



Discrimination des chémotypes de thym vulgaire avec le 'nez électronique' SMart Nose®

J. F. VOUILLAMOZ, M. SCHALLER et C.-A. CARRON,
Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Centre de recherche Conthey, 1964 Conthey
A. BOZZI-NISING, Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Centre de recherche Wädenswil, 8820 Wädenswil

@ E-mail: jose.vouillamoz@acw.admin.ch
Tél. (+41) 27 34 53 511.

Introduction

Le thym vulgaire (*Thymus vulgaris* L., *Lamiaceae*) est l'une des plantes aromatiques les plus répandues naturellement sur le pourtour méditerranéen. Les composés aromatiques de l'huile essentielle du thym varient fortement et, à ce jour, sept chémotypes (chimiotypes ou phénotypes chimiques) ont été caractérisés en fonction de leur composé monoterpénique dominant (Stahl-Biskup et Sáez, 2002; Keefover-Ring *et al.*, 2009):

- thymol, le chémotype le plus répandu;
- carvacrol, typique des régions d'extrême chaleur et de sécheresse;
- linalol, dans les zones humides de moyenne montagne;
- géraniol, adapté aux conditions d'altitude;
- sabinène hydrate (ou thuyanol), intermédiaire entre linalol et géraniol;
- paracymène (ou α -terpinéol), précurseur de la biosynthèse du carvacrol et du thymol;
- 1,8 cinéol, déjà connu en Espagne, isolé très récemment dans le sud de la France.

En Suisse, le thym vulgaire est utilisé principalement par les firmes du secteur alimentaire (bonbons, tisane) et en partie pour la production d'huile essentielle. C'est la seconde plante aromatique la plus cultivée avec environ 6-7 ha produisant 20-25 tonnes de drogue sèche par an.

En 1994, les variétés hybrides 'Varico 1' et 'Varico 2' ont été développées par Agroscope ACW et mises à la disposition des cultivateurs suisses afin d'offrir une bonne homogénéité et une teneur en huile essentielle élevée (Rey, 1994).

Résumé

Sept chémotypes (= types chimiques) de thym vulgaire (*Thymus vulgaris* L.) sont décrits dans les populations naturelles méditerranéennes: thymol, carvacrol, linalol, géraniol, sabinène hydrate, paracymène et cinéol. Le pouvoir discriminant du SMart Nose®, nez électronique basé sur la spectrométrie de masse en phase gazeuse, a été testé sur sept variétés de Suisse, de France et d'Allemagne représentant quatre chémotypes déterminés par HPLC-DAD. L'expérience montre que la distinction des variétés au SMart Nose® est rapide, reproductible et peu onéreuse. L'utilisation du SMart Nose® pourrait s'étendre à l'avenir à d'autres applications dans les plantes aromatiques et médicinales, comme le screening de génotypes de populations naturelles ou d'une lignée F1 après croisement pour la détection d'un chémotype particulier.



Vue de l'essai d'Arbaz (VS) avec les différents chémotypes de thym.

Malgré les qualités de ces variétés, le coût de production des semences est particulièrement élevé, et la nécessité de fournir une variété encore mieux adaptée aux conditions de production en moyenne montagne en Suisse s'est rapidement fait sentir (Rey *et al.*, 2004). Une nouvelle variété hybride 'Varico 3' a donc été développée à partir de parents à floraison synchrone afin d'abaisser le prix des semences. Cette variété est caractérisée par un chémotype thymol, une teneur en huile essentielle élevée ($\pm 5\%$) et une productivité en matière sèche comparable à ceux de 'Varico 2'.

Le SMart Nose[®], mis au point en Suisse (SMart Nose SA, 2074 Marin-Epagnier), est le premier nez électronique utilisant la spectrométrie de masse. Il permet de caractériser des échantillons liquides, solides ou gazeux en comparant leurs «empreintes olfactives». Afin d'évaluer le potentiel du SMart Nose[®] pour la distinction des chémotypes de thym, dont les profils aromatiques ont été définis par HPLC-DAD, les variétés hybrides 'Varico 2' et 'Varico 3' d'ACW ont été comparées à cinq autres variétés du commerce.

Matériel et méthodes

Sept variétés de thym de Suisse, de France et d'Allemagne représentant quatre chémotypes ont été testées (tabl.1). Dans le champ expérimental à Arbaz (tabl. 2), chaque variété est présente en quatre répétitions. Pour chaque répétition, 250 mg de feuilles séchées ont été analysés avec le SMart Nose[®]. Les échantillons ont été chargés de manière aléatoire, avec les paramètres standard du SMart Nose[®] (tabl. 3).

