

Etude sur la diversité phytochimique et agronomique de la Camomille Romaine à fleurs simples et à fleurs doubles

Xuan Lai DAO.¹, Tiphaine CHAMBREUIL ²

1. CNPMAI, Route de Nemours, 91490, Milly-la-Forêt

2. Agrocampus Ouest, 2 Rue André le Notre, 49000 Angers

Correspondance : experimentation@cnpmai.net

Résumé :

Dans le cadre d'une évaluation phytochimique et agronomique des ressources génétiques de Camomille Romaine à fleurs simples et à fleurs doubles, 34 populations sauvages prospectées par le CNPMAI ainsi que 4 clones cultivés en France ont été mis en culture, notés, distillés et analysés par chromatographie. Sur les 4 clones étudiés, 3 possèdent un profil chimique très homogène entre eux, qui correspond à la norme AFNOR en vigueur. La composition chimique des populations sauvages a montré une grande variabilité entre les populations, mais aucune population correspondant à la norme n'a pu être identifiée. L'étude de la diversité chimique a aussi montré qu'il n'existe pas de chémotypes sur les 12 molécules de la norme. Celle-ci a aussi mis en évidence une influence des paramètres environnementaux sur la composition chimique ainsi qu'un lien probable entre composition chimique et origine géographique de la population, au moins sur la molécule majoritaire (angélate d'isobutyle). Sur le comportement agronomique, les 4 clones présentent des différences notables entre eux au niveau du port, de la teneur en HE, du rendement en matière sèche et de la mortalité. Ces différences témoignent d'une origine et d'une génétique différente. Quant aux populations sauvages, si aucune population n'a pu être identifiée comme intéressante sur tous les aspects recherchés au sein des différentes combinaisons de caractères, et si en moyenne, les résultats ont été inférieurs à ceux des clones, elles ont montré une certaine variabilité au niveau agronomique, et un potentiel intéressant pour servir de base à un programme d'évaluation variétale.

Mots-clés : Camomille Romaine à fleurs simples, Camomille Romaine à fleurs double, évaluation phytochimique, diversité phytochimique, huile essentielle, profil chromatographique, phénotypage

Abstract : As part of a phytochemical and agronomic evaluation of the genetic resources of single-flowered and double-flowered Roman Chamomiles, 34 wild populations prospected by the CNPMAI as well as 4 clones cultivated in France were cultivated, noted, distilled and analyzed by chromatography. 3 upon the 4 clones studied have almost the same chemical profile which corresponds to the AFNOR specifications. The chemical composition of wild populations showed great variability but no population corresponding to the specifications could be identified. The study of chemical diversity has also shown that there are no chemotypes on the 12 molecules mentioned in the specifications. It also highlighted a strong influence of the environmental parameters on the chemical composition as well as a probable link between chemical composition and geographical origin at least on the main molecule (isobutyl angelate). In terms of agronomic behavior, the 4 clones distinguish from one another through notable differences in terms of port, EO content, biomass production and mortality. These differences reflect a different origin and genetics. As for the wild populations, if no interesting population could be identified on all the aspects researched within the different combinations of character, and on average, their results were lower than those of the clones, they showed a great variability that gives some hope for a potential breeding program.

Keywords : Single-flowered Roman chamomile, Double-flowered Roman chamomile, phytochemical evaluation, phytochemical diversity, essential oil, chromatographic profile, pre-breeding test

Abréviations :

FD : fleurs doubles

FS : fleurs simples

HE : Huile essentielle

Introduction

Contexte

La Camomille Romaine à fleurs simples (*Chamaemelum nobile* (L.) All) est une espèce végétale appartenant à la famille des Astéracées. C'est une plante vivace de 30 à 40 cm de haut [1][2]. Ses feuilles vertes sont alternes et lobées. Les tiges peuvent être couchées, étalées ou dressées. Le capitule est composé d'un réceptacle sur lequel repose au centre, des fleurs tubulées jaunes et sur le pourtour, des fleurs ligulées blanches. Il s'agit d'une plante originaire d'Europe et d'Afrique du Nord [3]. La Camomille Romaine à fleurs simples correspond au type que l'on trouve en milieu sauvage. Il existe aussi un autre type de Camomille Romaine qui est le type à fleurs doubles (*Chamaemelum nobile* cv 'Flore pleno') [2]. Ce dernier se démarque de la Camomille Romaine à fleurs simples par la présence de fleurs blanches ligulées qui composent en majorité, parfois en totalité son capitule. Ces fleurs sont stériles ce qui implique une multiplication par voie végétative uniquement [3], à la différence de la Camomille à fleurs simples. La multiplication générative de la Camomille à fleurs simples est peu étudiée et on ne trouve pas dans la bibliographie d'informations concernant les possibilités ou non d'autofécondation, la présence de mécanismes d'inhibition de la germination du gamète mâle en fonction de critères donnés. On sait qu'il peut exister des différences agronomiques entre différents clones [4], mais on ne connaît pas l'étendue de la diversité génétique de ces clones, ni leurs origines précises. Vraisemblablement, les clones à fleurs doubles seraient issus d'individus à fleurs simples ayant muté naturellement, pour être ensuite sélectionnés, multipliés et cultivés [4] [5]. De nos jours, en France, c'est le type à fleurs doubles qui est cultivé [1]. En ce qui concerne l'autre principal pays producteur, l'Italie, nous n'avons pas connaissance du matériel végétal utilisé. Selon des dires d'expert il pourrait s'agir de Camomille romaine à fleurs simples et non à fleurs doubles. Selon le dernier recensement agricole concernant les PPAM [6], les surfaces cultivées en France en Camomille Romaine représentaient 153 hectares dont la majeure partie se situait dans le Maine-Et-Loire [7], quant au produit brut lié à sa culture, il atteignait 4,6 millions d'euros [6]. La Camomille Romaine est historiquement utilisée en herboristerie mais depuis quelques années son huile essentielle a pris une certaine importance sur le marché de l'aromathérapie. D'après FranceAgrimer, en 2016, l'huile essentielle de Camomille Romaine se situait à la 18^{ème} place en termes de vente en pharmacie en France, pour plus de 600 000 euros de volume de vente [8]. Elle est recherchée pour ses propriétés sédatives, antidépressives et antispasmodiques [9]–[12]. Pour l'herboristerie, ce sont uniquement les clones à fleurs doubles (« en pompons ») qui peuvent être cultivés. Pour la production d'huile essentielle, on peut utiliser indifféremment la fleur simple ou la fleur double, pourvu que la qualité soit dans la norme. En effet, l'huile essentielle de de Camomille Romaine *Chamaemelum nobile* fait l'objet d'une norme AFNOR sans qu'il y soit précisé le type botanique du matériel distillé (fleurs simples ou fleurs doubles). Cette norme fixe les intervalles de tolérance pour quelques 12 molécules d'intérêt [13]. La couleur et l'odeur font aussi généralement partie des critères de qualité, d'après les dires d'experts. A l'image du marché global des huiles essentielles, le marché de l'huile essentielle de Camomille Romaine est actuellement en croissance d'après des entretiens avec des acheteurs menés en 2014 et 2017, notamment pour le bio [8]. En agriculture biologique les surfaces implantées en Camomille Romaine en France sont passées de 10 ha en 2014 à 64 ha en 2016, mais l'offre resterait largement inférieure à la demande d'après les acheteurs contactés, qui sont à la recherche d'une origine France pour l'huile essentielle de Camomille romaine bio. En effet la production française fait face depuis quelques années à des phénomènes de dépérissement observés au champ [14], [15]. Ceci serait dû à plusieurs facteurs : d'une part à des attaques de ravageurs (*Chrysolina marginata*, *Napomyza lateralis*, *Psila rosae*) et d'autre part à des épisodes de stress hydrique liés à des aléas climatiques forts. Ce dépérissement est d'autant plus problématique que la production française est issue de culture monoclonale reposant sur peu de clones d'après les dires d'experts. Ces clones sont

mal connus, et il serait intéressant de mieux comprendre leur diversité. Par ailleurs, dans ce contexte, le développement d'une variété de Camomille romaine pourrait présenter de nombreux avantages pour faciliter à terme l'implantation de nouvelles surfaces de camomille romaine en France à destination du marché de l'huile essentielle :

- Diversification du matériel végétal utilisé et amélioration de la résilience des cultures (meilleur potentiel évolutif et adaptabilité aux changements climatiques, meilleure résistance aux maladies et ravageurs).
- Multiplication et diffusion du matériel végétal facilité : la production de semences peut plus facilement atteindre d'importantes quantités et serait a priori moins coûteuse que la division de touffes qui est actuellement pratiquée pour implanter de nouvelles surfaces.
- Amélioration des pratiques agronomiques et de l'itinéraire cultural. Actuellement, l'implantation des surfaces de Camomille romaine se fait par arrachage de parcelles déjà existantes, hachage des touffes, et épandage sur une nouvelle parcelle préalablement préparée. Cette pratique offre une porte d'entrée aux pathogènes et maladies dès l'implantation de la nouvelle parcelle. Cela pourrait, ajouté au fait que la culture est monoclonale, expliquer l'émergence d'un dépérissement. Le fait de favoriser une implantation par semis pourrait limiter l'intrusion des pathogènes.

En réponse à tous ces enjeux, nous nous proposons donc, d'une part, d'étudier plusieurs clones cultivés actuellement, d'autre part, d'étudier la diversité inter-population d'un certain nombre de populations prospectées sur l'aire de répartition française pour la Camomille romaine à fleurs simples, afin d'évaluer le potentiel qu'elles pourraient représenter pour un éventuel programme de création variétale.

Objectifs généraux du projet – présentation des actions

Le projet est composé de deux actions qui visent à :

Action 1 : Etudier la diversité chimique des ressources génétiques française de Camomille Romaine à fleurs simples prospectées par le CNPMAI et des Camomille Romaine à fleurs doubles actuellement cultivées en France. Le but est de faire un criblage des populations sauvages à fleurs simples afin d'identifier une ou plusieurs populations dans la norme. Pour les clones à fleurs doubles, le but est de comparer les clones entre eux et par rapport à la norme. Une partie de l'action 1 est aussi dédiée à l'étude exploratoire de la diversité, c'est-à-dire l'étude de sa structure et de ses déterminants.

Action 2 : Etudier le comportement agronomique des Camomilles Romaines à fleurs simples et à fleurs doubles et les comparer entre elles.

Les deux actions passeront par la mise en culture de populations sauvages et de clones, la collecte de données agronomiques, par la distillation des sommités fleuries et par l'analyse de l'huile essentielle obtenue.

Liste des partenaires

L'Iteipmai est partenaire en tant que potentiel utilisateur de la ressource génétique.

Revue bibliographique

Il existe très peu de bibliographie sur la Camomille Romaine en comparaison avec d'autres espèces de PPAM. Quelques travaux sur la qualité phytochimique ont été menés. Antonelli [16] et Farkas [17] ont dressé le profil phytochimique de la Camomille Romaine provenant respectivement d'Italie et de Slovaquie sans mentionner s'il s'agissait de fleurs simple ou de fleurs doubles. Ils ont montré que le profil phytochimique des Camomilles Romaines étaient dominé par des angélates (esters) notamment par l'angélate d'isobutyle, l'angélate d'isoamyle et l'angélate de méthyl-allyle, le tout représentant autour de 50% de la composition totale. Il semblerait qu'aucun article n'ait étudié la diversité chimique des Camomilles Romaines à fleurs simple et on ne sait pas à l'heure actuelle si des populations ou des individus sont dans la norme. En revanche, on sait que certains clones à fleurs doubles cultivés en France ont des profils chimiques en accord avec la norme. Quant aux aspects agronomiques, les seules informations disponibles concernent la Camomille Romaine à fleurs doubles cultivée en Anjou [2], [18]. Des entretiens menés avec des producteurs ont permis d'identifier le clone majoritaire cultivé en Anjou (cf 1.2), mais on ne sait pas si d'autres clones sont aussi cultivés dans ce bassin de production. Un essai mené en Belgique [4] visant à évaluer 4 types de Camomille Romaine à fleurs doubles cultivée de 4 origines différentes (France, Belgique, Allemagne, Angleterre) a montré qu'il existait des différences morphologiques très nettes entre 4 clones sur un certain nombre de variables (aspect du feuillage, diamètre de la plante, nombre moyen de tige, poids moyen de 100 capitules secs et rendement en essence). Aucun élément, en revanche, n'a pu être trouvé sur le comportement agronomique des Camomilles Romaines à fleurs simples.

Action 1

1.1 Objectifs et démarches

L'objectif est d'étudier la diversité chimique des ressources génétiques françaises de Camomille romaine à fleurs simples (FS) composées de 34 populations sauvages couvrant l'aire de répartition de l'espèce. Le criblage réalisé devra permettre d'identifier ou non des populations sauvages avec un profil chimique correspondant à la norme AFNOR. L'étude comprend aussi un volet sur la diversité chimique de 4 clones de Camomille Romaine à fleurs doubles (FD) cultivés en France. Il s'agira de confirmer que la qualité chimique correspond bien à la norme, et d'observer d'éventuelles différences entre les clones. Une comparaison sera faite, toujours au niveau chimique, entre les populations sauvages et les clones.

Enfin, pour les deux types de Camomille Romaine, si la diversité est importante, la structure de celle-ci sera étudiée afin de comprendre s'il existe des chémotypes, des relations entre certaines molécules, et des relations entre origine géographique et composition chimique.

1.2 Méthodes de travail

⇒ Matériel végétal

Le CNPMAI a lancé une campagne de prospection en 2017 et en 2018 sur le territoire français visant à collecter des semences de Camomille Romaine à fleurs simples (« FS ») afin d'avoir un échantillon représentatif des ressources génétiques françaises. Ces prospections qui ont été faites de manière à couvrir l'aire restreinte de répartition naturelle de l'espèce (

Figure 1) basée sur le système d'information géographique SI FLORE. Une fois les semences récoltées, un arbre de décision a été établi afin de sélectionner l'échantillon le plus avisé de populations à mettre en culture et évaluer. Cet arbre de décision intégrait les critères département, taux de germination et quantité de graines disponibles. Après traitement, 26 populations prospectées en 2017 ont été retenues pour une mise en culture en 2018, et 8 populations prospectées en 2018 ont été retenues pour une mise en culture en 2019 (voir tableau ci-dessous).

Année de prospection	2017	2018	Total
Nombre total de populations prospectées	90	14	104
Nombre de populations implantées et évaluées	26	8	34
Pourcentage de population évaluées	29 %	57 %	33%

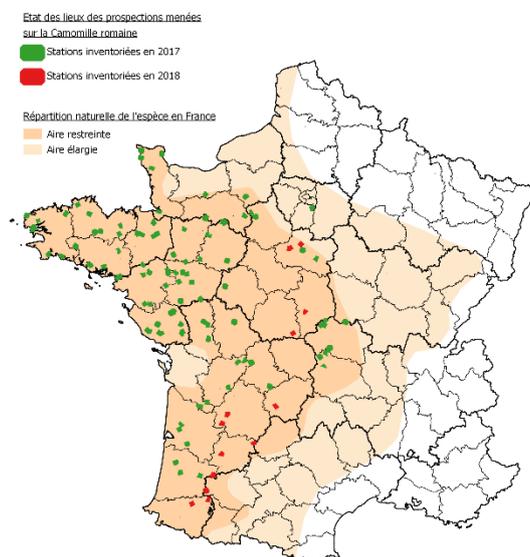


Figure 1 : Aire restreinte de répartition de l'espèce et stations inventoriées

Pour ce qui est des **Camomille Romaine à Fleurs Doubles (« FD »)**, 4 clones ont été collectés via des acteurs de la filière qui cultivent ce clone (Tableau 1). Le clone LM est le clone principal cultivé en Anjou. Le clone CNPMAI a été obtenu chez un pépiniériste de la filière, mais il serait aussi originaire d'Anjou, donc affilié au clone LM. Le clone FBE est cultivé dans les Vosges tandis que le clone Doksan est un clone commercial provenant de Pharmasaat.

