LES TERPÈNES DU PIN MARITIME ASPECTS BIOLOGIQUES ET GÉNÉTIQUES

III. — HÉRÉDITÉ DE LA TENEUR EN MYRCÈNE

Ph. BARADAT, C. BERNARD-DAGAN*, G. PAULY*
et C. ZIMMERMANN-FILLON*

*Laboratoire d'Amélioration des Conifères, Domaine de l'Hermitage, Pierroton
33610 Cestas*

**Laboratoire de Biologie végétale, Université de Bordeaux I
33405 Talence*

RÉSUMÉ

On a étudié de façon approfondie le mécanisme de l'hérédité de la concentration en myrcène dans les tissus corticaux du Pin maritime. On a utilisé des familles de demi-frères et de pleins-frères dont le profil monoterpénique des parents était connu par l'analyse de leurs greffes.

On a montré tout d'abord que les descendants utilisés (âgés de 7 à 8 ans) avaient une physiologie « adulte » au moment des prélèvements. Ensuite, on a établi que la synthèse du myrcène est contrôlée chez l'origine landaise, par un gène majeur, l'allèle responsable de la richesse en ce monoterpène étant dominant. Par ailleurs, on a prouvé que le locus qui contrôle la synthèse du myrcène et celui qui est impliqué dans la synthèse du 3-carène sont portés par le même chromosome. Ils sont assez étroitement liés : leur taux de recombinaison est de 0,10.

Le contrôle monogénique de l'hérédité de la concentration en 3-carène a été démontré de façon irréfutable chez le Pin maritime (BARADAT *et al.* 1972). Depuis, nous avons cherché à approfondir le mécanisme de la transmission héréditaire de la concentration du myrcène et du limonène dans les tissus extérieurs au bois.

Seul le mode d'hérédité du myrcène a pu être déterminé de façon certaine. Nous espérons pouvoir prochainement préciser de la même façon le mécanisme génétique de la transmission du limonène. Dans le présent travail, nous avons procédé selon une démarche identique à celle que nous avons suivie pour étudier l'hérédité de la concentration en 3-carène dans les tissus extérieurs au bois.

Nous avons cru nécessaire de faire précéder l'étude du mode d'hérédité au niveau génique d'une première partie où, en utilisant les méthodes de la génétique quantitative, nous

nous sommes attachés à prouver que les descendants de parents connus qui nous ont servi pour préciser l'hérédité de la concentration en myrcène, avaient bien atteint une physiologie adulte pour l'élaboration de ce monoterpène.

Nous avons ainsi réalisé la synthèse des méthodes de la génétique quantitative et de la génétique formelle pour l'étude de l'hérédité d'un même caractère. Cela constitue une originalité en ce qui concerne la génétique des terpènes; tous les autres travaux traitant de ce sujet chez les arbres forestiers utilisent soit la décomposition de la variance phénotypique, soit l'étude de la ségrégation de phénotypes chez les descendants d'arbres connus.

Ainsi, HANOVER (1966) étudie l'hérédité du 3-carène dans deux articles distincts, utilisant l'une ou l'autre technique; le lien entre ces deux types de travaux n'est pas établi, et, en particulier le problème de la corrélation génétique jeune-adulte du caractère n'est pas abordé. Par ailleurs, on trouve évidemment dans la littérature beaucoup plus d'études concernant la génétique « quantitative » des terpènes que leur hérédité au niveau génique. Ainsi, les travaux de FRANKLIN et SNYDER (1971) consacrés à la génétique des α -et β -pinènes chez *Pinus palustris*, se limitent à une décomposition de variance et à une estimation de l'héritabilité du β -pinène.

Comme le note SQUILLACE (1973), l'identification des gènes responsables de la transmission héréditaire des concentrations en terpènes est beaucoup plus utile à tous points de vue qu'une estimation précise des variances génétiques et de la variance « environnement ». Cela est évident, si l'on veut utiliser les terpènes comme « marqueurs » génétiques, si l'on envisage une sélection indirecte pour la résistance à certains insectes, ou bien si l'on désire engager un programme d'amélioration génétique pour la qualité de la gemme. Mais, dans le cadre de l'utilisation des terpènes en chimiotaxinomie, ou pour la discrimination de diverses provenances d'une même espèce, les distinctions exprimées en fréquences géniques sont beaucoup plus probantes et facilement interprétables que des différences de concentrations : qu'elles soient exprimées en pourcentage de l'oléorésine ou des monoterpènes totaux, celles-ci ne sont pas indépendantes les unes des autres, du simple fait de leur mode d'expression.

Au niveau génique, l'hérédité du myrcène est connue chez *Pinus elliotii* (SQUILLACE, 1971) et chez *Pinus taeda* (ROCKWOOD, 1973) avec toutefois chez cette deuxième espèce trop peu de résultats pour que la démonstration soit rigoureuse : dans les deux cas, un seul locus est en cause et l'allèle responsable de la richesse en ce monoterpène est dominant. Notre étude montre qu'il en est de même chez le Pin maritime, mais nous avons pu, en outre, prouver que le locus qui contrôle la synthèse du myrcène et celui qui est impliqué dans la synthèse du 3-carène sont portés par le même chromosome. Le taux de recombinaison entre les deux locus a pu être estimé avec une bonne précision. C'est à notre connaissance, la première amorce de « carte factorielle » chez une essence forestière.

1. — ESTIMATIONS DE L'HÉRITABILITÉ ET DE LA CORRÉLATION GÉNÉTIQUE JEUNE-ADULTE DE LA CONCENTRATION EN MYRCÈNE

Ce travail utilise des parents greffés (greffes d'au moins 8 ans) dont nous avons montré qu'ils avaient une physiologie adulte pour l'aptitude à la synthèse des monoterpènes (BERNARD-DAGAN *et al.* 1971).

Leurs descendants (familles de demi-frères ou de pleins-frères) avaient de 7 à 8 ans au moment du prélèvement des échantillons, à l'exception d'une famille issue d'autofécondation qui avait seulement 6 saisons de végétation.

Avant d'aborder l'étude de l'hérédité du myrcène, nous avons donc montré que ces jeunes arbres manifestaient, au moment des prélèvements, une physiologie adulte en ce qui concerne la biosynthèse du myrcène. Nous avons également chiffré la part de la variabilité non génétique (variabilité « environnement ») due, en partie, aux marges d'erreurs imputables aux analyses et, en partie, aux microvariations inhérentes aux échantillons prélevés (âge du verticille, vigueur de la pousse, type de la greffe).

1.1. — Héritabilité au sens large

L'héritabilité au sens large est le rapport de la variance génétique sur la variance phénotypique (FALCONER, 1960; LERNER, 1958). La variance phénotypique est elle-même la somme de la variance génétique et de la variance « environnement ».

$$h_{sl}^2 = \frac{VG}{VG + VE}.$$

Dans le cas qui nous préoccupe, h_{sl}^2 est une mesure de la fiabilité des analyses qui nous ont servi pour la suite de ce travail.

Nous avons utilisé 17 clones et déterminé, sur un nombre de greffes variant de 2 à 4, la concentration en myrcène des tissus corticaux d'un échantillon prélevé selon les normes habituelles (BARADAT *et al.* 1972).

Les composantes VG et VE de la variance phénotypique ont été calculées par analyse de variance à 1 facteur.

$$VG = 40,90 \text{ (16 degrés de liberté)}$$

$$VE = 2,91 \text{ (27 degrés de liberté)}$$

$$h_{sl}^2 = 0,95 \pm 0,02 \text{ (1)}$$

Nous pourrions donc considérer par la suite que pratiquement toute la variabilité qui existe pour la concentration en myrcène, entre différents individus, est d'origine génétique.

1.2. — Héritabilité au sens strict

Comme dans le travail que nous avons consacré à l'hérédité du 3-carène, nous avons comparé les valeurs obtenues pour l'héritabilité au sens strict (2) par deux méthodes différentes :

— corrélation intraclasse à l'intérieur de familles de demi-frères (plants de 8 ans, croisements « polycross »).