L'analyse factorielle discriminante (DFA) a été effectuée avec le Software SMart Nose 1.51. La composition de l'huile essentielle a été analysée au laboratoire Ilis (Bienne) par chromatographie liquide à haute performance avec un détecteur à barrettes de diodes (HPLC-DAD). Pour chaque variété, un mélange des quatre répétitions a été analysé.

Tableau 1. Variétés étudiées suisses, françaises et allemandes de *Thymus vulgaris*.

Variétés	Type de variété (origine)	Commercialisation
'Varico 2'	Hybride (CH)	MediSeeds (CH)
'Varico 3'	Hybride (CH)	MediSeeds (CH)
'Deutscher Winter Biosem'	Population (D)	Biosem (CH)
'Deutscher Winter UFA'	Population (D)	Fenaco (CH)
'L2'	Hybride (F)	Iteipmai ^a (F)
'122'	Hybride (F)	Iteipmai (F)
'147'	Hybride (F)	Iteipmai (F)

^aIteipmai: Institut technique interprofessionnel des plantes à parfum, médicinales et aromatiques.

Tableau 2. Dispositif expérimental de l'essai sur *Thymus vulgaris* à Arbaz (VS, Suisse).

Altitude	920 m
Latitude	46.16 N
Longitude	7.22 E
Exposition	sud (adret)
Sol	léger et calcaire (pH 8)
Texture	argile (20%), limon (49%), sable (31%)
Pente	$\pm 20-30\%$
Irrigation	par aspersion
Durée	2007-2009
Répétitions	4 x 54 plantes (3 x pour Biosem)
Densité	9,8 plantes/m ²
Distances	plate-bande de 3 lignes de 21 x 40 cm + chemin 60 cm
Surface	3 plates-bandes de 50 x 4,20 m = 210 m ²
Plantation	20-25 mai 2007

Tableau 3. SMart Nose[®]: protocole d'analyse.

Echantillon	0,25 g
Nombre de canaux	151 (mode bargraph, 10-160)
Gaz de purge	Azote 99,95%, 0,30 bar, 100 ml/min
Température d'incubation	90 °C
Durée d'incubation	15 minutes, avec agitation
Volume injecté et T° de la seringue	2,5 ml, 110 °C
T° de l'injecteur	160 °C
Acquisition après injection	env. 4 minutes, 10 s de délai
Purge de la seringue	1 minute
Purge de l'injecteur	1 minute

Résultats et discussion

Les chémotypes des sept variétés de *Thymus vulgaris* ont été établis (fig.1). Le chémotype à thymol se retrouve dans les variétés suisses ('Varico 2', 'Varico 3') et dans les variétés-populations allemandes ('Deutscher Winter Biosem' et

'Deutscher Winter UFA'), tandis que les variétés françaises ont des chémotypes bien distincts (linalol pour 'L2', thymol-carvacrol pour '22' et carvacrol pour '147'). L'analyse factorielle discriminante (DFA) des profils établis avec le SMart Nose[®] montre que les quatre répétitions des sept variétés de thym se regroupent relativement bien dans tous les cas, ce qui confirme la fiabilité du SMart Nose[®] (fig. 2). De même, la disposition des groupes reflète très bien la composition en huile essentielle des différentes variétés. Les quatre chémotypes à thymol sont relativement proches, tout en étant facilement discriminés par la DFA, vraisemblablement par la composition légèrement différente et une concentration décroissante de leur huile essentielle (HE) ('Varico 3' > 'Varico 2' > 'Deutscher Winter Biosem' > 'Deutscher Winter UFA') (fig.1).

Les trois variétés françaises (Iteipmai) sont nettement séparées de ce groupe:

