

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
PARIS-GRIGNON

LABORATOIRE D'AMELIORATION
DES ARBRES FORESTIERS
Station de Recherche Forestière
de BORDEAUX CESTAS.

**CHIMIOTAXINOMIE ET HYBRIDATION INTER-RACIALE
CHEZ LES PINS NOIRS.**

(*PINUS NIGRA* ARN.)

MEMOIRE

présenté par Sophie GERBER

Spécialisation ressources génétiques, amélioration des plantes
et création de variétés.

Pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur Agronome
de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon.

SEPTEMBRE 1989

Sous la responsabilité de:
A. GALLAIS

Maître de stage:
Ph. BARADAT

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
PARIS-GRIGNON

LABORATOIRE D'AMELIORATION
DES ARBRES FORESTIERS
Station de Recherche Forestière
de BORDEAUX CESTAS.

**CHIMIOTAXINOMIE ET HYBRIDATION INTER-RACIALE
CHEZ LES PINS NOIRS.**

(*PINUS NIGRA* ARN.)

MEMOIRE

présenté par Sophie GERBER

Spécialisation ressources génétiques, amélioration des plantes
et création de variétés.

Pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur Agronome
de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon.

SEPTEMBRE 1989

Sous la responsabilité de:
A. GALLAIS

Maître de stage:
Ph. BARADAT

Au Poète ésotérique, Pilote tout dévoué,
 Au Philanthrope attentif,
A un Fabricant d'optimisme un rien rockeur,
 Aux coups de pouce du Gardien des Puces,
 Aux nuages fertiles d'un Vent venu d'Est,
 A une Abeille des fériés de Mai,
Aux idées des Feux-Folettes, de SmallKlein,
 Aux attentions des Secondes Mères,
 A la Pouponnière toute entière,

Egyptiennes, Châtelains, Egyptiens, Châtelaines,

A vous...

...Merci !

SOMMAIRE

I/ MONOGRAPHIE DE L'ESPECE *PINUS NIGRA*.

A/ L'ESPECE COLLECTIVE *PINUS NIGRA*.-----1

- 1) Paléobotanique.-----1
- 2) Aire naturelle.-----1
 - a- Importance.-----2
 - b- *Pinus nigra* en Corse.-----2
 - c- *Pinus nigra* en Calabre.-----3
- 3) Taxonomie.-----3

B/ LES SOUS-ESPECES DE *PINUS NIGRA*.-----4

- 1) Caractères communs aux sous-espèces.-----4
 - a- Morphologie.-----4
 - b- Biologie.-----5
- 2) Différences entre les sous-espèces.-----5
 - a- Morphologie des aiguilles.-----6
 - b- Etude d'isozymes.-----7
 - c- Profils terpéniques.-----8
- 3) Intérêt et utilisation des sous-espèces.-----8
 - a- Les sous-espèces *clusiana* et *pallasiana*.-----9
 - b- la sous-espèce *nigricans*.-----9
 - c- La sous-espèce *laricio*.-----9

C/ UNE SOUS-ESPECE A INTERET SYLVICOLE MAJEUR: LE PIN *LARICIO*.-----10

- 1) Importance des pins *laricios* dans les forêts françaises.-----10
- 2) Qualités et exigences pour la sylviculture.-----11
- 3) Production.-----12
- 4) Les utilisations du bois.-----12

D/ REGLEMENTATIONS DE L'UTILISATION DES GRAINES: LE CLASSEMENT DES PEUPELEMENTS.-----13

- 1) Principe.-----13
- 2) Pin *laricio* de Calabre.-----14
- 3) Pin *laricio* de Corse.-----14
- 4) Pin noir d'Autriche.-----14

E/ LES PROGRAMMES D'AMELIORATION.-----15

| | |
|--|----|
| 1) Au centre des programmes: les vergers à graine. | 15 |
| 2) Programme d'amélioration du pin laricio de Calabre. | 16 |
| 3) Programme d'amélioration du pin laricio de Corse. | 16 |
| a- Schéma d'amélioration. | 16 |
| b- Choix du matériel de départ. | 17 |
| c- Etude et conservation de la variabilité naturelle. | 18 |
| d- Production du matériel amélioré. | 19 |
| e- Méthodes de sélection et résultats espérés. | 20 |
| 1.Objectifs de sélection. | 20 |
| 2.Décomposition de la fourchaison. | 20 |
| 3.Sélection et gains génétiques dans les vergers. | 21 |

II ETUDE EXPERIMENTALE.

PREMIERE PARTIE - TERPENES DU PIN NOIR: CHIMIOTAXINOMIE ET HEREDITE.

A/ CHIMIOTAXINOMIE.-----22

| | |
|---|----|
| 1) Matériel végétal et méthodes d'études. | 22 |
| a- L'échantillon. | 22 |
| b- Caractères retenus. | 23 |
| c- Traitements statistique. | 24 |
| 2) Résultats. | 24 |
| a- L'espèce collective. | 24 |
| 1.Etude du niveau "sous-espèce". | 24 |
| 2.Etude du niveau "groupe géographique". | 26 |
| b- Analyse séparée des quatre sous-espèces. | 27 |
| 1.la sous-espèce laricio. | 27 |
| 2.la sous-espèce clusiana. | 28 |
| 3.la sous-espèce nigricans. | 29 |
| 4.La sous-espèce pallasiana. | 29 |
| c- Les provenances artificielles. | 30 |
| 3) Conclusion. | 31 |

B/ CONTROLE GENETIQUE DES TERPENES CHEZ LE PIN NOIR.-----33

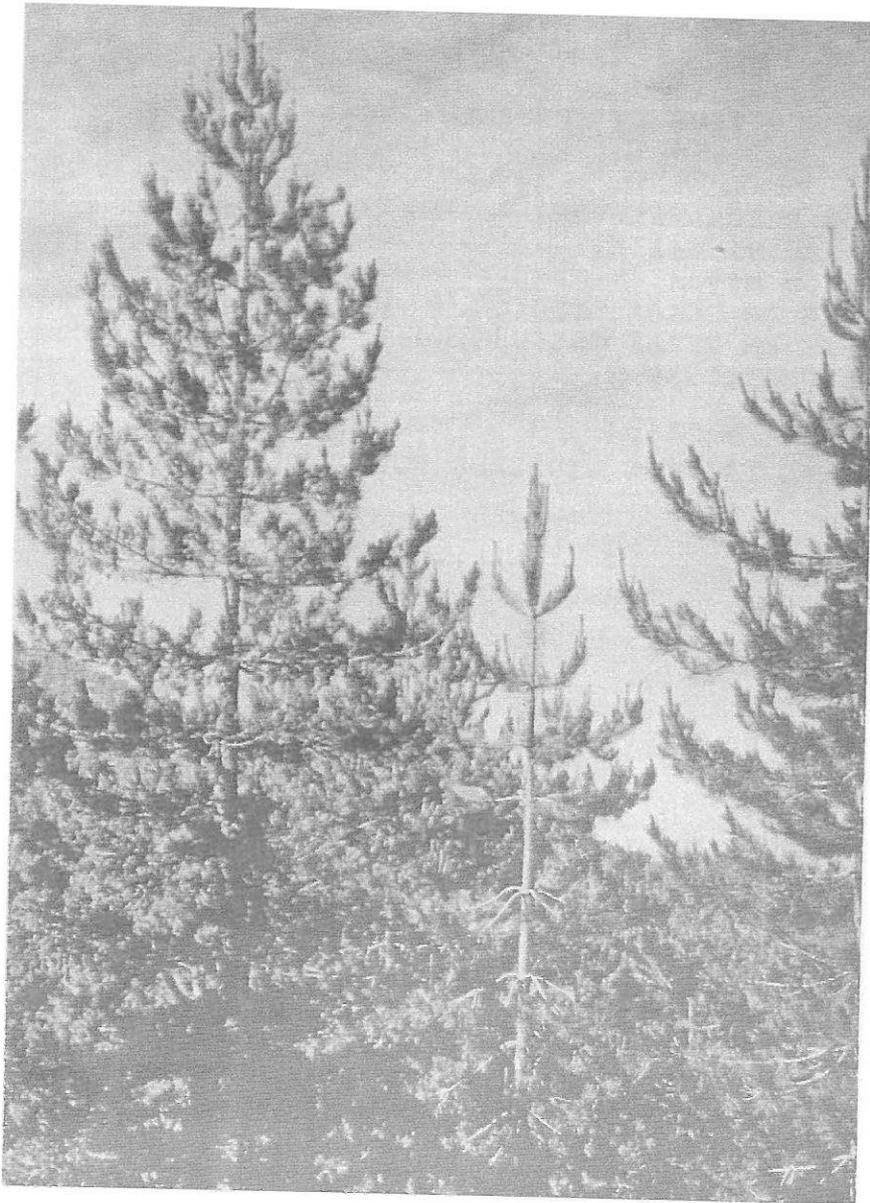
| | |
|---|----|
| 1) Principe de l'étude du mode d'hérédité. | 33 |
| 2) Matériel et méthode d'analyse. | 34 |
| 3) Etude des clones des Barres. | 34 |
| a- Distinction des provenances de Corse et de Calabre. | 35 |
| b- Pléiotropie d'un locus sur la synthèse de deux terpènes. | 36 |
| 4) Etude des descendants: hypothèses sur l'hérédité. | 36 |
| a- Limonène. | 36 |
| b- Caryophyllène. | 36 |
| 5) Conclusion. | 38 |

DEUXIEME PARTIE - L'HYBRIDATION D'UNE SOUS-ESPECE DU PIN NOIR.

| | |
|---|----|
| A/ REALISATION ET MISE EN PLACE DU PLAN DE CROISEMENTS. | 40 |
| 1) Clones utilisés. | 40 |
| 2) Plan de croisements. | 40 |
| B/ ETUDE BIOMETRIQUE. | 41 |
| 1) Caractères mesurés. | 41 |
| 2) Modèles pour l'analyse d'un plan diallèle. | 41 |
| a- Les effets réciproques. | 42 |
| b- Modèle sans effets réciproques. | 42 |
| c- Cas du diallèle 12*12. | 42 |
| C/ RESULTATS ET INTERPRETATIONS. | 43 |
| 1) L'interaction génotype-milieu. | 43 |
| a- Diallèle complet. | 44 |
| 1. Effets. | 44 |
| 2. Ecovalences. | 45 |
| 3. Test d'un effet multiplicatif. | 46 |
| b- Corrélations entre aptitudes générales. | 48 |
| 2) Les effets réciproque. | 49 |
| 3) Diallèles intra-raciaux: aptitudes générales et spécifiques. | 49 |
| a- Diallèle des laricios de Corse. | 50 |
| a- Diallèle des laricios de Calabre. | 50 |
| 4) Les deux factoriels. | 51 |
| a- Effet parentaux chez les pins de Corse. | 51 |
| b- Effets parentaux chez les pins de Calabre. | 51 |
| D/ CONCLUSIONS. | 52 |
| 1) La fourchaison. | 52 |
| 2) Distinction entre hybrides, et croisements intra-races géographiques. | 53 |

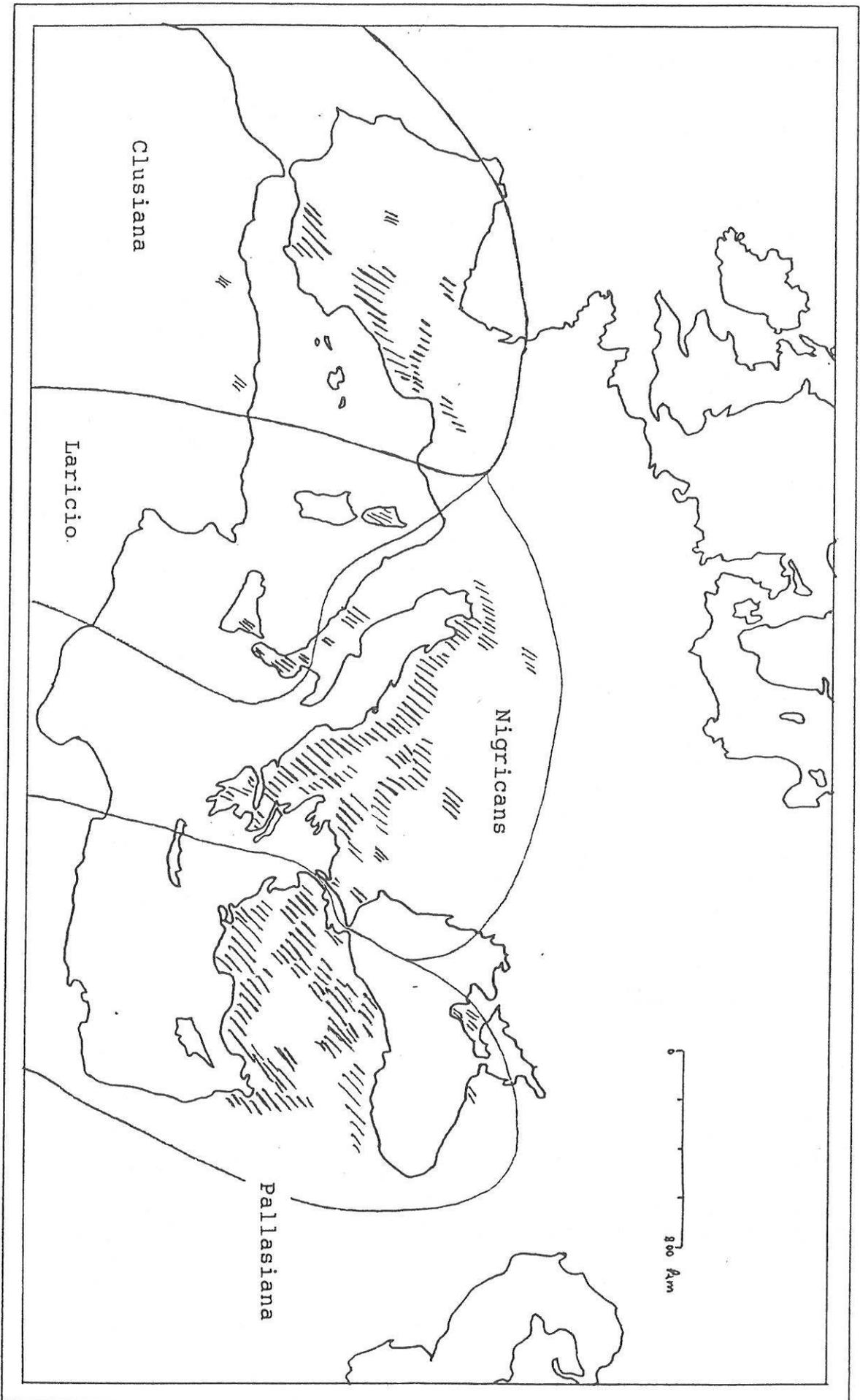
ANNEXES

| | |
|--|----|
| ANALYSE DE LA COMPOSITION EN TERPENES. | 55 |
| A/ PREPARATION DE L'ECHANTILLON. | 55 |
| 1) Analyse individuelle. | 55 |
| 2) Echantillon moyen. | 55 |
| B/ CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE. | 56 |
| C/ CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE. | 57 |
| D/ LECTURE DU CHROMATOGRAMME. | 57 |
| DESCRIPTION DES PROVENANCES ETUDIEES POUR LES PROFILS TERPENIQUES. | 58 |
| BIBLIOGRAPHIE. | 60 |



ASPECT DU PIN LARICIO DE CORSE (LAMOTTE-BEUVRON (41)).

I/ MONOGRAPHIE DE L'ESPECE *PINUS NIGRA*



Aire naturelle de *Pinus nigra* (d'après Critchfield et Little, 1966).
Localisation des sous-espèces

A/ L'ESPECE COLLECTIVE *PINUS NIGRA*.

1) Paléobotanique

Les premiers fossiles attribuables au genre *Pinus* datent du Jurassique (deuxième période de l'ère secondaire, -160 millions d'années.) Le genre *Pinus* se développera dans tout l'hémisphère Nord et connaîtra une diversification maximale à l'ère Tertiaire. A cette époque son polymorphisme est grand et les divisions entre espèces éventuelles sont floues: On observe ainsi des Pins ayant des analogies avec le Pin laricio (sous-espèce de l'espèce *Pinus nigra* (Pin noir)) dès l'Eocène supérieur (première période de l'ère Tertiaire) mais le type *Pinus nigra* ne se fixera qu'à la fin de l'ère Tertiaire, au cours du Miocène et du Pliocène.

La grande diversité du genre *Pinus* à cette période s'observe par exemple dans le seul sud-est de la France où l'on dénombre 28 espèces de Pins fossiles différentes datées du Tertiaire (Saporta, 1865 cité par Mirov 1967). Aujourd'hui, seules 13 espèces subsistent à l'état spontané autour de la Méditerranée (Mirov 1967). En effet, deux événements vont venir appauvrir considérablement la flore très diversifiée du Tertiaire et conditionner sa répartition.

-La fin de l'ère Tertiaire est marquée par des bouleversements tectoniques nombreux qui ont contribué à donner aux Pins des distributions morcelées.

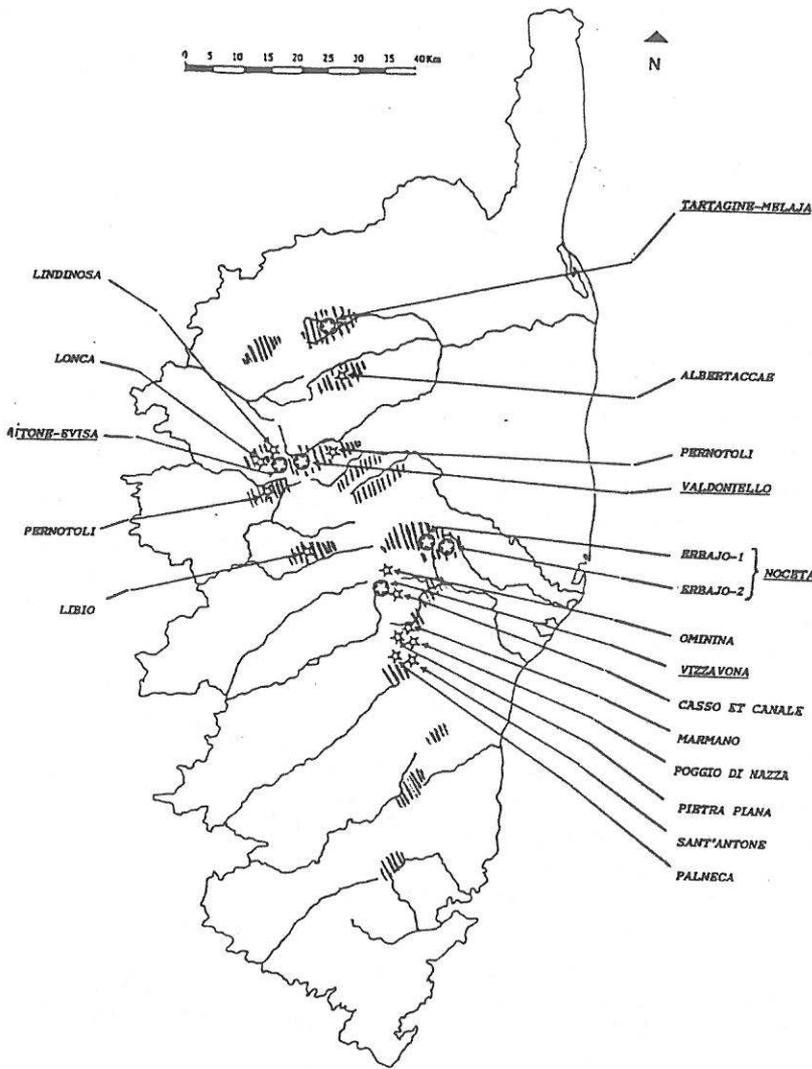
-Le refroidissement du climat qui s'amorce et annonce les glaciations de l'ère Quaternaire fera disparaître de nombreux Pins ou les contraindra à migrer vers les régions méditerranéennes.

Les Pins, et *P. nigra* en particulier, sont des espèces pionnières qui viennent repeupler les territoires débarrassés des glaciers (Mirov 1967). *Pinus nigra* traduit bien dans sa répartition naturelle et sa taxonomie cette histoire bouleversée.

2) Aire naturelle

a- Importance

La carte de répartition de l'espèce (ci-contre) a été établie par Critchfield et Little en 1966. La classification (présentée en 3)) s'y surimpose. *Pinus nigra* est représenté dans 13 pays et 3 continents; son étendue couvre 7500 km en longitude et 3200 km en latitude. L'espèce occupe environ 2.300.000 hectares répartis comme suit:



Aire naturelle du pin laricio de Corse.

(D'après Portefaix, 1987)

- ☆ Peuplements classés (1985)
- Peuplements échantillonnés (1971-1972)

Aire naturelle du pin laricio de Calabre.
(D'après Roman-Amat et Arbez, 1985)



- 1.000.000 ha en Turquie et en Asie,
- 800.000 ha dans les Balkans et en Autriche,
- 400.000 ha en Espagne,
- 54.000 ha en Calabre,
- 45.000 ha en Corse.

Elle se situe à des altitudes comprises entre 0 (îles Dalmates) et 2000 mètres (en Corse et en Espagne par exemple), mais préfère les zones montagneuses.

La sous-espèce *laricio*, présente en Corse et en Calabre, a été particulièrement étudiée, pour des raisons précisées plus loin. Les caractéristiques de son aire naturelle sont ainsi les mieux connues.

b- *Pinus nigra* en Corse (carte ci-contre).

Les Pins *laricio* de Corse se trouvent dans des forêts souvent âgées, à régénération naturelle, proches du climax. Elles sont compactes au Nord de l'île, plus dispersées au Sud, où le relief est plus morcelé. On distingue 16 massifs, qui représentent 45 000 ha environ dont 22 000 ha de futaie pure, soit 20 % de la surface boisée et 5% de la surface totale de l'île.

Ces Pins sont situés sur substrat cristallin, à des altitudes comprises entre 500 et 1800 m. L'amplitude des pluviométries varie de 800 à 2000 mm, les températures sont situées entre 9 et 12°C. L'influence méditerranéenne soumet les Pins *laricio* à un déficit hydrique estival.

Plusieurs explications peuvent être avancées pour expliquer l'importance prise par les peuplements en Corse (Roman-Amat, 1984). Les Pins *laricio* ont pu occuper des stations où des peuplements forestiers plus stables, tels que les hêtraies et les sapinières, où des concurrents comme les Pins sylvestres, les mélèzes, les épicéas ou les Pins cembro ne se sont pas installés au cours des aléas de l'histoire du peuplement végétal de l'île. De plus les Pins *laricio* ont des avantages; leur bonne aptitude à la régénération naturelle leur a permis de recoloniser des zones incendiées et ils résistent mieux que d'autres espèces aux dommages causés par le bétail. L'action humaine a favorisé leur présence, contre celle du Pin maritime, plus combustible, et celle du hêtre au bois jugé trop nerveux (bois qui se déforme et se fend au séchage).

c- *Pinus nigra* en Calabre (carte ci-contre).

On trouve le Pin *laricio* sur 54 000 ha en Italie méridionale et en Sicile, 37 000 ha sont constitués de peuplements purs. Il existe trois massifs principaux, la montagne de la Sila, le massif de l'Aspromonte à la pointe de la botte, et le versant de l'Etna en Sicile.

Les Pins croissent sur roches cristallophylliennes et éruptives, à des altitudes comprises entre 900 et 1800 m. Ils sont soumis à des pluviométries de 600 à 1600 mm, et à des périodes de sécheresse estivale, comme en Corse.

3) Taxonomie.

La position systématique de l'espèce est présentée ci-contre.

Pinus nigra est une espèce collective. Elle est caractérisée, dans une aire de répartition étendue et morcelée, par un très grand polymorphisme. En effet, les divers peuplements isolés les uns des autres par les événements géologiques et climatiques évoqués plus haut ont été confrontés à des milieux différents et à des phénomènes de dérive. L'uniformité de l'espèce a donc été souvent remise en question. Pourtant les formes regroupées au sein de l'espèce, malgré leur origine géographique et leur morphologie différentes sont interfertiles ce qui justifie la valeur d'espèce collective données à *Pinus nigra*.

Face à une taxonomie confuse - dont Vidakovic (1974) propose un historique - due à la grande variabilité existante, une classification approuvée par tous était difficile à trouver.

Le premier nom donné à l'un des représentants de l'espèce date de 1576 et, par la suite, on relève jusqu'à 85 noms différents donnés à des formes de *Pinus nigra* (Wheeler et al., 1976 cités par Roman-Amat 1986). Le nom retenu actuellement pour désigner l'espèce est donné par Arnold en 1785 (d'où l'appellation *Pinus nigra* Arn.). Les propositions de classification ont été nombreuses, parmi elles c'est celle de Fukarek, en 1958 qui a conduit, du moins chez les auteurs français, au consensus le plus large. Debazac, dans son manuel des conifères (1967), retient cette classification en donnant aux subdivisions de Fukarek la valeur de sous-espèces. En 1974, Vidakovic considère que l'accord sur la classification n'est pas trouvé: en 1984, Farjon, s'il décrit, comme Fukarek, 4 formes majeures de l'espèce, ne cite ni n'adopte la terminologie de celui-ci...

Fukarek a divisé l'espèce en grands ensembles géographiques (carte page 1):

- *Pinus nigra* ssp. *clusiana* (Clem ex Arias, 1818), qui regroupe les formes les plus occidentales :
 - Cevennes (Pin de Salzmann)
 - Espagne
 - Maghreb
- *Pinus nigra* ssp. *laricio* (décrite pour la première fois par Poiret en 1804), divisé en deux parties nettement différenciées, généralement considérées séparément:
 - Corse
 - Calabre

- *Pinus nigra* ssp. *nigricans* (Host, 1826), la plus polymorphe:
 - Autriche
 - Italie centrale
 - Yougoslavie
 - Grèce
 - Roumanie
 - Bulgarie.

- *Pinus nigra* ssp. *pallasiana* (Lamb, 1824):
 - Turquie
 - Chypre
 - Crimée.

Quelques populations des Balkans (Yougoslavie, Grèce), sont en outre rattachées à cette dernière sous-espèce.

Un certain nombre de points permettent de regrouper ou, au contraire, de distinguer les sous-espèces entre elles.

B/ LES SOUS-ESPECES DE *PINUS NIGRA*.