(1.) Ici, comme dans la suite de l'article, nous faisons suivre l'estimation de son erreur standard.

(2.) Voir la définition de ce paramètre dans FALCONER (1960) ou BARADAT *et al.* (1972).

— régression de la moyenne des mêmes familles de demi-frères sur le phénotype du parent maternel.

Si les descendants ont atteint une physiologie adulte pour l'aptitude à la synthèse du myrcène, les gènes qui contrôlent cette synthèse sont les mêmes que ceux des parents et fonctionnent selon les mêmes modalités.

En particulier, les variances des effets additifs, chez le jeune et l'adulte doivent être très voisines l'une de l'autre. Leur covariance doit également avoir une valeur très proche de celle des variances. Les variances de dominance du jeune et de l'adulte doivent aussi avoir sensiblement la même valeur.

Deux conséquences découlent de ce raisonnement :

a) les héritabilités estimées sur la base de la corrélation intraclasse chez les descendants ou par régression descendants/ parents doivent être très semblables : leurs composantes auront des valeurs très voisines.

b) la corrélation génétique ⁽¹⁾ entre les caractères jeune et adulte, doit être voisine de 1.

Dans ce qui suit, nous avons cherché à vérifier ces deux conséquences.

1.21. *Matériel et méthodes.*

Pour l'estimation des paramètres génétiques que nous venons d'envisager, nous avons utilisé des analyses portant d'une part sur 32 clones représentés chacun par 4 greffes, d'autre part sur 32 familles de demi-frères issues de croisements « polycross ».

Dans ce plan de croisements, chacun des 32 clones a été utilisé comme « mère » et pollinisé par un mélange de pollen issu de 4 pères différents ⁽²⁾.

Parmi ces 32 familles, des échantillons ont été prélevés pour analyse sur 10 individus. Pour 16 familles, les 10 échantillons ont été analysés individuellement; en ce qui concerne les 16 autres familles, on a fait seulement l'analyse de « l'échantillon moyen » correspondant au mélange des 10 échantillons.

1.22. *Estimation de l'héritabilité par corrélation intraclasse chez les descendants.*

Pour une estimation de l'héritabilité de la teneur en myrcène par corrélation intraclasse nous avons donc pu utiliser les 16 familles où des analyses individuelles ont été faites (10 individus par famille).

L'analyse de variance est présentée dans le tableau 1.

L'estimation de l'héritabilité au sens strict est :

$$h^2 = 4 t \simeq 0,57 \pm 0,30$$

(1.) FALCONER (1960).

(2.) Le nombre de « pères » utilisés pour le « polycross » est réduit. Toutefois nous avons vérifié en utilisant comme marqueurs les gènes C+ et C— qui contrôlent la synthèse du 3-carène, que la fréquence chez les descendants des phénotypes [R] et [P] en ce monoterpène est en accord avec l'hypothèse d'égalité des « pouvoirs fécondants » des 4 pollens.

TABLEAU 1 — TABLE 1

*Résultats de l'analyse de variance de la teneur en myrcène de 16 familles de « demi-frères »
(10 individus par famille).*

*Results of analysis of variance for myrcene concentration in 16 half-sibs families
(10 individuals per family).*

Origine de la variation	carré moyen	degré de liberté	Test F	Composition des carrés moyens
entre familles	109,87	15	2,65**	$\sigma^2 e + 10 \sigma^2 f$
intra-famille	41,49	144		$\sigma^2 e$

Variance entre familles : $\sigma^2 f = 6,84$

Coefficient de corrélation intraclasse $t = 0,142$

1.23. Estimation de l'héritabilité par régression des moyennes de familles sur les mères.

Pour l'estimation de l'héritabilité par régression descendants/parents, nous avons disposé de 32 couples.

Sur la figure 1 est représentée la droite de régression des moyennes de familles de demi-frères sur les valeurs phénotypiques de leurs mères. Le coefficient de régression, b , vaut 0,282.

L'héritabilité au sens strict est égale à 2 fois la valeur de ce coefficient de régression :

$$h^2 = 2 b \simeq 0,56 \pm 0,16$$

Nous obtenons donc des estimations de l'héritabilité au sens strict pratiquement identiques en utilisant la méthode du coefficient de corrélation intraclasse ou bien celle de la régression des descendants sur le phénotype des mères.

Les deux estimations de l'héritabilité que nous avons obtenues ont une erreur standard assez forte (surtout celle faite par corrélation intraclasse); de plus, puisque le mélange de pollen utilisé par le « polycross », correspondait à 4 « pères » seulement, les relations de parenté entre deux individus de la même famille peuvent être des relations de pleins-frères. Or, les deux estimations d'héritabilité que nous avons faites supposent que chaque famille comporte uniquement des demi-frères. Nous prendrons en compte, pour l'estimation du coefficient de corrélation génétique jeune-adulte de la concentration en myrcène, cette double possibilité d'apparentement.

1.3. Estimation de la corrélation génétique jeune-adulte de la concentration en myrcène

Pour l'estimation de la corrélation génétique jeune-adulte de la concentration en myrcène, nous avons tenu compte de toute l'information disponible :

- a) variabilité entre les 32 parents analysés,
- b) variabilité intra-clone,

FIG. 1. — Régression de la concentration moyenne en myrcène de familles de demi-frères sur celle de leur mère (concentrations exprimées en % des monoterpènes).

FIG. 1. — Regression of mean myrcene concentration of half sibs progenies on their mother's one (concentrations in per cent of monoterpènes), $y = 0,282 x + 9,329$

c) variabilité entre les 32 familles « polycross » (16 « échantillons moyens » et 16 groupes de 10 analyses individuelles),

d) variabilité à l'intérieur des 16 familles où les 10 individus retenus ont fait l'objet d'analyses individuelles,

e) covariance entre parents et moyennes de familles.

De plus, comme il a été dit, nous avons tenu compte du double apparentement à l'intérieur des familles.

Le tableau 2 présente les estimations des composantes du coefficient de corrélation génétique jeune-adulte, ainsi que celles de la variance « environnement » et de la variance de dominance. La justification des coefficients des composantes de la variance est donnée en annexe. Ce modèle néglige les effets d'épistasie.

TABLEAU 2 — TABLE 2

Estimation des paramètres génétiques à partir des analyses de variance des clones, de leurs descendants et de la régression descendants/clones.

Estimation of genetical parameters from analysis of variance of clones, progenies and regression of progenies on clones.

$$\left. \begin{array}{l} \text{VA 1 : variance génétique additive du caractère « jeune »} \\ \text{VD 1 : variance génétique de dominance du caractère « jeune »} \\ \text{VE : variance « environnement »} \\ \text{VA 2 : variance génétique additive du caractère « adulte »} \\ \text{VD 2 : variance génétique de dominance du caractère « adulte »} \\ \text{Cov. (A 1, A 2) covariance des effets génétiques additifs jeune} \\ \text{et adulte} \\ r_a : \text{coefficient de corrélation génétique jeune-adulte.} \end{array} \right\} r_a = \frac{\text{Cov. (A 1, A 2)}}{\sqrt{\text{VA 1} \times \text{VA 2}}} = 0,96$$

Variance, covariance ou carré moyen calculés	Signification génétique	Valeur	Estimation des paramètres génétiques
(a) variance phénotypique des 32 parents (sur 4 greffes)	VA 2 + VD 2 + 1/4 VE	73,91	VA 2 = 47,34 VD 2 = 26,04
(b) variance intraclone	VE	2,11	VE = 2,11
(c) Carré moyen calculé sur les moyennes de 32 familles (10 individus par famille)	0,321 VA 1 + 0,096 VD 1 + 0,100 VE	15,06	VA 1 = 39,72 VD 1 = 21,85
(d) variance intra-famille (16 fa- milles, 10 individus par fa- mille)	0,71 VA 1 + 0,96 VD 1 + VE	51,29	
(e) covariance entre parents et moyennes de familles	1/2 Cov. (A 1, A 2)	20,82	Cov. (A 1, A 2) = 41,64

Nous avons considéré que la variance « environnement », VE, était la même chez les clones et chez leurs descendants. Cela ne soulève aucune difficulté étant donné la faible valeur de cette variance.

$$\text{Nous avons d'autre part posé : } \frac{VD\ 1}{VA\ 1} = \frac{VD\ 2}{VA\ 2}.$$

Il est raisonnable d'admettre cette relation si, comme nous allons le montrer, les caractères jeune et adulte suivent tous deux une hérédité monogénique. Cela ne serait pas licite dans le cas d'une hérédité plus complexe.