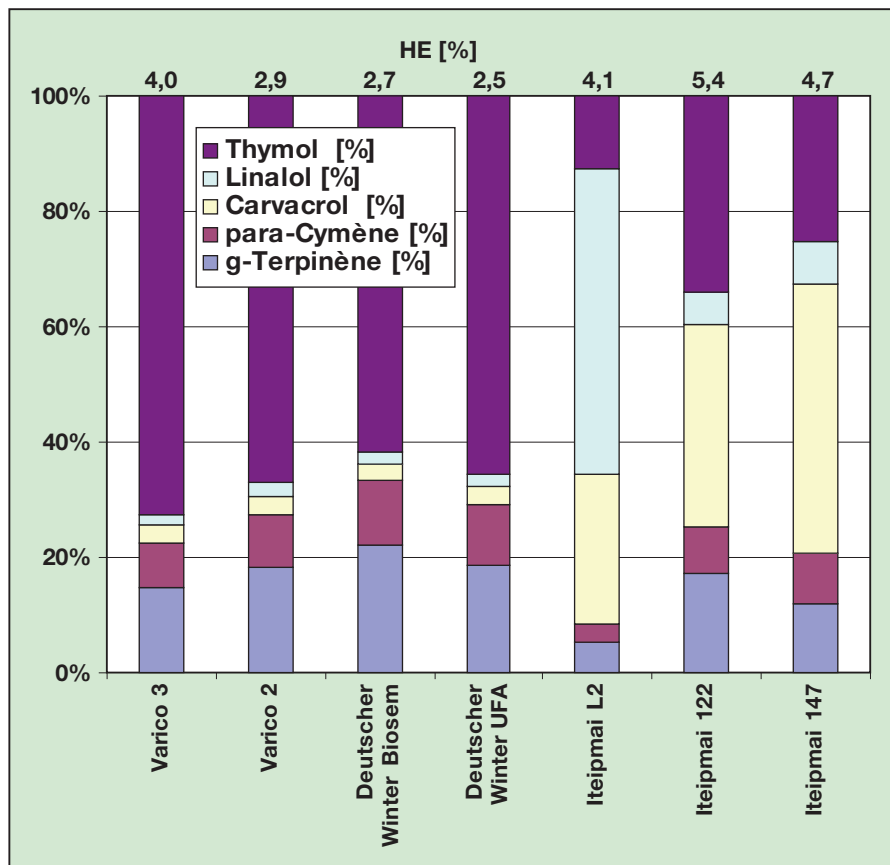


Fig. 1. Chémotypes des sept variétés de *Thymus vulgaris* étudiées et pourcentage d'huile essentielle (HE) totale. Les variétés suisses ('Varico 3', 'Varico 2') et allemandes ('Deutscher Winter Biosem' et 'Deutscher Winter UFA' de Fenaco) ont un chémotype à majorité thymol, avec un taux d'HE décroissant. Parmi les variétés françaises de l'Iteipmai, 'L2' se distingue avec un chémotype linalol, '122' a un chémotype thymol-carvacrol et '147' un chémotype carvacrol plus marqué; toutes ont un taux d'HE élevé.

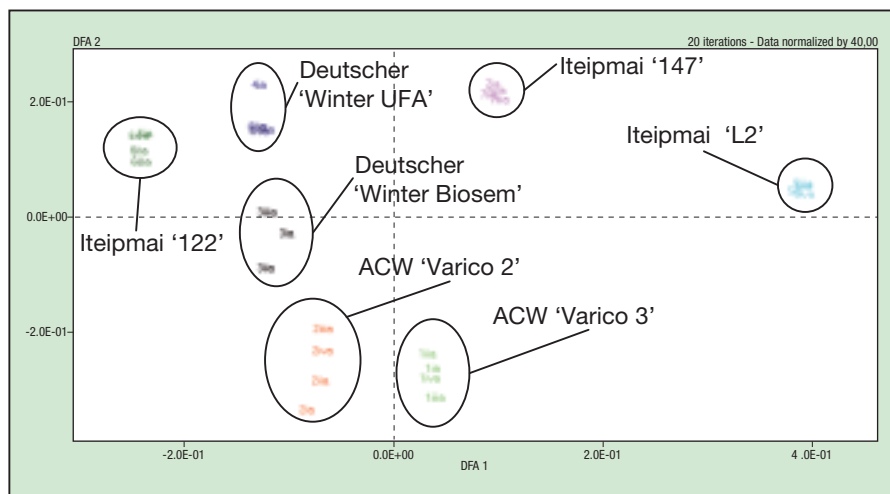


Fig. 2. Analyse Factorielle Discriminante (DFA) d'un échantillon pour chacune des quatre répétitions (i-iv) de sept variétés de *Thymus vulgaris* (total 28 échantillons) analysées avec le Smart Nose®.

'L2' – un chémotype à linalol – est isolée car elle contient peu de thymol, tandis que '147' et '122', qui contiennent passablement de thymol, sont proches des quatre variétés à chémotype thymol, mais s'en distinguent toutefois par leur forte teneur en carvacrol.