Clones étudiés	DOKSAN	FBE	LM	CNPMAI
Lieu de culture	Allemagne	Vosges	Anjou	Ile de France

Tableau 1 : Clones étudiés

⇒ Calendrier

Pour répondre aux objectifs précédemment cités, l'étude s'est composée de 3 essais mis en place au CNPMAI suivant des chronologie différente (Figure 2). Le premier essai (FS2018) a consisté en la mise en culture en 2018 de 26 populations de Camomille Romaine à FS prospectées en 2017. Les deux autres essais concernent respectivement la mise en culture en 2019 de 8 populations de Camomille Romaine à FS prospectées en 2018 (FS2019) et des 4 clones de Camomille Romaine à FD (FD2019).

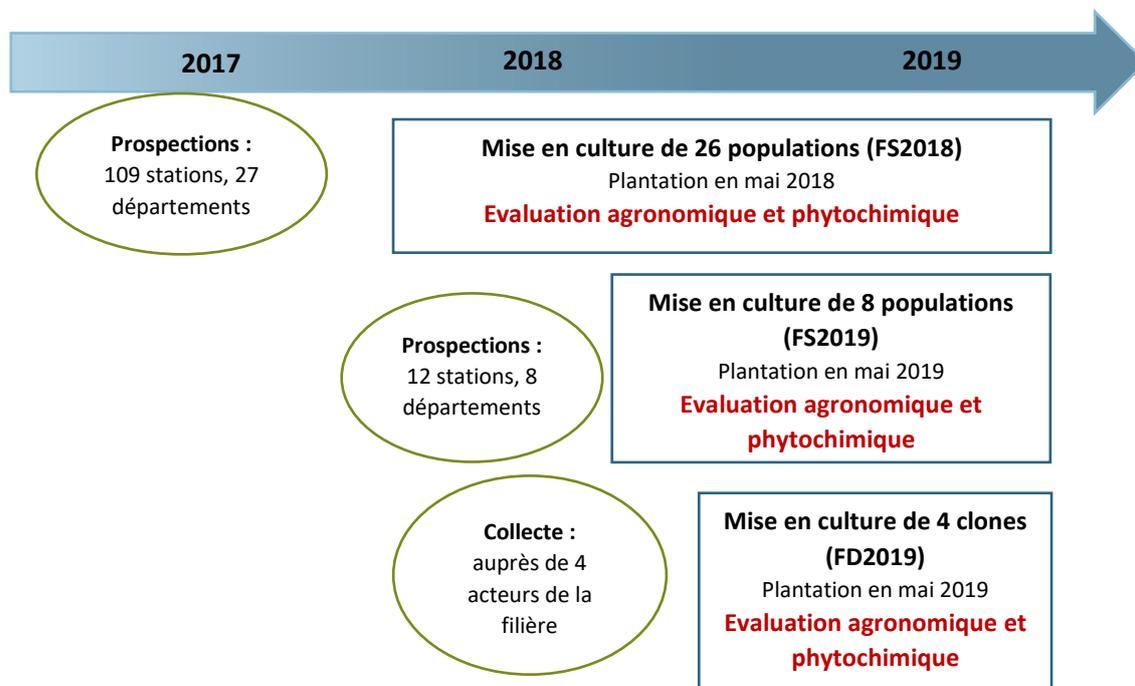


Figure 2 : Calendrier du projet regroupant 3 essais distincts

⇒ Dispositif expérimental

Les Camomilles Romaines à FS et à FD ont été implantées en parcelle extérieure, au CNPMAI, à Milly-la-Forêt. Un dispositif en blocs aléatoires complets a été choisi pour lisser les éventuelles variabilités des paramètres environnementaux. Il y a donc eu pour chaque population ou clone, 3 répétitions regroupant chacune 30 pieds. Les densités d'implantation correspondent à une densité de 100 000 pieds par hectare. L'implantation s'est faite durant la dernière semaine de mai pour l'essai FS2018 et durant la première semaine de juin pour les essais FS2019 et FD2019.

⇒ Extraction de l'huile essentielle et identification des composés

Les Camomille Romaine de l'essai FS2018 ont été distillée en 2018 et 2019 tandis que celle des essais FS2019 et FD2019 n'ont été distillées qu'en 2019. Dans les deux cas, l'extraction de l'huile essentielle s'est faite sur du matériel frais récolté au stade pleine floraison¹ en pleine matinée à partir de la première quinzaine de juillet. Pour chaque population et pour chaque clone, les hampes florales de tous les individus de chaque répétition ont été récoltées. Pour chaque répétition, à partir de la biomasse récoltée, une partie (200 gr) a été distillée et une partie (20 gr) a été séchée à l'étuve pour

¹ Le stade pleine floraison est le stade idéal pour lequel 50% des hampes sont en pleine floraison, 25% sont au stade bouton floral, 25% au stade fin de floraison.

calculer le coefficient de matière sèche. L'extraction s'est faite par l'hydro-vapo-distillation (préservation des esters) avec un appareil de clewenger pendant 1h30. En raison d'une trop faible quantité d'huile essentielle obtenue par ballon, l'huile essentielle extraite des 3 répétitions distillées a été mélangée en quantité égale et a été envoyée au laboratoire pour analyse. L'identification des composés chimiques des échantillons d'HE a été faite par chromatographie gaz/liquide. Les molécules ont été identifiées avec leur temps de rétention.

⇒ Traitement des données

Après les analyses, 4 jeux de données phytochimiques ont été identifiés en relation avec les différentes distillations : FS2018 distillé en 2018, FS2018 distillé en 2019, FS2019 distillé en 2019 et FD2019 distillé en 2019. L'hypothèse que l'année d'implantation n'influence pas la qualité chimique a été faite et a permis de regrouper les jeux de données concernant l'essai FS2018 distillé en 2019 et l'essai FS2019 distillé en 2019. Au final 3 jeux de données ont donc été utilisés (Figure 3) :



Figure 3: Jeux de données issus des 3 essais

Dans un premier temps, les profils chimiques de toutes les populations et de tous les clones ont été comparés à la norme. Ensuite, une description de la variabilité chimique sous forme de boxplot a été effectuée concernant les molécules de la norme pour les différents jeux de données. Les données relatives aux distillations 2019 ont été comparées entre elle et avec la norme, et celles de 2018 comparées à celles de 2019, pour les FS pour lesquelles il y avait 2 années de distillations. Une ACP a été réalisée pour mettre en évidence une éventuelle structuration de la diversité, voire l'existence de chémotypes pour les données des FS distillée en 2019. Dans le même but et toujours pour ces données, une matrice de corrélation a été établie pour tester les relations entre les différentes molécules. Pour les FS distillé en 2019, un clustering manuel a été fait selon la provenance géographique de la population et le climat de la zone d'origine pour étudier le lien entre composition chimique et origine géographique. Un test ANOVA ainsi qu'une représentation graphique avec QGIS a été faite pour comparer la composition chimique des différents clusters géographiques.

1.3 Principaux résultats

⇒ **Composition chimique de l'HE pour les FD**

Concernant les Camomilles Romaines à FD, 70 composés chimiques ont été identifiés représentant entre 96.16% et 96.73% de l'HE (Annexe 1). Les 3 molécules majoritaires sont des angélates : angélate d'isobutyle (23.6%-32.3%), angélate d'isoamyle (15.5%-17.4%), angélate de méthyl-allyle (7.6%-9.6%). Ces données sont en cohérence avec la bibliographie qui identifie les mêmes esters majoritaires (angélates) dans des proportions similaires[17], [19].

Parmi tous les composés, 12 molécules entrent dans la définition de la norme AFNOR [13]. On retrouve les angélates, esters caractéristiques et spécifiques de l'HE de Camomille Romaine. Parmi ceux-ci, le plus notable est l'angélate d'isobutyle qui doit représenter entre 30 et 45% de l'HE. Il est, dans la

norme, sommé avec le méthacrylate d'isoamyle dont la teneur (%) est très faible en général (quelques pourcents). Une autre classe de composés correspond aux monoterpènes dans lesquels on retrouve l' α -pinène, le transpinocarvéol et le pinocarvone (Tableau 2). C'est une voie de biosynthèse différente de celle des angélates (source : entretien avec Denis Bellenot, iteipmai).

Constituant (nom dans la norme)	Constituant (synonyme dans la chromatographie)	Intervalle de la norme %	Intervalle HE FD %
α -pinène	α -pinène	1-5	1.3-2.8
Isobutyrate d'isobutyle	Isobutanoate d' Isobutyle	2-9	2.9-4.7
Méthacrylate d'isobutyle	2-Méthyl-Acrylate d'Isobutyle	0,5-3	1.3-1.6
Isobutyrate d'isoamyle	Isobutyrate de 2-Méthylbutyle	2,5-5	2.6-4.5
Méthacrylate de 2-méthyl-butyle	2-Méthyl-Acrylate de 2-Méthylbutyle	0,5-1,5	0.7-1.2
Angélate d'isobutyle + Méthacrylate d'isoamyle	Angélate d'isobutyle + 2-Méthyl- Acrylate de 3-Méthylbutyle	30-45	23.7-32.6
Angélate de méthyl-allyle	Angélate de méthallyle	6-10	7.6-9.6
Angélate de 2-méthyl-butyle	Angélate de 2-Méthylbutyle	3-7	
Angélate d'isoamyle	Angélate de 3-Méthylbutyle	12-22	15.5-17.4
Pinocarvone	Pinocarvone	1,3-6	2.6-4.7
<i>Trans-pinocarvéol</i>	<i>Trans-pinocarvéol</i>	2-7	
<i>Trans-pinocarvéol + Angélate de 2-méthyl-butyle</i>		5-14	7.7-8.1

Tableau 2 : Constituants et leurs synonymes et intervalles de la norme

Il faut noter que les composés transpinocarvéol et angélate de 2-méthyl-butyle sont des constituants à part entière dans la norme alors qu'ils ont coélué lors de la chromatographie réalisée dans l'étude. Cela signifie qu'il est impossible à partir de nos résultats de les séparer et de les comparer à la norme. Les valeurs des bornes de la norme concernant ces molécules ont donc été artificiellement sommées (dernière ligne en pointillée) pour ne pas perdre trop d'information. Il faudra garder à l'esprit qu'il pourra y avoir une incertitude lors des comparaisons de nos résultats à la norme.

D'après les résultats, il y a 3 clones (LM, CNPMAI, FBE) pour lesquels les valeurs obtenues pour chaque composé sont strictement dans les intervalles de la norme. Ce résultat était attendu puisqu'aujourd'hui, ces clones sont utilisés dans la filière par des professionnels pour produire de l'HE. Il est aussi intéressant de noter à quel point les profils sont similaires (à quelques pourcents près) : il y a une très faible variabilité dans la composition chimique des Camomille Romaine à FD (Figure 4). Seule exception pour le clone Doksan pour qui la quantité en angélate d'isobutyle ne correspond pas à la norme (23,6% à la place de 30% requis).

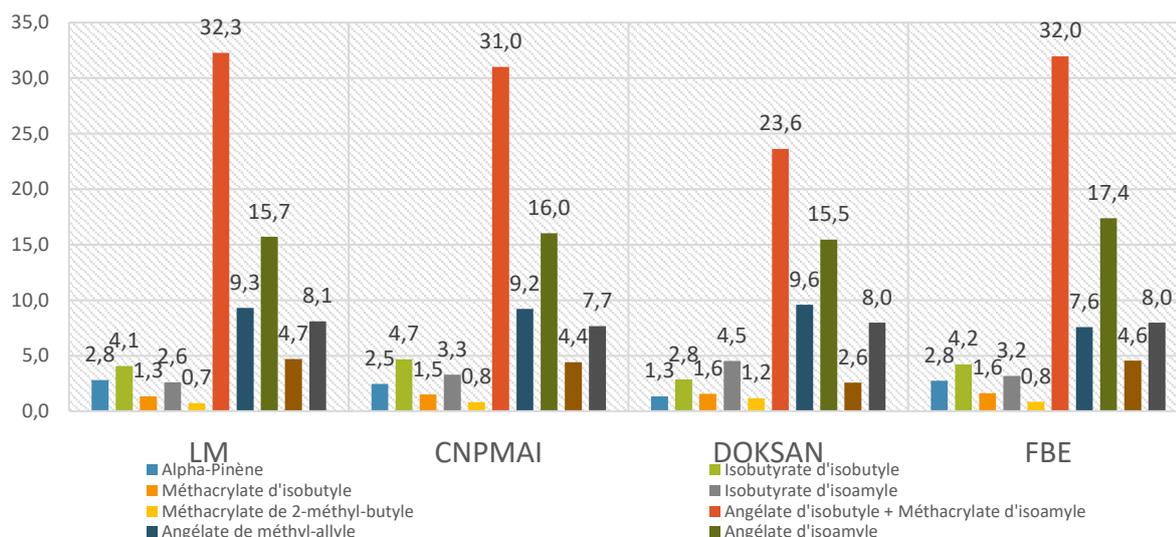


Figure 4 : Comparaison du profil chimique des 4 clones

⇒ Composition chimique de l'HE pour les FS

Pour les Camomille Romaine à FS, tous jeux de données confondus, 82 composés ont été identifiés (Annexe 2) représentant entre 92.5% et 97.5% de la fraction volatile extraite. Les composés majoritaires sont l'angélate d'isobutyle (5.3%-42.6%), l'angélate de méthallyle (1.73%-26.6%), l'angélate de 3-Méthylbutyl (4.1%-18.8%), représentant en moyenne 43.6% de l'huile essentielle de chaque échantillon. Ces données sont aussi en cohérence avec la bibliographie qui identifie les mêmes esters majoritaires (angélates) dans des proportions similaires. En sélectionnant les 12 molécules de la norme, on explique en moyenne 71.9% de la composition chimique des échantillons. Les profils chimiques de l'HE des populations sauvages (Figure 5) montrent une grande hétérogénéité : la proportion entre les molécules pour chaque population est très variable.