Sous ces deux conditions, il est facile d'estimer les divers paramètres génétiques à partir des éléments donnés par le tableau 2. Les variances génétiques chez les descendants sont estimées à partir du système d'équations (c) et (d). On en déduit la valeur du rapport $\frac{VD\ 1}{VA\ 1} = 0,55$, valeur que l'on reporte dans la relation (a).

L'examen de la colonne de droite du tableau 2 montre que les 3 paramètres VA 1, VA 2 et Cov. (A 1, A 2) ont des valeurs voisines. Le coefficient de corrélation génétique jeune-adulte vaut 0,96 soit pratiquement 1.

On peut considérer qu'il y a identité dans le contrôle génétique du caractère jeune et du caractère adulte.

2. — MÉCANISME DE LA TRANSMISSION HÉRÉDITAIRE DE LA TENEUR EN MYRCÈNE

Une physiologie adulte pour la synthèse du myrcène étant atteinte chez les descendants étudiés, nous avons tout naturellement cherché à établir au niveau génique le mode de transmission de la concentration en ce monoterpène. Par rapport à la situation rencontrée pour le 3-carène, une difficulté apparaît qui rend à première vue plus délicate l'analyse génétique que nous allons entreprendre : on ne rencontre pratiquement pas d'échantillons totalement dépourvus de myrcène. Les teneurs minimales des individus « pauvres » sont en général supérieures à 2 %.

En fait, le 3-carène présente chez le Pin maritime des conditions exceptionnelles de netteté en ce qui concerne la caractérisation des sujets « pauvres ». Avec le myrcène, nous nous trouvons devant des résultats du même type que ceux qu'a utilisés HANOVER (1966) pour montrer le contrôle monogénique du 3-carène chez *Pinus monticola*. La démonstration par SQUILLACE (1971) chez *Pinus elliotii* du déterminisme monofactoriel de la concentration en β -pinène et en myrcène repose également sur des résultats où la limite entre « pauvres » et « riches » doit être appréciée d'après l'allure de l'histogramme.

2.1. Étude d'histogrammes correspondant à divers croisements (familles de pleins-frères)

Les plants de 6 familles différentes de pleins-frères ont été analysés individuellement.

Il s'agit des familles suivantes :

- (a) 31.15 (2,78 %)* $\times$ 31.15 (2,78 %) : 30 plants
- (b) 01.46 (19,00%) $\times$ 00.01 (5,80 %) : 20 plants
- (c) 00.11 (2,40 %) $\times$ 00.01 (5,80 %) : 64 plants
- (d) 00.14 (13,23 %) $\times$ 13.08 (15,90 %) : 64 plants
- (e) 00.01 (5,80 %) $\times$ 13.08 (15,90 %) : 40 plants
- (f) 00.14 (13,23 %) $\times$ 51.02 (13,90 %) : 40 plants

Pour chaque famille, on a établi l'histogramme des teneurs en myrcène en adoptant des intervalles de classe de 2 % depuis 0 jusqu'au maximum observé. Les 6 histogrammes sont regroupés sur la figure 2.

On constate que les plants issus du croisement « self » 31.15 $\times$ 31.15 d'un parent pauvre avec lui-même — famille (a) — ont une teneur en myrcène qui ne dépasse jamais 4 %, alors que, dans les 5 autres familles, on rencontre des concentrations atteignant ou dépassant 20 %. On a donc là un comportement de « lignée pure » analogue à celui qui a été observé, pour le 3-carène, en ce qui concerne les croisements entre parents « pauvres ».

Les histogrammes des familles (c), (d), (e), (f) présentent tous une forte bimodalité; un premier mode se situe dans la classe 2 % — 4 % et correspond à un « pic » assez étroit : il ne dépasse pas la limite de 8 %. Un deuxième mode est situé dans la classe 10 % — 12 % : familles (c), (e) et (f) ou dans la classe 16 % — 18 % : famille (d); il correspond à une distribution beaucoup plus étalée. Dans tous les cas, on peut fixer la limite entre le groupe « pauvre » et le groupe « riche » avec une marge d'erreur qui ne dépasse pas un intervalle de classe, soit 2 % (c'est l'étendue de la zone de chevauchement entre les deux groupes).

La famille (b), pour laquelle 20 individus seulement ont été analysés, ne présente pas de pic dans la zone « pauvre » (de 0 à 8 %) mais simplement une distribution très étalée, correspondant au groupe « riche » avec une « trainée » de 4 individus « très riches » dont la concentration en myrcène est supérieure à 30 %.

Le croisement entre un parent pauvre et un parent riche — famille (c) — ou entre deux parents riches — familles (d), (e) et (f) — peut donc donner une ségrégation « riches » — « pauvres » chez les descendants.

Le phénotype « riche » peut donc correspondre à un état hétérozygote en un ou plusieurs locus, puisque la disjonction et la recombinaison des gènes qui conditionnent son aptitude à synthétiser le myrcène redonnent des individus pauvres en ce monoterpène.

2.2. Hypothèse génétique

Le mode d'hérédité le plus simple qui puisse expliquer les phénomènes que nous avons constatés par l'étude des histogrammes est celui que nous avons mis en évidence en ce qui concerne le 3-carène.

Le caractère « riche » ou « pauvre » en myrcène serait contrôlé par un seul couple d'allèles :

M +, dominant, entraînant la richesse en myrcène.

M —, récessif, conduisant, à l'état homozygote, au phénotype « pauvre ».

* Entre parenthèses sont indiquées les teneurs en myrcène des parents.

FIG. 2. — Répartition des teneurs en myrcène chez des plants appartenant à 6 familles différentes.

FIG. 2. — Histogram of myrcene concentrations in individuals of 6 different progenies.

La justification du génotype des parents et des descendants est donnée dans le texte.

Aire hachurée : distribution des plants de phénotype [R].

Donc, 3 génotypes sont possibles, correspondant à deux phénotypes :

$M + / M +$ et $M + / M -$: phénotype « riche ».

$M - / M -$: phénotype « pauvre ».

Comme dans l'article consacré à l'hérédité du 3-carène, nous désignerons par [R] le phénotype « riche » et par [P] le phénotype « pauvre ». Nous montrerons que l'hypothèse du contrôle monogénique du myrcène rend compte des proportions attendues des différents phénotypes dans les diverses catégories de croisement étudiées.

2.3. Détermination du génotype des parents

Dans le cadre de notre hypothèse, on peut attribuer immédiatement le génotype $M - / M -$ aux parents 00.11 (2,40 % de myrcène) et 31.15 (2,78 %).

Le clone 00.01 (5,8 %) se situe près de la zone de « chevauchement » entre « riches » et « pauvres » en myrcène. Mais le fait que ce parent, croisé avec 00.11 ($M - / M -$), donne une ségrégation riches-pauvres, permet de lui attribuer à coup sûr le génotype $M + / M -$.