1) Caractères communs aux sous-espèces.

a- Morphologie

Debazac (1964) définit les individus de l'espèce par les caractères suivants :

- un tronc droit, une écorce grisâtre, écailleuse dès les premières années et qui se divise en plaques sur les sujets âgés.
- des aiguilles groupées par deux et mesurant entre 8 et 18 cm.
- des bourgeons ovoïdes et pointus, un peu résineux, dont les écailles sont plus ou moins appliquées.
- des conelets (inflorescences femelles à la fin de la première année de végétation, matures à deux ou trois ans) dressés à l'extrémité du rameau sur un pédoncule de longueur inférieure ou égale à la leur. Les fleurs mâles sont situées à la base du rameau.
- des cônes ovoïdes coniques, de 4 à 8 cm de long, à écusson (partie de l'écaille visible sur le cône fermé) brun clair luisant.

b- Biologie

Selon Vidakovic (1974), La floraison des Pins noirs a lieu entre 15 et 20 ans. Chez des sujets greffés, elle se produit plus tôt, vers 10 ans. Elle ne devient abondante, en Yougoslavie continentale, qu'entre 25 et 30 ans. La floraison se produit chaque année mais n'est importante que tous les 3 ou 4 ans.

- La pollinisation est anémophile et les fleurs femelles sont réceptives pendant trois jours.
- La fécondation a lieu 13 mois après la pollinisation et la maturité des cônes intervient à l'automne de la deuxième année suivant la pollinisation.
- La fructification est assez périodique, les bonnes années réapparaissant tous les deux ou trois ans.

Des observations faites sur le Pin noir d'Autriche dénombrent 30 à 40 graines par cône dont 15 à 20 germent effectivement. Dans un kilo de graines desailées on compte 53 000 graines. Les embryons comportent en moyenne 6,6 cotylédons.

Le nombre haploïde de chromosomes est, comme dans toute la famille des Pinacées, de 12 ($2n = 24$ chromosomes).

2) Différences entre les sous-espèces.

a- Morphologie des aiguilles.

Cette étude a été conduite par Arbez et Millier en 1971, sur différentes observation des aiguilles de 31 provenances de jeunes Pins (l'accent était mis sur la sous-espèce laricio, représentée par 16 provenances). Trois caractères se sont révélés discriminants et relativement insensibles aux variations de fertilité en pépinière. Le tableau ci dessous présente les résultats de l'étude, le nombre de signes dans une case étant proportionnel à la valeur du caractère mesuré.

| Sous espèce | Clusiana | Laricio | | Nigricans | Pallasiana |
|-----------------------------------|----------|---------|---------|-----------|------------|
| | | Corse | Calabre | | |
| Caractère | | | | | |
| (Rayon de courbure) ⁻¹ | *** | ***** | **** | * | *** |
| Densité des denticulations | * | ***** | **** | ** | *** |
| Densité des stomate | *** | ***** | **** | * | ** |

Le Pin laricio de Corse se distingue par ses aiguilles frisées, le Pin laricio de Calabre a des aiguilles moins courbées. Le nigricans a des aiguilles quasiment droites (rayon de courbure le plus faible). Les deux dernières sous-espèces sont intermédiaires.

Arbez et Millier concluent à une nette individualisation des Pins laricio de Corse et de Calabre et de la sous-espèce clusiana mais à une proximité, selon ces caractères, des sous-espèces pallasiana et nigricans. Ces deux sous-espèces peu représentées dans l'échantillonnage, sont distinguées par ailleurs par des marqueurs biochimiques.

b- Etude d'isozymes.

Des études de systèmes isoenzymatiques ont été menées pour préciser les différences entre sous-espèces.

Par électrophorèse sur gel d'amidon d'endospermes (haploïdes) de graines de 163 descendances maternelles des quatre sous-espèces, 4 loci, A, B, C et D ont été identifiés pour la glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT), seuls B et C présentaient une différenciation exploitable (Bonnet-Masimbert et Bikay-Bikay, 1978). Schématiquement (le nombre de signes caractérise l'importance relative des fréquences des différents allèles):

| Sous espèce | Clusiana | Laricio | | Nigricans | Pallasiana |
|-----------------------|----------|---------|---------|-----------|------------|
| | | Corse | Calabre | | |
| Locus B | | | | | |
| allèle B ₁ | *** | * | *** | * | * |
| Locus C | | | | | |
| allèle C ₀ | * | φ | φ | φ | φ |
| allèle C ₂ | *** | *** | *** | * | *** |
| allèle C ₃ | | * | | *** | φ |
| allèle C ₄ | ** | | | | φ |
| allèle C ₅ | ** | φ | φ | φ | φ |

Les auteurs constatent une absence de variation clinale dans les compositions isoenzymatiques, interprétées par l'influence d'effets de dérive génétique. La sous-espèce Clusiana présente plusieurs bandes caractéristiques (C₀, C₄, C₅). L'allèle C₃ permet de distinguer les sous-espèces nigricans et pallasiana. L'étude statistique des résultats indique un isolement de la sous-espèce clusiana et une séparation entre la sous-espèce nigricans et le groupe composé des sous-espèces laricio et pallasiana. Selon une étude portant sur des endospermes de 11 populations de nigricans et laricio le système isoenzymatique de la shikimate-deshydrogénase permet de différencier les Pins laricio de Corse, par leur fréquence élevée pour l'allèle B₁ (Fineschi, 1983).

Nikolic et Tucic (1983) étudiant trois systèmes enzymatiques (estérase, acide phosphatase et leucine aminopeptidase) de 28 populations de Pins noirs (dont 19 situés en Yougoslavie) concluent à une hétérogénéité intra population supérieure à l'hétérogénéité inter populations (selon le critère de Nei). Utilisant une classification de Vidakovic, ils ne parviennent pas à déterminer de nettes distinctions géographiques: un dendrogramme réalisé à partir des distances de Nei rassemble les provenances corses et marocaines en un premier groupes, les provenances calabraises et chypriotes en un second groupe et les provenances restantes (que l'on placerait dans les sous-espèces pallasiana et nigricans, selon la classification de Fukarek) dans un dernier groupe. Seul ce dernier groupe peut trouver un sens. La frontière géographique entre les deux sous-espèces reste en effet relativement aléatoire. Ce résultat rejoint la conclusion d'Arbez et Millier pour la morphologie des aiguilles.

c- Profils terpéniques.

Parallèlement à une comparaison basée sur les isozymes, la composition en terpènes, hydrocarbures des essences volatiles des résines, peut apporter des informations concernant la différenciation. Les concentrations relatives en terpènes se sont en effet révélées utiles pour la chimiotaxinomie des espèces résineuses et, en particulier, chez le genre Pinus.

Une étude des tissus corticaux des rameaux de 14 provenances de Pins noirs âgés de 9 ans (21 arbres par provenance), a permis de préciser la composition en monoterpènes (composés en C₁₀) des sous-espèces (Arbez et al., 1974). Les résultats ont été les suivants, le nombre de signes par case étant proportionnel à l'abondance relative du terpène considéré:

| Sous espèce | Clusiana | Laricio | | Nigricans | Pallasiana |
|-------------|----------|---------|---------|-----------|------------|
| | | Corse | Calabre | | |
| Monoterpène | | | | | |
| limonène | *** | ***** | * | *** | ** |
| myrcène | ***** | ** | * | * | * |
| β-Pinène | * | * | * | *** | *** |
| δ3-carène | | traces | | | |
| terpinolène | | traces | | | |

La sous-espèce clusiana serait distinguée grâce à sa forte teneur en myrcène, les Pins laricio de Corse et de Calabre différent pour le limonène: les provenances corses sont plus riches et présentent en plus des traces de δ3-carène et de terpinolène.

Fineschi et Grossoni (1981) analysent la résine, prélevée par gemmage, de 14 provenances de Pins laricio. Ils utilisent une technique différente de celle de l'étude précédente ce qui limite la validité de la comparaison. Ces auteurs distinguent les provenances de Calabre pour leur teneurs supérieures en α -pinène et les provenances de Corses pour leur teneurs neuf fois plus élevée en limonène.

D'un point de vue qualitatif, en utilisant des marqueurs morphologiques et biochimiques, il est possible de distinguer les sous-espèces de *Pinus nigra* entre elles. Pourtant, les études quantitatives ne trouvent pas d'accord général quant aux distances génétiques entre populations. Les différences dans les taxonomies utilisées viennent compliquer les choses. Globalement, la sous-espèce *clusiana* semble se démarquer, et les sous-espèces *nigricans* et *pallasiana* restent assez proches.

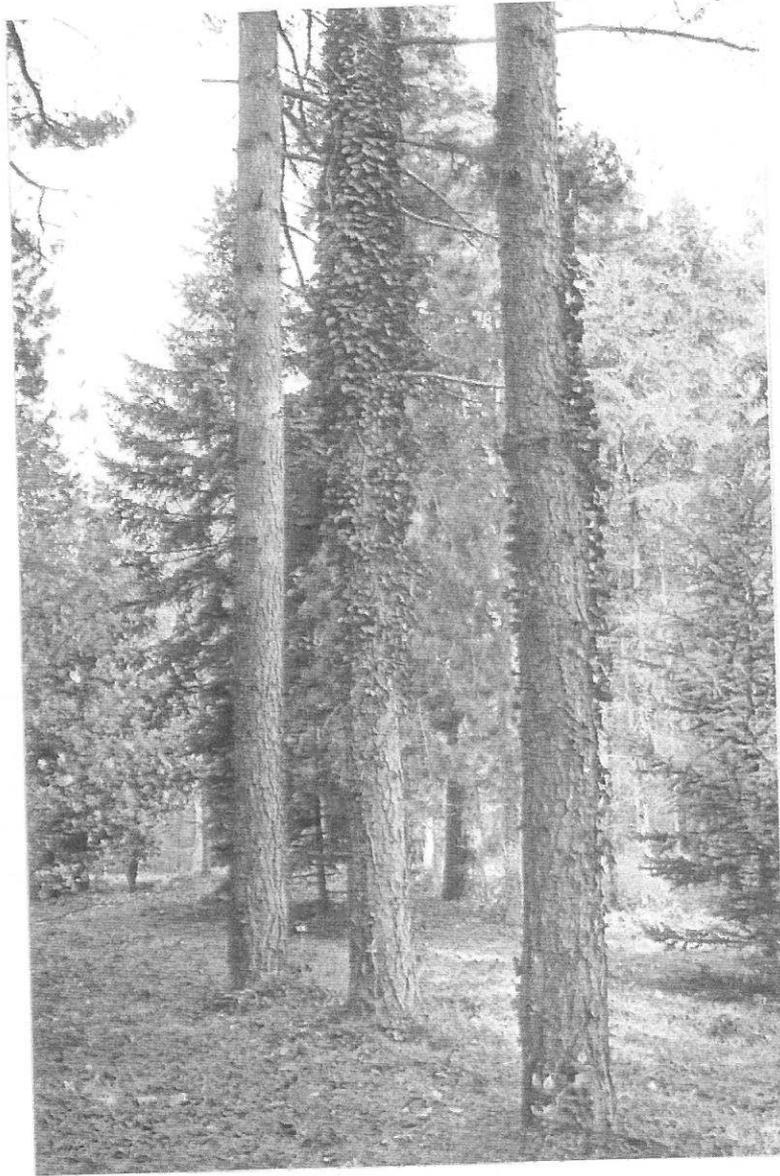
3) Intérêt et utilisation des sous-espèces.

En matière de sylviculture, l'utilisation de *Pinus nigra* est contrastée selon les sous-espèces. Des plantation comparatives de provenances ont pu apporter des précisions quant à l'intérêt éventuel de l'exploitation des différentes sous-espèces (Roman-Amat, 1984). Elles ont été installées en France entre 1964 et 1974. Au nombre de 21, elles sont réparties dans 5 régions et comportent 178 provenances pour les quatre sous-espèces. Ces plantations font l'objet, depuis 1980, d'une sélection combinée individu-provenance. Les génotypes sélectionnés sont greffés pour leur conservation en parc à clone.

a- Les sous-espèces *clusiana* et *pallasiana*.

La sous-espèce *clusiana* est utilisée en Espagne pour des reboisements (Seigue, 1985). Debazac, en 1964, évoque l'utilisation du Pin de Salzmann en région méditerranéenne. En plantations comparatives en France, la sous-espèce apparaît homogène et distincte mais sa reprise après plantation, sa survie et sa croissance en hauteur sont inférieures à celles des autres Pins noirs. Des branches fastigiées donnent à sa cime un aspect en boule; la sous-espèce a été considérée comme sans intérêt dans les milieux étudiés (Roman-Amat, 1984).

La sous-espèce *pallasiana* présentait, en plantations comparatives, de faibles croissance pour les provenances turques (9 provenances), de bonnes croissances pour les provenances de Crimée (4 provenances) mais une irrégularité selon les stations, et donc un intérêt à confirmer.



ASPECT DU PIN LARICIO DE CORSE (CHAMPENOUX (54)).

b- la sous-espèce nigricans

Dans la sous-espèce nigricans, le Pin noir d'Autriche (*Pinus nigra* variété *Austriaca*) est le plus largement utilisé. Au XIX^{ème} siècle 500 000 ha sont installés en Champagne et dans les Préalpes calcaires (Arbez cité par Roman-Amat, 1984).

Selon Callen (1977), cette sous-espèce est plutôt choisie pour des reboisements transitoires avant l'installation d'une espèce plus intéressante. En effet, selon cet auteur, sa forme n'est pas toujours très droite et son élagage naturel n'est pas suffisant, ce qui conduit à un bois noueux. De plus ce bois est résineux, présente un retrait important et une sensibilité au bleuissement. Pourtant, la sous-espèce nigricans tolère les sols ingrats, calcaires secs ou argiles compactes et résiste à un manque de lumière, à la sécheresse et au froid. De plus sa reprise est bonne. Cette sous-espèce est donc retenue dans des conditions difficiles et est utilisée en reboisement de protection dense, sur des friches calcaires et pour la restauration des terrains en montagne: le Pin noir d'Autriche se rencontre jusqu'à 1500 m d'altitude dans les Alpes du Sud. La rotation s'effectue sur une période de 80 à 100 ans selon l'altitude, la production moyenne est comprise entre 4 et 8 m³/ha/an (Arbez et al., 1987).

Selon le Fond Forestier National, il existe actuellement 167 000 ha de Pin noir d'Autriche en France. Cette variété fait l'objet d'un travail de conservation des ressources génétiques, pour une utilisation ultérieure éventuelle.

c- La sous-espèce laricio.

Celle-ci reste la plus appréciée en reboisement. L'aspect habituel des Pins laricio a conduit les forestiers à s'intéresser à cette essence: leur fût est toujours très droit et ils sont dépourvus de branche sur une grande hauteur, 30 à 40 mètres dans les forêts de Corse par exemple.

C/ UNE SOUS-ESPECE A INTERET SYLVICOLE MAJEUR: LE PIN LARICIO.

1) Importance des Pins laricio dans les forêts françaises.

Les premiers exemplaires de Pins laricio sont introduits en France en 1768, date à laquelle la Corse est rattachée à la France. En 1823 Philippe-André de Vilmorin, pour l'une des premières expériences forestière, installe à Nogent sur Vernisson (Loiret) au domaine des Barres deux parcelles de 30 ares chacune de provenances de Corse et de Calabre. Il souhaitait ainsi préciser les valeurs relatives comme essence de reboisement des Pins laricio et de différentes provenances de Pins sylvestres.

L'utilisation des Pins laricio pour le reboisement prend de l'ampleur à partir de 1948, date de l'entrée en vigueur du Fond Forestier National, utilisé pour promouvoir une politique de reboisement en faveur des résineux à croissance rapide. Le Pin laricio a également bénéficié du déclin des Pins sylvestres, victimes de mauvais choix de graines. En 30 ans, 40.000 ha de Pins laricio ont été installés. La surface plantée annuellement est comprise entre 2500 et 3000 hectares. La sous-espèce se classe au quatrième rang des espèces de reboisement, derrière le Douglas, l'épicéa et le Pin maritime. En 1980, selon l'Inventaire Forestier National, les Pins laricio formaient 50.000 à 55.000 hectares (la forêt française compte 14 millions d'hectares au total). Ces peuplements sont jeunes puisque 68% ont moins de 20 ans, et 90% moins de 50 ans. Ils sont composés pour les deux tiers de Pins laricio de Corse et pour un tiers seulement de Pins laricio de Calabre. Ces derniers ont vu leur utilisation régresser à partir de 1975 au profit des Pins de Corse qui présentent plusieurs avantages.

2) Qualités et exigences pour la sylviculture.

Les Pins laricio apprécient les sols siliceux sains et craignent les sols calcaires, dans lesquels ils manifestent des chloroses et un arrêt de croissance. Dans des sols trop calcaires pour les Pins laricio la sous-espèce nigricans peut leur être substituée. Les Pins laricio sont par contre peu exigeants quant à la richesse minérale des sols mais sont sensibles à l'hydromorphie, qu'ils tolèrent si elle est temporaire. Du point de vue climatique, l'utilisation des laricio est à éviter aux extrêmes et dans les climats affirmés (continental, montagnard nets). Sur le plan phytosanitaire, les Pins laricio sont principalement affectés par les attaques de la chenille processionnaire (*Thaumetopoea pityocampa*) et de la mineuse des bourgeons (*Rhyaciona buoliana*).

Plusieurs points différencient les provenances Corses des provenances de Calabre.

- La réputation de rusticité des Pins laricio de Calabre s'est trouvée confirmée dans une certaine mesure: ils résistent mieux à des conditions difficiles, mais dans des sols ni trop carbonatés, ni trop engorgés (Roman-Amat, 1984).

- La reprise en forêt des plants de Pins de Calabre est également meilleure que celle des Pins de Corse, qui reprennent mal lorsqu'ils sont installés à racine nue. Pour limiter cette crise de transplantation, il est possible d'installer les plants en forêt dans des conteneurs (plants âgés d'une année, en pot de cellulose et tourbe pressée), ceci améliore également la croissance initiale des plants - et donc leur compétitivité par rapport aux adventices - mais augmente le coût initial de la plantation.

- Au greffage les provenances de Calabre se distinguent également: 90% de réussite contre 60% pour les provenances corses. Pour améliorer ces performances les greffes sont réalisées sur Pin sylvestre (technique utilisée par Marrier de Boidhyver en 1840).

- En sol siliceux, les Pins laricio de Corse possèdent un avantage pour la rapidité de leur croissance en hauteur.

- La forme est la principale différence qui favorise les Pins de Corse par rapport aux Pins de Calabre. Ces derniers sont plus sensibles à la fourchaison, les branches ont des angles d'insertion plus aigus, et leurs diamètres sont plus gros que ceux des corses. Les Pins laricio de Corse ont des branches plus nombreuses. Toutefois, compte tenu de leur finesse, les noeuds résultants restent réduits et ne déprécient pas la qualité du bois.

3) Production.

Compte tenu des exigences et qualités des Pins laricio, sur sols riches sans déficit hydrique, des espèces telles que le Douglas ou l'épicéa valoriseront mieux les potentialités. Sur sols vraiment défavorables, très hydromorphe par exemple, des espèces plus rustiques, comme le Pin maritime, sont plus indiquées. Le Pin laricio sera choisi pour des stations intermédiaires, ni riches, ni pauvres.

Pour la plantation du Pin laricio, le Fond Forestier National préconise des densités entre 1300 et 2500 plants à l'hectare. La densité finale, après la dernière éclaircie, doit être de l'ordre de 300 tiges à l'hectare. Dans ces conditions, en station intermédiaire, le Pin laricio possède une bonne productivité. Il présente un accroissement moyen de 10 à 15 m³/ha/an à 70-80 ans en Sologne. Dans des lieux comparables, à 75 ans, le Pin sylvestre produit 5 à 6 m³/ha/an (tables de production de Decourt, 1965). La maturité économique des Pins laricio se situe entre 60 et 80 ans, pourtant les choix sont modulables car leur longévité dépasse 120 ans.

4) Les utilisations du bois.

l'écorce des Pins laricio représente 17% du volume total des grumes (10% pour l'épicéa, 12% pour le Pin sylvestre et le Douglas, 25% pour le Pin maritime). La présence de canaux résini-fères nombreux rend parfois l'utilisation du bois difficile en papeterie et en scierie. Pourtant, ce bois est dense et possède de bonnes qualités mécaniques. Malgré des variations selon les provenances et les faibles volumes travaillés, Roman-Amat (1984) distingue différents usages du bois selon les diamètres des grumes et leur qualités:

| Caractéristiques | Usages |
|--|--|
| Petits diamètres (15 cm) | -papier kraft -panneaux (particules, fibres) |
| Diamètres moyens (15-30 cm) | -poteaux -caisserie -palettes |
| Diamètres importants (30-50 cm) -nouveaux -sans noeud -haute densité -parfait | -caisserie -palettes -menuiserie de bâtiment -menuiserie extérieure -charpente (mâts autrefois) -menuiserie fine -ébénisterie |
| Diamètres > 50 cm -sans noeud, à faible retrait | -déroulage |

Roman-Amat (1984), propose pour le Pin laricio de nouvelles utilisations:

-il peut permettre de valoriser des milieux peu productifs délaissés par l'agriculture, en Sologne, dans le Gâtinais, les Landes du Massif Central et de Bretagne.

-il peut remplacer des forêts de Pins sylvestres anciennes, en forêt d'Orléans, en Normandie, dans le Massif Central, dans les Vosges alsaciennes.

Peuplements classés du Pin laricio de Corse:

| Région de provenance | surface (ha) | nb de peuplements | % de la surface totale |
|---|--------------|-------------------|------------------------|
| 01-Corse 900-1400m | 6485.8 | 20* | 93 |
| 02-Sud-est Massif Central (Ardèche Gard) 250-1000m | 145.2 | 4 | 2 |
| 03-Brivadois (Haute Loire) 700m | 14.7 | 1 | 0,6 |
| 04-Bassin Parisien et Centre 100-200m | 306.9 | 66** | 4,4 |
| Total | 6952.6 | 91 | 100 |

*Dont 19 peuplements en Corse (Carte p 2), et un peuplement aux Barres, parc à clones du Bois de la ferme (0.30 ha), constitué en 1959 par 10 clones sélectionnés en Corse.

**Dont 23 en Sologne

Conseils pour l'utilisation des graines de Pin laricio de Corse:

| Région d'utilisation | Région de provenance préconisée (Par ordre de priorité) |
|--|---|
| Reliefs sud et sud-est du Massif Central | 02-Sud-est Massif Central 03-Brivadois 01-Corse |
| Reste du Massif Central | 03-Brivadois 02-Sud-est Massif-Central 01-Corse |
| Bassin Aquitain et Piémont Pyrénéen | 03-Brivadois 02-Sud-est Massif Central 01-Corse |
| Bassin Parisien, Centre et Ouest | 04-Bassin Parisien et Centre 01-Corse |
| Reste de la France | 01-Corse |

-il peut prendre place sur les sites de forêts feuillues plus ou moins dégradées: taillis de chêne rouvre dans l'ouest (Basse-Loire), taillis de châtaignier en Dordogne et autour du Massif central.

Les graines utilisées en reboisements ont une origine soumise à réglementation.

D/ REGLEMENTATIONS DE L'UTILISATION DES GRAINES: LE CLASSEMENT DES PEUPELEMENTS.

1) Principe.

En 1973, les directives européennes de la loi de 1971 concernant l'amélioration des arbres forestiers ont été appliquées en France. Un certain nombre d'espèces sont concernées par ces directives, et parmi les Pins noirs les sous-espèces nigricans et laricio. Pour garantir une certaine qualité aux reboiseurs, cette réglementation impose que la récolte des graines soit faite sur des peuplements identifiés, appelés peuplements classés.

Le classement des peuplements est fixé par le Ministère de l'Agriculture, sur proposition du CEMAGREF, après avis du CTPS. Dans le cas des Pins laricio, l'évaluation d'un peuplement est basée sur la vigueur, la forme du fût et la branchaison des arbres: ce classement revient à une sélection phénotypique de populations. En plus de leur phénotype, la taille et l'isolation des peuplements sont appréciés pour que le nombre de semenciers soit suffisant et que les pollutions génétiques par apport de pollen extérieur au peuplement soit négligeable.

Les peuplements sont regroupés géographiquement au sein de régions de provenances définies par une certaine homogénéité écologique des milieux qu'elles comportent. Leur seul nom identifie alors le lot de graines commercialisé (plusieurs peuplements peuvent donc être représentés dans un seul lot).

2) Pin laricio de Calabre.

Le classement pour le Pin laricio de Calabre est réduit au parc à clones du Champs de l'Aline (Domaine des Barres) constitué en 1955 à partir des greffes de 19 géotypes sélectionnés dans la population Vilmorin:

| Région de provenance | surface (ha) |
|---------------------------------|--------------|
| 01:France continentale 150 m | 0.58 ha |

Peuplements classés du Pin noir d'Autriche:

| Région de provenance | surfaces (ha) | % de la surface totale |
|--------------------------------|------------------|------------------------|
| 01-Nord-est 280-360m | 16 | 1,5 |
| 02-Région de Mende 700-950m | 705 | 67,4 |
| 03-Alpes sèches 600-1400m | 230 | 22,0 |
| 04-Corbières 500-550m | 5 | 0,5 |
| 05-Sud-ouest 250-350m | 90 | 8,6 |
| Total | 1046 | 100 |

Conseils pour l'utilisation des graines:

| Région d'utilisation | Région de provenance préconisée (Par ordre de priorité) |
|-----------------------------------|---|
| Nord-est | 01-Nord-est 02-Région de Mende |
| Massif Central | 02-Région de Mende 05-Sud-ouest 03-Alpes sèches |
| Alpes sud | 03-Alpes sèches 02-Région de Mende 05-Sud-ouest |
| Corbières et piémont pyrénéen Est | 04-Corbières 05-Sud-ouest 02-Région de Mende 03-Alpes sèches |

3) Pin laricio de Corse.

Pour le Pin laricio de Corse, la majorité des classements a été faite dans le lieu d'origine (carte page 2), mais 7% des surfaces classées se trouvent en France continentale, dans des zones où le Pin laricio a été introduit vers la fin du XIX^e siècle. En fonction des zones où l'on souhaite installer du Pin laricio, il est préconisé d'employer des graines donnant des arbres si possible adaptés aux conditions de milieu et donc certaines régions de provenance en priorité (tableaux page précédente).

4) Pin noir d'Autriche.

Il existe 5 peuplements classés, constitués par des populations artificielles françaises. Des conseils pour l'utilisation des graines sont également précisés (tableaux ci-contre).

Le système des classements de peuplements ne constitue pas, à proprement parler, une composante du programme d'amélioration génétique mais offre des garanties pour une adaptation écologique minimale des plants issus des diverses sources de graines. L'amélioration apporté par ce système ne peut porter que sur des caractères héréditaires en forêt, ce qui n'est pas le cas de la vigueur par exemple.

Plusieurs point limitent encore la portée du principe du classement.

-Les peuplements classés n'ont pas été testés dans toute les régions d'utilisation préconisées.

-Ils sont destinés au départ à la production de bois: leur production de semence est irrégulière.

-Dans le cas du Pin laricio de Corse, il existe des problèmes pour la récolte des graines liés au monopole des marchands de graine en Corse, plutôt réticents à la réglementation, et aux propriétaires des peuplements classés en France continentale.

