou d'une galactosemie, en raison de leur action inhibitrice sur l'aldose réductase qui convertit les D - glucose et D galactose en sorbitol.
- AESCHBACH (1985) attribue aux flavonoïdes, les propriétés thérapeutiques du Romarin. AUBERT et al (1985) accordent aux composés flavoniques et aux dérivés de l'acide caféique, la valeur sanitaire des produits de l'artichaut.
- Les possibilités anticancéreuses des flavonoïdes ont été évoquées par BEZANGER - BEAUQUESNE (1987), en particulier celles de la quercétine.
- Enfin pour leurs propriétés anti - Oxydantes établies par plusieurs auteurs (BRASSEUR et al 1985), les flavonoïdes sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour prévenir le rancissement des graisses.

.../...

V.- Utilisation des flavonoïdes en chimiotaxonomie.

- . La phytochimie a pris un essor considérable depuis une trentaine d'années : des milliers de substances nouvelles ont été isolées permettant le développement d'une biochimie des végétaux.
- . Parmi ces substances les flavonoïdes sont très utilisés en chimiotaxonomie. C'est ainsi que les travaux de ERDTMANN (1955, 1956) in LEBRETON (1964) ont permis de recouper la subdivision du genre Pinus en deux sous-genres Haploxyylon et Diploxyylon, tandis que PACHECO (1957) a montré que la distribution des flavonols distingue les deux genres Abies et Pinus, ce dernier seul en étant pourvu.
- . BATE - SMITH (1962, 1968) pour sa part a publié des travaux qui couvrent les Angiospermes les plus diverses.
- . LEBRETON (1964) a mis en évidence l'importance des flavonoïdes pour la subdivision des Urticacées et leur diversité dans le genre Humulus (LEBRETON et al 1963).
- . Plus récemment LEBRETON et al (1980) ont traité de la distribution des proanthocyanidines chez les Gymnospermes.
- . EDWARD et al (1981) ont révisé la systématique du genre Luffa à l'aide des flavonoïdes ; et LEBRETON (1982) celles des Cupressales. WILLIAMS et al (1983) ont montré l'utilité des flavonoïdes en tant que marqueurs chez les Palmées.
- . En ce qui concerne Phoenix dactylifera L. cette espèce ne semble pas avoir fait l'objet de recherches approfondies et la bibliographie ne mentionne que des travaux d'identification des composés flavoniques. Ainsi BATE-SMITH (1968) signale après hydrolyse acide la présence d'un flavonol :

.../...

le Kamphérol, et de procyanidine dans le feuillage.

- . WILLIAMS et al (1973) ont révélé la présence de flavones (Lutéoline-Tricine), et de C-glycosyl flavones sans toute fois préciser la structure de ces dernières. HARBORNE (1975) a étudié les flavonoïdes sulfates dans le même groupe.
- . A aucun moment ces deux derniers travaux n'ont mentionné la présence de flavonols chez le palmier-dattier.
- . LE BRETON (1978, non publié) en faisant l'étude biochimique de trois variétés algériennes de palmier-dattier, confirme la présence de cyanidine, de C-glycoflavones, flavones et flavonols notamment de Kamphérol et signale pour la première fois la présence de la quercétine.
- . MATZA (1982 non publié) apporte un élément nouveau dans la composition de la carte flavonique du palmier-dattier en mettant en évidence l'isorhamnétine comme deuxième flavonol après la quercétine.

\*-----\*

-°°- CHAPITRE - II. : MATERIEL ET METHODES -°°-

-----

METHODES D'ANALYSE :

1.- Collecte du matériel

1-1.- : Modalités de prélèvement

- . Notre étude a porté sur les folioles de 53 palmiers des 9 cultivars qui constituent la collection de l'I.N.R.A de ADRAR (FIG.2) ; la récolte a été faite en Avril 1984.
- . Notre choix pour l'étude des flavonoïdes au niveau des folioles de palmes, a été dicté par les résultats des travaux de divers chercheurs.
- . Selon DELAVEAU (1967), plus de 85 % des flavonoïdes totaux sont localisés au niveau des feuilles.
- . Les limbes foliaires constituent le site le plus riche des plantes en flavonoïdes (DAUGUET et PARIS (1974).

\* Les folioles ont été prélevées :

\* A trois niveaux de la couronne de palmes.

- partie médiane de la palme interne. (int)
- partie médiane de la palme moyenne. (moy)
- partie médiane de la palme externe. (ext)

\* A trois niveaux de la palme moyenne.

- la base : (M<sub>3</sub>)
- le milieu : (M<sub>2</sub>)
- l'extrémité : (M<sub>1</sub>)

- . L'âge des palmiers (femelles) est compris entre 10 et 14 ans ; le stade physiologique annuel est celui du fruit immature.

1-2.- : Séchage du matériel récolté

- . Les folioles sont mises à sécher à l'air libre et à température ambiante, à l'abri de la lumière vive.

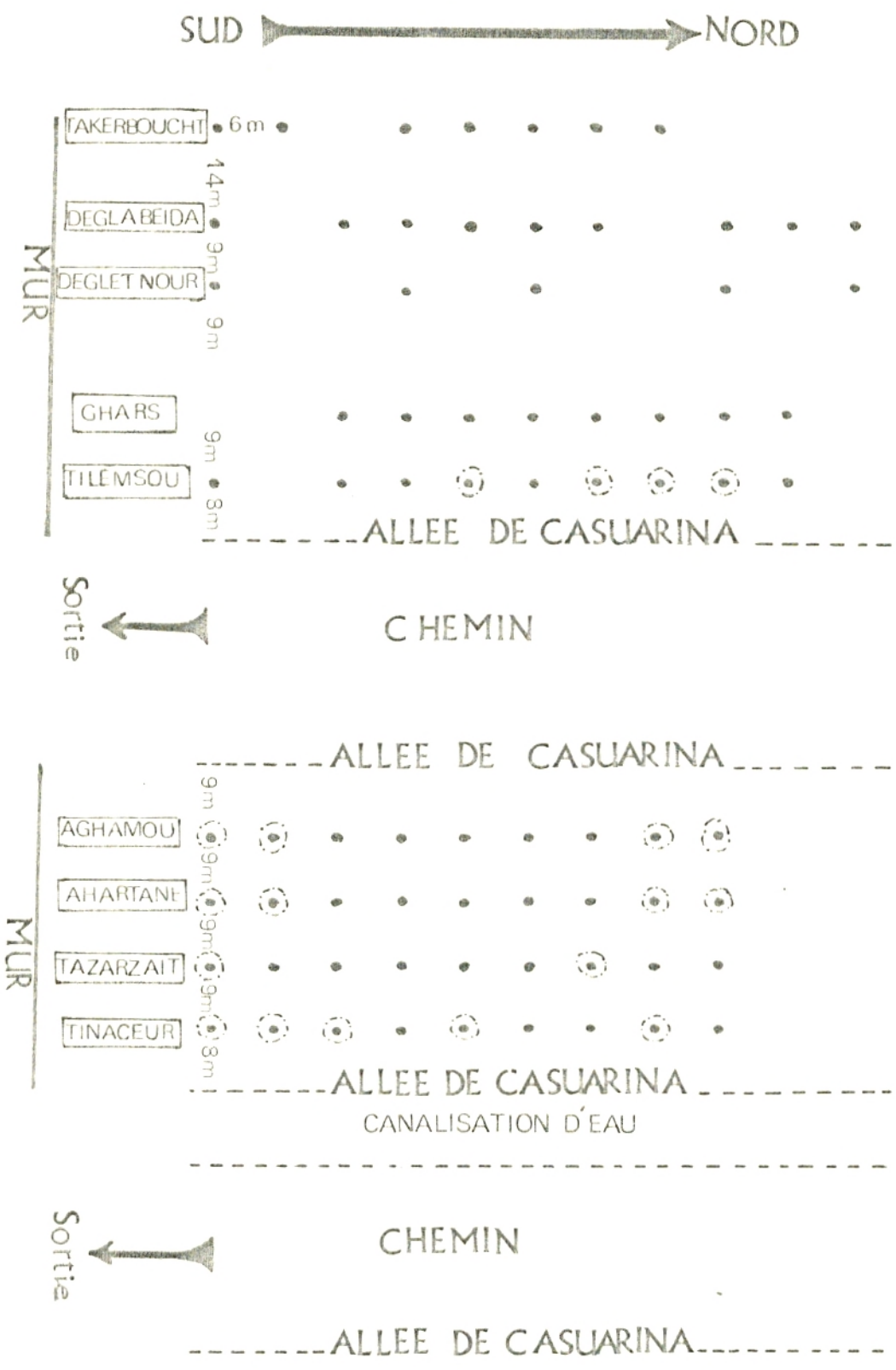


FIG 2 : PLAN DE LA COLLECTION DE CULTIVARS DE LA STATION DE L'INRA DE ADRAR.

- palmier adulte, prélèvement de folioles.
- palmier jeune, pas de prélèvements de folioles.

- . Après séchage le matériel végétal finement broyé a été soumis à l'analyse flavonique.

## 2.- Analyse flavonique

- . Il est préférable de commencer l'étude des composés phénoliques d'un matériel végétal inconnu, par l'identification des aglycones libérés par hydrolyse acide, (Le terme aglycone désigne la fraction non glucidique, appelée encore génine des hétérosides), puis les formes hétérosidiques natives. Ceci nécessite l'hydrolyse préalable des liaisons O - hétérosidiques.

### 2-1.- Protocole expérimental pour les aglycones flavoniques : (FIG.3)

#### 2-1-1.- : Extraction :

- . La technique utilisée a été mise au point par LEBRETON et al (1967), à partir du schéma initial de BATE-SMITH (1954) LARACINE (1984) a modifié les quantités à hydrolyser.

- . 1 gramme de matériel végétal séché et broyé est placé dans un erlen à large col, en suspension dans 80 Cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 2 N froid. Après quelques minutes de contact, l'erlen est porté durant 45 minutes au bain marie bouillant. Cette durée d'hydrolyse est en général suffisante pour permettre la transformation des proanthocyanidines en anthocyanidines à partir de leurs O - glycosides.

- . Le milieu est régulièrement agité et oxygéné par insufflation d'air toutes les 10 minutes, opération nécessaire pour faciliter l'oxydation des proanthocyanidines en anthocyanidines homologues. L'erlen est ensuite refroidi sous courant d'eau froide. Une partie aliquote de 5 ml est prélevée pour l'analyse en chromatographie liquide à haute performance (C.L.H.P) des anthocyanes ainsi générées.

.../...



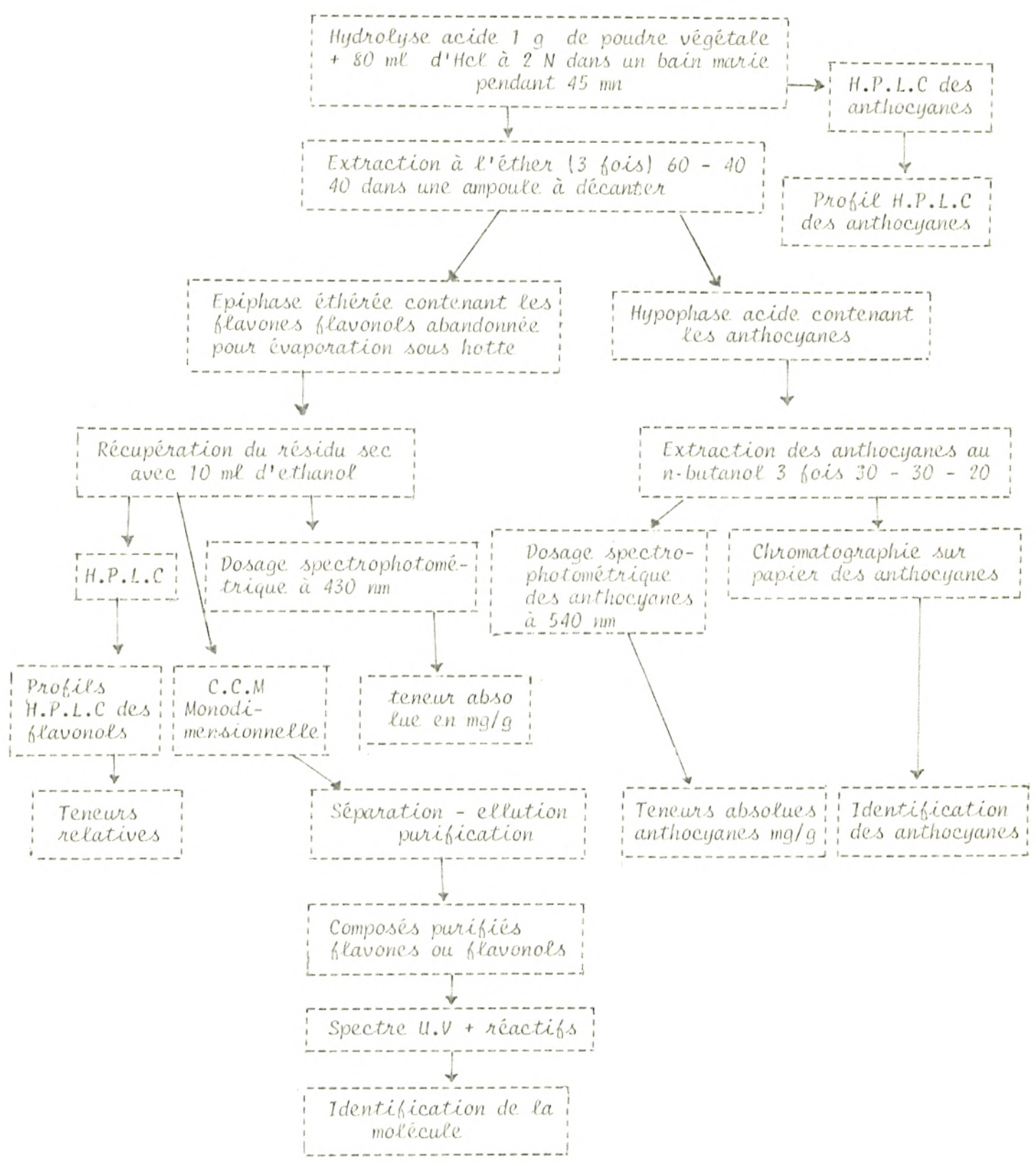
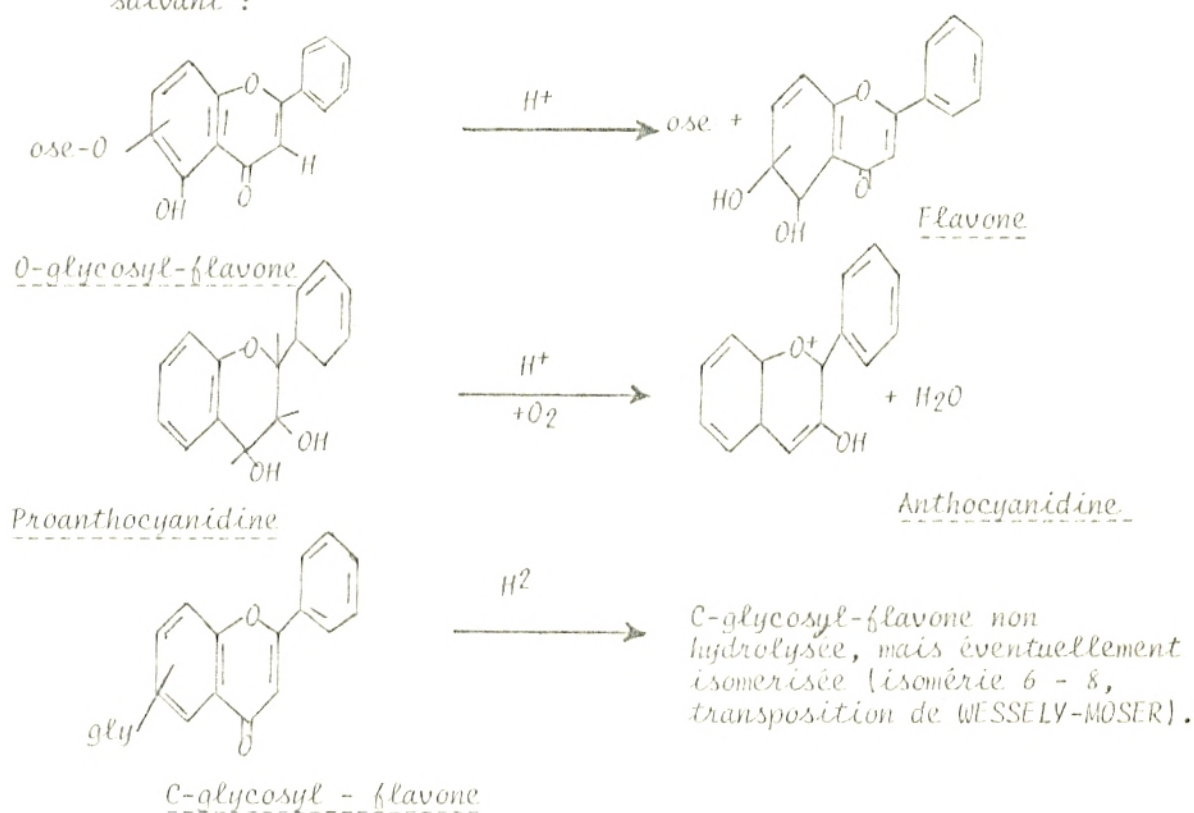


FIG. 3 : SCHEMA DES ETAPES D'EXTRACTION, DE DOSAGE ET D'IDENTIFICATION DES AGLYCONES FLAVONIQUES

- Toutefois dans ces conditions opératoires, les C - glycosides dans lesquels les oses sont unis aux flavonoïdes par une liaison C - C ne sont pas hydrolysés, ce qui nous a permis de mettre en évidence leur présence dans les cultivars étudiés.
- En conclusion trois types de produits nous intéressant sont mis en évidence au cours de cette hydrolyse selon le schéma suivant :



- L'extraction des composés flavoniques, après hydrolyse est conduite en ampoule à décanter, successivement :
  - par l'éther (trois fois : 60 - 60 - 40 cm<sup>3</sup>), sans séparer le matériel végétal. La phase étherée contenant les aglycones (flavones - flavonols, acides phénols) et la plupart des chlorophylles est décantée, lavée à l'eau (pour éliminer l'acidité résiduelle) puis évaporée spontanément sous hotte ventilée.

- Par le n - butanol (trois fois : 30 - 30 - 20 Cm<sup>3</sup>). Cette phase retient les anthocyanidines éventuelles et les C - glycosyl - flavones.

Remarque : Après extraction par l'éther, le matériel végétal adhérant aux parois de l'ampoule est éliminé par lavage à l'eau avant l'extraction par le n - butanol.

2-1-2.- : Dosage :

a.- Phase butanolique : (pro) anthocyanes

- . Cette phase est traitée en premier à cause de l'instabilité relative des anthocyanidines. Ces dernières sont dosées au spectrophotomètre au maximum entre 480 et 540 nm. La teneur absolue en proanthocyanidines exprimée comme procyanidine est donnée par la formule suivante :

$$T \text{ (en mg/g)} = \mathcal{N} \frac{D.O.}{\epsilon} \cdot M.V. \cdot \frac{d}{P}$$

où :

$\mathcal{N}$  = Facteur traduisant le rendement de la transformation des proanthocyanidines en anthocyanidines (de l'ordre de 17 %).

D.O. = Densité optique à la longueur d'onde maximale.

V = Volume de la phase acide, en ml.

d = Facteur de dilution, éventuel.

$\epsilon$  = Coefficient d'absorption molaire de la procyanidine (= 347.000).

M = Masse molaire de la procyanidine (M = 306).

P = Poids sec du matériel hydrolyse, en g.

.../...

Soit :

$$T = 5,2 \cdot 10^{-2} \text{ D.O.} \cdot \frac{V \cdot d}{P} \text{ mg/g.}$$

b.- Phase étherée : flavones - flavonols

- Après évaporation à sec, cette phase est reprise par 10 cm<sup>3</sup> d'éthanol à 95°. Quelque cm<sup>3</sup> de la solution éthanolique sont prélevés pour l'analyse en C.L.H.P des flavones - flavonols.
- Le dosage différentiel spectrophotométrique des flavones - flavonols fait intervenir les propriétés chélatantes du chlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub>. Il est donc nécessaire de préparer pour un même échantillon à analyser deux solutions :
  - une solution de référence contenant X cm<sup>3</sup> d'éthanol à 95° + X cm<sup>3</sup> de solution à doser.
  - une solution à mesurer contenant X cm<sup>3</sup> d'AlCl<sub>3</sub> à 0,6 % dans l'éthanol + X cm<sup>3</sup> de solution à doser.
- Le dosage s'effectue 10 minutes après cette préparation, au maximum entre 380 et 440 nm ; la teneur absolue en aglycones exprimée comme quercétine est calculée de la manière suivante :

$$T \text{ (en mg/g)} = \frac{\Delta \text{D.O.}}{\xi} \cdot M \cdot V \cdot \frac{d}{P}$$

où :

DD = Densité optique du pic différentiel

V = Volume de la solution éthanolique d'aglycones, en ml.

d = Facteur de dilution éventuel  $(\frac{x+y}{y})$

ξ = Coefficient d'absorption molaire de la quercétine dans AlCl<sub>3</sub> (= 23.000).

M = Masse moléculaire de la quercétine (M = 302).

P = Poids sec du matériel hydrolysé, en g.

Soit : 
$$T = 1,3 \cdot 10^{-2} \text{ D.O. } \frac{V \cdot d}{p} \text{ mg/g.}$$

2-2.- Protocole expérimental pour les hétérosides : (FIG.4)

2-2-1.- : Extraction :

- 2 grammes de poudre végétale ont été soumis à une première macération de 48 heures dans un mélange éthanol - eau (7-3) (HARBORNE, 1973) à raison de 100 Cm<sup>3</sup> par gramme de végétal, suivie d'une deuxième macération de 1 heure.
- Les phases hydroalcooliques réunies après filtration sont évaporées au rotavapeur. Le résidu sec est repris par l'eau bouillante (100 Cm<sup>3</sup>). Après refroidissement, l'extraction des hétérosides est conduite en ampoule à décanter avec 100 Cm<sup>3</sup> de n-butanol.
- La phase butanolique est ensuite soumise à évaporation sous vide.

2-2-2.- : Dosage :

- Après évaporation à sec de la fraction butanolique contenant les hétérosides (O - glycosides et C - glycosides), le résidu est repris avec 10 Cm<sup>3</sup> de méthanol.
- Le dosage différentiel spectrophotométrique s'effectue sur la solution méthanolique suivant le même procédé que pour les aglycones. Il fait intervenir également les propriétés chélatantes du chlorure d'aluminium.
- L'absorption dans l'ultraviolet est mesurée parallèlement aux colorations fournies par une gamme préparée à l'aide d'une solution de rutine étalon dans le méthanol.

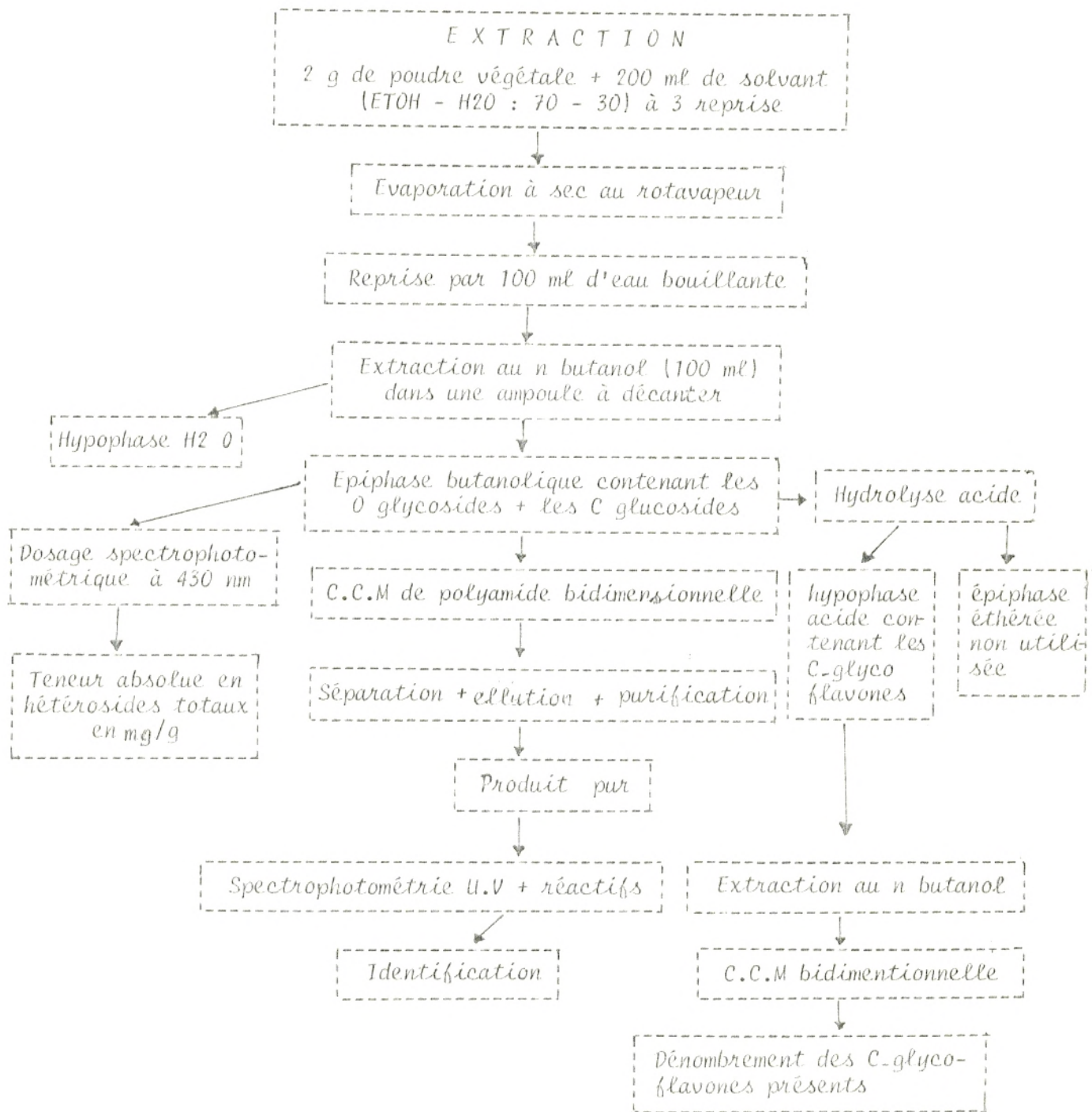


FIG. 4 : SCHEMA REPRESENTANT LES ETAPES D'EXTRACTION, DE DOSAGE ET D'IDENTIFICATION DES HETEROSIDES

- . La densité optique différentielle rapportée à la courbe étalon permet de connaître la concentration en hétérosides et de déduire la teneur du matériel végétal en flavonoïdes totaux exprimée comme rutine (mg/g).

### 2-3.- Téchnique d'analyse structurale

- . Les trois grandes étapes nécessaires à l'analyse structurale sont :
  - La séparation
  - La purification
  - L'identification.

#### 2-3-1.- : Séparation et purification :

- . La technique chromatographique est à la base de la séparation et de la purification des composés flavoniques.
- . quatre types de chromatographie ont été utilisés :
  - La chromatographie sur papier (C.P)
  - La chromatographie sur couche mince (C.C.M)
  - La chromatographie sur colonne de Sephadex
  - La chromatographie liquide à haute performance (C.L.H.P).
- . Comparativement aux chromatographie sur papier, couche mince, la C.L.H.P est une technique d'analyse et de séparation beaucoup plus précise et plus efficace. Surtout du point de vue de la reproductibilité des résultats.
- . Toutefois, en raison du faible coût des manipulations en C.C.M, C.P et sur colonne, ces techniques sont souvent utilisées pour mettre au point les conditions opératoires avant le passage en C.L.H.P.

a.- Chromatographie sur papier (C.P)

- . Le seul support utilisé est le papier WHATMAN n°1.
- . Le dépôt s'effectue toujours sur une ligne située à environ 10 centimètres du bord supérieur de la feuille prise dans le sens longitudinal. La chromatographie est descendante.
- . Les différents solvants de développement utilisés pour les chromatographies sur papier sont les suivants :
  - Pour les anthocyanidines :
    - . Foréstal : Acide acétique/eau/acide chlorhydrique concentré : 30/10/3.
    - . Le développement du chromatogramme dure 16 heures environ.
  - Pour les flavones - flavonols :
    - . Première migration dans l'acide acétique à 2 % pendant 8 heures, pour éliminer les acides phénols et d'une manière générale, les substances les plus hydrosolubles.
    - . Deuxième migration dans l'acide acétique à 60 % pendant 16 heures. C'est la migration proprement dite des flavonoïdes.

b.- Chromatographie sur couche mince (C.C.M):

- . Les C.C.M peuvent être monodimensionnelles ou bidimensionnelles.
- . Nous avons utilisé comme support le polyamide, soit en plaque du commerce (DC17 MERCK) qui présentent l'avantage de donner des taches plus nettes et des valeurs de R<sub>f</sub> plus reproductibles (le R<sub>f</sub> d'une tache est calculé en faisant



le rapport de la distance parcourue par une substance sur la distance au front du solvant), ou des plaques préparées au laboratoire pour cinq grandes plaques 20 x 20 centimètres, il faut mélanger 10 grammes de poudre de polyamide DC. 6 à 55 Cm<sup>3</sup> d'éthanol à 95°. Ce dernier type de plaque est surtout utilisé pour les chromatographies préparatives à partir desquelles nous pouvons délimiter les taches, les gratter et récupérer le support pour élution des composés.

. Les solvants de développement des chromatogrammes sur C.C.M de polyamide sont :

- Pour les flavones - flavonols :

. Migration monodimensionnelle, 2 solvants ont été utilisés,

1.- Benzène/méthanol/méthyl - éthyl - cétone :  
(4/3/3). (JAY et al 1975)

2.- Toluène/dioxane/méthanol/isopropanol :  
(30/15/10/10).