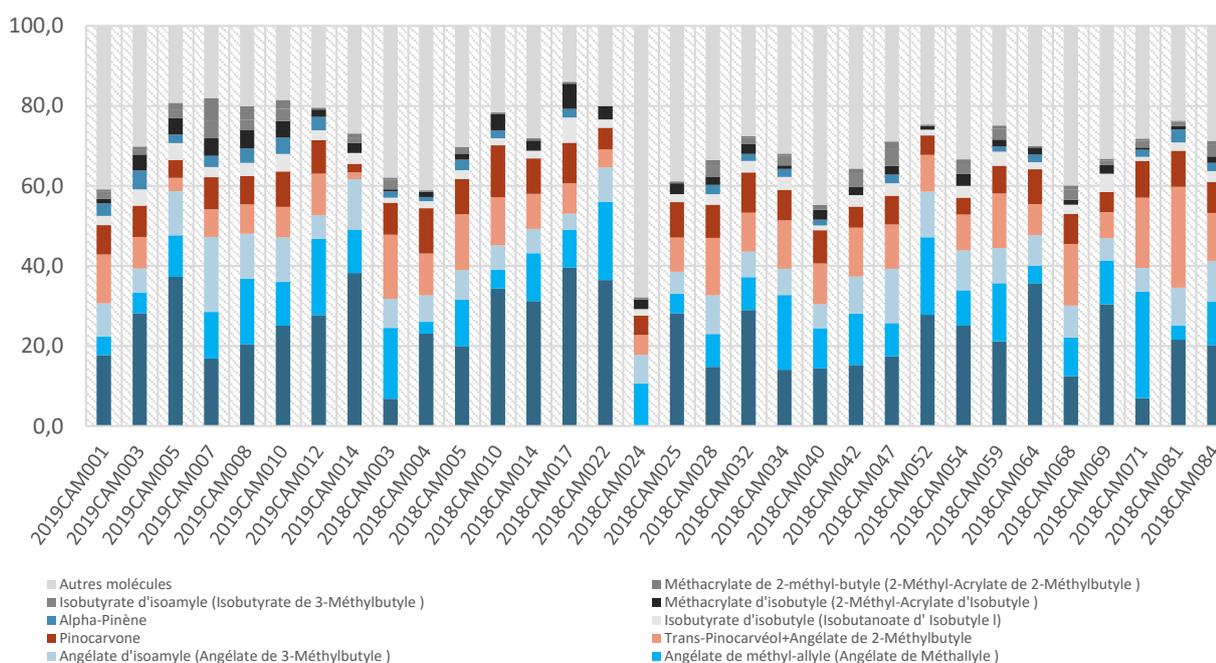


Figure 5: Comparaison du profil chimique des populations à FS

D'après les résultats, il n'y a aucune population de Camomille Romaine à FS qui rentre dans la norme. Cependant certaines populations s'en rapprochent. Un tri conditionnel selon la norme a été effectué en commençant par les molécules les plus importantes. Trois populations présentent des résultats intéressants sur les molécules majoritaires (Annexe 3), mais ne rentrent dans la norme concernant d'autres molécules. Par exemple, l'HE de la population de Corrèze ne contient pas d' α -pinène et l'HE des populations des Landes et de de l'Allier ne contient pas d'isobutyrate d'isoamyle.

⇒ Variabilité de la composition chimique

La Figure 6 représente la variabilité de la composition chimique pour les Camomilles Romaines à FS et FD distillées en 2019 et permet de comparer leur composition chimique. Le pourcentage de chaque molécule pour chaque population ou clone y est représenté par un point rouge. La norme y figure sous forme de bâtonnets bleus. Comme précédemment, les résultats confirment la très faible diversité pour la Camomille Romaine à FD. Pour les populations à FS, les résultats sont plus hétérogènes. Il y a des molécules pour lesquelles il y a une grande variabilité et d'autres pour laquelle la variabilité est beaucoup plus faible. Globalement, pour ces dernières, la majeure partie des populations se situe soit dans l'intervalle de la norme soit le chevauche. Les angélates sont les molécules pour lesquelles la variabilité est beaucoup plus importante. Par exemple pour l'angélate d'isobutyle, les valeurs varient de 0% à 40%. D'autre part, si l'on prend les deux molécules d'angélate d'isobutyle et d'angélate d'isoamyle, on voit que la plupart des populations se situent hors norme. Ce sont donc ces molécules qui sont discriminantes et qui représentent la plus grande partie de la variabilité.

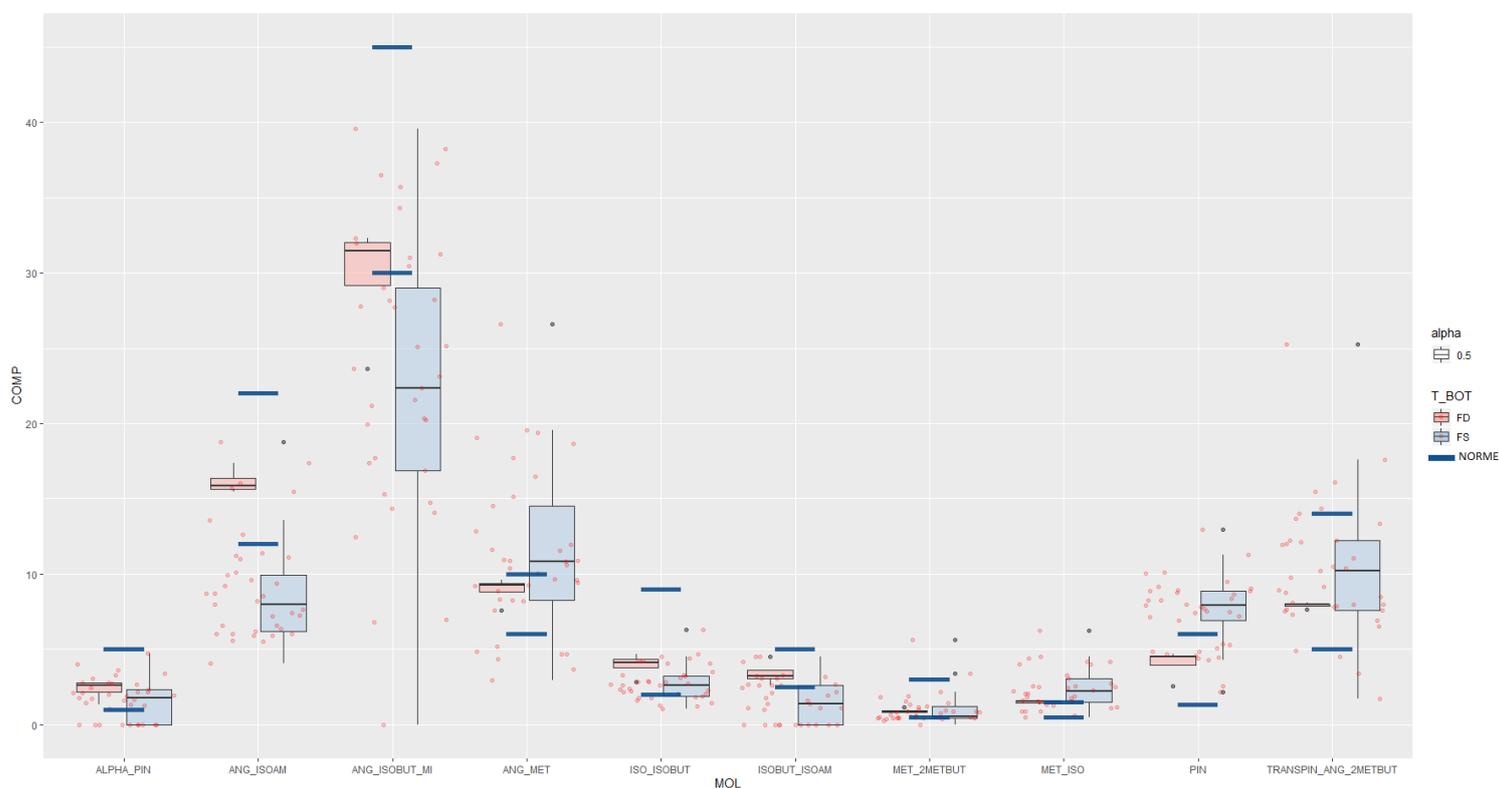


Figure 6: Variabilité de la composition chimique des FS et FD

L'étude de la variation interannuelle de la composition chimique entre 2018 et 2019 permet de mettre en évidence l'effet de l'année de récolte sur le profil chimique de l'huile essentielle. La Figure 7 montre que l'étendue des boxplot pour les différentes molécules est sensiblement la même entre deux années. Par contre, il y a un déplacement de la médiane d'une année sur l'autre comme par exemple sur l'angélate d'isobutyle. L'année 2018 a été plus favorable à la production de ce composé. Les conditions climatiques sont donc impliquées, au moins partiellement, dans l'explication de la teneur des différentes molécules. Il est par contre difficile d'aller plus loin et d'isoler les paramètres fondamentaux (ensoleillement, conditions hydriques etc.) pouvant expliquer les variations interannuelles.

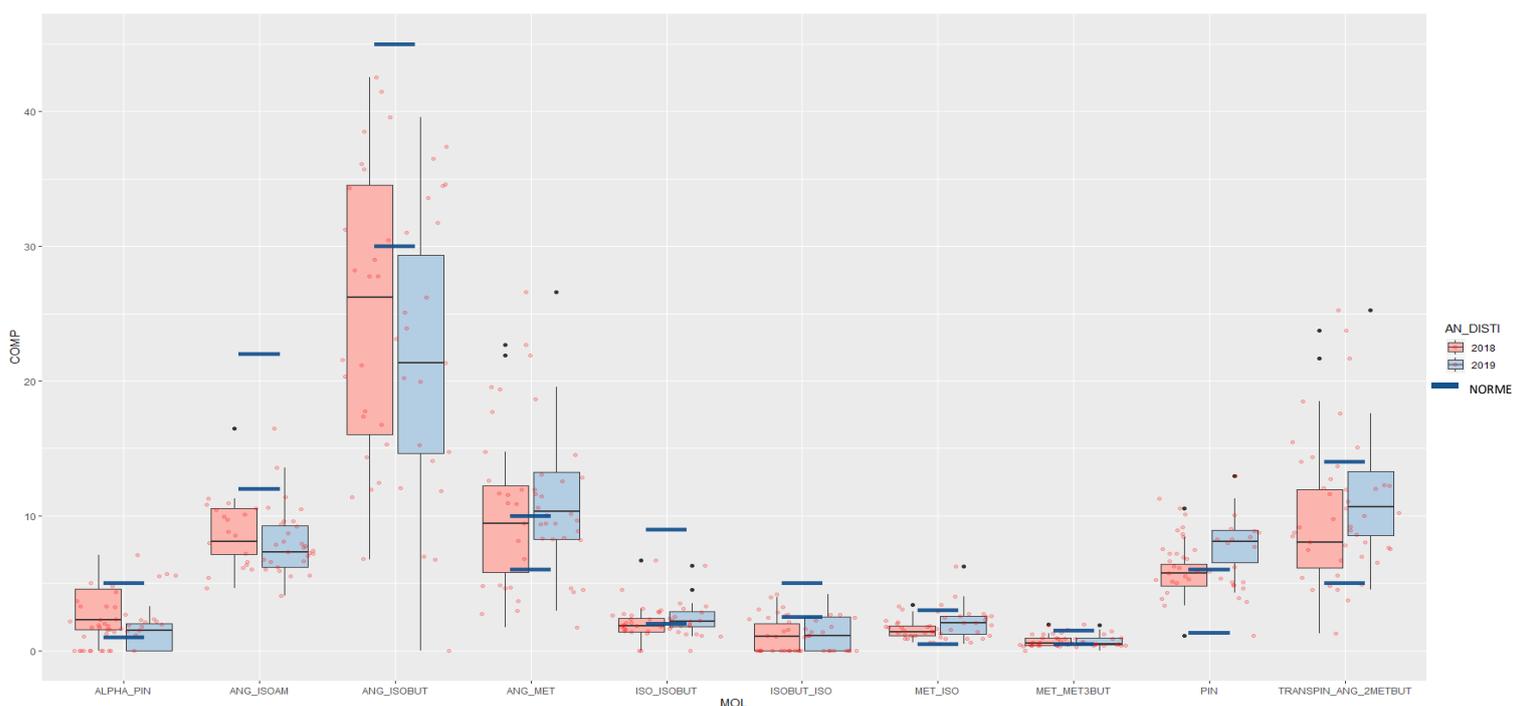


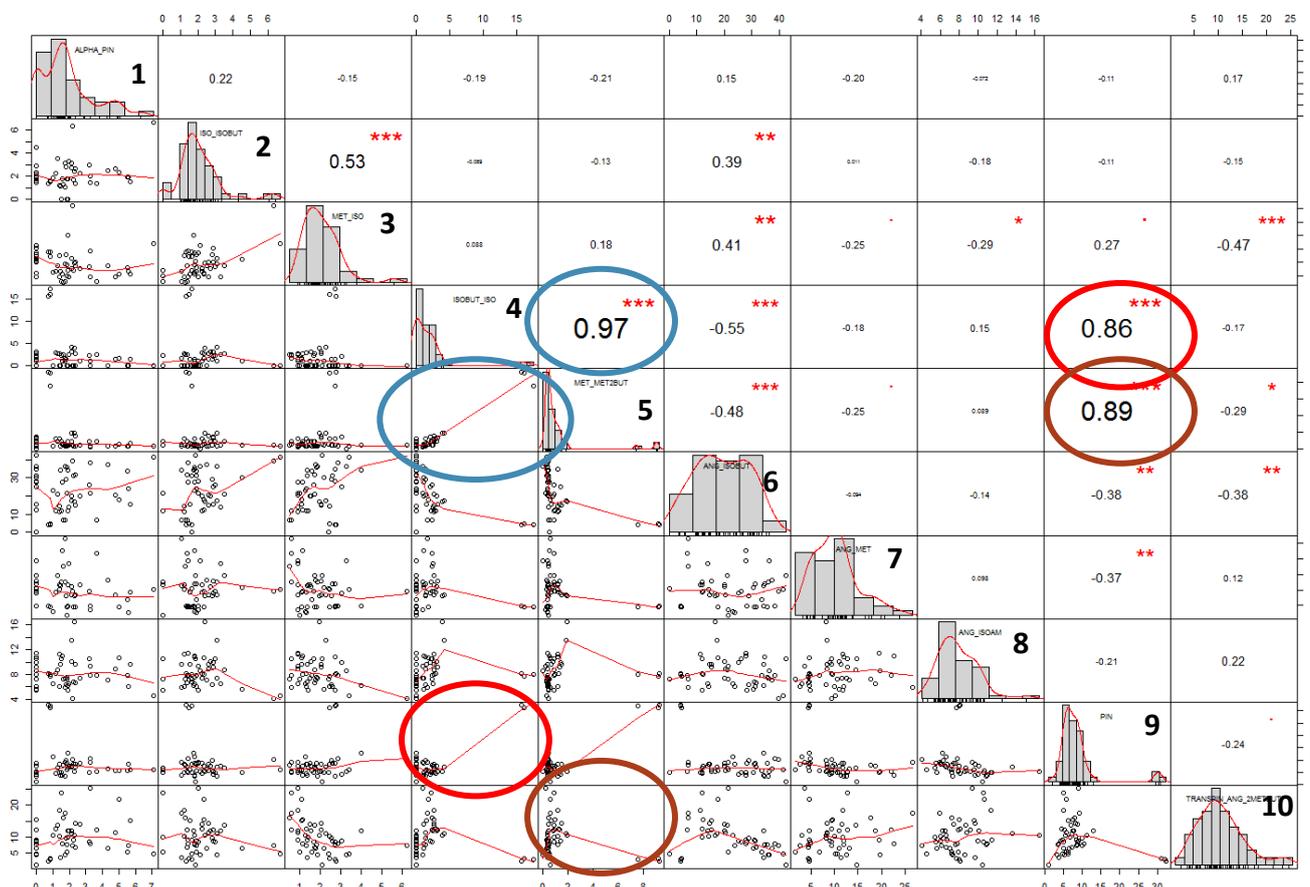
Figure 7: Variabilité de la composition chimique des populations à FS en fonction des années de distillation (2018 et 2019)

Le Figure 8 est la même que la précédente à ceci près qu'elle représente la distribution des effectifs : une forme plutôt plate sur l'étendue des valeurs signifiera que celles-ci sont réparties de manière homogène. A l'inverse, une forme de cloche orientera plutôt sur une distribution normale des valeurs. Ce type de représentation peut aider à déceler les chémotypes quand il y en a. En effet, la présence de chémotype se manifesterait par une répartition bimodale [20]. Le graphique montre une absence de chémotype sur les molécules étudiées. Il n'y a donc vraisemblablement pas de chémotype pour la Camomille Romaine sur les molécules de la norme. D'ailleurs, il n'y a aucune mention de chémotype dans la bibliographie existante. On peut aussi noter, pour l'alpha-pinène que la distribution change en fonction des années. En 2019, il y a plus de populations qui prennent la valeur 0 qu'en 2018 (2 contre

10). Ceci nous indique que l'absence d'un composé dans la chromatographie ne signifie pas que la plante ne peut pas en produire, mais qu'il est juste absent pour l'année.