Les graines issues des peuplements classés sont repérées dans le commerce par des étiquettes verte, qui signifient que leur origine est "sélectionnée". Selon les estimations, 25% des graines de Pin laricio utilisées ont effectivement cette origine, le reste est donc non identifié (Arbez et al., 1987). Pour venir pallier à l'approvisionnement difficile en graines et à une amélioration génétique limitée, des programmes d'amélioration ont été planifiés. Ils doivent, à terme, fournir de la graine d'origine "contrôlée", repérée dans le commerce par des étiquettes bleues.

E/ LES PROGRAMMES D'AMELIORATION.

1) Au centre des programmes: les vergers à graines.

Pour une plus grande efficacité de l'amélioration génétique, les méthodes de sélection devaient être affinées, notamment grâce au principe des vergers à graines (Chollet, 1986). Les vergers à graines sont, selon la définition de l'OCDE, "une plantation de clones ou de descendances sélectionnées, suffisamment isolée ou spécialement gérée pour que les pollinisations exogènes soient inexistantes ou faibles, conduite pour obtenir une production de graines fréquente, abondante et de récolte aisée".

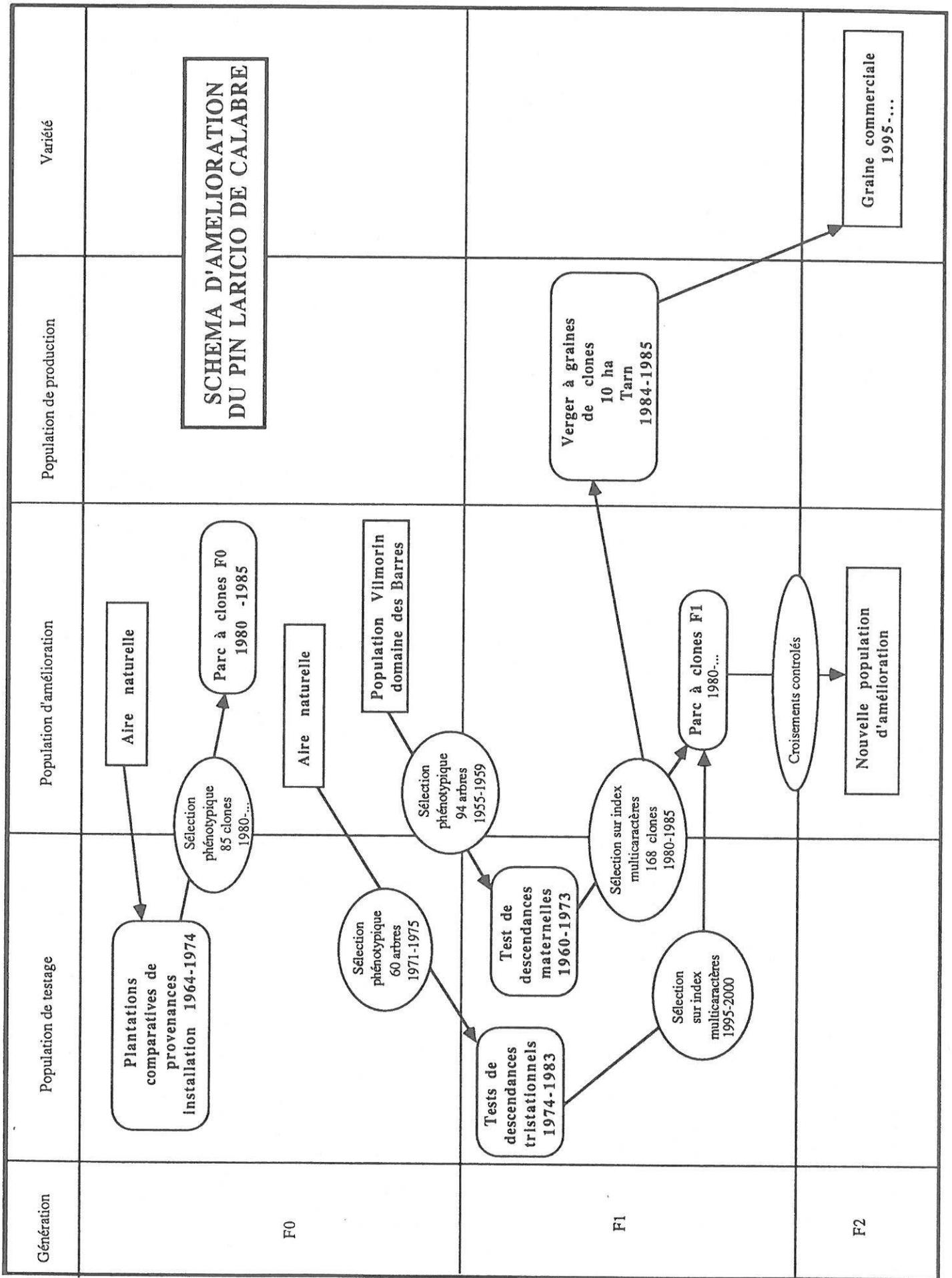
Selon l'origine des individus qui les composent, plusieurs types de vergers sont possible.

Un verger à graines de clones a été mis en place dans le cas du Pin laricio de Calabre. Un tel verger est créé à partir des copies végétatives d'individus sélectionnés (greffes ou boutures), installés à faible densité (200 à 500 arbres à l'hectare). On utilise dans ce cas au minimum 30 génotypes non apparentés pour éviter une trop faible variabilité génétique et une dépression de consanguinité.

Pour le Pin laricio de Corse, le choix s'est porté sur la mise en place d'un verger à graines de familles. De tels vergers sont créés à partir de familles de demi-frères (descendances maternelles) ou de plein-frères (croisements contrôlés), installés à forte densité et éclaircis, grâce à un index individu-famille, 3 à 5 fois au cours des 20 premières années d'implantation.

Un dernier type de verger à graines, non utilisé pour le Pin laricio mais mis au point pour le Pin maritime, consiste à installer à densité définitive des plants issus de graines. Ces graines sont obtenues par un polycross des 20 ou 30 meilleurs individus de la génération précédente. Ce type de verger à graines a deux avantages, il optimise le gain génétique et sa mise en place est économique, comparée aux autres types de vergers (Baradat, 1987).

Dans tous les cas l'efficacité des vergers à graines repose sur la part importante de l'additivité dans les valeurs génotypiques des populations concernées par l'amélioration. Les vergers à graine restent ainsi un point central des stratégies d'amélioration des essences forestières.



2) Programme d'amélioration du Pin laricio de Calabre

Le schéma d'amélioration du Pin laricio de Calabre (ci-contre) reste réduit, basé sur la population des Barres et sur des sélections phénotypiques réalisées dans l'aire naturelle. Ce schéma (selon Portefaix, Roman-Amat, 1986, et Baradat, 1987) distingue les éléments du programme selon leur destination (amélioration, test, production pour la sortie variétale), les différentes opérations de sélection (ovales) sont précisées. Le matériel du programme a également été replacé dans sa génération; la génération "F0" est représentée en théorie par des individus de l'aire naturelle. Il y a exception pour les deux Pins laricio, puisque des peuplements artificiels, dont l'origine n'est pas connue précisément, ont été utilisés au départ du programme.

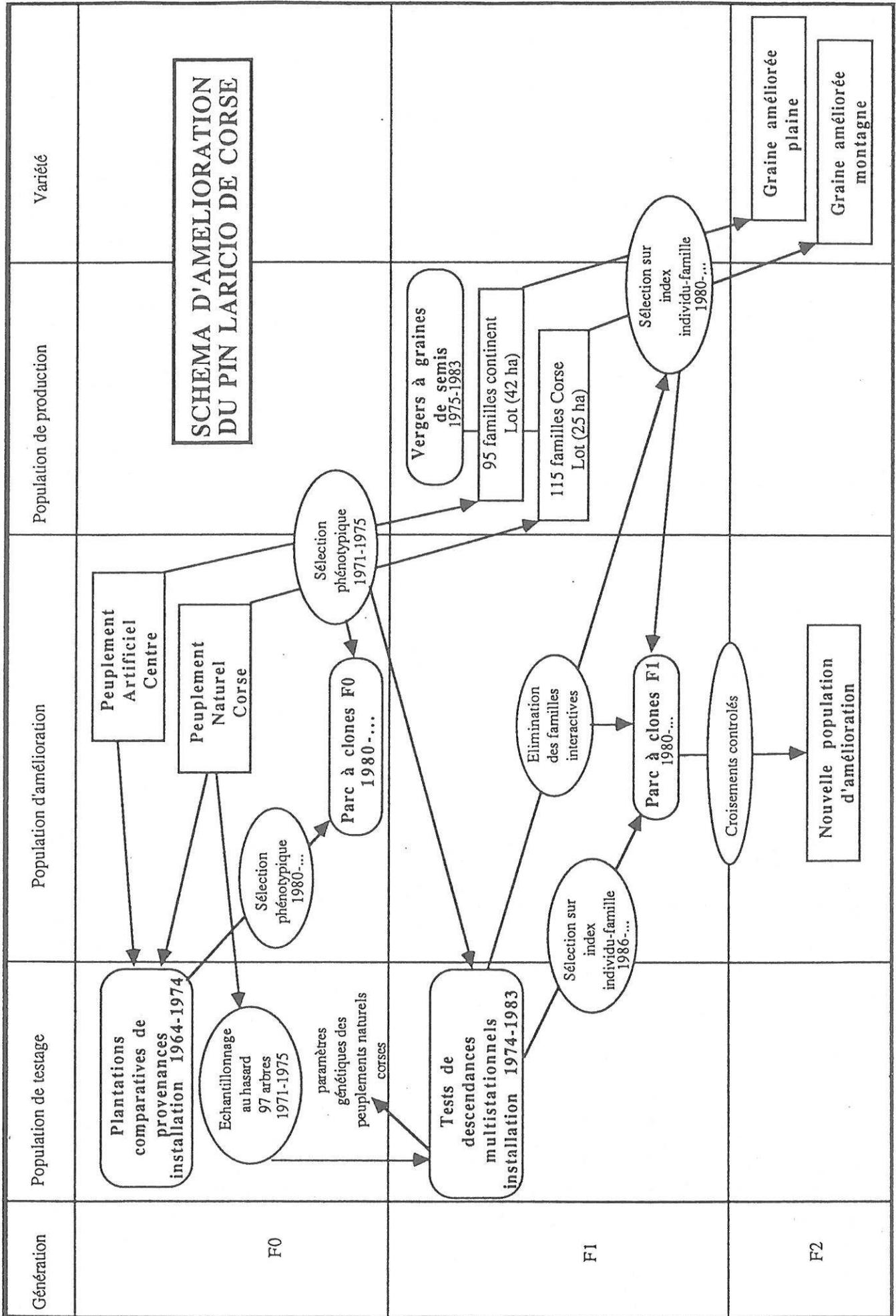
Pour la production de graine améliorée, un verger à graine de 10 hectares à été mis en place en 1985 dans le Tarn, à partir de clones sélectionnés sur index dans la population des Barres. Il devrait entrer en production à partir de 1995, et fournir 20 kg de graines par an.

Le programme d'amélioration concernant le Pin laricio de Corse est plus complexe, nous en détaillerons les étapes.

3) Programme d'amélioration du Pin laricio de Corse

a- Schéma d'amélioration.

Le programme d'amélioration a été suscité au départ par la nécessité de produire des graines de qualité pour couvrir les besoins des reboisements. La décision de lancer un programme de vergers à graine de semis a été prise en 1969. Deux ans auparavant, une première partie du programme de vergers à graines pour le Pin maritime avait été installée dans les Landes. L'opération pour le Pin laricio débute en 1971. Le schéma d'amélioration (page suivante), tracé sur le même principe que celui du Pin laricio de Calabre, récapitule les étapes du programme.



b- Choix du matériel de départ.

Pour constituer une population d'amélioration de départ, des arbres mère ont été sélectionnés en Sologne pour la création d'une variété adaptée à des zones de basse altitude et en Corse pour une variété d'altitude moyenne. Les choix de ces arbres étant basé sur une évaluation phénotypique. Ces "arbres plus" devaient remplir les conditions suivantes:

- Vigueur: -Appartenance à l'étage dominant pour la
hauteur -Circonférence supérieure à la moyenne des
 voisins immédiats
- Forme: -Bonne rectitude du fût
 -Elagage satisfaisant
 -Branches fines et horizontales
 -Absence de fourche
- Qualité du bois: -Densité du bois, mesurée au torsiomètre
 supérieure à la moyenne des voisins
 -En Corse seulement, rectitude du fil du bois
 (par carottage).

La distance entre deux arbres sélectionnés devait être de 20 mètres au minimum pour éviter une sélection locale. Au total:

| Région | Année | Peuplement visités | Arbres retenus |
|---------|-----------|--------------------|----------------|
| Sologne | 1973-1975 | 17 | 129 |
| Corse | 1971-1972 | 7* | 136 |

* Cinq massifs parcourus: Tartagine, Aitone, Vizzavone, Noceta, et Valdoniello, voir carte page 2.

Sur les arbres sélectionnés plusieurs opérations ont été réalisées:

- Un échantillonnage au hasard dans les 5 massifs Corses
- Une récolte de greffons.
- Une récolte de cônes (qui représentent donc des descendances maternelles) de ces arbres

Ces prélèvements ont permis la mise en place des différentes composantes du programme d'amélioration.

c- Etude et conservation de la variabilité naturelle

L'échantillonnage au hasard, comprenant 97 descendance maternelles, installées en forêt d'Orléans devait permettre d'acquérir des informations sur la structure génétique des peuplements naturels de Corse:

- estimation des paramètres génétiques des peuplements de Valdo-niello, d'Aitone, de Vizzavona et de Noceta.
- étude d'un éventuel effet de l'altitude au sein des provenances
- évaluation de l'impact de la sélection phénotypique en forêt sur les performances moyennes et sur la variabilité des populations visitées.

Les résultats de cette expérience, étudiée à 5 ans (Portefaix, 1989) montraient une variabilité en mosaïque, due vraisemblablement aux dérives et aux pressions de sélection naturelle à laquelle se superposait une variabilité clinale des caractères de vigueur suivant un gradient altitudinal. Dans les sélections effectuées dans le massif de Valdo-Niello, une perte de variabilité génétique était observée sur les prédictors de la croissance en hauteur et de la fourchaison. Pour les trois autres massifs, aucune réduction de variabilité n'était constatée, mais une certaine contre-sélection de la croissance en hauteur, non expliquée par d'éventuelles conséquences indirectes de la sélection pour les caractéristiques internes du bois. Dans ces conditions, la population constituée par des descendance maternelles échantillonnées au hasard en forêt semblait être le matériel végétal le plus intéressant pour la sélection.

Pour conserver une "copie" des génotypes sélectionnés et mettre en réserve une certaine variabilité des espèces améliorées, des parcs à clones (obtenus par greffe ou bouture) sont créés. Ainsi, à partir des greffons récoltés sur les arbres "plus" 4 parcs à clones regroupant au total 400 génotypes (clones F0) ont été constitués à Pierroton (Gironde) et à Cendrieux (Dordogne) pour le Pin laricio de Corse.

d- Production du matériel amélioré.

La création de variétés améliorées de Pin laricio de Corse est basée sur La production de deux vergers à graines de familles.

Ces deux vergers, implantés dans le Lot, ont été créés avec les descendances maternelles prélevées sur les arbres plus. Ils ont été prévus pour couvrir, à terme, la totalité des besoins nationaux en graine de cette espèce:

| Origine des familles | Sologne | Corse |
|-----------------------------|-----------|------------|
| Descendances récoltées | 129 | 136 |
| Descendances utilisées | 115 | 95 |
| Date de mise en place | 1975-1984 | 1981-1982 |
| Variété produite | "plaine" | "montagne" |
| Surface (ha) | 20 | 53 |
| Date de début de production | 1985-1990 | 1990-1995 |
| Production attendue (kg/an) | 20 | 20 |

Ces vergers avaient une densité initiale de 4000 plants à l'hectare. La densité finale prévue est de 200 tiges/hectares à 20 ans, après quatre éclaircies. Ces éclaircies sont réalisées grâce à une sélection sur index intégrant la valeur propre des individus et les informations familiales apportées par les valeurs de leurs demi-frères présents dans les vergers ainsi que dans des tests de descendances, homologues des vergers. Ces test comportent en effet toutes les familles représentées dans les vergers et possèdent des implantations multistationnelles. Ils permettent ainsi de tester une éventuelle interaction génotype-milieu, et d'identifier les familles les plus instables qui peuvent alors être écartées. De plus, une sélection sur index à l'intérieur de ces tests doit fournir des génotypes pour la constitution de parcs à clones de génération F1, départ de la population d'amélioration du cycle suivant.

e- Méthodes de sélection et résultats espérés.

1.Objectifs de sélection.

Les objectifs de sélection pour les Pins laricio de Corse, en particulier dans la gestion des vergers à graine, mettent l'accent sur deux aspect:

-la croissance en volume,

-la qualité de la branchaison (absence de fourche).

Un obstacle à l'amélioration conjointe des deux critères de sélection existe. en effet, la vigueur et la fourchaison sont corrélées négativement. Un compromis devait être trouvé pour réaliser un index de sélection optimisant les gains génétiques sur ces deux caractères opposés. Ceci a pu être mis en oeuvre grâce l'étude de la fourchaison.

2.Décomposition de la fourchaison.

Portefaix (1987), à partir d'une étude sur les tests de descendance en forêt d'Orléans a précisé la décomposition de la fourchaison. Celle-ci s'explique en grande partie par le polycyclisme, capacité de certains génotypes à réaliser plusieurs cycles par an. Ce polycyclisme s'observe chez le Pin laricio, espèce considérée comme monocyclique, par un allongement prématuré des bourgeons latéraux. La fourchaison est également liée à l'angle de branchaison:

| | Polycyclisme | Angle de branchaison |
|--|------------------------|-----------------------|
| Prédiction génétique de la fourchaison | bonne (CPG = 0.17)* | bonne (CPG = 0.12) |
| Liaison génétique avec la vigueur | variable | nulle |
| Héritabilité | 0.40 | 0.30 |

* Coefficient de prédiction génétique.

Le polycyclisme et l'angle de branchaison sont plus héritable que la note de fourchaison elle-même ($h^2=0.16$), présentent une variabilité qui donne prise à la sélection et sont de bons prédicteurs de la fourchaison. Compte tenu de sa liaison nulle avec la vigueur, l'angle de branchaison permet donc d'améliorer la qualité de la branchaison sans perdre sur la croissance. La mesure du polycyclisme s'avère utile car la sélection indirecte sur ce caractère est plus efficace que la sélection directe sur la fourchaison dans des milieux qui sont favorables à son expression.

3.Sélection et gains génétiques dans les vergers.

En prenant en considération ce qui vient d'être exposé, Portefaix conclue à la nécessité d'intégrer à l'index, pour l'eclaircie génétique des vergers à 6 ans:

- La hauteur totale des individus, hauteur totale généralement considérée comme le meilleur prédicteur précoce de la croissance en volume.

- Le nombre de pousses secondaires.

- La note de l'angle moyen de branchaison.

Dans ces conditions, pour le verger à graines de provenances corses, des gains génétiques de 10 à 15% sont attendus sur la hauteur totale à 5 ans de plantation, sans perte sur le niveau moyen de fourchaison. Pour une pression de sélection de 10%, 4 à 6% d'amélioration moyenne de l'angle de branchaison sont espérés.

Pour le verger de provenances Centre, des gains de 18 à 22% sont espérés sur la croissance en volume. Des gains génétiques de 2 à 3% sur la fourchaison sont prévus.

A l'avenir, pour intégrer la corrélation négative fourchaison-vigueur, il serait souhaitable, selon Portefaix (1986), de développer deux stratégies, en précisant auparavant l'importance économique de la fourchaison:

- Créer une variété destinée aux terrains où la sensibilité à la fourchaison est particulièrement grande, sélectionnée de façon optimale pour ce caractère grâce à l'utilisation des mesures du polycyclisme et de l'angle de branchaison, avec réduction du gain sur la croissance en volume.

- Développer une variété améliorée pour la croissance en volume avec un niveau de fourchaison équivalent à celui de la population de départ, sélectionné par le biais de l'angle de branchaison.

Les terpènes sont des hydrocarbures présents dans les tissus sécréteurs de certains végétaux. On les trouve en particulier dans les essences volatiles des résines de conifères où elles sont synthétisées dans le bois, le liber et les aiguilles. Ces essences contiennent une série de terpènes différents, des monoterpènes, dont la molécule contient 10 atomes de carbone, des sesquiterpènes à 15 atomes de carbone. Leur abondance, en valeur relative ou absolue, peut être déterminée par chromatographie en phase gazeuse, technique actuellement largement automatisée. La composition terpénique de l'essence varie qualitativement et quantitativement selon les espèces, les provenances ou les individus. Cette composition obéit souvent à un déterminisme génétique simple, un gène majeur contrôlant la biosynthèse d'un ou de plusieurs composés, par exemple chez *Pinus monticola* (Hanover, 1966), chez *Pinus taeda* (Squillace et al., 1980). La concentration relative des terpènes dans l'oléorésine du liber sur laquelle ont porté les études du mode d'hérédité est relativement peu sensible aux conditions de milieu, ce qui se traduit par des héritabilités au sens large voisines de 1. Les terpènes sont ainsi apparus comme de bons marqueurs génétiques: ils ont permis de préciser la chimiotaxinomie de certaines espèces végétales, notamment pour de nombreux résineux - Von Rudloff (1975) étudie ainsi 8 espèces de conifères Nord-américains - et en particulier dans le genre *Pinus*.

Nous nous sommes intéressés, dans un premier temps, à une étude de la chimiotaxinomie de l'espèce collective *Pinus nigra* grâce aux profils terpéniques; puis nous avons cherché à préciser le mode d'hérédité de la composition en terpènes dans la sous-espèce *laricio*.

A/ CHIMIOTAXINOMIE.

1) Matériel végétal et méthodes d'études.

a- L'échantillon.

L'étude a porté sur les analyses terpéniques de 90 provenances différentes des sous-espèces de *Pinus nigra* représentées par 111 échantillons moyens. Le mode de prélèvement et la technique d'analyse sont indiqués en annexe (page 55). Ces prélèvements ont été effectués dans des plantations comparatives de provenance à Amançes, à Verdun, à Cendrieux et à Cadouin. Le nom des provenances étudiées, leur origine (latitude, longitude, altitude), les plantations comparatives où elles ont été prélevées ainsi que l'âge des arbres échantillonnés sont précisés en annexe (page 58). La carte ci-contre situe les provenances.

b- Caractères retenus.

Les teneurs de 8 monoterpènes (α -pinène, camphène, β -pinène, myrcène, δ -3 carène, limonène, phellandrène et terpinolène) et d'un sesquiterpène (le caryophyllène) ont été relevées sur les chromatogrammes pour chaque analyse. Selon la procédure standard utilisée chez le Pin maritime les concentrations relatives de chaque monoterpène ont été exprimées en pourcentage des monoterpènes et les concentrations relatives de chaque sesquiterpène en pourcentage du total (mono- et sesquiterpènes). Seuls 6 composés ont été retenus pour le traitement statistique.

Le taux de limonène apparait sensible à l'âge de l'arbre et se stabilise tardivement (voir B/ plus bas). Compte tenu des âges des arbres analysés il était préférable de ne pas intégrer sa mesure aux traitements biométriques. D'autre part, les taux de camphène mesurés étaient très faibles, à la limite de la précision du chromatographe: ce terpène a été éliminé. Enfin, du fait de l'expression des teneurs en pourcentage, la valeur du septième terpène est déterminée par les 6 autres. De plus, l' α -pinène est présent en grande quantité chez les résineux et tout se passe comme s'il servait de "réservoir" aux autres terpènes au cours de la biosynthèse (Baradat et Marpeau, 1988). Ce dernier composé a donc été écarté de l'analyse.

Au total, 5 mesures ont servi au traitement informatique des résultats. En effet, le δ -3-carène et le terpinolène sont sous le contrôle d'un même gène (Zavarin, 1970). Nous avons donc considéré ces deux terpènes comme un seul et même composé et avons additionné leurs pourcentages. Les 5 pourcentages (β -pinène, myrcène, δ -3 carène+terpinolène, phellandrène et caryophyllène) ont alors été transformés par la fonction $\arcsin(x/100)$, qui permet de normaliser les distributions des résidus et de rendre les variances résiduelles indépendantes du pourcentage d'un terpène dans une population.

A partir d'analyses de Pins laricio de Corse et de Calabre, Arbez et al.(1974) avaient vérifié que la composition terpénique ne dépendait pas de la date de prélèvement. L'hypothèse de stabilité de la composition en terpènes retenus selon l'âge et la station n'a pas pu être testée dans notre cas. Nous nous contentons ici de constatations à posteriori: des regroupements "cohérents" ont été observés alors que, par exemple, les provenances corses sont issues de 8 plantations comparatives distinctes et présentent 4 âges différents.

COMPOSITION DES GROUPES GEOGRAPHIQUES.

| N° | Nom du groupe | Nom des provenances | | | | | | |
|----|-----------------------|---------------------|------|-------|------|------|------|--|
| 1 | Algérie | TIKJ | | | | | | |
| 2 | Sud-Espagne | CAZO | ROMA | | | | | |
| 3 | Est-Espagne | PRIE | OLRE | FRES | | | | |
| 4 | Nord-Espagne | AINS | | | | | | |
| 5 | Sud-France | GAGN | SGUL | | | | | |
| 6 | Nord-Corse | TART | | | | | | |
| 7 | Ouest-Corse | VALD | AITO | | | | | |
| 8 | Est-Corse | VIZZ | VEZZ | SORB | | | | |
| 9 | Sud-Corse | PALN | MARM | | | | | |
| 12 | Nord-Calabre | COSE | GRAN | MATA | TRCO | | | |
| 13 | Sud-Calabre | CANT | ASPR | | | | | |
| 11 | Villeta Barrea | VI-BA | | | | | | |
| 12 | Ile Brac | BRAC | | | | | | |
| 15 | Autriche | WOLF | DOBL | HOHE | LEDE | TRBO | | |
| 16 | Roumanie | MONO | BANA | DEPE | | | | |
| 17 | Centre-Yougoslavie | BUGO | TAZL | VGRA | PLEV | STUD | NIKS | |
| 18 | Bulgarie | TCHE | KUST | RILA | TZAR | | | |
| 19 | Sud-Yougoslavie | GR-AN | POLV | | | | | |
| 20 | Grèce | KOSA | GREV | METS | MILE | | | |
| 21 | Grèce-non localisé | ALON | BASP | | | | | |
| 22 | Iles grecques | THAS | PARA | | | | | |
| 23 | Ouest-Turquie | KARA | ALAC | KA-ZE | SIMA | DEMR | | |
| 10 | Extrême-Turquie | SI-TA | | | | | | |
| 24 | Sud-Turquie | MUGL | YILA | EGRD | KAYM | | | |
| 25 | Centre-Turquie | DEGR | CATA | AFYO | | | | |
| 26 | Nord-Turquie | KURB | GEBE | CANG | AYAN | | | |
| 27 | Crimée | CRIM | | | | | | |
| 28 | Est-Turquie | KOPR | | | | | | |
| 29 | Embrunais | EMBR | | | | | | |
| 30 | Koeklare | KOEK | | | | | | |
| 31 | Calabre des Barres | LBARIIG | | | | | | |
| 32 | Ville-haute | VL-HA | | | | | | |
| 33 | Pallasiana des Barres | LBPA | | | | | | |
| 34 | Mende | MEND | | | | | | |
| 35 | Cor*Cor | LRCO*LRCO | | | | | | |
| 36 | Cal*Cal | LRCA*LRCA | | | | | | |
| 37 | Cor*Cal | LRCO*LRCA | | | | | | |
| 38 | Laragnais | LARA | | | | | | |
| 39 | Causses | CAUS. | | | | | | |

c- Traitements statistiques.