. C'est le premier solvant qui nous a donné le plus de satisfaction en séparant bien les taches en une seule et rapide migration (30 minutes environ).

- Pour les hétérosides flavoniques :

. Migration bidimensionnelle. Solvants utilisés

1.- Dimension organique, ou première migration BENZ/MeOH/Me-Et-Co (4/3/3). Dans ce solvant l'hétéroside migre suivant la nature de son aglycone.

2.- Dimension aqueuse, ou deuxième migration :  
H<sub>2</sub>O/Me - Et - Co/MeOH/Acetyl acétone (+ n-butanol) :  
45/10/15/5 (+ 1 goutte)(JULLIEN 1984).

.../...

- . Dans cette deuxième migration, c'est le nombre de sucres de la fraction hétérosidique qui détermine la vitesse de migration.

c.- Chromatographie sur colonne de Sephadex LH20

- . Cette technique a été utilisée pour la purification des composés isolés à partir des C.C.M de polyamide. En effet le sephadex permet d'éliminer le polyamide et les acides - phénols.
- . La colonne utilisée a un diamètre de 1 centimètre et une hauteur de 40 centimètres. L'élution se fait par le méthanol et le contrôle des fractions isolées grâce à la colonne se fait par spectrophotométrie U.V.

d.- Chromatographie liquide à haute performance (C.L.H.P)

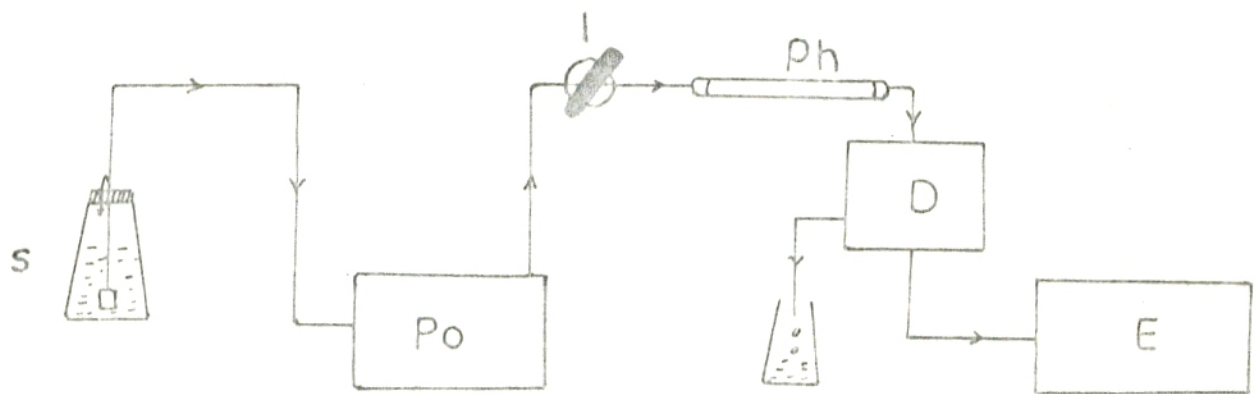
- . La C.L.H.P est actuellement la méthode de choix pour la séparation des composés non volatils tels que les flavonoïdes dans les mélanges complexes (HADJ MAHAMMED 1985). A noter que WARD et PELTER (1974) furent les premiers à appliquer la C.L.H.P à l'étude des flavonoïdes, tandis que WULF et NAGEL (1976) ont été les premiers investigateurs de la séparation des flavonoïdes sur phases inverses.

d.1.- Description de l'appareillage : (FIG.5)

Le système se compose :

- d'un réservoir de solvant,
- d'une pompe : assurant la migration du solvant,
- d'un injecteur : assurant le dépôt de faibles volumes au sommet de la colonne,
- d'une colonne chromatographique,

.../...



S : Phase mobile - mélange de solvants  
 Po : pompe.  
 I ; Vanne d'injection.  
 Ph : Phase stationnaire.  
 D : Détecteur.  
 E : Enregistreur.

FIG. 5 : Schéma d'appareillage C.L.H.P. (in IDRISSE HASSANI, 1985)

- d'un détecteur : situé en bout de colonne couplé à un enregistreur. On choisit la longueur d'onde en fonction des substances.

d.2.- Principe de la technique :

- L'échantillon à analyser est déposé en tête de colonne. La phase mobile va faire migrer les différents constituants de l'échantillon d'autant plus rapidement que leur affinité pour la phase stationnaire est faible.
  - Le solvant doit être approprié aux composés étudiés de façon à obtenir la meilleure résolution possible.
  - Les solvants sont préalablement filtrés sur filtre millipore afin d'éliminer les impuretés solides qui risquent d'encrasser le circuit. Ils sont ensuite dégazés par ultrasons pour empêcher le passage de bulles dans le détecteur.
- Pour les anthocyanes nous avons travaillé dans les conditions suivantes :

Appareillage H.P.L.C - WATERS

Pompe 5.000 A

Détecteur M 440

Colonne : R.P 18 LICHROSORB - MERCK

granulométrie : 5 nm

longueur : 30 cm

Diamètre : 0,4 cm

Solvant : H<sub>2</sub>O - MeOH - Acide acétique : 50/40/10  
régime isocratique.

débit : 1 ml/mn

injection : 20 ul

= 546 nm

sensibilité : 0,02

déroulement du papier : 0,5 cm/mn.

- Pour les aglycones flavoniques :

Appareillage KONTRON H.P.L.C Système 600

Pompe 5.000 A

Détecteur M 440

Colonne : C.18 (silice greffée de chainons de 18  
atomes de carbone) MICROBONDAPAK WATERS.

Granulométrie : 5 nm

Longueur : 30 cm

Diamètre : 0,5 cm

Solvant : H<sub>2</sub>O - MeOH - Acide acétique :  
55/45/05 régime isocratique.

Débit : 1 ml/mn

Injection : 40 µl

356 nm

sensibilité : 0,02

déroulement du papier 0,5 cm/mn.

- Les substances sont caractérisées en C.L.H.P par leur temps de rétention qui correspond au temps écoulé entre le moment de l'injection et celui de l'apparition du maximum du pic d'éluion ; il est directement mesurable sur le chromatogramme.
- Sur les profils C.L.H.P, nous avons mesuré la hauteur des pics qui est une bonne approximation de la teneur en composés correspondants ; à une constante près. Pour chacun des cultivars, nous avons exprimé chaque hauteur de pic en pourcentage de la somme des hauteurs des divers pics. Ceci permet d'obtenir les teneurs relatives de chaque aglycone présent.

2-3-2.- : Identification des composés :

- L'identification structurale repose sur des méthodes physico-chimiques ; elle nécessite des produits purs.

.../...

a.- Les R<sub>f</sub> et fluorescences

- . L'identification des différents composés se fait par comparaison des R<sub>f</sub> et des réactions colorées avec ceux des produits de référence, et avec les données de la littérature. Nous avons réalisé aussi des cochromatographies avec des substances témoins.
- . Les flavones et les flavonols sont visibles sous lumière ultraviolette. En général :
  - une fluorescence jaune indique la présence d'un hydroxyle libre en 3 ; exemple : la quercétine (flavonol).
  - une fluorescence violette présume l'absence d'un hydroxyle libre ou la présence d'un hydrogène en 3 ; exemple : la lutéoline (flavone).
- . Les anthocyanidines, quant à eux, sont visibles en lumière du jour sous forme de tache rouge à violacé.

b.- La C.L.H.P

- . L'injection d'un témoin en C.L.H.P permet par comparaison du temps de rétention, d'identifier le produit avec une bonne certitude, compte-tenu de la haute résolution de cette technique de séparation.

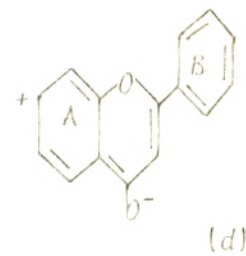
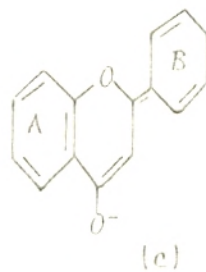
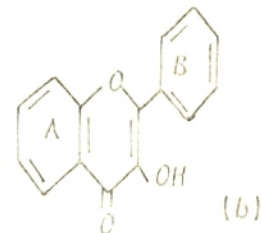
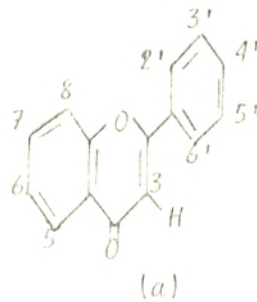
c.- La spectro-photométrie U.V - visible

(spectrophotomètre utilisé, UVIKON 860).

- . La spectrophotométrie est une étape déterminante de l'identification structurale d'un composé, qu'il soit natif ou qu'il résulte d'une hydrolyse acide. L'interprétation des spectres dans le méthanol ou en présence de réactifs s'appuie sur les règles décrites par JURD

(1962) reprises par MABRY et al (1970) et complétées par VOIRIN (1983).

- Le spectre d'absorption ultraviolet des flavones (a) et des flavonols (b) dans l'alcool méthylique présente généralement deux maximums.
- Le premier, situé vers 320 - 380 nm, caractérisant la bande I ; il est attribuable à la forme cinnamoylé (c).
- Le second, vers 240 - 270 nm, la bande II, est attribuable à la forme benzoylé (d).



- La bande II présente des formes et des positions différentes suivant la substitution du phényl latéral. C'est ainsi que les flavones et les flavonols substitués en 4' voient un seul maximum vers 270 nm, alors que la même bande chez les flavonoïdes disubstitués en 3' et en 4', se traduit par deux maximums d'intensité relative et de position variable entre 250 nm et 275 nm.
- La bande I semble plutôt en relation avec le noyau A. COMBIER, in BOUTARD (1972), a montré que l'introduction d'un hydroxyle en 8 produit un effet bathochrome de 13 à 14 nm par rapport à la bande I du flavonol non hydroxyle correspondant

(de plus cette bande présente alors 2 pics). Alors qu'au contraire un hydroxyle en 6 produit en déplacement hypsochrome sur cette même bande I ( $\Delta\lambda = -10$  nm).

• L'emploi des réactifs spécifiques permet de localiser les groupements hydroxyles libres sur la molécule.

- L'acétate de sodium anhydre fondu (NaOAc) : ionise les hydroxyles les plus acides, c'est-à-dire ceux en positions 3',4' et 7. L'ionisation de l'hydroxyle en 7 provoque un déplacement bathochrome de la bande II de 7 à 30 nm.

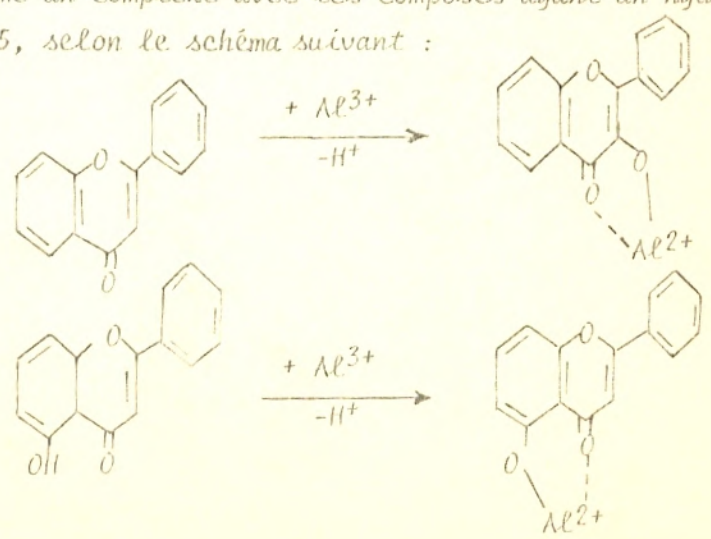
- L'acide borique (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) à 5 % dans le méthanol.

• En présence d'acétate de sodium, forme avec des groupements orthodihydroxylés (en 3' et 4') des complexes qui provoquent un déplacement bathochrome de la bande I de 12 à 30 nm.

- La soude (NaOH, en solution éthanolique environ N/100). Ionise tous les hydroxyles libres, qu'elle que soit leur position sur la molécule, en provoquant un déplacement bathochrome des bandes I et II (de +45 à +65 nm sur la bande I dans le cas d'un hydroxyle libre en 4).

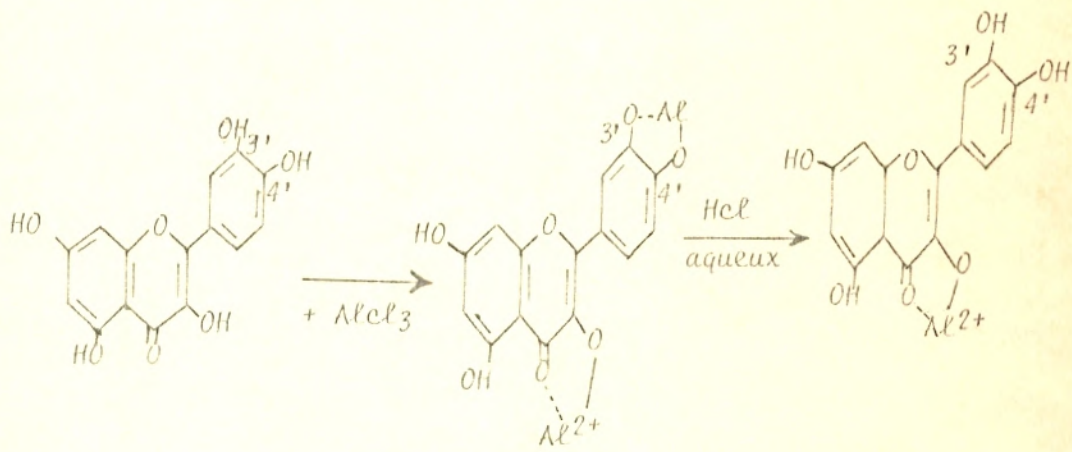
• Un OH libre en 7 peut être marqué au niveau du spectre dans la soude par l'apparition d'une troisième bande ou bande III comprise entre 320 - 335 nm par rapport au spectre de méthanol.

- Le chlorure d'aluminium, (en solution méthanolique à 1 %). Forme un complexe avec les composés ayant un hydroxyle en 3 ou 5, selon le schéma suivant :





- Chacun des pics I et II se dédouble en deux pics avec un effet bathochrome différent. dans le cas de l'hydroxy - 5 flavone , on a un  $\Delta\lambda = + 45 \text{ nm}$  (band I), alors que pour les flavonols,  $\Delta\lambda = + 60 \text{ nm}$  (bande I).
- MABRY et al (1970) ont montré que le chlorure d'aluminium formait, dans le méthanol, un complexe avec les systèmes orthodihydroxylés (3' - 4' dans le noyau B, et 6 - 7 dans le noyau A). Dans ce cas, la présence des deux hydroxyles est mise en évidence par comparaison des spectres obtenus d'une part avec le chlorure d'aluminium seul, et d'autre part avec du chlorure d'aluminium acidifié. L'addition d'acide chlorhydrique détruit en effet le complexe formé avec le groupement orthodihydroxylé et ceci se matérialise sur le spectre par un déplacement hypsochrome de la bande I de 30 à 40 nm dans le cas du système 3' - 4' de 20 à 25 nm dans le cas du système 6 - 7



• Grâce à l'utilisation des réactifs que nous venons de décrire, il est donc possible par spectrométrie U.V et visible de reconnaître le squelette flavonique, et d'identifier la position (numéro du carbone) et la nature (hydroxyle ou hydroxyle substitué) de la plupart de ses substituants.

-°°- C H A P I T R E - III -°°-

-----

-°°- DISTRIBUTION DES FLAVONOÏDES DANS -°°-  
LES PALMES DU PALMIER - DATTIER

-----

- Pour tester la distribution des flavonoïdes dans les palmes du palmier-dattier. Nous avons procédé à leur dosage (proanthocyanidines, flavones - flavonols et hétérosides) :

- A trois niveaux dans une même palme.
- A trois niveaux de la couronne de palmes.

1.- Recherche du niveau le plus riche en flavonoïdes au sein d'une même palme : la palme moyenne.

- Les dosages ont été effectués sur 27 individus appartenant à 9 cultivars.

- Nous avons détaché quelques folioles à 3 niveaux de la palme moyenne :

- Pointe (M<sub>1</sub>)
- Milieu (M<sub>2</sub>)
- Base (M<sub>3</sub>)

- Nous avons dosé les flavonoïdes présents (proanthocyanidines, flavones - flavonols et hétérosides). Nous avons ensuite calculé les moyennes ; écarts-types et coefficients de variabilité pour chaque niveau.

1.- Résultats des dosages :

- Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux n° 1, 2 et 3 par classe structurale de flavonoïdes.

.../...

TABLEAU N° 1 : Teneurs absolues en hétérosides  
à 3 niveaux de la palme moyenne

Culti- var	Palmes		M <sub>3</sub> (mg/g)	M <sub>2</sub> (mg/g)	M <sub>1</sub> (mg/g)
		Palmier			
TAKFR BOUCHT	1		3,45	3,60	4,70
	2		2,50	2,95	4,30
	3		2,65	2,65	2,75
DEGLA KEIDA	4		2,50	3,70	3,90
	5		2,25	3,90	4,10
	6		3,80	3,70	4,50
DEGLET NOUR	7		4,40	5,00	5,70
	8		3,10	4,10	4,15
	9		2,25	2,50	3,40
GHARS	10		2,60	2,50	3,40
	11		2,60	2,70	3,30
	12		3,30	3,70	4,00
TILEM SOU	13		3,40	3,45	3,50
	14		2,00	3,35	4,20
	15		2,00	3,30	3,70
ACHA MOU	16		2,40	3,70	2,60
	17		2,20	2,30	2,70
	18		2,90	3,00	3,38
AHAR TANE	19		2,60	3,30	2,70
	20		2,50	2,60	3,40
	21		2,10	2,60	2,70
TAZAR ZAIT	22		2,10	1,80	3,20
	23		2,00	2,65	2,70
	24		1,70	2,40	2,80
TINA CFUR	25		2,00	2,30	2,80
	26		1,80	2,30	3,50
	27		2,50	2,60	3,11
	$\bar{x}$ mg/g		2,62	3,09	3,64
	$\sigma_1$ mg/g		+ 0,63	+ 0,64	+ 0,72
	$\sigma_2$ %		+ 24 %	+ 21 %	+ 20 %

TABLEAU N° 2 : Teneurs absolues en Flavones - flavonols  
à 3 niveaux de la palme moyenne.

Culti- var	niveau	M <sub>3</sub> (mg/g)	M <sub>2</sub> (mg/g)	M <sub>1</sub> (mg/g)
	Palmier			
TAKER BOUCHT	1	1,43	1,96	2,42
	2	1,73	1,84	2,66
	3	2,02	2,16	2,17
DEGLA BEIDA	4	1,65	1,70	2,11
	5	2,10	2,35	2,46
	6	2,10	2,24	2,47
DEGLET NOUR	7	2,24	2,35	2,59
	8	1,83	1,92	2,06
	9	1,03	1,15	1,47
GHARS	10	1,75	1,93	2,38
	11	1,31	1,80	2,11
	12	1,67	2,08	2,20
TILEM SOH	13	1,89	2,03	2,38
	14	1,05	1,23	1,82
	15	1,10	1,18	2,02
AGHA MOU	16	2,24	2,27	2,89
	17	2,05	2,23	2,26
	18	1,36	1,52	2,00
AHAR TANE	19	1,58	1,66	1,88
	20	1,88	2,18	2,27
	21	1,84	2,21	2,51
TAZAR ZAIT	22	1,50	1,51	1,83
	23	1,70	1,78	1,83
	24	0,92	1,28	2,03
TJNA CEUR	25	1,50	1,54	1,84
	26	1,14	1,75	2,09
	27	1,74	1,82	2,00
	$\bar{x}$ mg/g	1,64	1,83	2,17
	$\sigma_1$ mg/g	+ 0,36	+ 0,35	+ 0,29
	$\sigma_2$ %	+ 22 %	+ 19 %	+ 14 %

TABLEAU N° 3 : Teneurs absolues en Anthocyanidines  
à 3 niveaux de la palme moyenne

Culti- var	niveau	M <sub>3</sub> (mg/g)	M <sub>2</sub> (mg/g)	M <sub>1</sub> (mg/g)
	Palmier			
TAKER BOUCHT	1	6,14	6,62	6,82
	2	5,35	6,28	6,38
	3	4,67	4,99	5,72
DEGLA BEIDA	4	3,92	4,18	4,22
	5	3,69	4,59	5,29
	6	3,46	4,95	5,09
DEGLET NOUR	7	4,22	4,75	6,22
	8	4,42	5,32	5,69
	9	4,39	5,52	6,34
GHARS	10	4,49	5,19	5,39
	11	4,06	5,99	6,81
	12	6,19	6,37	6,48
TILEM SOU	13	5,23	5,42	6,11
	14	2,63	3,45	4,28
	15	4,16	4,16	4,77
AGHA MOU	16	5,14	5,24	6,34
	17	3,40	4,12	4,34
	18	4,02	4,42	4,70
AHAR TANE	19	4,74	4,95	5,34
	20	5,39	5,62	5,72
	21	4,29	6,81	7,42
TAZAR ZATT	22	4,46	6,31	7,11
	23	5,73	6,92	7,58
	24	4,92	5,51	6,20
TINA CEUR	25	5,73	6,33	7,28
	26	4,53	5,09	5,70
	27	4,19	4,32	5,41
	$\bar{x}$ mg/g	4,57	5,31	5,88
	$\sigma_1$ mg/g	+ 0,94	+ 0,89	+ 0,82
	$\sigma_2$ %	+ 20 %	+ 17 %	+ 14 %

- Pour les hétérosides (tableau n° 1), la base de la palme (M<sub>3</sub>) présente la valeur moyenne de 2,62 mg/g, le milieu (M<sub>2</sub>) une valeur de 3,09 mg/g et le sommet (M<sub>1</sub>) 3,64 mg/g. Les coefficients de variabilité sont respectivement de 24, 21 et 20 %.
- D'après les valeurs moyennes il y a une variation de la base vers le sommet.
- Pour les flavones-flavonols (tableau n° 2), la base est à 1,64 mg/g, le milieu à 1,83 mg/g et le sommet à 2,17 mg/g. Les coefficients de variabilité sont 22, 18 et 14 %.
- Pour les anthocyanidines (tableau n° 3), la base est caractérisée par sa teneur moyenne de 4,57 mg/g le milieu est à 5,31 mg/g et le sommet à 5,88 mg/g. Les coefficients de variabilité étant de 16, 17 et 18 % respectivement.
- Donc pour les trois classes structurales de flavonoïdes, nous remarquons que la pointe de la palme est la plus riche en flavonoïdes, ensuite le milieu puis la base. Il y a donc un gradient positif de la base vers le sommet de la palme.
- Il faut toutefois apprécier la validité de ces différences de moyennes par un test statistique de comparaisons de moyennes.

## 2.- Résultat du test statistique de comparaisons de moyennes :

### 2-1.- Constat de la variabilité :

- Nous avons relevé des tableaux précédents des coefficients de variabilité par niveau et par classe structurale de flavonoïdes relativement important (jusqu'à 24 %). Ce fait implique la présence d'une variabilité intraspécifique et par voie de conséquence intercultivar (du moment que nous avons 9 cultivars dans l'échantillonnage). Mais malgré cette variabilité il est à notre avis intéressant de comparer les moyennes deux à deux vu l'homogénéité des coefficients de variabilité pour une même classe structurale comme l'indiquent les valeurs.

- Anthocyanidines : + 16 %, + 17 %, 18 %
- Hétérosides : + 24 %, + 21 %, 20 %
- Flavones-flavonols : + 22 %, + 19 %, 14 %

2-1.- Résultat du test de comparaisons de moyennes :

• Nous avons utilisé pour comparer les moyennes deux à deux le test de STUDENT (SCHWARTZ, 1963).

• Nous avons obtenus les résultats suivants :

- Hétérosides :

- Entre le niveau M<sub>1</sub> et le niveau M<sub>2</sub>, la différence de moyennes (3,64 - 3,09) mg/g est significative avec une valeur de  $t = 3,05$ , ddl = 52, pour  $p < 0,01$ .
- Entre M<sub>1</sub> et M<sub>3</sub> : la différence de moyennes (3,64 - 2,62) mg/g est hautement significative avec  $t = 5,39$ , ddl = 52 pour  $p < 0,01$ .
- Entre M<sub>2</sub> et M<sub>3</sub>, la différence de moyennes (3,09 - 2,62) mg/g est significative avec  $t = 2,65$ , pour une ddl = 52 avec  $p < 0,01$ .
- C'est donc le niveau M<sub>1</sub> qui est le plus riche en hétérosides.

- Les Anthocyanidines :

- Entre M<sub>1</sub> et M<sub>3</sub>, la différence de moyennes (5,88 - 4,57) mg/g est significative pour  $t = 5,45$ , ddl = 52,  $p < 0,01$ .
- Entre M<sub>1</sub> et M<sub>2</sub>, la différence de moyennes (5,88 - 5,31) mg/g est significative pour  $t = 2,28$ , ddl = 52  $p < 0,05$ .
- Entre M<sub>2</sub> et M<sub>3</sub>, la différence (5,31 - 4,57) mg/g est significative avec  $t = 3,10$ , ddl = 52  $p < 0,01$ .

.../...



. Le niveau M<sub>1</sub> est donc le plus riche en anthocyanidines.

- Flavones - flavonols :

. Entre le niveau M<sub>1</sub> et M<sub>2</sub>, la différence de moyennes (2,17 - 1,83) mg/g est significative avec  $t = 4,25$ , ddl 52  $p < 0,01$ .

. Entre le niveau M<sub>1</sub> et M<sub>3</sub>, la différence de moyennes (2,17 - 1,64) mg/g est significative pour  $t = 5,82$ , ddl = 52  $p < 0,01$ .

. Entre M<sub>2</sub> et M<sub>3</sub>, la différence (1,83 - 1,64) mg/g n'est pas significative, le  $t = 1,91$  est inférieur à celui de la table des  $t$  de STUDENT.

. Donc le niveau M<sub>1</sub> est le plus riche en flavones flavonols, les différences entre M<sub>2</sub> et M<sub>3</sub> étant moins sensibles.

. Les résultats du test de comparaisons de moyennes confirment bien la différence de teneurs absolues en anthocyanidines, flavones - flavonols et hétérosides entre la pointe, le milieu et la base de la palme.

3.- Discussion des résultats :

. La lignification de la palme chez le Phoenix dactylifera L., débute à la base s'intensifie puis progresse vers le milieu pour arriver à la pointe au stade de senescence de la feuille. Nous rappelons que la lignification est synonyme de "mort" physiologique des tissus. Le sens de la lignification est donc de la base vers la pointe.

. TISSUT (1968) indique que la cinétique de la lignification montre une discordance marquée avec celle de la formation des flavonoïdes et des acides cinnamiques. Il est possible que la synthèse de

.../...



La lignine mettant en jeu d'importantes quantités de substances de type phényl-propane entre plus ou moins en compétition avec la production de flavonoïdes. La FIG (6) d'après HARBORN (1980) nous montre que de l'acide p-hydroxycinnamique, formé à partir de la désamination de l'acide aminé aromatique, partent deux voies de biosynthèse, l'une aboutissant à la formation de la lignine l'autre à la formation de flavonoïdes.

- Donc lorsque l'une des deux voies est fonctionnelle la deuxième peut être déprimée par manque de précurseurs. L'activation de l'une des deux voies est sous la dépendance de facteurs physiologiques.
- Etant donné que pour le palmier-dattier la lignification se fait du bas vers la pointe de la palme.
- Il faut s'attendre à ce que les teneurs absolues les plus fortes en flavonoïdes soient localisées à la pointe de la palme et c'est bien ce que nous observons.
- En plus, l'éclairement au sein de la palme n'a pas lieu de façon uniforme. La pointe par sa position externe reçoit le maximum de lumière, à l'opposé de la base qui est la moins éclairée car elle est cachée par le reste de la couronne de palmes. Sachant que le niveau de l'éclairement est un facteur limitant de la synthèse des flavonoïdes, selon BASSLER (1957 in DELAVEAU 1967), la lumière agirait quantitativement en intensité et en durée, nous sommes tentées de dire que ceci pourrait constituer une autre raison de la déviation de la voie de biosynthèse vers le sens de la formation de la lignine qui a lieu à la base de la palme.

.../...

II.- Recherche du niveau le plus riche en flavonoïdes dans la couronne de palmes :

. Pour cette partie nous avons procédé au dosage des anthocyanidines flavones - flavonols et hétérosides sur les palmiers étudiés dans la partie précédente, mais le dosage a été effectué à trois niveaux de la couronne de palmes :

- Dans la partie moyenne de la palme interne
- Dans la partie moyenne de la palme médiane
- Dans la partie moyenne de la palme externe.

1.- Résultats des dosages :

. Les teneurs absolues pour chaque palme et au sein de chaque palmier ont été regroupés dans les tableaux n° 4, 5, et 6 par classe structurale de flavonoïdes. Nous avons calculé pour chaque groupe, la moyenne l'écart type et le coefficient de variabilité.

