LES TERPÈNES DU PIN MARITIME : ASPECTS BIOLOGIQUES ET GÉNÉTIQUES

I. — VARIABILITÉ DE LA COMPOSITION MONOTERPÉNIQUE DANS UN INDIVIDU, ENTRE INDIVIDUS ET ENTRE PROVENANCES

Colette BERNARD-DAGAN, Christiane FILLON, Ginette PAULY,
Ph. BARADAT * et G. ILLY *

*Laboratoire de Biologie végétale, Faculté des Sciences,
33 - Bordeaux-Talence*

** Station de Recherches forestières de Bordeaux, I.N.R.A.,
Pierroton, 33 - Cestas.*

RÉSUMÉ

Nous avons abordé de façon systématique les diverses causes de variations de la composition en monoterpènes des essences du bois et des tissus extérieurs au bois chez *Pinus pinaster* Ait. :

- sur un même arbre, variation selon la localisation ;
- dans un même « clone », comparaison des arbres sélectionnés en forêt et de leurs greffes, influence de la date du prélèvement et des attaques d'insectes ;
- dans une même région géographique, variabilité entre individus ;
- pour les diverses provenances géographiques de *Pinus pinaster* Ait. (Maroc, Corse, Maures, Esterel, Portugal, Espagne, Landes), comparaison des « profils » monoterpéniques.

INTRODUCTION

Pendant des siècles, le Pin maritime a été exploité principalement pour la production d'essence de térébenthine dont l'intérêt industriel avait déterminé d'importantes études physico-chimiques dues en particulier à DUPONT et ses collaborateurs (1924, 1928, 1948). Ces auteurs avaient même abordé le problème de la composition des térébenthines selon l'origine des arbres (DUPONT et BARRAUD, 1925) ; OUDIN (1933, 1958) avait entrepris l'étude de la transmission héréditaire du pouvoir rotatoire, reflet de la nature chimique des constituants.

L'introduction de la chromatographie en phase gazeuse, en permettant des analyses systématiques des terpènes à la fois plus précises et plus nombreuses, a donné

l'essor à des études d'intérêt biologique très variées : chimiotaxinomie, génétique, relations plante-insecte, étude des processus métaboliques qui régissent la genèse des substances terpéniques.

MIROV et ses collaborateurs (1958, 1961, 1966), en étudiant la répartition des monoterpènes rencontrés dans les essences de térébenthine du genre *Pinus* ont montré l'intérêt de cette classe de constituants pour la taxinomie des résineux. Depuis une dizaine d'années, d'autres espèces de Conifères ont fait l'objet de multiples travaux : *Juniperus* (COUCHMAN et von RUDLOFF, 1965) ; *Abies* (ZAVARIN et SNAJBERK, 1965) ; *Larix* (STAIRS, 1968) ; *Picea* (von RUDLOFF, 1962, 1966) ; *Pinus* (BANNISTER *et al.*, 1959, 1962 ; FISHER, 1963 ; FORDE, 1964 ; HANOVER, 1966, a), b) ; SMITH, 1964) ; *Pseudotsuga* (HANOVER et FURNISS, 1966) ; *Thuja* (von RUDOLFF, 1961...). Les analyses ont été le plus souvent effectuées sur des essences obtenues par incision au niveau de la tige principale, mais aussi sur les essences présentes dans les divers organes ou tissus (les aiguilles : von RUDLOFF, 1962, 1964, 1966 ; les tissus corticaux : HANOVER, 1966, a), b) ; TOBOLSKY, 1968 ; les organes comparés : JUVONEN, 1966 ; BERNARD-DAGAN, 1966 ; LA ROI et DUGLE, 1968).

Les conclusions de l'ensemble de ces travaux tendent à montrer que la composition qualitative et quantitative en terpènes des essences est sous une dépendance génétique très forte (MIROV, 1946 ; HANOVER, 1966 ; SQUILLACE et FISHER, 1966 ; TOBOLSKY, 1968). Il existe donc des différences très marquées entre les espèces.

Dans une même espèce à aire de répartition étendue, les différences entre provenances ne sont pas toujours apparues aussi nettes (BANNISTER *et al.*, 1959, 1962 ; SMITH, 1964 ; MIROV *et al.*, 1966 a), b) ; ZAVARIN *et al.*, 1966 ; HANOVER et FURNISS, 1966 ; LA ROI *et al.*, 1968 ; TOBOLSKY, 1968 ; ZAVARIN, 1968). Cela tient au fait, constaté d'une manière très générale, qu'il existe une très grande variabilité entre individus (DUPONT et BARRAUD, 1925 ; BLACK et THROMSON, 1934 ; OUDIN, 1939 ; MIROV, 1961 ; SMITH, 1964 ; HANOVER, 1966, b) ; ZAVARIN *et al.*, 1970).

Un individu peut donc être caractérisé par la composition terpénique de ses essences, mais il importe de préciser l'incidence des divers facteurs qui pourraient faire varier cette composition.

L'action du milieu peut être appréciée en mettant dans des emplacements différents des copies végétatives du même individu ; elle a été reconnue comme très faible (SQUILLACE et FISHER, 1966 ; BLIGHT et Mac DONALD, 1964 ; HANOVER, 1966).

L'action de la date des prélèvements, si elle n'est pas nulle, apparaît négligeable au regard des autres variations (von RUDLOFF, 1962, 1966 ; BLIGHT et Mac DONALD, 1964 ; JUVONEN, 1966 ; STAIRS, 1968).

Par contre, la localisation des essences dans l'individu a un effet très marqué et il importe de tenir compte, avec précision, de la nature de l'organe, du tissu, de l'âge et de l'orientation des échantillons qui seront soumis à l'analyse (BERNARD-DAGAN, 1966 ; HANOVER, 1966 ; JUVONEN, 1966 ; von RUDLOFF, 1967).

En introduction à notre étude sur la biologie générale et la transmission héréditaire des terpènes chez le Pin maritime, il apparaît donc indispensable de considérer en premier lieu, pour en discuter l'influence, les divers paramètres pouvant modifier la constitution monoterpénique des essences chez cette espèce.

1. — VARIATION DES ESSENCES SELON LA LOCALISATION SUR L'ARBRE

Chez *Pinus pinaster* Ait., la répartition des essences et leur composition monoterpénique ont été étudiées par BERNARD-DAGAN (1966) sur sept individus de provenance landaise. Dans la tige principale, le bois de cœur est plus riche en essences que l'aubier qui en contient lui-même bien davantage que le rhytidome : dans les parties jeunes de l'arbre, ce sont au contraire les tissus extérieurs au bois (liber + tissus corticaux) qui présentent la plus grande richesse en substances volatiles. D'une manière générale, les taux sont, pour les rameaux (ou auxilablastes) et la partie supérieure de la tige, d'autant plus élevés que les organes sont plus jeunes.

Chez un même arbre, il faut distinguer deux types d'essences : l'essence du bois et l'essence des tissus extérieurs au bois. L'essence du bois contient presque exclusivement de l' α - et du β -pinène en des proportions pratiquement constantes à tous les niveaux du même individu. Par contre, l'essence des tissus extérieurs au bois a une composition plus complexe et cette composition varie considérablement avec l'âge des organes. Cette « essence corticale » est caractérisée par la présence, à côté des pinènes α et β , de Δ_3 -carène, de myrcène et de limonène. Très importants dans les tissus périphériques des pousses très jeunes, les taux de Δ_3 -carène, myrcène, limonène diminuent avec le vieillissement des rameaux alors qu'augmentent les teneurs en pinènes.

1.1. — Choix du matériel végétal

C'est sur la base de ces résultats antérieurs qu'a été établi le choix du matériel végétal le plus approprié à l'étude envisagée et discutée la valeur du mode d'expression des résultats.

En effet, toutes les analyses chimiques de cette étude ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse (voir matériel et méthodes) et les taux des monoterpènes individuels (évalués par calcul des surfaces) se trouvent exprimés en pourcentage de la quantité totale de monoterpènes. Ce mode d'expression n'est pas sans entraîner des difficultés dans les interprétations, bien que ZAVARIN (1970) ait constaté la réalité des corrélations entre les monoterpènes, « ces composés formant une famille étroitement unie où les quantités de la plupart des substances varient aux dépens les uns des autres à l'intérieur de la famille ».

Les essences présentes dans les organes contiennent, à côté des monoterpènes, des composés plus lourds, principalement des sesquiterpènes et des terpènes oxygénés ; par ailleurs, la richesse en essences d'un organe varie avec la nature du tissu et l'âge de l'organe. Leur teneur en eau varie aussi selon ces facteurs. Nous avons donc groupé, dans le tableau 1, les valeurs de ces différents paramètres pour les feuilles, le bois et les tissus extérieurs au bois (E + L) de pousses d'âges différents prélevées en juin.

Il apparaît ainsi que les monoterpènes des feuilles offrent un critère discutable de comparaison, car le rendement (a) et le taux relatif des monoterpènes (b) s'abaissent pour les essences foliaires lorsque les feuilles vieillissent.

TABLEAU I — TABLE I

Rendement en essence (a), teneur en eau, taux des monoterpènes par rapport à l'essence totale (b) dans les feuilles, le bois, les tissus extérieurs au bois (E + L) des pousses 1967, 1965 et 1963, prélevées en juin 1967.