Les provenances ont été regroupées selon deux critères. Leur sous-espèce d'appartenance et leur groupe géographique à l'intérieur de la sous espèce. 28 groupes ont été constitués, selon la proximité géographique des provenances (voir la carte page 22 et la liste de la composition des groupes ci-contre), les 11 provenances artificielles mises à part. Les données ont été traitées par analyse factorielle discriminante incluant le calcul des distances de Mahalanobis entre les populations.

Ces distances représentent le carré des distances euclidiennes entre centroïdes sur l'ensemble des 5 axes de l'analyse. Pour une étude de discrimination, elles présentent l'avantage d'accorder un poids prépondérant aux caractères soumis à peu de variation intra-population, et de ne pas cumuler l'information, redondante, provenant de caractères aux variations intra-population fortement liées (Hebert et Vincourt, 1985).

Nous avons considéré successivement:

- les quatre sous-espèces,
- l'ensemble des groupes géographiques,
- chaque sous-espèce séparément, en distinguant les Pins laricio de Corse et de Calabre, puis les sous-espèces nigricans et pallasiana simultanément,
- enfin, les provenances artificielles vues comme points supplémentaires par rapport aux sous-espèces précédemment étudiées.

L'ensemble des calculs a été réalisé sur la chaîne OPEP de traitements statistiques (Baradat, 1989).

2) Résultats.

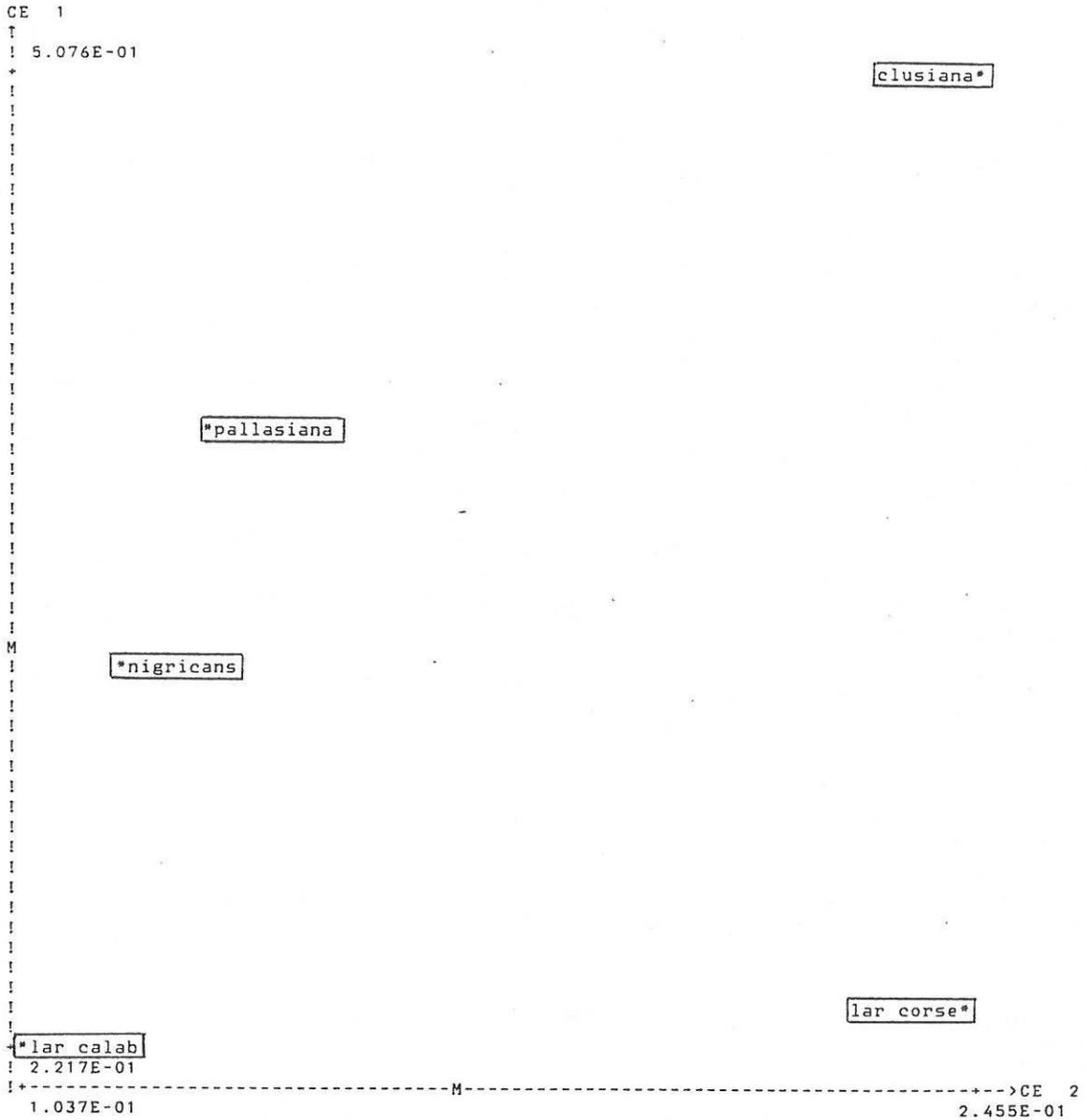
a- L'espèce collective.

1. Etude du niveau "sous-espèce".

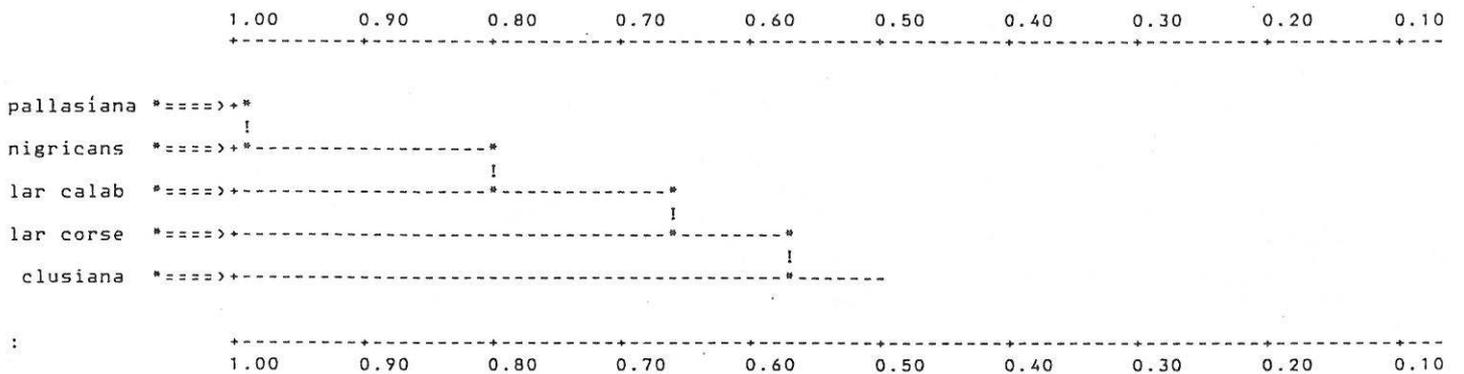
Le modèle utilisé envisage un premier niveau (fixe) "sous-espèce" et un second niveau "groupe géographique" hiérarchisé au premier. Les deux premiers axes de l'analyse factorielle discriminante expliquent 93% de la discrimination (55% pour le premier axe).

CENTROIDES CE 1 (ORDONNEE) & CE 2 (ABSCISSE) MIN,MAX & MOYENNES:

CE 1 : MIN = .221682 ,MAX = .50759 ,MOY. = .339716
 CE 2 : MIN = .103681 ,MAX = .245488 ,MOY. = .168126



**ANALYSE FACTORIELLE DISCRIMINANTE, PLAN DES DEUX PREMIERS AXES.
 ENSEMBLE DES SOUS-ESPECES.**



REPRESENTATION EN DENDROGRAMME DES RELATIONS ENTRE SOUS-ESPECES.

La représentation des sous-espèces dans le plan formé par ces deux axes est donnée ci-contre. Les tests F et les corrélations inter-population par rapport aux deux axes permettent de connaître l'importance de chaque caractère dans la discrimination:

| | | | | | |
|----------------------|--------------------------|------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| Tests F (4,72) | β -pin. 26.31** | Myrc. 54.21** | 3-c+ter 12.31** | Phell. 29.24** | Caryo. 49.13** |
| | (significatif à 1%**) | | | | |
| variable canonique 1 | β -pin. 0.69 | Myrc. 0.59 | 3-c+ter 0.10 | Phell. -0.57 | Caryo. 0.99 |
| variable canonique 2 | -0.46 | 0.75 | 0.99 | 0.72 | -0.11 |

Les quatre sous-espèces se séparent nettement selon l'axe 1, c'est donc essentiellement le caryophyllène qui intervient dans cette distinction. Le caractère 3-carène+terpinolène est principalement responsable du pouvoir discriminant de l'axe 2.

Le calcul des distances de Mahalanobis précise les relations entre groupes:

| | Corse | Calabre | Clusiana | Nigricans |
|------------|--------|---------|----------|-----------|
| Calabre | 18.7** | | | |
| Clusiana | 59.8** | 78.3** | | |
| Nigricans | 19.8** | 12.5** | 35.6** | |
| Pallasiana | 30.9** | 31.3** | 23.0** | 4.7** |

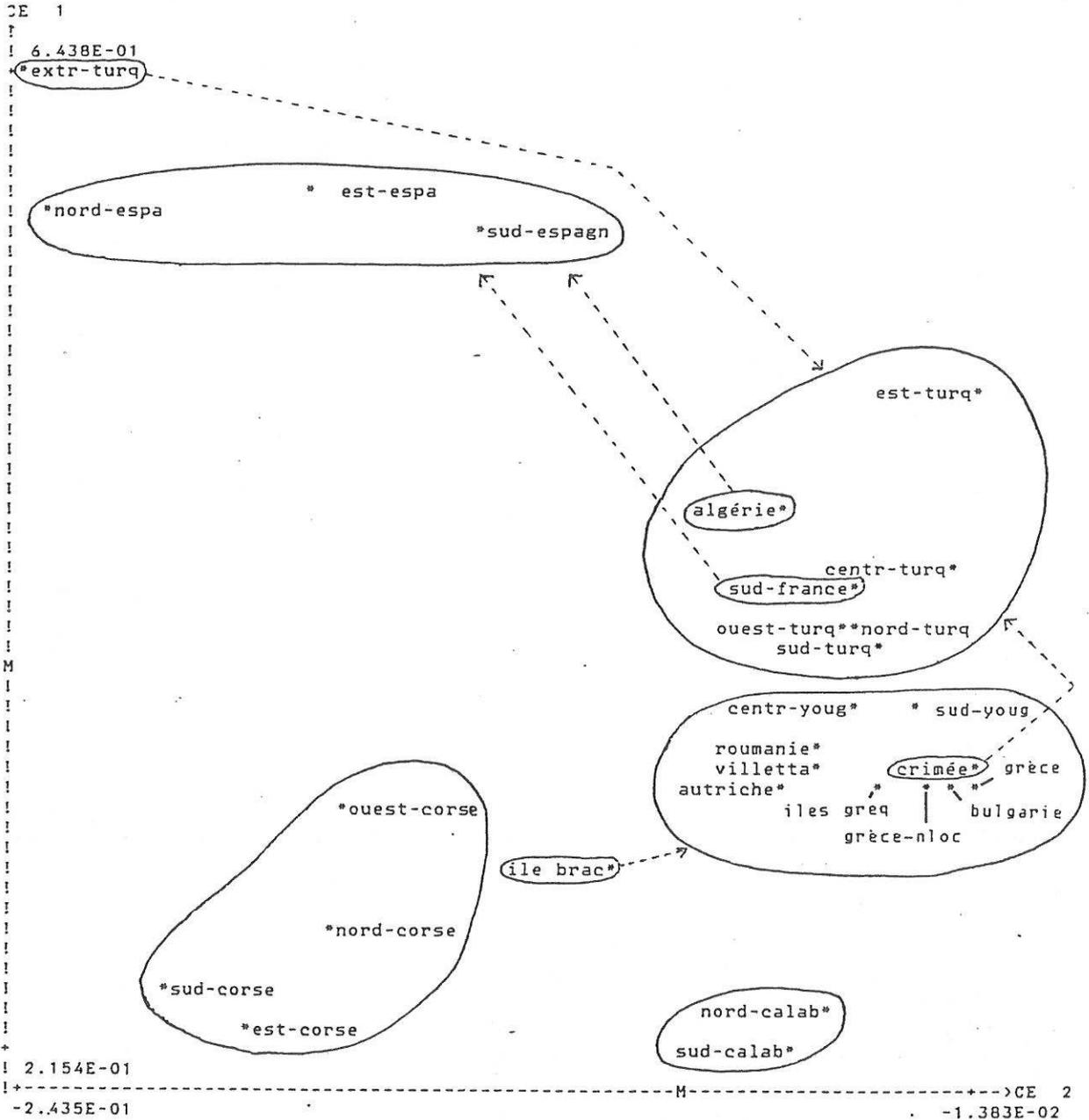
Ces distances sont toutes significativement non nulles (à 1%: $F(4,69) \approx 3.65$). Un dendrogramme (ci-contre) basé sur les similarités calculées à partir de ces distances permet de visualiser les résultats. On constate d'Ouest en Est dans l'aire naturelle les phénomènes suivants:

- un isolement de la sous-espèce clusiana, résultat déjà obtenu par Bonnet-Masimbert et Bikay-Bikay en 1978 (isozymes).
- un regroupement des Pins laricio de Corse et de Calabre, qui restent néanmoins relativement éloignés. L'accord des différents auteurs sur ce point est assez général.
- une grande proximité des sous-espèces nigricans et pallasiana, résultat conforme aux conclusions d'Arbez et Millier en 1974 (morphologie des aiguilles) et de Nikolic et Tucic en 1983 (isozymes).

Sans a-priori des appartenances aux sous-espèces l'étude des groupes géographiques permet de tester l'opportunité de leur distinction et de mettre éventuellement en évidence des relations existant entre eux, sur la base des profils terpéniques.

CENTROIDES CE 1 (ORDONNEE) & CE 2 (ABSCISSE) MIN,MAX & MOYENNES:

CE 1 : MIN = .215375 ,MAX = .643788 ,MOY. = .378453
 CE 2 : MIN = -.243537 ,MAX = -.0138272 ,MOY. = -.0841682



ANALYSE FACTORIELLE DISCRIMINANTE, PLAN DES DEUX PREMIERS AXES.
 ENSEMBLE DES GROUPES GEOGRAPHIQUES.

2. Etude du niveau "groupe géographique".

L'analyse est faite selon un modèle simple, à un facteur: le groupe géographique. Les deux premiers axes de l'analyse discriminante absorbent 81% de discrimination. Les tests F et les corrélations intra populations sont les suivants:

| Tests F (27,72) | β -pin. 5.71** | Myrc. 10.71** | 3-c+ter 7.15** | Phell. 5.08** | Caryo. 9.16** |
|----------------------|-------------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | (significatif à 1%**) | | | | |
| variable canonique 1 | β -pin. 0.56 | Myrc. 0.71 | 3-c+ter 0.39 | Phell. -0.41 | Caryo. 0.86 |
| variable canonique 2 | 0.49 | -0.60 | -0.75 | -0.72 | 0.33 |

Sur l'analyse discriminante (ci-contre) les groupes clusiana (Espagne), pallasiana (Turquie), nigricans (Yougoslavie, Grèce, Autriche), Pins laricio de Corse et Pins laricio de Calabre, sont individualisés, principalement grâce au caryophyllène et au myrcène, au 3-carène + terpinolène et au phellandrène. Pourtant, plusieurs provenances ont des positions inattendues et difficiles à expliquer d'un point de vue évolutif, d'autant plus que, pour d'autres marqueurs, les auteurs annoncent des résultats différents:

-Les Pins noirs de l'île de Brac, très adaptés à la sécheresse et nettement à part sur le plan morphologique (aiguilles courtes et acérées), possèdent une distance de Mahalanobis non significativement différente de 0 avec les provenances de l'ouest de la Corse, ce qui explique leur position intermédiaire entre les sous-espèces nigricans et laricio. Nikolic et Tucic (1983), utilisant des isozymes, trouvent, à l'opposé, une distance de Nei maximale entre l'île de Brac et la Corse.

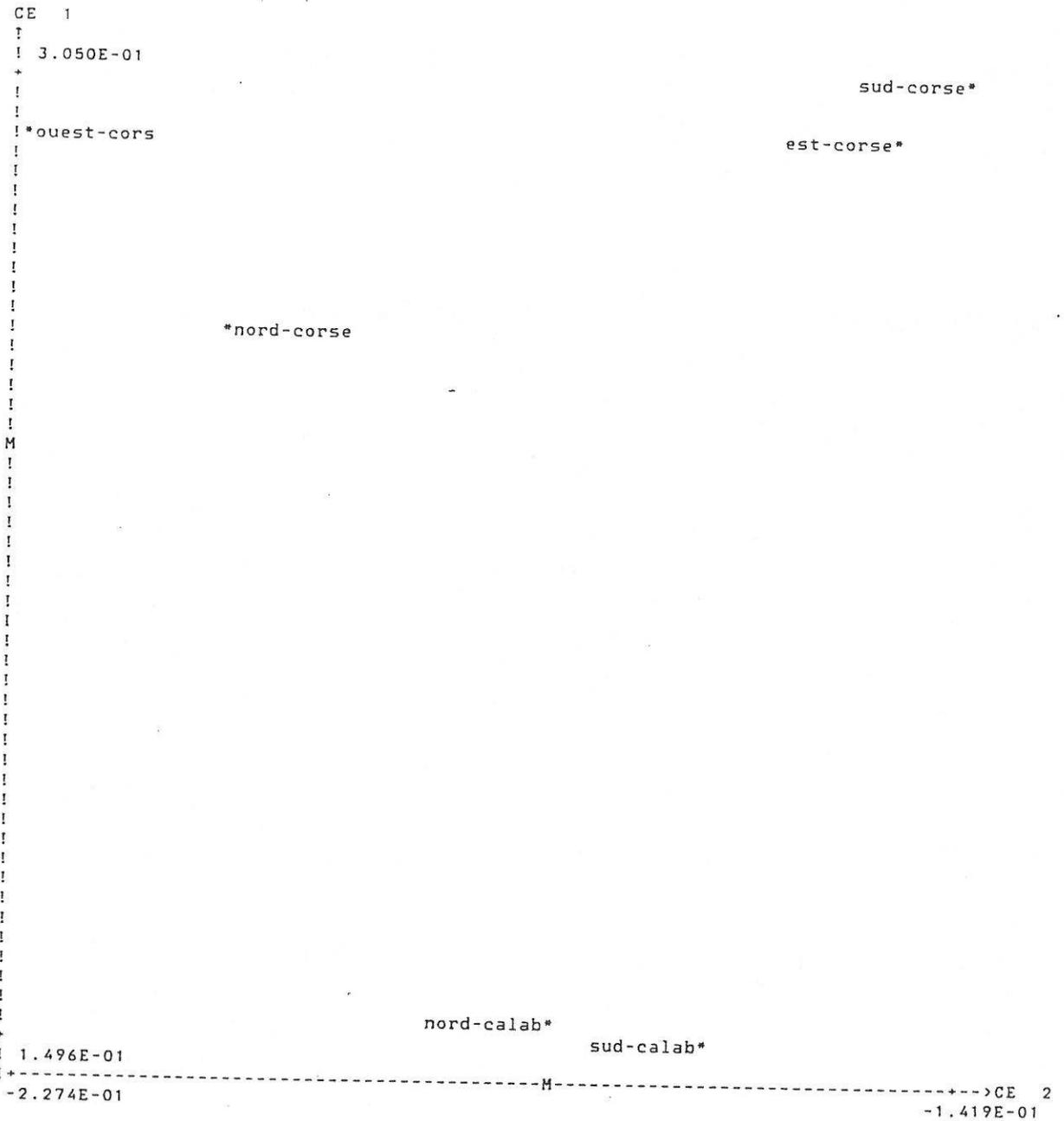
-Les provenances du sud de la France (clusiana) présentent une distance non significativement différente de 0 uniquement avec les provenances d'Algérie, de Villeta Barrea et du sud de la Yougoslavie. Bonnet-Masimbert et Bikay-Bikay (1978) signalent l'individualisation de la provenance GAGN (Sud-France) à partir d'isozymes et citent Wheeler et al. (1976) qui justifiaient l'existence d'une variété Salzmanni pour ces provenances françaises.

-La population algérienne se trouve proche des sous-espèces nigricans et pallasiana. Nicolik et Tucic, pour leur part, constatent l'isolement d'une provenance marocaine rapprochée uniquement des provenances corses.

-Sinekli-Tahtali, provenance de l'extrême-Est de la Turquie a un comportement tout à fait à part.

CENTROIDES CE 1 (ORDONNEE) & CE 2 (ABSCISSE) MIN,MAX & MOYENNES:

CE 1 : MIN = .149632 ,MAX = .305049 ,MOY. = .243368
CE 2 : MIN = -.227414 ,MAX = -.141876 ,MOY. = -.178386



ANALYSE FACTORIELLE DISCRIMINANTE, PLAN DES DEUX PREMIERS AXES.
SOUS-ESPECES LARICIO.

Les provenances de Crimée, géographiquement à l'écart, sont plus rapprochées, pour ce qui nous concerne, de la sous-espèce nigricans que de pallasiana dont elles font partie. Ceci n'est pas conforme aux résultats de Bonnet-Masimbert et Bikay-Bikay qui rattachent ces provenances à la sous-espèce pallasiana, mais rejoint Nikolic et Tucic, qui les rapprochent de provenances yougoslaves et de Villeta Barrea, toutes deux incluses dans la sous-espèce nigricans. Les bonnes performances de croissance des provenances de Crimée, observées en plantations comparatives, suggéraient également leur proximité de provenances bulgares, de la sous-espèce nigricans (Roman-Amat, 1984)

Malgré ces exceptions, les regroupements observés sont cohérents avec la classification proposée par Fukarek. Le pouvoir discriminant des différents terpènes, caractérisé, par exemple, par les valeurs des tests F, n'est pas le même dans les quatre sous-espèces. Les fonctions discriminantes seront donc différentes d'une sous-espèce à l'autre. De ce fait, l'analyse discriminante globale a essentiellement une valeur descriptive, l'hypothèse d'égalité des matrices de variance-covariance intra-groupe n'étant pas tout à fait respectée à ce niveau. L'étude séparée de la différenciation entre groupes à l'intérieur de chaque sous-espèce peut alors permettre d'affiner les distinctions.

b- Analyse séparée des quatre sous-espèces

1.1a sous-espèce laricio.

L'analyse discriminante pour la sous-espèce laricio est représentée ci-contre dans le plan des deux premiers axes. Ils expliquent 87% de la discrimination (60% pour le premier). Les tests F ainsi que les corrélations inter-groupes géographiques sont les suivants:

| | | | | | |
|----------------|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Test F (5,22): | β -pin. 0.69 ^{ns} | Myrc. 8.48 ^{**} | 3-c+ter 2.72 [*] | Phell. 6.19 ^{**} | Caryo. 4.31 ^{**} |
|----------------|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|

(Non significatif^{ns}, significatif à 5%^{*}, à 1%^{**})

| | | | | | |
|----------------------|---------------|-------|---------|--------|--------|
| Corrélations. | β -pin. | Myrc. | 3-c+ter | Phell. | Caryo. |
| variable canonique 1 | 0.26 | 0.98 | 0.77 | 0.91 | -0.13 |
| variable canonique 2 | -0.82 | -0.05 | -0.42 | -0.05 | -0.92 |

Les provenances corses et calabraises, bien séparées par l'axe 1, diffèrent donc pour le myrcène, le phellandrène (et dans une moindre mesure pour le 3-carène+terpinolène). Les provenances corses sont discriminées sur l'axe 2, pour lequel le caryophyllène est important (le test F pour le β -pinène étant non significatif). Les distances de Mahalanobis entre les groupes et leur seuil de signification sont données ci-après:

| | N-Corse | O-Corse | E-Corse | S-Corse | N-Calabre |
|-----------|---------|---------|-------------------|---------|--------------------|
| O-Corse | 7.1* | | | | |
| E-Corse | 7.7* | 10.4** | | | |
| S-Corse | 11.6** | 11.1* | 1.7 ^{ns} | | |
| N-Calabre | 13.7** | 19.4** | 16.9** | 20.2** | |
| S-Calabre | 14.6* | 23.9** | 17.2** | 20.8** | 0.62 ^{ns} |

(non significatif^{ns} - significatif à 5%* - significatif à 1%**)

Les groupes de Calabre ne se distinguent pas; par contre, en Corse, la variabilité inter-population est plus accusée. Les provenances Sud et Est se confondent, elles représentent les monts Renoso et Incudine (voir carte page 2), qui seraient donc, pour la composition en terpène relativement homogènes. Les provenances des monts Rotondo et Cinto, à l'Ouest et au Nord, sont au contraire plutôt distinctes.

2. la sous-espèce clusiana.

Le test F de l'analyse de variance de départ n'est significatif à 5% que pour le caractère 3-carène+terpinolène:

| Tests F (4,6) | β -pin. | Myrc. | 3-c+ter | Phell. | Caryo. |
|---------------|--------------------|--------------------|---------|--------------------|--------------------|
| | 0.46 ^{ns} | 1.25 ^{ns} | 8.57* | 0.57 ^{ns} | 0.28 ^{ns} |

(non significatif^{ns}, significatif à 5%*)

Les tests du X^2 effectués sur les axes de l'analyse discriminante ne permettent pas de conclure à une différence entre les centroïdes sur chaque axe considéré isolément. Nous ne retenons donc que les distances de Mahalanobis:

| | Algérie | S-Espagne | E-Espagne | N-Espagne |
|-----------|------------------|-----------------|-----------|-----------|
| S-Espagne | 157* | | | |
| E-Espagne | 172** | 1 ^{ns} | | |
| N-Espagne | 1098** | 437** | 413** | |
| S-France | 29 ^{ns} | 217** | 436** | 1183** |

(Non significatif^{ns} - significatif à 5%* - significatif à 1%**)

Deux groupes se forment: les provenances françaises et algériennes d'une part, les provenances espagnoles d'autre part. Mais Ainsa, provenance du Nord de l'Espagne, garde une place à part, ce que constatent aussi Bonnet-Masimbert et Bikay-Bikay qui en viennent à s'interroger sur la validité de leur échantillon. Debazac (1964) sépare également deux zones espagnoles: l'aire du nord de l'Espagne est morcelée, les surfaces à l'Est et au Sud-Est sont plus étendues, et sont plus intéressantes pour une utilisation forestière. La sous-espèce clusiana reste donc assez hétérogène sur le plan terpénique, comme pour les isozymes, et cela, semble-t-il, malgré une relative homogénéité morphologique.