TABLEAU N° 4 : Teneurs absolues en hétérosides au niveau des trois palmes

Culti- var	Palmes		Externe (mg/g)	Moyenne (mg/g)	Interne (mg/g)
		Palmier			
TAKER BOUCHT	1		5,00	3,60	2,40
	2		5,30	2,95	3,70
	3		3,60	2,65	2,70
DEGLA BEIDA	4		4,30	3,20	-
	5		4,75	3,90	2,50
	6		5,30	3,70	3,40
DEGLET NOUR	7		5,70	5,00	3,40
	8		4,00	4,10	2,10
	9		4,30	2,50	3,65
GHARS	10		3,50	2,50	2,90
	11		3,50	2,70	2,40
	12		4,40	3,70	2,10
TILEM SOU	13		4,20	3,45	2,80
	14		5,10	3,35	2,20
	15		6,10	3,30	3,40
AGHA MOU	16		5,20	3,70	2,30
	17		3,30	2,30	2,30
	18		4,30	3,00	3,20
AHAR TANE	19		4,5	3,30	2,70
	20		5,1	2,60	2,50
	21		3,2	2,60	2,30
TAZAR ZAIT	22		3,6	2,80	3,10
	23		2,8	2,65	2,20
	24		3,1	2,40	2,60
TINA CEUR	25		3,3	2,30	1,60
	26		4,3	2,30	2,60
	27		3,7	2,60	2,70
	$\bar{X}$ (moyenne) (mg/g)		4,27	3,09	2,68
	$\sigma_1$ (écart type) mg/g		$\pm 0,85$	$\pm 0,64$	$\pm 0,52$
	$\sigma_2$ (coefficient de variabilité)		$\pm 20\%$	$\pm 21\%$	$\pm 19\%$

TABLEAU N° 5 : Teneurs absolues en anthocyanidines  
au niveau des trois palmes

Culti- var	Palmes		Externe (mg/g)	Moyenne (mg/g)	Interne (mg/g)
		Palmier			
TAKER BOUCHT		1	7,12	6,62	3,51
		2	6,58	6,28	4,95
		3	7,22	4,99	3,29
DEGLA BEIDA		4	5,11	4,18	-
		5	6,22	4,59	3,46
		6	6,75	4,95	3,69
DECLET NOUR		7	7,38	4,75	5,19
		8	6,85	5,32	4,85
		9	6,47	5,52	5,18
GHARS		10	5,52	5,19	4,19
		11	7,68	5,99	4,72
		12	8,12	6,37	2,78
TILEM SOU		13	7,42	5,42	4,54
		14	5,78	3,45	3,07
		15	5,38	4,16	4,06
AGHA MOU		16	6,61	5,24	4,80
		17	4,74	4,12	2,02
		18	5,27	4,42	3,45
AHAR TANI		19	5,89	4,95	3,59
		20	6,00	5,62	2,60
		21	8,61	6,81	4,86
TAZAR ZAIT		22	8,51	6,31	4,63
		23	9,05	6,92	5,62
		24	7,11	5,51	3,40
TINA CEUR		25	7,28	6,33	4,97
		26	5,99	5,09	4,55
		27	5,99	4,32	4,80
		$\bar{x}$ (mg/g)	6,69	5,31	4,10
		$\sigma_1$ (écart type) (mg/g)	+ 1,09	+ 0,89	+ 0,90
		$\sigma_2$ (coefficient de variabilité) %	+ 16 %	+ 17 %	+ 22 %

TABLÉAU N° 6 : Teneurs absolues en flavones -  
flavonols au niveau des 3 palmes

Culti- var	Palmes			
	Palmier	Externe (mg/g)	Moyenne (mg/g)	Interne (mg/g)
TAKER BOUCHT	1	2,38	1,96	1,68
	2	2,70	1,84	2,40
	3	2,18	2,16	1,70
DEGLA BETDA	4	2,57	1,70	-
	5	2,51	2,35	2,39
	6	2,60	2,24	1,81
DEGLET NOUR	7	2,61	2,35	2,43
	8	2,84	1,92	2
	9	2,07	1,15	1,00
GHARS	10	2,38	1,93	1,43
	11	2,63	1,80	2,04
	12	2,35	2,08	1,62
TILEM SOH	13	2,80	2,03	2,33
	14	1,88	1,23	1,60
	15	2,96	1,18	1,56
AGHA MOU	16	2,98	2,27	1,72
	17	2,44	2,23	2,24
	18	2,17	1,52	1,03
AHAR TANE	19	2,76	1,66	1,80
	20	2,94	2,18	1,70
	21	2,53	2,21	2,31
TAZAR ZAIT	22	2,10	1,51	1,65
	23	1,98	1,73	1,63
	24	2,10	1,28	1,22
TINA CEUR	25	2,03	1,54	1,21
	26	2,58	1,75	1,91
	27	2,19	1,82	1,41
$\bar{x}$ moyenne (mg/g)		2,45	1,83	1,76
$\sigma_1$ (écart réduit) (mg/g)		+ 0,09	+ 0,35	+ 0,40
$\sigma_2$ (coefficient de variabilité %)		+ 4 %	+ 19 %	+ 22 %

- . Pour les hétérosides (tableau n° 4), la palme externe est caractérisée par une valeur moyenne de 4,27 mg/g, la palme médiane par 3,09 mg/g et 2,68 mg/g pour la palme interne. Les coefficients de variabilité sont de 20, 21 et 19 %.
- . Pour les anthocyanidines (tableau n° 5), la palme externe a pour teneur absolue moyenne 6,69 mg/g, la palme médiane 5,31 mg/g et la palme interne 4,10 mg/g. Les coefficients de variabilité sont respectivement 16, 17 et 22 %.
- . Les flavones - flavonols (tableau n° 6), comme valeur moyenne pour la palme externe 2,45 mg/g, la palme médiane : 1,83 mg/g et 1,76 mg/g pour la palme interne. Les coefficients de variabilité sont 4,19 et 22 %.
- . Pour les trois classes structurales de flavonoïdes, la palme externe renferme les teneurs absolues les plus élevées, puis la palme médiane et enfin la palme interne avec les teneurs absolues les plus faibles. Il y a donc un gradient positif allant du centre vers l'extérieur de la couronne. Néanmoins nous avons cherché à éprouver cette constatation par des tests statistiques de comparaisons de moyennes.

2.- Résultat du test statistique de comparaisons de moyennes :

- . La comparaison des moyennes par le test de STUDENT nous donne les résultats suivants :

- Pour les hétérosides :

- . Entre la palme externe et médiane, la différence de moyennes (4,27 - 3,64) mg/g est significative avec  $t = 2,91$ , ddl = 52 pour  $p < 0,01$ .

.../...



- . Entre la palme externe et interne, la différence de moyennes (4,27 - 2,68) mg/g est significative avec  $t = 8,19$ , ddl = 52 avec  $p < 0,001$ .
- . Entre la palme médiane et interne, la différence de moyennes (3,64 - 2,68) mg/g est aussi significative avec  $t = 5,48$ , ddl = 52,  $p < 0,01$ .
- . Donc c'est la palme externe qui est la plus riche en hétérosides.

- Les anthocyanidines :

- . Entre la palme externe et interne, la différence de moyennes (6,69 - 4,10) mg/g est significative avec  $t = 9,25$ , ddl = 52,  $p < 0,01$ .
- . Entre la palme externe et médiane, la différence de moyennes (6,69 - 5,31) mg/g est significative pour  $t = 5,11$ , ddl = 52,  $p < 0,01$ .
- . Entre la palme médiane et interne, la différence de moyennes (5,31 - 4,10) mg/g est significative pour  $t = 4,84$ , ddl = 52,  $p < 0,01$ .
- . Donc pour les anthocyanidines, c'est la palme externe qui est la plus riche.

- Flavones - flavonols :

- . Entre la palme externe et interne, la différence de moyennes (2,45 - 1,76) mg/g est significative avec  $t = 7,66$ , ddl = 52, pour  $p < 0,01$ .
- . Entre la palme externe et médiane, la différence de moyennes (2,45 - 1,83) mg/g est significative avec  $t = 6,81$ , ddl = 52, pour  $p < 0,01$ .

- . Entre la palme médiane et interne, la différence de moyenne (1,83 - 1,76) mg/g, n'est pas significative, car le "t" trouvé (0,66) est inférieur au "t" de la table de STUDENT.
- . Donc pour les flavones - flavonols c'est la palme externe qui est la plus riche.
- . En regroupant les résultats statistiques obtenus pour les différentes classes structurales de flavonoïdes, nous avons bien; la confirmation que la palme externe est la plus riche en flavonoïdes.

### 3.- Discussion des résultats :

- . Au cours de son cycle de vie, la feuille passe par trois stades qui sont la morphogénèse, la maturation et la sénescence.
- . Les palmes (interne, moyenne et externe) qui ont fait l'objet de notre étude avaient toutes le jour du prélèvement un "limbe" déployé et découpé en folioles (on sait que la palme très jeune a un limbe plié non encore découpé).
- . Nous pouvons donc estimer qu'elles avaient dépassé le stade morphogénétique initial.
- . Mais morphologiquement, il existe une différence de taille entre les trois palmes, la palme externe étant la plus grande donc la plus développée, ces palmes n'ont pas été initiées en même temps. Il y avait lors du prélèvement au moins deux palmes séparant les palmes étudiées. De plus l'initiation des palmes au niveau du bourgeon terminal se fait tous les 15 jours (BOUGUEDOURA, 1979).
- . Donc à partir de cette différence morphologique, nous pouvons situer la palme interne et moyenne dans le stade de maturation

(la palme moyenne étant plus avancée dans ce stade que la palme interne) alors que la palme externe correspond à l'achèvement du stade de maturation ; elle aborderait le stade final qui est celui de la sénescence. A noter que le jour du prélèvement, cette palme ne présentait cependant pas de signes apparents indicatifs de la sénescence ; elle était encore chlorophyllienne donc physiologiquement active.

- . D'après TISSUT (1968), la fin de la vie de la feuille est caractérisée par une forte production de flavonoïdes.
- . DELAVEAU (1967), pour sa part, nous révèle que la teneur des flavonoïdes s'accroît dans le même sens que la masse de matière végétale. En effet la synthèse des flavonoïdes dépend de la photosynthèse et par voie de conséquence est fonction de la surface exposée à la lumière.
- . Ces deux arguments peuvent expliquer le fait que la palme externe soit la plus riche en flavonoïdes.
- . En effet c'est une palme qui prépare son entrée en sénescence ; étant plus développée que les deux autres palmes, elle présente donc un poids de matière végétale plus élevé. Poids (de feuille) et teneur (flavonique) étant maximales, à plus forte raison en est-il de même de la quantité (flavonique) présente par unité morphologique foliaire.
- . A la fin de cette étude sur la distribution quantitative des flavonoïdes au sein des palmes du palmier-dattier, nous ferons une mise au point concernant la nature des composés flavoniques présents dans les parties de la couronne de palmes étudiés. Nous pouvons signaler que du point de vue qualitatif, les chromatogrammes que ce soit sur C.C.M de polyamide ou sur C.P n'ont montré aucune différence sensible entre eux.









Données :

Interprétation :

- Fluorescence violette sous lumière ultra violette. - C-3 : H ou OH substitué

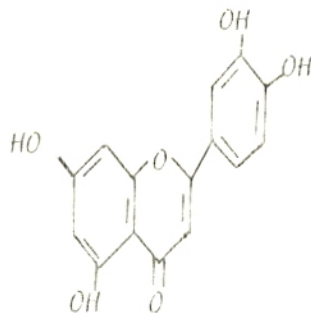
- MeOH { bande I, 245.5 nm - laisse soupçonner une flavone disubstituée en 3' - 4'.  
bande II, 2 pics : 251-266.3 nm - Noyau B disubstitué en 3' - 4'.

- AlCl<sub>3</sub> : bande I = 422 nm }  
- HCl : bande I = 385.5 nm }  $\Delta\lambda = 36.5$  nm - Système O-di OH sur noyau B en 3' et 4'.

- NaOAc : bande II = 269.5 nm  
 $\Delta\lambda = 24$  nm - OH libre en 7  
(avec bande II MeOH)

- NaOH : existence d'une bande III = 312 nm - OH libre en 7

. D'après l'interprétation du spectre U.V la structure du composé 3 correspond bien à celle de la lutéoline :



Lutéoline : (Tétra hydroxy, 3', 4', 5,7 flavone).

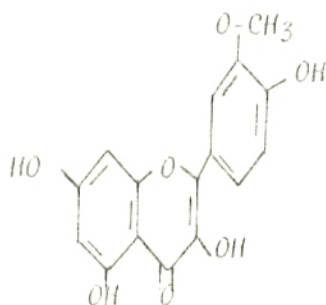
3.- Composé n° 5 :

. Le comportement chromatographique de ce composé est le suivant :

- Fluorescence jaune - C-3 : OH, c'est donc un flavonol avec OH libre en 3 et 5.



- C.P : Whatman n° 1 (solvant AcOH 60 %)  $R_f = 0,35$ .
- C.C.M : polyamide DC11 (MERCK) solvant : BENZ/MeOH/MeEto (4/3/3)  $R_f = 0,40$ . Même  $R_f$  que le témoin isorhamnétine, avec toutefois une incertitude car le témoin Kaempferol présente un  $R_f$  qui est très proche de celui de l'isorhamnétine.
- C.L.H.P : dans ce système chromatographique le composé 5 à le même temps de rétention que le témoin isorhamnétine ( $t = 36,8$  mn).
- . Cette caractéristique chromatographique écarte toute confusion avec le Kaempferol qui est apparu en C.L.H.P en un pic juste avant l'isorhamnétine avec un temps de rétention  $t = 32,5$  mn.
- . La formule générale du composé 5 est donc :



Isorhamnétine : méthyl - 3 quercétin ou méthoxy 2 tétra hydroxy 3', 4', 5 7 flavone.

#### 4.- Composé n° 6 :

. En chromatographie, le composé 6 présente les caractéristiques suivantes :

- C.C.M de polyamide DC11 (MERCK) solvant BENZ/MeOH/MeEto (4/3/3),  $R_f = 0,62$ .
- C.P Whatman n° 1 solvant AcOH 60 %  $R_f = 0,60$ .

- Cochromatographie avec le chrysoeriol : 1 seule tache
- C.L.H.P même temps de retention que le témoin chrysoeriol  
t = 40.5 mn.

- Spectre U.V et visible (FIG.10)

- MeOH : 242 - 247 Ep. 268 (1.231) 346.0 (1.227)
- AlCl<sub>3</sub> : 260 - 274.5 (1.086) 297.5 -0.666) 364.5  
(0.785) 391.5 (0.844).
- AlCl<sub>3</sub>/Hcl : 259.5 (0.975) 275.0 (0.991) 354.0 (0.769)  
385.5 (0.782).
- NaOH : 264.5 (1.499) 275 - 328.0 (0.723) 411.5 (1.608)
- NaOAc : 271.5 (0.771) - 321.0 (0.517) 394
- NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : 268.5 (0.701) - 349.0 (0.601).

Données :

Interprétation

- Fluorescence violette sous lumière ultra violette - C - 3 : H
- MeOH : bande I = 346 nm - pas de OH libre en 3, laisse soupçonner une flavone.
- MeOH : bande I = 346 nm }  
- AlCl<sub>3</sub> : bande I = 391.5 nm } { Δλ = 45.5 nm - oH libre en 5
- AlCl<sub>3</sub>/Hcl : bande I = 392 nm } Δλ = n'est pas } - pas de système di-oH  
{ significative } libre dans la molécule
- NaOH : bande III = 328 nm
- NaOAc : bande II = 271.5 } Δλ = 29.5 nm } - oH libre en 7  
{ avec bande II }  
{ méthanol }  
: bande I = 394 } Δλ = 48 nm } - oH 4' libre  
{ avec bande I }  
{ méthanol }

.../...

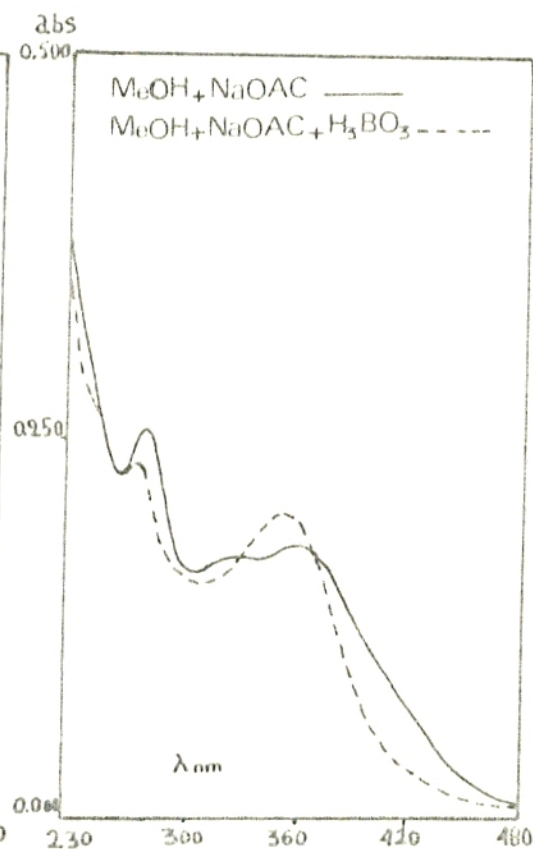
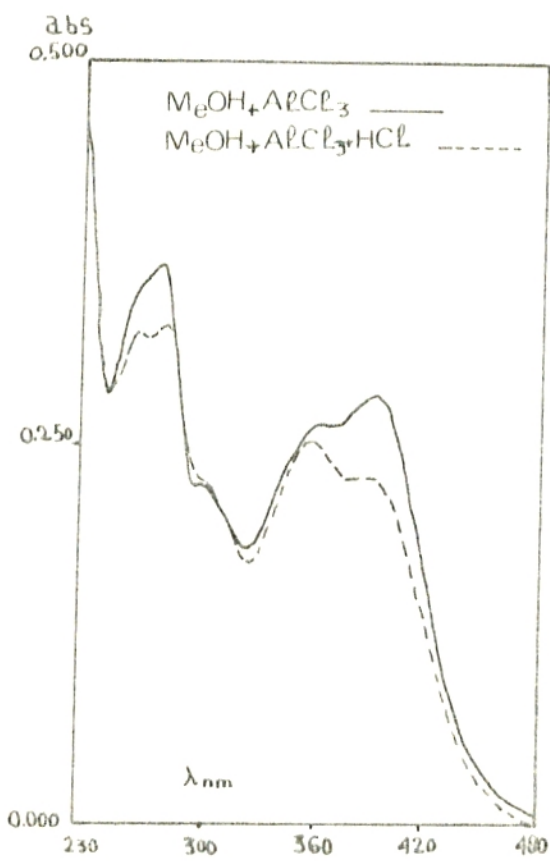
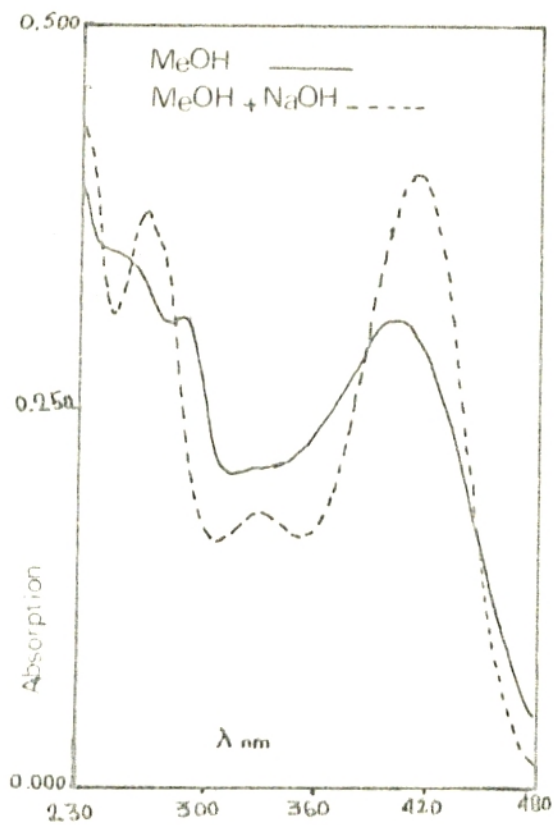


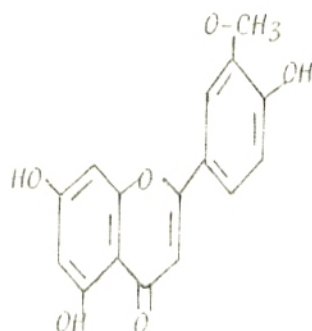
FIG 10 : SPECTRE U.V ET VISIBLE DU CHRYSOERIOL

- NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : bande I = 349 nm  $\Delta\lambda = + 3$  nm - pas de déplacement  
(avec bande I) significatif.  
MeOH (

- pas de système orthodi  
OH dans la molécule.

- La présence de 2 pics dans MeOH (241 et 269 nm) et le fort déplacement de la bande I avec NaOAc et NaOH font soupçonner le chrysoeriol.

. Le composé 6 a donc pour formule.



Chrysoeriol : méthyl - 3 luté-  
oline, ou tri hydroxy 4, 5, 7,  
méthoxy 3 flavone.

. Ce composé est en faible teneur par rapport aux autres flavones.

#### 5.- Composé n° 7 :

. C.C.M de polyamide DC11 (MERCK) solvant : BENZ/MeOH/  
MeFco (4/3/3) R<sub>f</sub> = 0,47.

. C.P Whatman n° 1 ; solvant AcOH 60 %, R<sub>f</sub> = 0,75.

. La cochromatographie avec la tricine donne une seule tâche .

. C.L.H.P même temps de rétention que le témoin tricine t = 40,5 mn.  
Ce temps est aussi le même que celui du chrysoeriol. C'est ce qui explique le fait que les composés 6 et 7 bien séparés en C.C.M apparaissent confondus en un seul pic en C.L.H.P cela a été vérifié par cochromatographie avec les témoins chrysoeriol et tricine en C.L.H.P.

Spectre u.v et visible (FIG. 11)

- MeOH : 246 - 269 (0.892) 295 Ep. 349 (1.046)
- AlCl<sub>3</sub> : 257 (0.827) 276.5 (0.930) 304 (0.608)  
367.5 (0.892) 395 (0.965).
- AlCl<sub>3</sub>/HCl : 256.5 (0.746) 277.5 (0.867) 303 (0.606)  
358 (0.807) 392 (0.785).
- NaOH : 262.5 (1.116) 275 Ep. 323 (0.514) 416  
(1.248).
- NaOAc : 265 - 275 (0.8781) 316.5 (0.528) 410.
- NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : 270.0 (0.653) 305 Ep; 352 (0.618) 425 Ep.  
480.5 (0.043) Ep.

Données :

Interprétation :

- Fluorescence violette sous lumière ultra violette
- C - 3 : H
- MeOH : bande I = 349 nm - Laisse soupçonner une flavone, pas d'OH libre en C-3
- MeOH : bande I = 349 nm }  
- AlCl<sub>3</sub> : bande I = 395 nm } Δλ = + 46 nm - OH libre en 5  
- AlCl<sub>3</sub>/HCl : bande I = 392 nm } Δλ = - 3 nm - Non significative pas de système orthodi OH libre dans la molécule
- NaOH : bande I = 416 nm Δλ = 67 nm - OH libre en 4'.  
(avec bande I)  
) MeOH (
- NaOAc : bande III = 323 )  
- NaOAc : bande II = 265 nm Δλ = + 19 nm } - OH libre en 7.  
(avec bande I)  
) MeOH (
- NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : bande I = 352 nm Δλ = + 3 nm - Non significative  
(avec bande I)  
) MeOH ( - pas de système orthodi OH dans la molécule.

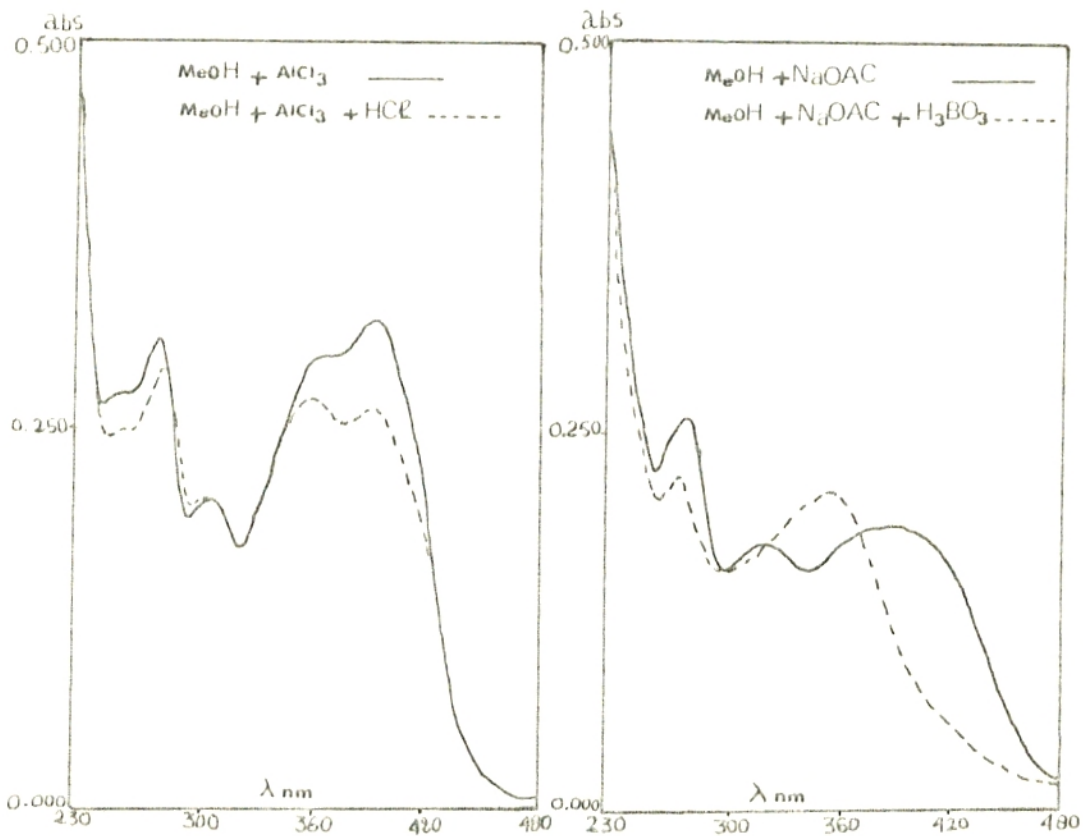
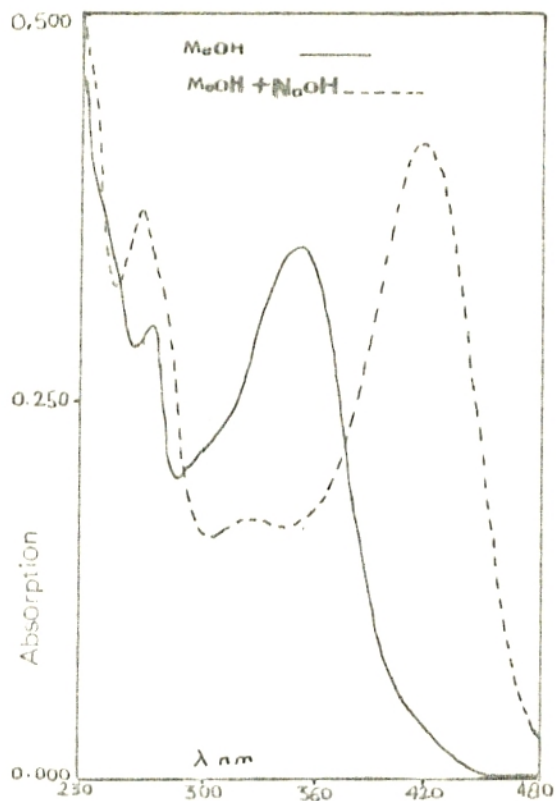
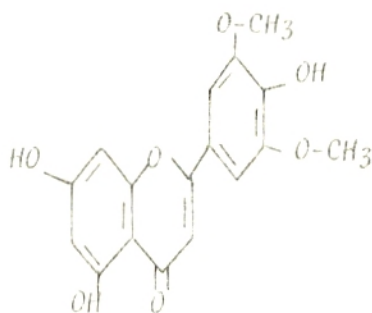


FIG 11 : SPECTRE U.V ET VISIBLE DE LA TRICINE

- Le très fort déplacement avec NaOAc et NaOH de la bande T font soupçonner la tricine.
- D'après les données chromatographiques et spectrophotométriques U.V et visible la formule du composé 7 est la suivante :



Tricin : trihydroxy 4', 5, 7 diméthoxy - 3', 5' flavone.

- Les composés : 1, 4, 8 et 9, par leur fluorescence qui va du vert (1) bleu (4 et 8) bleu violet (9), laissent à penser qu'il s'agit d'acides phénols ou bien de flavones sans OH libre en 5 ou des flavonols sans OH libre en 5 et en 3.

-  $R_f = 0,10$  pour le composé 1 sur C.C.M de polyamide DC11 solvant BENZ/MeOH/MeEto (4/3/3).

-  $R_f = 0,28$  pour le composé n° 4 dans le même système chromatographique que précédemment. La  $\lambda_M = 268$ , relevée sur le spectre dans le méthanol (FIG.19) permet d'identifier ce composé à l'acide parahydroxy benzoïque de formule générale :



- ASSEF (1987) a déjà signalé la présence de cet acide phénol dans les racines du palmier-dattier.