⇒ Corrélation entre quantité relatives des différentes molécules

La matrice des corrélations (Figure 9) met en évidence les corrélations linéaires qu'il peut exister entre les molécules. L'objectif est de mieux cerner des voies de synthèse pour une molécule donnée, par la mise en évidence d'éventuels équilibres dynamiques entre molécules.



1 : alpha-pinène

2 : Isobutyrate d'isobutyle

3 : Méthacrylate d'isobutyle

4 : Isobutyrate d'isoamyle

5 : Méthacrylate de 2-méthyl-butyle

6 : Angélate d'isobutyle + méthacrylate d'isoamyle

7 : Angélate de méthallyle

8 : Angélate d'isoamyle

9 : Pinocarvone

10 : Trans-pinocarvéol + Angélate de 2-méthyl-butyle

Figure 9: Matrice des corrélations linéaires entre les molécules

D'après ce graphique, il existe des corrélations linéaires (coefficient de corrélation supérieur à 0.86) entre les molécules 4 et 5 (bulles en bleu), 4 et 9 (bulles en rouge) et 5 et 10 (bulles en marron). Cependant en se concentrant plus précisément sur la forme du nuage de point, on voit que les courbes de corrélations sont tracées avec des valeurs aberrantes alors que la forme des nuages est plutôt patatoïde ce qui plaide en faveur d'une absence de corrélation linéaire entre les variables (Annexe 4). On ne parvient pas à mettre en évidence un équilibre dynamique entre ces molécules, ce qui ne nous aide pas à mieux comprendre les voies de synthèses de ces molécules.

⇒ Analyse en composante principale

L'analyse en composante principale (Annexe 5) conforte ces résultats, et ne met pas en évidence de structure claire concernant les données des FS distillée en 2019. Il n'y a pas de regroupement apparent

des populations sur la dimension 1 et 2. De plus, les dimensions 1 et 2 ne portent que 53% de la variabilité totale et sont difficilement interprétables : il n’y a pas un axe qui représente telle molécule ou groupement de molécules spécifiques.

⇒ Diversité chimique et origine géographique

Les populations ont été classées selon le type de climat (Annexe 7) de leur station de prospection. Parmi les différents types proposés par D. Joly [21], les stations prospectées pouvaient se retrouver dans les types 3, 4 et 5 (Tableau 3).

Type climatique	Correspondance
T3	Climat océanique dégradé des plaines du Centre et du Nord
T4	Climat océanique dégradé
T5	Climat océanique franc

Tableau 3 : Types climatiques et correspondance

L’étude de la variabilité de la composition chimique en fonction du type climatique (Figure 10), n’a pas montré de différence franche entre les 3 types. La variabilité est quasiment la même pour chaque type et ce pour la plupart des molécules. On observe une différence sur l’angélate d’isobutyle (molécule majoritaire). Il semble que les populations du type 5 aient soient moins riches en angélate d’isobutyle.

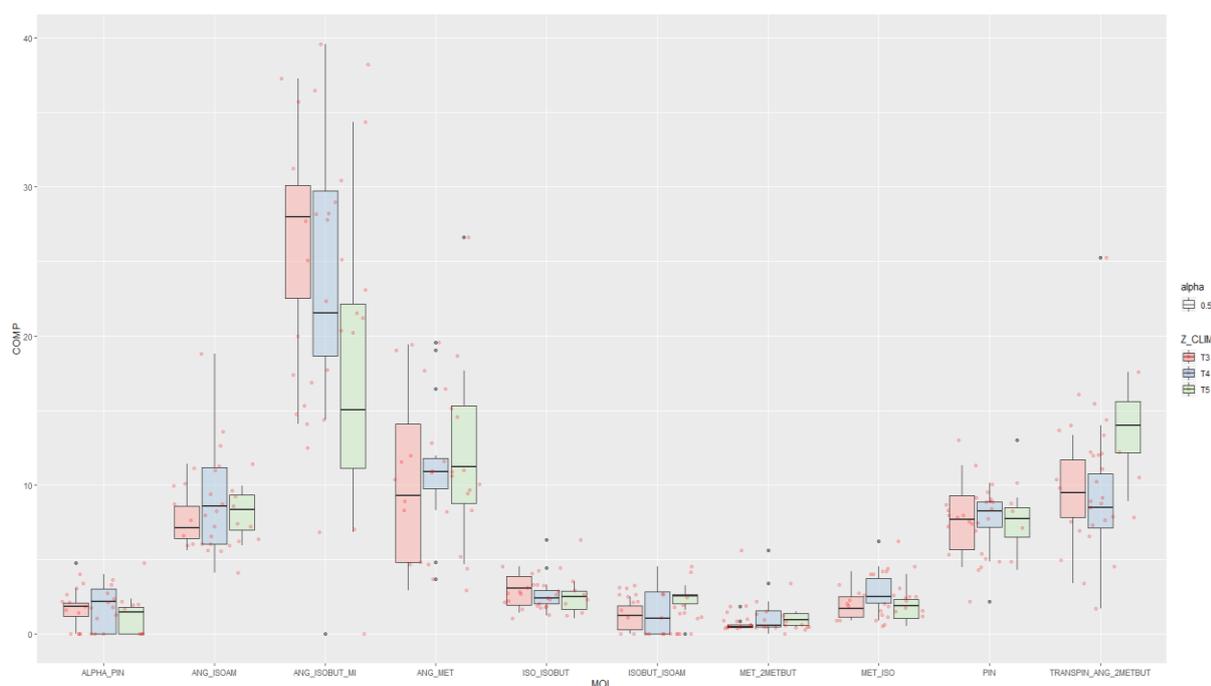


Figure 10 : Variabilité de la composition chimique des populations à FS en fonction du type climatique

En classant² les départements en fonctions de la richesse en angélate d’isobutyle de l’HE extraite des populations qui y ont été prospectée (Figure 11), on observe que les populations qui dépassent la barre des 23% sont toutes au sud de la Loire et que toutes les populations qui dépassent la barre de 31.2% sont au sud d’un axe qui va de La Rochelle à Strasbourg. Le facteur pouvant expliquer cette ségrégation entre les populations du nord et celle du sud pourrait être lié à l’ensoleillement, au stress hydrique ou à la pluviométrie. La norme étant fixée à 30% pour cette molécule, il faudrait donc se focaliser sur la

² Les seuils définissant les classes ont été définis par QGIS pour maximiser une répartition numérique équivalente au sein de ces classes.

zone sud pour trouver des populations intéressantes. Ces résultats sont cependant à prendre avec beaucoup de circonspection, et à confirmer par une étude plus solide au niveau statistique, étant donné qu'il n'y a en général qu'une population évaluée par département.

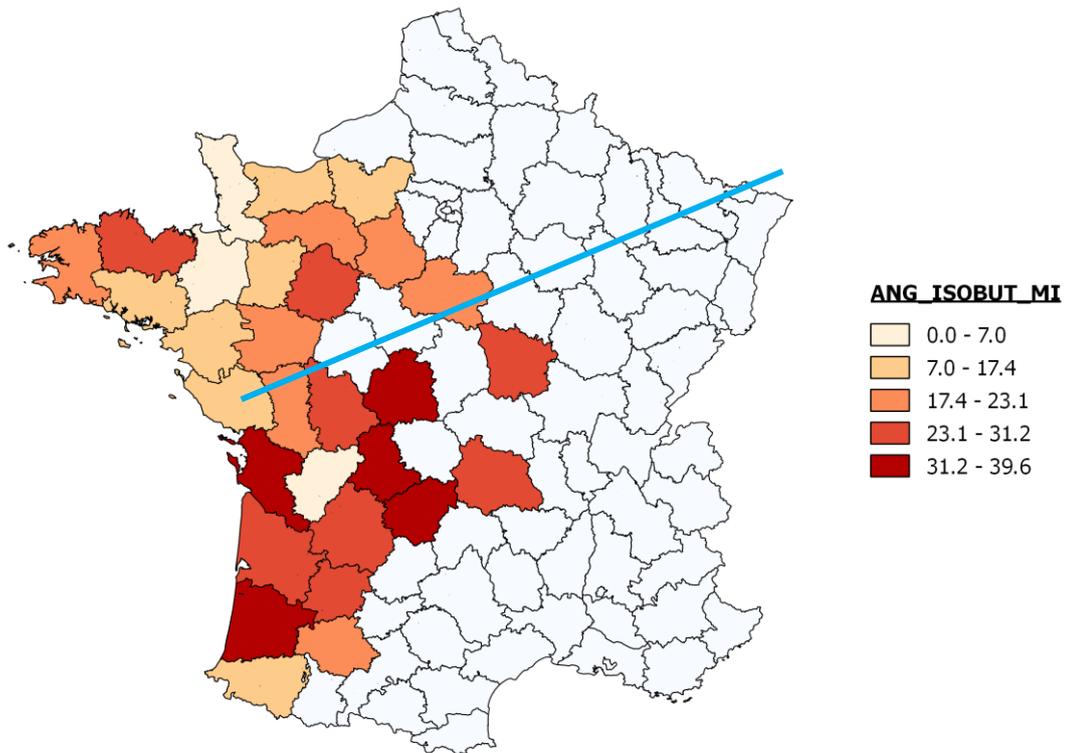


Figure 11: Carte de France représentant la quantité d'angélate d'isobutyle des population à FS en fonction du département

2. Action 2

2.1 Objectifs et démarches

L'objectif est d'étudier le comportement agronomique des Camomilles Romaines à FS et à FD en plein champ. Une comparaison agronomique sur plusieurs critères sera réalisée au sein des populations et au sein des clones ainsi qu'entre les populations et les clones afin de sélectionner des populations/clones intéressants sur divers plan (teneur en HE, taux de recouvrement etc.). Ainsi il sera possible de voir comment les Camomille Romaine à FS d'origine sauvage répondent à la mise en culture. Cette étude permettra aussi de tester l'hypothèse de l'existence d'une diversité génétique entre 4 clones d'origines différentes.

2.2 Méthodes de travail

Le matériel végétal, le calendrier des essais, le dispositif expérimental ainsi que l'extraction des huiles essentielles est détaillé au 1.2

⇒ Critères d'évaluations et collecte des données

Les critères d'évaluation ont été choisis pour rendre compte du comportement agronomique des populations et des clones. Les variables ont été choisies suite à des entretiens avec des producteurs français de Camomilles à FD. Les producteurs ont manifesté de l'intérêt pour les critères suivants : port (=hauteur x recouvrement), biomasse produite, teneur en HE, étalement de la floraison. Au final des données relatives à 8 variables ont été collectées (Tableau 4).

Variable	Essai
Etat sanitaire	FS2018 / FS2019/ FD2019
Mortalité (%)	FS2019 / FD2019
Stade phénologique	FS2019 / FD2019
Taux de recouvrement (%)	FS2019/ FD2019
Hauteur (cm)	FS2019 / FD2019
Taux de matière sèche (%)	FS2018 / FS2019/ FD2019
Rendement biomasse (kg/m ²)	FS2018 / FS2019/ FD2019
Teneur en HE (ml/100 gr MS)	FS2018 / FS2019/ FD2019

Tableau 4: Variables étudiées pour l'essai FD 2019, FS2018 et FS2019

Les variables étudiées concernent majoritairement l'essais FD 2019 et FS 2019. Seul le rendement en matière sèche et la teneur en HE ont été relevés pour FS2018. En effet, la morphologie des pieds en 2^{ème} année (port très rampant) rend difficile la collecte des données. Au bout de la 2^{ème} année, il devient difficile d'identifier les différents individus (Images 7 et 8). Les données ont été collectées lors de notations sur le terrain et au moment de la récolte et de la distillation. Les données relatives à l'état sanitaire et à la mortalité ont été collectées en fin de cycle pour dresser un bilan après une saison de culture. Le taux de recouvrement a été mesuré lors de la floraison, car n'évoluant plus après. Une photo a été prise à hauteur fixe pour chaque microparcelle et traitée par informatique (cf traitement des données). Les données phénologiques et la hauteur ont été collectées en 3 fois au cours de la floraison. C'est d'après l'évolution du paramètre phénologique qu'a été déclenchée la récolte et la pesée de la biomasse récoltée. La teneur a été mesurée après extraction (cf 1.2).

⇒ **Traitement des données**

Concernant le taux de recouvrement, les images des microparcelles ont été traitée à l'aide du logiciel Mesurim (Annexe 8). Une mesure de surface a été extraite en m². Le taux de recouvrement a été calculé comme le rapport de la surface occupée par les Camomilles sur la surface totale de la microparcelle.

Pour toutes variables, que ce soit pour les clones ou les populations, les données ont été comparées avec deux tests statistique : le test de l'ANOVA qui compare les moyennes d'un échantillon et le test de Tuckey qui classe les observations en catégorie selon la significativité des différences observées.

2.3 Principaux résultats

⇒ Mortalité

La mortalité des FD (Figure 12 : Comparaison des taux de mortalité au 08/08 des 4 clones) tout comme celle des FS (Figure 13) est très hétérogène entre les 3 répétitions, comme en témoignent les écarts-types importants, et leur recouvrement. Il est donc impossible de faire des comparaisons entre clones, entre populations, ou entre FS et FD. Ce résultat peut être attribué à la diversité intra-population pour les FS, mais il est plus surprenant pour les FD, qui sont des clones. La mortalité moyenne pour les clones est de 4%, et de 1% pour les FS. L'état sanitaire relevé lors des notations n'a pas montré signe de maladie particulière ni pour les FS ni pour les FD.