Oil yield (a), water amount and monoterpene percentage in relation with the total oil (b) in the leaves, wood and cortical tissues of twigs grown in 1967, 1965, 1963 and collected in June 1967.

	Essence pour 100 g de matériel frais (a)	Eau pour 100 g de matériel frais	Monoterpènes pour 100 g essence totale (b)
<i>Pousse 1967 :</i>			
Feuilles	0,09	71,7	83
Bois	0,18	78,5	93
E + L	0,32	76,0	89
<i>Pousse 1965 :</i>			
Feuilles	0,05	52,4	50
Bois	0,16	66,1	96
E + L	0,37	62,0	86
<i>Pousse 1963 :</i>			
Feuilles	—	—	—
Bois	0,06	60,0	95
E + L	0,16	67,0	80

Par contre, les proportions relatives des monoterpènes et des terpènes plus lourds (b) restent pratiquement constantes dans le bois et les tissus extérieurs des pousses pendant les cinq premières années ; de plus, si les rendements en essences baissent de façon nette dans les pousses âgées, ils se maintiennent à peu près constants pendant les deux premières années. Pendant cette période donc, les valeurs calculées pour chaque monoterpène (exprimées en pourcentage des monoterpènes totaux) reflètent très vraisemblablement le taux réel de ces corps par rapport à l'essence totale et par rapport au matériel végétal frais. De plus, c'est aussi pendant cette période que les tissus extérieurs sont le plus riches en Δ^8 -carène, myrcène, limonène dont nous verrons l'importance dans la caractérisation des provenances et des individus.

Pour ces diverses raisons, nous avons donc effectué tous les prélèvements et tous les dosages sur des tissus appartenant aux pousses d'un an, plus précisément les pousses latérales d'un an, portées par les verticilles formés deux ou trois ans auparavant. Des essais préliminaires, en effet, nous avaient montré l'identité de la composition

(a) Rendement en essence mesuré en volume de substances entraînables par la vapeur d'eau par rapport à 100 g de matériel végétal frais.

(b) Taux des monoterpènes calculé par rapport à l'essence totale (mono. + sesqui. + terpènes oxygénés).

en monoterpènes des pousses terminales et des pousses latérales (que nous avons donc préférées pour ne pas affaiblir les individus), et révélé de sensibles différences pour les pousses appartenant aux verticilles les plus anciens.

1.2. — Matériel et méthodes

Les arbres sur lesquels ont porté les analyses étaient tous d'origine connue.

a) Les « arbres-mères » (terme conventionnel sans idée de reproduction sexuée) de provenance landaise sélectionnés d'après les critères définis par ILLY (1966) étaient échantillonnés après leur abattage. Ces « arbres-mères » n'avaient pas tous le même âge (50 à 85 ans) et croissaient en des zones bien distinctes du massif forestier landais. Les critères de sélection étaient la forme et le volume des troncs, et par conséquent, on peut penser que ces arbres ne présentent pas un biais systématique en ce qui concerne leur composition en monoterpènes ou leur production de résine.

b) les « clones » qui en étaient issus appartenaient aux parcs à « clones » S et J mis en place après greffage en 1961 et 1962 au domaine de l'Hermitage (Pierroton). Bien que le greffage ne constitue pas au sens strict une multiplication végétative, nous entendrons par « clone » l'ensemble des sujets issus de greffons prélevés sur un même « arbre-mère ». Il est admis, du moins pour le Pin maritime, que l'influence du porte-greffe sur la partie supérieure du sujet ainsi obtenu est très réduite. ILLY (1966) l'a montré d'après des caractères phénologiques : port de l'arbre, floraison, ramification... ; il importait de le vérifier d'après des caractères biochimiques tels que l'étude de la composition monoterpénique.

c) L'étude des provenances a été effectuée sur les plantations comparatives installées par GUINAUDEAU aux Malgaches (Mimizan) de 1953 à 1955, à Sylvabelle (Nezer) en 1956 et par ILLY à l'Hermitage (Pierroton) en 1963 et 1965.

Lorsqu'il s'agit de l'étude d'un individu, cinq ou six rameaux des pousses latérales de 1^{re} année (verticille de 2 à 3 ans) sont prélevés dans les diverses directions sur le même arbre. Lorsqu'il s'agit de l'étude d'une provenance, nous prélevons un rameau par arbre sur un minimum de 20 arbres représentant la même provenance (voir tableau 8).

Les extraits sont aussitôt préparés au laboratoire en échantillonnant, de façon moyenne, les rameaux récoltés en forêt. Le bois et les tissus extérieurs au bois soigneusement séparés, sont mis à macérer dans du pentane pendant deux heures au moins.

Les analyses des extraits, après évaporation du pentane sous un courant d'azote, sont conduites par chromatographie en phase gazeuse sur colonnes de LAC 2R 446 (à 110°) et DEGS (à 75°).

Les taux de chaque monoterpène par rapport à 100 de monoterpènes totaux sont évalués par mesure et calcul de la surface des pics. La reproductibilité des résultats obtenus est très satisfaisante et les valeurs que nous donnons correspondent à la moyenne d'au moins trois analyses.

2. — COMPARAISON ENTRE LES ARBRES SÉLECTIONNÉS EN FORÊT ET LES SUJETS GREFFÉS

Les taux des principaux monoterpènes des essences du bois et des tissus extérieurs au bois provenant de six arbres sélectionnés en forêt et des sujets greffés qui en sont issus sont groupés dans le tableau 2.

L'examen de ce tableau et, plus nettement encore, celui de quelques « profils monoterpéniques » représentés par les fig. 1 (« clone » 01.60), fig. 2 (« clone » 13.07) et fig. 3 (« clone » 51.02), imposent plusieurs observations : d'abord, la différence de composition des essences des divers « clones » entre eux, ensuite, la parfaite ressemblance des essences du bois et surtout celle des tissus extérieurs au bois entre les individus d'un même « clone », enfin, une légère modification des essences des sujets greffés vis-à-vis des arbres dont ils sont issus.

TABLEAU 2 — TABLE 2

*Composition monoterpénique des essences du bois et des tissus extérieurs au bois (écorce et liber)
des arbres pris en forêt et des sujets greffés de 8 ou 9 ans qui en sont issus.*

(1) valeurs de l'arbre « plus »
(2) valeurs moyennes de 2 sujets greffés. } exprimées en % des monoterpènes totaux.

*Monoterpene percentages in wood and cortical tissues of trees growing in forest conditions (« plus »
trees) and their 8 or 9 years old grafts*

(1) Percentage of the « plus » tree.
(2) Average percentage of the two grafts.

Mères (1) Sujets greffés (2)	Bois					Ecorce + Liber					
	α pin.	camph.	β pin.	Δ_1 car. + myrc.	limon.	α pin.	camph.	β pin.	Δ_1 car.	myrc.	limon.
Clone 01.60 :											
(1) (85 ans)	61,1	0,4	30,8	5,7	1,0	25,1	0,2	24,8	0,5	47,9	0,9
(2)	56,3	0,3	38,8	3,2	0,7	20,4	0,2	20,9	0,9	56,2	0,6
Clone 13.06 :											
(1) (55 ans)	46,0	0,4	49,9	2,6	0,5	16,6	0,1	36,9	34,4	10,6	0,6
(2)	39,6	0,2	56,7	2,1	0,5	16,1	0,3	40,2	30,7	11,6	0,9
Clone 13.07 :											
(1) (53 ans)	54,7	0,2	41,0	2,4	0,9	16,3	0,2	36,7	36,1	9,1	0,7
(2)	66,0	0,3	27,4	4,9	0,6	23,3	0,2	22,3	43,3	9,7	0,5
Clone 13.08 :											
(1) (50 ans)	56,6	0,3	38,8	1,9	1,5	24,5	0,2	32,2	0,4	16,7	25,8
(2)	50,8	0,3	43,2	2,7	1,5	19,1	0,2	33,0	0,2	18,6	28,7
Clone 51.01 :											
(1) (58 ans)	80,0	0,6	10,2	4,0	4,5	22,9	0,3	14,3	44,8	3,8	13,2
(2)	76,5	0,4	15,0	2,3	4,7	11,5	0,1	16,9	46,8	4,0	15,4
Clone 51.02 :											
(1) (58 ans)	65,7	0,4	28,7	2,5	2,2	34,8	0,3	31,0	0,8	12,5	19,2
(2)	53,2	0,3	41,8	2,3	1,3	30,8	0,2	24,3	1,3	15,7	26,4

FIG. 2. — « Profil monoterpénique » du clone 13.07 : teneurs en monoterpènes dans le bois et les tissus extérieurs au bois de l'arbre sélectionné et chez deux arbres greffés.

α		α-Pinène	Δ ₃ M		Carène + Myrcène
C		Camphène	Δ ₃		Carène
β		β-Pinène	M		Myrcène
			L		Limonène

FIG. 2. — Average monoterpene content in wood and cortical tissue of the « clone » n° 13.07 for a tree growing in forest conditions and for two of its grafts.

FIG. 3. — « Profil monoterpénique du clone 51.02 : teneurs en monoterpènes dans le bois et les tissus extérieurs au bois de l'arbre sélectionné et chez deux arbres greffés.