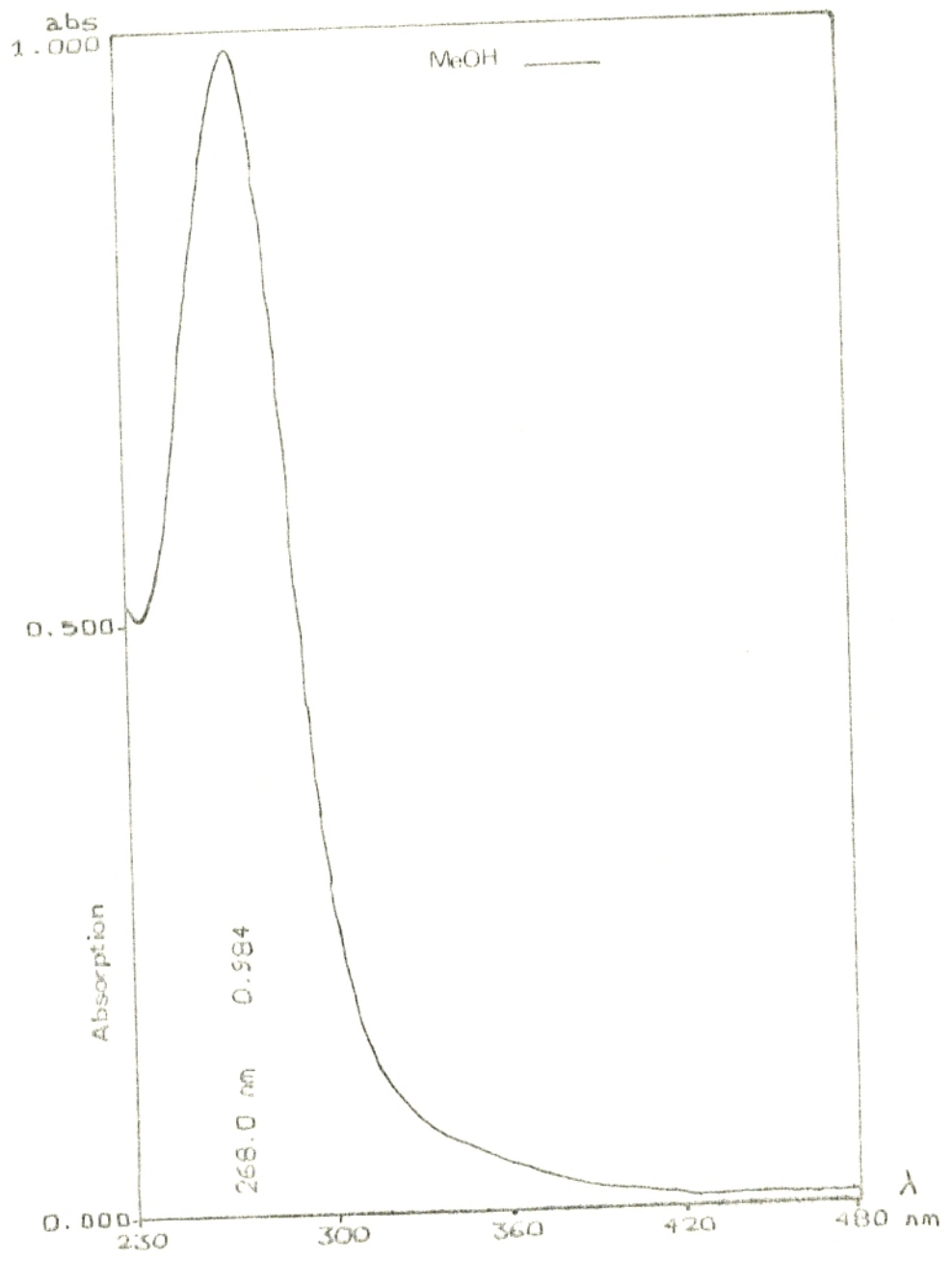
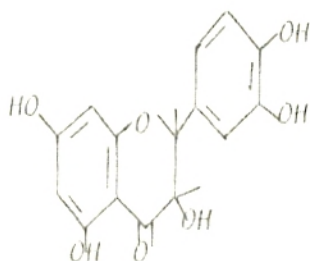


FIG 12 : Spectre U.V. du p-hydroxy benzoïque



- $R_f = 0,60$  pour le composé n° 8 et  $R_f = 0,70$  pour le composé 9. Faute de renseignements supplémentaires ces acides phénols n'ont pas pu être identifiés.
- . Sur le profil C.L.H.P de l'extrait éthanolique des flavones flavonols (FIG.13), en plus des pics correspondant aux composés flavoniques séparés sur C.C.M de polyamide et sur chromatographie sur papier cités plus haut, nous avons noté l'apparition d'un pic assez important qui se situe avant celui de la quercétine. Le temps de rétention de ce composé est identique à celui d'un témoin : la taxifoline.
- . On en déduit que le palmier-dattier renferme un flavanonol : la taxifoline qui est la dihydro quercétine, de formule :



Taxifoline

B.- Analyse structurale des formes hétérosidiques natives du palmier-dattier :

- . A travers l'ensemble des études des extraits bruts des hétérosides des 9 cultivars en chromatographie bidimensionnelle sur couche mince de polyamide dans le système de solvant suivant :

1)- BENZ/MeOH/MeEto : (4/3/3)

2)- H<sub>2</sub>O/MeOH/MeEto/ACAcO/n BuOH : 45/15/10/5 + 1 goutte.



Colonne Micro-Bondapak C-18

Solvant Isocratique

MeOH-H<sub>2</sub>O-AcOH

45 - 55 - 5

1 ml.min<sup>-1</sup>

0,5 Cm = 1 mn

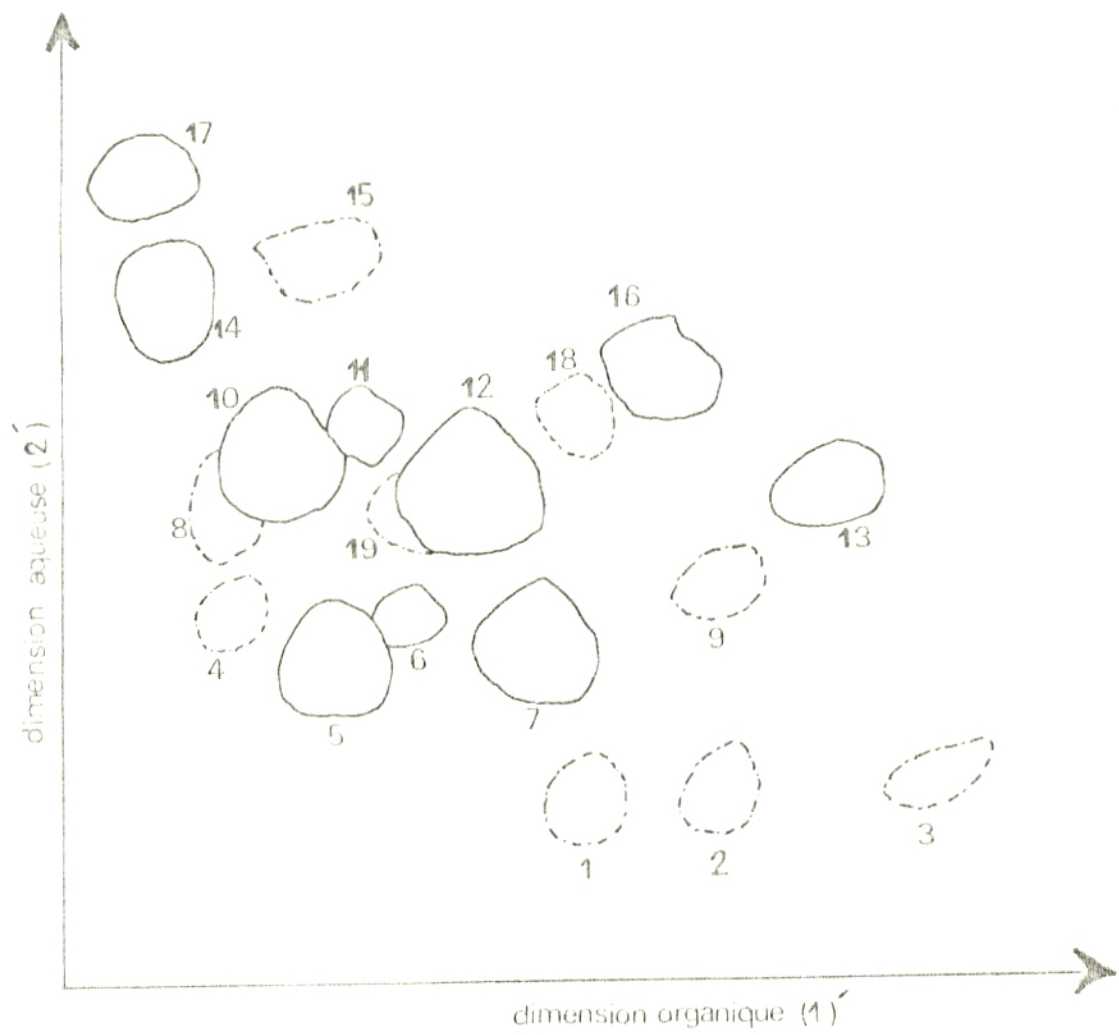
Détection : 365 nm

Calcul : en % à partir des hauteurs de pics

FIG 13 : PROFIL C.L.HP DES AGLYCONES FLAVONIQUES DU PALMIER-DATTIER (CULTIVAR AGHAMOU).

FIG 14 : Resultat de la chromatographie bidimensionnelle sur couche mince de polyamide des heterosides flavoniques du palmier dattier

Solvant : 1' - BENZ - MeOH - MeEtco (4/3/3)  
2' - H<sub>2</sub>O - MeOH - MeEtco - ACACo - nBuOH (45/15/10/5 + 1 jour)



—— composé abondant .  
----- composé peu abondant .

- Nous avons pu établir une chromatographie synthétique du palmier-dattier (FIG.14) avec 19 composés qui sont en quantités plus ou moins importantes. C'est pour cette raison que nous n'avons pu identifier que les composés majeurs.
- L'identification des hétérosides a été réalisée de la même façon que pour les aglycones. C'est-à-dire par les données chromatographiques ( $R_f$ , couleur) et par spectrophotométrie U.V et visible. Sachant que la glycosidification modifie très peu ou pas du tout le  $R_f$  dans le solvant organique mais l'augmente dans le solvant aqueux en fonction du nombre de sucre (RTBEREAU-GAYON 1969).

1.- Composé 5 :

• La C.C.M bidimensionnelle sur polyamide DC6 dans le solvant cite plus haut (1,2) nous fournit les renseignements suivant :

- Le composé dans la première migration, dimension aqueuse, le composé se comporte comme un monoside.
- En outre l'hydrolyse acide du composé libère la quercétine comme aglycone (identifié par comparaison de  $R_f$  et utilisation d'étalons).

Spectre U.V et visible (FIG.15) du composé :

MeOH	: 256.0 (1.438)	270 Fp.	291.5 (0.630)	355.5 (1.112)
AlCl <sub>3</sub>	: 273.5 (1.301)	300 Fp.	330.0 (0.360)	423.0 (0.880)
AlCl <sub>3</sub> /HCl	: 267.5 (1.091)	300 Fp.	358.0 (0.645)	392.0 (0.596)
NaOH	: 271.5 (1.160)	316.5 (0.425)	407.5 (0.949)	
NaOAC	: 269.0 (1.000)	316.5 (0.025)	370.0 (1.600)	
NaOAC/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	: 260.5 (1.850)		379 (0.856)	

.../...

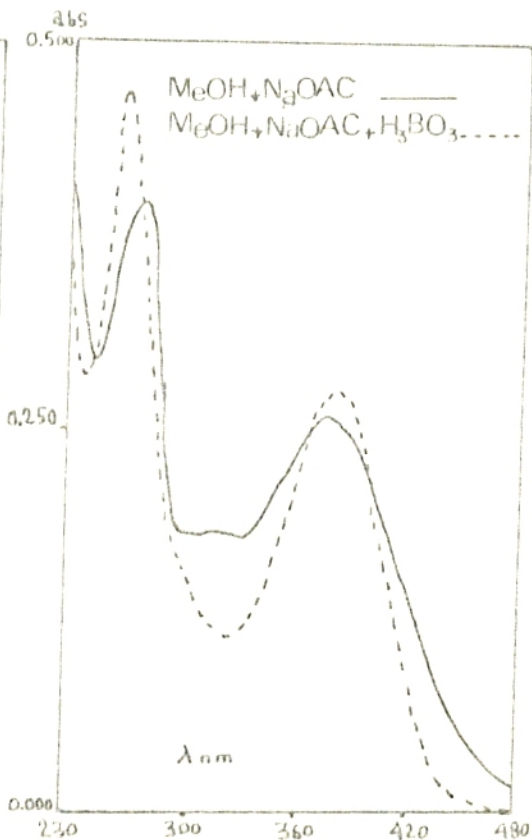
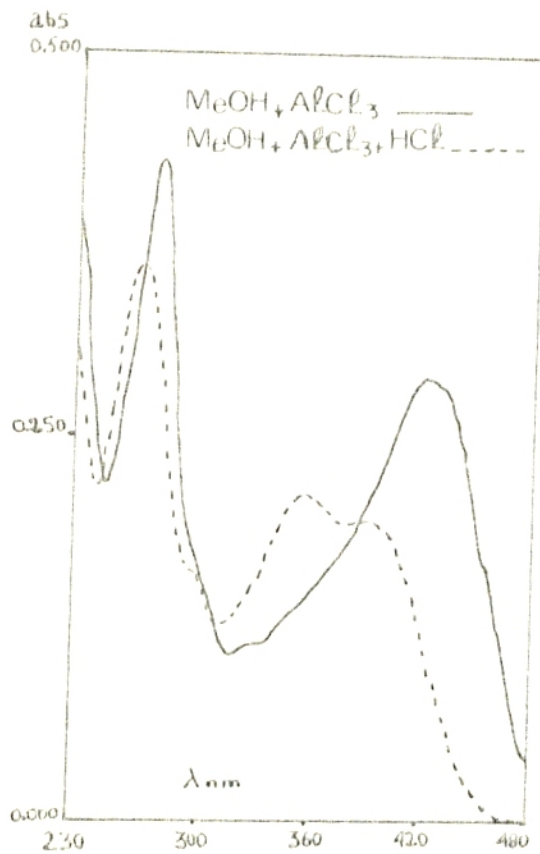
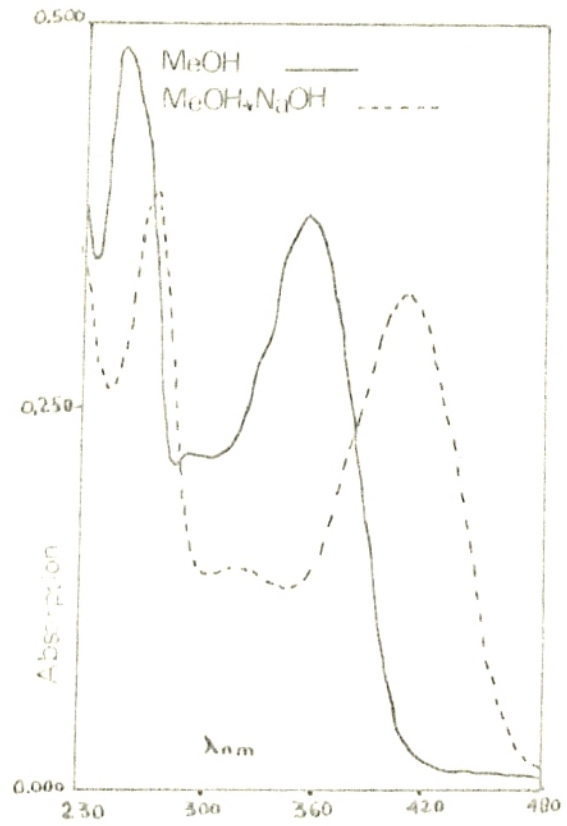


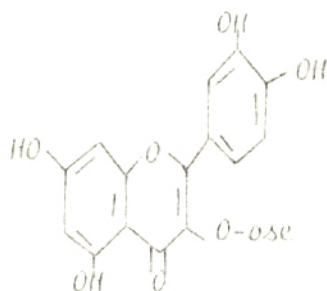
FIG 15 : SPECTRE U.V DU MONOSTÈRE - 3 - QUERCÉTINE

Données :

Interprétation :

- Fluorescence violette
  - MeOH : bande I = 355.5 nm
  - AlCl<sub>3</sub> : bande I = 423 nm
  - AlCl<sub>3</sub>/HCl : bande I = 392 nm
  - NaOH : bande I = 407.5 nm
  - . bande III = 316.5 nm
  - NaOAc : bande II = 269.0 (1.000)
- $\Delta\lambda = 67.5 \text{ nm}$  - OH libre en 5  
 $\Delta\lambda = - 31 \text{ nm}$  - Système ortho di-OH dans le noyau B en 3' - 4'.  
 $\Delta\lambda = + 52 \text{ nm}$  (avec méthanol) - OH libre en 4'  
 $\Delta\lambda = + 13 \text{ nm}$  (avec méthanol) - OH libre en 7.

. D'après les données chromatographiques et spectrales nous pouvons dire que ce composé est un monoside de quercétine dont le sucre est fixé en 3, de formule générale :



Monosyl - 3 quercétine

2.- Composé 6 :

. La chromatographie bidimensionnelle du composé nous montre que :

- Dans la dimension organique, le composé a un R<sub>f</sub> = 0,30
- Dans la dimension aqueuse, il se comporte comme un monoside.
- De plus l'hydrolyse acide libère la lutéoline comme aglycone.

Spectre U.V et visible (FIG.16) :

- MeOH : 257 - 267.5 (0.274) Ep. 346 (0.109)
- AlCl<sub>3</sub> : 272.0 (0.308) 300 Ep. 330 427

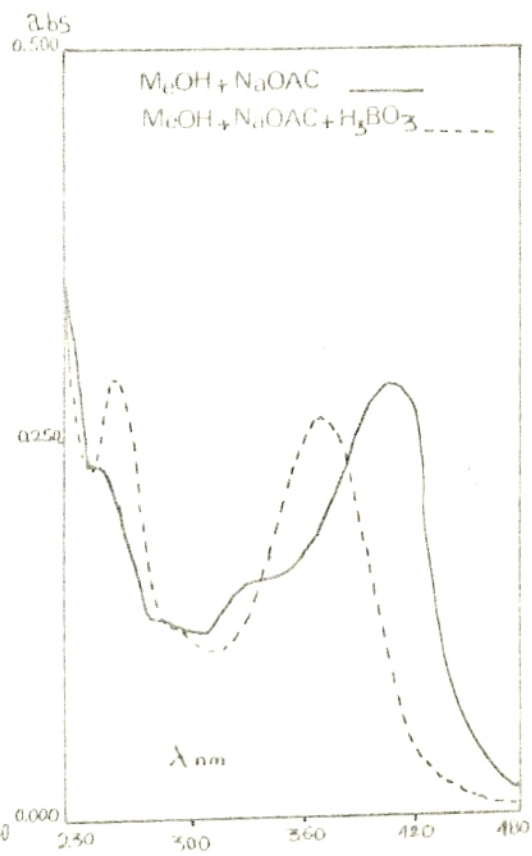
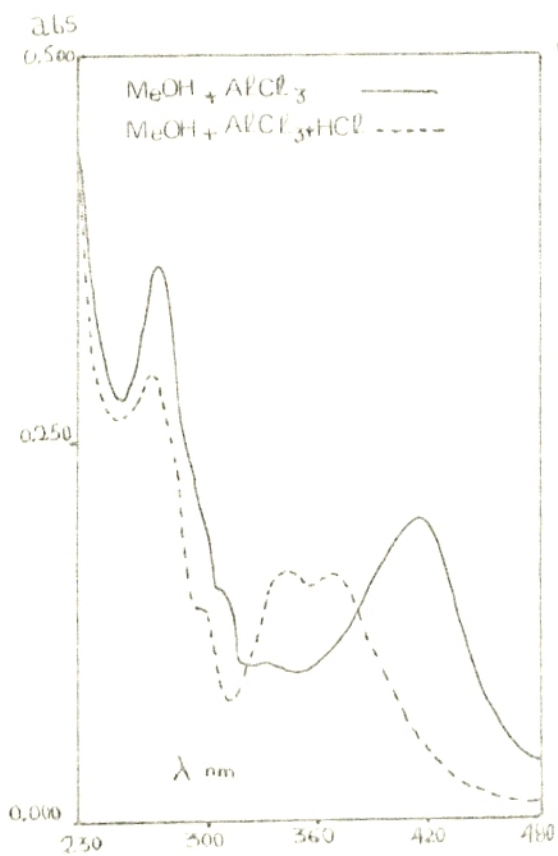
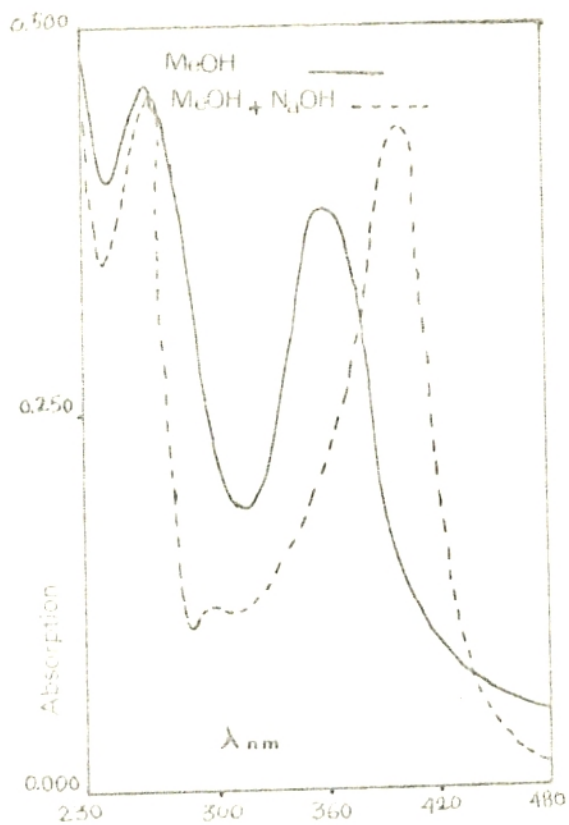


FIG 16 : SPECTRE U.V DU MONOSTÈRE - 7 - DE LUTEOLINE

AlCl <sub>3</sub> /Hcl	: 268.0 (0.256)	295 Ep.	340 (0.864)	388
NaOH	: 262.5 (0.188)	292.0 (0.260)	401.5 (0.067)	
NaOAc	: 260 Ep.	357 (0.550)		408 (0.510)
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	: 260 (1.000)	372 (0.690)		

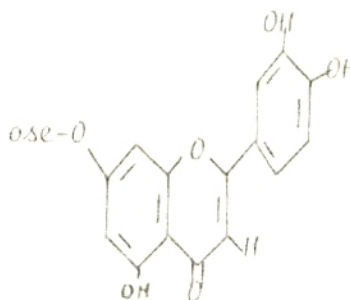
Données :

Interprétation :

- Fluorescence violette en U.V
  - MeOH : bande I = 346 nm
  - AlCl<sub>3</sub> : bande I = 427 nm
  - AlCl<sub>3</sub>/Hcl : bande I = 388 nm
  - NaOH : pas de bande III
  - NaOAc : bande II = 357 nm
- $\left. \begin{array}{l} \Delta\lambda = 81 \text{ nm} \\ \Delta\lambda = -39 \text{ nm} \end{array} \right\}$
- C - 3 : H ou O substitution
  - Système di OH dans le noyau B.
  - OH libre en 5
  - Présence de OH dans 3' et 4'.
  - pas de OH libre en 7.

• Donc le composé 6 est un monoside de lutéoline. Le sucre serait fixé sur le carbone 7.

- Formule probable :



- Monosyl - 7 lutéoline

3.- Composé 7 :

- N'ayant pas été suffisamment bien purifié, le spectre U.V de ce composé n'a pu être exploité pour son identification. Néanmoins avec les données chromatographiques, une identification partielle a été réalisée.

.../...



- Sur C.C.M bidimensionnelle de ptyamide le  $R_f$  dans la dimension organique = 0,40 ; le comportement dans la dimension aqueuse est celle d'un monoside.
- L'hydrolyse acide de ce composé libère un aglycone dont le  $R_f$  est celui de l'isorhamnétine témoin. D'après ces résultats nous pouvons assimiler le composé 7 à un monoside d'isorhamnétine.

4.- Composé 10 :

- La C.C.M bidimensionnelle nous fournit les renseignements suivants :
  - Le composé dans la première migration qui est la dimension organique, présente un  $R_f = 0,22$ .
  - Dans la deuxième migration qui est la dimension aqueuse, le composé se comporte comme un diglycoside.
  - Une cochromatographie bidimensionnelle avec la rutine nous donne une tache unique.
- L'hydrolyse acide du composé 10 libère un aglycone identifié à la quercétine.

Spectre U.V et visible (FIG 17) :

MeOH	: 256.5 (1.671) 270 Ep. 295 Ep. 357.5 (1.319)
AlCl <sub>3</sub>	: 273.5 (1.864) 205 Ep. 428.5 (1.410)
AlCl <sub>3</sub> /HCl	: 268.0 (1.500) 410 Ep. 360.5 (0.901) 398 (0.959)
NaOH	: 271.5 (1.983) 327.5 (0.734) 409.0 (1.699)
NaOAc	: 269.5 (1.215) 327.0 (0.626) 374.0 (0.793)
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	: 261.5 (1.895) 378.0 (1.113)

.../...

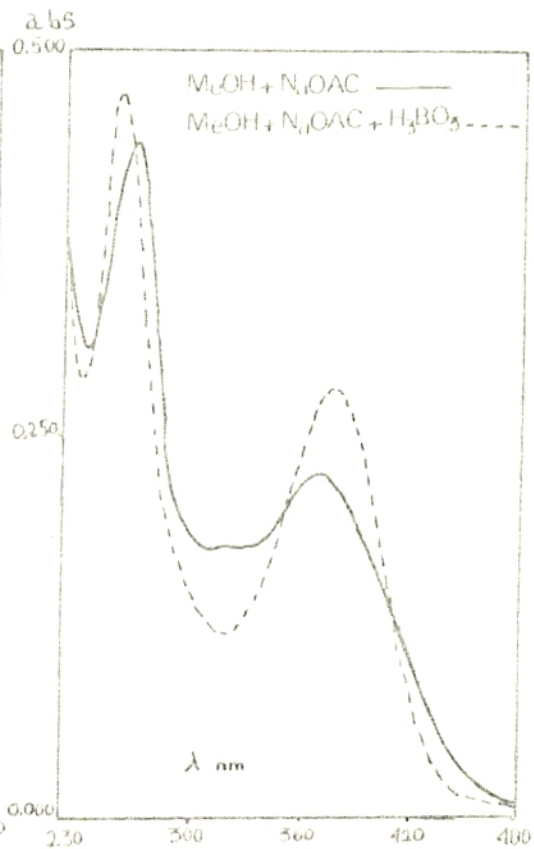
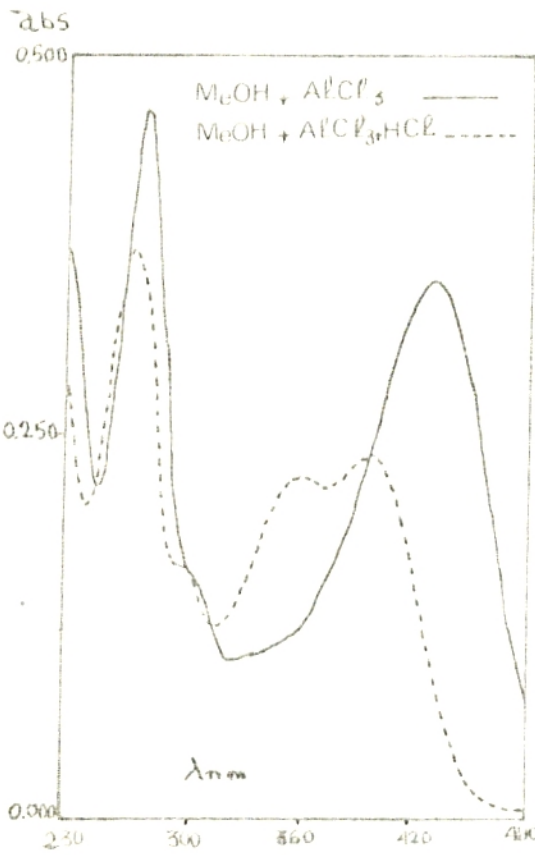
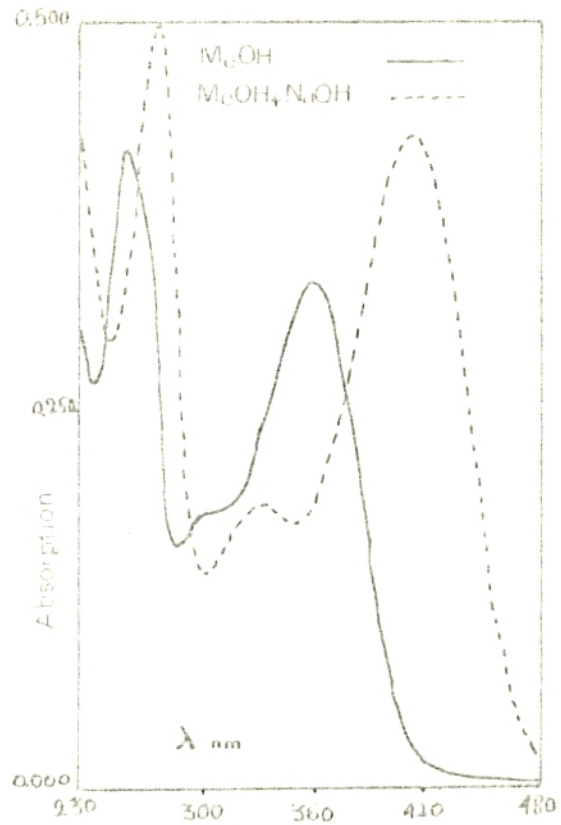


FIG : 17 SPECTRE U.V ET VISIBLE DU DIOXIDE DE QUERCETINE

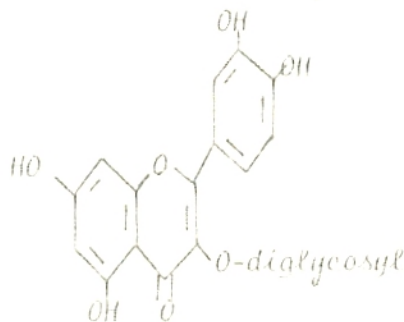
Données :

Interprétation :

- Fluorescence violette
  - MeOH : bande I = 357.5 nm
  - AlCl<sub>3</sub> : bande I = 428.5 nm
  - AlCl<sub>3</sub>/HCl : bande I = 398 nm
  - NaOH : bande I = 409 nm
  - NaOAc : bande II = 269.5 nm
  - NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : bande I = 378 nm
- $\Delta\lambda = + 71 \text{ nm}$  - OH libre en 5.  
 $\Delta\lambda = - 30.5 \text{ nm}$  - Présence d'un système ortho di-OH dans la molécule.  
 $\Delta\lambda = + 51.5 \text{ nm}$  (dans MeOH)  
 $\Delta\lambda = + 13 \text{ nm}$  (avec MeOH)  
 $\Delta\lambda = + 20.5 \text{ nm}$  - présence d'un système ortho-di OH en 3', 4'.
- C - 3 : H ou O substitution  
 - OH libre en 4'  
 - OH libre en 7

. Les données spectrales correspondent à celle de la rutine d'après MABRY et al (1970), c'est-à-dire à de la quercétine substituée en 3 par un dioside.