00.14 (13,23 %) et 51.02 (13,90 %) sont tous deux $M + / M -$, puisque leur croisement donne des individus pauvres en myrcène. De la même manière, on peut attribuer le génotype $M + / M -$ au clone 13.08 (15,90 %) qui, croisé avec 00.01 donne des descendants pauvres. Par contre, on ne rencontre pas d'individus pauvres en myrcène dans la descendance de la mère 01.46 (19,00 %) croisée avec le père 00.01 ($M + / M -$). On peut donc attribuer à l'arbre 01.46 le génotype $M + / M +$.

Le tableau 3 récapitule les génotypes supposés pour l'aptitude à la synthèse du myrcène des 7 parents qui sont à l'origine des 6 familles de pleins-frères étudiées.

2.4. Test de l'hypothèse du contrôle génétique de la synthèse du myrcène par un couple d'allèles

Sur la figure 3 sont représentés les 6 types de croisements possibles entre génotypes identiques ou différents. Dans chaque case sont indiquées les proportions théoriques de génotypes et de phénotypes que l'on doit obtenir dans le croisement considéré.

Seuls les types de croisements (1), (2), (4), et (5) ont été rencontrés.

Dans les deux combinaisons où il ne doit pas y avoir ségrégation — types (1) et (5) —, le schéma théorique n'est pas mis en défaut : la famille (a) ne comporte pas d'individus « riches » et la famille (b) est dépourvue d'individus « pauvres ».

Dans les deux types de croisements où l'on doit observer une ségrégation, nous avons fixé la limite entre les phénotypes [R] et [P] à 6 %. C'est la valeur qui semble la plus raisonnable, compte tenu de l'allure des histogrammes; on aurait pu, à la rigueur, la fixer à 8 % : cela n'aurait pas altéré le sens de nos résultats étant donné le faible nombre d'individus qui correspondent à la zone de « chevauchement » (4 plants en tout).

Le tableau 4 récapitule, pour les 4 types de croisements rencontrés les effectifs observés et les effectifs théoriques pour les deux phénotypes [R] et [P]. En ce qui concerne les deux types où il y a ségrégation — types (2) et (4) — les valeurs de χ^2 sont indiquées. Pour le type

(4) on a donné les valeurs de χ^2 pour chacune des 3 familles étudiées puis une valeur de χ^2 global, correspondant au regroupement des deux premières familles.

TABLEAU 3 — TABLE 3

Teneur en myrcène des tissus extérieurs au bois chez les parents des 6 familles étudiées
Dans la colonne de droite sont portés leurs génotypes pour l'aptitude à la synthèse du myrcène
Myrcene concentration of cortical tissues of the parents of the 6 studied families
On the right side, are given their genotypes for the ability of myrcene synthesis

n° du clone	Concentration en myrcène	Génotype
00.01	5,80 %	M +/M —
00.11	2,40 %	M —/M —
00.14	13,23 %	M +/M —
01.46	19,00 %	M +/M +
13.08	15,90 %	M +/M —
31.15	2,78 %	M —/M —
51.02	13,90 %	M +/M —

	M- / M-	M+ / M-	M+ / M+
M- / M-	(1) M- / M- : [P]	(2) $\begin{cases} \frac{1}{2} \text{ M+ / M-} : [\text{R}] \\ \frac{1}{2} \text{ M- / M-} : [\text{P}] \end{cases}$	(3) M+ / M- : [R]
M+ / M-	/	(4) $\begin{cases} \frac{1}{2} \text{ M+ / M-} \\ \frac{1}{4} \text{ M+ / M+} \\ \frac{1}{4} \text{ M- / M-} : [\text{P}] \end{cases} \frac{3}{4} [\text{R}]$	(5) $\begin{cases} \frac{1}{2} \text{ M+ / M-} \\ \frac{1}{2} \text{ M+ / M+} \end{cases} [\text{R}]$
M+ / M+	/	/	(6) M+ / M+ : [R]

FIG. 3. — Types de croisement possibles. Proportions théoriques de génotypes et de phénotypes.

FIG. 3. — Kinds of possible crosses and theoretical proportions of genotypes and phenotypes.

On constate que la famille 00.11 × 00.01 — type (2) — comporte exactement moitié de phénotypes [R] et moitié de phénotypes [P]. En ce qui concerne les croisements de type (4),

les familles 00.14×13.08 et 00.01×13.08 présentent une ségrégation sensiblement conforme à la proportion attendue : $3/4$ [R], $1/4$ [P]. Par contre, la famille 00.14×51.02 s'écarte d'une façon significative de cette proportion.

TABLEAU 4 — TABLE 4

*Comparaison des fréquences théoriques et observées
pour les 4 types de croisements rencontrés (258 observations).*

Comparison of expected and observed frequencies for the 4 kinds of studied mating.

p : probabilité d'avoir, l'hypothèse étant vraie, une valeur de χ^2 égale ou supérieure à celle qui a été calculée.

Types de croisements		nombres théoriques		nombres observés		Test χ^2 (1 dl)
		[R]	[P]	[R]	[P]	
$M- / M- \times M- / M- (1) : 31.15 \times 31.15$		0	30	0	30	/
$M- / M- \times M+ / M- (2) : 00.11 \times 00.01$		32	32	32	32	0
$M+ / M- \times M+ / M- (4)$	00.14×13.08	48	16	50	14	$0,31 : 0,75 > p > 0,50$
	00.01×13.08	30	10	28	12	$0,53 : 0,50 > p > 0,25$
	00.14×51.02	30	10	23	17	$6,53 : 0,025 > p > 0,01$
	00.14×13.08 00.01×13.08	78	26	78	26	0
$M+ / M- \times M+ / M+ (5) : 01.46 \times 00.01$		20	0	20	0	/

On peut considérer qu'il s'agit là d'une erreur au moment des pollinisations contrôlées. Nous savons en effet que pour la synthèse du 3-carène, 00.14 est de génotype $C+ / C-$ et que 51.02 est $C- / C-$ (BARADAT *et al.* 1972). Leur croisement doit donc donner 50 % de « riches » et 50 % de « pauvres » en 3-carène. Or, sur les 40 individus analysés, 26 sont de phénotype [R] et 14 de phénotype [P] pour la richesse en 3-carène ($\chi^2 = 3,60 : 0,10 > p > 0,05$).

Il est donc raisonnable de ne pas tenir compte de la ségrégation observée dans cette famille que nous avons tout lieu de suspecter. En éliminant cette famille, les nombres de phénotypes [R] et [P] observés dans le type (4) coïncident exactement avec les effectifs théoriques.

Le mécanisme monogénique de l'hérédité du myrcène se trouve donc bien vérifié. Nous ferons toutefois ici la même réserve que celle qui a été formulée à propos du contrôle

génétique du 3-carène (BARADAT *et al.* 1972) : il se peut qu'au locus M, puissent exister, dans l'origine landaise du Pin maritime, plus de deux allèles différents : pour l'instant, nous ne pouvons distinguer que deux classes de gènes. Peut-être pourrons-nous, par la suite, trouver différentes « variantes » dans l'une ou l'autre de ces classes et prouver l'existence d'un allélisme multiple.

2.5. Relation de dominance de l'allèle $M +$ sur l'allèle $M -$

L'étude de la relation de dominance de $M +$ sur $M -$ (nous nous plaçons dans l'hypothèse la plus probable, où deux allèles seulement peuvent exister au locus M) présente un double intérêt : intérêt physiologique, pour préciser le mode d'action du gène (existe-t-il un effet de « dosage »?) et intérêt pour l'utilisation ultérieure des monoterpènes en génétique des populations (peut-on reconnaître les trois génotypes par leur phénotype?).

La valeur relativement faible de la variance de dominance par rapport à la variance génétique additive, semble indiquer que la dominance de $M +$ sur $M -$ n'est pas complète. Nous allons tâcher de préciser ce point.