3. la sous-espèce nigricans.

Les tests F sont non significatifs pour tous les caractères:

| | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Tests F (9,27) | β -pin. 2.03 ^{ns} | Myrc. 1.57 ^{ns} | 3-c+ter 0.58 ^{ns} | Phell. 1.76 ^{ns} | Caryo. 0.80 ^{ns} |
| (non significatif ^{ns}) | | | | | |

La plus grande part des dix groupes géographiques qui composent notre échantillon de la sous-espèce ne peuvent être distingués si l'on se base sur les distances de Mahalanobis. Seules les provenances du centre de la Yougoslavie ont un comportement différent:

| | | | | |
|---|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Centre-Yougo. | Ile de Brac 14.4 ^{**} | Autriche 5.1 [*] | Bulgarie 6.7 [*] | Grèce 8.3 [*] |
| (significatif à 5% [*] - significatif à 1% ^{**}) | | | | |

Malgré une grande extension géographique et une grande variabilité sur le plan morphologique, la sous-espèce nigricans est homogène pour les profils terpéniques. Il y a ici discordance entre les deux types de marqueurs, morphologiques et biochimiques, qui apportent des informations de natures différentes, et ne sont pas affectés de la même manière par les pressions de sélection (Damerval et de Vienne, 1985).

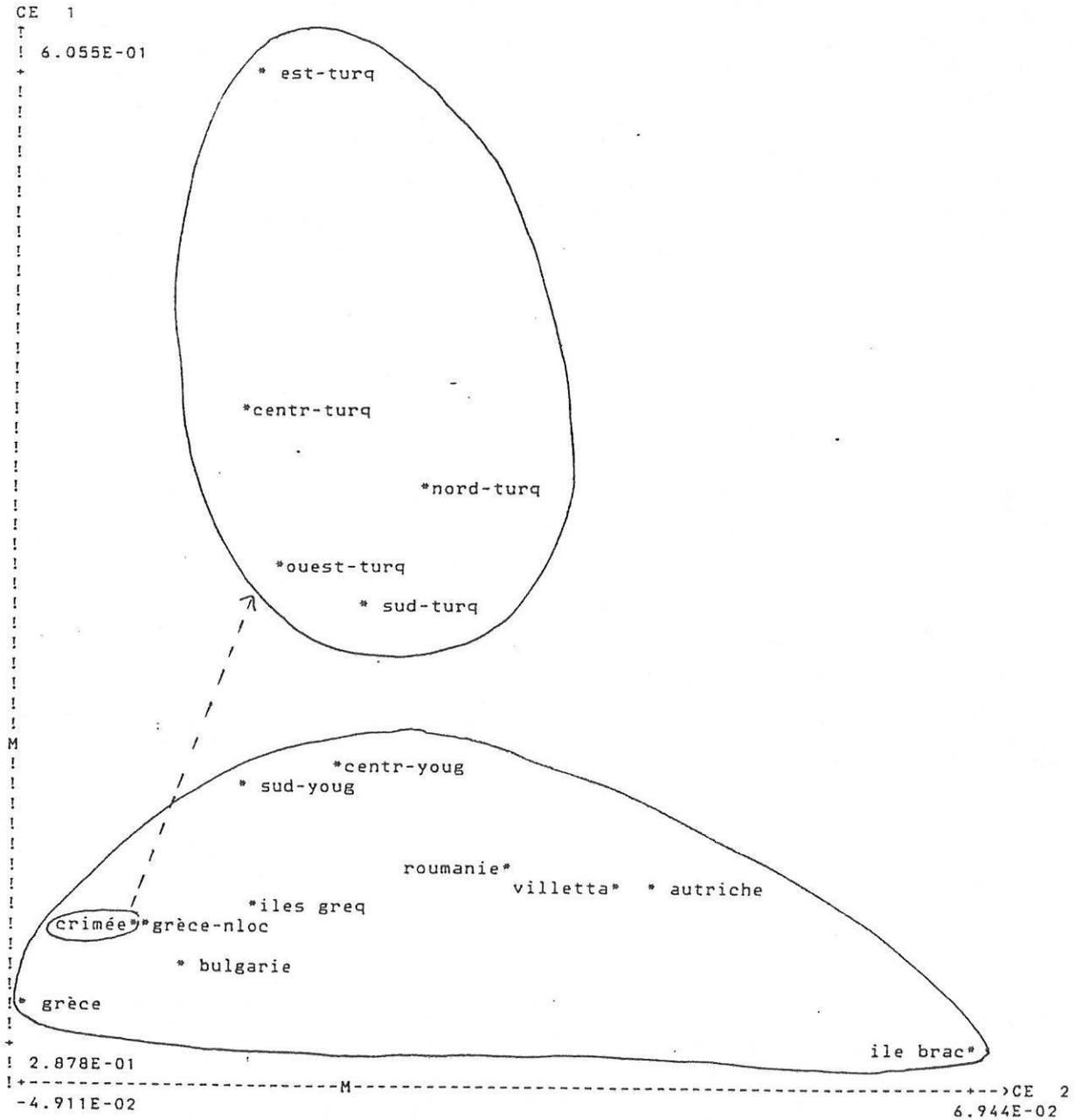
4. La sous-espèce pallasiana.

Seul le test F pour le phellandrène est non-significatif:

| | | | | | |
|---|-------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Tests F (6,17) | β -pin. 5.04 ^{**} | Myrc. 7.46 ^{**} | 3-c+ter 12.13 ^{**} | Phell. 1.30 ^{ns} | Caryo. 5.94 ^{**} |
| (non significatif ^{ns} , significatif à 1% ^{**}) | | | | | |

CENTROIDES CE 1 (ORDONNEE) & CE 2 (ABSCISSE) MIN,MAX & MOYENNES:

CE 1 : MIN = .287811 ,MAX = .605475 ,MOY. = .383326
CE 2 : MIN = -.0491055 ,MAX = .0694402 ,MOY. = -.00797468



ANALYSE FACTORIELLE DISCRIMINANTE, PLAN DES DEUX PREMIERS AXES.
SOUS-ESPECES NIGRICANS ET PALLASIANA.

Les caractères principaux des groupes sont bien visibles sur les distances:

| | Extr-turq | O-Turq | S-Turq | Ce-Turq | N-Turq | E-Turq |
|---------|-----------|-------------------|--------------------|--------------------|--------|--------|
| O-Turq | 141.7** | | | | | |
| S-Turq | 164.2** | 1.5 ^{ns} | | | | |
| Ce-Turq | 165.1** | 3.3 ^{ns} | 1.9 ^{ns} | | | |
| N-Turq | 173.3** | 2.6 ^{ns} | 1.6 ^{ns} | 3.6 ^{ns} | | |
| E-Turq | 206.1** | 3.0* | 22.3 ^{ns} | 14.1 ^{ns} | 26.5* | |
| Crimée | 146.4** | 7.6* | 11.2* | 16.4* | 14.9** | 58.6** |

(Non significatif^{ns} - significatif à 5%** - significatif à 1%**)

Les deux provenances turques, à l'extrême Est de l'aire naturelle, (Köprücek et Sinekli-Tahtali), et surtout la seconde, sont "atypiques". Les populations de Crimée confirment leur difficile assimilation à la sous-espèce pallasiana. Les provenances de Crimée sont indistinctes de la sous-espèce nigricans pour leurs distances de Mahalanobis (non significatives) dans une analyse discriminante (ci-contre) confondant les sous-espèces pallasiana et nigricans. Les corrélations des variables avec les caractères sont les suivantes:

| Corrélations | β -pin. | Myrc. | 3-c+ter | Phell. | Caryo. |
|----------------------|---------------|-------|---------|--------|--------|
| variable canonique 1 | 0.99 | 0.13 | 0.07 | 0.20 | 0.29 |
| variable canonique 2 | 0.04 | 0.68 | 0.11 | 0.87 | -0.69 |

En écartant Sinekli-Tahtali, atypique, L'individualisation de chaque sous-espèce est possible surtout grâce au β -pinène, seul caractère dont le test F soit significatif:

| Tests F (15,44) | β -pin. | Myrc. | 3-c+ter | Phell. | Caryo. |
|-----------------|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 7.21** | 0.53 ^{ns} | 0.42 ^{ns} | 1.67 ^{ns} | 1.13 ^{ns} |

(non significatif^{ns}, significatif à 1%**)

c- Les provenances artificielles.

Les 8 populations introduites et les 3 croisements ont été analysés comme points supplémentaires par rapport à l'analyse factorielle discriminante réalisée sur les sous-espèces. Ces populations n'interviennent donc pas dans la définition des axes, elles sont simplement situées par rapport à eux. Ce procédé est utilisé pour l'identification variétale du Pin maritime et permet de replacer des provenances dont l'origine est à vérifier par rapport à des témoins identifiés (Baradat et Marpeau, 1988).

Les résultats de l'analyse sont présentés ci-contre. Les populations françaises de Pin noir d'Autriche sont visiblement proches de la sous-espèce nigricans, ce qui confirme leur origine qui n'était d'ailleurs pas mise en doute. La population "pallasiana des Barres" est manifestement plus proche de la sous-espèce laricio que de sa sous-espèce présumée, ce que Roman-Amat (1984) constate également pour des critères morphologiques. Elle est vraisemblablement issue d'hybridations non contrôlées avec d'autres Pins noirs présents aux Barres. Les Pins noirs de Koeklare, en Belgique, souvent décrits comme des hybrides entre Pins de Corse et de Calabre sont en effet intermédiaires, dans nos analyses, entre les deux variétés de Pins laricio.

Les résultats concernant les croisements contrôlés sont plus surprenants. Si l'hybride intra Calabre est effectivement proche des Pins laricio italiens, il n'en est pas de même pour les croisements intra Corse et inter Corse-Calabre qui sont proches l'un de l'autre mais distants de toutes les autres populations. Les parents corses sont issus de la provenance Valdoniello et les parents calabrais de Cozenza (tous installés à Amance). Le parent corse exprimait déjà un relatif éloignement (Ouest-Corse, voir b-1.).

3) Conclusion.

Le grand polymorphisme de l'espèce *Pinus nigra*, est bien décrit par l'intermédiaire des profils terpéniques de ses composantes.

Considérées toutes ensemble, les sous-espèces se distinguent principalement grâce au caryophyllène et au 3-carène+terpinolène. Séparément, les Pins laricio de Corse et de Calabre sont différenciés grâce au myrcène et au phellandrène, les sous-espèces nigricans et pallasiana grâce au β -pinène. La sous-espèce clusiana est hétérogène pour sa composition en terpènes, contrairement à la sous-espèce nigricans, très homogène.

L'aire naturelle morcelée de *Pinus nigra* peut expliquer le caractère marginal de certaines provenances. En effet, les populations qui manifestent des comportements particuliers sont souvent des peuplements isolés. Ces populations sont soumises à des pressions de sélection locales, à des dérives liées à leur taille limitée. L'espèce *Pinus nigra* suivrait selon Portefaix (1987) un modèle décrit par Wright (1977). La variation en mosaïque s'expliquerait, parallèlement aux dérives, par des relations privilégiées entre arbres reproducteurs voisins, une dispersion des graines à faible distance, créant des cercles de consanguinité à échanges géniques limités. D'un point de vue pratique, ces populations, vraisemblablement à cause de leur moindre importance, ont été moins largement échantillonnées, ce qui conduit forcément à des erreurs d'échantillonnage plus grandes pour la représentation du groupe.

Si les terpènes peuvent être considérés comme des marqueurs neutres (leur rôle éventuel dans la relation plante-insecte est souvent évoqué contre cette hypothèse), certains regroupements observés, plus ou moins surprenants, ont alors peu de signification. Les confrontations avec les analyses isoenzymatiques confortent cette idée. Pourtant, le pouvoir discriminant des terpènes est important et les associations observées concordent avec les grandes lignes de la classification de Fukarek, ce qui semblait moins évident dans les travaux concernant les isozymes menés jusqu'à présent sur cette espèce. Le rattachement des provenances de Crimée à la sous-espèce *pallasiana* est seul remis en question.

Des éléments de paléogéographie, de palynologie et d'anthracologie seraient utiles à la compréhension de l'histoire de *Pinus nigra* et permettraient peut-être de retracer l'évolution de l'espèce.

B/ CONTROLE GENETIQUE DES TERPENES CHEZ LE PIN NOIR.

Si les terpènes se révèlent être de bons outils pour la discrimination de races géographiques, le mécanisme de leur transmission héréditaire mérite d'être précisé. C'est ce que nous avons tenté de faire dans l'étude qui suit.

1) Principe de l'étude du mode d'hérédité.

la génétique des terpènes possède des caractéristiques particulières, précisées par Baradat et Marpeau (1988). En effet, les terpènes, contrairement aux autres marqueurs, ne sont pas en relation directe avec l'information génétique: les marqueurs RFLP touchent directement au génome, les isozymes résultent de la traduction des gènes, par association des n chaînes polypeptidiques qui constituent l'enzyme actif. Plus en aval, Les terpènes sont des métabolites secondaires, issus de chaînes de biosynthèses localisées, en ce qui concerne les résineux, dans des cellules sécrétrices des canaux résinifères. L'action des gènes influence le dosage de ces métabolites; le marquage concerne donc des caractères quantitatifs à savoir les concentrations pour les différents terpènes.

Des phénotypes différents sont décelés grâce au tracé de l'histogramme des concentrations pour un terpène donné dans la population considérée. Selon leur degré de richesse ou de pauvreté pour le terpène, les différents individus de la population se regroupent selon des modes plus ou moins nettement séparés sur l'histogramme. La difficulté consiste à déterminer les seuils de troncature entre les phénotypes ainsi définis.

Par l'étude des ségrégations dans les croisements d'individus au phénotype précédemment déterminé, il est alors possible de mettre en évidence l'existence d'allèles de pauvreté, de richesse et de déterminer les génotypes des individus: homozygotes pour l'allèle de richesse (+/+), pour l'allèle de pauvreté (-/-), ou hétérozygotes (+/-).

Du fait même de la nature quantitative du caractère étudié, le nombre d'allèles différents décelables est limité. En réalité, les quelques allèles détectés représentent non pas des allèles uniques mais des classes alléliques d'isoaction. Les allèles de la même classe ne peuvent être différenciés car leur effet est identique sur le dosage du terpène. Ces allèles pourraient être distingués par des études plus fines portant directement sur les enzymes pour lesquelles ils codent, enzymes qui interviennent dans la chaîne de biosynthèse. Il existe donc un risque de sous-estimer le nombre d'allèles différents et ainsi la variabilité génétique existante par de telles études. Pourtant, malgré ces réserves, les terpènes se sont révélés suffisamment discriminants, leur utilisation en chimiotaxinomie en témoigne.

COMPOSITION DES CLONES ANALYSES POUR TROIS TERPENES.

Clones de Pins laricio de Calabre

| Nom du clone | Pourcentages | | |
|--------------|--------------|-----------------|------------|
| | limonène* | caryophyllène** | humulène** |
| CLB 6 | 4.35 | 0.47 | 0.00 |
| CLB 7 | 1.46 | 1.37 | 0.20 |
| CLB 9 | 1.74 | 0.10 | 0.00 |
| CLB 12 | 1.73 | 0.30 | 0.00 |
| CLB 13 | 1.98 | 0.08 | 0.00 |
| CLB 14 | 1.60 | 0.17 | 0.02 |
| CLB 16 | 4.20 | 2.66 | 0.38 |
| CLB 18 | 3.94 | 9.33 | 1.40 |
| CLB 22 | 1.75 | 1.23 | 0.16 |
| CLB 33 | 1.46 | 2.39 | 0.36 |
| CLB 34 | 1.52 | 0.63 | 0.09 |
| CLB 35 | 1.64 | 0.32 | 0.04 |

Clones de Pins laricio de Corse

| Nom du clone | Pourcentages | | |
|--------------|--------------|-----------------|------------|
| | limonène* | caryophyllène** | humulène** |
| ATO 1 | 4.40 | 0.25 | 0.06 |
| ATO 8 | 6.51 | 0.54 | 0.07 |
| ATO 10 | 1.76 | 0.24 | 0.04 |
| ATO 12 | 4.04 | 0.09 | 0.01 |
| VNO 4 | 4.32 | 0.10 | 0.01 |
| VNO 5 | 7.35 | 0.40 | 0.06 |
| VNO 13 | 3.76 | 14.74 | 2.15 |
| MAR 9 | 2.47 | 0.22 | 0.03 |
| VIZ 3 | 6.14 | 2.19 | 0.32 |

* Teneurs en monoterpènes exprimées en % des monoterpènes.

** Teneurs en sesquiterpènes exprimées en % de l'ensemble des ter-
pènes.

Chez le Pin maritime, Baradat et Marpeau (1988) ont mis en évidence un déterminisme monogénique et biallélique pour 6 terpènes différents (monoterpènes: β -pinène, 3-carène, myrcène et limonène, sesquiterpènes: longifolène et caryophyllène). Pour le Pin noir, il n'y a pas eu d'étude d'hérédité jusqu'à présent. L'existence de plans de croisements contrôlés incluant 21 clones de Pins laricio de Corse et de Calabre rendait possible l'étude de la transmission héréditaire de la composition en terpènes chez cette espèce.

2) Matériel et méthode d'analyse.

Les 21 clones utilisés dans les croisements proviennent du Domaine des Barres (ENITEF, Nogent sur Vernisson). Il s'agit d'individus greffés en parc à clone, 12 clones greffés en 1955 (Pins de Calabre) et 9 en 1959 (Pins de Corse). Les familles de plein-frères issues des croisements ont été installées en Dordogne et Normandie à l'automne 1983, après un an de pépinière. Les géniteurs étaient donc âgés d'une trentaine d'années et leurs descendants de 6 ans au moment des analyses (printemps 89).

Les 21 parents ont fait l'objet d'une analyse individuelle pour leur composition en terpènes. Les méthodes d'échantillonnage des branches et d'analyse par chromatographie en phase gazeuse, sont présentées en annexe. Selon les profils obtenus, certains clones ont été retenus. Les familles issues de divers croisements entre ces clones ont été échantillonnées, les résultats ainsi que leurs interprétations sont présentés plus bas.

3) Etude des clones des Barres.

Le choix des terpènes pour lesquels une étude d'hérédité était possible s'est trouvé réduit par le manque de variabilité observée parmi les 21 clones. Néanmoins, deux points déjà observés par d'autres auteurs ont pu trouver ici une confirmation. Les valeurs des différents génotypes sont données ci-contre pour trois terpènes, un monoterpène, le limonène, deux sesquiterpènes, le caryophyllène et l'humulène.

a- Distinction des provenances de Corse et de Calabre.

Certains auteurs ont souligné la différence entre les provenances de Corse et de Calabre du point de vue de la teneur en limonène, les Pins laricio de Corse étant plus riches que les Pins laricio de Calabre:

| Teneur moyenne en limonène (%) | Provenances Corses | Calabre |
|--|-----------------------|---------|
| Analyse de tissus corticaux Arbres âgés de 7 ans (63 arbres/provenance) | 26.26 | 1.89 |
| Arbres âgés de 71 ans (5 arbres/provenance) Arbez et al., 1974. | 19.39 | 9.90 |
| Analyse de résine Arbres âgés de 50 à 80 ans Fineschi et Grossini, 1981. | 11.47 | 1.25 |

L'ordre de grandeur des teneurs a été plus faible dans notre cas, notamment pour le limonène ce qui pourrait s'expliquer par les faits suivants:

- Notre étude a porté sur des analyses individuelles et non sur des échantillons moyens tels que ceux analysée par Arbez et al.
- Le nombre d'individus représentés est faible, et les mêmes auteurs observent une grande variabilité individuelle pour la composition en terpènes, fait également observé pour d'autres espèces (Bernard-Dagan et al., 1972).
- Il existe éventuellement un effet de la greffe, celle-ci ayant été faite sur Pin sylvestre. Cette hypothèse reste à vérifier.

La distinction Corse/Calabre, sur les greffes analysées (âgées d'une trentaine d'années), est néanmoins possible sur la moyenne et est confirmée par un test de Student:

| Origine géographique | Corse | Calabre |
|--------------------------|----------|-----------|
| Moyennes en % (effectif) | 4.53 (9) | 2.28 (12) |
| Variance | 3.4 | 1.3 |

Test de Student (19 ddl, $t = 5.27$) significatif à 1%.

**CLASSEMENTS DES CLONES (PAR ORDRE DECREISSANT) POUR LES POURCENTAGES
EN CARYOPHYLLÈNE ET HUMULÈNE.**

| Rang | Nom | Caryophyllène | Rang | Nom | Humulène |
|------|--------|---------------|------|--------|----------|
| 1 | VNO 13 | 14.74 | 1 | VNO 13 | 2.15 |
| 2 | CLB 18 | 9.33 | 2 | CLB 18 | 1.40 |
| 3 | CLB 16 | 2.66 | 3 | CLB 16 | 0.38 |
| 4 | CLB 33 | 2.39 | 4 | CLB 33 | 0.36 |
| 5 | VIZ 3 | 2.19 | 5 | VIZ 3 | 0.32 |
| 6 | CLB 7 | 1.37 | 6 | CLB 7 | 0.20 |
| 7 | CLB 22 | 1.23 | 7 | CLB 22 | 0.16 |
| 8 | CLB 34 | 0.63 | 8 | CLB 34 | 0.09 |
| 9 | ATO 8 | 0.54 | 9 | ATO 8 | 0.07 |
| 10 | CLB 6 | 0.47 | 10.5 | ATO 1 | 0.06 |
| 11 | VNO 5 | 0.40 | 10.5 | VNO 5 | 0.06 |
| 12 | CLB 35 | 0.32 | 12.5 | CLB 35 | 0.04 |
| 13 | CLB 12 | 0.30 | 12.5 | ATO 10 | 0.04 |
| 14 | ATO 1 | 0.25 | 14 | MAR 9 | 0.03 |
| 15 | ATO 10 | 0.24 | 15 | CLB 14 | 0.02 |
| 16 | MAR 9 | 0.22 | 16.5 | ATO 12 | 0.01 |
| 17 | CLB 14 | 0.17 | 16.5 | VNO 4 | 0.01 |
| 18.5 | VNO 4 | 0.10 | 19.5 | CLB 13 | 0.00 |
| 18.5 | CLB 9 | 0.10 | 19.5 | CLB 9 | 0.00 |
| 20 | ATO 12 | 0.09 | 19.5 | CLB 6 | 0.00 |
| 21 | CLB 13 | 0.08 | 19.5 | CLB 12 | 0.00 |

Test de corrélation de rang de Spearman ($r_s=0.88$) significatif à 1%

b- Pléiotropie d'un locus sur la synthèse de deux terpènes.

Une simple observation du classement des génotypes analysés pour leur teneur en caryophyllène et pour leur teneur en humulène (ci-contre) nous permet de vérifier la pléiotropie, déjà observée chez certaines légumineuses (Martin et al., 1974) et chez le Pin maritime (Baradat et Marpeau, 1988) d'un locus sur la synthèse du caryophyllène et de l'humulène. Sauf pour les faibles valeurs du taux d'humulène, les classements restent en effet conservés.

4) Etude des descendants: hypothèses sur l'hérédité.

Au vu des profils terpéniques des clones utilisés pour les croisements, seuls le limonène et le caryophyllène semblaient présenter une variabilité exploitable pour déterminer leur mode d'hérédité. Les familles à analyser ont donc été choisies en fonction de ces deux terpènes.

a- Limonène.

Pour ce qui concerne le limonène, il n'a pas été possible, d'interpréter les résultats observés dans les familles de plein-frères analysées. Pourtant, Arbez et al. (1974), sur la base d'un petit nombre d'analyses, avaient tendance à rapprocher le comportement du Pin noir de celui du Pin maritime, où un locus biallélique commande l'expression du caractère. Or, chez ce même Pin maritime, le taux de limonène n'atteint une valeur stable que lorsque les arbres sont âgés de 8 à 10 ans (Baradat et al., 1972). Dans le cas du Pin noir, il est donc possible que l'expression de ce caractère, liée à la mise en place de la chaîne de biosynthèse dans les tissus extérieurs au bois, ne soit pas stabilisée à 6 ans, âge des familles de plein-frères analysées.

b- Caryophyllène.

Pour huit familles, une série d'analyses à effectif limité (une dizaine d'individus par famille) ont été faites. Seule une famille a fait l'objet d'analyses en nombre plus important.

Trois premières séries d'analyses, comprenant des croisements entre 4 clones distincts, laissent supposer l'existence d'un allèle de pauvreté. Les clones ATO 8, ATO 10, VNO 5 et CLB 35 seraient tous homozygotes pour cet allèle et leur descendance comporterait exclusivement des génotypes identiques au leur pour la teneur en caryophyllène. Ces teneurs s'échelonnent entre 0.31 et 1.49% (tableaux 1, 2, et 3 au verso).

| 1 | Croisement | ATO 8 | | | | | ATO 10 | | | | |
|---|-----------------------------------|--------------------------------|------|------|------|------|--------------------------------|------|------|------|------|
| | % caryophyllène des clones | 0.54 | | | | | 0.24 | | | | |
| | % caryophyllène de 10 descendants | 0.33 | 0.34 | 0.35 | 0.40 | 0.41 | 0.68 | 0.73 | 0.77 | 0.82 | 1.21 |
| | Hypothèse génotype descendants | C ⁻ /C ⁻ | | | | | | | | | |
| | Hypothèse génotype clones | C ⁻ /C ⁻ | | | | | C ⁻ /C ⁻ | | | | |

| 2 | Croisement | ATO 8 | | | | | VNO 5 | | | | |
|---|-----------------------------------|--------------------------------|------|------|------|------|--------------------------------|------|------|------|------|
| | % caryophyllène des clones | 0.54 | | | | | 0.40 | | | | |
| | % caryophyllène de 10 descendants | 0.32 | 0.37 | 0.51 | 0.62 | 0.64 | 0.66 | 0.85 | 0.92 | 1.16 | 1.49 |
| | Hypothèse génotype descendants | C ⁻ /C ⁻ | | | | | | | | | |
| | Hypothèse génotype clones | C ⁻ /C ⁻ | | | | | C ⁻ /C ⁻ | | | | |

| 3 | Croisement | CLB 35 | | | | | VNO 5 | | | |
|---|----------------------------------|--------------------------------|------|------|------|------|--------------------------------|------|------|--|
| | % caryophyllène des clones | 0.32 | | | | | 0.40 | | | |
| | % caryophyllène de 8 descendants | 0.31 | 0.46 | 0.61 | 0.62 | 0.63 | 0.64 | 0.85 | 0.99 | |
| | Hypothèse génotype descendants | C ⁻ /C ⁻ | | | | | | | | |
| | Hypothèse génotype clones | C ⁻ /C ⁻ | | | | | C ⁻ /C ⁻ | | | |

Analyses terpéniques de trois croisements.