. Ce composé pourrait être la rutine :



Rutinosyl (?) - 7 quercétine

5.- Composé 11 :

. Sur C.C.M en cochromatographie bidimensionnelle avec la rutinosyl 7 - lutéoline, nous obtenons une superposition du rutinosyl 7 - lutéoline avec le composé 11. (FIG.17)

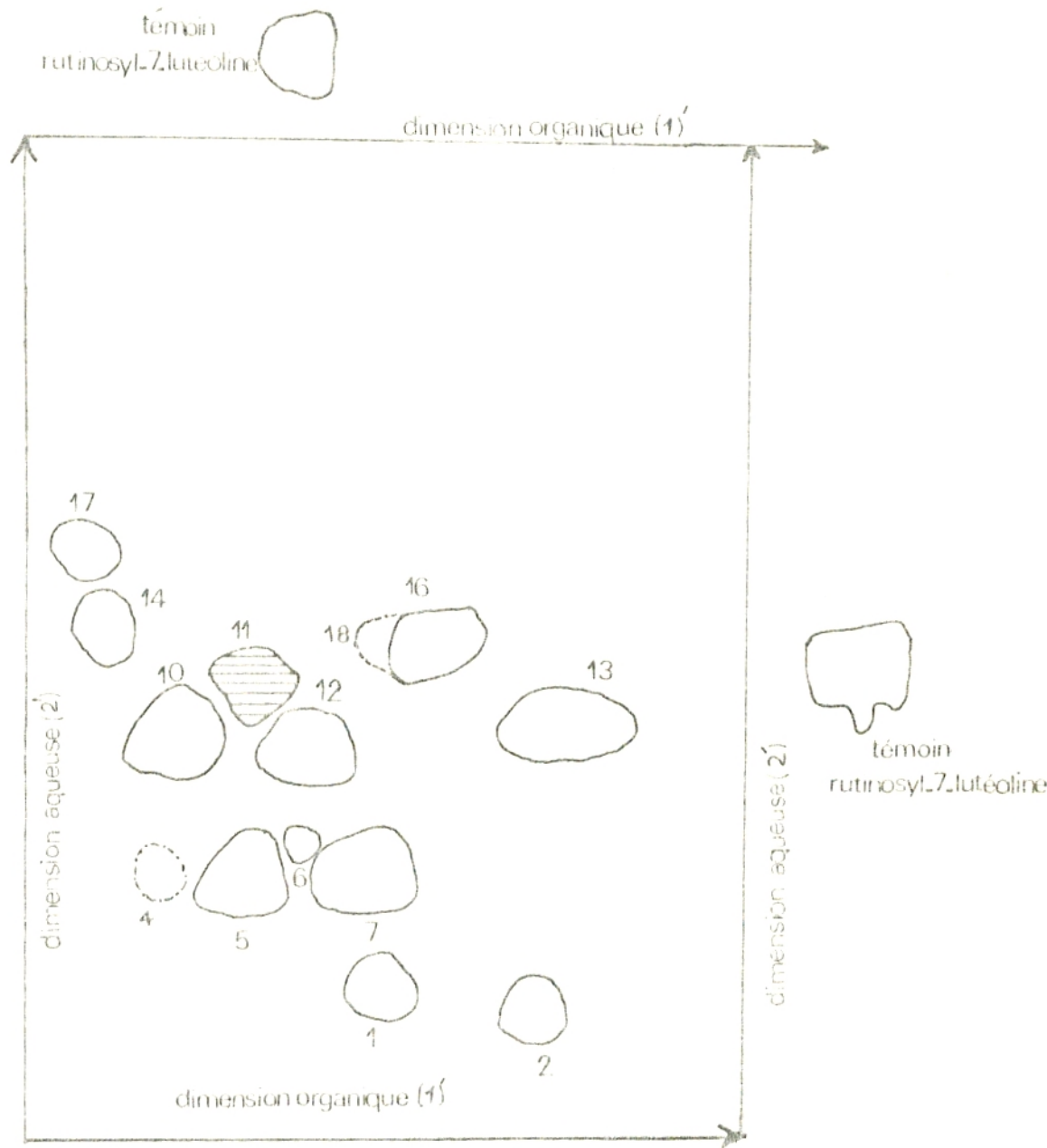


FIG 18 : cochromatographie bidimensionnelle sur CM de polyamide des hétérosides\* avec le témoin rutinosyl-7-lutéoline.

Solvant: 1 MeOH - BENZ - MeEtco (3/4/3)

2° - H<sub>2</sub>O - MeOH - MeEtco - ACACO - nBuOH (45/15/10/5 / 1 goutte)

 Composé 11 + témoin rutinosyl-7-lutéoline

\* du cultivar DEGLA REIDA

Spectre U.V et visible (FIG. 19) :

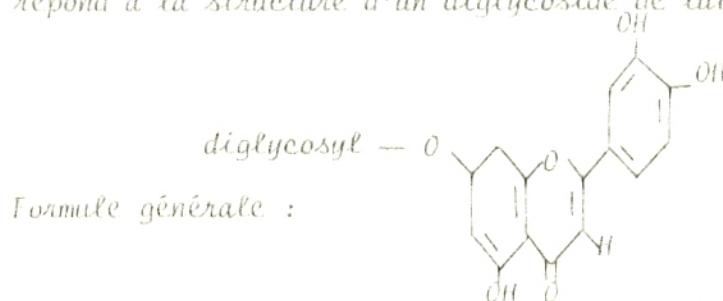
MeOH	:	254 - 267 (1.255)	344.0 (0.225)
AlCl <sub>3</sub>	:	270.5 (1.185)	292 Ep. 423.5 (0.237)
AlCl <sub>3</sub> /HCl	:	269.5 (1.159)	294 Ep. 351 (0.190) 386.0 (0.178)
NaOH	:		293 (1.059) 404 (0.183)
NaOAc	:	260 (1.000)	372 Ep. 404 (0.660)
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	:	260 (1.000)	374 (0.760)

Données :

Interprétation :

- Fluorescence violette
  - MeOH : bande II = 254 et 267 nm  
: bande I = 344 nm
  - AlCl<sub>3</sub> : bande I = 423.5 nm
  - AlCl<sub>3</sub>/HCl : bande I = 386 nm
  - pas de bande III dans NaOH
  - NaOAc : bande II = 260 nm
- C - 3 : H ou O substitution  
 - Noyau B disubstitué.  
 -  $\Delta\lambda = + 79.5$  nm - OH libre en 5.  
 -  $\Delta\lambda = - 37.5$  nm - Présence d'un système orthodi  
 OH en 3' et 4' dans la molécule.  
 - OH 7 substitué.

. D'après les données chromatographiques et spectrales le composé II répond à la structure d'un diglycoside de lutéoline.



Rutinosyl (?) - 7 lutéol.

6.- Composé 12 :

- . La C.C.M en bidimensionnelle nous apprend que :
  - Le composé dans la première migration présente un RF = 0,40 correspondant à celui de l'isorhamnétine.

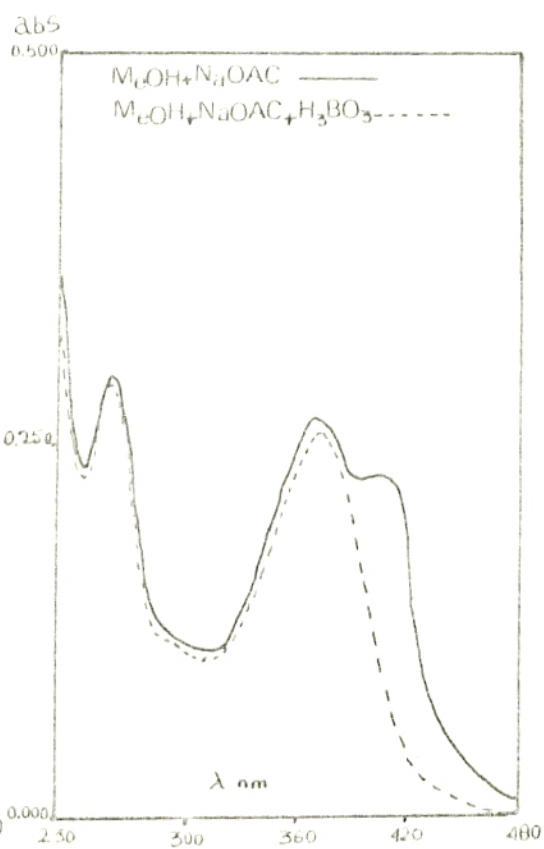
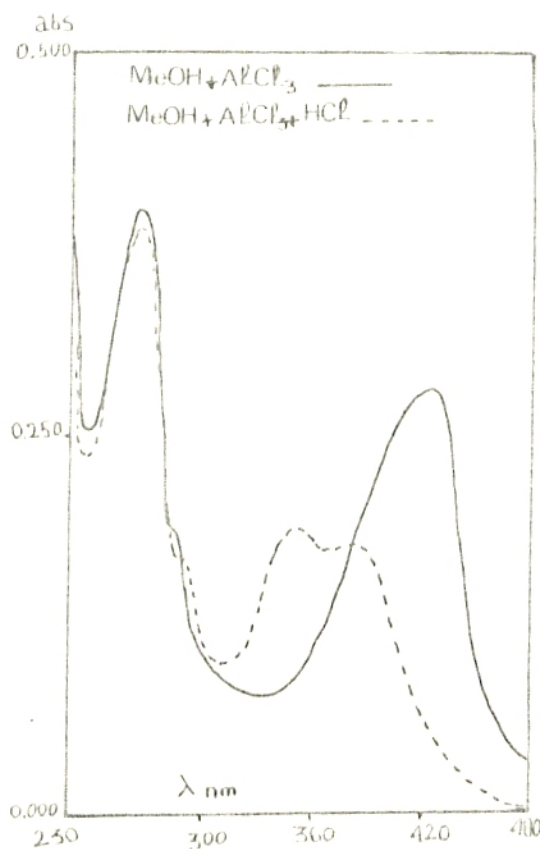
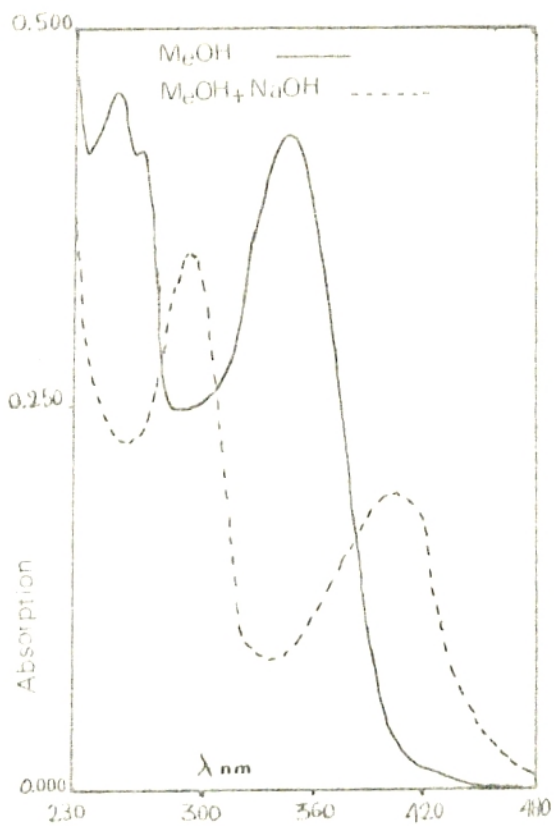


FIG 19 : SPECTRE U.V ET VISIBLE DU RUTINOSYL-7- LUTEOLINE

- Dans la deuxième migration ; le composé se comporte comme un diglycoside.

. En outre l'hydrolyse acide de ce composé libère l'isorhamnétine comme aglycone.

Spectre U.V et visible (FIG. 20) :

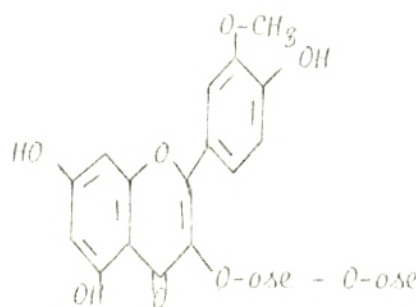
MeOH	:	257.5 (0.830)	266 (0.835)	330 Ep.	352.5 (0.383)
AlCl <sub>3</sub>	:	270.5 (0.819)	290 Ep.	364.0 (0.287)	401.0 (0.328)
AlCl <sub>3</sub> /HCl	:	270.5 (0.787)	290 Ep.	357.5 (0.286)	398.5 (0.281)
NaOH	:	277.0 (1.088)	292 Ep.	413.5 (0.627)	
NaOAc	:	255 Ep.	268.0 (0.998)	357.0 (0.409)	448 5;028)
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	:	256	267.5 (0.855)	356.0 (0.391)	

Données :

Interprétation :

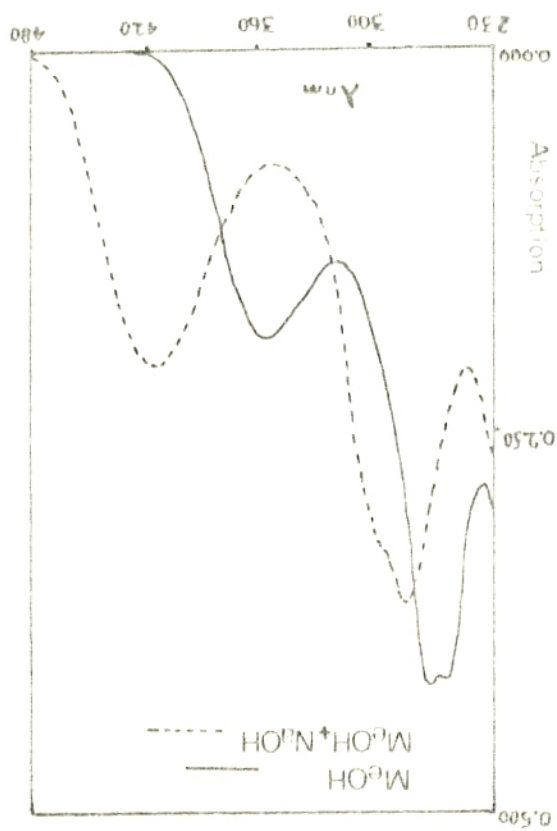
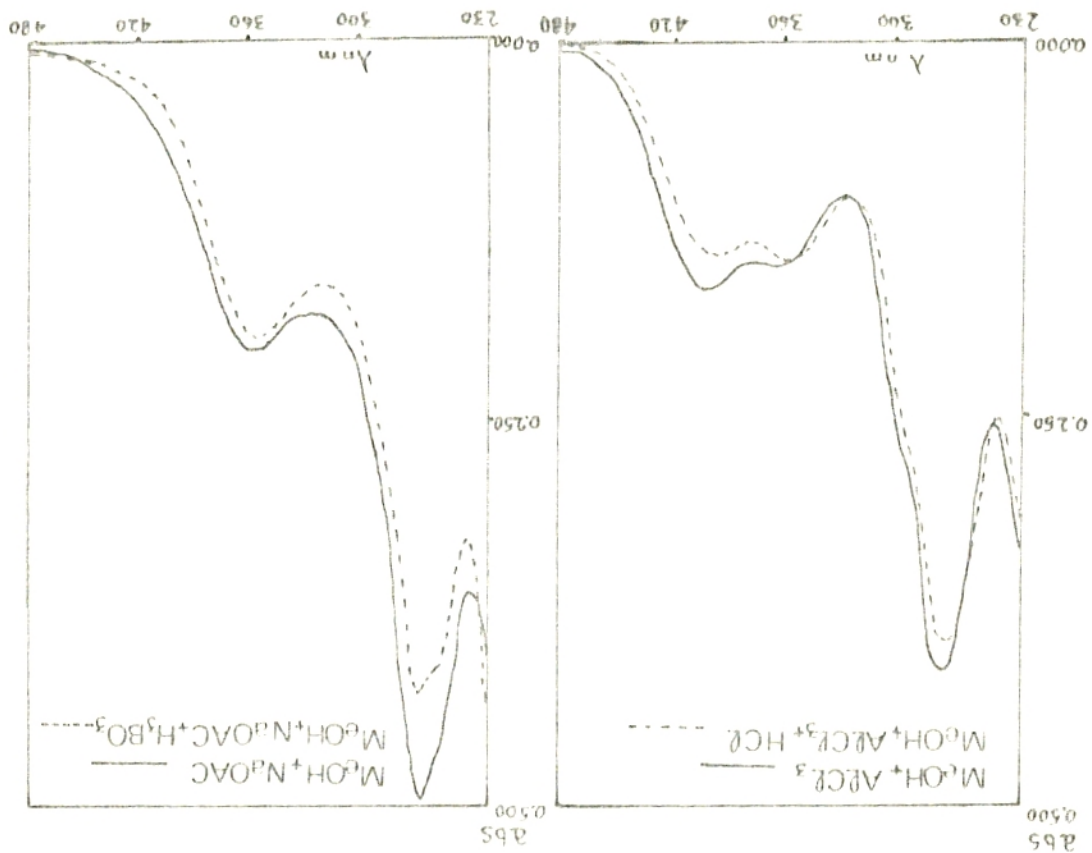
- Fluorescence violette
  - MeOH : bande I = 352.5 nm
  - AlCl<sub>3</sub> : bande I = 401.0 nm
  - AlCl<sub>3</sub>/HCl : bande I = 398,5 nm
  - NaOH : bande I = 413.5 nm
  - NaOAc : bande II = 268 nm
- C - 3 : H ou O substitués
- $\Delta\lambda = + 48.5$  nm - OH libre en 5
- $\Delta\lambda = + 2.5$  nm - non significatif donc pas de système orthodiol dans la molécule
- $\Delta\lambda = + 61$  nm (avec méthanol) - OH libre en 4
- $\Delta\lambda = + 10,5$  nm (méthanol) - OH libre en 7

. D'après les données chromatographiques et spectrophotométriques du composé 12, nous pouvons dire qu'il s'agit d'un diglycoside d'isorhamnétine de formule générale.



Diglycosyl - 3 isorhamnétine.

FIG 20 : SPECTRE U.V ET VISIBLE DU DIOSIDE 3 - ISORHAMNETINE





7.- Composé 4 :

- Sur C.C.M bidimensionnelle, dans la migration organique, le  $R_f = 0,14$ . Dans la dimension aqueuse, le  $R_f = 0,08$ .

Spectre U.V et visible (FIG.24) :

MeOH	: 254.5 (0.102) 266 - 290 Ep. 346.5 ( 0.096)
AlCl <sub>3</sub>	: 274.0 ( 0.143) 300 Ep. 337.0 (0.035) 405.0 (0.130)
AlCl <sub>3</sub> /HCl	: 265 Ep. 272.5 (0.110) 295 Ep. 256.5 (0.085) 380
NaOH	: 267.5 (0.173) 278 Ep. 240 Ep. 402.5 (0.148)
NaOAc	: 280.0 327.5 (0.088) 380
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	: 260.5 (0.162) 372.0 (0.117).

D\_o\_n\_n\_e\_e\_s

Interprétation

- Fluorescence violette
  - MeOH : bande II = 254,5 et 266 nm
  - MeOH : bande I = 346 nm
  - AlCl<sub>3</sub> : bande I = 424 nm
  - AlCl<sub>3</sub>/HCl : bande I = 402.5 nm
  - NaOH : bande I = 402.5 nm
  - NaOAc : bande II = 280 nm
  - NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : bande I = 372 nm
- C - 3 : H ou O substitution
- Noyau B ortho di-oh substitué en 3' et 4'
- }  $\Delta\lambda = + 59$  nm - oh libre en 5.
- }  $\Delta\lambda = - 44$  nm - système ortho di-oh.
- oh libre en 4'
- oh libre en 7
- système di-oh en 3', 4'.

• Ce composé présente des propriétés spectrales analogues à celles de la lutéoline, mais son comportement chromatographique est celui d'un glycoside. L'hydrolyse acide de ce composé ne libère aucun aglycone; la liaison osidique résistant à ce traitement, c'est donc une C - glycoflavone.

• Une cochromatographie avec un témoin : l'orientine, qui est un C - glycosyl en 8 de la lutéoline, donne une tache unique. Nous pouvons, sans gros risque d'erreur, dire que le composé 4 est l'orientine de formule :

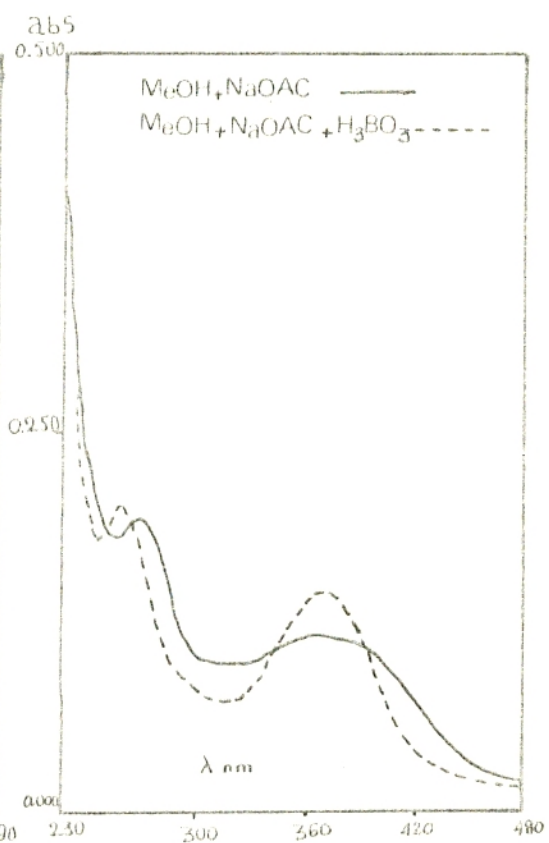
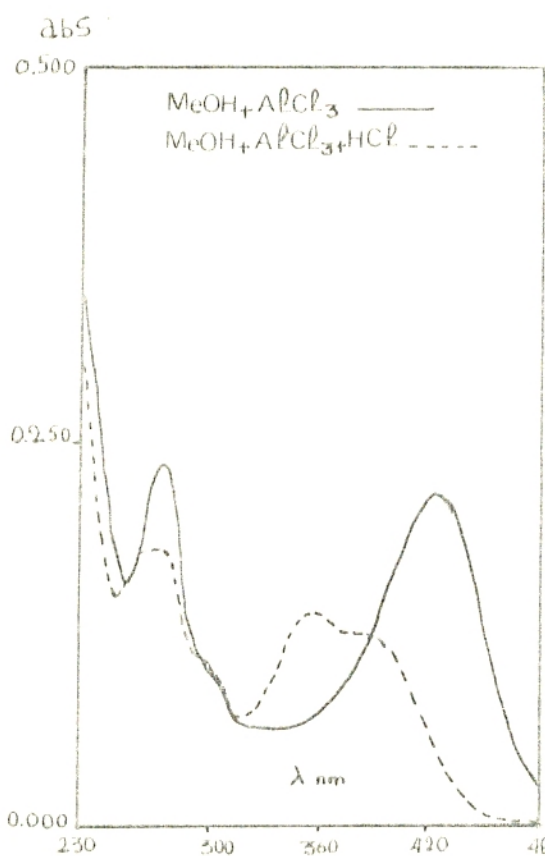
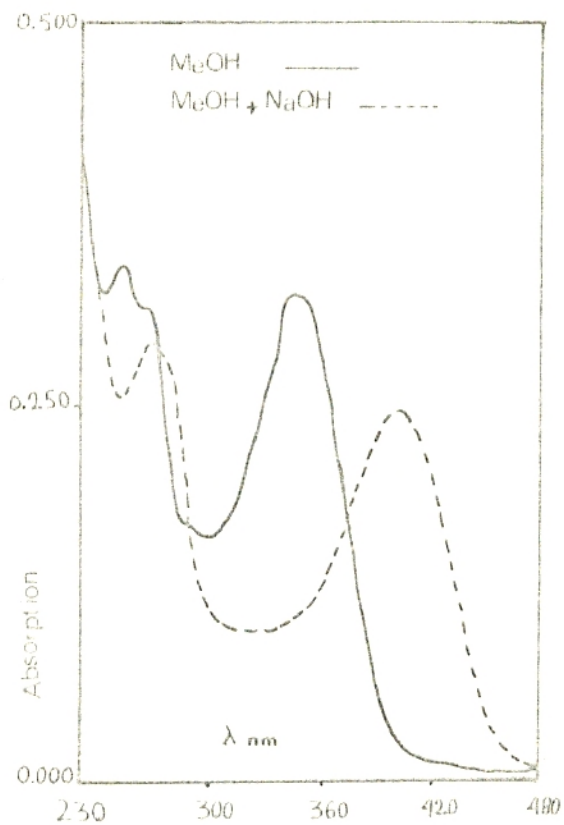
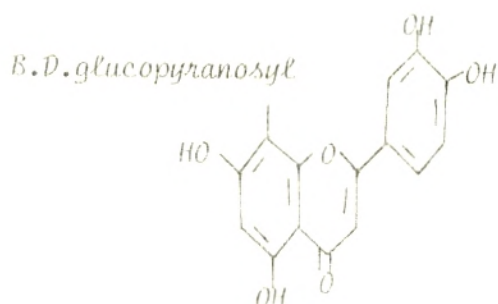


FIG 21 : SPECTRE U.V ET VISIBLE DE L'ORIENTINE

Orientine

- Nous avons signalé précédemment (matériel et méthode) que l'extrait butanolique contenait en plus des anthocyanes les C - glycosylflavones. L'hydrolyse acide à l'avantage de clarifier le bloc glycosidique en le réduisant aux seules C - glycosylflavones, résistant à l'hydrolyse acide, au prix il est vrai d'une éventuelle isomérisation 6 - 8 dite de WESSELY - MOSER.
- L'extrait butanolique, après évaporation à sec, est repris par un minimum de méthanol. Il est ensuite fractionné en chromatographie sur couche mince de polyamide dans le même système de solvants que les hétérosides totaux.
- Le repérage sur le chromatogramme permet de dénombrer 6 taches de C - glycosylflavones. par cochromatographies avec témoins, nous avons pu localiser l'orientine en position 1' (FIG. 29). La comparaison des R<sub>f</sub> obtenus pour les 5 autres taches à ceux donnés par la bibliographie pour certains C - glycosides dans le même système de solvant nous a permis d'émettre une hypothèse sur l'identité de la tache n° 6'. Avec un R<sub>f</sub> = 0,08 (dimension organique) et un R<sub>f</sub> = 0,68 (dimension aqueuse) ce composé selon SKALISA (1987) pourrait correspondre à une vicénine, qui est un C - glycoside d'apigénine ; hypothèse qu'il faudrait vérifier par la suite.
- De plus la confrontation du chromatogramme des C - glycosides avec celui des hétérosides totaux nous permet d'émettre une opinion sur la nature des composés non identifiés présents sur le chromatogramme des hétérosides :

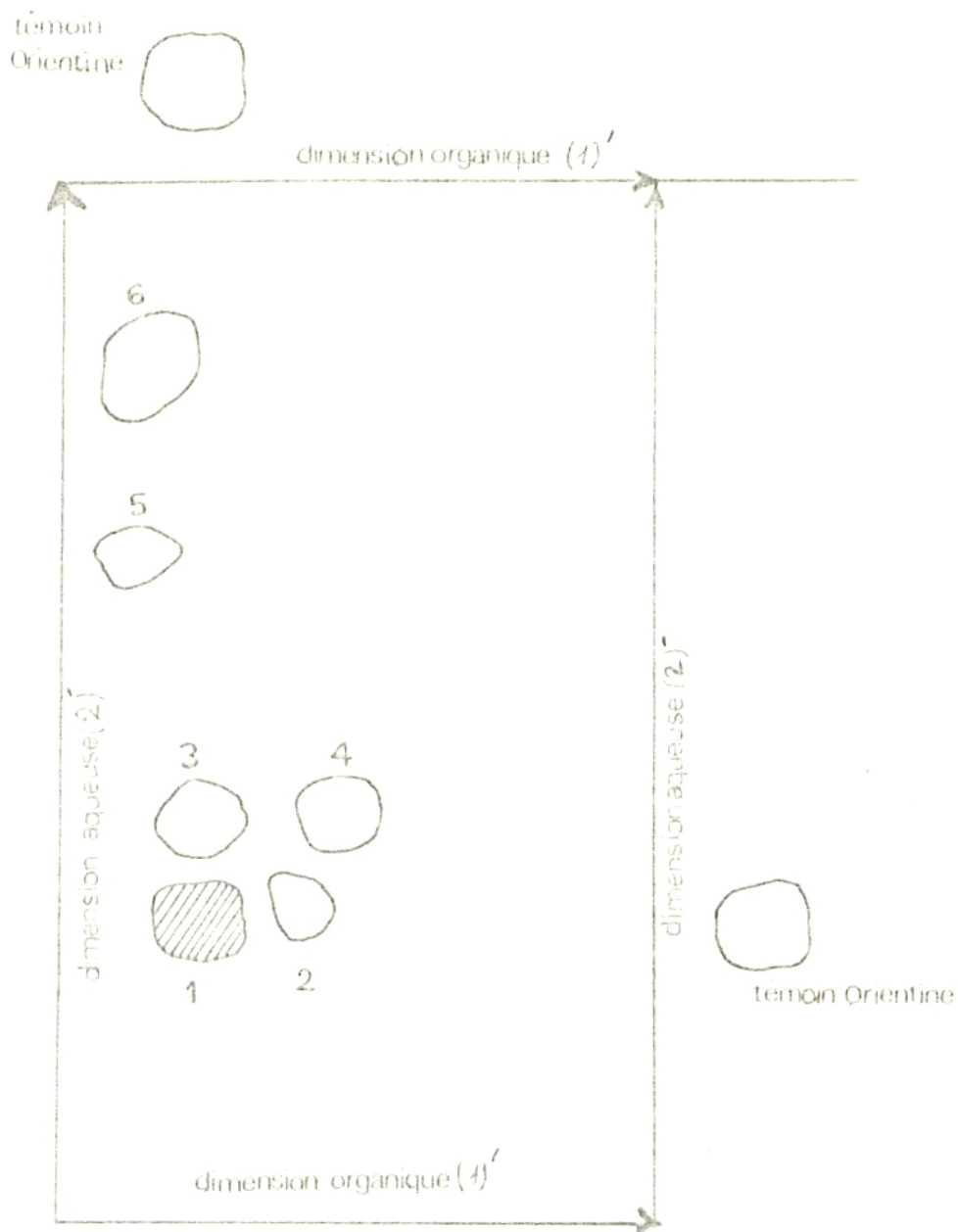


FIG 29. :cochromatographie bidimensionnelle de l'extrait brut de c-glycoflavones avec le témoin orientine.