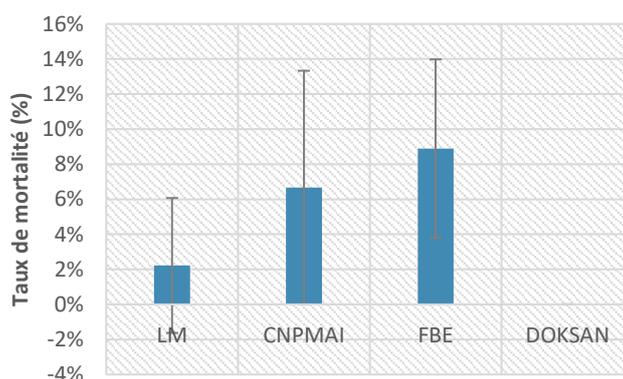


Figure 12 : Comparaison des taux de mortalité au 08/08 des 4 clones

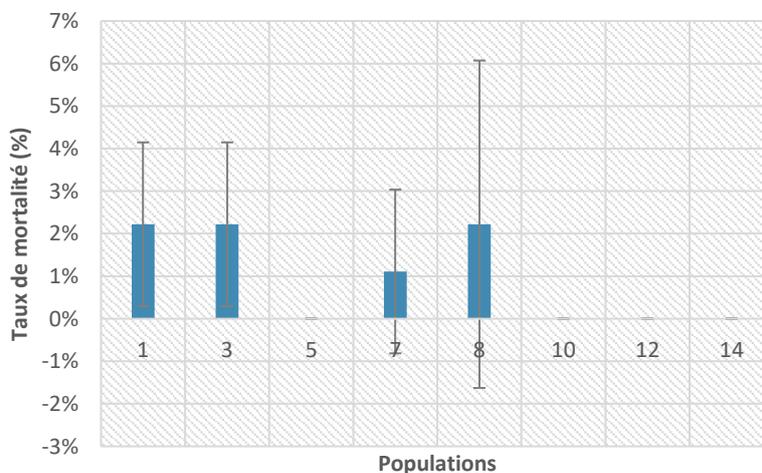


Figure 13: Comparaison des taux de mortalité au 08/08 des populations de FS 2019

⇒ Phénologie

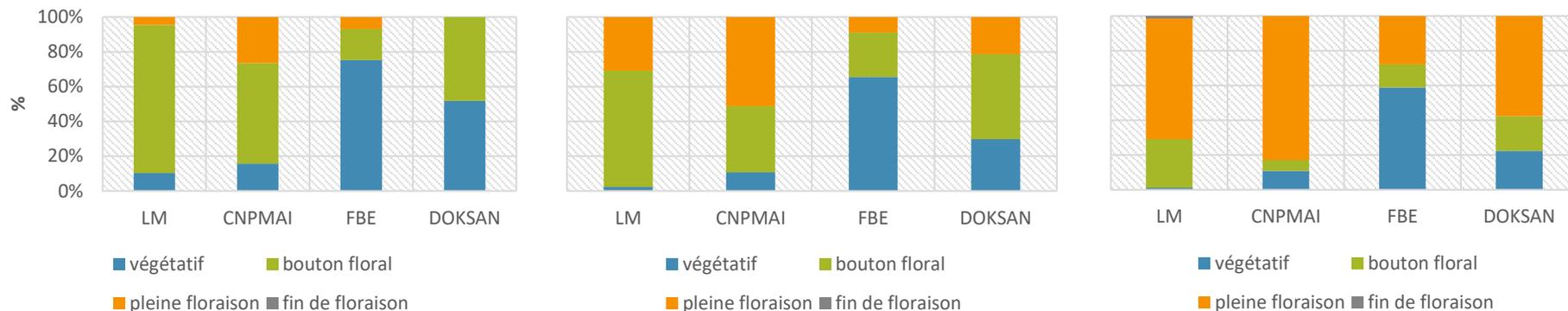


Figure 14, 15, 16 : Comparaison des stades phénologiques des 4 clones au 10/07, au 18/07 et au 24/07

Les 3 relevés phénologiques pour les FD (Figure 14,15,16) montrent les proportions de pieds à différents stades (stade végétatif, bouton floraux, pleine floraison et fin de floraison). Ces graphiques mettent en évidence un ordre de précocité (du plus précoce au moins précoce) : LM, CNPMAI, Doksan et FBE. La notation au 24/07 montre clairement qu'il y a peu de différence entre 3 clones (LM, CNPMAI et Doksan) ayant entre 49 et 68% de pieds au stade pleine floraison. En revanche le clone FB est bien plus tardif avec ses 25% de pieds au stade pleine floraison. La fenêtre s'étale sur tout le mois de juillet et sur août (observations).

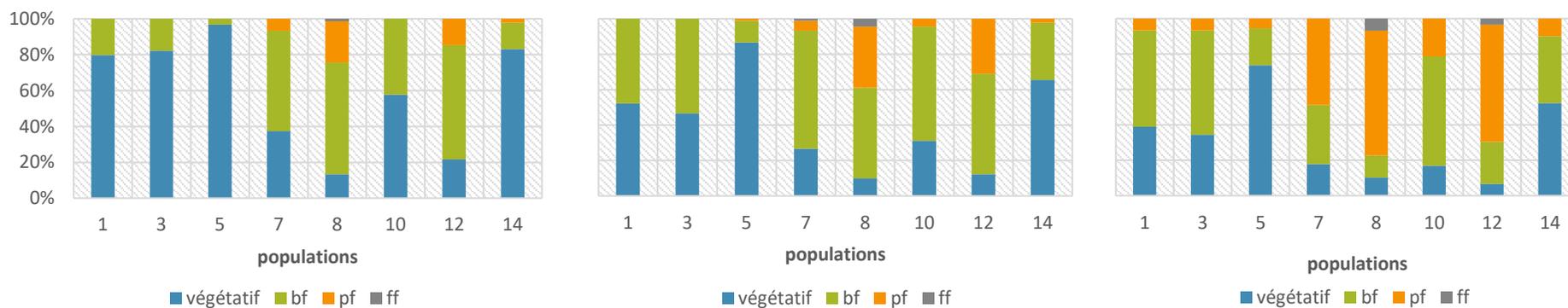


Figure 17, 18, 19 : Comparaison des stades phénologiques des 8 populations (FS implantée en 2019) au 10/07, au 18/07 et au 24/07

Les mêmes relevés effectués pour les FS 2019 (Figure 17,18,19), montrent aussi une différence de précocité entre les populations. On peut grouper les populations plus tardives (1,3,5,14) et les populations plus précoces (7,8,12). Les premières sont dans des stades équivalents aux clones les plus précoces et les secondes dans des stades équivalents au clone FBE. La fenêtre de floraison est la même que pour les clones : elle s'étale de juillet à août (observations).

⇒ Hauteur

Il y a des différences statistiques de hauteur moyenne à une date donnée entre les 4 clones (Figure 20). Le clone LM a une hauteur moyenne de 16.1 cm tandis que les clones FBE et Doksan obtiennent respectivement 6.8 et 6.4 cm. Le clone du CNPMAI a une hauteur moyenne intermédiaire avec 11.9 cm. De plus, on observe une forte régularité dans les mesures : il n'y a pas beaucoup de variation entre les répétitions ce qui était prévisible avec des clones. Les mesures ont été prises à la mi-juillet au moment où les clones arrivaient au stade pleine floraison pour au moins 3 d'entre eux (cf phénologie), c'est-à-dire à l'arrêt de la croissance. Des entretiens ont été menés avec de producteurs de Camomille Romaine à FD et il est ressorti que la hauteur était un critère important à prendre en compte notamment au niveau de la mécanisation. Dans cette perspective les clones FBE et Doksan apparaissent moins intéressants.

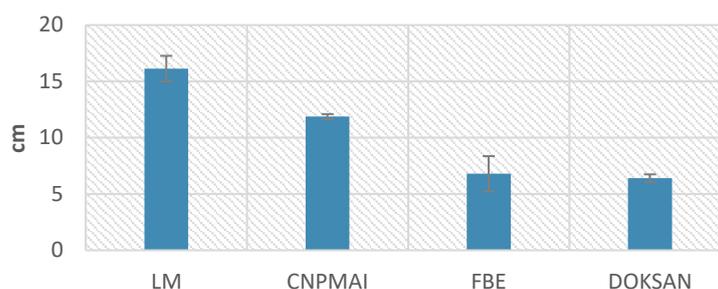


Figure 20: Comparaison de la hauteur moyenne au 18/07 des 4 clones

Les hauteurs moyennes des populations de FS sont comprises entre 11,8 et 5.2 cm (Figure 21). Pour certaines populations l'hétérogénéité est importante entre les 3 répétitions, mais globalement on observe une certaine diversité entre les populations pour lesquelles les écart-types ne se recouvrent pas (entre la 3 et la 7, la 8, la 12 par exemple). La population 8 se démarque légèrement, avec une hauteur de 11 cm, qui la rapproche du clone CNPMAI. Dans l'ensemble, les populations de FS ont des résultats plus faibles que les deux meilleurs clones à FD avec une hauteur moyenne globale de 8.6 cm contre 10.3 cm pour les clones.

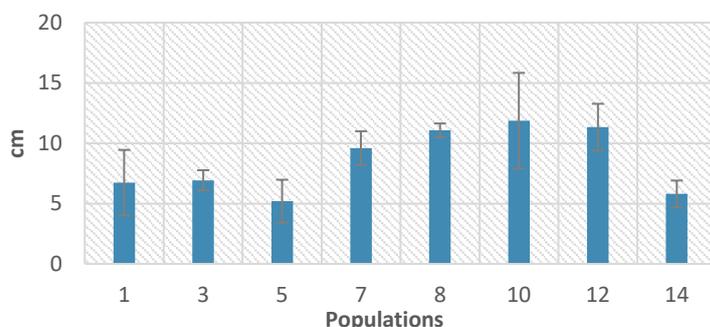


Figure 21: Comparaison de la hauteur moyenne au 18/07 des populations de FS

⇒ Recouvrement

On observe des différences entre les clones pour le recouvrement du sol (Figure 22). Les clones LM et Doksan ont les meilleurs taux de recouvrement (>15%) tandis que les clones CNPMAI et FBE ont des taux de recouvrement plus faibles (< 10%). Les tests statistiques mettent en évidence une différence statistique au moins entre le clone Doksan et le clone CNPMAI. Concernant les FS (Figure 23), pour certaines populations, les écarts-types se recouvrent et de ce fait, il est globalement difficile de mettre en évidence une différence entre les populations. Pour certaines populations on a une nette différence, entre la 14 et la 10 et la 12 par exemple. Le taux de recouvrement moyen pour les clones à FD est de 12% tandis que celui pour les FS est de 9,6%. Le taux de recouvrement est un critère important pour la production puisque c'est un indicateur sur la capacité de la plante à être compétitive avec les adventices. Dans cette perspective, deux clones sont intéressants (LM et Doksan) et une population (10) pourrait être intéressante dans des conditions où la variabilité entre les répétitions serait maîtrisée.

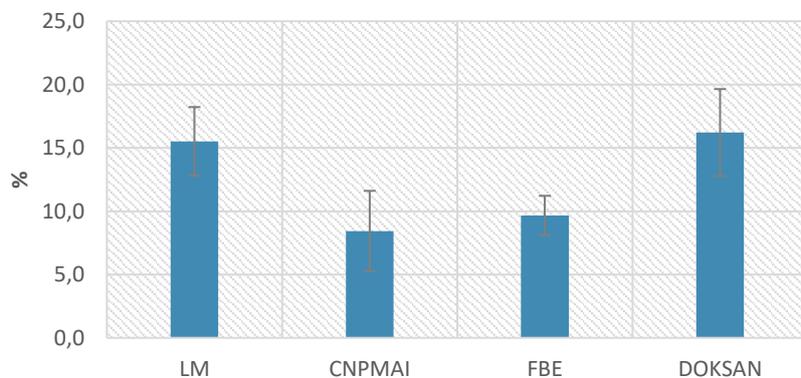


Figure 22: Comparaison des taux de recouvrement au 11/07 des 4 clones

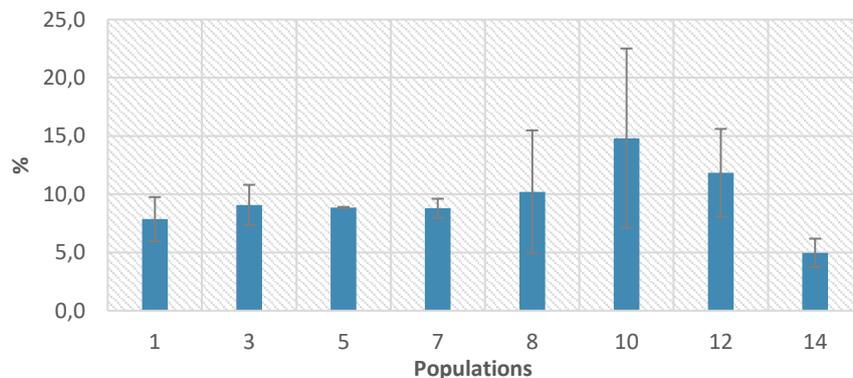


Figure 23: Comparaison des taux de recouvrement au 11/07 des 8 populations de FS

⇒ Biomasse

Les rendements en matière sèche pour les FD sont compris entre 15.5 et 62.2 gr MS/m² (Figure 24). Il existe des différences statistiques entre un groupe de 3 clones (LM, CNPMAI et FBE) et le clone restant (CNPMAI). Au sein des 3 meilleurs clones, il n'y a pas de différence significative, même si les clones CNPMAI et LM ont tendances à avoir des rendements légèrement supérieurs tournant autour de 60 gr MS/m².

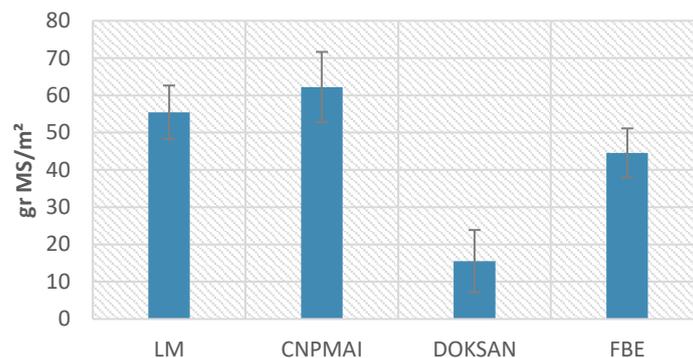


Figure 24: Comparaison du rendement en matière sèche des 4 clones

Si on s'intéresse maintenant aux rendements en matière sèche pour les FS implantées en 2018 et en 2019 (figures 25 et 26), on remarque comme précédemment que les écart-types élevés attestent d'une forte variabilité entre les répétitions, et leur recouvrement ne permet pas de tirer de conclusion permettant de comparer entre elles les populations. On remarque également que les écarts-types des FD sont beaucoup moins importants que ceux des FS, ce qui peut permettre de supposer que l'importance des écarts-types pour les FS pourraient être dûs à une forte variabilité intra-population.