Remarquons tout d'abord que, parmi les 7 clones dont nous avons déterminé le génotype au locus M, le clone 01.46 de génotype $M + / M +$ qui a une concentration de 19,0 % est sensiblement plus riche que le clone 13.08 de génotype $M + / M -$ qui vient en second pour la richesse en myrcène avec une concentration de 15,90 %.

Chez les descendants nous pouvons tester l'hypothèse d'une dominance complète (même richesse, en moyenne, des génotypes $M + / M -$ et $M + / M +$) de façons différentes.

2.51. Comparaison des variances intra-familles des individus de phénotype [R].

Le tableau 5 donne, pour les 5 familles où existe une ségrégation, les variances concernant les phénotypes [R].

Dans l'hypothèse où la dominance de $M +$ sur $M -$ serait complète, les variances des phénotypes [R] dans les familles où il y a un mélange de génotypes $M + / M -$ et $M + / M +$ devraient être égales à celles que l'on observe dans la famille 00.11×00.01 où les phénotypes [R] ont tous le même génotype $M + / M -$. Or, les variances des familles où il y a ségrégation sont toutes supérieures à celle de la famille « homogène ». Le test F est hautement significatif pour 3 d'entre elles et significatif au seuil de 0,1 pour la famille 00.01×13.08 .

Donc, sur cet échantillonnage limité de familles, nous devons rejeter l'hypothèse d'une identité phénotypique des génotypes $M + / M -$ et $M + / M +$.

2.52. Estimation des concentrations en myrcène des individus de génotype $M + / M -$ ou $M + / M +$.

La famille 00.11×00.01 donne directement la concentration moyenne de plants de génotype $M + / M -$, soit 12,19 %.

Par ailleurs, on peut regrouper les valeurs des deux familles restantes où l'on a un mélange de plants $M + / M -$ et $M + / M +$: familles 00.14×13.08 et 00.01×13.08 .

TABLEAU 5 — TABLE 5

Comparaison des variances des phénotypes [R] dans différentes familles
Comparison of variances of [R] phenotypes in different families

	Ségrégation parmi les phénotypes [R]	Variance des [R]	DL	Test (1) F
01.46 (M + / M +) × 00.01 (M + / M —)	1/2 M + / M —, 1/2 M + / M +	71,96	19	8,23**
00.11 (M — / M —) × 00.01 (M + / M —)	M + / M —	8,74 —	31	/
00.14 (M + / M —) × 13.08 (M + / M —)	2/3 M + / M —, 1/3 M + / M +	23,67	49	2,71**
00.01 (M + / M —) × 13.08 (M + / M —)	2/3 M + / M —, 1/3 M + / M +	12,27	27	1,40●
00.14 (M + / M —) × 51.02 (M + / M —)	K 1 M + / M —, K 2 M + / M + (2)	23,62	22	2,70**

(1.) Le test F utilise comme dénominateur la variance de la famille 00.11 × 00.01 qui ne comporte que des génotypes M + / M —.

(2.) Puisque cette famille est douteuse, on ne connaît pas les proportions « théoriques » des génotypes M + / M — et M + / M +.

● Significatif au seuil 0,1.

On obtient chez ces deux familles et parmi les individus de phénotype [R] une concentration moyenne en myrcène de 15,95 %. Compte tenu de la ségrégation théorique 2/3 M + / M —, 1/3 M + / M + parmi les sujets « riches », on peut écrire :

$$2/3 [M + / M —]^{(1)} + 1/3 [M + / M +] = 15,95$$

soit :

$$[M + / M +] = 47,85 - 2 [M + / M —]$$

soit en remplaçant [M + / M —] par la valeur estimée chez la famille 00.11 × 00.01 (12,19 %) :

$$[M + / M +] = 23,47 \text{ (a).}$$

Par ailleurs, on a d'une façon analogue pour la famille 01.46 × 00.01 :

$$1/2 [M + / M —] + 1/2 [M + / M +] = 21,20$$

soit

$$[M + / M +] = 42,40 - [M + / M —]$$

d'où

$$[M + / M +] = 30,21 \text{ (b).}$$

(1.) Le symbole d'un génotype placé entre crochets désigne sa valeur phénotypique.

On peut faire une estimation pondérée de la teneur en myrcène du génotype $M + / M +$

$$[M + / M +] = 24,84.$$

Sachant que la concentration moyenne des phénotypes $[P]$ dans les 5 familles où ils apparaissent vaut 3,23 % il est maintenant possible de comparer les valeurs estimées des 3 génotypes $M + / M +$, $M + / M -$ et $M - / M -$ et d'évaluer l'ordre de grandeur de la dominance de $M +$ sur $M -$.

Nous avons adopté (figure 4) la représentation conventionnelle des valeurs des 3 génotypes (FALCONER, 1960) : on désigne par $2a$ l'intervalle entre les phénotypes des deux homozygotes : l'homozygote récessif vaut alors $-a$ et l'homozygote pour l'allèle dominant, $+a$. Sur cette échelle, la valeur phénotypique de l'hétérozygote est nulle s'il n'y a pas de dominance (hérédité totalement « additive »). S'il y a une dominance complète, l'hétérozygote possède la même valeur phénotypique que l'homozygote pour l'allèle dominant. En cas de superdominance, l'hétérozygote a une valeur phénotypique supérieure à $+a$.

FIG. 4. — Représentation des valeurs des 3 génotypes pour la concentration en myrcène.

FIG. 4. — Mean values of the 3 genotypes for myrcene concentration on a conventional scale.

Pour la signification des symboles, voir le texte.

On peut constater sur la figure 4, que $M + / M -$ est plus proche de la valeur qu'il devrait avoir dans le cadre d'une hérédité purement additive que dans celui d'une dominance complète de $M +$ sur $M -$. En ce qui concerne le degré de dominance de l'allèle dominant sur l'allèle récessif, l'hérédité du myrcène semble distincte de celle du 3-carène. Dans le cas de ce dernier monoterpène, en effet, la dominance de l'allèle $C +$ responsable de sa synthèse sur l'allèle récessif $C -$ semble à peu près complète (BARADAT *et al.* 1972). Il sera sans doute possible de tirer de cette constatation des conclusions intéressantes sur le plan physiologique.

Il faudra bien entendu estimer la valeur des effets de dominance avec plus de précision que nous n'avons pu le faire. Il sera nécessaire également de prendre en compte les interactions entre terpènes différents.

Cette étude sera intégrée dans un travail de synthèse que nous entreprendrons lorsque nous aurons pu préciser le mode d'hérédité du limonène.

3. — RELATION ENTRE LES LOCUS C (3-carène) et M (myrcène)

Un de nos objectifs est l'établissement de cartes factorielles des gènes qui contrôlent la synthèse des terpènes. Nous avons donc commencé ce travail en examinant si les locus des gènes responsables respectivement de la synthèse du 3-carène et du myrcène sont « indépendants », ou au contraire en situation de « linkage ».

3.1. Détermination du génotype des parents des familles de pleins-frères pour les locus C et M

Nous utiliserons dans cette partie de notre travail les familles où l'on observe une ségrégation des phénotypes [R] et [P] à la fois pour le 3-carène et le myrcène. Trois familles sont utilisables. Les génotypes pour le locus C des parents concernés ont été établis (BARADAT *et al.* 1972).

(a) Famille 00.11 $\times$ 00.01.

Le clone 00.11 a le génotype

$$\frac{C + M -}{C - M -}.$$

Dans l'hypothèse où les locus C et M sont liés il n'existe qu'une seule façon d'écrire ce génotype puisque le clone est homozygote $M - / M -$.

Par contre le clone 00.01 est double hétérozygote $C + / C -$, $M + / M -$. Dans l'hypothèse où les locus C et M sont liés, il existe deux façons d'écrire son génotype :

$$\frac{C + M +}{C - M -}$$

si les deux allèles dominants d'une part et les deux allèles récessifs d'autre part sont portés par le même chromosome. On dit qu'ils sont en « position cis » ou « en couplage » ;

$$\frac{C + / M -}{C - / M +}$$

si les deux allèles dominants ainsi que les allèles récessifs sont portés par des chromosomes différents. On dit qu'ils sont en « position trans » ou « en répulsion ».