α		α-Pinène	Δ ₃ M		Carène + Myrcène
C		Camphène	Δ ₃		Carène
β		β-Pinène	M		Myrcène
			L		Limonène

FIG. 3. — Average monoterpene content in wood and cortical tissue of the « clone » n° 51.02 for a tree growing in forest conditions and for two of its grafts.

Dans l'essence du bois, il y a, en général, davantage d' α -pinène (et, corrélativement, moins de β -pinène) chez les arbres adultes en forêt. Dans l'essence des tissus extérieurs au bois, parmi les trois monoterpènes : Δ^3 -carène (fig. 2), myrcène (fig. 1), limonène (fig. 3), celui qui prédomine chez un arbre « plus » est toujours plus abondant encore chez les arbres greffés correspondants. Or, dans un même individu, la progressive disparition de ces monoterpènes accompagne le vieillissement des pousses, les taux les plus élevés se trouvant dans les bourgeons (BERNARD-DAGAN, 1966). Le greffage entraînerait en quelque sorte une « rejuvenilisation » du système général de la synthèse de ces composés. Cette influence du greffage sur la composition monoterpénique des essences est sans doute à rapprocher de l'effet de « rejuvenilisation » observé par ILLY et CASTAING (1966) sur la multinodalité.

Les valeurs du coefficient de corrélation entre l'arbre « plus » et la moyenne des deux arbres greffés sont très fortes, pour les tissus extérieurs au bois, en ce qui con-

FIG. 4. — Relation entre arbre greffé et arbre + pour les teneurs en 3-carène, myrcène et limonène dans les tissus extérieurs au bois.

unité : % des monoterpènes totaux.

Limonène : $y = 1,199x + 0,010$.

Myrcène : $y = 1,186x - 0,573$.

3-Carène : $y = 1,052x + 0,124$.

FIG. 4. — Relation between graft and « plus » tree in Δ^3 -carene, myrcene, lemonene percentages of cortical tissue.

TABLEAU 3 — TABLE 3

Comparaison des « clones » et relations clones-arbres « plus ».
Comparison between clones and relations between clones and « plus » trees.

		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ_3 -carène + myrcène	limonène	
Bois	$F_{\frac{5}{6}}^{5/6}$	*** 51,21	0,353	*** 62,83	* 6,33	* 7,49	
	r	0,79	0,48	* 0,79	— 0,02	** 0,97	
	t	0,96	— 0,47	0,97	0,73	0,76	
Ecorce + Liber		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ_3 -carène	myrcène	limonène
	$F_{\frac{5}{5}}^{5/5}$	*** 41,41	3,80	*** 31,92	*** 175,64	*** 325,10	*** 900,95
	r	0,58	— 0,25	0,69	** 0,99	*** 1,00	** 0,99
	t	0,95	0,58	0,94	0,99	0,99	1,00

$F_{5/6}^{5/6}$: Test F de Snedecor avec 5 ou 6 degrés de liberté.

r : coefficient de corrélation arbre « plus » moyenne de deux arbres greffés.

t : coefficient de corrélation intraclass entre deux arbres greffés d'un même clone.

* : significatif au seuil 0,05.

** : significatif au seuil 0,01.

*** : significatif au seuil 0,001.

$F_{5/6}^{5/6}$: Snedecor F test with 5 and 6 degrees of freedom.

r : correlation coefficient between « plus » trees and the average of two of its grafts.

t : intraclass correlation coefficient between two grafts of the same clone.

* : significant at the 0.05 level.

** : significant at the 0.01 level.

*** : significant at the 0.001 level.

cerne les teneurs en Δ_3 -carène, myrcène et limonène. Pour le bois, on obtient des valeurs du coefficient de corrélation significativement différentes de 0 pour les α - et β -pinènes et pour le limonène. On ne peut détailler davantage ces conclusions étant donné le faible nombre de couples qui ont servi à calculer les coefficients de corrélation. La figure 4 donne les droites de régression sujets greffés-arbres « plus » pour le Δ_3 -carène, le myrcène et le limonène des tissus extérieurs.

On conçoit donc, qu'en ce qui concerne les caractères pour lesquels la valeur du coefficient de corrélation arbres « plus »-sujets greffés est significative, toute abondance ou tout déficit marqués dans un arbre, se retrouve chez ses descendants greffés. Ainsi, l'abondance dans les tissus extérieurs au bois du limonène chez 51.02, du myrcène chez 01.60, du Δ_3 -carène chez 13.06 se retrouve très fidèlement dans le « clone » correspondant.

Le tableau 3 donne, outre les valeurs des coefficients de corrélation arbres greffés-arbres « plus », les valeurs du test F de l'effet « clone » et celles du coefficient de corrélation intraclasse t entre deux individus greffés d'un même « clone » : t est une estimation de l'héritabilité au sens large de la teneur du monoterpène correspondant. L'héritabilité au sens large, rappelons-le, concerne non seulement les effets génétiques à caractère additif, mais aussi ceux dus à la dominance et à l'épistasie. Étant donné le faible nombre de degrés de liberté, les mêmes réserves s'imposent pour ces estimations d'héritabilité que pour celles des coefficients de corrélation entre la valeur de l'arbre « plus » et la valeur moyenne des deux sujets greffés.

3. — CAUSES DE VARIATIONS POSSIBLES DANS UN « CLONE »

L'influence du milieu, d'après les résultats précédents, paraît négligeable puisque les arbres pris en forêt et les arbres greffés des parcs à « clones » de l'Hermitage qui en dérivent, conservent, dans leurs caractères essentiels, le même « profil monoterpénique ». Il reste cependant à préciser d'autres causes possibles de variations à l'intérieur d'un « clone ».

3.1. — Effet de la date du prélèvement

Cette étude a été conduite sur le « clone » 00.01 et le « clone » 00.07 bien représentés dans le parc à « clones » S. Ces deux « clones » ont été choisis pour leur comportement particulier, afin de tenir compte de l'éventuelle influence de la croissance et de la floraison, très mâle pour 00.07, et très femelle pour 00.01. Dans chaque « clone » nous avons effectué cinq prélèvements à des dates différentes, les résultats sont groupés dans le tableau 4.

De fait, les « profils monoterpéniques » des deux « clones » sont très distincts : comme le montre le tableau 5, on observe des teneurs significativement différentes pour l' α -pinène, le myrcène et le limonène des tissus extérieurs, l' α -pinène, le camphène et le β -pinène du bois. Par contre, la date paraît sans effet sur chacun des monoterpènes présents dans les tissus extérieurs au bois, même à l'époque de la reprise de l'activité cambiale et à celle de la floraison : en ce qui concerne le bois, elle n'affecte que la teneur en Δ_3 -carène + myrcène (valeur de F hautement significative).

TABLEAU 4 — TABLE 4

*Influence de la date de prélèvement sur la composition en monoterpènes des essences du bois et des tissus extérieurs au bois (écorce + liber) des « clones » 00.01 et 00.07.
Les valeurs sont exprimées en % des monoterpènes totaux.*

The effect of the date of sampling on monoterpene composition in wood and cortical tissue for the clones n° 00.01 and 00.07.

Effet date	Bois						Ecorce + Liber						
	α -pin.	camph.	β -pin.	Δ^1 -car. + myrc.	limon.	?	α -pin.	camph.	β -pin.	Δ^1 -car	myrc.	limon.	?
Clone 00.01 :													
12 mai 1969	49,8	0,2	47,6	1,6	0,4	0,3	20,0	0,1	33,5	34,2	9,6	0,3	0,7
2 juin	47,7	0,3	49,0	2,0	0,4	0,5	19,3	0,1	34,0	32,6	12,1	0,2	1,4
29 juin	52,4	0,2	45,5	1,3	0,2	0,2	19,1	0,1	28,6	41,7	8,8	—	1,3
15 juil.	46,7	0,2	50,0	2,0	0,4	0,7	22,2	0,2	35,5	33,4	7,2	0,1	1,0
12 févr. 1970	52,2	0,2	42,8	3,8	0,5	—	23,2	0,1	32,0	34,0	8,1	0,4	1,8
Moy.	49,7	0,8	47,0	2,1	0,4	0,3	20,8	0,1	32,7	35,1	9,1	0,2	1,4
Clone 00.07 :													
12 mai 1969	74,9	0,4	22,2	1,7	0,4	0,3	15,3	0,1	36,4	23,7	17,6	4,7	2,1
2 juin	78,0	0,4	19,4	1,7	0,3	0,2	16,0	0,1	39,0	21,3	17,6	4,0	1,8
29 juin	78,7	0,3	19,1	1,3	0,3	0,3	19,6	0,1	37,3	22,7	15,2	3,7	1,3
15 juil.	79,7	0,6	17,9	1,6	0,2	0	16,0	0,1	35,1	26,5	17,2	3,7	1,6
12 févr. 1970	84,8	0,3	11,6	3,2	—	—	15,7	0,1	28,5	28,0	17,6	5,9	2,1
Moy.	79,2	0,4	18,0	1,9	0,3	0,2	16,5	0,1	35,2	24,4	17,0	4,4	1,8

TABLEAU 5 — TABLE 5

Résultats des analyses de variance, test de l'effet « clone » et de l'effet date
(Clones 00.01 et 00.07)

Results of analysis of variance, tests of clone effect and of date effect (clones n° 00.01 and 00.07)

		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ^3 -carène + myrcène	limonène
Bois	F_{4}^{1}	*** 333,21	* 9,53	*** 485,35	3,47	1,87
	F_{4}^{4}	2,01	1,00	4,51	*** 35,22	0,32
Ecorce + Liber		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ^3 -carène	myrcène limonène
	F_{4}^{1}	* 9,45	1,00	1,45	3,63	*** 82,86 *** 141,12
	F_{4}^{4}	0,35	1,00	1,08	0,18	1,44 1,86

F_{4}^{1} : Test F de Snedecor à 1 et 4 degrés de liberté (test de l'effet clone).