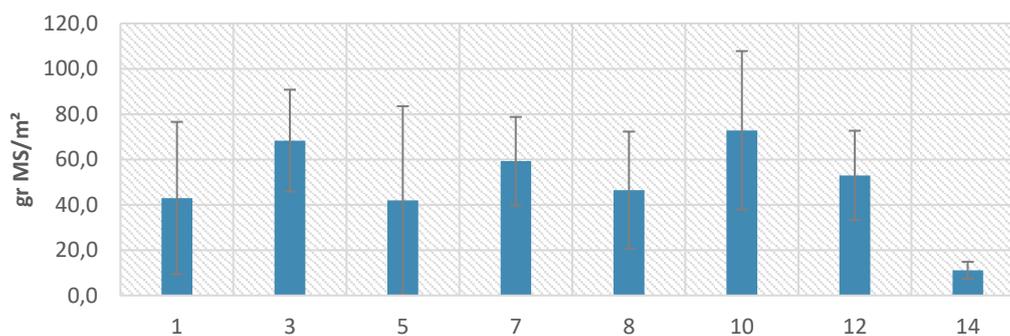


Figure 25: Comparaison du rendement en matière sèche des 8 populations de FS implantées en 2019

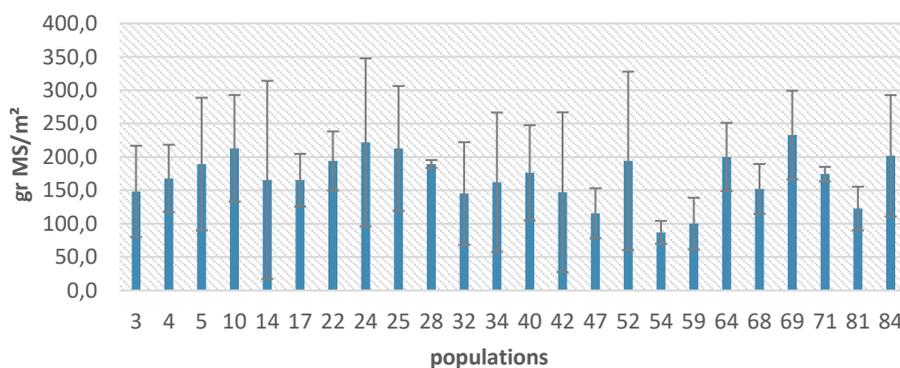


Figure 26: Comparaison du rendement en matière sèche des 24 populations de FS implantées en 2018

⇒ Résistance à l'arrachage

Il n'y a pas eu de mesures spécifiques pour tester la résistance des tiges des FS et de FD, mais lors des sessions d'entretien des parcelles, une nette différence a été observée par tous les opérateurs. Les tiges des clones à FD étaient beaucoup plus cassantes que les tiges des populations à FS. Il était même compliqué de desherber au pied des FD sans casser une partie des tiges du pied.

⇒ **Teneur**

Les teneurs en HE pour les clones à FD sont comprises entre 0.3 et 0.91 mL/100 gr MS (Figure 27). Les tests statistiques montrent des différences significatives entre le groupe CNPMAI et LM et le clone FBE. Les deux clones CNPMAI et LM présentent des teneurs supérieures à 0,8 mL/100 gr MS ce qui fait d'eux les clones les plus intéressants pour la production quantitative d'HE.

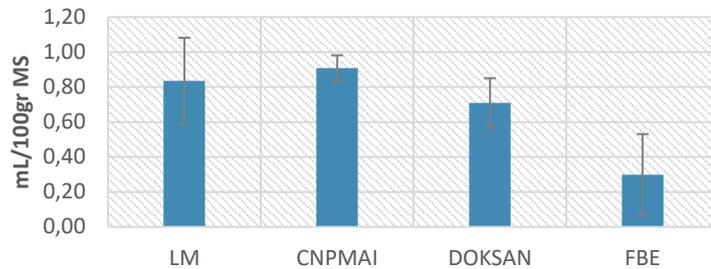


Figure 27: Comparaison des teneurs en HE des 4 clones

Pour les populations de FS implantées en 2018 et 2019 (figures 28 et 29), les teneurs en HE sont comprise entre 0.23 et 1.04 ml/100 gr MS (Figure 28). Ici encore, on ne peut pas mettre en évidence de différence entre les populations à cause de la variabilité intra-répétition. La population 28 présente une teneur très intéressante (1.04) si l'on compare aux clones à FD.

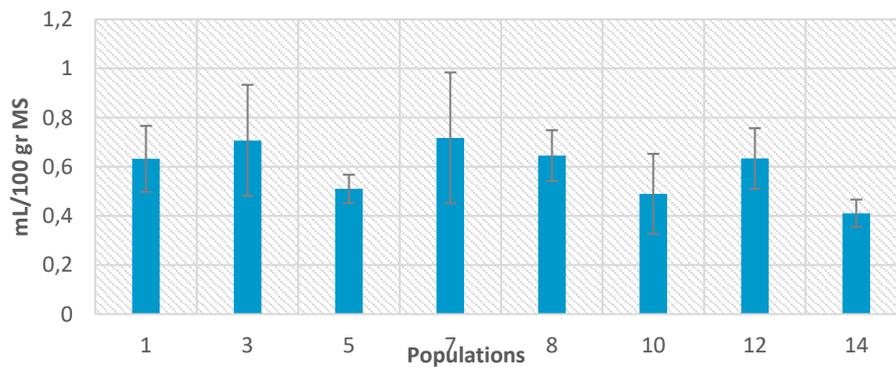


Figure 28: Comparaison de la teneur en HE des 8 populations de FS (implantées en 2019)

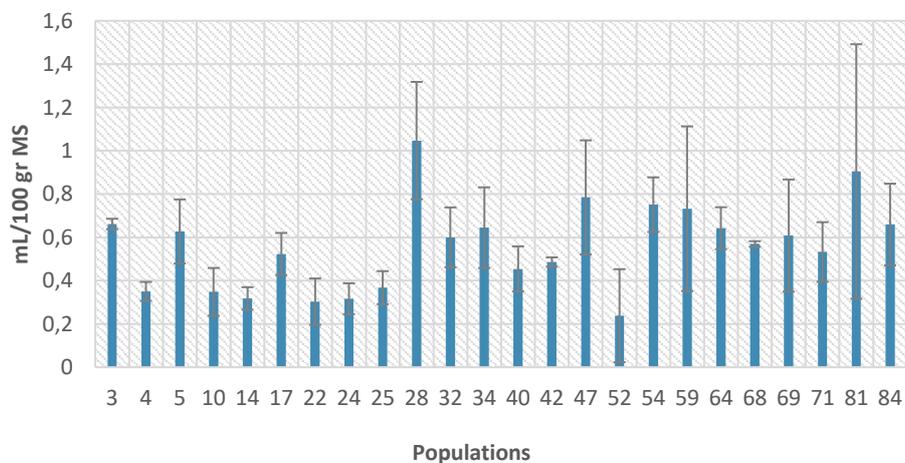


Figure 29: Comparaison de la teneur en HE des 24 populations de FS (implantés en 2018)

En comparant les teneurs moyennes pour les FS 2019³ et FD sans prendre en compte le clone FBE qui mine les résultats, on observe une différence nette en faveur des clones : 0.82 contre 0.59 mL/100 gr MS (Figure 30).

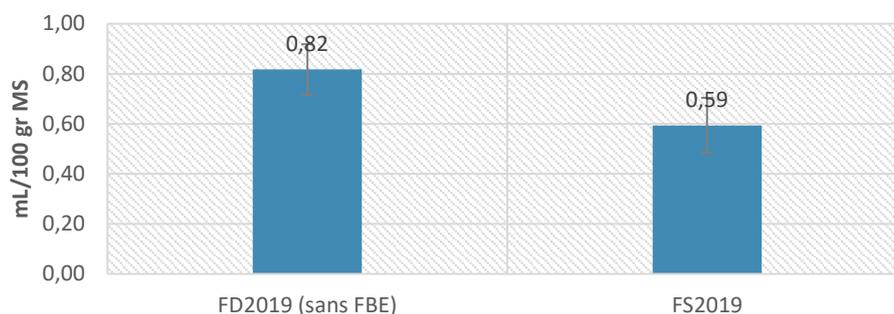


Figure 30: Comparaison des teneurs en HE entre les clones à FD (sans FBE) et les 8 populations de FS implantées en 2019

Conclusions générales – perspectives

L'étude des profils phytochimique a mis en évidence une très faible diversité chimique parmi les clones de Camomille Romaine à FD. La majorité des clones (3 sur 4) sont dans la norme ce qui était un résultat attendu puisque ces clones sont actuellement utilisés par des professionnels de la filière pour la production d'HE.

En revanche pour les populations à FS, une très grande variabilité dans la composition chimique a été mise en évidence. Dans toute cette diversité, aucune population correspondant à la norme n'a pu être identifiée. Certaines populations se rapprochent de la norme mais aucune ne possède la bonne combinaison vis-à-vis des molécules de la norme. Cette étude a aussi montré qu'il n'y avait pas de chémotypes pour les 12 molécules de la norme. En se penchant sur les déterminants de la variabilité de la composition chimique, il a été montré que l'effet année a un impact parfois important sur la composition chimique. Comprendre plus précisément cet effet pourrait offrir un levier pour ajuster le profil chimique à condition de maîtriser les paramètres environnementaux. Les résultats ont aussi montré qu'il semble y avoir une relation entre richesse en angélate d'isobutyle et origine géographique : les populations les plus riches en angélate d'isobutyle seraient plus susceptibles de se trouver dans le sud-ouest de la France, entre le Massif Central et la façade Atlantique. Cependant, même en affinant la compréhension de la diversité chimique des populations à FS, il n'est pas sûr qu'il soit possible de trouver une population directement dans la norme. Dans l'éventualité d'un travail de sélection variétale, connaître par exemple la relation entre origine géographique et composition chimique pourrait aider à partir sur du matériel végétal favorable.

Sur le plan agronomique, en ce qui concerne les clones, les résultats ont montré qu'il existe une forte diversité phénotypique au niveau de plusieurs variables et ce au moins entre 3 des 4 clones étudiés (LM, FBE, Doksan). Ceci plaide en faveur de l'hypothèse d'une origine et d'une génétique différente pour les différents clones cultivés [4], qu'il faudrait éventuellement confirmer par une analyse à l'aide d'outils biomoléculaires. Un clone se distingue des autres pour ses résultats intéressants dans le contexte productif actuel, c'est le clone LM (clone principal utilisé dans la culture en Anjou). Il a en effet une faible mortalité et il produit beaucoup de biomasse avec une bonne teneur en HE. Les tiges

³ En raison de la trop grande variabilité entre les populations de l'essai FS2018, il n'est pas pertinent de comparer les moyennes, de fait l'essai est exclu de la comparaison

florales montent suffisamment haut pour permettre une récolte mécanisée et les pieds ont un bon pouvoir couvrant. A l'inverse, le clone FBE, originaire des Vosges est caractérisé par une forte mortalité, un port plutôt rampant, une production moyenne en biomasse et une faible teneur en HE, tout en étant plus tardif. On observe que le clone CNPMAI, qui aurait dû en théorie être affilié au clone LM, présente comme ce dernier de bons résultats sur la teneur en HE et sur la biomasse produite, mais semble différer légèrement sur le port (hauteur x recouvrement). Enfin le clone Doksan est peu couvrant, très rampant, et produit très peu de biomasse. Ces traits conjugués à son profil chimique hors norme le rendent peu intéressant pour la production. Les Camomilles Romaines à FS ont montré des résultats encourageants en terme de mise en culture, notamment par leur faible mortalité et la résistance de leurs tiges. Concernant les variables agronomiques, les populations de FS 2019 évoluent dans les mêmes intervalles que ceux de clones à FD. En moyenne cependant, les populations à FS obtiennent des résultats inférieurs sur quasiment tous les critères et ceci est particulièrement vrai pour la teneur en HE. Même si ponctuellement, les populations peuvent présenter des résultats très intéressants comme la population 10 qui a une bonne production de biomasse, une hauteur et une capacité couvrante intéressante, aucune population n'obtient des bons résultats sur tous les aspects, et à fortiori quand l'on ajoute au tableau le profil phytochimique. Il n'a donc pas été possible d'identifier une population sortant du lot sur le plan agronomique. On retiendra de cette étude la mise en évidence et la description d'une certaine diversité inter-populations, vraisemblablement aussi d'une diversité intra-population, et donc un potentiel intéressant pour servir de base à un éventuel programme de création variétale.

Pour donner suite à ces travaux, et préparer éventuellement un programme de création variétale, deux études complémentaires seraient intéressantes. Il faudrait d'abord mener une étude ciblée sur la diversité intra-population au niveau phytochimique et agronomique. Il serait également indispensable de comprendre précisément l'origine de la stérilité de la Camomille romaine à FD, et de comprendre plus finement le mode de reproduction générative de la Camomille à FS afin de voir de quelle manière aborder un programme de création variétale.

Remerciements

L'équipe projet remercie les professionnels de la filière ayant accepté de mettre à disposition leurs clones de Camomilles Romaine à fleurs doubles, et de répondre à nos questions lors des entretiens menés. Nous remercions également les équipes de l'iteipmai ayant accepté de nous accompagner dans l'interprétation des résultats, notamment Denis Bellenot pour la partie phytochimique, Berline Fopa-Fomeju pour la partie génétique et Anne Buchwalder pour la partie préliminaire à un programme de création variétale.

Références bibliographiques

- [1] J. Bruneton, *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*, 4ème édition. Paris: Technique & Documentation Lavoisier, 2009.
- [2] iteipmai, « Fiche technique : Camomille romaine, *Chamaemelum nobile* (L.) All. (=Anthemis nobilis L.) - Compositae (Asteraceae) ». 2009.
- [3] CNPMAI, « La Camomille Romaine, une espèce bien particulière », 2017.
<https://www.cnpmai.net/fr/2017/11/07/la-camomille-romaine/>.
- [4] R. Laruelle, « La camomille romaine - Les techniques de culture et de séchage », *J. Pharm. Belg.*, vol. 14, p. 232-241, mai 1959.
- [5] M.-L. Fauconnier, M. Jaziri, J. Homes, K. Shimomura, et M. Marlier, « Anthemis nobilis L. (Roman Chamomile): In Vitro Culture, Micropropagation, and the Production of Essential Oils », in *Medicinal and Aromatic Plants IX*, Y. P. S. Bajaj, Éd. Berlin, Heidelberg: Springer, 1996, p. 16-37.
- [6] « Plantes à parfum, aromatiques, médicinales et condimentaires selon la superficie - Agreste-Saiku ». https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-saiku/?plugin=true&query=query/open/G_0028#query/open/G_0028 (consulté le mars 18, 2020).
- [7] J. Ramanantsoa, « Des plantes à petite surface loin d'être négligeables ». Agreste primeur, 2013.
- [8] « Le marché de l'aromathérapie en pharmacie », janv. 2018.
- [9] Z. Sándor *et al.*, « Evidence Supports Tradition: The in Vitro Effects of Roman Chamomile on Smooth Muscles », *Front. Pharmacol.*, vol. 9, avr. 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.00323.
- [10] « (9) (PDF) An evaluation of aromatherapy massage in palliative care », *ResearchGate*.
https://www.researchgate.net/publication/12655981_An_evaluation_of_aromatherapy_massage_in_palliative_care (consulté le mars 18, 2020).
- [11] « Assessment report on *Chamaemelum nobile* (L.) All., flos », p. 19.
- [12] M.-Y. Cho, E. S. Min, M.-H. Hur, et M. S. Lee, « Effects of aromatherapy on the anxiety, vital signs, and sleep quality of percutaneous coronary intervention patients in intensive care units », *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM*, vol. 2013, p. 381381, 2013, doi: 10.1155/2013/381381.
- [13] AFNOR, *NF T 75-253 Norme française Huile essentielle de camomille romaine (Chamaemelum nobile(L.))*. 2006.
- [14] iteipmai, « Le déperrissement de la camomille romaine - Fiche maladie ». 2013.
- [15] N. Pillonel, S. Fischer, et C. Baroffio, « Origine du déperrissement de la camomille romaine », *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, vol. 44, n° 4, p. 234-241, 2012.
- [16] A. Antonelli et C. Fabbri, « Study on Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile* L. All.) Oil », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 10, n° 5, p. 571-574, sept. 1998, doi: 10.1080/10412905.1998.9700974.
- [17] P. Farkas, M. Hollá, S. Vaverková, B. Stahlová, J. Tekel, et E. Havránek, « Composition of the Essential Oil from the Flowerheads of *Chamaemelum nobile* (L.) All. (Asteraceae) Cultivated in Slovak Republic », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 15, n° 2, p. 83-85, mars 2003, doi: 10.1080/10412905.2003.9712073.
- [18] « Fiche Technique BIO «CAMOMILLE ROMAINE» témoignages de producteurs du Maine et Loire - PDF ». <http://docplayer.fr/11495728-Fiche-technique-bio-camomille-romaine-temoignages-de-producteurs-du-maine-et-loire.html> (consulté le mars 16, 2018).
- [19] A. Antonelli et C. Fabbri, « Study on Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile* L. All.) Oil », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 10, n° 5, p. 571-574, sept. 1998, doi: 10.1080/10412905.1998.9700974.
- [20] A. C. Soria, J. Esteban, R. Morales, et P. J. Martín-Álvarez, « Validación estadística de la presencia en plantas de quimiotipos caracterizados por la concentración de componentes volátiles obtenida mediante GC-MS », *Bot. Complut.*, p. 13, 2008.
- [21] D. Joly, T. Brossard, H. Cardot, J. Cavailles, M. Hilal, et P. Wavresky, « Les types de climats en France, une construction spatiale », *Cybergeo Eur. J. Geogr.*, juin 2010, doi: 10.4000/cybergeo.23155.