Considérons maintenant la proportion de phénotypes [P] à la fois pour le 3-carène et le myrcène dans cette famille. Désignons ces phénotypes par le symbole [Pc], [Pm].

Dans l'hypothèse d'indépendance cette proportion doit être : $\frac{1}{4} \cdot \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$. Sur les 64 individus de la famille 00.11 $\times$ 00.01, le « nombre théorique » de phénotypes [Pc], [Pm] est donc de 8.

Or, 3 seulement ont été rencontrés.

On a donc là un premier indice de « linkage » entre C et M.

D'autre part, si le clone 00.01 avait le génotype $\frac{C + M +}{C - M -}$ (couplage), il devrait y avoir un excès et non un déficit de [Pc], [Pm] par rapport au nombre attendu. Nous pouvons donc attribuer au clone 00.01 le génotype $\frac{C + M -}{C - M +}$ (répulsion), qui doit entraîner une réduction de la fréquence des phénotypes [Pc], [Pm] par rapport à sa valeur en cas d'indépendance des deux locus.

Le croisement des deux clones 00.11 et 00.01 s'écrit donc symboliquement :

$$00.11 \frac{C + M -}{C - M -} \times 00.01 \frac{C + M -}{C - M +}.$$

(b) Famille 00.14 $\times$ 13.08

Le clone 13.08 est $\frac{C - M +}{C - M -}$ tandis que le clone 00.14 est double hétérozygote $C + / C -, M + / M -$. D'autre part, on n'observe qu'un seul individu [Pc], [Pm] sur les 64 que comporte la famille.

Le même raisonnement que pour la famille précédente nous fait attribuer au clone 00.14 le génotype $\frac{C + M -}{C - M +}$ (répulsion).

Le croisement des clones 00.14 et 13.08 s'écrit donc :

$$00.14 \frac{C + M -}{C - M +} \times 13.08 \frac{C - M +}{C - M -}.$$

(c) Famille 00.01 $\times$ 13.08.

Cette famille ne pose pas de problème nouveau puisque le génotype de ses deux parents a été déterminé plus haut. Ce croisement s'écrit :

$$00.01 \frac{C + M -}{C - M +} \times 13.08 \frac{C - M +}{C - M -}.$$

3.2. Test de l'hypothèse d'indépendance de la ségrégation aux locus *C* et *M*

(a) Famille 00.11 $\frac{C + M -}{C - M -} \times 00.01 \frac{C + M -}{C - M +}.$

Les fréquences théoriques des génotypes et des phénotypes se déduisent du « tableau des gamètes » où la fréquence d'un « gamète recombiné » est de $p/2$, p désignant le taux de recombinaison entre les locus. La fréquence d'un « gamète parental » est évidemment de $(1 - p) / 2$. Le tableau 6 donne les diverses combinaisons possibles de gamètes et permet de calculer leurs fréquences théoriques.

En regroupant les différentes combinaisons qui conduisent à un phénotype, on obtient les proportions théoriques suivantes pour les 4 phénotypes possibles :

$$[Rc], [Rm] : (1 + p) / 4 \begin{cases} 1/4 \text{ si } p = 0 \text{ (linkage total)} \\ 3/8 \text{ si } p = 1/2 \text{ (indépendance)} \end{cases}$$

$$[Rc], [Pm] : (2 - p) / 4 \begin{cases} 1/2 \text{ si } p = 0 \\ 3/8 \text{ si } p = 1/2 \end{cases}$$

$$\begin{aligned}
 [\text{Pc}], [\text{Rm}] : (1 - p) / 4 & \begin{cases} 1/4 \text{ si } p = 0 \\ 1/8 \text{ si } p = 1/2 \end{cases} \\
 [\text{Pc}], [\text{Pm}] : p / 4 & \begin{cases} 0 \text{ si } p = 0 \\ 1/8 \text{ si } p = 1/2 \end{cases}
 \end{aligned}$$

TABEAU 6 — TABLE 6

Tableau des gamètes de la famille 00.11 × 00.01
Gametic array for family 00.11 × 00.01

	$p/2$	$p/2$	$(1 - p)/2$	$(1 - p)/2$
$\begin{array}{c} \nearrow \\ \text{♀} \quad \text{♂} \end{array}$	C + M +	C — M —	C + M —	C — M +
1/2 C + M —	[Rc] , [Rm]*	[Rc] , [Pm]	[Rc] , [Pm]	[Rc] , [Rm]
1/2 C — M —	[Rc] , [Rm]	[Pc] , [Pm]	[Rc] , [Pm]	[Pc] , [Rm]

p = taux de recombinaison entre les locus C et M.

* = [Rc] ou [Rm] désignent respectivement des phénotypes riches en 3-carène ou en myrcène.

Pour ces 4 phénotypes, le tableau 7 permet de comparer aux effectifs observés (No) les effectifs théoriques en cas d'un linkage total (Nc 1) ou en cas d'indépendance (Nc 2).

Nous constatons que les effectifs observés se rapprochent beaucoup plus de ceux que l'on peut attendre dans le cas d'un linkage absolu, que des effectifs qui correspondent à une ségrégation indépendante. Le test χ^2 , significatif au seuil 0,01, conduit à rejeter l'hypothèse d'indépendance.

TABEAU 7 — TABLE 7

Comparaison des effectifs de phénotypes observés dans les familles 00.11 × 00.01 à leurs fréquences théoriques en cas d'indépendance ou de « linkage » total des locus C et M

Comparison of observed numbers of phenotypes in families 00.11 × 00.01 with theoretical ones expected in the cases of independancy or absolute « linkage » between C and M locus

	Nc 1 ($p = 0$)	Nc 2 ($p = 1/2$)	No
[Rc] , [Rm]	16	24	16
[Rc] , [Pm]	32	24	29
[Pc] , [Rm]	16	8	16
[Pc] , [Pm]	0	8	3

test de l'hypothèse d'indépendance $\chi^2_3 = 14.17^{**}$

$$(b) \text{ Familles } 00.14 \frac{C + M -}{C - M +} \times 13.08 \frac{C - M +}{C - M -} \text{ et}$$

$$00.01 \frac{C + M -}{C - M +} \times 13.08 \frac{C - M +}{C - M -}$$

On peut évidemment regrouper les résultats concernant ces deux familles puisqu'elles correspondent exactement au même type de croisement.

Le tableau des gamètes est modifié par rapport à celui de la famille 00.11×00.01 (tableau 8).

TABLEAU 8 — TABLE 8

Tableau des gamètes des familles 00.14×13.08 et 00.01×13.08

Gametic array of families 00.14×13.08 and 00.01×13.08

	1/2	1/2
$\frac{\sigma}{\phi}$	C — M +	C — M —
$p/2$ C + M +	[Rc] , [Rm]	[Rc] , [Rm]
$p/2$ C — M —	[Pc] , [Rm]	[Pc] , [Pm]
$(1 - p)/2$ C + M —	[Rc] , [Rm]	[Rc] , [Pm]
$(1 - p)/2$ C — M +	[Pc] , [Rm]	[Pc] , [Rm]

En regroupant les diverses combinaisons, on obtient les fréquences suivantes pour les 4 phénotypes :

$$[Rc], [Rm] : (1 + p) / 4 \begin{cases} 1/4 \text{ si } p = 0 \text{ (linkage total)} \\ 3/8 \text{ si } p = 1/2 \text{ (indépendance)} \end{cases}$$

$$[Rc], [Pm] : (1 - p) / 4 \begin{cases} 1/4 \text{ si } p = 0 \\ 1/8 \text{ si } p = 1/2 \end{cases}$$

$$[Pc], [Rm] : (2 - p) / 4 \begin{cases} 1/2 \text{ si } p = 0 \\ 3/8 \text{ si } p = 1/2 \end{cases}$$

$$[Pc], [Pm] : p / 4 \begin{cases} 0 \text{ si } p = 0 \\ 1/8 \text{ si } p = 1/2 \end{cases}$$

On peut dresser un nouveau tableau comparatif des effectifs attendus dans les deux hypothèses par rapport aux effectifs observés. Les deux familles comportent 104 individus au total (tableau 9).