Deux des clones présumés C^-/C^- (ATO 8 et ATO 10) sont croisés avec deux clones plus riches (VIZ 3 et CLB 7):

| 4 | Croisement | ATO 8 | | | | VIZ 3 | | | |
|----------------------------------|------------|-----------|------|------|------|-------------------------------|------|------|------|
| % caryophyllène des clones | | 0.54 | | | | 2.19 | | | |
| % caryophyllène de 8 descendants | | 0.45 | 0.64 | 1.10 | 1.11 | 1.73 | 3.30 | 5.30 | 5.82 |
| Hypothèse génotype descendants | | C^-/C^- | | | | C^+/C^- (ségrégation 1:1 ?) | | | |
| Hypothèse génotype clones | | C^-/C^- | | | | C^+/C^- | | | |

| 5 | Croisement | ATO 10 | | | | | CLB7 | | | |
|----------------------------------|------------|-----------|------|------|------|------|-------------------------------|------|------|------|
| % caryophyllène des clones | | 0.24 | | | | | 1.37 | | | |
| % caryophyllène de 9 descendants | | 0.00 | 0.36 | 0.53 | 0.56 | 1.97 | 2.43 | 3.20 | 3.61 | 4.36 |
| Hypothèse génotype descendants | | C^-/C^- | | | | | C^+/C^- (ségrégation 1:1 ?) | | | |
| Hypothèse génotype clones | | C^-/C^- | | | | | C^+/C^- | | | |

La ségrégation observée, malgré le faible nombre d'analyses, laisse supposer l'existence d'un allèle de richesse C^+ pour lequel les deux clones moyennement riches seraient hétérozygotes. Le point de troncature entre les génotypes présumés C^-/C^- et C^-/C^+ est pris à 1.49%, valeur du plus riche des homozygotes pauvres des trois premières séries d'analyses. L'analyse de 44 individus du croisement CLB 7*VIZ 3 a donné les résultats présentés au verso. Une ségrégation 1/4 C^-/C^- (jusqu'à 1.49%), 3/4 C^+/C^- , C^+/C^+ était attendue: un test du chi 2 n'a pas pu permettre de rejeter ou d'admettre les hypothèses formulées.

Le clone VNO 13, nettement plus riche que les autres clones, a été analysé en croisement avec deux clones homozygotes pauvres (ATO 8 et VNO 13). Les résultats peuvent s'interpréter en considérant l'existence d'un troisième allèle, C^{++} , pour lequel VNO 13 serait homozygote. Les hétérozygotes C^{++}/C^- auraient des valeurs comprises entre 7.68 et 17.31% :

| 6 | Croisement | ATO 8 | | | | | VNO 13 | | | | |
|-----------------------------------|------------|--------------|------|------|------|------|-----------------|-------|-------|-------|-------|
| % caryophyllène des clones | | 0.54 | | | | | 14.74 | | | | |
| % caryophyllène de 10 descendants | | 7.68 | 7.96 | 8.04 | 8.13 | 8.13 | 8.87 | 11.93 | 14.02 | 14.16 | 15.76 |
| Hypothèse génotype descendants | | C^{++}/C^- | | | | | | | | | |
| Hypothèse génotype clones | | C^-/C^- | | | | | C^{++}/C^{++} | | | | |

| 7 | Croisement | VNO 13 | | | | | VNO 5 | | | | |
|----------------------------------|------------|-----------------|------|------|-------|-------|-----------|-------|-------|-------|--|
| % caryophyllène des clones | | 14.74 | | | | | 0.40 | | | | |
| % caryophyllène de 9 descendants | | 8.53 | 8.91 | 9.17 | 11.80 | 11.88 | 12.39 | 14.71 | 15.04 | 17.31 | |
| Hypothèse génotype descendants | | C^{++}/C^- | | | | | | | | | |
| Hypothèse génotype clones | | C^{++}/C^{++} | | | | | C^-/C^- | | | | |

Une dernière série d'analyses envisage le croisement d'un hétérozygote moyennement riche C^+/C^- et de l'homozygote riche C^{++}/C^{++} :

| 8 | Croisement | VIZ 3 | | | | | VNO 13 | | | |
|----------------------------------|--------------|--------------|------|------|---------------------|-----------------|--------|-------|-------|-------|
| % caryophyllène des clones | | 2.19 | | | | | 14.74 | | | |
| % caryophyllène de 9 descendants | | 5.87 | 5.96 | 8.14 | 9.24 | 11.85 | 13.22 | 13.41 | 13.91 | 13.46 |
| Hypothèse génotype descendants | C^{++}/C^+ | C^{++}/C^- | | | (ségrégation 1:1 ?) | | | | | |
| Hypothèse génotype clones | | C^+/C^- | | | | C^{++}/C^{++} | | | | |

Selon ces hypothèses génotypiques, une ségrégation 1:1 est attendue entre des génotypes C^{++}/C^- et des génotypes C^{++}/C^+ . En plaçant le seuil entre les deux types de génotypes possibles à 5.82 (valeur de l'hétérozygote C^+/C^- le plus riche, tableau 4), un test du chi 2 (=2.8, à 1 ddl, seuil 10 à 5%) ne permet pas de conclure au bien fondé de l'hypothèse d'une ségrégation 1:1 sur un si faible effectif.

5) Conclusion.

Ces premiers travaux concernant l'hérédité de la concentration en terpènes chez *Pinus nigra*, suggèrent l'existence d'un locus comportant trois allèles distincts, un allèle de pauvreté, un allèle de richesse moyenne et un allèle de plus grande richesse. Les données disponibles ne permettent pas d'évaluer le degré de dominance des allèles, des travaux complémentaires seraient nécessaires. L'ensemble de ces résultats reste donc à préciser au cours d'analyses portant sur un plus grand nombre d'individus, ayant dépassé la phase juvénile de mise en place des chaînes de biosynthèse terpénique et issus des croisements de clones aux profils terpéniques contrastés.

II/ ETUDE EXPERIMENTALE.

DEUXIEME PARTIE

L'HYBRIDATION D'UNE SOUS-ESPECE DU PIN NOIR.

La diversité révélée par les marqueurs en général et les terpènes en particulier a de l'importance pour le sélectionneur, qui ne perd pas de vue le potentiel de variabilité indispensable à une gestion à long terme des ressources génétiques, même si l'intérêt pratique immédiat ne s'en fait pas ressentir. L'attention des sélectionneurs pour *Pinus nigra* est principalement concentrée en France sur les Pins laricio de Corse, qui sont ainsi les plus étudiés. Pourtant les qualités des Pins laricio de Calabre, plus résistants face à des conditions défavorables, ont incité les améliorateurs à tenter des croisements entre les deux races géographiques de Pins laricio pour "associer" à la qualité sylvicole des provenances corses la rusticité des provenances de Calabre. Par ailleurs, il était intéressant de tester l'existence d'éventuels effets d'hétérosis sur les caractères de vigueur.

Dès 1968, des croisements polycross entre les deux types de Pins avaient été réalisés. Les hybrides obtenus, installés en forêt en 1971-1972, ont fait l'objet d'une première étude en 1979 (Tournois) sur leur trois stations d'implantation: au Ruscas (Var), à Cendrieux (Dordogne) et en forêt d'Orléans (Loiret). Pour la croissance en hauteur, ils manifestaient une supériorité sur leurs parents les plus performants, mais celle-ci disparaissait dès la 7ème pousse. Ces mêmes hybrides, étudiés à Orléans (Guillet, 1986), ne présentaient plus de supériorité à 16 ans pour la hauteur totale et le volume du tronc. Au contraire, en 1984, Roman-Amat situe des provenances des Barres et de Koeklare, considérées comme hybrides (issus de croisements non contrôlés), aux premiers rangs des classements pour leur croissance en hauteur et leur circonférence, supérieures aux espèces pures. Il conclue alors à un effet d'hétérosis encore net à 14 et 16 ans à Verdun (55) et Lamotte-Beuvron (41). Certains croisements Corse-Calabre pourraient donc présenter de l'intérêt. Ces résultats ont conduit à la mise en place de plans de croisements contrôlés, pour évaluer les effets d'aptitude générale et d'aptitude spécifique à la combinaison de quelques géniteurs choisis parmi les Pins laricio de Corse et de Calabre. Les lignes qui suivent s'intéressent à l'étude d'un plan de croisements diallèle entre ces Pins.

| F ₇ M-> | ATO8 | ATO10 | VIZ3 | VNO5 | VNO13 | MAR9 | CLB6 | CLB7 | CLB14 | CLB16 | CLB33 | CLB35 |
|--------------------|------|-------|------|------|-------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| ATO8 | 0 | 7 6 | 7 6 | 8 6 | 7 5 | 0 | 7 5 | 9 6 | 9 6 | 0 | 4 3 | 6 5 |
| ATO10 | 10 6 | 4 0 | 12 6 | 6 5 | 6 5 | 0 | 9 6 | 6 4 | 10 6 | 8 6 | 0 | 0 4 |
| VIZ3 | 12 6 | 4 0 | 0 | 0 6 | 8 6 | 0 | 6 0 | 8 6 | 8 5 | 8 6 | 5 0 | 8 6 |
| VNO5 | 0 | 11 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 0 | 0 | 0 | 7 6 | 5 4 |
| VNO13 | 4 5 | 3 0 | 7 5 | 8 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 0 | 0 | 0 |
| MAR9 | 9 6 | 11 6 | 10 6 | 8 8 | 10 6 | 0 | 9 6 | 9 6 | 7 6 | 9 6 | 6 6 | 10 5 |
| CLB6 | 0 | 6 5 | 9 0 | 0 | 5 4 | 0 | 0 | 4 4 | 4 4 | 6 4 | 8 5 | 0 3 |
| CLB7 | 13 5 | 10 5 | 7 5 | 8 5 | 0 | 0 | 8 5 | 0 | 9 6 | 10 4 | 9 6 | 9 5 |
| CLB14 | 0 | 6 4 | 0 | 5 4 | 0 | 0 | 0 5 | 4 3 | 0 | 0 | 4 0 | 0 |
| CLB16 | 9 5 | 10 6 | 9 5 | 10 6 | 0 | 0 | 10 6 | 11 7 | 10 6 | 0 | 9 7 | 10 7 |
| CLB33 | 0 4 | 5 4 | 8 6 | 7 6 | 0 | 0 | 4 0 | 0 | 6 5 | 0 | 0 | 0 |
| CLB35 | 4 0 | 4 3 | 5 0 | 9 7 | 4 4 | 0 | 0 | 0 5 | 6 5 | 0 | 8 6 | 6 5 |

PLAN DU CROISEMENT DIALLELE ET NOMBRE DE PARCELLES UNITAIRES

EN DORDOGNE (3.421-1) | EN NORMANDIE (3.421-2)

A/ REALISATION ET MISE EN PLACE DU PLAN DE CROISEMENTS.

1) Clones utilisés.

Pour réaliser les croisements, 12 clones greffés, installés au domaine des Barres ont été choisis. Dans le parc à clones de Pins laricio de Corse composé des copies d'arbres "plus" sélectionnés dans l'aire naturelle par P.Bouvarel en 1956/1957, 6 clones ont été retenus:

ATO 8 et ATO 10, de la forêt domaniale d'Aitone
 MAR 9, de la forêt domaniale de Marmano
 VIZ 3, de la forêt domaniale de Vizzavona
 VNO 5 et VNO 13, de la forêt domaniale de Valdoniello.

Six génotypes ont été choisis dans le parc à clones des Pins laricio de Calabre,
 -copies des arbres introduits par Ph.A. de Vilmorin en 1823, pour la première génération,
 -descendances de ces derniers pour la deuxième génération,
 -mélange des graines récoltées sur les générations I et II pour la "génération III":

CLB 6 : Génération I
 CLB 7 : Génération II
 CLB 14: Génération I
 CLB 16: "Génération III"
 CLB 33: Génération II
 CLB 35: Génération II

2) Plan de croisements.

Les croisements ont été réalisés selon le schéma ci-contre en 1980. Sur les 144 (12*12) combinaisons possibles seules 95 existent effectivement, 49 d'entre elles ont échoué faute de graines ou de plants viables. Les graines ont été semées en pépinière (en mottes) en mai 83 et les plants installés dans deux stations à l'automne 83, selon des dispositifs en blocs incomplets aléatoires. La première implantation - expérience n° 3 421-1 - se trouve dans la forêt domaniale du Parent, en Dordogne. Les lignes, à 3 mètres d'intervalle, comportent des parcelles unitaires de 4 arbres (espacés de 2 mètres) d'une même famille. Cinq parcelles unitaires consécutives représentent un bloc. La seconde implantation - n°3 421-2 - est située en forêt domaniale de Duclair, en Seine-Maritime. Les parcelles unitaires comportent 5 arbres dans ce dispositif. Les effectifs des familles en Dordogne et en Normandie (en nombre de parcelles unitaires) sont donnés dans le tableau ci-contre.

B/ ETUDE BIOMETRIQUE.**1) Caractères mesurés.**

Trois mesures de hauteurs totales étaient disponibles, mesurées en 1985, 1987 et 1988 sur les deux stations. Trois accroissements pouvaient donc être calculés: 85-87, 87-88 et 85-88. Une note de fourchaison a été relevée en 1988. Elle répertoriait les accidents de branchaison visibles sur l'arbre et s'échelonnait entre 0 et 4. Au total l'étude pouvait donc porter sur 7 caractères.

Les mesures ont été saisies sur fichier pour un traitement informatique avec la chaîne OPEP d'analyses statistiques.

2) Modèles pour l'analyse d'un plan diallèle.

L'estimation des effets et des matrices de variance-covariance pour un schéma diallèle est complexe. Le principe de décomposition à été mis au point par Griffing (1966). Les calculs sont encore plus délicats dans le cas d'un diallèle non orthogonal, ce qui est notre cas. L'analyse est possible grâce à l'utilisation des modèles de Keuls et Garretsen (1977, 1978) intégrés dans la chaîne OPEP (Baradat, 1989).

Les modèles utilisés pour étudier un plan diallèle peuvent prendre en compte ou ignorer l'existence d'effets réciproques.

a- Les effets réciproques.

On considère la valeur d'un croisement entre deux individus hermaphrodites i et j dans les deux sens (m pour mâle, f pour femelle):

$$Y_{imjf} = \mu + g_{im} + g_{jf} + s_{imjf}$$

$$Y_{ifjm} = \mu + g_{if} + g_{jm} + s_{ifjm}$$

g_i et g_j étant les effets des génotypes i et j et s_{ij} leur interaction.

Les demi-somme et demi-différences conduisent au modèle final:

$$1/2(Y_{imjf} + Y_{ifjm}) = \mu + 1/2(g_{im} + g_{if}) + 1/2(g_{jm} + g_{jf}) + 1/2(s_{imjf} + s_{ifjm})$$

$$\text{ou encore: } 1/2 S = \mu + g_i + g_j + s_{ij}$$

Où g_i et g_j sont les aptitudes générales des individus i et j et s_{ij} leur aptitude spécifique à la combinaison (AGC et ASC).

Si, par ailleurs, on considère la différence entre les performances de deux croisements réciproques, on a:

$$1/2(Y_{imj\bar{f}} - Y_{if\bar{j}m}) = \mu + 1/2(g_{im} - g_{im}) - 1/2(g_{jm} - g_{jf}) + 1/2(s_{imj\bar{f}} - s_{if\bar{j}m})$$

$$\text{ou encore: } 1/2 D = m_i - m_j + r_{ij}$$

Où m_i et m_j sont les effets réciproques généraux de i et j et r_{ij} l'effet réciproque spécifique du couple i, j (ERG et ERS). Ces effets réciproques traduisent des déviations dues aux différences de "comportement" observés lors de l'utilisation d'un génotype comme mâle ou comme femelle, et les différences d'interaction entre les deux géniteurs selon le sens de croisement considéré.

On a :

$$1/2 S + 1/2 D = Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + m_i - m_j + r_{ij}$$

Et ceci est valable pour chaque case associée à un croisement particulier du diallèle. On a alors, pour chaque individu k , e_{ijk} désignant l'erreur résiduelle:

$$Y_{ijk} = \mu + \underset{\substack{\text{AGC du parent } i. \\ \text{AGC du parent } j. \\ \text{ASC de la combinaison } i, j.}}{g_i + g_j + s_{ij}} + \underset{\substack{\text{ERG du parent } i. \\ \text{ERG du parent } j. \\ \text{ERS de la combinaison } i, j.}}{m_i - m_j + r_{ij}} + e_{ijk}$$

b- Modèle sans effets réciproques.

On ne considère que la moitié du diallèle, les cases symétriques par rapport à la diagonale étant confondues. Le modèle se contente alors de décrire les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison (AGC et ASC):

$$Y_{ijk} = \mu + \underset{\substack{\text{AGC des parents } i \text{ et } j. \\ \text{ASC du couple } i, j.}}{g_i + g_j + s_{ij}} + e_{ijk}$$

| F ₁ M-> | ATO8 | ATO10 | VIZ3 | VNO5 | VNO13 | MAR9 | CLB6 | CLB7 | CLB14 | CLB16 | CLB33 | CLB35 |
|--------------------|---------------------|-----------|------|------|-------|------|---------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
| ATO8 | | | | | | | | | | | | |
| ATO10 | | | | | | | | | | | | |
| VIZ3 | INTRA-CORSE | | | | | | INTER CORSE/CALABRE | | | | | |
| VNO5 | | Diallèle | | | | | | Factoriel | | | | |
| VNO13 | | | | | | | | | | | | |
| MAR9 | | | | | | | | | | | | |
| CLB6 | | | | | | | | | | | | |
| CLB7 | | | | | | | | | | | | |
| CLB14 | INTER CORSE/CALABRE | | | | | | INTRA CALABRE | | | | | |
| CLB16 | | Factoriel | | | | | | Diallèle | | | | |
| CLB33 | | | | | | | | | | | | |
| CLB35 | | | | | | | | | | | | |

DECOMPOSITION DU PLAN DIALLELE.

c- Cas du diallèle 12*12.

Si le diallèle 12*12 peut être étudié en entier, il peut aussi être divisé en quatre parties distinctes représentées sur le schéma ci-contre:

- un diallèle 6*6 de croisements intra-Corse.
- un diallèle 6*6 de croisements intra-Calabre.
- deux factoriels 6*6 de croisements inter Corse-Calabre symétriques l'un de l'autre

Chaque partie peut alors être étudiée séparément.

C/ RESULTATS ET INTERPRETATIONS.

1) L'interaction génotype-milieu.

a- Diallèle complet.

Pour tester l'existence d'une éventuelle interaction génotype-milieu, qui se traduirait par un comportement différent des génotypes selon le milieu considéré, une analyse de variance a été réalisée sur l'ensemble des données selon un modèle en classification croisée à deux facteurs. La performance d'un individu k de la famille i dans la station j, s'explique par un effet famille, un effet station, une interaction entre les deux facteurs et une résiduelle:

$$Y_{ijk} = \mu + f_i + s_j + (f*s)_{ij} + e_{ijk}$$

Les données individuelles Y_{ijk} ont été préalablement ajustées à l'effet bloc / station:

$$Y_{ijk} = Y'_{ijml} - \beta_m$$

|
 | donnée brute (individu l du bloc m).
 |
 | effet du bloc m.

1. Effets.

Les tests F pour les différents facteurs ont donné les résultats suivants:

- Facteur famille ajusté F(94,3787)

| | | | | | | | |
|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|
| Car. Test | H 85 2.91 | H 87 3.24 | H 88 3.34 | Acc 85-87 3.38 | Acc 87-88 3.18 | Acc 85-88 3.45 | Fourch 1.30 |
|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|

(Tests tous significatifs au seuil 1%).

- Facteur station ajusté F(1,1387)

| | | | | | | | |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| Car. Test | H 85 587** | H 87 273** | H 88 402** | Acc 85-87 0.11 ^{ns} | Acc 87-88 439** | Acc 85-88 166** | Fourch 35** |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|----------------|

(Non significatif^{ns} - significatif à 1%**).

- Interaction f*s F(77,3787)

| | | | | | | | |
|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|
| Car. Test | H 85 2.91 | H 87 3.24 | H 88 3.34 | Acc 85-87 3.38 | Acc 87-88 3.18 | Acc 85-88 3.45 | Fourch 1.30 ^{ns} |
|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|

(tests significatifs à 1%, sauf le dernier, non significatif^{ns})

Les effets famille et station sont hautement significatifs, l'absence d'effet station sur le premier accroissement pourrait s'expliquer par des croissances différentes dans les deux stations mais conduisant à des résultats comparables (voir les moyennes plus bas).

2. Ecovalences.

Selon l'approche de Wrike (1962) la somme totale des carrés due à l'interaction peut, avec n niveaux de facteur (dans notre cas il s'agira de familles, nous conservons ce terme pour la suite, mais ceci peut s'appliquer à d'autres unités), se décomposer en n sommes partielles. Ces sommes partielles sont appelées écovalences et mesurent la part de chaque famille dans l'interaction totale. Soit W_i l'écovalence de la famille i, j étant l'indice "station", avec n_{ij} effectif de la famille i dans la station j:

$$W_i = 1/n_i \cdot \sum_j n_{ij} (f*s)^2_{ij}$$

On dispose ainsi d'une mesure directe de l'interactivité de chaque famille indépendante du caractère linéaire ou non linéaire de l'effet de la station sur cette famille. Ce paramètre peut être exprimé en valeur relative (pourcentage de la somme totale des carrés d'interaction), ce qui le rend indépendant des unités de mesure et de la valeur des effets, on a :

$$W_i' = 100 * W_i / \sum_i W_i$$

Les écovalences calculées pour le facteur famille indiquent que 50% de l'interaction, en cumulant sur l'ensemble des caractères, est partagée par 26 familles, 75% par 43 familles. Ces effectifs sont trop élevés (respectivement 27 et 45% de l'effectif total) pour que l'on puisse se permettre d'écarter les familles interactives des analyses. Ce procédé est classique en amélioration des arbres forestiers lorsque seules quelques familles sont responsables de la plus grande part de l'interaction.

3. Test d'un effet multiplicatif.

L'interaction observée peut parfois provenir d'un effet multiplicatif des stations sur les géotypes. Or le modèle d'analyse de variance suppose l'additivité des effets étudiés: tout écart à cette additivité majore les effets d'interaction. Dans notre cas, les résultats en Dordogne sont meilleurs que ceux de Normandie sur les moyennes générales, calculées sur 2011 individus en Dordogne, et 1949 en Normandie:

| Car. | H 85 | H 87 | H 88 | Acc 85-87 | Acc 87-88 | Acc 85-88 | Fourch |
|-------|------|------|------|-----------|-----------|-----------|--------|
| Dord. | 78 | 114 | 184 | 36 | 70 | 106 | 0.44 |
| Norm. | 64 | 100 | 160 | 36 | 60 | 96 | 0.33 |

Au domaine du Parent, En Dordogne, les sols argileux sont plus riches, et la réserve en eau est plus importante qu'en Normandie où le dispositif est situé sur sol sableux, plus pauvre. La mesure de fourchaison est corrélée positivement avec la vigueur (les arbres les plus vigoureux sont les plus fourchus): sa moyenne est plus élevée en Dordogne qu'en Normandie.

Si l'effet station était de type multiplicatif, la transformation des caractères en logarithme le rendrait additif. Les résultats ont été les suivants:

Interaction f*s, F(77,3787)

| | | | | | | | |
|----------|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|
| LOG Test | H 85 2.75 | H 87 2.96 | H 88 3.21 | Acc 85-87 3.13 | Acc 87-88 3.04 | Acc 85-88 3.34 | Fourch 1.29 ^{ns} |
|----------|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|

(tests significatifs à 1%, sauf le dernier, non significatif^{ns})

L'interaction génotype-milieu n'est pratiquement pas modifiée par cette transformation, elle n'est donc pas due uniquement à un effet multiplicatif des stations sur les génotypes. Pour préciser la nature de cette interaction, une autre technique consiste à étudier les corrélations entre les deux stations.

b- Corrélations entre aptitudes générales.

Une analyse de variance "classique" où l'interaction est intégrée dans le modèle possède une validité limitée par les éventuelles différences de variances résiduelles entre les stations et par le choix, parfois délicat, de considérer le milieu comme un facteur fixe ou aléatoire. L'étude des corrélations présente l'avantage d'être indépendante de ces types de contraintes (Burdon, 1977).

Les analyses de variances sont faites indépendamment dans les deux dispositifs et les aptitudes générales, calculées sur les deux stations sont considérées comme portant sur des caractères différents. Il est alors possible de calculer la corrélation entre aptitudes générales sur les sept caractères à partir des deux factoriels réciproques confondus, d'une part, et à partir des diallèles intra d'autre part. Pour les 6 clones de Pins laricio de Corse des croisements (4 ddl pour le test):

| Corrélations entre AGC | Factoriel | Diallèle intra |
|-------------------------|-----------|----------------|
| H.85 (Dord.-Norm.) | 0.485 | 0.799 |
| H.87 (Dord.-Norm.) | 0.515 | 0.790 |
| H.88 (Dord.-Norm.) | 0.614 | 0.800 |
| Acc.85-87 (Dord.-Norm.) | 0.795 | 0.314 |
| Acc.87-88 (Dord.-Norm.) | 0.768 | 0.678 |
| Acc.85-88 (Dord.-Norm.) | 0.645 | 0.570 |
| Fourch (Dord.-Norm.) | 0.585 | 0.802 |

Corrélations non significatives, pour $p = 5\%$, $r = 0.811$.

Compte tenu du petit nombre de degrés de liberté, la barre de signification des corrélations est placée assez haut. Pour les clones de Pins laricio de Corse, les corrélations sont non significatives dans le plan factoriel, mais relativement, les corrélations entre aptitudes générales calculées pour les accroissements sont plus élevées dans ces plans que dans le diallèle intra. On pourrait avancer, avec prudence, que l'AGC des corses pour ces caractères, en croisement avec les calabrais est la moins instable d'une station à l'autre. Par contre en croisements intra-corse, la tendance semble s'inverser: les AGC pour les hauteurs et pour la fourchaison sont les moins affectées par le milieu. Les corrélations restent non significatives mais plus élevées que dans le factoriel pour ces caractères.