Le Smart Nose® pourrait à l'avenir se révéler très utile dans le domaine des plantes aromatiques et médicinales pour la détection des chémotypes dans une population naturelle ou dans une lignée F1 en sélection. Par exemple, le Smart Nose® pourrait permettre de détecter

des individus de *Thymus pulegioides* citronnés dans les populations naturelles du Valais et du Val d'Aoste. Pour cela, il faudrait inclure dans l'analyse un échantillon de géranol pur ou des feuilles d'un chémotype bien caractérisé comme référence et déterminer quels sont les individus de thym qui s'en approchent le plus. Une telle analyse demanderait toutefois une calibration adéquate du standard citral afin d'établir une Analyse Factorielle Discriminante (DFA) utilisable.

Conclusions

- Le Smart Nose® permet de distinguer de manière rapide et fiable des chémotypes dont les profils bien distincts ont été établis par HPLC-DAD ou GC-MS au préalable.
- Les regroupements d'échantillons et de variétés se font aussi bien de manière qualitative, puisqu'ils séparent bien les différents chémotypes, que quantitative, puisque la teneur en principe actif joue également un rôle dans les regroupements.
- Le Smart Nose® devrait permettre la discrimination rapide et peu coûteuse de populations sauvages de plantes aromatiques intéressantes en vue d'une domestication, ainsi que dans le screening d'une population d'hybrides de la première génération (F1) issue de croisements dirigés.

Remerciements

Les auteurs remercient Séverine Gabioud et Daniel Baumgartner (Agroscope ACW, Centre de recherche Wädenswil) pour leur assistance technique avec le Smart Nose®, ainsi que Ivan Slacanin du laboratoire Ibis à Bienne et Jean-Pierre Bouverat Bernier de l'Iteipmai (F).

Bibliographie

- Keefover-Ring K., Thompson J. D. & Linhart Y. B., 2009. Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour Fragrance Journal* **24**, 117-122.
- Rey C., 1994. Une variété de thym vulgaire: «Varico». *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **26** (4), 249-250.
- Rey C., Carron C.-A., Cottagnoud A., Schweizer N., Bruttin B. & Carlen C., 2004. Nouveaux hybrides de thym vulgaire. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **36** (5), 297-301.
- Stahl-Biskup E. & Sáez F. (Eds.), 2002. *Thyme: The Genus Thymus. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles V. 24*. Taylor & Francis, London and New York, 330 p.

Summary

Discrimination of thyme chemotypes using the electronic nose SMart Nose®

Seven chemotypes (or chemical types) of common thyme (*Thymus vulgaris* L.) have been described in natural Mediterranean populations: thymol, carvacrol, linalool, geraniol, sabinene hydrate, *p*-cymene and cineol. The discriminating power of the SMart Nose®, an electronic nose based on mass spectrometry of the gas phase, was tested on seven varieties from Switzerland, France and Germany representing four chemotypes previously distinguished by HPLC-DAD. This experiment shows that the distinction between the cultivars with the SMart Nose® is fast, reproducible and inexpensive. The use of the SMart Nose® could be extended in the future to other applications in medicinal and aromatic plants, such as screening of genotypes in natural populations and in F1 after crossing to detect a particular chemotype.

Key words: *Thymus vulgaris*, *Lamiaceae*, aromatic plants, HPLC, spectrometry.

Zusammenfassung

Unterscheidung von Chemotypen von Thymian mit der 'elektronischen Nase' Smart Nose®

Sieben Chemotypen von Thymian (*Thymus vulgaris* L.) sind in natürlichen Populationen des Mittelmeerraumes beschrieben: Thymol, Carvacrol, Linalool, Geraniol, Sabinen-Hydrat, Paracymen und Cineol. Die Möglichkeiten zur Chemotypenunterscheidung mittels der elektronischen Nase SMart Nose®, begründet auf der Massenspektroskopie von flüchtigen organischen Stoffen, wurde auf sieben Sorten aus der Schweiz, Frankreich und Deutschland getestet. Diese Sorten stellen vier Chemotypen dar, deren Unterscheidung mittels HPLC-DAD Chromatographie bestimmt wurde. Die Resultate zeigten, dass mit SMart Nose® die verschiedenen Sorten schnell, reproduzierbar und mit wenig Kosten unterscheidbar sind. Die Anwendung von SMart Nose® könnte in Zukunft für weitere Bereiche für Arznei- und Gewürzpflanzen genutzt werden, wie das Screening von Genotypen aus natürlichen Populationen oder F1-Nachkommen nach Kreuzungen, um bestimmte Chemotypen schnell und kostengünstig zu finden.