TABLEAU 9 — TABLE 9

*Comparaison des effectifs de phénotypes observés
dans les familles 00.14 $\times$ 13.08 et 00.01 $\times$ 13.08
à leurs fréquences théoriques en cas d'indépendance
ou de « linkage » total des locus C et M*

*Comparison of observed numbers of phenotypes
in families 00.14 $\times$ 13.08 and 00.01 $\times$ 13.08
with theoretical ones expected in the cases
of independancy or absolute linkage between C and M locus*

	Nc 1 ($p = 0$)	Nc 2 ($p = 1/2$)	No
[Rc] , [Rm]	26	39	26
[Rc] , [Pm]	26	13	24
[Pc] , [Rm]	52	39	52
[Pc] , [Pm]	0	13	2

Test de l'hypothèse d'indépendance $\chi^2_3 = 27,28$ ***

Les résultats confirment ceux que nous avons obtenus à partir de la famille 00.11 $\times$ 00.01 : les effectifs observés sont beaucoup plus voisins des valeurs attendues dans une situation de linkage total, que de celles qui devraient résulter d'une ségrégation indépendante. Le test χ^2 , significatif au seuil 0,001, conduit également à rejeter l'hypothèse d'indépendance.

Nous avons donc démontré que les locus C et M appartiennent au même chromosome et sont fortement liés; nous allons maintenant estimer le taux de recombinaison, p , entre ces deux locus.

3.3. Estimation du taux de recombinaison entre les deux locus C et M

3.31. Regroupement des résultats.

Notons que, dans les deux types de croisements qui nous ont servi à démontrer la liaison entre les locus C et M, il existe un « chassé-croisé » entre les formules qui donnent, en fonction de p les fréquences des phénotypes [Rc] [Pm] et [Pc] [Rm] : dans le premier type — famille 00.11 $\times$ 00.01 — le parent « simple hétérozygote » est M — /M —, dans le deuxième type (familles 00.14 $\times$ 13.08 et 00.01 $\times$ 13.08), le parent simple hétérozygote est C — / C —, ce qui explique cette symétrie. Puisque une même formule pour la fréquence théorique des phénotypes correspond aux mêmes types de combinaisons gamétiques, nous

pouvons, pour évaluer le taux de recombinaison p entre les locus C et M, fusionner les résultats des tableaux 7 et 9. Nous avons regroupé dans le tableau 10 les phénotypes dont les fréquences théoriques ont la même expression en fonction de p .

TABLEAU 10 — TABLE 10

Comparaison des effectifs de phénotypes observés dans les familles 00.11 $\times$ 00.01 à leurs fréquences théoriques en cas d'indépendance ou de « linkage » total des locus C et M.

Comparison of observed numbers of phenotypes in families 00.11 $\times$ 00.01 with theoretical ones expected in the cases of independancy or absolute linkage between C and M locus

	$Nc_1 (p = 0)$	$Nc_2 (p = 1/2)$	No
Phénotypes de fréquence $(1 + p)/4$	42	63	42
Phénotypes de fréquence $(2 - p)/4$	84	63	81
Phénotypes de fréquence $(1 - p)/4$	42	21	40
Phénotypes de fréquence $p/4$	0	21	5

Test de l'hypothèse d'indépendance $\chi^2_{3} = 41,52 ***$

La valeur du χ^2 testant l'hypothèse d'indépendance est naturellement très forte et significative au seuil 0,001.

3.32. Calcul du taux de recombinaison.

La meilleure méthode d'estimation du taux de recombinaison p est dans le cas présent celle du maximum de vraisemblable; elle est exposée par KEMPTHORNE (1975).

Nous disposons du vecteur d'observations :

$$\begin{cases} n_1 \text{ Phénotypes de fréquence théorique } (1 + p) / 4 \\ n_2 \text{ Phénotypes de fréquence théorique } (2 - p) / 4 \\ n_3 \text{ Phénotypes de fréquence théorique } (1 - p) / 4 \\ n_4 \text{ Phénotypes de fréquence théorique } p/4 \end{cases}$$

Le vecteur suit une distribution multinomiale et sa probabilité est donnée par :

$$\text{Prob}(n_1, n_2, n_3, n_4) = P^* = \frac{n!}{n_1! n_2! n_3! n_4!} \left(\frac{1+p}{4}\right)^{n_1} \left(\frac{2-p}{4}\right)^{n_2} \left(\frac{1-p}{4}\right)^{n_3} \left(\frac{p}{4}\right)^{n_4}$$

formule où n désigne le nombre total d'observations.

L'équation du maximum de vraisemblable est :

$$\frac{d \log_e (P^*)}{d p} = \frac{n_1}{1 + p} - \frac{n_2}{2 - p} - \frac{n_3}{1 - p} + \frac{n_4}{p} = 0$$

soit :

$$p^3(n_1 + n_2 + n_3 + n_4) - p^2(3n_1 + n_3 + 2n_4) + p(2n_1 - n_2 - 2n_3 - n_4) + 2n_4 = 0$$

soit encore en remplaçant n_1 , n_2 , n_3 et n_4 par leur valeur :

$$168 p^3 - 176 p^2 - 82 p + 10 = 0.$$

Avec la condition $0 < \hat{p} < 1/2$

on obtient $\hat{p} = 0,102$

soit pratiquement

$$\hat{p} = 0,10 \pm 0,02.$$

Nous avons donc montré que les locus C et M sont très liés. La valeur du taux de recombinaison que nous avons estimée pourra, par la suite, être utilisée pour localiser par rapport aux locus C et M les autres gènes que nous pourrions mettre en évidence sur le même chromosome.

CONCLUSION

Comme celle du 3-carène, la biosynthèse du myrcène est donc contrôlée par un seul couple d'allèles.

Nous avons également prouvé que les locus qui portent les gènes responsables de la synthèse de ces deux monoterpènes sont portés par le même chromosome. Leur taux de recombinaison est faible (0,10), ce qui montre qu'ils sont assez proches l'un de l'autre.

Nous pourrions utiliser cette nouvelle acquisition pour l'étude des chaînes de biosynthèse des terpènes et pour l'étude de la variabilité infra-spécifique du Pin maritime.

Éventuellement, cette information sera utilisable dans le cadre d'un programme d'amélioration du Pin maritime pour la résistance aux insectes⁽¹⁾. Bien entendu, cela suppose qu'une relation de cause à effet entre teneur en myrcène et attaques d'insectes soit mise en évidence.

En ce qui concerne l'application de la connaissance du déterminisme génétique de la teneur en myrcène à l'étude de la variabilité infraspécifique du Pin maritime, nous pouvons faire une remarque intéressante. Nous savions déjà (BERNARD-DAGAN *et al* 1971) (BARADAT *et al.* 1972) que les provenances des Pins maritimes méditerranéens à l'exception des provenances corses, ne possédaient au locus C, que l'allèle C —. Nous pouvons noter à présent que les Pins maritimes du Maroc ne possèdent au locus M que l'allèle M —, ce qui les différencie du point de vue terpénique des autres Pins maritimes méditerranéens (des provenances d'Algérie et de Tunisie n'ont toutefois pas été étudiées). La connaissance du déterminisme génétique du myrcène sera prochainement appliquée à l'étude de la variabilité génétique entre provenances landaises du Pin maritime.

Reçu pour publication en décembre 1974.