F_{4}^{4} : Test F de Snedecor à 4 et 4 degrés de liberté (test de l'effet date).

* : significatif au seuil 0,05,

** : significatif au seuil 0,01,

*** : significatif au seuil 0,001.

F_{4}^{1} : Snedecor F test with 1 and 4 degrees of freedom (test of clone effect);

F_{4}^{4} : Snedecor F test with 4 and 4 degrees of freedom (test of date effect);

* : significant at the 0.05 level;

** : significant at the 0.01 level;

*** : significant at the 0.001 level.

Il est donc possible de donner, au moins pour les tissus extérieurs au bois, une valeur moyenne au cours de l'année ou de se contenter d'un seul prélèvement à une période quelconque de l'année, pour établir le « profil monoterpénique » d'un « clone », d'un individu ou d'une provenance.

3.2. — Effet des attaques d'insectes

Après avoir constaté des anomalies dans la composition monoterpénique des essences de certains individus dans un même « clone », nous avons remarqué que ces

FIG. 5. — Effet des attaques d'insectes sur la teneur en monoterpènes des rameaux :

rameaux sains : ———

rameaux attaqués : - - - -

FIG. 5. — The effect of insects attacks on twig monoterpene percentage :

normal twigs : ———

infested twigs : - - - -

TABLEAU 6 — TABLE 6

Résultats des analyses de variance - Test de l'effet « clone » et de l'effet insecte

Results of analysis of variance. Test of clone effect and insect effect

		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ^3 -carène + myrcène	limonène	
Bois	$F_{4/4}^{4/4}$	*** 118,57	2,47	*** 148,84	*** 135,95	3,42	
	$F_{4/4}^{1/4}$	7,62	0,00	10,66	0,01	0,17	
		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ^3 -carène	myrcène	limonène
Ecorce + Liber	$F_{5/5}^{5/5}$	** 12,09	0,24	*** 23,38	*** 29,58	*** 30,86	*** 74,60
	$F_{5/5}^{1/5}$	0,25	0,02	*** 59,82	** 16,71	2,89	0,32

$F_{4/4}^{4/4}$ ou $F_{5/5}^{5/5}$: Test F de Snedecor avec 4 et 4 ou 5 et 5 degrés de liberté.
(Test de l'effet « clone »).

$F_{4/4}^{1/4}$ ou $F_{5/5}^{1/5}$: Test F de Snedecor avec 1 et 4 ou 1 et 5 degrés de liberté.
(Test de l'effet insecte).

* : Significatif au seuil 0,05 ;

** : Significatif au seuil 0,01 ;

*** : Significatif au seuil 0,001.

$F_{4/4}^{4/4}$ or $F_{5/5}^{5/5}$: Snedecor F test with 4 and 4 or 5 and 5 degrees of freedom (test of clone effect) ;

$F_{4/4}^{1/4}$ or $F_{5/5}^{1/5}$: Snedecor F test with 1 and 4 or 1 and 5 degrees of freedom (test of insect effect) ;

* : significant at the 0.05 level ;

** : significant at the 0.01 level ;

*** : significant at the 0.001 level.

individus, d'apparence saine, présentaient en fait des galeries de maturation de *Blastophagus piniperda*.

Cette remarque nous a conduits à préciser l'influence des attaques d'insectes sur la composition des essences, en choisissant dans un même « clone » (sur un même arbre ou non) des rameaux intacts et des rameaux atteints. Les prélèvements n'ont jamais été pratiqués au niveau des galeries, mais dans les zones avoisinantes, apparemment saines : les analyses des essences obtenues dans ces conditions ont donné les résultats présentés sur la figure 5.

Dans tous les cas étudiés, les essences des rameaux atteints se sont montrées plus riches en β -pinène que celles des rameaux sains et cela aussi bien dans le bois que dans les tissus extérieurs au bois. Cet enrichissement en β -pinène se fait au détriment (c) de l' α -pinène, mais plus volontiers, dans les tissus extérieurs au bois, aux dépens du Δ_3 -carène.

Les résultats d'analyses de variance présentés dans le tableau 6 montrent que l'effet insecte est hautement significatif sur les teneurs des tissus extérieurs en α -pinène et en Δ_3 -carène.

Comme, d'autre part, les valeurs de F relatives à l'effet « clone » sont significatives pour la plupart des monoterpènes du bois et des tissus extérieurs, cette conclusion concerne des arbres de « profils monoterpéniques » très différents.

Cette observation est à rapprocher des conclusions de SMITH (1966) qui, chez *Pinus ponderosa*, a signalé une baisse du myrcène et du limonène dans l'oléorésine du « xylème » d'arbres atteints ou tués par *Dendroctonus brevicornis*.

S'il est encore prématuré de tirer de ces résultats des conclusions physiologiques sur les rapports entre la présence de galeries de maturation et les teneurs en monoterpènes, ils soulignent cependant l'intérêt que pourrait offrir cette voie de recherche chez *Pinus pinaster* Ait. Ils montrent surtout les précautions dont il faut s'entourer lors des prélèvements ; tout rameau atteint par des attaques d'insectes doit être éliminé.

4. — VARIATION ENTRE INDIVIDUS ET ENTRE PROVENANCES D'UNE MÊME RÉGION GÉOGRAPHIQUE

Les résultats antérieurs sur *Pinus pinaster* Ait. et les observations de nombreux auteurs sur d'autres espèces de Pins ont montré une grande variabilité de la composition monoterpénique entre individus. Il importait donc de procéder à l'étude systématique d'un grand nombre d'individus échantillonnés sur l'ensemble du massif landais.

Le traitement statistique du résultat des analyses doit permettre de répondre à deux types de questions : existe-t-il une variabilité intraspécifique à l'intérieur des peuplements landais ? Quelle différence peut-on mettre en évidence, entre moyennes de provenances, pour un monoterpène et un effectif donnés ?

Lié à ces deux questions, se pose le problème de la normalité de la distribution des teneurs en monoterpènes à l'intérieur d'une provenance supposée homogène.

(c) Une évaluation du rendement en essences serait à préciser pour confirmer cette interprétation.

TABLEAU 7 — TABLE 7

Teneurs moyennes en monoterpènes de diverses provenances landaises.
Les valeurs sont exprimées en % des monoterpènes totaux.

Average monoterpene percentage of various Landes origins.

	Nbre arbres	Canton	Dépt	Code	α -pinène	camphène	β -pinène	Δ^1 -carène + myrcène	limonène	
Bois	7	Parentis	40*	00	73,5	0,3	23,9	1,2	0,6	
	7	Morcenx	40	01	78,9	0,4	18,3	1,1	0,7	
	5	Audenge	33**	02	63,6	0,2	33,7	0,8	1,0	
	5	Castelnau	33	13	59,0	0,2	36,4	2,5	0,9	
	5	St-Symphorien	33	31	59,2	0,2	37,1	1,5	0,9	
	5	Castets	40	38	62,5	0,5	35,2	1,3	0,3	
	5	Mimizan	40	43	63,0	0,3	32,9	1,4	0,9	
	2	St-Vincent-de-Tyrosse	40	51	64,9	0,4	28,4	2,3	3,0	
	3	Lesparre	33	19	66,4	0,4	29,7	1,4	1,0	
	2	Roquefort	40	47	62,5	0,2	33,8	1,1	1,3	
	5	Soustons	40	53	78,7	0,2	18,0	1,4	0,8	
Ecorce + Liber		Canton			α -pinène	camphène	β -pinène	Δ^1 -carène	myrcène	limonène
	7	Parentis			21,7	0,2	31,2	27,7	11,0	6,8
	7	Morcenx			41,1	0,3	26,2	6,0	19,7	6,1
	5	Audenge			19,8	0,4	37,7	27,3	7,5	3,6
	5	Castelnau			18,0	0,2	30,0	32,0	12,1	6,5
	5	St-Symphorien			20,7	0,2	37,0	23,5	8,0	9,4
	5	Castets			14,5	0,2	29,0	27,6	22,7	9,1
	5	Mimizan			13,0	0,2	27,4	32,1	24,1	2,4
	2	St-Vincent-de-Tyrosse			21,2	0,2	20,6	24,1	9,9	20,9
	3	Lesparre			21,6	0,2	42,0	17,6	12,5	5,1
	2	Roquefort			43,4	0,4	50,4	0,0	3,8	1,3
	5	Soustons			21,8	0,3	27,1	16,8	30,9	2,5

* 40 : Département des Landes.

** 33 : Département de la Gironde.

TABLEAU 8 — TABLE 8

Résultats des analyses de variance, comparaison des provenances landaises.
Results of analysis of variance, comparison between Landes provenances.