Solvant 1: BENZ - MeOH - MeEtco ( 4/3/3 )

2: H<sub>2</sub>O - MeOH - MeEtco - AC Aco - nBuOH ( 45/15/10/5/ )

 composé 1 + témoin orientine

- Les taches 1, 2, 3 pourraient correspondre à des glycosides acylés. L'acylation d'après HARBORNE (in RIBEREAU-GAYON, 1968) freine la migration du glycoside dans le solvant aqueux. Ce qui expliquerait le fait que ces composés soient situés sous les monosides.
- Les taches 9, 13, 15, 16, 18, 19 sont des O - glycosides. Leur aglycone serait le chrysoeriol ou la tricéine car leur R<sub>f</sub> dans le solvant organique (caractéristique de l'aglycone) est supérieur à 0,60 ; donc supérieur à celui de la quercétine, lutéoline et isorhamnétine, sauf pour la tache n° 15.
- Les composés 14, 17 et 8 sont des C - glycosides. La tache 17 correspond au composé supposé être une vicénine (tache 6' sur le chromatogramme des C - glycosides).

C.- Discussion des résultats :

- . A partir des résultats de l'analyse structurale, la composition du Poenix dactylifera L. en aglycones flavoniques est la suivante :
  - Une proantocyanidine : la procyanidine
  - Deux flavanols : quercétine et isorhamnétine
  - Trois flavones : chrysoeriol - lutéoline - tricéine
  - Un flavanonol : la taxifoline.
- . Les formes combinées de ces aglycones avec des sucres s'élèvent à 19 composés dont nous n'avons identifié que les majeurs :
  - \* O - glycosides :
    - Un monoside et un dioside en 3 de la quercétine
    - Un monoside et un dioside en 7 de la lutéoline
    - Un monoside et un dioside en 3 de l'isorhamnétine;
  - \* C - glycosides :
    - L'orientine
    - Une vicénine (sous réserve).

-°0°- C H A P I T R E - V -°0°-

-----

ETUDE COMPARATIVE, QUANTITATIVE  
-°0°- ET QUALITATIVE, EN FLAVONOIDES -°0°-  
DES 9 CULTIVARS DE PALMIER-DATTIER

-----

- La comparaison de ces résultats avec ceux mentionnés par les quelques chercheurs qui ont travaillé sur le palmier-dattier nous permet de faire les remarques suivantes :
  - Nous pouvons confirmer la présence de la lutéoline et de la tricéine signalés par WILLIAM'S et al (1973).
  - Mais notre travail infirme la présence du Kampférol comme flavonol majeur chez le palmier-dattier noté par BATE-SMITH (1968). Cet auteur a pu confondre l'isorhamnétine avec le Kampférol vu leur R<sub>f</sub> proches en C.C.M mais l'analyse en C.L.H.P ne laisse aucun doute. De plus la présence d'hétérosides d'isorhamnétine renforce l'identification de cette dernière.
  - L'identification de flavonols (quercétine, isorhamnétine) et de leur formes combinées, ainsi que de la taxifoline et des autres hétérosides, chez le palmier-dattier est réalisée pour la première fois. Aucun travail antérieur cité par la bibliographie n'avait signalé ces composés.
  - Pour les C - glycoside, l'orientine a déjà été identifiée chez les palmiers par les travaux de WILLIAM'S et al (1973), chez le phoenix canariensis.
- A Remarquer que les résultats obtenus par TERRAK (1987) qui a travaillé en même temps que nous dans le laboratoire de l'U.R.7.A sur le palmier-dattier et la Fusariose confirment nos résultats.

\*-----\*

1.- Recherche d'une variation quantitative  
en flavonoïdes intercultivars :

. Les dosages ont été fait au niveau de la partie médiane de la palme moyenne de 53 palmiers appartenant à 9 cultivars de la station d'Adrar.

1.- Résultats :

Les résultats obtenus pour les trois groupes de substances phénoliques (proanthocyanidines, flavones - flavonols, hétérosid) figurent dans les tableaux suivants :

a)- Tableau représentant les teneurs absolues pour chaque cultivar en proanthocyanidines :

Cultivar Teneur absolue en mg/g	TAKER BOUCHIF 1	DEGLA BEIDA 2	DFGLT NOUR 3	GHARS 4	TILEM SOU 5	AGHA MOU 6	AHAR TANL 7	TAZAR ZAIT 8	TINA CEUR 9
Palmier n° 1	6,82 (5)	4,22 (3)	5,69 (3)	6,81 (7)	5,92 (6)	4,34 (1)	5,72 (6)	5,58 (6)	5,70 (2)
n° 2	6,38 (4)	5,29 (4)	6,34 (6)	6,48 (5)	4,28 (3)	4,70 (1)	7,42 (8)	6,20 (5)	5,41 (2)
n° 3	5,72 (4)	5,09 (3)	5,39 (3)	6,11 (5)	4,77 (6)	5,35 (1)	7,11 (7)	7,28 (7)	7,28 (3)
n° 4	4,59 (1)	6,22 (6)	6,85 (5)	7,42 (7)	6,34 (8)	4,74 (1)	4,65 (1)	5,65 (5)	6,58 (3)
n° 5	3,66 (1)	4,22 (3)	5,65 (4)	8,81 (8)	4,34 (3)	5,38 (1)	4,90 (1)	7,22 (1)	-
n° 6	6,43 (4)	7,18 (6)	-	6,15 (5)	-	-	-	-	-
n° 7	6,22 (4)	2,94 (3)	-	6,40 (5)	-	-	-	-	-
n° 8	-	6,18 (6)	-	5,40 (3)	-	-	-	-	-
n° 9	-	5,12 (4)	-	-	-	-	-	-	-
Moyenne $\bar{X}$ en mg/g	5,69	5,28	5,98	6,70	5,13	4,90	5,96	6,79	6,24
Ecart type $\sigma_1$ mg/g	$\pm 1,15$	$\pm 1,45$	$\pm 0,60$	$\pm 1,03$	$\pm 0,94$	$\pm 0,45$	$\pm 1,26$	$\pm 0,82$	$\pm 0,85$
$\sigma_2$ %	$\pm 20$	$\pm 27$	$\pm 10$	$\pm 15$	$\pm 18$	$\pm 9$	$\pm 21$	$\pm 12$	$\pm 14$

. Nombre de régime : ( )



. Nous avons reporté sur les tableaux, dans la case de chaque palmier le nombre de régimes de dattes portés lors du prélèvement. Ce caractère phénologique pourrait être éventuellement corrélé aux teneurs absolues obtenues pour chaque palmier en flavonoïdes.

b)- Tableau représentant les teneurs absolues pour chaque cultivar en flavones - flavonols :

Cultivar Teneur absolue en mg/g	TAKIR BOUCHE 1	DEGLA BEIDA 2	DEGLUT NOUR 3	GHARS 4	TJLFM SOH 5	AGHA MOU 6	AHAR TANI 7	TAZAR ZAIT 8	TINA CIUR 9
Palmier n° 1	2,66 (5)	2,02 (3)	2,06 (3)	2,38 (7)	2,89 (6)	1,59 (1)	2,09 (3)	2,12 (6)	2,09 (2)
n° 2	2,44 (4)	2,47 (4)	2,38 (6)	2,29 (5)	1,89 (3)	1,88 (1)	2,51 (8)	1,83 (5)	2,09 (2)
n° 3	2,38 (4)	2,43 (3)	1,47 (3)	1,54 (5)	2,20 (6)	2,11 (1)	2,27 (7)	2,03 (7)	2,30 (3)
n° 4	2,17 (1)	2,52 (6)	2,39 (5)	2,38 (7)	2,96 (8)	2,00 (1)	1,83 (1)	1,70 (5)	2,10 (3)
n° 6	2,49 (4)	2,84 (6)	-	2,11 (5)	-	-	-	-	-
n° 7	2,43 (4)	1,71 (3)	-	2,20 (5)	-	-	-	-	-
n° 8	-	2,59 (3)	-	1,41 (3)	-	-	-	-	-
n° 9	-	2,46 (4)	-	-	-	-	-	-	-
Moyenne $\bar{X}$ mg/g	2,38	2,35	1,97	2,10	2,38	1,97	2,14	1,90	2,15
Ecart type $\sigma_1$ mg/g	+0,20	+0,34	+0,44	+0,40	+0,52	+0,25	+0,26	+0,17	+0,10
$\sigma_2$ %	+ 8	+ 15	+ 23	+ 19	+ 22	+ 13	+ 12	+ 9	+ 5

c)- Tableau représentant les teneurs absolues  
en hétérosides pour chaque cultivar :

Cultivar Teneur absolue en mg/g	TAKR BOUCHT 1	DEGLA BEIDA 2	DEGLT NOUR 3	GHARS 4	TILEM SOU 5	AGHA MOU 6	AHAR TANI 7	TAZAR ZAIT 8	TJNA CUR 9
Palmier n° 1	3,80 {5}	3,30 {3}	3,10 {3}	3,40 {7}	3,70 {6}	2,30 {1}	3,10 {3}	2,65 {6}	3,50 {2}
n° 2	2,95 {4}	3,90 {4}	3,40 {6}	3,20 {5}	2,80 {3}	2,40 {1}	3,40 {8}	2,40 {5}	2,60 {2}
n° 3	2,70 {4}	3,70 {3}	2,40 {3}	2,80 {3}	2,80 {5}	3,35 {6}	3,30 {7}	2,60 {7}	3,80 {3}
n° 4	2,70 {1}	4,60 {6}	3,50 {5}	3,70 {7}	4,30 {8}	2,60 {1}	2,50 {1}	2,30 {5}	3,50 {3}
n° 5	2,65 {1}	3,2 {3}	2,50 {4}	5,50 {8}	3,30 {3}	3,10 {1}	2,80 {1}	2,50 {6}	-
n° 6	3,60 {4}	5,70 {6}	-	2,90 {5}	-	-	-	-	-
n° 7	2,80 {4}	2,30 {3}	-	3,10 {5}	-	-	-	-	-
n° 8	-	5,00 {6}	-	2,70 {3}	-	-	-	-	-
n° 9	-	3,90 {4}	-	-	-	-	-	-	-
Moyenne $\bar{X}$ mg/g	3,03	3,96	2,98	3,41	3,49	2,68	3,02	2,49	3,35
Ecart type $\sigma_1$ mg/g	+0,47	+1,02	+0,51	+0,90	+0,55	+0,36	+0,34	+0,14	+0,52
$\sigma_2$ en %	+ 16	+ 26	+ 17	+ 27	+ 16	+ 13	+ 12	+ 6	+ 16

2.- Discussion des résultats :

- . Nous avons relevé de l'analyse des trois tableaux précédents deux points essentiels :
- . Le premier point concerne les valeurs moyennes des cultivars pour chaque classe de composés phénoliques. En effet nous avons remarqué la présence d'une variation entre les teneurs moyennes des cultivars pour un même composé phénolique.
- . Le deuxième point est relatif aux coefficients de variabilité, qui sont à notre avis non négligeables.

a)- Constat de la variabilité intra-cultivar :

- . La relative importance des coefficients de variabilité pour chaque cultivar en proanthocyanidines, flavones - flavonols et hétérosides démontre l'existence d'une certaine variabilité intra-cultivar. Celle-ci peut être due à plusieurs facteurs.
- . En faisant la corrélation entre le nombre de régimes de dattes portés par chaque palmier et sa teneur absolue en flavonoïdes, il est possible d'expliquer cette différence intra-cultivar en teneur absolue.
- . Le résultat du test statistique indique une forte corrélation positive avec  $r = + 0,925$  et  $p < 0,01$ .
- . Ainsi les valeurs fortes en proanthocyanidines, flavones - flavonols et hétérosides, appartiennent à des individus ayant le nombre le plus élevé de régimes. Inversement les teneurs faibles en ces trois composés phénoliques caractérisent les palmiers les moins fructifères.

.../...

- . Il semble bien qu'il y ait un lien entre la fructification et les teneurs absolues en flavonoïdes.
- . Plusieurs auteurs, entre autre TRONCHET (1972), DAUGUET et PARIS (1974), ont noté que lors de la fructification il y a une augmentation des teneurs absolues en flavonoïdes, hypothèse qu'il faudrait vérifier ultérieurement pour le palmier-dattier sur un échantillonnage plus important.
- . Cette variabilité peut être due aussi à l'origine du rejet qui a été planté, malgré l'existence de cette variabilité intra-cultivar, il est à notre avis intéressant de faire une comparaison inter-cultivar.

b)- Variabilité inter-cultivar ; résultats des tests statistiques :

- . Nous avons en premier lieu cherché l'existence d'une éventuelle variabilité inter-cultivar en appliquant le test d'analyse de la variance (SCHWARTZ, 1963). Les résultats de ce test stipulent que les valeurs moyennes des cultivars diffèrent significativement, c'est-à-dire qu'il y a présence d'une variabilité inter-cultivar, avec un risque statistique compris entre 0,025 et 0,01.
- . A partir de cela il est donc légitime de comparer deux à deux les moyennes des cultivars pour savoir si les différences sont significatives.
- . En appliquant le test de STUDENT de comparaison des moyennes nous obtenons les résultats suivants :

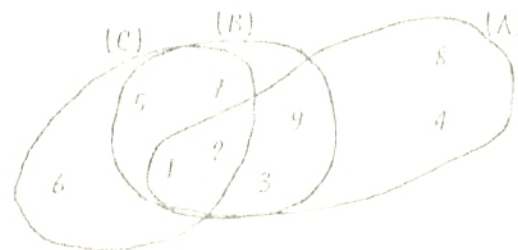
.../...

b1)- Proanthocyanidines :

. En ce qui concerne les proanthocyanidines seuls les cultivars 8 (TAZARZAIT) et 4 (GHARS) d'une part et AGHAMOU (6) d'autre part, diffèrent significativement ( $p < 0,05$ ). Pour le reste des cultivars à savoir DEGLA BEIDA (?), TAKERBOUCHI (1), DEGLIT NOUR (3), THLEMSOU (5), AHARTANE (7) et TINACEUR (9) les différences entre leurs teneurs moyennes respectives ne sont pas significatives.

. A partir de ces résultats les cultivars se répartissent en 3 groupes :

- (A) : groupe des cultivars riches en proanthocyanidines
  - (B) : groupe des cultivars moyennement riches
  - (C) : groupe des cultivars pauvres en proanthocyanidines.
- que nous pouvons schématiser de la façon suivante :



b2)- Flavones - flavonols :

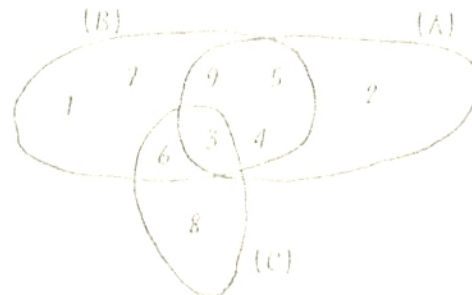
. De la même façon pour les flavones - flavonols, TAZARZAIT (8) d'une part, THLEMSOU (5) et TAKERBOUCHI (1) d'autre part, sont distincts (avec  $p < 0,05$ ).

. Les teneurs moyennes du reste des 9 cultivars ne diffèrent pas significativement. Comme pour les proanthocyanidines, on peut répartir les cultivars pour les flavones - flavonols en trois groupes.



b3)- Hétérosides :

- . Enfin pour les hétérosides, AHARTANE (7) et TAKFREBOUCHT (1) d'une part, DEGLA ELIDA (?), d'autre part et enfin TAZARZAIT (8) diffèrent significativement avec  $p < 0,05$ . Les moyennes de DEGLIT NOUR (3), CHARS (4), TILFMSOU (5), AGHAMOU (6) et TINACFUR (9) ne diffèrent pas significativement.
- . Comme précédent et sur la base de ces résultats les cultivars se répartissent en 3 groupes :



- . En faisant la synthèse des trois derniers points (b1, b2, b3) il ressort que le cultivar TAZARZAIT (8) est seul nettement distinct du reste des cultivars ( $p < 0,05$ ) pour les trois classes flavoniques étudiées.
- . Pour compléter cette étude quantitative des flavonoïdes des cultivars, nous nous sommes proposé de représenter graphiquement les teneurs absolues en proanthocyanidines en fonction des teneurs absolues en hétérosides, de façon à obtenir une information synthétique de la teneur en flavonoïdes pour chaque cultivar (FIG. 23).

.../...

- . Notre choix s'est porté sur les hétérosides aux dépens des flavones - flavonols, car les premiers englobent les O-glycosides et les C-glycosides alors que les seconds ne nous renseignent indirectement que sur les O-glycosides. Néanmoins, il y a une corrélation positive (avec  $r = + 0,725$ ,  $p = 0,03$ ) entre teneurs en aglycones et en hétérosides, ce qui veut dire qu'il y a d'autant plus de glycosides qu'il y a d'aglycones, en conséquence les C-glycoflavones suivent à peu près les O-glycoflavones.
  
- . Le graphe de la figure 23 fait ressortir que :
  - TAZARZAIT (8) est le cultivar le plus riche en proanthocyanidines, mais le plus pauvre en hétérosides flavoniques (y a-t-il compétition biogénétique?).
  - AGHAMOU (6) est pour sa part pauvre en hétérosides et en proanthocyanidines.
  - Les cultivars 1, 7, 3 et 9 (TAKFRBOUCHIT, AHARTANE, DEGLIT NOIR, TINACTUR), forment un groupe homogène ayant des teneurs moyennes aussi bien en proanthocyanidines qu'en hétérosides.
  - TILFMSOU (5) est l'opposé du cultivar TAZARZAIT (8) : riche en hétérosides, pauvre en proanthocyanidines.
  - GHARS (4) constitue l'opposé de AGHAMOU (6) : riche en proanthocyanidines et en hétérosides.
  
- . D'après les résultats des test statistiques de corrélation entre les teneurs absolues en proanthocyanidines et hétérosides des cultivars, il existerait une corrélation positive hautement significative entre ces deux composés phénoliques

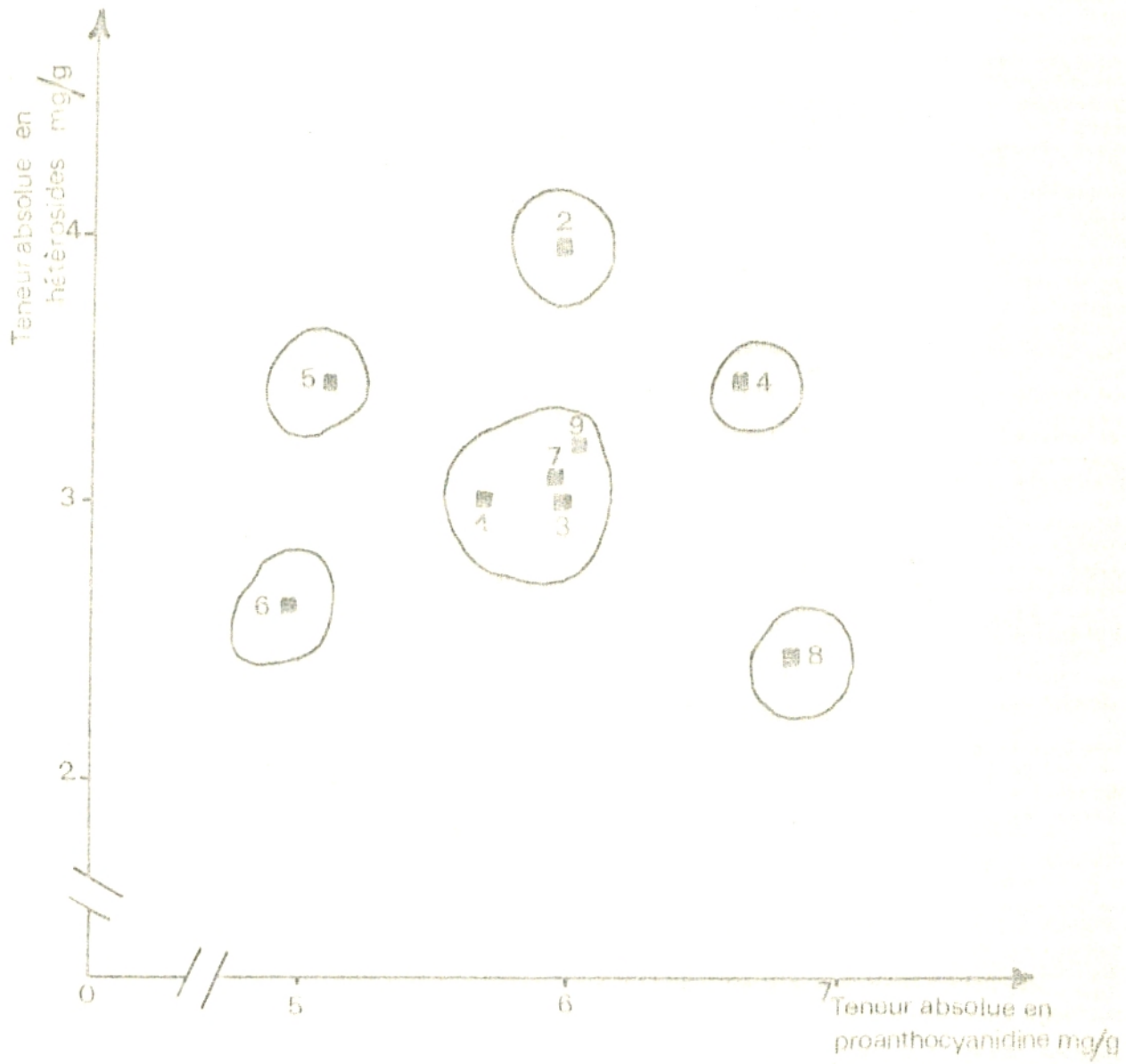
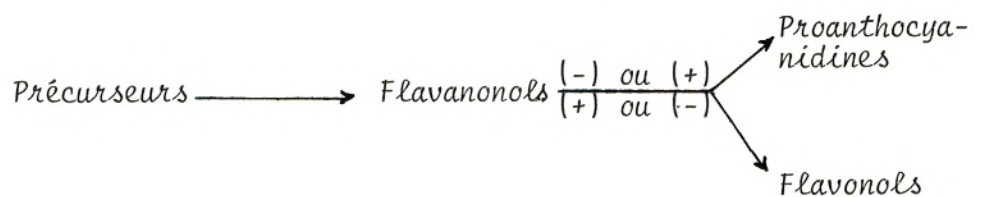


FIG 23 : Représentation graphique de la teneur absolue en hétérosides en fonction de la teneur absolue en proanthocyanidine des cultivars

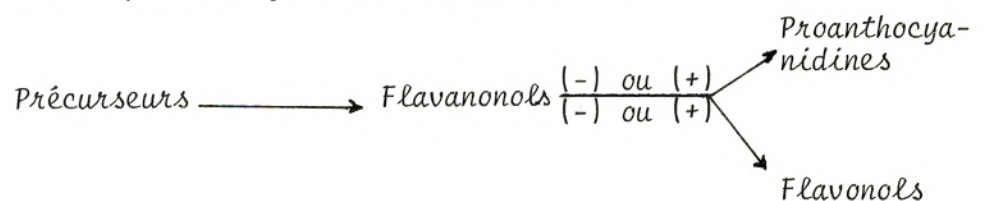


( $r = + 0,922$  avec  $p < 0,01$ ) qui comprend les cultivars : 1, 3, 4, 6, 7 et 9. Par contre une forte corrélation négative ( $r = - 0,990$  avec  $p < 0,01$ ) englobe les cultivars : 5, 2 et 8.

- On peut penser qu'il existe chez le palmier-dattier une "balance" métabolique, qui sous le dépendance de facteurs physiologiques pourrait "pencher" dans un sens aux dépens de l'autre. C'est-à-dire activer la synthèse des proanthocyanidines par exemple et inhiber la biosynthèse des flavonols, ou l'inverse.
- HARBORNE (1973) mentionne que du fait de l'existence de la chaîne métabolique commune entre proanthocyanidines et flavonols (voir FIG.1 chapitre I.), il est possible, pour plusieurs facteurs physiologiques, d'inhiber la synthèse des proanthocyanidines de 50 % et en même temps augmenter la synthèse des flavonols glycosides de 300 % et inversement.
- Ceci pourrait expliquer la corrélation négative entre ces deux composés phénoliques chez les cultivars TILEMSOU (5), DEGLA BEIDA (2) et TAZARZAIT (8).



- En ce qui concerne la corrélation positive notée chez la plupart des cultivars, elle est le résultat d'un équilibre de biosynthèse en proanthocyanidines et flavonols.



- . De cette façon nous pouvons avoir en fonction de l'intensité de biosynthèse :
  - Des cultivars pauvres aussi bien en proanthocyanidines et flavonols dans le cas où il y a une faible biosynthèse en ces deux composés, exemple du cultivar AGHAMOU (6).
  - Des cultivars moyennement riches : TAKERBOUCHT (1) DEGLET NOUR (3) AHARTANE (7) et TINACEUR (9).
  - Enfin des cultivars riches en proanthocyanidines et flavonols, cas du cultivar GAZS (4).
- . Les flavonols glycosides étant intégrés dans le pool des hétérosides, quelle que soit l'action sur la biosynthèse des flavonols, elle aurait les mêmes répercussions sur les teneurs absolues en hétérosides (corrélation négative établie plus haut).

## II.- Recherche d'une variation qualitative inter-cultivars en flavonoïdes :

### A.- Résultats et discussions :

- . Les résultats obtenus ont été regroupés en 3 structures.

#### 1.- Proanthocyanidines :

- . La chromatographie sur papier des extraits butanoliques (contenant les proanthocyanidines) des 9 cultivars révèle la présence d'une seule tâche, correspondant à la procyanidine, au sein de tous les cultivars. Si chez certaines espèces, pin et genévrier (LARACINE, 1984), il existe plusieurs proanthocyanidines qui sont de bon marqueurs des sous espèces, chez le palmier-dattier ces composés phénoliques ne peuvent pas constituer des marqueurs biochimiques des cultivars. Sauf peut être du point de vue quantitatif ainsi que nous venons de le voir précédemment.

## 2.- Flavones - flavonols :

### a)- Etude des flavones - flavonols des cultivars 1 sur C.C.M de polyamide :

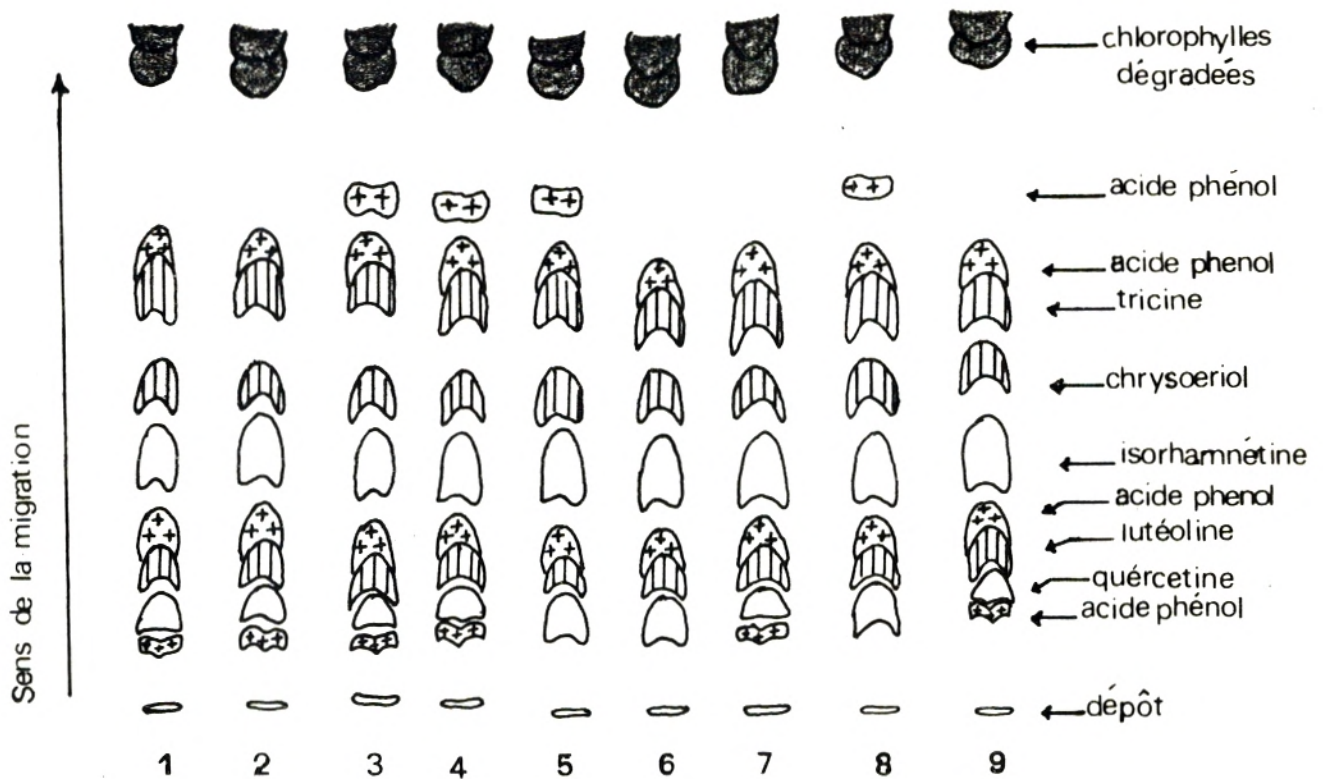
- . Le fractionnement des extraits d'aglycones flavoniques appartenant aux 9 cultivars sur C.C.M de polyamide dans le solvant : BENZ/MeOH/MeEtco : 4/3/3, nous indique que les flavones et flavonols identifiés dans le chapitre II (analyse structurale) figurent tous chez les 9 cultivars (FIG.24), sans pouvoir visuellement établir de différences quantitatives objectives.
- . Nous avons remarqué par contre qu'il existait une différence inter-cultivar en acides phénols :
  - L'acide phénol en position 9 n'est présent que chez 1) DEGLET NOUR - GHARS - TILEMSOU - TAZARZAIT.
  - Enfin seuls DEGLET NOUR et GHARS ont quatre acides phénols. La présence de ces acides phénols est importante à signaler car ASSEF (1987) vient de montrer que les acides phénols du palmier sont actifs *in vitro* sur le parasite *Fasarium oxysporum fsp albedinis* qui cause la maladie appelée "BAYOUD".
- . Les cultivars DEGLET NOUR et GHARS sont très sensibles au "BAYOUD" et il serait intéressant de voir chez des palmiers malades le taux d'acide benzoïque. La rapidité de production et le niveau de production pourrait jouer un rôle dans la résistance.