Annexe 1 : Composés chimiques identifiés (% d'huile essentielle) des clones de Camomille Romaine à FD

Composé	N ⁴	Min	Max	Moyenne	Ecart-type
(E,E)-Alpha-Farnésène	4	0,01	0,16	0,07	0,07
(Z)-Béta-Ocimène	2	0,01	0,05	0,03	0,03
2-Butanoate de 2-Méthyl-Propyle	4	0,01	0,03	0,02	0,01
2-Méthyl-1-Butanol	4	0,09	0,22	0,14	0,06
2-méthyl-2-(Z)-Buténoate de 2-Hydroxy-2-Méthyl-But-3-ényle*	4	0,84	1,41	1,10	0,28
2-Méthyl-2-Buténoate de 2-Méthyl-But-2-ényle*	4	1,35	2,19	1,93	0,39
2-Méthyl-Acrylate de 2-Méthylbutyle ⁵	4	0,74	1,17	0,89	0,19
2-Méthyl-Acrylate de 3-Méthylbutyle	4	0,09	0,35	0,22	0,12
2-Méthyl-Acrylate d'Isobutyle	4	1,34	1,63	1,51	0,12
2-Méthyl-Butanoate de Myrtényle	4	0,01	0,41	0,11	0,20
2-Méthyl-Buténoate de Méthyle*	4	0,04	0,06	0,05	0,01
2-Methylbutyl isovalerate	3	0,07	0,09	0,08	0,01
2-Méthyl-Butyrate de 2-Méthylbutyle	4	0,38	0,52	0,46	0,06
2-Méthyl-Butyrate de 3-Méthylbutyle	4	0,08	0,10	0,09	0,01
2-Méthylbutyrate de 4-Méthylpentyle+Myrténol	4	0,04	0,32	0,17	0,13
2-Méthyl-Butyrate d'Isobutyle	4	0,37	0,81	0,65	0,19
2-Méthyl-Propanoate de 2-Méthyl-2-Butényle	4	0,31	2,62	0,89	1,15
2-Méthyl-Propanoate de 2-Méthyl-2-Propényle*	4	0,43	0,54	0,47	0,05
2-Méthyl-Propanoate de 2-Méthyl-Pentyle	4	0,02	2,64	0,68	1,31
2-Méthyl-propanoate de propyle	4	0,04	0,07	0,06	0,02
3-Méthyl-Butanol	4	0,01	0,04	0,02	0,01
3-Méthyl-Butyrate d'Isobutyle	4	0,08	0,17	0,14	0,04
3-Méthyl-Pentanoate de 2-Méthyl-Butan-1-yle	1	0,02	0,02	0,02	NA
3-Méthyl-Pentanol	1	0,09	0,09	0,09	NA
Acétate de 2-Méthyl-2-Butényle	4	0,88	1,41	1,21	0,24
Acétate de 2-Méthyl-Butyle	4	0,16	0,21	0,18	0,02
Acétate de 3-Méthyl-Butyle	4	0,06	0,08	0,07	0,01
Acétate de 3-Méthyl-Pentyle	2	0,01	0,12	0,06	0,08
Acétate d'isobutyle	4	0,02	0,04	0,03	0,01
Alpha-Pinène	4	1,34	2,79	2,33	0,68
Angélate de 3-Méthylbutyle	4	15,46	17,38	16,14	0,86
Angélate de 3-Méthylpentyle	4	0,17	4,94	1,39	2,37
Angélate de Butyle	4	0,64	0,79	0,75	0,07
Angélate de Cis-(3)-Hexényle	4	0,04	0,04	0,04	0,00
Angélate de Méthallyle	4	7,58	9,60	8,92	0,91
Angélate de Propyle	4	1,52	1,73	1,63	0,12
Angélate d'Hexyle	4	0,04	0,05	0,05	0,01
Angélate d'Isobutyle	4	23,63	32,29	29,72	4,10
Béta-Pinène	4	0,16	0,24	0,21	0,03
Bornéol	4	0,12	0,19	0,15	0,03
Butanoate de Myrtényle	1	0,09	0,09	0,09	NA
Camphène	4	0,35	0,51	0,40	0,08
Camphène-Hydrate	4	0,16	0,21	0,18	0,02
Eucalyptol	4	0,02	0,03	0,02	0,01
Germacrène-D	4	0,04	0,29	0,14	0,12
Hexanoate de 2-Méthylpropyle	1	0,04	0,04	0,04	NA
Isobutanoate d' IsoButyle	4	2,85	4,66	3,95	0,78
Iso-Butanoate de Myrtényle	1	1,41	1,41	1,41	NA
Isobutyrate de 2-Méthylbutyle	4	2,61	4,54	3,41	0,81
Isobutyrate de 3-Méthylbutyle	4	0,29	0,74	0,43	0,21
Iso-Pent-2-énoate d'Iso-Butyle	4	0,02	0,04	0,03	0,01
Limonène	4	0,02	0,05	0,03	0,01
Métacrylate de 2-Méthylallyle	4	0,37	0,50	0,42	0,06
Méthacrylate de 2-Méthyl-but-2ène-1-yle*	4	0,15	0,19	0,17	0,02
Méthacrylate de 3-Méthylpentyle	1	0,37	0,37	0,37	NA

⁴ Nombre d'échantillons dans lesquels le composé apparait

⁵ Les molécules de la norme sont surlignées en vert

Monoterpène Oxygéné MW156	4	0,44	0,76	0,61	0,15
Myrcène	4	0,01	0,05	0,03	0,02
Myrcénone	4	0,28	0,43	0,37	0,07
Myrténal	4	0,45	0,68	0,57	0,10
Para-Cymène	3	0,02	0,03	0,03	0,00
Pentanoate de Myrtényle	4	0,01	0,13	0,04	0,06
Pinocarvone	4	2,58	4,70	4,06	0,99
Propanoate de 2-Méthyl-propyle	4	0,03	0,05	0,04	0,01
Propanoate de Myrtényle	1	0,09	0,09	0,09	NA
Sabinène	3	0,02	0,03	0,03	0,01
Sesquiterpène Oxygéné MW 222	4	0,01	0,23	0,11	0,09
Thymol	1	0,01	0,01	0,01	NA
Tiglate d'Isobutyle	4	0,22	0,38	0,33	0,07
Trans-Pinocarvéol+Angélate de 2-Méthylbutyle	4	7,66	8,09	7,92	0,19
Valéranone	1	0,06	0,06	0,06	NA

Annexe 2 : Composés chimiques identifiés (% d'huile essentielle) des populations sauvages à fleurs simples

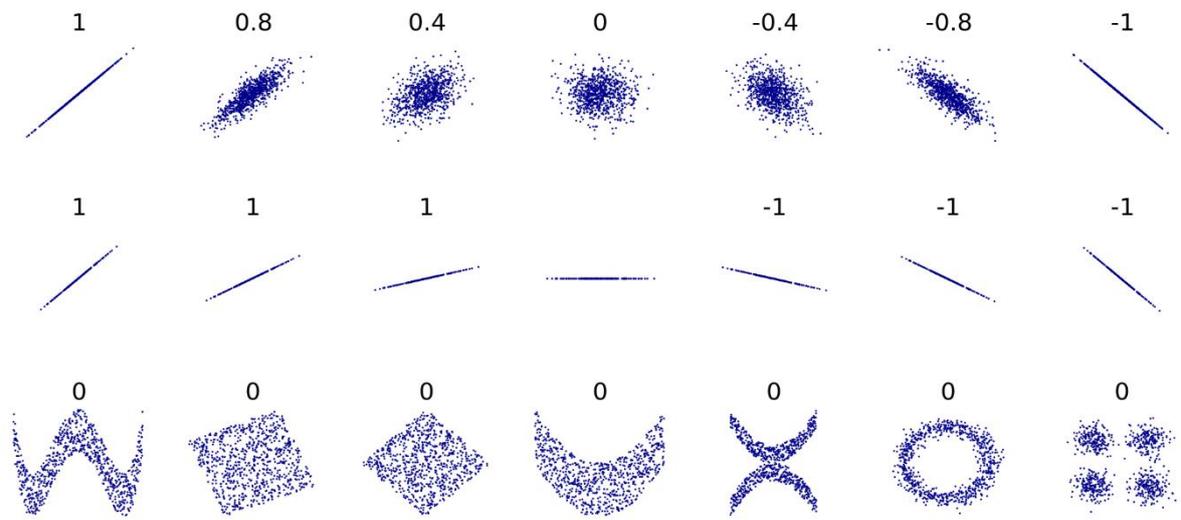
Composé	Nombre de populations concernées	Min	Max	Moyenne	Ecart-type
(E)-Bétabéta-Ocimène	4	0,01	0,04	0,03	0,01
(E,E)-Alpha-Farnésène	53	0,01	0,78	0,11	0,14
(Z)-Bétabéta-Farnésène	42	0,01	0,25	0,06	0,06
(Z)-Bétabéta-Ocimène	12	0,01	0,09	0,04	0,03
2-Butanoate de 2-Méthyl-Propyle	36	0,01	0,10	0,04	0,02
2-Méthyl-1-Butanol	56	0,01	0,41	0,09	0,07
2-méthyl-2-(Z)-Buténoate de 2-Hydroxy-2-Méthyl-But-3-ényle *	1	0,26	0,26	0,26	#DIV/0!
2-méthyl-2-(Z)-Buténoate de 2-Hydroxy-2-Méthyl-But-3-ényle*	41	0,14	2,51	0,90	0,60
2-Méthyl-2-Buténoate de 2-Méthyl-But-2-ényle*	57	0,05	3,96	0,94	0,88
2-Méthyl-Acrylate de 2-Méthylbutyle	56	0,27	5,61	0,89	0,87
2-Méthyl-Acrylate de 3-Méthylbutyle	48	0,01	1,70	0,59	0,49
2-Méthyl-Acrylate d'Isobutyle	57	0,52	6,24	2,05	1,18
2-Méthyl-Butanoate de Myrtényle	45	0,01	0,32	0,07	0,08
2-Méthyl-Buténoate de Méthyle*	40	0,01	0,09	0,04	0,02
2-Méthylbutyl isovalerate	49	0,03	0,46	0,18	0,11
2-Méthyl-Butyrate de 2-Méthylbutyle	57	0,15	1,01	0,39	0,16
2-Méthyl-Butyrate de 3-Méthylbutyle	36	0,05	0,44	0,16	0,09
2-Méthylbutyrate de 4-Méthylpentyle+Myrténol	55	0,04	1,63	0,60	0,35
2-Méthyl-Butyrate d'Isobutyle	57	0,13	2,90	0,88	0,59
2-Méthyl-Propanoate de 2-Méthyl-2-Butényle	55	0,02	32,99	1,16	4,40
2-Méthyl-Propanoate de 2-Méthyl-2-Propényle*	57	0,03	2,12	0,64	0,48
2-Méthyl-Propanoate de 2-Méthyl-Pentyle	55	0,01	6,10	0,99	1,28
2-Méthyl-propanoate de propyle	49	0,01	0,09	0,03	0,02
3-Hydroxy-2-Méthylènebutanoate d'Isopentyle	1	0,65	0,65	0,65	#DIV/0!
3-Méthyl-Butanol	30	0,01	0,19	0,05	0,04
3-Méthyl-Butyrate de Pentyle	16	0,02	21,08	1,38	5,25
3-Méthyl-Butyrate d'Isobutyle	57	0,05	4,29	1,06	1,20
3-Méthyl-Pentanoate de 2-Méthyl-Butan-1-yle	38	0,03	3,13	0,49	0,61
3-Méthyl-Pentanol	35	0,01	0,33	0,12	0,10
3-phenylpropanoate d'Isobutyle	15	0,01	0,22	0,04	0,07
Acétate de 2-Méthyl-2-Butényle	51	0,02	0,79	0,19	0,15
Acétate de 2-Méthyl-Butyle	55	0,01	0,35	0,07	0,06
Acétate de 3-Méthyl-Butyle	38	0,01	0,45	0,07	0,09
Acétate de 3-Méthyl-Pentyle	57	0,01	0,74	0,17	0,14
Acétate d'isobutyle	39	0,01	0,05	0,02	0,01
Alpha-Pinène	57	0,27	7,09	2,32	1,55
Alpha-Trans-bergamotène	2	0,01	0,01	0,01	0,00
Angélate de 3-Méthylbutyle	57	4,09	18,80	8,63	2,75
Angélate de 3-Méthylpentyle	56	0,01	16,24	4,21	4,48
Angélate de Butyle	57	0,16	0,79	0,42	0,12
Angélate de Cis-(3)-Hexényle	52	0,02	0,27	0,07	0,05
Angélate de Méthallyle	57	1,73	26,61	10,83	5,39
Angélate de Propyle	57	0,40	1,56	0,86	0,28
Angélate d'Hexyle	50	0,02	0,08	0,05	0,01
Angélate d'Isobutyle	56	5,30	42,57	24,14	10,05
Bétabéta-Phellandrène	9	0,01	0,07	0,03	0,03
Bétabéta-Pinène	56	0,02	0,85	0,29	0,19
Bornéol	53	0,02	0,67	0,20	0,14
Butanoate de Myrtényle	41	0,02	0,72	0,12	0,15
Camphène	57	0,03	1,00	0,36	0,21
Camphène-Hydrate	52	0,06	0,58	0,27	0,15
Camphre	20	0,03	1,99	0,32	0,49
Eucalyptol	55	0,01	0,72	0,09	0,13
Germacrène-D	57	0,02	1,43	0,41	0,35