Bois		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ_1 -carène + myrcène	limonène	
	σ_{10}	12,60	0,12	12,90	0,87	0,57	
	$\bar{x}$	67,66	0,31	28,91	1,41	0,87	
	cv	18,6 %	39,2 %	44,6 %	61,6 %	65,1 %	
	F_{10}	°	°°°	°	°	°°°	
	F_{40}	1,81	3,42	1,57	1,43	3,60	
	t	0,15	0,34	0,11	0,08	0,36	
	d_{10}	11,27	0,11	11,53	0,77	0,51	
Ecorce + Liber		α -pinène	camphène	β -pinène	Δ_1 -carène	myrcène	limonène
	σ_{10}	11,92	0,23	10,66	15,53	12,45	6,95
	$\bar{x}$	22,97	0,25	31,58	22,22	15,81	5,83
	cv	51,9 %	89,3 %	33,7 %	69,9 %	34,8 %	119,3 %
	F_{10}	°°°	°	°	°	°	°
	F_{40}	2,97	0,72	1,81	1,87	2,01	1,48
	t	0,30	0,06	0,15	0,16	0,18	0,09
	d_{10}	10,66	0,20	9,54	13,89	11,14	6,22

t : coefficient de corrélation intraclass.

F_{10/40} : test F de Snedecor à 10 et 40 degrés de liberté (effet provenance).

d₁₀ : différence significative au seuil 0,05 entre deux populations représentées chacune par un échantillon de 10 individus.

° : significatif au seuil 0,1.

t : intraclass correlation coefficient.

F_{10/40} : Snedecor F test with 10 and 40 degrees of freedom (provenance effect).

d₁₀ : significant difference at the 0.05 level between two populations from which 10 trees were sampled.

° : significant at the 0.1 level.

σ_{μ} : écart type intra-population.

°°° : significatif au seuil 0,01.

σ_{μ} : standard deviation within population.

°°° : significant at the 0.01 level.

$\bar{x}$: moyenne générale.

cv : coefficient de variation.

Pour obtenir d (10 × n), diviser les valeurs données par $\sqrt{n}$.

$\bar{x}$: general average.

cv : coefficient of variation.

To obtain d (10 × n) divide given values by $\sqrt{n}$.

4.1. — Etude de la variabilité entre individus et entre provenances landaises

Dans le but d'étudier la variabilité entre individus et entre provenances landaises chez *Pinus pinaster* Ait., nous avons effectué des analyses d'essences de bois et de tissus corticaux dans 51 « clones » différents représentant des provenances situées en 11 cantons largement dispersés dans le massif forestier landais. Le tableau 7 groupe les valeurs moyennes des résultats des analyses chimiques pour chacune des 11 provenances landaises (d).

Par ailleurs, des analyses ont porté sur 40 arbres de 20 à 25 ans issus d'une parcelle de régénération après incendie située à Mazaugues (e) dans le département du Var.

4.1.1. Etude de la variabilité du taux des différents monoterpènes considérés séparément.

On a comparé, pour chacun des monoterpènes, les teneurs moyennes des différentes provenances landaises (cantons) par le test F de Snédécour (tableau 8).

L'effet provenance est significatif au seuil de 0,01 pour le camphène et le limonène du bois et l' α -pinène des tissus extérieurs au bois. Il est significatif au seuil de 0,1 pour l' α -pinène du bois, le β -pinène, le Δ_3 -carène et le myrcène des tissus extérieurs au bois.

La figure 6 donne, pour les trois analyses dont la valeur de F est significative au seuil de 0,01, le classement des différents cantons : les valeurs moyennes sont exprimées en pourcentage par rapport au maximum observé. Deux moyennes non reliées par un trait latéral sont significativement différentes au seuil de 0,05.

L'observation de la figure 6 conduit à nuancer les conclusions tirées des seules valeurs du test F.

Pour le limonène du bois, seul le canton 51 (St-Vincent-de-Tyrosse) représenté seulement par 2 arbres, se détache. Cela est dû à une teneur en limonène exceptionnellement forte chez l'un des deux arbres, qui conduit à une valeur de F élevée. Pour ce monoterpène, on ne peut donc pas conclure à un effet provenance net, d'autant plus que la plupart des teneurs en limonène sont inférieures à 1 % alors que la limite de sensibilité de la méthode de chromatographie en phase gazeuse utilisée est de l'ordre de 1 %.

Une réserve du même ordre s'impose pour le camphène du bois : le canton 38 (Castelnau-du-Médoc), représenté par cinq arbres, se détache du fait de la très forte teneur de deux arbres en ce monoterpène ; par ailleurs, les teneurs observées sont toutes inférieures à 1 %.

L'effet provenance est marqué seulement pour l' α -pinène des tissus extérieurs au bois : deux cantons : 01 (Morcenx) et 47 (Roquefort) représentés respectivement par 7 et 2 arbres, se détachent sans présenter d'individus exceptionnels par rapport à ceux du même canton. Les teneurs moyennes sont presque toutes supérieures à 50 % : les erreurs de détermination des pourcentages sont donc négligeables.

(d) Certaines de ces provenances sont représentées seulement par 2 ou 3 individus ; l'effectif souhaitable serait de 10 au minimum.

(e) Parcelle de 2 ha dépendant de la Station de Recherches forestières d'Avignon.

FIG. 6. — Classement des provenances landaises pour les teneurs en α -pinène des tissus extérieurs et en camphène et limonène du bois. Taux exprimés en % du maximum.

FIG. 6. — Classification of trees from Landes area for α -pinene percentage in cortical tissue and camphene and limonene percentages in wood

4.12. Etude du regroupement des différents « clones » d'arbres « plus » pour les taux des différents monoterpènes dans le bois et le liber.

On a fait une analyse de composantes principales selon DEBAZAC et TOMASSONE (1965), SEAL (1966) et TOMASSONE (1967), sur les 5 caractères du bois, d'une part (α -pinène, β -pinène, camphène, Δ_3 -carène + myrcène, limonène), et les 6 caractères des tissus extérieurs, d'autre part. L'analyse a été faite à partir de la matrice des coefficients de corrélation entre caractères transformés en arc sin $\sqrt{x}$, afin de normaliser autant que possible les distributions des pourcentages.

Les deux premières composantes expliquent 73,5 % de la variation pour le bois et 60,9 % pour les tissus extérieurs.

On a représenté sur la figure 7 les valeurs relatives au bois des deux premières composantes des 51 « clones » d'arbres « plus ».

FIG. 7. — Valeurs des 2 premières composantes des teneurs en monoterpènes du bois pour 51 « clones » landais appartenant à 11 cantons différents.

FIG. 7. — Values of the two first principal components of monoterpene percentages of wood for 51 Landes « clones » from 11 different districts

Le tableau 9 donne les coefficients des taux des 5 monoterpènes du bois dans les vecteurs propres correspondant aux 5 composantes.

On constate que, dans ce cas, la première composante (y_1) est dominée par les teneurs en α -pinène (signe +), β -pinène (signe —) et en camphène (signe +). On peut

donc la considérer comme un facteur de richesse en α -pinène et en camphène et de pauvreté en β -pinène.

La deuxième composante (y_2) présente les plus forts coefficients (tous positifs) pour le Δ^3 -carène et le myrcène, d'une part, et le limonène d'autre part. On peut donc la considérer comme un facteur de richesse en ces trois monoterpènes.

Fig. 8. — Valeurs des deux premières composantes des teneurs en monoterpènes des tissus extérieurs au bois pour 51 « clones » landais appartenant à 11 cantons différents.

Fig. 8. — Values of the two first principal components of monoterpene percentages of cortical tissues for 51 Landes « clones » from 11 different districts

Les arbres d'un même canton forment un « noyau » en général assez ramassé par rapport à la dispersion de l'ensemble des 51 arbres.

Cela est particulièrement vrai pour les cantons 43 (Mimizan) et 53 (Soustons).

TABLEAU 9 — TABLE 9

Analyses de composantes principales à partir de la matrice des coefficients de corrélation pour les monoterpènes du bois (51 « clones » landais).

Principal component analysis from correlation coefficient for monoterpenes in the wood (51 Landes clones)

Variable principale		y_1	y_2	y_3	y_4	y_5
Valeur propre	λ_i	2,30	1,37	0,82	0,50	0,02
	%	46,1	27,4	16,4	10,1	< 1 %
	% cumulé	46,1	73,5	90,0	100,0	100,0
vecteur propre	Composante x_1 (α -pinène) .	0,983	— 0,185	— 0,285	— 0,382	— 0,982
	x_2 (camphène)	0,644	— 0,063	1,000	0,827	— 0,025
	x_3 (β -pinène)	— 1,000	0,065	0,257	0,353	— 1,000
	x_4 (Δ_3 -carène + myrcène) .	0,054	1,000	0,499	— 0,983	— 0,061
	x_5 (limonène)	0,248	0,942	— 0,536	1,00	— 0,061

TABLEAU 10 — TABLE 10

Analyses de composantes principales à partir de la matrice des coefficients de corrélation pour les monoterpènes de l'écorce et du liber (51 « clones » landais)

Principal component analysis from correlation coefficient for monoterpenes of cortical tissue (51 Landes clones)

Variable principale		y_6	y_7	y_8	y_9	y_{10}	y_{11}
Valeur propre.	λ_i	2,43	1,22	1,02	0,83	0,47	0,03
	%	40,5	20,4	16,9	13,8	8,3	< 1 %
	% cumulé	40,5	60,9	77,8	91,7	100,0	100,0
Vecteur propre	Composante x_6 (α -pinène)	1,000	0,123	0,183	0,069	— 1,000	— 0,880
	x_7 (camphène)	0,663	0,266	— 0,040	1,000	0,793	0,013
	x_8 (β -pinène)	0,758	— 0,442	— 0,327	— 0,592	0,953	— 0,511
	x_9 (Δ_3 -carène)	— 0,900	— 0,310	— 0,508	0,426	— 0,070	— 1,00
	x_{10} (myrcène)	— 0,391	1,00	0,199	— 0,343	0,511	— 0,631
	x_{11} (limonène)	— 0,288	— 0,513	1,00	0,119	0,390	— 0,389

A l'opposé, le canton 00 (Parentis) montre une grande dispersion (surtout pour la valeur de la première composante).