Riassunto

Discriminazione dei chemiotipi di timo con il 'naso elettronico' SMart Nose®

Sette chemiotipi (o tipi chimiche) di timo comune (*Thymus vulgaris* L.) sono descritti nelle popolazioni naturali del Mediterraneo: timolo, carvacrolo, linalolo, geraniolo, idrato sabinene, paracimene e cineolo. Il potere discriminante dello SMart Nose®, un naso elettronico basato sulla spettrometria di massa della fase gassosa, è stato testato su sette varietà dalla Svizzera, dalla Francia e dalla Germania corrispondenti a quattro chemiotipi già caratterizzati dalla tecnica HPLC-DAD. Questo esperimento mostra che la distinzione tra i cultivars con il SMart Nose® è veloce, riproducibile e poco costosa. L'uso dello SMart Nose® potrebbe essere esteso in futuro ad altre applicazioni nelle piante medicinali e aromatiche, come lo screening dei genotipi di una popolazione naturale o di una prima generazione F1 dopo incroci per individuare un chemiotipo particolare.

Pépinières viticoles



Héli Dutruy

Ch. du Lac 2
1297 Founex

Tél. 022 776 16 39

Fax 022 776 64 24

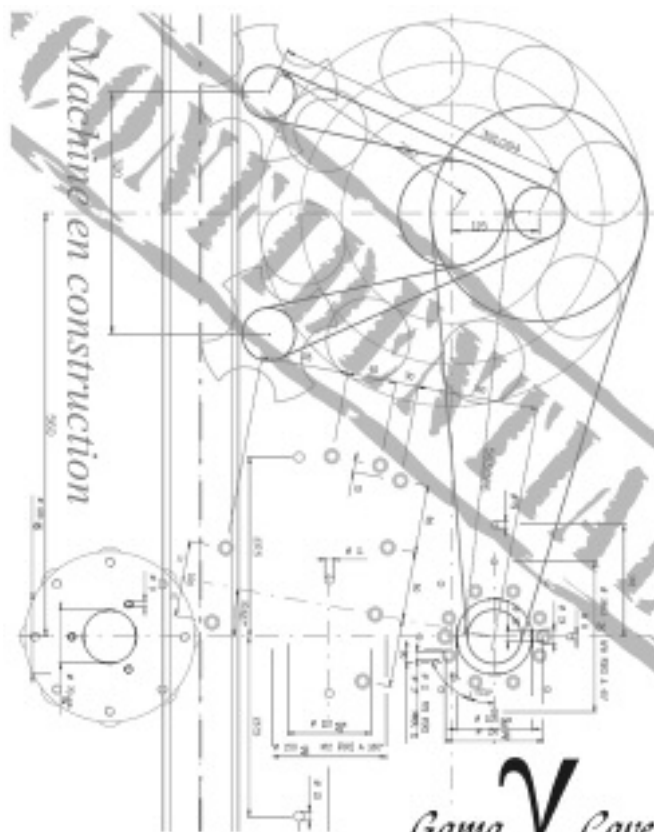
Depuis
3 générations, nous
participons à l'évolution
du vignoble suisse par:

la production de plants de
vignes de haute qualité

la sélection des meilleurs
clones et souches de cépages nobles

la production de nos
propres porte-greffes

un service digne
de ce nom.



www.gamacave.ch

tél. - fax 027 /456 56 01

Gama γ Cave
Sierre

Agrovina 2010 stand 2207

Analysez vous-
mêmes vos vins!

Pour déterminer simplement
et rapidement:

- la valeur pH
- l'acidité totale
- l'acide sulfureux libre
- l'acide sulfureux total
- des réductions
- l'alcool
- etc.

Visitez-nous
à AGROVINA

Hügli-Labortec AG

Hauptstr. 2, 9030 Abtwil

Tél. 071 311 27 41 – Fax 071 311 41 13

info@hugli-labortec.ch, www.hugli-labortec.ch

HÜGLI
LABORTEC



L'ère du froid.



Frialp SA est une entreprise toujours à l'écoute de sa clientèle. Nos professionnels sont à votre service pour réaliser et assurer la maintenance de toute installation de gestion de température dans les cuveries, les stocks, les concentrateurs, etc. Des produits de qualité, un service rapide, un constant souci de maîtrise des coûts, le respect des normes écologiques: tel est le credo de Frialp SA. Contactez-nous sans engagement, où que vous soyez...