### b)- Etude des flavones - flavonols en C.L.H.P.

- . Le passage des extraits d'aglycones flavoniques des 9 cultivars en C.L.H.P nous apporte des renseignements plus précis que ceux donnés par la C.C.M sur polyamide. Les teneurs relatives obtenues par mesures des hauteurs des pics sur les profils C.L.H.P (FIG.25) que nous avons

FIG24 : Resultat de la chromatographie sur couche mince de polyamide des aglycones flavoniques des 9 cultivars

Solvant: MeOH - BENZ - MeEtco: ( 3 / 4 / 3 )



- 1 - TAKERBOUCHT
- 2 - DEGLA BEIDA
- 3 - DEGLET NOUR
- 4 - GHARS
- 5 - TILEMSOU
- 6 - AGHAMOU
- 7 - AHARTANE
- 8 - TAZARZAIT
- 9 - TINACEUR




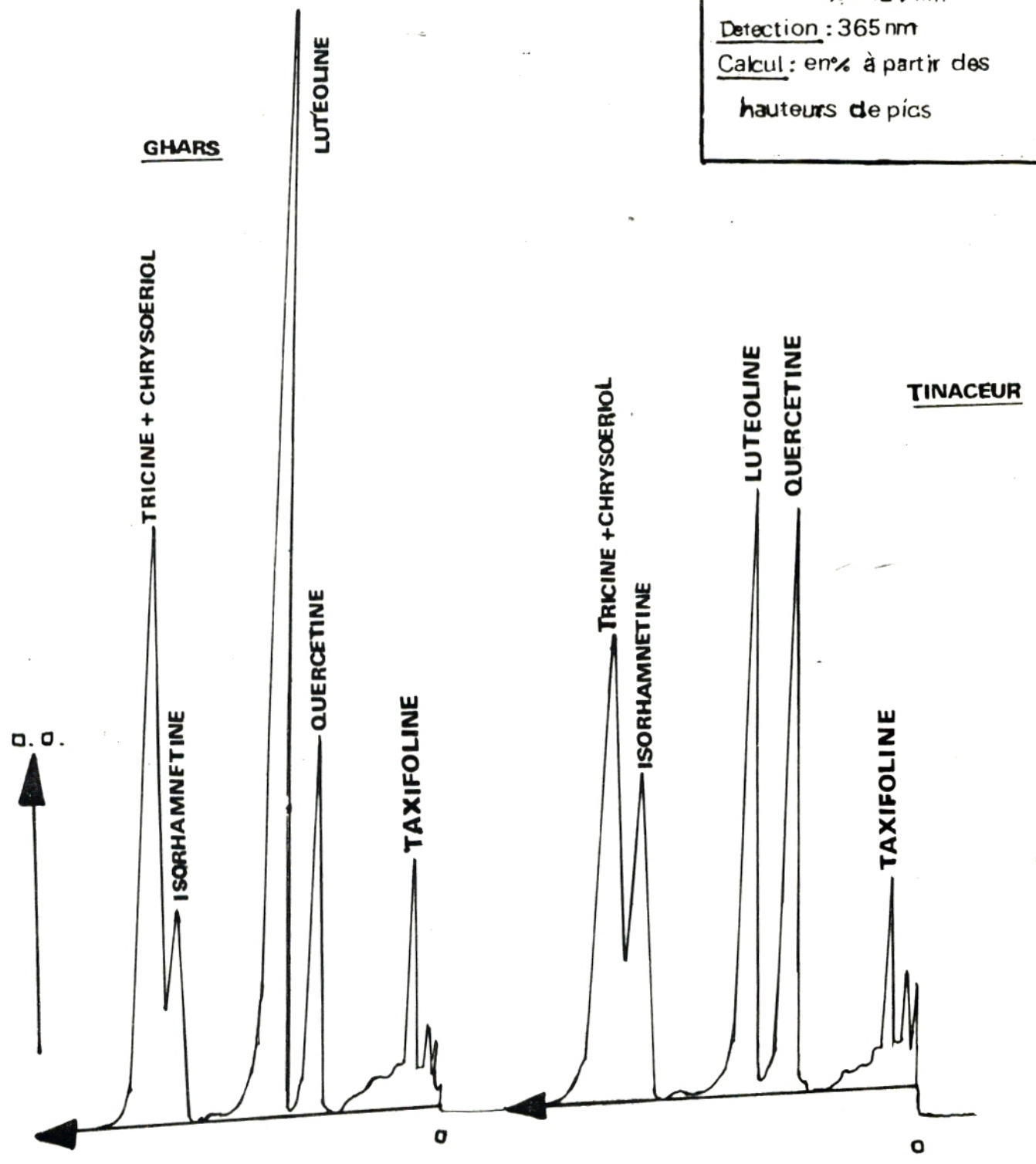
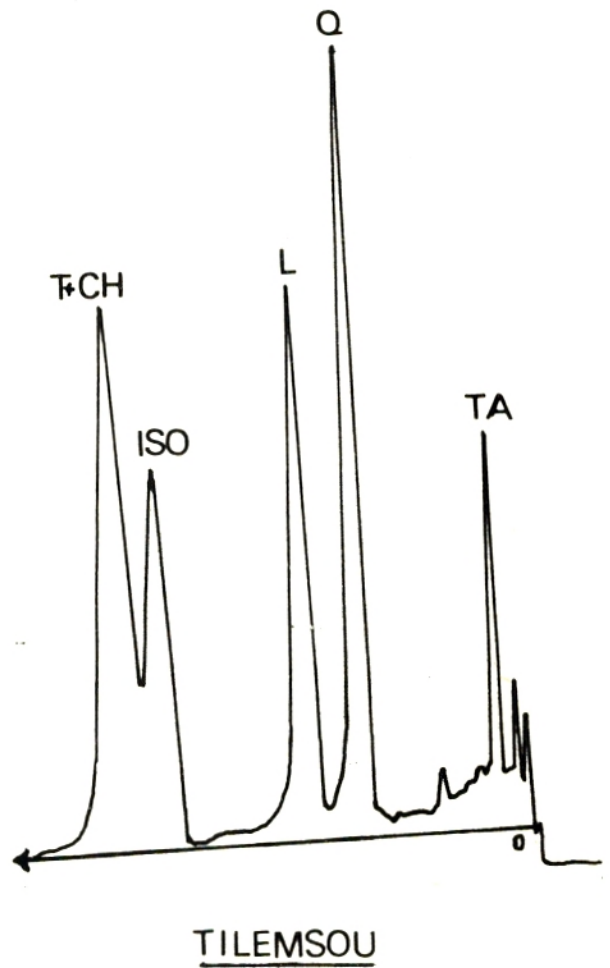
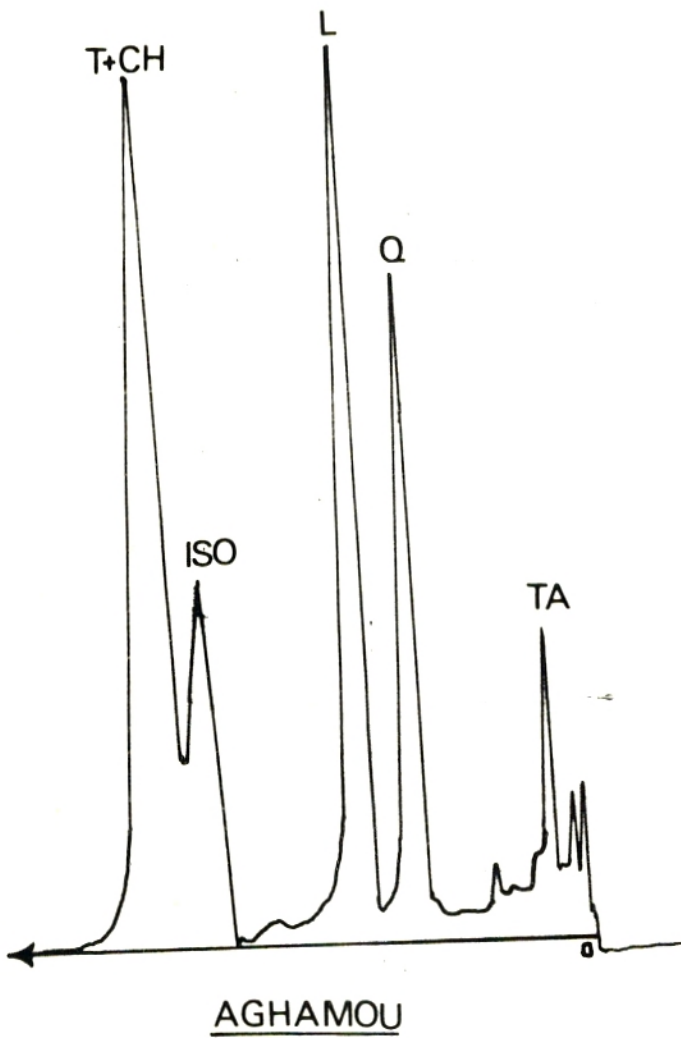
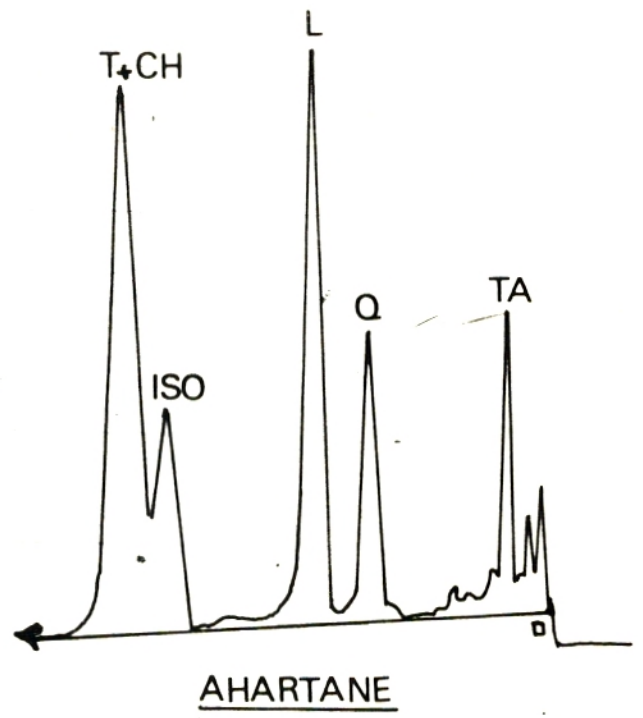
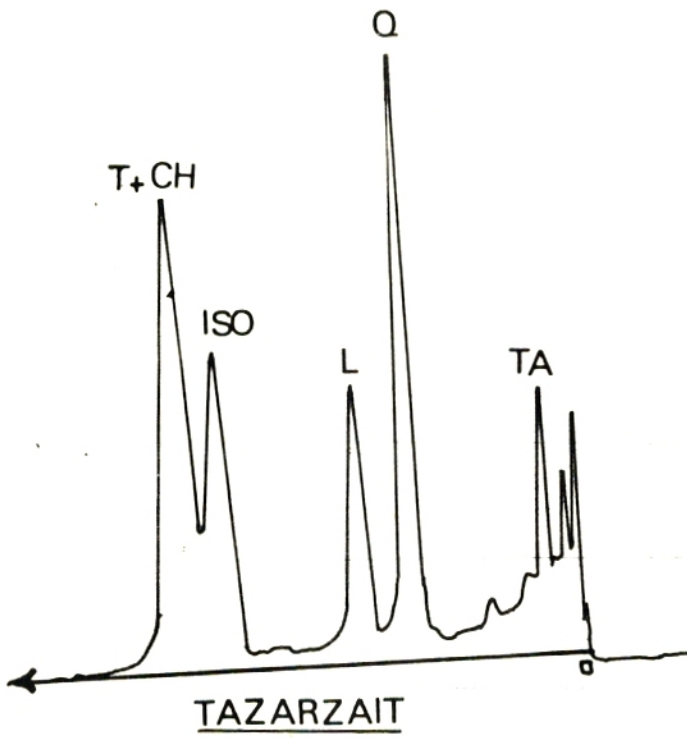
-  flavone
-  flavonol
-  acide phénol

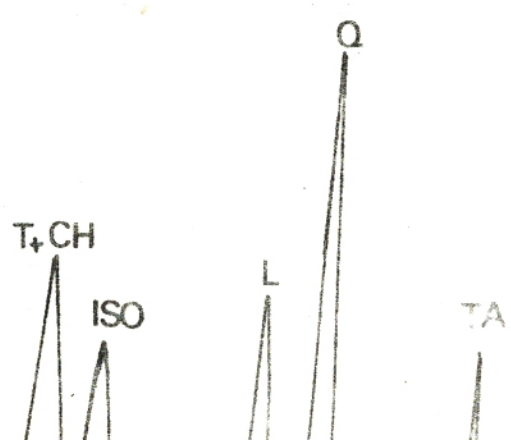
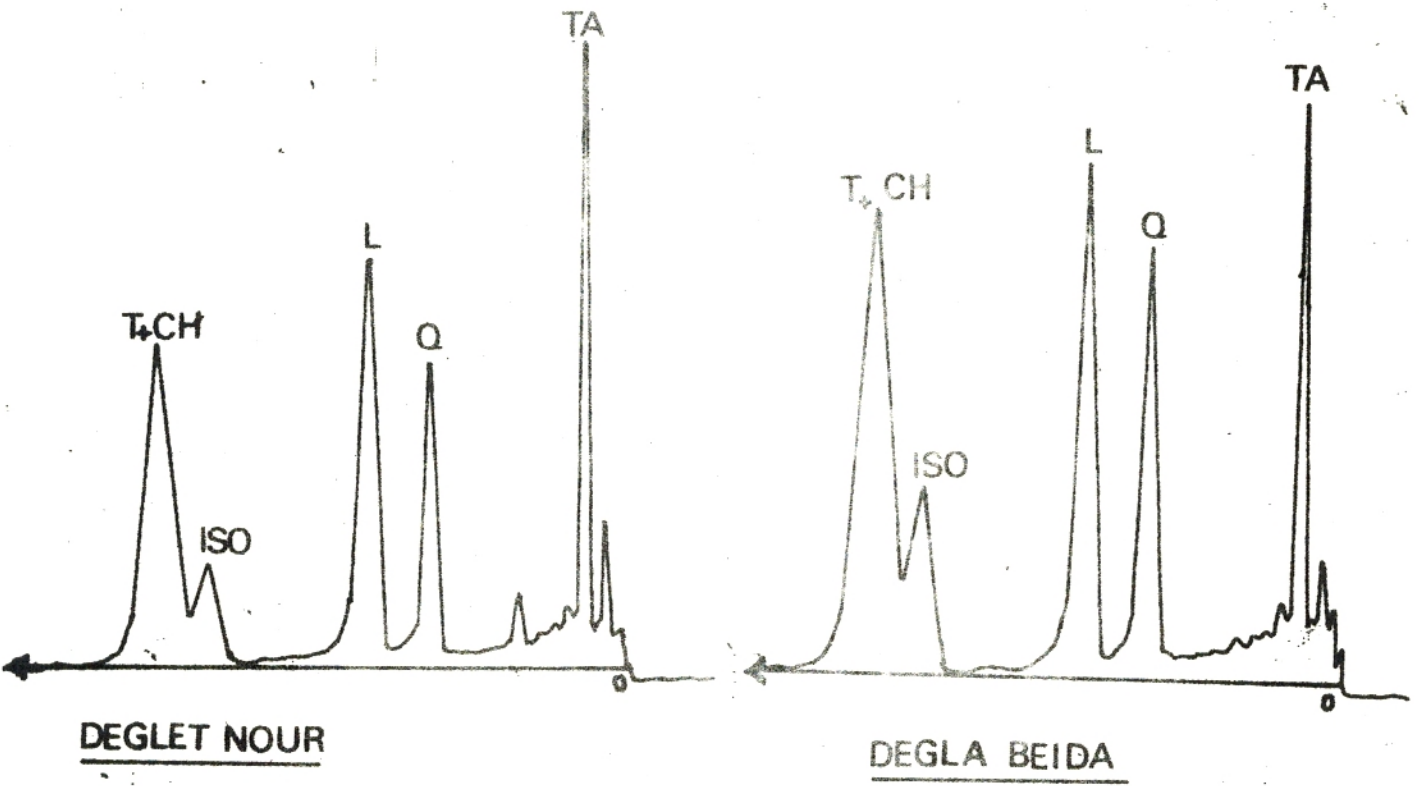


FIG 25 : Profil C.L.H.P. des aglycones flavoniques du palmier dattier

Colonne Micro-Bondapak  
C 18  
Solvant isocratique  
MeOH-H<sub>2</sub>O-AcOH  
45 - 55 - 5  
1 ml.mn<sup>-1</sup>  
0,5cm=1 mn  
Detection : 365 nm  
Calcul : en% à partir des hauteurs de pics







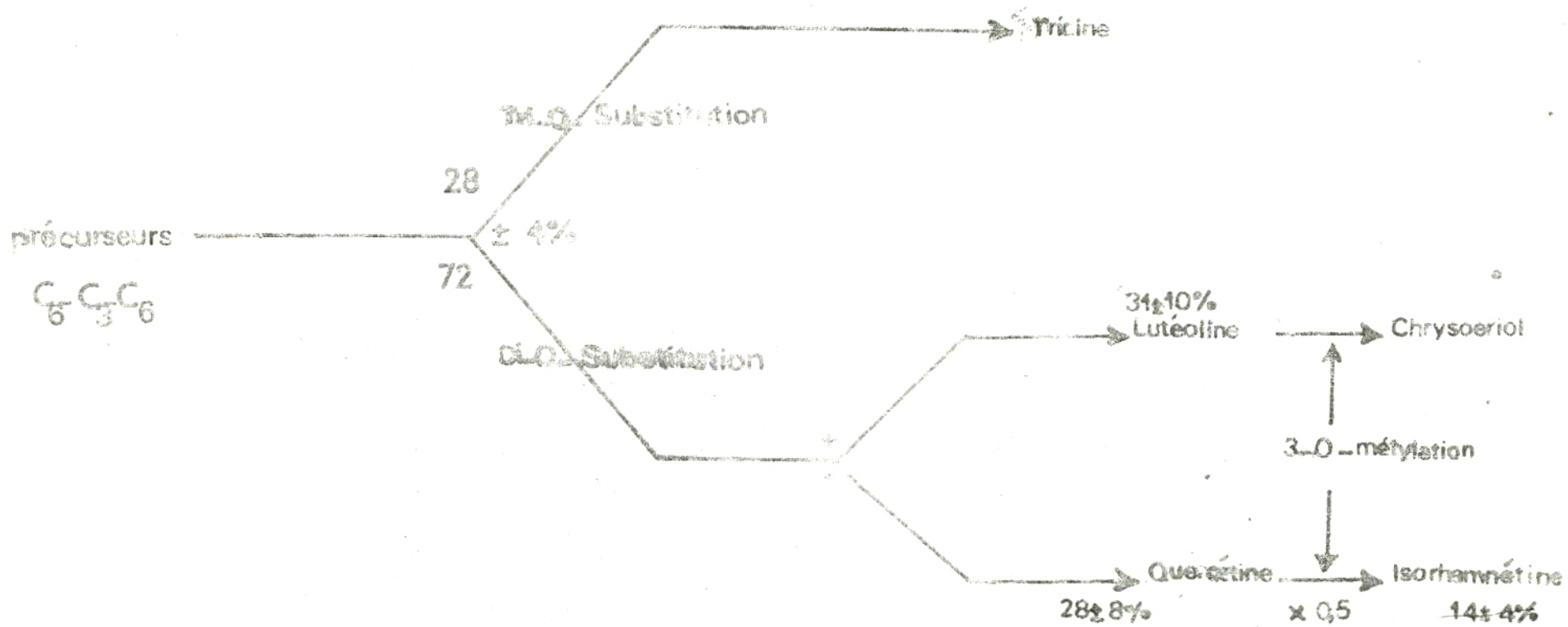


FIG 26 : Schema biogenetique des flavones flavonols du palmier..dattier



- . En outre, une corrélation positive significative ( $r = + 0,777$  ;  $p = 0,02$ ) existe entre les teneurs relatives respectives de la quercétine et de son homologue méthylé en 3', l'isorhamnétine (la corrélation demeure avec les teneurs absolues :  $r = + 0,840$  ;  $p < 0,01$ ).
- . Ces faits traduisent l'existence de la chaîne métabolique liant l'isorhamnétine à la quercétine par action d'une méthyl - transférase en 3', la présence du chrysoeriol à la même signification par rapport à la lutéoline.
- . Compte-tenu de ces résultats et des précédentes remarques, un condensé de l'information flavonique est donc constitué, par le rapport des teneurs respectives de la lutéoline et de la quercétine qui a en outre l'avantage, tant que rapport, d'échapper à presque toutes les causes d'erreur analytique.
- . Une seconde information provenant des teneurs absolues en procyanidines, représentative d'une autre grande voie métabolique est exploitée en faisant la représentation graphique du rapport lutéoline quercétine en fonction des teneurs en procyanidine ; ceci pourrait nous rendre précéptibles les "distances biochimiques" des 9 cultivars étudiées, reflet de leurs distances génétiques (FIG.27). D'après cette figure, 4 sous-ensembles se dégagent.
  - Trois pôles, respectivement constitués par les cultivars GHARS (4) riche en lutéoline et en procyanidine, TAZARZAIT (8), riche en procyanidine mais pauvre en lutéoline (constituant l'antipode de GHARS) TILEMSOU et AHAMOU (5 et 6), pauvres en procyanidine .
  - Un noyau central constitué par les cultivars restants à savoir TAKERBOUCHT (1), TINACEUR (9), DEGLA BEIDA (2), DEGLET NOUR (3) et AHARTANE.

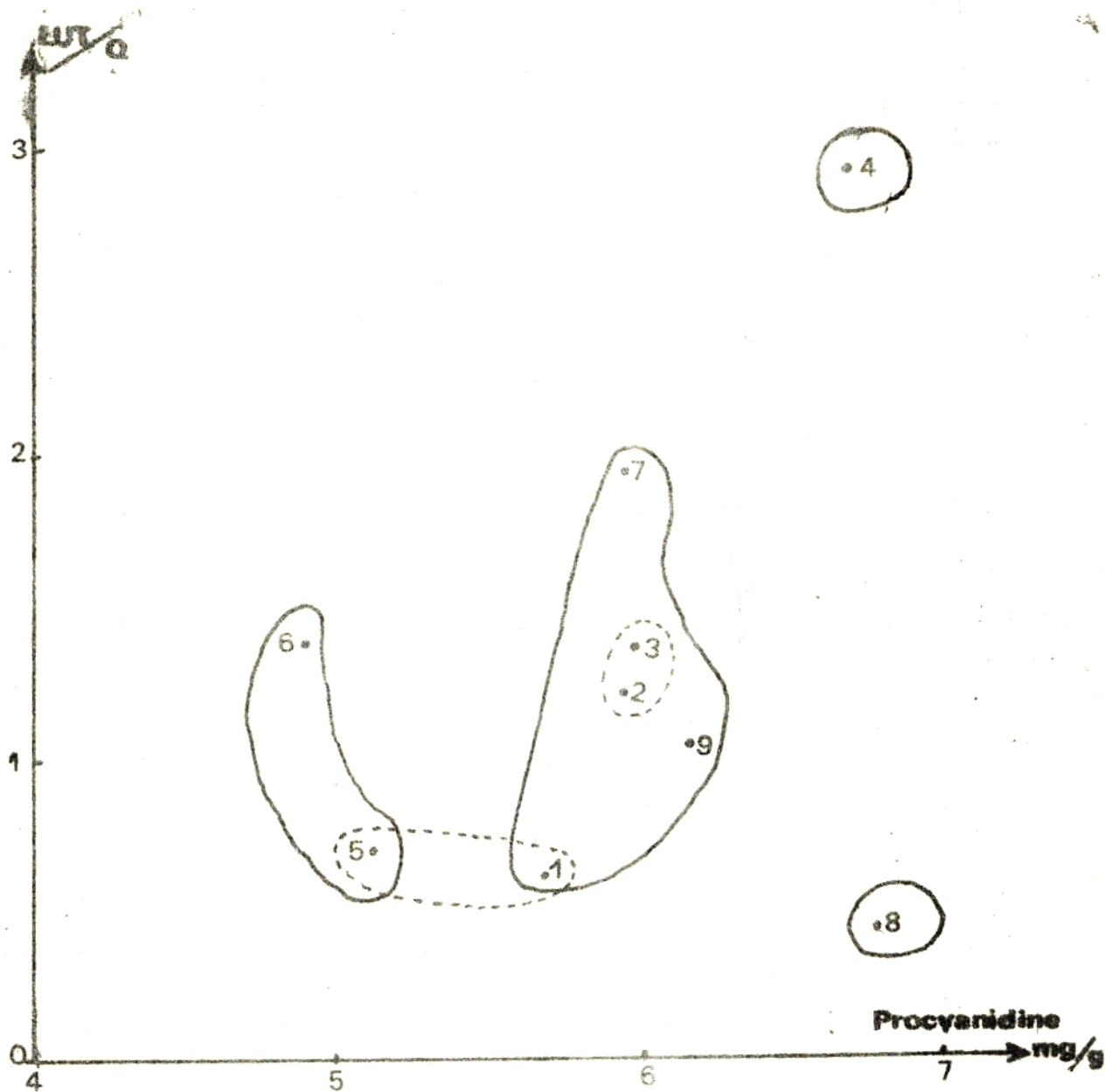


FIG. 27 Représentation graphique du rapport lutéoline quercétine  
en fonction de la teneur en procyanidine des cultivars

- . La vitesse de conversion de la taxifoline en quercétine serait sous la dépendance de facteurs physiologiques qui agiraient soit dans le sens d'une augmentation de la teneur absolue en quercétine ou en taxifoline.
- . Nous terminerons avec les flavanonols en apportant un argument en faveur de la proximité de DEGLA BEIDA et DEGLT NOUR (que nous avons signalés plus haut) dont les spécialistes pensent qu'elles pourraient ne constituer qu'une seule et même entité subspécifique.
- . En effet nous avons noté que ces deux cultivars renferment les teneurs en taxifoline les plus élevées par rapport aux 7 autres cultivars :  $44 \pm 10 \%$  contre  $15 \pm 4 \%$  et la différence entre ces deux valeurs moyennes est hautement significative avec  $p < 0,001$ .

#### 4.- Les hétérosides flavoniques :

- . Nous avons chromatographié en système bidimensionnel sur C.C.M de polyamide avec les solvants :

1.- BENZ/MeOH/MeEto : 4/3/3

2.- H<sub>2</sub>O/MeOH/MeEto/Acétyle acétone + n BuOH : 45/15/10/5 + 1 goutte.

Les extraits méthanoliques contenant les formes glycosidiques "natives" des flavones et flavonols des 9 cultivars.