Le tableau 10 donne les coefficients des taux des différents monoterpènes de l'écorce et du liber dans les vecteurs propres qui correspondent aux 6 composantes. On constate que la première composante (y_1) est dominée par les teneurs en α et β -pinène (signe +) et en Δ_3 -carène (signe -). C'est donc un facteur de richesse en α et β -pinène et de pauvreté en Δ_3 -carène.

Dans la deuxième composante (y_2), le myrcène et le limonène ont les coefficients les plus forts en valeur absolue, positif pour le myrcène, négatif pour le limonène. On peut donc considérer cette deuxième composante comme un facteur de richesse en myrcène et de pauvreté en limonène.

On peut faire à propos de la figure 8, qui donne les valeurs de ces 2 composantes pour les 51 arbres « plus », des remarques du même ordre que pour la figure 7 : les arbres d'un même canton ont tendance à se regrouper en « noyaux ».

Le canton 53 (Soustons) est ici très dispersé pour la première composante.

Par contre, le canton 13 (Castelnau-du-Médoc) est bien regroupé. Le canton 43 (Mimizan) est plus dispersé que dans le cas de la figure 7.

On trouve donc, par l'examen des figures 7 et 8, une confirmation d'un « effet provenance » pour les teneurs en monoterpènes du bois et des tissus extérieurs.

Il faut noter qu'aucun « gradient géographique » nord-sud n'apparaît. La variabilité intraspécifique dans le massif landais apparaît pour les teneurs en monoterpènes, comme une variabilité en « mosaïque ». Celle-ci pourrait s'expliquer par de simples « accidents » d'échantillonnages, lors du choix de la graine utilisée dans les reboisements.

4.13. Détermination de l'effectif minimum de l'échantillon à prélever pour mettre en évidence une différence donnée entre deux provenances pour les teneurs en monoterpènes.

La connaissance de l'écart-type dans les provenances a permis de calculer pour chaque monoterpène la plus petite différence significative d_{10} (seuil de 0,05) que l'on puisse mettre en évidence entre deux provenances représentées chacune par 10 individus.

Ces valeurs de d_{10} figurent dans le tableau 8.

Le tableau 11 donne les valeurs des écarts-types des teneurs pour les différents monoterpènes chez les 40 arbres du plateau de Mazaugues. Les valeurs sont en général supérieures à celles données dans le tableau 8, mais restent du même ordre de grandeur.

Compte tenu de ces résultats, un échantillon de 10 à 20 arbres semble convenir pour caractériser une provenance par sa composition monoterpénique.

4.2. — Etude de la distribution des teneurs en monoterpènes

Les conclusions ci-dessus supposent une distribution des teneurs en monoterpènes approximativement normale.

Le nombre d'individus sur lesquels nous avons pratiqué des analyses est en fait insuffisant pour une étude précise de la forme de ces distributions, mais peut cependant

TABLEAU II — TABLE II

Ecart-types des différents monoterpènes (placeau de Mazaugues).
Standard deviations of the different monoterpenes (Mazaugues stand).

	α -pinène	camphène	β -pinène	Δ^1 -carène	myrcène	limonène
Bois	14,53	0,19	13,92	2,52		1,12
Ecorce + Liber	14,24	0,50	14,42	6,97	11,15	6,54

en donner une première idée. Les figures 9 et 10 donnent les histogrammes de répartition des monoterpènes dans le bois et les tissus extérieurs pour les 51 « clones » landais. Les classes ont été déterminées en divisant en 10 intervalles égaux la différence entre la plus forte et la plus faible des valeurs observées.

Dans tous les cas, sauf dans celui du β -pinène des tissus extérieurs au bois, la distribution est très différente d'une distribution normale (dissymétrie ou multimodalité).

La multimodalité pouvant être attribuée à l'effet provenance, nous avons représenté, sur les figures 11 et 12, les histogrammes correspondant à l'analyse des monoterpènes des 40 arbres du plateau unique de Mazaugues.

Nombre d'observations

Nombre d'observations

FIG. 9. — Histogramme de répartition des teneurs en monoterpènes du bois chez 51 « clones » landais (fréquences absolues)

FIG. 9. — Histogram showing the distribution of monoterpene percentages in wood for 51 « clones » from Landes area (absolute frequencies)

L'homogénéité de la provenance n'a pas éliminé la multimodalité.

Parfois, l'allure de l'histogramme est modifiée : par exemple la dissymétrie de la distribution du Δ^3 -carène des tissus extérieurs au bois chez les Pins de Mazaugues est plus accentuée que chez les Pins des 11 cantons landais.

Ces modifications reflètent peut-être en partie les différences entre provenances de régions géographiques différentes, que nous étudions au chapitre 5.

5. — VARIATIONS ENTRE PROVENANCES DE *PINUS PINASTER* AIT. DE RÉGIONS GÉOGRAPHIQUES DIFFÉRENTES

Puisqu'il est apparu un effet provenance significatif à l'intérieur de la région landaise avec des effectifs par provenance ne dépassant pas 7 individus, un échantillonnage

sur 20 individus par provenance a été jugé suffisant pour comparer des provenances de régions bien distinctes.

5.1. — Etude de 8 provenances

La plantation comparative installée aux Malgaches (canton de Mimizan) en 1953, regarnie en 1954 et 1955, compte 10 provenances de *Pinus pinaster* Ait. originaires de diverses régions bien dispersées dans l'aire de répartition de l'espèce. Notre étude comparative porte sur 6 régions représentées par les 8 provenances suivantes : Bias (Landes), Portugal-plaine et Portugal-montagne (Portugal), Léon (Espagne du Nord), Maures et Esterel (France méditerranéenne), Corte (Corse), Maroc.

FIG. 10. — Histogramme de répartition des teneurs en monoterpènes des tissus extérieurs au bois chez 51 « clones » landais (fréquences absolues)

FIG. 10. — Histogram showing the distribution of monoterpene percentages in cortical tissue for 51 « clones » from Landes area (absolute frequencies)

La figure 13 illustre les résultats obtenus sur les 8 provenances de la plantation comparative ; elle comporte en outre les valeurs moyennes des 51 arbres de la région landaise et celles des Pins de Mazaugues (40 individus). Des différences nettes apparaissent entre les provenances.

Pour l'essence du bois, la figure 13 montre que c'est, de loin, la provenance maro-

caine la plus pauvre en β -pinène ; les provenances méditerranéennes (Corte, Maures et Esterel) présentent moins de 23 % de β -pinène alors que les provenances landaises et ibériques se groupent toutes au-dessus de 30 %. Cette dernière constatation explique les difficultés rencontrées jusqu'à présent pour différencier les térébenthines d'origine française et d'origine portugaise. L'essence extraite directement du bois présente, en effet, une composition très voisine de celle que l'on obtient par gemmage du tronc ; on voit, à ces résultats, que les Pins landais, espagnols et portugais varient peu si l'on considère les proportions relatives moyennes des deux pinènes dans leurs bois ou leurs térébenthines.

FIG. 11. — Histogramme de répartition des teneurs en monoterpènes du bois chez 40 arbres de Mazaugues (fréquences absolues)

FIG. 11. — Histogram showing the distribution of monoterpene percentages in wood for 40 trees from the Mazaugues area (absolute frequencies)

Pour l'essence des tissus extérieurs au bois, la figure 13 fait apparaître plusieurs faits remarquables. Dans les tissus corticaux, le Δ^3 -carène, par sa teneur, se révèle un excellent élément de discrimination des provenances. En effet, d'après ce critère de comparaison, les Pins étudiés se séparent en trois classes :

- les Pins dont les tissus corticaux sont pratiquement dépourvus de Δ^3 -carène : Maroc, Maures et Esterel ;
- les Pins dont les tissus corticaux contiennent un peu de Δ^3 -carène, mais à un taux inférieur à 8 % : Corte, Portugal-plaine et Portugal-montagne ;
- les Pins dont les tissus corticaux sont riches en Δ^3 -carène (plus de 16 %) : Bias et Léon.

Le myrcène est présent dans les tissus corticaux de 7 provenances étudiées à un taux voisin de 20 % ; la provenance marocaine se particularise en atteignant seulement 1,2 % de myrcène (et 0 % de Δ_3 -carène).

En ce qui concerne les pinènes présents dans les tissus corticaux, nous voyons, chez les Pins marocains, une nette prédominance de l' α -pinène. Le taux de β -pinène est voisin de 30 % pour 6 provenances, seules les provenances corse et marocaine ont moins de 14 % de β -pinène dans leurs essences corticales.