Pour les Pins laricio de Calabre:

| Corrélations entre AGC | Factoriel | Diallèle intra |
|-------------------------|-----------|----------------|
| H.85 (Dord.-Norm.) | 0.647 | 0.636 |
| H.87 (Dord.-Norm.) | 0.641 | 0.509 |
| H.88 (Dord.-Norm.) | 0.601 | 0.343 |
| Acc.85-87 (Dord.-Norm.) | 0.370 | 0.638 |
| Acc.87-88 (Dord.-Norm.) | 0.581 | 0.147 |
| Acc.85-88 (Dord.-Norm.) | 0.600 | 0.012 |
| Fourch (Dord.-Norm.) | 0.897* | 0.882* |

(Significatif à 5%*)

Les caractères de vigueur présentent des valeurs non significatives, et les hiérarchies rencontrées chez les Pins laricio de Corses n'apparaissent pas ici. Par contre, pour les deux plans de croisements, il y a corrélation significative entre les aptitudes générales à la combinaison pour la fourchaison dans les deux stations. En croisement, intra ou inter, les classements des AGC pour ce caractère sont donc peu influencés par la station. L'absence d'interaction pour la fourchaison dans le diallèle complet, doit donc être interprétée à la lumière de l'analyse par sous-plan de croisements. Les clones de Corse sont sensibles au milieu, alors que les clones de Calabre ont un comportement plus homogène.

La présence d'une interaction génotype-milieu et le manque de corrélation des AGC d'une station à l'autre, nous contraignent à étudier les plans de croisements indépendamment sur les deux stations et limiteront forcément la valeur générale des interprétations.

2) Les effets réciproques.

Le résultat d'un croisement dépend-il du fait qu'un clone donné a été utilisé comme mâle ou comme femelle ? L'application du modèle explicité en B/2)a- va nous aider à répondre à cette question. Les niveaux de signification des effets réciproques généraux (ERG) sur tous les caractères dans chaque station sont les suivants (F(10,1902) en Dordogne, F(10,1852) en Normandie):

| ERG | H 85 | H 87 | H 88 | Acc 85-87 | Acc 87-88 | Acc 85-88 | Fourch |
|-------|------|------|------|-----------|-----------|-----------|--------------------|
| Dord. | 4.35 | 6.10 | 4.95 | 6.18 | 1.89 | 4.55 | 0.68 ^{ns} |
| Norm. | 3.15 | 4.02 | 4.30 | 3.73 | 3.63 | 4.07 | 1.18 ^{ns} |

(Effets tous significatifs à 1%, sauf ^{ns}, non significatifs).

L'effet réciproque général est significatif pour tous les caractères de vigueur, et absent pour la fourchaison. L'effet maternel garde donc de l'importance sur la croissance dans ces dispositifs, âgés de 6 ans. L'avantage donné au départ à des plants issus de graines de plus grande taille, par exemple, n'a pas encore disparu à cet âge. L'effet maternel peut avoir deux origines. L'arbre mère, qui porte la graine, a tout d'abord une influence directe sur sa formation. En plus, comme chez tous les gymnospermes, l'endosperme de la graine, tissu nourricier de l'embryon, est d'origine uniquement maternelle. L'effet peut donc être lié au génotype diploïde de l'arbre mère et au génotype haploïde de l'endosperme qui lui est évidemment étroitement corrélé (Bramlett et al., 1983).

La fourchaison, déjà moins sensible aux effets du milieu physique, semble ici peu touchée par un "milieu physiologique" différent, dû au sens du croisement.

Les effets réciproques spécifiques (ERS), F(17,1902) pour la Dordogne, F(13,1852) pour la Normandie:

| ERS | H 85 | H 87 | H 88 | Acc 85-87 | Acc 87-88 | Acc 85-88 | Fourch |
|-------|------|------|------|--------------------|-----------|--------------------|--------------------|
| Dord. | 2.74 | 1.84 | 2.11 | 0.41 ^{ns} | 2.06 | 1.40 ^{ns} | 2.55 |
| Norm. | 4.03 | 3.28 | 2.98 | 1.69 ^{ns} | 2.57 | 2.44 | 1.73 ^{ns} |

(Effets tous significatifs à 1%, sauf ^{ns}, non significatifs).

L'interaction entre deux clones, croisés, change selon qu'ils sont utilisés comme mâle ou comme femelle. Cette interaction apparait importante pour les hauteurs dans les deux stations. Elle est absente pour le premier accroissement, dans les deux stations, puis apparait pour le second accroissement. L'effet est variable selon la station pour l'accroissement cumulé et pour la fourchaison. En l'absence d'explication simple à ces observations, il reste que les effets réciproques jouent un rôle à l'échelle du diallèle complet.

Malgré cela, nous avons utilisé, pour l'étude des aptitudes générales et spécifique à la combinaison, un modèle sans effets réciproques pour les deux diallèles intra. Leurs effectifs sont en effet assez déséquilibrés. Les deux factoriels ont été étudiés séparément.

3) Diallèles intra-raciaux: aptitudes générales et spécifiques.

a- Diallèle des Pins laricio de Corse.

Les effets d'AGC ont été calculés en Dordogne (F(5,499)) et en Normandie (F(13,1852)):

| AGC | H 85 | H 87 | H 88 | Acc 85-87 | Acc 87-88 | Acc 85-88 | Fourch |
|-------|-------|-------|-------|-----------|-----------|-----------|--------|
| Dord. | 9.85 | 8.40 | 11.59 | 5.27 | 16.81 | 13.67 | 3.97 |
| Norm. | 12.25 | 14.85 | 16.00 | 8.69 | 11.36 | 13.74 | 11.12 |

(Effets tous significatifs à 1%)

Sans distinction de station, ceux-ci sont élevés. Pour les effets d'ASC (F(58,499) en Dordogne et F(9,515) en Normandie):

| ASC | H 85 | H 87 | H 88 | A 85-87 | A 87-88 | A 85-88 | Fourch |
|-------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dord. | 1.31 ^{ns} | 1.19 ^{ns} | 1.42 ^{ns} | 0.97 ^{ns} | 2.20 [*] | 1.76 ^{ns} | 1.38 ^{ns} |
| Norm. | 10.05 ^{**} | 9.68 ^{**} | 9.58 ^{**} | 5.08 ^{ns} | 5.60 ^{**} | 6.65 ^{**} | 1.05 ^{ns} |

(Effets non significatifs^{ns}, significatifs à 5%^{*}, à 1%^{**}).

Entre les deux stations, une différence de comportement totale. Absence d'aptitude spécifique en Dordogne, forte présence en Normandie. A nouveau, Le seul accord (logique vu l'absence d'interaction génotype-milieu) est trouvé sur la fourchaison, dominée par l'aptitude générale.

a- Diallèle des Pins laricio de Calabre.

On a, de même:

Dordogne F(5,458), Normandie F(5,456).

| ASC | H 85 | H 87 | H 88 | A 85-87 | A 87-88 | A 85-88 | Fourch |
|-------|---------|---------|---------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
| Dord. | 7.81** | 6.33** | 2.57* | 1.90 ^{ns} | 1.54 ^{ns} | 0.59 ^{ns} | 10.11** |
| Norm. | 12.98** | 10.26** | 12.23** | 3.00* | 13.54** | 9.50** | 14.31** |

Dordogne F(8,458), Normandie F(9,456).

| ASC | H 85 | H 87 | H 88 | A 85-87 | A 87-88 | A 85-88 | Fourch |
|-------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dord. | 2.04* | 3.28** | 2.69** | 3.71** | 1.39 ^{ns} | 2.73** | 1.80 ^{ns} |
| Norm. | 1.25 ^{ns} | 1.35 ^{ns} | 1.07 ^{ns} | 1.37 ^{ns} | 0.80 ^{ns} | 1.16 ^{ns} | 1.81 ^{ns} |

(Effets non significatifs^{ns}, significatifs à 5%*, à 1%**).

Pour les ASC le résultat est inverse à celui des corses: forte présence en Dordogne, absence en Normandie.

La fourchaison est ici encore conditionnée par l'aptitude générale à la combinaison des clones, l'aptitude spécifique étant absente. Les caractères de vigueur sont très influencés par l'effet station.

4) Les deux factoriels.

Nous avons testé pour ces factoriels, les effets mère ou père corse, mère ou père calabrais selon le modèle suivant:

$$Y_{ijk} = \mu + m_i + p_j + s_{ij} + e_{ijk}$$

Pour un individu k issu du croisement d'une mère i (effet m_i) avec un père j (effet p_j), une interaction s_{ij} et un effet individuel e_{ijk} .

a- Effets parentaux chez les Pins de Corse.

Utilisés comme mère ou père, les clones de Corse ont les effets suivants:

F(5,508) en Dordogne, F(4,508) en Normandie

| Mère | H 85 | H 87 | H 88 | A 85-87 | A 87-88 | A 85-88 | Fourch |
|-------|--------------------|--------|---------|---------|---------|---------|--------------------|
| Dord. | 11.56** | 9.48** | 10.46** | 6.01** | 7.81** | 9.23** | 0.80 ^{ns} |
| Norm. | 1.18 ^{ns} | 2.70* | 2.73* | 4.43** | 2.62* | 3.49** | 2.80* |

F(4,450) en Dordogne, F(4,385) en Normandie

| Père | H 85 | H 87 | H 88 | A 85-87 | A 87-88 | A 85-88 | Fourch |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------------------|
| Dord. | 13.23** | 13.89** | 17.90** | 7.03** | 16.11** | 15.48** | 1.72 ^{ns} |
| Norm. | 10.12** | 10.40** | 14.24** | 5.91** | 16.23** | 14.34** | 0.53 ^{ns} |

Globalement important sur tous les caractères de vigueur, et particulièrement pour les pères, l'effet du parent corse s'atténue ou disparaît pour la fourchaison.

b- Effets parentaux chez les Pins de Calabre.

Le comportement des Pins de Calabre est un peu différent :

F(5,450) en Dordogne, F(5,385) en Normandie

| Mère | H 85 | H 87 | H 88 | A 85-87 | A 87-88 | A 85-88 | Fourch |
|-------|---------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|--------------------|--------|
| Dord. | 11.02** | 11.62** | 9.27** | 8.06** | 4.19** | 7.73** | 6.69** |
| Norm. | 2.75* | 2.03 ^{ns} | 2.02 ^{ns} | 1.79 ^{ns} | 2.35* | 1.69 ^{ns} | 3.62** |

(Effets non significatifs^{ns}, significatifs à 5%*, à 1%**).

F(5,508) en Dordogne et en Normandie

| Mère | H 85 | H 87 | H 88 | A 85-87 | A 87-88 | A 85-88 | Fourch |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Dord. | 6.80** | 6.44** | 5.55** | 2.87* | 8.32** | 4.03** | 10.43** |
| Norm. | 11.67** | 11.13** | 12.87** | 5.45** | 12.49** | 10.86** | 7.42** |

(Effets significatifs à 5%*, à 1%**).

L'effet père est, comme pour les corses, très marqué sur tous les caractères. Par contre, l'effet mère est fluctuant selon la station. En confrontant les résultats des Pins laricio de Corse et de Calabre, on constate que la fourchaison s'explique entièrement par un effet Calabre alors que l'effet Corse, maternel ou paternel, est absent.

D/ CONCLUSIONS.

1) La fourchaison.

En résumé, la fourchaison présente une série de caractéristiques intéressantes.

Contrairement aux caractères de vigueur, la fourchaison a un comportement globalement stable face aux deux milieux: elle est la moins touchée par l'interaction génotype-station. Cette stabilité doit pourtant être décomposée entre les deux races géographiques. Les Pins laricio de Calabre ont des aptitudes à la combinaison pour ce caractère bien corrélées d'une station à l'autre, ce qui n'est pas le cas des Pins laricio de Corse.

La fourchaison se distingue à nouveau des caractères de vigueur pour les effets réciproques généraux: ils n'affectent pas son expression. Elle est donc stable selon les milieux et relativement insensible au sens du croisement.

En croisements intra races géographiques corse ou calabraise, c'est l'aptitude générale à la combinaison qui domine, l'aptitude spécifique est absente. L'additivité semble donc prépondérante pour ce caractère.

En croisements inter Corse-Calabre, seul le géniteur calabrais, utilisé comme femelle ou comme mâle a un effet sur la fourchaison. Il est toujours reproché aux provenances de Calabre leur sensibilité à la fourchaison, bien moindre pour les provenances de Corse. Le déterminisme génétique de la fourchaison chez les Pins de Calabre se trouve ici vérifié.

2) Distinction entre hybrides et croisements intra races géographiques.

Une supériorité des hybrides sur leur parents, pour la croissance en particulier, justifierait le développement de ces variétés à des fins sylvicoles. Ceci a été réalisé, pour des croisements interspécifiques, chez les mélèzes, les peupliers, et est à l'état d'essais chez les sapins et chez les Pins maritimes (en croisement entre races géographiques pour ces derniers) (Revue forestière française, n° spécial "amélioration", 1986).

Une analyse factorielle discriminante a été faite sur 4 caractères différents, pour une distinction, aussi puissante que possible, entre hybrides et non-hybrides. Ont été utilisés: la hauteur mesurée en 1985, les deux premiers accroissements (85-87 et 87-88) et la mesure de fourchaison, ceci dans les deux stations. Cette analyse n'a pas permis de distinguer les hybrides des croisements intra-Corse et intra-Calabre, ces deux derniers ne se distinguaient pas plus. Une analyse discriminante sur les seuls caractères de vigueur a abouti aux mêmes conclusions.

Dans nos conditions d'expérience, sur un terrain sableux en Normandie, argileux et plus riche, en Dordogne, on ne peut conclure à une distinction et donc à une quelconque supériorité des hybrides inter-raciaux sur des individus issus de croisements intra-raciaux, en ce qui concerne les caractères étudiés. Si Tournois (1979) évoquait une supériorité juvénile, nos résultats rejoignent ceux de Guillet (1986) qui ne constatait plus d'avantages chez les hybrides.

Comment expliquer cette absence de discrimination ?

Les terrains d'expérimentation ne permettent peut-être pas de révéler une différence. Serait-il plus intéressant de placer ce type de matériel dans des conditions plus perturbantes, pour le calcaire actif et l'hydromorphie, où une supériorité des hybrides serait éventuellement mise en évidence ?

L'origine des clones de Pins de Calabre choisis par Vilmorin il y a 160 ans n'est pas bien connue. De plus les deuxième et troisième générations comportent vraisemblablement des hybrides issus de l'apport de pollen des Pins laricio de Corse voisins. Dans notre plan de croisements, seuls deux clones (CLB6 et CLB14) sur six peuvent donc être déclarés "purs Calabre" sans risque d'erreur. Un échantillonnage dans l'aire naturelle serait nécessaire si l'on souhaitait réaliser de nouveaux hybrides.

L'étude des profils terpéniques (première partie) a mis en évidence une faible variabilité, et pour tous les terpènes observés, entre 21 clones de Pins laricio incluant les 12 clones utilisés pour les croisements. Or la relation entre distance génétique et hétérosis est aujourd'hui reconnue, même si elle semble souvent complexe. Globalement, la divergence génétique est une condition nécessaire (mais non suffisante) à l'expression d'un hétérosis (Lefort-Buson, 1985). Il est alors tentant, malgré l'envergure limitée des travaux réalisés, de faire, à posteriori, un lien entre la faible variabilité observée pour la composition en terpènes et l'absence d'hétérosis dans nos expériences. L'utilisation des distances calculées grâce aux marqueurs pourrait servir de soutien à la réalisation de croisements, pour maîtriser un certain niveau de diversité, lors des études d'hybridation (Brunel, 1985). Le choix des géniteurs impliqués dans l'hybridation devrait prendre en compte ces distances génétiques, calculées sur un nombre important de loci, ainsi que la structure génétique de la population d'origine pour avoir une idée de la représentativité, par rapport à cette population, des génotypes retenus dans la sous-espèce laricio, pour le sujet qui nous concerne.

ANNEXES

ANALYSE DE LA COMPOSITION EN TERPENES.

A/ PREPARATION DE L'ECHANTILLON.

1) Analyse individuelle.

L'analyse du profil terpénique d'un arbre donné se fait sur une bague de tissus corticaux (tissus extérieurs au bois, composés du liber et de l'écorce) d'un rameau. Ces tissus contiennent en effet un plus petit nombre de terpènes différents, à la différence des aiguilles, par exemple, ce qui conduit à des analyses plus lisibles. D'autre part, ces tissus présentent une composition plus stable au cours de l'année. La bague, d'une longueur de 5 cm environ, est prélevée à partir d'une branche terminale, sur la pousse de l'année précédent la date de récolte, si la récolte est faite en cours de saison de végétation. Cette pousse a donc terminé sa croissance en longueur: les tissus sont en repos végétatif, à un même stade physiologique pour tous les arbres, ce qui assure une certaine homogénéité de cet effet milieu pour tous les échantillons. Ces tissus sont hachés grossièrement, sont recouverts de pentane, meilleur solvant des terpènes, et y macèrent 2 heures au moins.

2) Echantillon moyen.

Le but n'est plus d'analyser chaque arbre mais d'étudier le profil terpénique du mélange des tissus corticaux de plusieurs individus d'un même groupe. La récolte s'effectue dans notre cas sur 30 arbres d'une même provenance, 10 arbres par répétition dans 3 répétitions ou 5 individus par parcelles dans 6 répétitions selon les disponibilités. Le reste du mode opératoire est identique à celui de l'analyse individuelle.

B/ CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE.

Le pentane ne dissout pas exclusivement les terpènes, le produit liquide de la macération contient en effet une série de composés (stéroïdes, pigments chlorophylliens), qu'il s'agit d'éliminer. Une chromatographie liquide-liquide va servir au préfractionnement. Celle-ci est effectuée dans une colonne de 1 cm de diamètre et de 15 cm de long, contenant 4 à 6 g (selon la quantité de matériel végétal) de gel de silice (Kieselgel Merck 70-230 mesh). Une petite quantité de sulfate de sodium anhydre assure l'élimination de l'humidité éventuellement présente dans l'échantillon.

La colonne est saturée au pentane, l'extrait terpénique est déposé à son sommet. On recueille dans un ballon le produit de la chromatographie à la base de la colonne. Les premières fractions qui s'écoulent contiennent les mono- et les sesquiterpènes, fortement miscibles dans le pentane et peu retenus par le gel de silice, du fait de leur petit poids moléculaire et de leur faible polarité.

Pour récupérer l'ensemble des hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques restants, la polarité du solvant est augmentée. Ainsi, le pentane-éther (98:2) permet d'entraîner en premier lieu les hydrocarbures terpéniques, alors que les composés plus polaires, tels que les caroténoïdes et les pigments chlorophylliens, sont retenus plus fortement par le gel de silice, y formant deux anneaux superposés. La migration est considérée comme terminée lorsque l'anneau des caroténoïdes (moins polaires donc plus entraînés que les chlorophylles) atteint la base de la colonne.

Le produit de cette chromatographie est alors réduit par évaporation à 35°C sous faible pression jusqu'à une quantité de 1 à 2 ml.

C/ CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

L'échantillon obtenu est analysé par chromatographie en phase gazeuse: les terpènes étant très volatiles, leur analyse directe, sans transformation chimique est possible. La détection des composés est faite sur chromatographes IGC 120 M, par ionisation de flamme, en colonne capillaire (de polyméthylsiloxane CP sil 5 CB apolaire, 25 m de longueur, et 0.33 mm de diamètre externe).

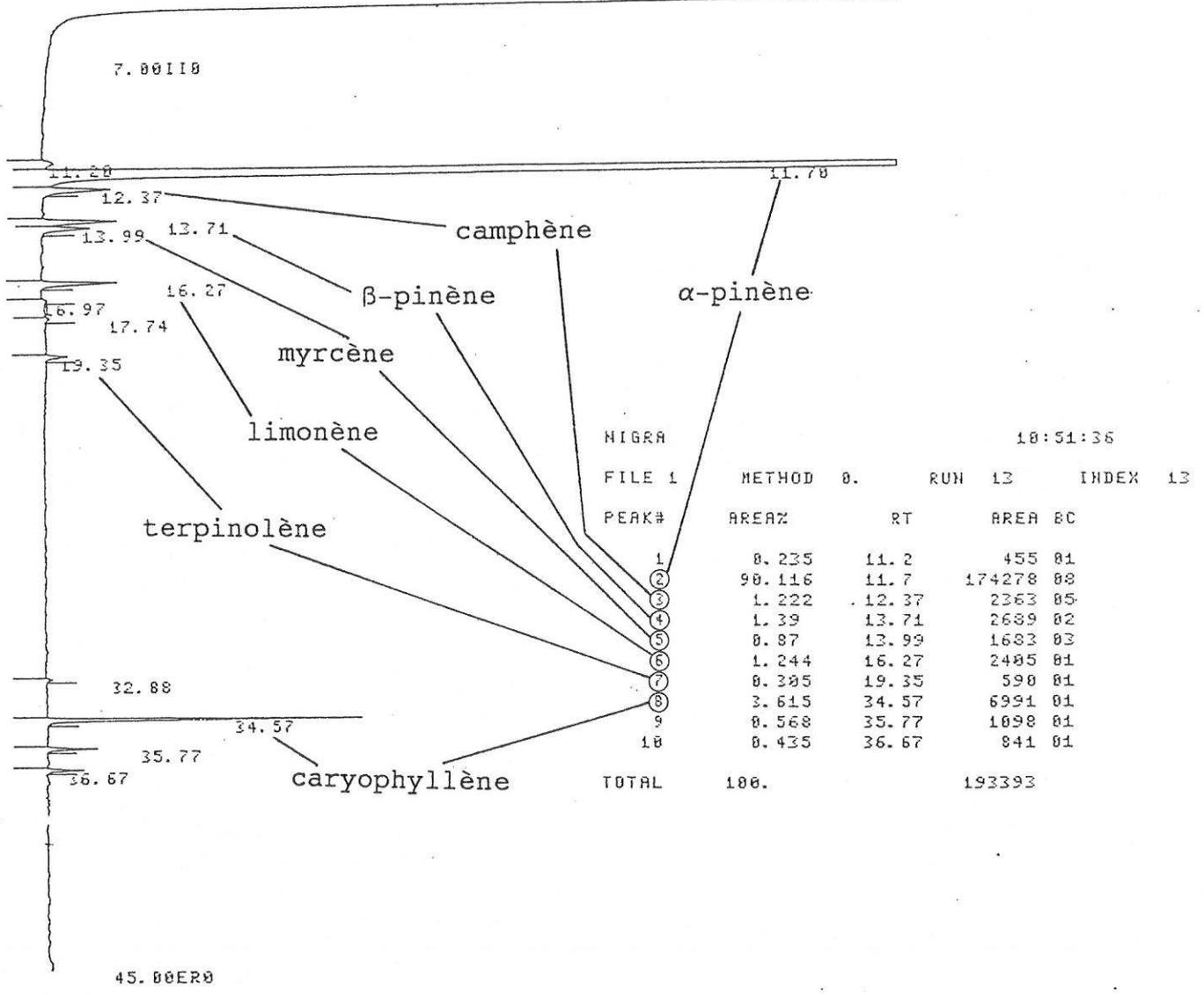
La pression à l'intérieur du chromatographe est de 0.4 bar, elle permet une séparation adéquate des terpènes. L'azote sert de gaz vecteur, son flux est de 0.4 ml.min⁻¹.

La température augmente régulièrement à partir de l'injection. Elle est maintenue à 60°C pendant 10 minutes et augmente ensuite jusqu'à 240°C à raison de 4°C par minute.

Les terpènes progressent dans la colonne après une durée de rétention qui dépend de leur température de volatilisation, de leur poids ainsi que de leur affinité pour la phase stationnaire (colonne). A la sortie de la colonne, chaque terpène est brûlé dans une flamme d'hydrogène, ceci induit un courant d'ionisation, amplifié et enregistré sur le chromatogramme. L'aire des pics obtenus est alors proportionnelle à la quantité de composé. Cette surface est calculée directement par l'intégrateur relié au chromatographe et transformée en pourcentage du total.

INJECT TIME 10:51:36

20111
1.00H01
2.00PM1



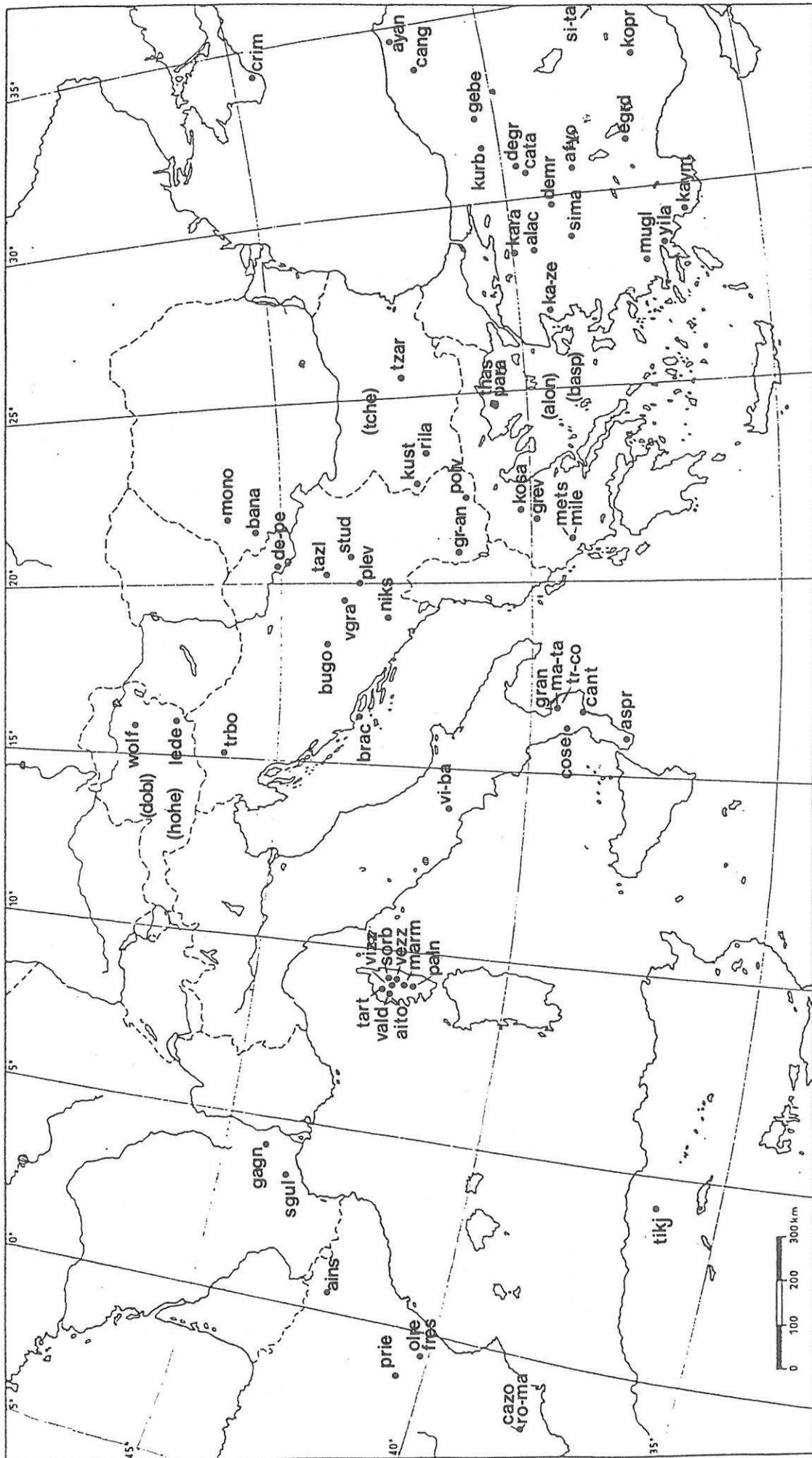
Exemple de chromatogramme: identification des pics.