Gestion de la température des cuves



FRIALP SA
REFRIGERATION - CLIMATISATION

Présent à Agrovina: stand 2207

Halle Agora · Rte de Chandoline 25b · CP 569 · 1951 Sion
T. 027 203 61 00 · F 027 203 48 58
Ch. de la Forêt 10 · 1024 Ecublens · T. 021 601 61 00
www.frialp.ch · info@frialp.ch

Pour la conservation de vos produits, chambres à atmosphère contrôlée, caves, réfrigération, études et réalisations d'installations.

Réfrigération | Climatisation | Pompe à chaleur | Régulation

CLIMAT GESTION
CLIMAT GESTION SA www.cgsa.ch
Rte de Merdesson | 1955 St-Pierre-de-Clages
Tél: 027 395 12 08 | Fax: 027 395 21 08 | www.cgsa.ch

La pépinière qui vous conseille

pépinières
BAUDAT S.A.

"Camarès"
1032 Vernand s/Lausanne
Tél. 021 731 13 66
Fax 021 731 34 85

www.baudat.ch

Zimmermann SA 1268 BEGNINS
Tél. 022 366 13 17
Fax 022 366 32 53
www.zimmermannsa.ch

de nombreuses photos et des explications complètes sur notre NOUVEAU site

PIQUETS DE VIGNE galvanisés à chaud

AGROVINA Martigny du 26 au 28.01.2010 stand 3209
Présentation de nos NOUVEAUX PIQUETS DE VIGNE

TUTEURS - ECHALAS
ECARTEURS DE FILS
AMARRÉS
FILS A VIGNE
TENDEURS
PLAQUE DE SOL
ATTACHES

Escour de fils
Tendeur de fils

PaliSystem

Un système de palissage unique et complet

Zimmermann SA

210 025
210 01
210 02-03
210 010
0105A

FER T
210 060
210 080

contrôle

Autres
- billes
- tourne
- tire-boulon
- fer T

Mieux s'équiper, c'est la clé du succès !



Pressurage nouvelle génération
Pressurage sous gaz inerte

Filtration tangentielle Bourbes et Vins

Tri optique de précision

Du 15 janvier au 25 février
**Profitez des
40 jours Premium**

Avec Premium, vous bénéficiez de conditions particulièrement avantageuses pour valoriser votre savoir-faire et atteindre vos objectifs de développement.

Présents à AGROVINA 2010 - Stand 1304

Nos concessionnaires agréés :

Avidor Valais

3960 Siere
Tél. 027/456 33 05

Gigandet SA

1853 Yvorne
Tél. 024/466 13 83

J. Jacques Hauswirth

1183 Bursins
Tél. 021/824 11 29

Bucher Vaslin - Philippe Besse

CH-1787 Mur/Vully - Tél. 079/217 52 75
philippe.besse@buchervaslin.com

BUCHER
vaslin

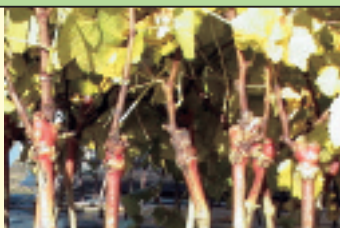
www.buchervaslin.com
Votre réussite est notre priorité

Pépinières Ph. Borioli

Partenaire de votre réussite

Planter c'est prévoir!

Réservez l'assemblage idéal cépage - clone / porte-greffe
Pieds de 30 à 90 cm



Nouvel encépagement?

Vinifera ou Interspécifique, demandez nos conseils et services



Raisins de table: votre nouvelle culture fruitière!

Choix de variétés adaptées à vos labels



CH-2022 BEVAIX

Tél. 032 846 40 10 Fax 032 846 40 11
E-mail: info@multivitis.ch www.multivitis.ch

pulvé⁺suisse

Désherbage plus écologique

Désherber avec du produit pur
Pas de cuve – Pas de fond de cuve
50% en moins d'herbicide!

**AGROVINA
Stand 3214**



appareils portables
modèles brouette
systèmes pour tracteurs

la turbine Mantis

Pulvé Suisse GmbH
Geenstrasse 18
8330 Pfäffikon ZH
044 950 08 54
079 832 21 02
www.pulvesuisse.ch