FIG. 12. — Histogramme de répartition des teneurs en monoterpènes des tissus extérieurs au bois chez 40 arbres de Mazaugues (fréquences absolues).

FIG. 12. — Histogram showing the distribution of monoterpene percentages in cortical tissue for 40 trees from the Mazaugues area (absolute frequencies)

L'ensemble de ces constatations montre d'abord que l'origine marocaine présente, d'après ses caractères monoterpéniques, une physionomie très particulière : elle élabore peu ou pas de myrcène et de Δ_3 -carène dans les tissus corticaux et l' α -pinène prédomine nettement aussi bien dans le bois que dans les tissus extérieurs.

Le rapport $\frac{\beta\text{-pinène}}{\alpha\text{-pinène}}$ des essences du bois est compris pour les provenances des Landes, de l'Espagne et du Portugal entre 0,5 et 0,9 ; il est de 0,1 à 0,3 seulement pour les provenances corse et provençales (Maures, Esterel, Mazaugues).

Mais la composition des essences des tissus corticaux permet une discrimination plus fine des provenances en se référant aux proportions relatives du Δ_3 -carène dans les essences ; aussi, avons-nous cherché à approfondir cette possibilité de distinction entre provenances landaises et provenances portugaises.

FIG. 13. — Comparaison de la répartition des monoterpènes (exprimée en % des monoterpènes totaux) dans le bois et les tissus extérieurs au bois de Pins maritimes de diverses provenances :

8 provenances de la plantation comparative des Malgaches : ————,
 moyenne de 51 arbres d'origine landaise : - - - - - ,
 moyenne de 40 arbres du plateau de Mazaugues : — . — . — .

FIG. 13. — Comparison of monoterpene percentages in wood and cortical tissue of maritime pines from various areas :

8 provenances from the Malgaches comparative plantation : ————,
 average composition for 51 trees from the Landes area : - - - - - ,
 average composition from 40 trees from the Mazaugues plantation : — . — . — .

5.2. — Comparaison des provenances landaises et portugaises

Nous avons repris cette étude sur deux autres parcelles comparatives : la plantation de Sylvalle (installée à Nezer en 1957) et celle de l'Hermitage (1963). La figure 14 rapporte les résultats des analyses effectuées dans les trois plantations comparatives.

FIG. 14. — Comparaison des essences du bois et des tissus extérieurs au bois des Pins de provenances landaises et portugaises dans les plantations comparatives des Malgaches, de l'Hermitage et ae Sylvabelle.

origine landaise : ———.

origines portugaises : - - - - - , — . — . — , —

FIG. 14. — Comparison of wood and cortical tissue monoterpenes in maritime pines of Landes and Portugal origin in the comparative plantations of the Malgaches, Hermitage and Sylvabelle estates

Landes origin : ———.

Portugal origins : - - - - - , — . — . — , —

On constate d'abord qu'il y a un peu plus d' α -pinène dans l'essence du bois des Pins portugais (sauf pour la provenance dite Portugal-plaine) que dans celle des Pins landais. Ce fait confirme les résultats obtenus par BRUS, BENTÉJAC et PRÉVOT (1968) sur des essences de térébenthine : les essences d'origine française sont légèrement plus riches en β -pinène que les essences d'origine portugaise.

Mais c'est surtout au niveau des tissus corticaux que les essences présentent les plus grandes différences. Dans les trois cas étudiés, le Δ_3 -carène s'est révélé un excel-

lent élément de discrimination ; il est présent à un taux de 15 à 17 % chez les Pins landais et de 3 à 6 % seulement chez les Pins d'origine portugaise.

Sans doute est-ce là une possibilité riche de promesses pour déterminer la provenance de Pins d'origine incertaine, mais aussi la voie ouverte à des études sur la transmission héréditaire de cette capacité que présentent ou non certains Pins d'élaborer préférentiellement, dans leurs tissus corticaux, le Δ_3 -carène, le myrcène ou le limonène.

6. — CONCLUSION

Les proportions relatives des principaux constituants monoterpéniques des essences présentes dans le bois et les tissus extérieurs au bois des pousses d'un an de *Pinus pinaster* Ait. varient selon les individus et les provenances. A l'intérieur d'un « clone », la composition monoterpénique des essences est très homogène et ne dépend pas de la date du prélèvement. Mais les attaques par les insectes provoquent des modifications du « profil monoterpénique » des arbres atteints : l'effet insecte est hautement significatif sur les teneurs des tissus extérieurs au bois en β -pinène et en Δ_3 -carène.

Entre provenances de régions géographiques différentes, les « profils monoterpéniques » présentent des caractères distinctifs. A cet égard, le Δ_3 -carène des tissus extérieurs au bois s'avère être un excellent critère chimiotauxinomique et permet en particulier de distinguer les Pins landais des Pins portugais.

Entre provenances d'une même région géographique (Landes), la distinction est moins nette. Une mise en évidence plus précise de différences exigerait soit un nombre d'arbres par provenance de l'ordre d'une vingtaine, soit peut-être la détermination des terpènes de la fraction lourde des essences.

L'allure des histogrammes présentés s'expliquerait par le fait que les teneurs en certains des monoterpènes sont contrôlées par un petit nombre de gènes. Des études sont en cours pour préciser le mécanisme de la transmission héréditaire de ces caractères et les relier aux processus de la biogenèse des terpènes.

Reçu pour publication en avril 1971.

SUMMARY

BIOLOGY AND GENETICS OF TERPENES IN *Pinus pinaster* AIT.

I. — THE VARIATION OF MONOTERPENE COMPOSITION INSIDE AN INDIVIDUAL, BETWEEN INDIVIDUALS AND BETWEEN PROVENANCES

We have extensively studied the different causes of variation in monoterpene composition of wood and cortical tissue essential oils of *Pinus pinaster* Ait.

On a single tree we have studied the variation according to the kind and the age of tissue : wood, cortical tissues and leaves. In the wood the two major monoterpenes are α -pinene and β -pinene in a constant proportion at every height in the same tree. In cortical tissues the monoterpene composition is more complex (α -pinene, β -pinene, Δ_3 -carene, myrcene and lemonene) and is variable with the age of tissues : the younger they are, the more Δ_3 -carene, myrcene and lemonene they contain. In the leaves the essential oils show monoterpenes and also sesquiterpenes and many oxygenated compounds the amounts of which are variable with the age of leaves.

To sum up the leaves and, at least level, the cortical tissues undergo modifications in quantity and nature of monoterpenes in their essential oils; so, all samples have been collected in one year old shoots near the top of the crown and the analyses were carried on wood and cortical tissue extracts. On the other hand we have found a striking correlation between trees growing in forest conditions and their grafts. This work was only performed on Landes pines. The monoterpenes for which we have found significative relation were α - and β -pinenes and lemonene in the wood, in the cortical tissues the significant monoterpenes were Δ_3 -carene, myrcene and lemonene.

Within a clone, different causes of variation have been examined:

— date of sampling: we have shown that seasons have no effect on the monoterpene composition both in wood and cortical tissues;

— insect attacks: the injured shoots showed a β -pinene increase both in the wood and in the cortical tissue essential oils.

The variation between individuals and provenances of the same geographic area was also studied. The conclusion was that individual variation needs sufficiently large samples to evaluate the average of a population. In Landes district, the intraspecific variability was not strong enough to be clearly shown with less than ten trees in a sample.

Between provenances of different geographic areas the amount of Δ_3 -carene in cortical oils gives an excellent discrimination between populations.

ZUSAMMENFASSUNG

BIOLOGIE UND GENETIK DER TERPENE IN *Pinus pinaster* AIT.

I. — DIE VERÄNDERUNGEN IN DER ZUSAMMENSETZUNG DER MONOTERPENE BEI EINEM INDIVIDUUM, UNTER INDIVIDUEN UND UNTER HERKÜNFTE

Wir haben systematisch die Untersuchung der verschiedenen Ursachen der Veränderung der Zusammensetzung der Monoterpene der Öle des Holzes und der ausserhalb des Holzes liegenden Gewebe vorgenommen.

Bei *Pinus pinaster* Ait.:

— auf dem selben Baum, Veränderung mit lokalisation;

— auf dem selben Klon, Vergleichung der im Walde selektionierten Bäume und ihrer Pfröpfen; Einfluss der Zeit der Entnahme und der Angriffe der Insekten;

— in der selben geographischen Gegend, Veränderungsmöglichkeit unter den Individuen;

— bei den verschiedenen geographischen Herkunft von *Pinus pinaster* Ait. (Marokko, Korsika, Maures, Esterel, Portugal, Spanien, Landes), Vergleichung der Profile der Monoterpene; mögliche Diskrimination der Herkunft nach dem Gehalt an Δ_3 -Karene.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BANNISTER M. H., BREWERTON H. V. et McDONALD I. R. C., 1959. — Vapour-phase chromatography in a study of hybridism in *Pinus*. *Svensk Papperst.*, **62** (16), 567-573.
- BANNISTER M. H., WILLIAMS A. L. et McDONALD I. R. C., 1962. — Variation of turpentine composition in five population samples of *Pinus radiata*. *New Zeal. J. Sci.*, **5** (4), 486-495.
- BERNARD-DAGAN C., 1966. — Les essences du Pin maritime: leur répartition dans les divers organes, nature et évolution des monoterpenes. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, Mem. 1966 (1968), 181-194.
- BLACK A. P. et THOMSON S. M., 1934. — Oleoresin from individual trees of Slash and longleaf pine. *Ind. Eng. Chem.*, **26**, 66-69.
- BLIGHT M. M. et McDONALD I. R. C., 1964. — Sample reproductivity in *Pinus* essential oils studies. *New Zeal. J. Sci.*, **7** (2), 212-220.
- BRUS G., BENTEJAC R. et PRÉVOT F., 1968. — Analyse par chromatographie en phase gazeuse des produits résineux. *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 1-16.