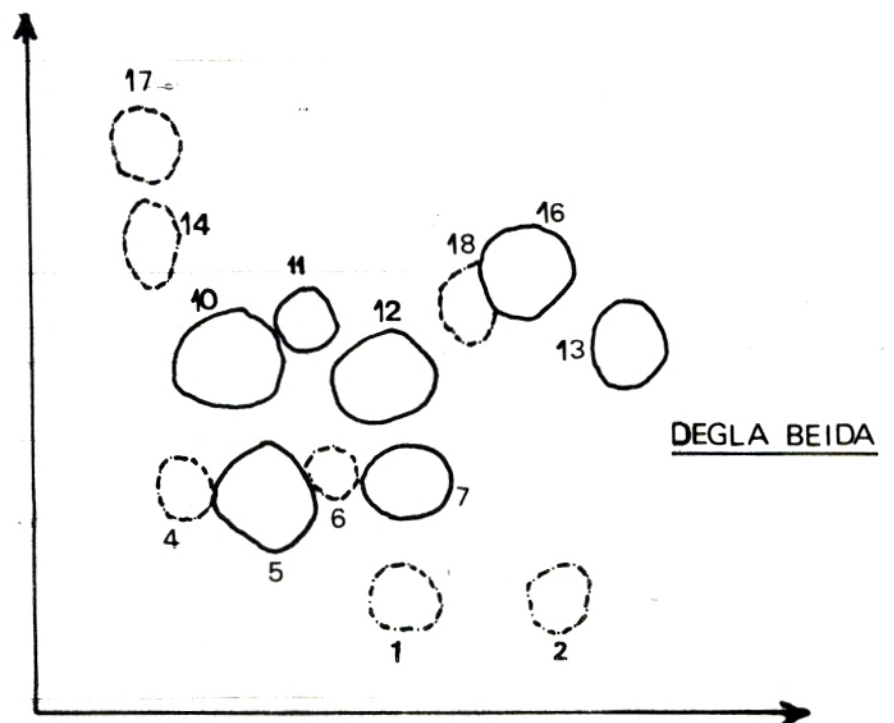
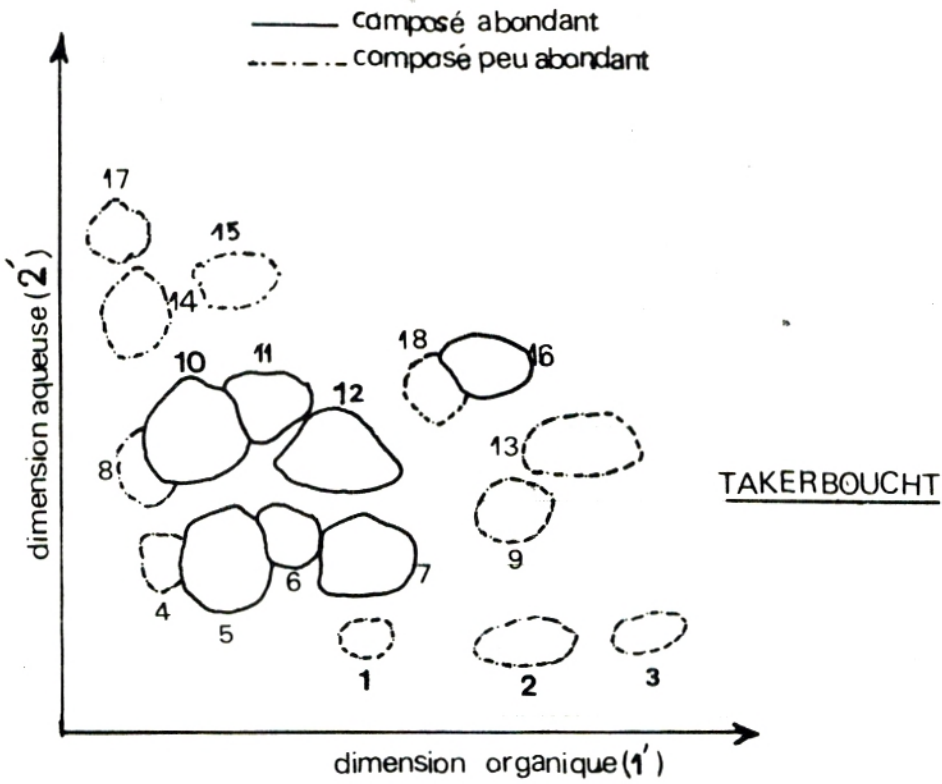
##### a)- Résultats :

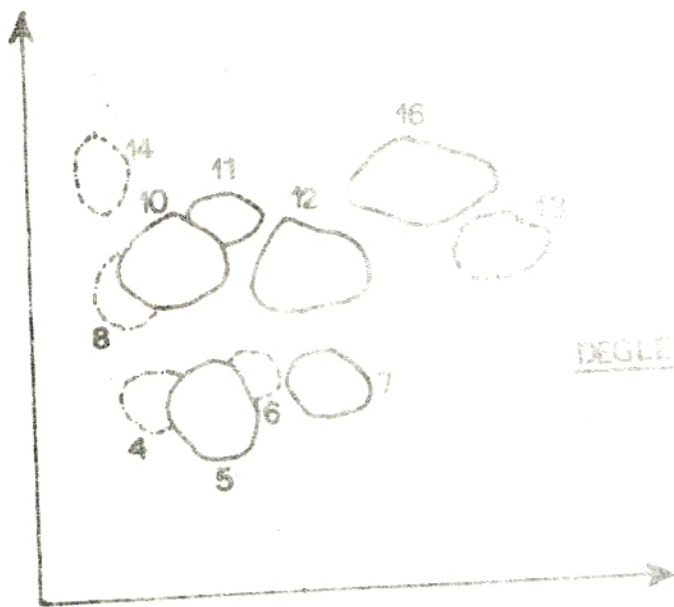
- . Les résultats obtenus laissent apparaître sur l'ensemble des cultivars un total de 19 tâches chromatographiques.
- . Pour pouvoir comparer les chromatogrammes entre-eux, nous avons procédé aux repérage des composés et à la numérotation des tâches en suivant un ordre déterminé, établi sur le chromatogramme le plus riche en composés hétérosidiques. Nous l'avons ensuite utilisé comme "cannevas" lors de la numérotation des tâches sur les 9 chromatogrammes (FIG.28).
- . Dans le tableau n° 8, nous avons représenté les composés présents au sein de chaque cultivar et leur importance.

FIG 28 : Confrontation des hétérosides flavoniques des cultivars en chromatographie bidimensionnelle sur C.M. de polyamide

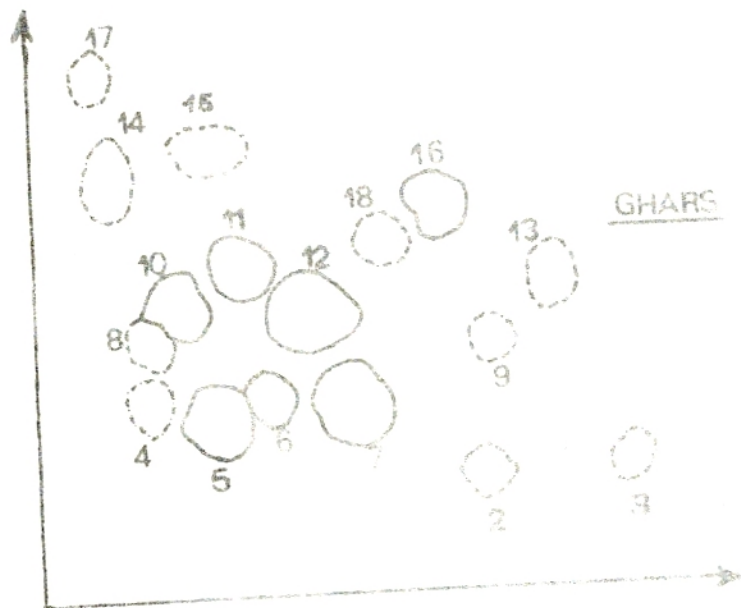
Solvant: 1 - MeOH - BENZ - MeEtco ( 3 / 4 / 3 )

2 - H<sub>2</sub>O - MeOH - MeEtco - ACAco - nBuOH ( 45 \ 15 \ 10 \ 5 + goutte )

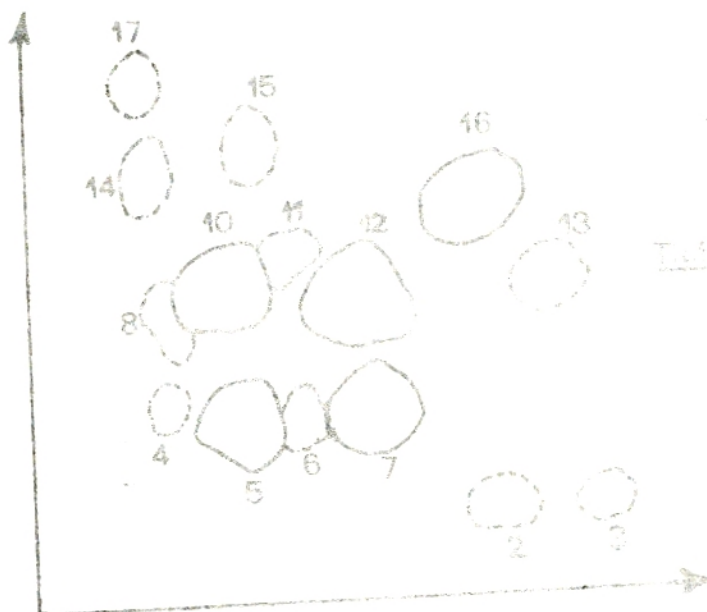




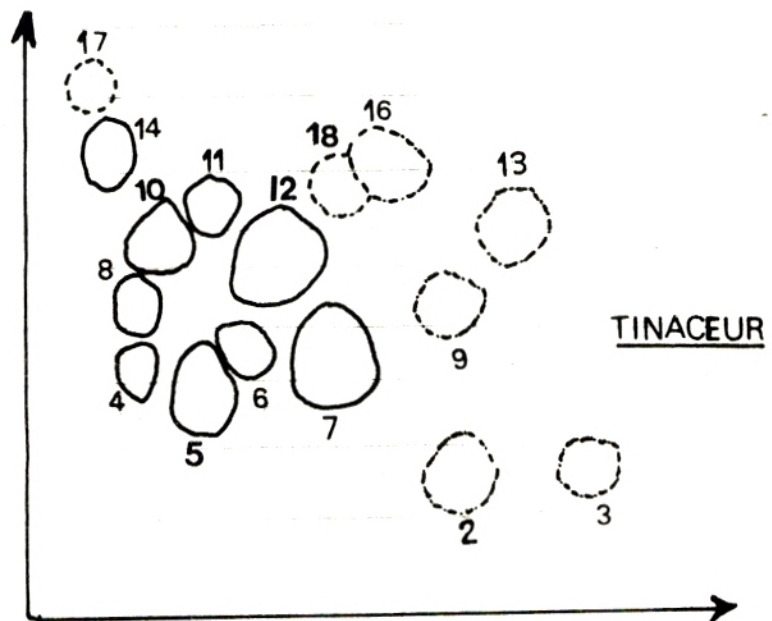
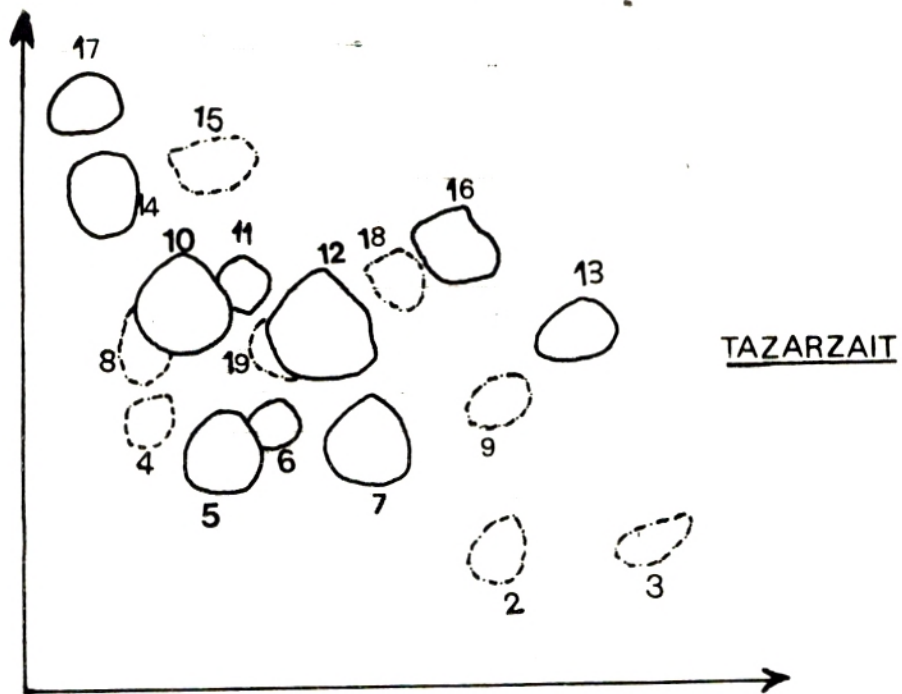
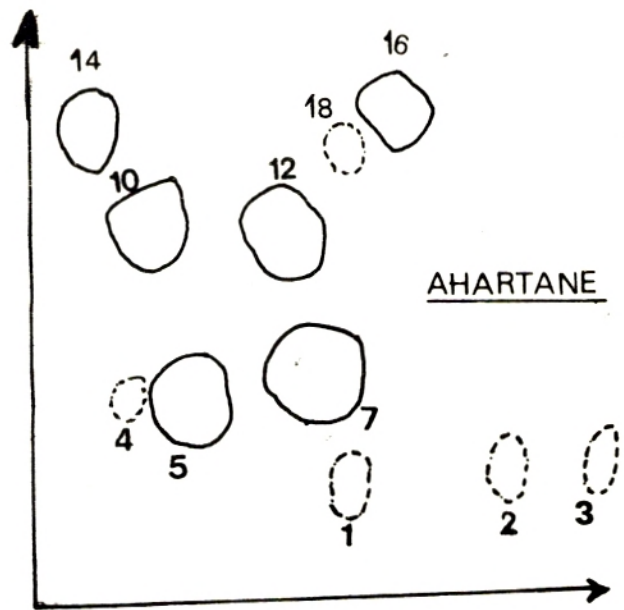
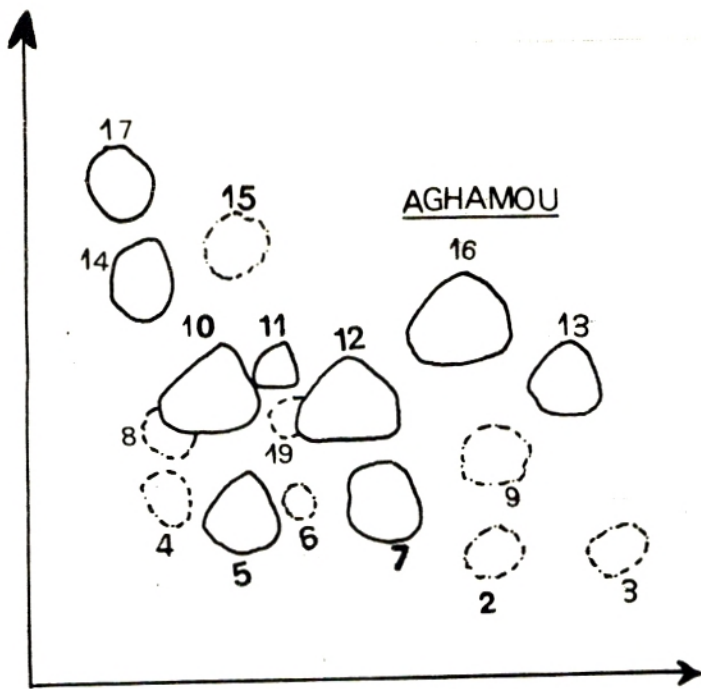
DEGLET NOUR



GHARS



Tahwiku



Du point de vue quantitatif, les valeurs moyennes, écarts types et coefficients de variabilité indiquent qu'il existe:

.Une variation intracultivar caractérisée par des coefficients de variabilité non négligeables.

.Une variation intercultivar significative.

Nous avons supposé que la variabilité intracultivar serait une conséquence due au fait que le nombre de régimes de dattes porté par chaque palmier est variable. En effet il existe une forte corrélation positive entre la fructification et les teneurs absolues en flavonoïdes.

En ce qui concerne la variabilité intercultivars déjà signalée, nous avons pu faire ressortir en corrélant les proanthocyanidines et les hétérosides pour les neuf cultivars que:

.TAZARZAIT est le cultivar le plus riche en proanthocyanidines, mais le plus pauvre en hétérosides.

.Aghamou est pour sa part pauvre en hétérosides et en proanthocyanidines.

.TAKERBOUCHT, AHARTANE, DEGLETNOUR, DEGLABEIDA et TINACEUR, forment un groupe de cultivars ayant des teneurs moyennes en composés phénoliques.

.TILEMSOU est riche en hétérosides, pauvre en proanthocyanidines, donc l'oppose de TAZARZAIT.

.GHARS constitue l'opposé de AGHAMOU, riche en proanthocyanidines et en hétérosides.

De plus la démarche analytique proposée, basée sur le profil C.H.L.P des aglycones flavoniques et la teneur absolue en proanthocyanidines, constitue un compromis apparemment raisonnable et fructueux entre informations structurales et niveau de biosynthèse.

Du point de vue qualitatif, cette étude comparative entre cultivars nous a montré que les proanthocyanidines sont des marqueurs à l'échelle spécifique. En effet chez les neuf cultivars étudiés nous n'avons rencontré qu'une seule proanthocyanidine: la procyanidine.

Par contre les résultats des chromatographies des hétérosides laisse suggérer leur rôle en tant que marqueurs biochimique des cultivars. Les chromatogrammes des cultivars sont très différents les uns des autres, d'où la nécessité d'identifier le reste des glycosides.

Enfin à travers cette étude comparative, nous avons essayé de reconstituer un schéma de biosynthèse des flavonoïdes chez le palmier dattier et d'estimer les distances biochimiques donc génétiques des neuf cultivars. La proximité de deux cultivars, DEGLABEIDA et DEGLETNOUR ressort de cette approche chimiotaxonomique et confirme les résultats morphologiques.

L'extension de l'étude des composés flavoniques aux autres organes aériens du Phoenix dactylifera L. tels que les fleurs mais surtout les fruits paraît intéressante à envisager pour des travaux ultérieurs, dans le but de confronter les résultats avec ceux ici obtenus.

\*-----\*



-°°- ABREVIATIONS UTILISEES -°°-

AcAcO.	:	.....	:	acétyl acétone
ACoH.	:	.....	:	acide acétique
Al <sup>3+</sup>	:	.....	:	aluminium
AlCl <sub>3</sub> .	:	.....	:	chlorure d'aluminium
Benz.	:	.....	:	benzène
C.C.M.	:	.....	:	chromatographie sur couche mince.
C.L.H.P.	:	.....	:	chromatographie liquide haute performance.
Cm.	:	.....	:	centimètre
Cm <sup>3</sup> .	:	.....	:	centimètre cube
C.p.	:	.....	:	chromatographie sur papier.
d.d.l.	:	.....	:	degré de liberté
<u>F.o.a.</u>	:	.....	:	<u>Fusarium oxys-</u> <u>porum albedinis.</u>
g.	:	.....	:	gramme
Hcl.	:	.....	:	acide chlorhy- drique.
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .	:	.....	:	acide borique
H <sub>2</sub> O.	:	.....	:	eau
MeEtCo.	:	.....	:	méthyl éthyl cétone
MeOH.	:	.....	:	méthanol
mg.	:	.....	:	milligramme
ml.	:	.....	:	millilitre
mn.	:	.....	:	minute
NaOAc.	:	.....	:	acétate de sodium
NaOH.	:	.....	:	soude
n BuOH.	:	.....	:	n - butanol
nm.	:	.....	:	nanomètre
O-dioH.	:	.....	:	orthodihydroxylé
p.	:	.....	:	probabilité
r	:	.....	:	coefficient de cor- rélation.
Rf.	:	.....	:	référence frontale
U.A.	:	.....	:	unité arbitraire
u.l.	:	.....	:	microlitre
u.m.	:	.....	:	micromètre
U.V.	:	.....	:	ultra - violet

- . AESCHBACH B., PHILIPPOSIAN G., RICHLI U., 1986.- Flavonoïdes glycosyles du ROMARIN : leur séparation, isolation et identification.  
- Colloque du groupe polyphénols, Montpellier 56 - 58 p.
  
- . ASSEF G.M., 1987.- Résistance chimique du palmier-dattier au "BAYOUD".  
- Thèse de doctorat ès-sciences en physique. Université d'Aix-Marseille Saint-Jérôme et Marrakech, 175 p.
  
- . AUBERT S., AMIOT M.J., 1986.- Analyse des composés phénoliques de l'artichaut (*Cynara scolymus L.*) par chromatographie liquide haute performance.  
- Colloque du groupe polyphénols 553 - 556 p.
  
- . BAKER R., SMITH J., 1960.- in PARIS et al., 1965.
  
- . BASSLER R., 1957.- in DELAVEAU P., 1967.
  
- . BATE SMITH E.C., LERNER N.H., 1954.- Leucoanthocyanidins. II. the nature and distribution in leaves.  
- Biochem. J., 58, 126 - 132 p.
  
- . BATE SMITH E.C., 1962.- The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. I. Dicotyledons.  
- J. Linn. Soc. (Bot) London, 58 95 - 173 p.
  
- . BATE SMITH E.C., 1968.- The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. II. Monocotyledons.  
- J. Linn. Soc (Bot) London, 60, 325 - 356 p.

- . BENICHI, TFA A., 1985.- Etude de la variabilité des cultivars traditionnels du palmier-dattier des palmeraies du TOUAT et du TUNIS. Application de l'A.F.C sur les caractères morphologiques des dattes et des noyaux.  
Mémoire de D.E.S., U.S.T.H.B 49 p.
- . BEZANGER-BEAUQUESNE L., 1987.- Plantes anti-tumorales.  
- Plantes médicinales et phytothérapie, XXI, (1), 79 - 93 p.
- . BOUGHEDOURA M., 1979.- Contribution à la connaissance du palmier-dattier. Phoenix dactyleifera L. ; Etude des productions axillaires.  
Thèse. Doct. 3e cycle. U.S.T.H.B., 64 p.
- . BOUTARD B., 1972.- Contribution à l'étude des flavonoïdes de Potamogeton natans L. et autres fluviales. Thèse de doctorat 3e cycle Lyon I, 113 p.
- . BRASSEUR H., ANGENOT L., PINCEMAIL J., DEBY C., 1986.- Propriétés antiradicalaires, antilipoperoxydant et des flavonoïdes.  
- Colloque du groupe polyphénols, Montpellier, 557 - 559 p.
- . CHARTIERE LADREIX V., 1972.- Distribution tissulaire des aglycones flavoniques dans les bourgeons d'Aesculus trippocastanum L. et de Populus nigra L. Bull. Soc. Bot. Fr. 119, 543 - 554 p.
- . CLAIR G., DELAVEAU P., PARIS R., 1963.- Recherches sur la répartition des pigments flavoniques chez les crucifères.  
- Bull. Soc. Bot. Fr. 110, 1 - 6 p.

- . DAUGUET J.C., PARIS R.R., 1974.- Flavonoïdes du Rhamnus frangula L.  
Répartition et variation au cours de la la végétation.  
- Bull. Soc. Bot. Fr., 124, 159 - 168 p.
  
- . DECANDOLLE A.P., 1804.- Essai sur les propriétés médicales des plantes,  
comparées avec leurs formes extérieures et leur classification  
naturelle.  
1ère ed PARIS.
  
- . DELAVEAU P., 1967.- Les flavonoïdes de la grande capucine physiol.  
Veget., 5 (4), 357 - 390 p.
  
- . DEMARLY Y., 1977.- Génétique et amélioration des plantes.  
- Collection Sciences agronomiques. Masson : 287 p.
  
- . EDWARD E.S., HEISER C.B., 1981.- Flavonoïds and the systematics  
of Luffa.  
- Biochemical. Systematic and ecology 9 (4) ; 263 - 265 p.
  
- . ERDTMANN H., 1955.- in LEBRETON ph., 1964
  
- . ERDTMANN H., 1956.- in LEBRETON ph., 1964
  
- . HADJ MAHAMMED M., 1985.- Contribution à l'étude des flavonoïdes en  
chromatographie liquide et sur couche mince à haute performance.  
Application à leur analyse dans le citrus de la station  
expérimentale d'arboriculture de Tessala El-Merdja.  
Thèse. Doct. 3e cycle, 121 p.

- . HARBORNE J.B., 1963.- in RIBEREAU GAYON P., 1969.
- . HARBORNE J.B., 1967.- Comparative biochemistry of the flavonoïds  
Academic press, New-York.
- . HARBORNE J.B., 1973.- *Phytochemical methods*. Ed. Chapman and Hall,  
London, 378 p.
- . HARBORNE J.B., 1975.- Flavonoïds sulphates : anew class of sulphur  
compounds in higher plants.  
- Phytochem, 14, 1147 - 1155.
- . HARBORNE J.B., 1980.- Secondary plant products. Encyclopedia of  
plant physiology, 8 Springer Verlag. Berlin Heidelberg. New-York,  
329 - 402 p.
- . IDRISSE HASSANI M., 1985.- Etude de la variabilité flavonique chez  
deux conifères Méditerranéennes : Le pin Maritime pinuspinaster  
Ait. Et le genévier Thurifère Juniperus Thurifera L.  
Thèse. Doct. 3e cycle, Lyon I, 171 p.
- . JULLIEN F., 1984.- Contribution de la biochimie flavonique à la  
systématique des Menthes. D.E.A de biologie végétale, Lyon I.  
60 p.
- . JURD L., 1962.- Spectral properties of flavonoïd compounds.  
Dans. The chemistry of flavonoïd compounds. T.A GEISSMANN,  
Ed., Pergamon press, London, 10è - 155 p.

LAKAZINE C., 1984. - Etude de la variabilité flavonoïde infra-spécifique chez deux conifères : Le pin sylvestre et le génerien commun.  
Doct. Spéc. cycle, Lyon I, 169 p.

LERRETON G., 1963. - Eléments de chimiotaxonomie botanique. Généralité : notion d'espèce biochimique cas des flavonoïdes chez *Humulus lupulus*.  
Bull. Soc. Bot. Fr. III, 69 - 80 p.

LERRETON P., 1964. - Elément de chimiotaxonomie botanique II. Cas des flavonoïdes chez les artémites : conclusion générale.  
Bull. Soc. Bot. Fr. III, 69 - 79 p.

LERRETON Ph., JAY M., VOIRIN B., 1967. - Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes.  
Chém. Anal., 43, (7), 375 - 383 p.

LERRETON Ph., THIVEND S., SOUTARD B., 1980. - Distribution des proanthocyanidines chez les Gymnospermes. Plantes. Médicinales et phytothérape. XIV, (2) 105 - 129 p.

LERRETON Ph., 1982. - Les cupressacées : une définition chimio-systématique.  
stématiques.

CANDOLLEA. 37, 243 - 256 p.

MARBY T.J., MARKHAM K.R., THOMAS M.B., 1970. - The systematic identification of flavonoids.  
Springer Verlag, Berlin New-York 313 p.

MARKHAM K.R., 1982. - Techniques of flavonoid identification.  
Academic press, London.

- . NITSCH J.P., NITSCH C., 1961.- Synergistes naturels des auxines et des gibberellines.  
Bull. Soc. Bot. Fr. 108, 349 - 362 p.
- . NITSCH J.P., NITSCH C., 1962.- Composés phénoliques et croissance végétale.  
Ann. Physiol. Vég. 4, 211 - 225 p.
- . PAC HECO H., 1957.- "Distribution des flavonols, chez les genres *Abies* et *pinus*".  
Bull. Soc. Chim. Biol. 39 971 - 982 p;
- . PARIS R., DELAVEAU P., 1965.- Possibilités et limites de la chimio-taxonomie.  
Bull. Soc. Bot. Fr. Memoires. 1965  
143 - 149 p.
- . RAVANEL P., LECLERCQ M., MARIOETTE A.M., 1987.- La génotoxicité des plantes médicinales.  
Phytothérapie. XXI, (1), 63 - 78 p.
- . RIBEREAU GAYON P., 1969.- Les composés phénoliques des végétaux.  
Ed. DUNOD. PARIS. 254 p.
- . ROSLER K.A., GOODWIN R.S., 1984.- Flavonoïds with anti-cataract activity from *Brickellia arguta*.  
- J. Natural. Products. 47, 2, 316 - 319 p.
- . SCHWARTZ D., 1963.- Methodes statistiques à l'usage des medecins et des biologistes  
Ed. Flammarion 318 p.

- . SKAL TSA H., HARVALA C., 1937.- Contribution à l'étude chimique d'Origanum dicta.  
Plantes, médicinales et phytothérapie, XXI, (1), 56 - 62 p.
  
- . STENLID., 1963.- The effects of flavonoids compounds on oxidative phosphorylation and on the enzymatic destruction of indols acetic acid.  
Physiol. Plantarum 16, 110 --120 p.
  
- . TANGUY J., 1971.- Quelques aspects du métabolisme des composés phénoliques chez les *Nicotiana* hypersensibles au virus de la mosaïque du tabac rouge commune (V.M.7)  
Physiol. Veg. 9, (2) 169 - 187 p.
  
- . TARRAK- GACEB R., 1987.- Contribution à l'étude de la fusariose du palmier-dattier.  
- Identification des flavonoïdes du palmier-dattier.  
Thèse. Melisier. U.S.T.N.S. 120 p.
  
- . TISSUT M., 1968.- Etude du cycle annuel des dérivés phénoliques de la feuille de hêtre, Fagus sylvatica L.  
Physiol. Veg. 6, (4) 351 - 365 p.
  
- . TRONCHET J., 1972.- Les dérivés flavoniques du p<sup>o</sup>llen et du stigmate. Premiers résultats obtenus par chromatographie sur papier.  
Bull. Soc. Bot. Fr. 119, 555 - 570 p.
  
- . VOIRIN B., 1983.- U.V. Spectral differentiation of 5-OH 3 méthoxyflavones with mono (4') ; di (3,4') or tri (3', 4', 5') substituted rings.  
Phytochem ; 22, (10), 2107 + 2145 p.



- . WARD R.S., PELTER A., 1974.- Analysis of flavonoïds on reverse phase by H.P.L.C.  
J. Chromatogr. Sci. 12, 571 - 578 p.
  
- . WILLIAM'S C.A., HARBORNE J.B., TREVOR CLIFFORD H., 1973.- Negatively charged flavones and tricin as chemosystematic markers in the Palmae.  
phytochem. 12, 2417 - 2430 p.
  
- . WILLIAM'S C.A., HARBORNE J.B., 1983.- Flavonoïds as taxonomic markers in some cocosoid palms.  
Pl. Syst. evol., 142, 157 - 169 p.
  
- . WOLLENWEBER E., DIETZ V.H., 1981.- Occurence and distribution of free flavonoïds aglycones in plants.  
Phytochem. 20, (5) 869 - 932 p.
  
- . WULF L.W., NAGEL C., 1976.- Analysis of phenolic acid and flavonoïds by high pressure liquid chromatography.  
J. of Chromatogr., 116, 271 - 277 p.
  
- . ZUCKER M., NITCH C., NITCH J.P., 1965.- The induction of flowering in *Nicotiana*. II Photoperiodic alteration of the chlorogenic acid concentration.  
Amer. J. Bot. 52, 271 - 277 p.