D/ LECTURE DU CHROMATOGRAMME.

Le temps de rétention étant caractéristique d'un composé, l'identification de chaque pic et donc des différents terpènes se fait par comparaison du chromatogramme de l'échantillon avec des chromatogrammes de référence, réalisés dans les mêmes conditions, à partir de mélanges de composés connus. Les pics qui apparaissent les premiers correspondent aux composés de faible poids moléculaire, les derniers pics aux composés de poids plus élevés (dans l'ordre, mono- et sesquiterpènes dans notre cas).

Un exemple de chromatogramme est présenté ci-contre. Chaque pic est numéroté, son aire est donnée en pourcentage de total, et le temps de rétention du composé est donné en minutes: l'expérimentateur identifie les terpènes correspondants.

Ces analyses ont été réalisées à l'Université Bordeaux I. La procédure mise en oeuvre est utilisée en routine pour le contrôle variétal du Pin maritime (Baradat et Marpeau, 1988).



LOCALISATION DES PROVENANCES ETUDIÉES.
 Parenthèses: provenances non précisément localisées.

PROFILS TERPENIQUES D'ECHANTILLONS MOYENS DE PROVENANCES DE PIN NOIR.

DESCRIPTION DES PROVENANCES ETUDIEES.

Sous-espèce *Clusiana*

| Nom | Provenance | Pays | Latitude | Longitude | Altitude | Lieu* de prélèvement | Age des arbres |
|-------|----------------|---------|----------|-----------|-----------|----------------------------|----------------------|
| TIKJ | Tikjda | Algérie | 36°21 N | 3°55 E | 1550-1730 | 6 | 7 |
| GAGN | Gagnières | France | 44°07 N | 4°17 E | 200-500 | 2 | 10 |
| SGUL | Saint Guilhem | France | 43°41 N | 3°35 E | 350-400 | 1,2' | 13,10 |
| AINS | Ainsa | Espagne | 42°30 N | 0°12 E | 580 | 7 | 5 |
| CAZO | Cazorla | Espagne | 37°50 N | 3°00 O | | 2 | 10 |
| FRES | Fresneda | Espagne | 39°50 N | 2°10 O | 1000-1500 | 5 | 7 |
| OLRE | Olmeda del Rey | Espagne | 39°50 N | 2°10 O | 950-1050 | 5 | 7 |
| PRIE | Priego | Espagne | 40°30 N | 2°20 O | 850 | 7 | 5 |
| RO-MA | Rio Madera | Espagne | 37°50 N | 3°00 O | | 2,5 | 10,7 |

Sous espèce *Nigricans*

| | | | | | | | |
|---------|---------------------|-------------|---------|---------|-----------|--------|----------|
| DOBL | Doblhoff | Autriche | | | 280 | 3 | 10 |
| HOHE | Hohewand | Autriche | | | 850 | 3 | 10 |
| LEDE | Ledererkogel | Autriche | 47°16 N | 16°53 E | 600 | 5 | 7 |
| WOLF | Wolfsohl | Autriche | 47°43 N | 16°03 E | 700 | 2' | 10 |
| KUST | Kustendil | Bulgarie | 42°16 N | 22°40 E | 900-1100 | 1,2,2' | 13,10,10 |
| RILA | Rila | Bulgarie | 42°08 N | 23°33 E | 900-1100 | 6 | 7 |
| TCHE | Tchernikov Borum | Bulgarie | | | | 5 | 7 |
| TZAR | Tzavaritza | Bulgarie | | | 950 | 5 | 7 |
| ALON I | Alonia | Grèce | | | 1250-1350 | 2' | 10 |
| BASP | Barkazorema Spilaki | Grèce | | | 1250-1400 | 5 | 7 |
| GREV | Grevena | Grèce | 40°05 N | 21°25 E | | 3 | 10 |
| KOSA | Kosani | Grèce | 40°18 N | 21°47 E | 1150 | 3 | 10 |
| METS | Metsovon | Grèce | 39°46 N | 21°11 E | 1120-1380 | 3 | 10 |
| MILE | Mile | Grèce | 39°46 N | 21°11 E | 1120-1380 | 5 | 7 |
| THAS II | Thassos | Grèce | 40°40 N | 24°40 E | 600-1100 | 5 | 7 |
| VI-BA | Villeta Barrea | Italie | 41°47 N | 13°46 E | 1000-1200 | 3,5 | 10,7 |
| BANA | Banat | Roumanie | 45°2 N | 20°4 E | | 3 | 10 |
| MONO | Moldova Noua | Roumanie | 45°41 N | 21°40 E | | 5 | 7 |
| BRAC I | Ile de Brac | Yougoslavie | 43°20 N | 16°40 E | | 2 | 10 |
| BUGO | Bugojno | Yougoslavie | 44°05 N | 17°25 E | 1050 | 3,5 | 5,7 |
| DE-PE | Deliblatsk Pesak | Yougoslavie | 44°48 N | 21°12 E | 100 | 5 | 7 |
| GR-AN | Gradeski Andek | Yougoslavie | | | | 5 | 7 |
| NIKS | Niksic | Yougoslavie | 42°46 N | 18°56 E | 800 | 5 | 7 |
| PLEV | Pljevlja | Yougoslavie | | | 950 | 5 | 7 |
| PO-LV | Popova-Livada | Yougoslavie | 41°10 N | 21°55 E | 1450 | 5 | 7 |
| STUD II | Studenica | Yougoslavie | 43°30 N | 20°33 E | 930 | 5 | 7 |
| TAZL | Tara Zlatibor | Yougoslavie | 43°40 N | 19°35 E | 1000 | 2' | 10 |
| TRBO | Trbovle | Yougoslavie | 46°10 N | 15°03 O | 1100 | 3 | 10 |
| VGRA I | Visegrad | Yougoslavie | 43°90 N | 19°20 E | 600 | 5,7 | 7,5 |
| VGRA II | Visegrad II | Yougoslavie | 43°51 N | 23°33 E | 550-600 | 6 | 7 |

Sous espèce *Pallasiana*

| | | | | | | | |
|---------|-------------------|---------|---------|---------|-----------|--------|---------|
| AFYO | Afyontarlas | Turquie | 38°7 N | 30°6 E | 785 | 4 | 8 |
| ALAC | Alaçam | Turquie | 39°35 N | 28°35 E | 800-1000 | 1,2 | 13,10 |
| AYAN I | Ayancik I | Turquie | 41°43 N | 34°31 E | 1400 | 2 | 10 |
| CANG | Cangal | Turquie | 42° N | 34° E | 32 | 4 | 8 |
| CATA | Catacik | Turquie | 39°44 N | 31°04 E | 1300 | 4 | 8 |
| DEGR | Degirmendere | Turquie | 39°57 N | 31°05 E | 785 | 5 | 7 |
| DEMR | Demirören | Turquie | 39°53 N | 29°46 E | 526 | 4 | 8 |
| EGRD I | Egridir | Turquie | 37°40 N | 31°10 E | 1300-1500 | 4 | 8 |
| GEBE | Gebeler | Turquie | 40°30 N | 32°40 E | 1300 | 4 | 8 |
| KARA | Karabelen | Turquie | 40°06 N | 29°02 E | 1350 | 4 | 8 |
| KAYM | Kaymakçi | Turquie | 36°52 N | 29°22 E | 1250 | 6 | 7 |
| KA-ZE | Kapidag Zemlikler | Turquie | 39°35 N | 27°00 E | 1300 | 4 | 8 |
| KOPR | Köprücek | Turquie | 37° N | 33° E | 1600 | 4 | 8 |
| KURB | Kurbacik | Turquie | 40°30 N | 31°42 E | 1400 | 4 | 8 |
| MUGL | Mugla | Turquie | 37°20 N | 28°24 E | 900-1050 | 5 | 7 |
| SI-TA | Sinekli-Tahtali | Turquie | 37°30 N | 35°10 E | | 4 | 8 |
| SIMA | Simav | Turquie | 39° N | 29° E | | 4 | 8 |
| YILA | Yilanli | Turquie | 37° N | 28° E | | 4 | 8 |
| CRIM I | Crimée Yalta | URSS | 44°40 N | 34°20 E | 500 | 2,2',5 | 10,10,7 |
| CRIM IV | Crimée IV | URSS | | | 500 | 6,7 | 7,5 |

Sous-espèce Laricio

| Nom | Provenance | Pays | Latitude | Longitude | Altitude | Lieu* de prélèvement | Age des arbres |
|----------------------------|-----------------|--------|----------|-----------|-----------|----------------------------|----------------------|
| Provenances Corses. | | | | | | | |
| AITO | Aitone | France | 42°17 N | 8°51 E | 1350 | 3 | 10 |
| GHIS | Ghisoni | France | 42°05 N | 9°12 E | 1100 | 4 | 8 |
| MARM | Marmano | France | 42°01 N | 8°70 E | 1000 | 2 | 10 |
| PALN | Palneca | France | 41°59 N | 9°12 E | 900 | 6 | 7 |
| PALN II | Palneca II | France | 41°59 N | 9°12 E | | 7 | 5 |
| SORB | Col de Sorba | France | 42°08 N | 9°12 E | 1350 | 4 | 8 |
| TART I | Tartagine I | France | 42°29 N | 8°57 E | 850 | 2,2',6,7 | 10,10,7 |
| TART II | Tartagine II | France | 42°29 N | 8°57 E | 750 | 2 | 10 |
| VALD | Valdoniello | France | 42°18 N | 8°57 E | 1100 | 1 | 13 |
| VALD I | Valdoniello I | France | 42°17 N | 8°54 E | 1070 | 2 | 10 |
| VALD II | Valdoniello II | France | 42°17 N | 8°54 E | 1050-1100 | 2 | 10 |
| VALD III | Valdoniello III | France | 42°17 N | 8°54 E | 1150 | 2 | 10 |
| VEZZ | Vezzani | France | 42°09 N | 9°15 E | 1100 | 2,5 | 10,7 |
| VIZZ | Vizzavona | France | 42°13 N | 8°67 E | 850-900 | 2,2',5 | 10,10,7 |

Provenances Calabre

| | | | | | | | |
|-------|-----------------------|--------|---------|---------|------|-----|------|
| ASPR | Aspromonte | Italie | 38°05 N | 16°00 E | 1300 | 2 | 10 |
| CANT | Catanzaro | Italie | 38°54 N | 16°34 E | | 2 | 10 |
| COZE | Cozenza | Italie | 39°15 N | 16°17 E | 1300 | 2,6 | 10,7 |
| GRAN | Grancia | Italie | | | 850 | 2,7 | 10,5 |
| MA-TA | Macchia del la Tavola | Italie | | | 950 | 2 | 10 |
| TR-CO | Trenta Coste | Italie | | | 1050 | 2 | 10 |

Provenances introduites et croisements**Sous-espèce laricio:**

| | | | | | | | |
|-----------|---|--------|--|--|--|---|----|
| LRCO*LRCA | Les Barres (VALD*VALD) | France | | | | 8 | 6 |
| LRCA*LRCA | Les Barres (COZE*COZE) | | | | | 8 | 6 |
| LRCO*LRCA | Les Barres (COZE*VALD) | | | | | 8 | 6 |
| LBAR IIG | Les Barres (2ème génération laricio de Calabre) | | | | | 2 | 10 |

| | | | | | | | |
|---------|--------------|----------|---------|--------|----|---|----|
| KOEK II | Koekelare II | Belgique | 51°04 N | 2°58 E | 18 | 2 | 10 |
|---------|--------------|----------|---------|--------|----|---|----|

Sous-espèce nigricans:

| | | | | | | | |
|-------|-------------|--------|---------|--------|----------|---|----|
| CAUS | Les Causses | France | 44°5 N | 3°7 E | 800-1150 | 5 | 7 |
| EMBR | Embrunais | France | 44°34 N | 6°28 E | 1000 | 2 | 10 |
| LARA | Laragnais | France | 49°28 N | 3°84 E | 650 | 5 | 7 |
| MEND | Mende | France | 44°30 N | 3°30 E | 900-1000 | 2 | 10 |
| VL-HA | Ville Haute | France | 43°58 N | 6°52 E | 900 | 2 | 10 |

Sous-espèce pallasiana

| | | | | | | | |
|------|------------|--------|---------|--------|-----|---|----|
| LBPA | Les Barres | France | 47°50 N | 2°45 E | 150 | 2 | 10 |
|------|------------|--------|---------|--------|-----|---|----|

*** Lieux de Prélèvements:**

| Code | | |
|------|---------|----------------|
| 1 | 1.420-1 | Amance (54) |
| 2 | 1.422-4 | Amance (54) |
| 2' | 1.422-3 | Verdun (55) |
| 3 | 1.423 | Amance (54) |
| 4 | 1.425-3 | Verdun (55) |
| 5 | 1.426-3 | Verdun (55) |
| 6 | 1.427 | Cendrieux (24) |
| 7 | 1.428 | Cadouin (24) |
| 8 | 3.420-2 | Cendrieux (24) |

BIBLIOGRAPHIE

ARBEZ M., 1987. Les ressources génétiques forestières en France. Tome I: les conifères. INRA et BRG, Paris.

ARBEZ M., BERNARD-DAGAN C., FILLON C., 1974. Variabilité intraspécifique des monoterpènes de *Pinus nigra* Arn. Bilan des premiers résultats. Ann. Sci. forest., 31 (1): 57-70.

ARBEZ M., MILLIER C., 1971. Contribution à l'étude de la variabilité géographique de *Pinus nigra* Arn. Ann. Sci. forest., 28 (1): 23-49.

ARBEZ M., MILLIER C., 1972. Variabilité, hérédité et corrélation entre caractères chez de jeunes pins laricio de Calabre (*Pinus nigra* Arn ssp laricio, var calabrica). Conséquences et problèmes des indices de sélection. IUFRO genetics. Tokyo.

BARADAT Ph., 1987. Méthode d'évaluation de la consanguinité chez les plants issus des vergers à graines de semis de première génération, III - Les vergers d'Equivalents-Clones. Silvae Genetica, vol 36, n°3-4: 134-144.

BARADAT Ph., 1989. Amélioration génétique des arbres forestiers, éléments méthodologiques. INRA, laboratoire d'amélioration, 33610 Pierroton. Document interne. 204 p.

BARADAT PH., BERNARD-DAGAN C., FILLON C., MARPEAU A., PAULY G., 1972. Les terpènes du pin maritime: aspects biologiques et génétiques. II - Hérité de la teneur en monoterpènes. Ann. Sci. For., 29(3): 307-334.

BARADAT PH., BERNARD-DAGAN C., PAULY G., 1975. Les terpènes du pin maritime: aspects biologiques et génétiques. III - Hérité de la teneur en myrcène. Ann. Sci. For., 31(1): 29-54.

BARADAT Ph., MARPEAU BEZARD A., 1988. Le pin maritime - *Pinus pinaster* ait. Biologie et génétique des terpènes pour la connaissance et l'amélioration de l'espèce. Thèse d'Etat, université de Bordeaux I. 443 p.

BERNARD-DAGAN C., FILLON C., PAULY G., BARADAT PH., ILLY G., 1972. Les terpènes du pin maritime: aspects biologiques et génétiques. I - Variabilité de la composition terpénique dans un individu, entre individus et entre provenances. Ann. Sci. For., 28(3): 223-258.

BONNET-MASIMBERT M., BIKAY-BIKAY V., 1978. Variabilité intraspécifique des isozymes de la glutamate-oxaloacétate transaminase chez *Pinus nigra* Arnold. Intérêt pour la taxonomie des sous-espèces. Silvae Genetica, vol 27, n°2: 71-78.

BRAMLETT D.L., DELL T.R., PEPPER W.D., 1983. Genetic and maternal influences on Virginia pine seed germination. Silvae Genetica, vol 32, n°1-2: 1-4.

BRUNEL D., 1985. Distance génétique et hétérosis, utilisation des marqueurs moléculaires. in Les distances génétiques, estimations et applications. INRA, Paris: 159-168.

BURDON R.D., 1977. Genetic correlation as a concept for studying genotype-environment interaction in forest tree breeding. *Silvae Genetica*, vol 26, n°5-6: 168-175.

CALLEN G., 1977. Les conifères cultivés en Europe. Vol II: 504-606. Editions J.-B. BAILLIERE. 903 p.

CHOLLET F., 1986. Les vergers à graines forestiers. in Amélioration génétique des arbres forestiers. *Rev. forest. fr*, numéro spécial: 74-80.

CRITCHFIELD W.B., LITTLE E.L., 1966. Geographic distribution of the pines in the world. U.S. department of agriculture. Washington, D.C. 97 p.

DAMERVAL C., DE VIENNE D., 1986. Divergence morphologique et divergence moléculaire: apport des marqueurs protéiques. in Les distances génétiques, estimations et applications. INRA, Paris: 61-80.

DEBAZAC E.F., 1964. Manuel des conifères. Ecole Nationale des Eaux et Forêts, Nancy. 136 p.

FARJON A., 1984. Pines, drawings and descriptions of the genus *Pinus*. E.J. Brill/DR.W. Backhuys. Leiden

FINESCHI S., 1983. Variabilità intraspecifica in *Pinus nigra* Arn. Risultati di analisi su alcuni sistemi isoenzimatici. *Italia forestale e montana*, vol. 38, n°4: 200-213.

FINESCHI S., GROSSONI P., 1981. Contenuto in monoterpeni di oleoresine xilematiche in provenienze diverse di pino laricio. *Italia forestale e montana*, vol. 36, n°5: 232-239.

GUILLET C., 1986. Etude des hybrides contrôlés entre sous espèces de *Pinus nigra* Arn. Rapport 2ème année B.T.S. ENITEF. 20 p.

HEBERT Y., VINCOURT P., 1985. Mesure de la divergence génétique. Distances calculées sur des critères biométriques. in Les distances génétiques, estimations et applications. INRA, Paris: 23-37.

HANOVER J.W., 1966. Genetics of terpenes I. Gene control of monoterpenes levels in *Pinus monticola* Dougl. *Heredity* 21, 73-84.

HANOVER J.W., 1966. Inheritance of 3-carene concentration in *Pinus monticola*. *Forest Science*, 12 (4): 447-450.

LEFORT-BUSON M., 1985. Mise en évidence d'une relation entre hétérosis et divergence génétique. in Les distances génétiques, estimations et applications. INRA, Paris: 111-118.

MARPEAU A., BARADAT PH., BERNARD-DAGAN C., 1975. Les terpènes du pin maritime: aspects biologiques et génétiques. IV - Hérité de la teneur en deux sesquiterpènes: le longifolène et le caryophyllène. Ann. Sci. For., 32(4): 185-203.

MARPEAU-BEZARD A., BARADAT PH., BERNARD-DAGAN C., 1983. Les terpènes du pin maritime: aspects biologiques et génétiques. V - Hérité de la teneur en limonène. Ann. Sci. For., 40(2): 197-216.

MARTIN S.S., LANGENHEIM J.H., ZAVARIN E., 1976. Biosynthesis of sesquiterpenes in *Hymenaea* inferred from their quantitative co-occurrence. Phytochemistry (15): 113-119.

MIROV N.T., 1967. The genus *Pinus*. The Ronald Press Company. New York. 602 p.

NIKOLIC D., TUCIC N., 1983. Isoenzyme variation within and among populations of European black pine (*Pinus nigra* Arnold). *Silvae Genetica*, vol 32, n°3-4: 80-89.

PORTEFAIX C., 1987. Défaut de fourchaison chez le pin laricio de Corse (*Pinus nigra* Arn. ssp. *laricio* var. *corsicana* Loud): décomposition du phénomène en vue de l'amélioration génétique. Ann. Sci. For., 44(4): 435-454.

PORTEFAIX C., 1987. Exploration de la variabilité génétique du Pin laricio de Corse *Pinus nigra* Arn. ssp. *laricio* var. *corsicana* Loud. Perspectives pour l'amélioration de l'espèce. Thèse de Docteur Ingénieur. INA P.G. 105 p.

PORTEFAIX C., 1989. Exploration de la variabilité génétique présente dans cinq peuplements de pin laricio de Corse (*Pinus nigra* ssp. *laricio* var. *corsicana* Loud.). Ann. Sci. For., 46(3): 217-232.

PORTEFAIX C., ROMAN-AMAT B., 1986. Pins Laricio de Corse et de Calabre. in Amélioration génétique des arbres forestiers. Rev. forest. fr., numéro spécial: 129-131.

ROMAN-AMAT B., 1984. Contribution à l'exploration et à la valorisation de la variabilité intraspécifique et individuelle du pin laricio de Corse, *Pinus nigra* Arn, ssp. *laricio* var. *corsicana* Loud. Thèse de Docteur Ingénieur. Université de Paris Sud. Centre d'Orsay n°679. 135 p.

ROMAN-AMAT B., ARBEZ M., 1985. Pins Laricio de Corse et de Calabre quelles provenances choisir ? Rev. forest. fr., 37 (5): 377-388.

SEIGUE A., 1985. La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. (186-192). G.P. Maisonneuve & Larose et A.C.C.T. 502 p.

SQUILLACE A.E., WELLS O.O., ROCKWOOD O., 1980. Inheritance of monoterpene composition in cortical oleoresin of loblolly pine. *Silvae Genetica*, vol 29, n°3-4: 141-152.

SQUILLACE A.E., 1976. Analyses of monoterpenes of conifers by gas-liquid chromatography. in Modern Methods in forest genetics. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New-York: 120-157

TOURNOIS P., 1979. Etude des hybrides contrôlés entre sous espèces de pin noir. Mémoire fin d'études E.S.I.T.P.A. 88 p.

VIDAKOVIC M., 1974. Genetics of European black pine (*Pinus nigra* Arn.). Monographie IUFRO. Zagreb: 57-86.

VON RUDLOFF E., 1975. Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American conifers. Biochemical systematic and ecology, vol 2: 131-167.

WRIGHT S., 1977. Evolution and the genetics of populations, vol 3. Experimental result and evolutionnary deductions. Chicago. University of Chicago Press.

ZAVARIN E., 1970. Qualitative and quantitative co-occurrence of terpénoids as a tool for elucidation of their biosynthesis. Phytochemistry (9): 1049-1063.

SUMMARY

I/ REVIEW

The main characteristics of the collective species *Pinus nigra* are described. Distinctions between subspecies are reported based on morphological and biochemical attributes. The subspecies *laricio* is economically important, a particular emphasis is therefore given to its silviculture. The french breeding programs concerning this subspecies are reviewed, a more precise description is given for the corsican Pine.

II/ EXPERIMENTAL STUDY

In a first part, the chemotaxonomy of *Pinus nigra* is studied, using the composition for 5 terpenes on the basis of a total sample of 90 provenances from the four subspecies. Discriminant analysis and Mahalanobis distances showed a distinction between the subspecies due to the amount of caryophyllene and 3-carene+terpinolene. Calabrian and corsican Pines can be differentiated mainly by the amount of myrcene and phellandrene, the subspecies *nigricans* and *pallasiana* by the amount of β -pinene. Subspecies *clusiana* is found very heterogeneous. At the opposite, subspecies *nigricans* is very homogeneous. The study of the inheritance of caryophyllene, a sesquiterpene, in subspecies *laricio*, leads to an hypothesis of a control by a three allelic locus with one poor allele, one mid-richness allele and one higher richness allele.

In a second part, the interest of hybridization between corsican and calabrian pine is more precisely studied. It is based on a diallel cross between 12 parents (6 corsican and 6 calabrian). The statistical analyses addressed vigor and shape characters, measured on 6-year-old-trees planted in two different places. Genotype-environment interaction and maternal effects are found. Moreover, calabrian parents have a significant effect on fork expression. No superiority can be found for hybrids. The low genetic distance revealed by terpenes among the 12 parents could explain the lack of hybrid vigor.

RESUME

I/ MEMOIRE BIBLIOGRAPHIQUE.

Les caractéristiques générales de l'espèce collective *Pinus nigra* sont précisées. Les distinctions entre ses quatre sous-espèces sont envisagées sous l'angle des marqueurs morphologiques et biochimiques. La sous-espèce *laricio* domine pour son importance économique, son intérêt sylvicole est alors plus particulièrement décrit. Les programmes d'amélioration concernent les deux races géographiques de la sous-espèce, de Corse et de Calabre: une étude plus détaillée du programme du *Pin laricio* de Corse est proposée.

II/ ETUDE EXPERIMENTALE.

Une première partie concerne l'étude de la chimiotaxinomie de l'espèce *Pinus nigra* basée sur les compositions pour cinq terpènes de 90 provenances des quatre sous-espèces. A partir d'une analyse factorielle discriminante et du calcul des distances de Mahalanobis entre les unités étudiées, les sous-espèces apparaissent distinctes surtout grâce au caryophyllène et au 3-carène+terpinolène. Les Pins *laricio* de Corse et de Calabre se distinguent par les taux de myrcène et de phellandrène, les sous-espèces *nigricans* et *pallasiana* par leur composition en β -pinène. La sous-espèce *clusiana* s'avère très hétérogène, au contraire de la sous-espèce *nigricans*, très homogène. Une étude complémentaire du mode d'hérédité du caryophyllène dans la sous-espèce *laricio* suggère l'existence d'un locus triallélique composé d'un allèle de pauvreté, d'un allèle de richesse moyenne et d'un allèle de plus grande richesse.

Une seconde partie vise, à travers l'étude d'un plan de croisement dialléle 12*12 comprenant 6 parents de Corse et 6 parents de Calabre, à préciser l'intérêt éventuel de l'hybridation entre les deux races géographiques du *Pin laricio*. Le traitement biométrique du plan de croisement sur des caractères de vigueur et de forme mesurés sur les arbres âgés de 6 ans du dispositif bistationnel, a révélé l'existence d'une interaction génotype-milieu, d'effet maternels et d'un effet parental calabrais sur la fourchaison. Par contre, dans les conditions d'expérience, aucune supériorité des hybrides sur les croisements intra-raciaux n'était observée: l'absence de variabilité terpénique des 12 parents, observée parallèlement, offre une piste possible à l'explication de ce résultat.