- COUCHMAN F. M. et von RUDLOFF E., 1965. — Gas liquid chromatography of terpenes. Part. XIII. The volatile oil of the leaves of *Juniperus horizontalis* Moench. *Canad. J. Chem.*, **43** (5), 1017-1021.
- DEBAZAC E. F. et TOMASSONE R., 1965. — Contribution à une étude comparée des Pins méditerranéens de la section *halepensis*. *Ann. Sci. forest.*, **22**, 215-254.
- DUPONT G., 1924. — Séparation des constituants de l'essence de térébenthine de Bordeaux. *P.V. Soc. Sci. Phys. et Nat. de Bordeaux*, 1921-1922, 10-18.
- DUPONT G. et BARRAUD M., 1925. — Sur les variations des propriétés des essences fournies par une même variété de Pin. *Bull. Inst. du Pin*, **13**, 127-129.
- DUPONT G. et BARRAUD M., 1928. — Sur la nature du constituant dextrogyre des queues d'essence de térébenthine de Bordeaux. *Soc. Sci. Phys. et Nat. de Bordeaux*, 1926-1927, 164-167.
- DUPONT G., DULOU R. et NAFFA P., 1948. — Les constituants sesquiterpéniques de l'essence de Pin maritime : caryophyllène et longifolène. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **15**, 990-995.
- FISHER G. S., 1963. — Composition of turpentine from *Pinus khasya*. *Chem. and Ind.*, **44** (2), 1761-1762.
- FORDE M. B., 1964. — Inheritance of turpentine composition in *Pinus attenuata* x *radiata* hybrids. *New Zeal. Journ. Bot.*, **2** (1), 53-59.
- HANOVER J. W., 1966 (a). — Inheritance of 3-carene concentration in *Pinus monticola*. *Forest. Sci.*, **12** (4), 447-450.
- HANOVER J. W., 1966 (b). — Genetics of terpenes. I. Gene control of monoterpene levels in *Pinus monticola* Dougl., *Heredity*, **21**, 73-84.
- HANOVER J. W., 1966 (c). — Environmental variation in the monoterpenes of *Pinus monticola* Dougl., *Phytochem.*, **5** (4), 713-717.
- HANOVER J. W. et FURNESS M. M., 1966. — Monoterpene concentration in Douglas-fir in relation to geographic location and resistance to attack by the Douglas-fir beetles. *North Cent. Forest. Exp. Sta., U.S. Forest Serv. Res.*, Pap NC-6, 23-28.
- ILLY G., 1966. — Recherches sur l'amélioration génétique du Pin maritime. *Ann. Sci. forest.*, **23** (4), 769-948.
- ILLY G. et CASTAING J.-Ph., 1966. — Rythme saisonnier de croissance en diamètre et en hauteur chez le Pin maritime. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, Mem. 1966 (1968), 173-179.
- JUVONEN S., 1966. — Über die Terpenebiosynthese in *Pinus sylvestris*. *Acta Bot. Fenn.*, **71**, 5-92.
- LA ROI G. H. et DUGLE J. R., 1968. — A systematic and genealogical study of *Picea glauca* and *Picea engelmannii*, using paper chromatograms of needle extracts. *Canad. J. Bot.*, **46**, 649-687.
- MIROV N. T., 1946. — A contribution of turpentine chemistry to dendrology and forest genetics. *J. Forest.*, **44** (1), 13-16.
- MIROV N. T., 1961. — Composition of gum turpentines of Pines. *Tech. Bull. n° 1239 - U.S. Dept. Agric.*, 158 p.
- MIROV N. T. et ILOFF P. M. Jr., 1958. — Chemical composition of gum turpentine of Pines. XXIX. A report on *Pinus ponderosa* from five localities: Central Idaho, Central Montana, Southeastern Wyoming, Northwestern Nebraska and Central Eastern Colorado. *Amer. Pharm. Assoc. J. Sci. Ed.*, **47**, 404-409.
- MIROV N. T., ZAVARIN E. et SNAJBEEK K., 1966 (a). — Chemical composition of turpentines of some Eastern Mediterranean Pines in relation to their classification. *Phytochem.*, **5** (1), 97-102.
- MIROV N. T. et al., 1966 (b). — Further studies of turpentine composition of *Pinus muricata* in relation to its taxonomy. *Phytochem.*, **5** (3), 343-355.
- OUDIN A., 1933. — Sur les variations considérables que présente, d'un arbre à l'autre, le pouvoir rotatoire de l'essence de térébenthine du Pin maritime (*Pinus pinaster* Sol.) et la fixité relative de ce pouvoir rotatoire pour un arbre donné. *Bull. Inst. du Pin*, **45**, 177.
- OUDIN A., 1939. — Les variations du pouvoir rotatoire de l'essence térébenthine du Pin maritime et la notion d'individualité chimique. *Assoc. Franç. pour l'Avanc. des Sci. Rapp. et Comm. sur Pin maritime*, 62^e Congrès, Arcachon, 22-27 sept. 1938, 123-125.
- OUDIN A., 1958. — L'individualité chimique chez le Pin maritime (*Pinus pinaster* Sol.). *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **244**, 2854-2855.
- RUDLOFF E. von., 1961. — Gas-liquid chromatography of terpenes. Part IV. The analysis of the volatile oil of the leaves of Eastern White Cedar. *Canad. J. Chem.*, **39** (6), 1200-1206.
- RUDLOFF E. von., 1962. — Gas-liquid chromatography of terpenes. Part V. The volatile oils of the leaves of Black, White and Colorado Spruce. *Tappi*, **45** (3), 181-184.
- RUDLOFF E. von., 1964. — Gas-liquid chromatography of terpenes. Part X. The volatile oils of the leaves of Sitka (*Picea sitchensis*) and Engelmann Spruce (*Picea engelmannii*). *Canad. J. Chem.*, **42** (5), 1057-1062.

- RUDLOFF E. von, 1966. — Gas-liquid chromatography of terpenes. XIV. The chemical composition of the volatile oil of the leaves of *Picea rubens* and chemotaxonomic correlations with other North American Spruce species. *Phytochem.*, **5** (3), 331-341.
- RUDLOFF E. von, 1967. — Chemosystematic studies in the genus *Picea* (Pinaceae). I. Introduction. *Canad. J. Bot.*, **45** (6), 891-901.
- SEAL H., 1966. — *Multivariate statistical analysis for biologists*. Methuen, London.
- SMITH R. H., 1964. — Variations in the monoterpenes of *Pinus ponderosa* Laws. *Science*, **143** (3612), 1337-1338.
- SMITH R. H., 1964. — Perennial constancy of the monoterpene synthesis in the wood oleoresin of *Pinus ponderosa*. *Nature*, **202** (4927), 107-108.
- SMITH R. H., 1966. — The monoterpene composition of *Pinus ponderosa* xylem resin and of *Dendroctonus brevicornis* pitch tubes. *Forest Sci.*, **12** (1), 63-68.
- SQUILLACE A. E. et FISHER G. S., 1966. — Evidences of the inheritance of turpentine composition in Slash pine. *North Cent. Forest Exp. Sta., U.S. Forest Serv. Res. Pap.* NC-6, 53.
- STAIRS G. R., 1968. — Monoterpene composition in *Larix*. *Silvae Genetica*, **17** (5-6), 182-186.
- TOBOLSKY J. J., 1968. — *Variations in monoterpenes in Scotch Pine (Pinus sylvestris L.)*. Thesis, Michigan State University, Ph. D., Dept of Forestry, 136 p.
- TOMASSONE R., 1967. — L'analyse de composantes principales. C.N.R.F., Station de Biométrie. *Note scientifique* n° 1.
- WILLIAMS A. L. et BANNISTER M. H., 1962. — Composition of gum turpentine from twenty-two species of Pines grown in New Zealand. *J. Pharm. Sci.*, **51** (10), 970-975.
- ZAVARIN E., 1968. — Chemotaxonomy of the genus *Abies*. II. Within tree variation of terpene in cortical oleoresin. *Phytochem.*, **17** (1), 99-107.
- ZAVARIN E., 1970. — Qualitative and quantitative co-occurrence of terpenoids as a tool for elucidation of their biosynthesis. *Phytochem.*, **9** (5), 1049-1063.
- ZAVARIN E., MIROV N. T. et SNAJBERK K., 1966. — Turpentine chemistry and taxonomy of three Pines of Southeastern Asia. *Phytochem.*, **5** (1), 91-96.
- ZAVARIN E. et SNAJBERK K., 1965. — Chemotaxonomy of the genus *Abies*. Survey of the terpenes present in the *Abies* balsams. *Phytochem.*, **4** (1), 141-148.
- ZAVARIN E. et al., 1970. — On the geographical variability of the monoterpenes from the cortical blister oleoresin of *Abies lasiocarpa*. *Phytochem.*, **9** (2), 377-395.