Hexanoate de 2-Méthylpropyle	51	0,02	13,72	2,80	3,69
Inconnu MW168	1	0,16	0,16	0,16	#DIV/0!
Isobutanoate d' IsoButyle	57	0,79	6,71	2,43	1,19
Iso-Butanoate de Myrtényle	51	0,01	0,83	0,11	0,17
Isobutyrate de 2-Méthylbutyle	57	0,33	4,50	1,62	1,03
Isobutyrate de 3-Méthylbutyle	54	0,01	1,66	0,50	0,51
Iso-Pent-2-énoate d'Iso-Butyle	49	0,01	2,06	0,50	0,61
Limonène	56	0,01	0,53	0,06	0,10
Métacrylate de 2-Méthylallyle	57	0,05	3,16	0,92	0,63
Métacrylate de 2-Méthyl-but-2ène-1-yle*	8	0,02	0,29	0,12	0,10
Méthacrylate de 2-Méthyl-but-2ène-1-yle*	33	0,02	0,83	0,24	0,19
Méthacrylate de 3-Méthylpentyle	52	0,01	4,89	0,81	1,14
Monoterpène Oxygéné MW 156	19	0,01	1,15	0,26	0,32
Monoterpène Oxygéné MW156	56	0,09	4,58	0,89	0,93
Myrcène	56	0,01	0,35	0,07	0,06
Myrcénone	51	0,04	2,60	0,47	0,49
Myrténal	57	0,12	1,96	0,96	0,35
Para-Cymène	53	0,02	0,78	0,09	0,16
Pentanoate de Myrtényle	47	0,01	0,49	0,09	0,12
Pinocarvone	57	1,09	12,98	6,89	2,35
Propanoate de 2-Méthyl-propyle	53	0,01	0,15	0,04	0,03
Propanoate de Myrtényle	13	0,01	0,17	0,06	0,05
Sabinène	50	0,02	0,26	0,06	0,04
Sesquiterpène Oxygéné MW 222	35	0,02	1,24	0,21	0,28
Thymol	2	0,28	4,01	2,15	2,64
Tiglate d'Isobutyle	57	0,06	0,40	0,23	0,09
Trans-Pinocarvéol+Angélate de 2-Méthylbutyle	57	1,26	25,25	10,20	4,95
Valéranone	17	0,01	0,66	0,22	0,23

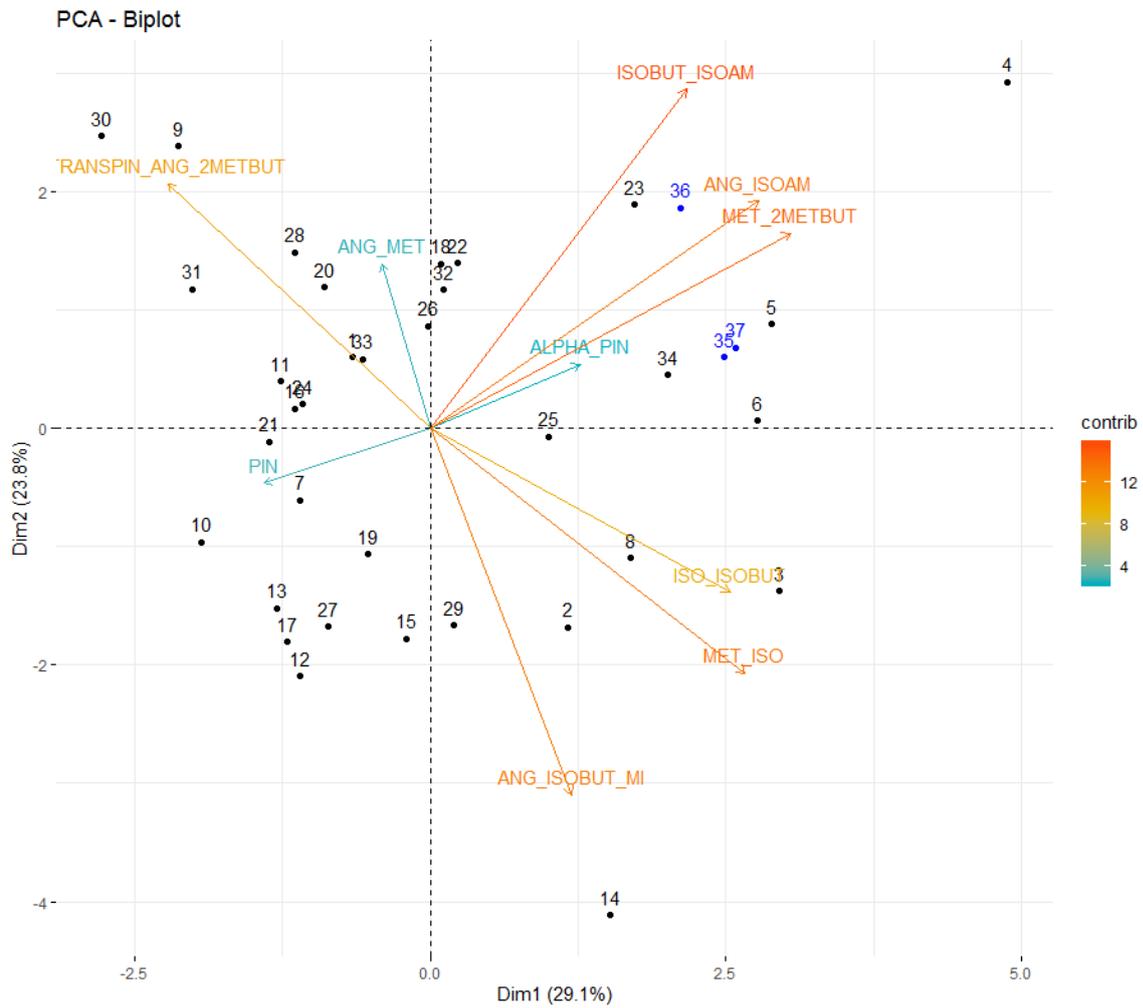
Annexe 3: Populations se rapprochant de la norme

Étiquettes de lignes	Nom de la population	Année d'implantation	Type botanique	Année de distillation	Département	N° département	2-Méthyl-Acrylate de 2-Méthylbutyle (=Méthacrylate de 2-méthyl-butyle)	2-Méthyl-Acrylate d'Isobutyle (=Méthacrylate d'isobutyle)	Alpha-Pinène	Angélate de 3-Méthylbutyle (=Angélate d'isoamyle)	Angélate de Méthallyle (=Angélate de méthyl-allyle)	Isobutanoate d' IsoButyle (=Isobutyrate d'isobutyl)	Pinocarvone	Trans-Pinocarvéol+Angélate de 2-Méthylbutyle	Angélate d'isobutyle + méthacrylate d'isoamyl (=2-Méthyl-Acrylate de 3-Méthylbutyle)	Isobutyrate de 3-Méthylbutyle (isobutyrate d'isoamyle)
49183	2019CAM014	2019	FS	2019	Corrèze	19	1,0	2,5		12,6	10,9	2,7	2,2	1,7	38,2	1,4
49189	2018CAM017	2018	FS	2019	Landes	40	0,5	6,2	2,2	4,1	9,4	6,3	10,1	7,5	39,6	
49228	2018CAM064	2018	FS	2018	Allier	3	0,4	1,6	5,5	7,9	6,8	1,9	5,9	5,6	33,6	
Norme afnor min							0,5	0,5	1	12	6	2	1,3	5	30	2,5
Norme afnor max							1,5	3	5	22	10	9	6,0	14	45	5

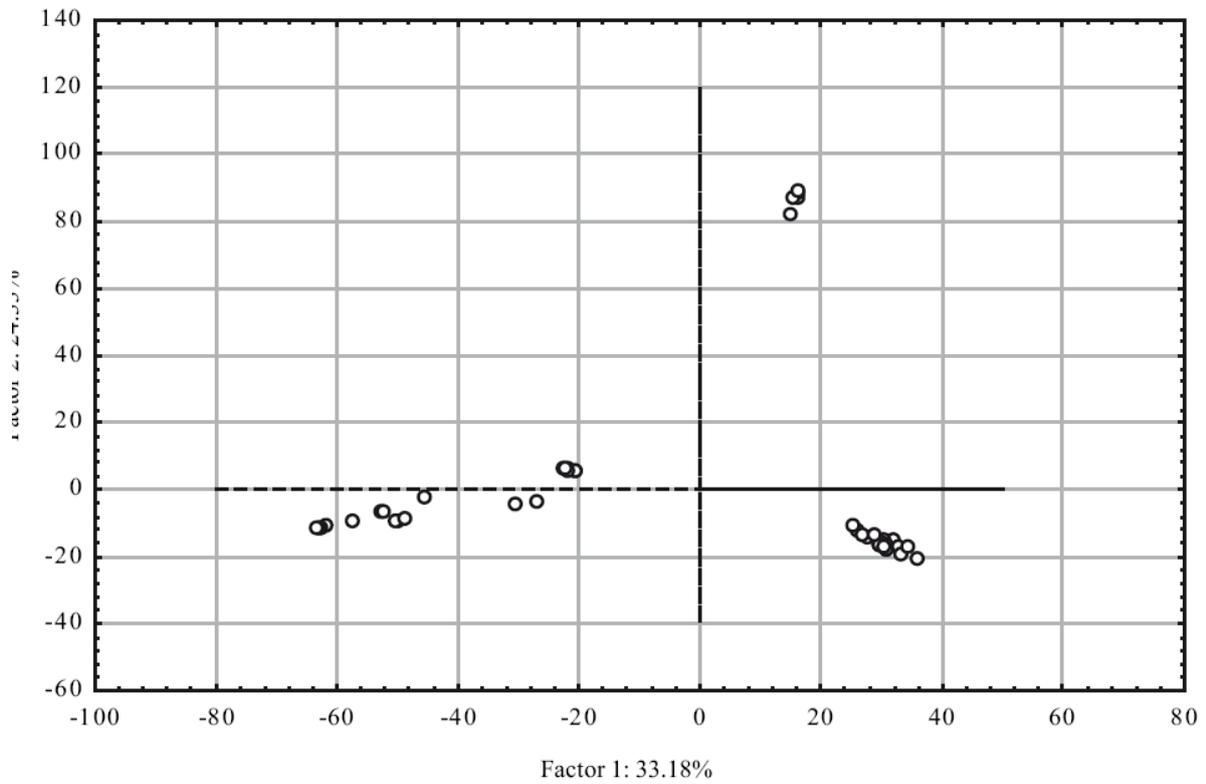
Annexe 4 : Exemples de coefficients de corrélation : corrélation linéaire pour les deux premières lignes, non linéaire pour la troisième ligne [5]



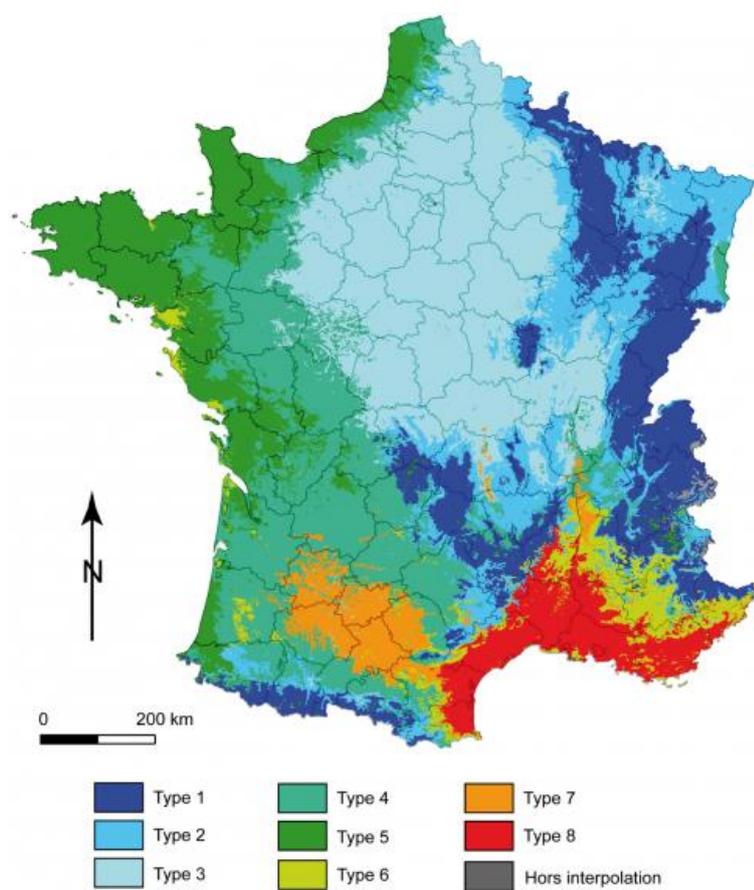
Annexe 5: Résultat de l'analyse en composante principale pour les FS distillée en 2019



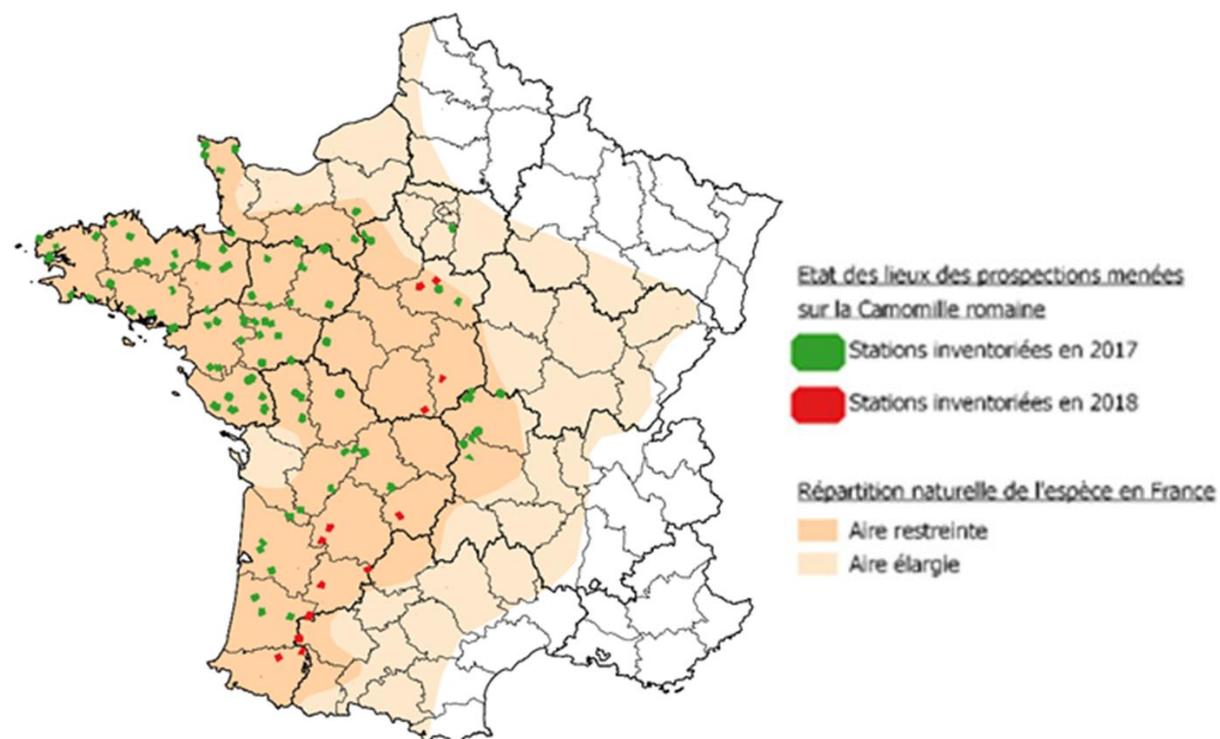
Annexe 6: Exemple de résultat mettant en évidence la présence de chémotype : représentation des individus de 3 chémotypes de thym en analyses des composantes principales [20].



Annexe 7: Climat et origine géographique des populations prospectées.



Source : Les types de climats en France, une construction spatiale (D.Joly, 2010)



Annexe 8 : Illustration d'une image traitée avec le logiciel Mesurim