REMERCIEMENTS

Que Messieurs J. BADIA et Y. DEMARLY trouvent ici l'expression de notre reconnaissance pour leur analyse critique du manuscrit.

(1.) Une étude est en cours pour préciser la relation existant chez le Pin maritime entre teneur en monoterpènes des tissus corticaux et attaques d'insectes.

SUMMARY

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

III-HEREDITY OF MYRCENE CONCENTRATION.

We have deeply studied the genetic control of myrcene concentration in cortical tissues of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait).

We used half-sibs and full-sibs families the parents of which we knew in relation with their monoterpenic composition (by analysis of their grafts).

We have first shown that the progenies used had reached a « mature » physiology for myrcene synthesis when they were sampled (between 7 and 8 years old). Then, we have proved that myrcene synthesis is controlled, in the Landes origin by a single major gene; the allele which gives high concentration is dominant.

We have also shown that the locus which control myrcene synthesis and 3-carene synthesis are borne on the same chromosome and quite close to each other : their recombination rate is 0.10.

ZUSAMMENFASSUNG

BIOLOGIE UND GENETICK DER TERPENEIN *Pinus pinaster* Ait.

III-GENETISCHEN DETERMINISMUS DES GEHALTES AN MYRCENE.

Der Erbmechanismus bei der Konzentration des Myrcen in den kortikalen Geweben der Seekiefer wurde gründlich untersucht. Dazu benutzte man Familien von « Halb- und Vollbrüdern », deren monoterpenisches Elternprofil aus der Analyse ihrer Pfropfreiser bekannt war.

Zuerst wurde gezeigt, dass die benutzten Abkömmlinge (die 7 bis 8 Jahre alt waren) bei der Aufnahme physiologisch erwachsen waren. Dann stellte man fest, dass die Synthese des Myrcens bei den Kiefern aus den « Landes » von einem Hauptgen kontrolliert wird, wobei die für den Reichtum an Monoterpenen verantwortliche Allele dominiert. Ausserdem wurde nachgewiesen, dass der Locus, der die Synthese des Myrcens kontrolliert sowie derjenige, der an der Synthese des 3-Karens mitbeteiligt ist, von demselben Chromosom getragen werden. Sie sind ziemlich eng verbunden : der Prozentsatz ihrer erneuten Verbindung beträgt 0,10.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARBIZ M., BERNARD-DAGAN C., FILLON C., 1974. — Variabilité infraspécifique des monoterpènes de *Pinus nigra* Arn. Bilan des premiers résultats. *Ann. des Sci. Forest.* 1974-31 (1) 57.70/1.
- BARADAT Ph., BERNARD-DAGAN C., FILLON C., MARPEAU A., PAULY G., 1972. — Les Terpènes du Pin maritime. II. — Hérité de la teneur en monoterpènes. *Ann. des Sci. Forest.*, 29 (3), 307-334.
- BECKER W., 1967. — *Manual of procedures in Quantitative genetics*. 2^e édition. Washington, State University.
- BERNARD-DAGAN C., FILLON C., PAULY G., BARADAT Ph., ILLY G., 1971. — Les Terpènes du Pin maritime. I. — Variabilité de la composition monoterpénique dans un individu, entre individus, et entre provenances. *Ann. des Sci. Forest.*, 28 (3), 223-258.
- FALCONER D.-S., 1960. — *Introduction to Quantitative Genetics*. The Ronald Press Company. N. Y.
- FRANKLIN E.-C., SNYDER E.-B., 1971. — Variation and inheritance of monoterpene composition in longleaf pine. *Forest Science*, 17 (2), 178-179.
- HANOVER J.-W., 1966. — Genetics of terpenes. I. — Gene control of monoterpene levels in *Pinus monticola* Dougl. *Heredity*, 21 (1), 73-84.
- HANOVER J.-W., 1966. — Inheritance of 3-carene concentration in *Pinus monticola*. *Forest. Science*, 17 (3), 381-387.

- HANOVER J.-W., 1966. — Genetics of terpenes. II. — Genetic variances and interrelationships of monoterpene concentration in *Pinus monticola*. *Heredity*, **27** (2), 237-245.
- KEMPTHORNE O., 1957. — *An introduction to Genetic Statistics*. John Wiley N. Y.
- LERNER M., 1958. — *The genetic basis of Selection*. John Wiley N. Y.
- MATHER K., JINKS J.-L., 1971. — *Biometrical genetics 2^e edition*. Butler and Tanner — London.
- OSBORNE R., 1957. — The use of sire and dam family averages in increasing the efficiency of selective breeding under a hierarchical mating system. *Heredity*, 93-116.
- ROCKWOOD D.-L., 1973. — Variation in the monoterpene composition of two oleoresin systems of loblolly Pine. *Forest Science*, **19** (2), 147-153.
- SQUILLACE A.-E., FISHER G.-S., 1966. — Evidences of the inheritance of turpentine composition in slash pine. *U. S. for. serv. Res. Paper N. C.*, 53-60.
- SQUILLACE A.-E., 1970. — Inheritance of turpentine composition in slash pine. *Abstracts of first North American Forest Biol. Workshop. Aug. 5.7*. Michigan State Univ.
- SQUILLACE A.-E., 1971. — Inheritance of monoterpene composition in cortical oleoresin of slash pine. *Forest Science*, **17** (3), 381-387.
- SQUILLACE A.-E., 1973. — Monographies stencillées consacrées aux problèmes posés par l'étude de l'hérédité des monoterpènes. Methods in Biochemical Genetics of forest trees. *I.U. F.R.O. Working party S.04.5* July 15-28 Göttingen.
- SRB, A., OWEN R.-D., EDGAR R.-S., 1965. — *General genetics 2^e edition*. Freeman and Cie London.
- STANFIELD W.-D., 1969. — *Theory and problems of genetics*. Schaum's outline series. Mc. Graw Hill cie N.Y.
- TOBOLSKY J.-J., 1968. — *Variation in monoterpenes in Scotch Pine (Pinus sylvestris)*. Thesis Univ. Michigan.
- WILKINSON R.-C., HANOVER J.-W., 1971. — Genetic variation in the monoterpene composition of white spruce. *Forest Science*, **17** (1), 83-90.
- ZAVARIN E., SNAJBK K., REICHERT T., TSIEN E., 1970. — On the geographic variability of the monoterpenes from the cortical blister oleoresin of *Abies lasiocarpa*. *Phytochem.*, **9** (2), 377-397.

ANNEXE

Désignons par VP la variance phénotypique ($VP = VA + VD + VE$ en négligeant les interactions entre locus), par cov FS la covariance entre pleins-frères et par cov HS la covariance entre demi-frères.

Considérons le cas général d'un plan de croisement « polycross » où chaque mère est pollinisée par un mélange en proportions égales, de k pollens différents de même viabilité.

Soit n l'effectif d'une famille de mère donnée. Si l'on choisit un individu x_{ij} quelconque dans une famille i d'effectif n et que l'on tire au hasard un autre individu $x_{ij'}$ dans la même famille on a deux possibilités exclusives :

(a) les deux individus ont le même père et sont donc pleins-frères.

Cet événement a la probabilité :

$$P_{FS} = \frac{n/k - 1}{n - 1} = \frac{n - k}{k(n - 1)},$$

(b) les deux individus sont issus de pères différents et sont donc demi-frères.

Ce deuxième événement a la probabilité :

$$P_{HS} = 1 - \frac{n - k}{k(n - 1)} = \frac{n(k - 1)}{k(n - 1)}.$$

Dans la situation (a) la covariance des deux descendants est :

$$\text{Cov}(x_{ij}, x_{ij'}) = \text{Cov FS} = 1/2 \text{ VA} + 1/4 \text{ VD},$$

et la variance entre les deux éléments du couple a une espérance de :

$$\text{VP} - \text{cov FS} = 1/2 \text{ VA} + 3/4 \text{ VD} + \text{VE}.$$

Dans l'alternative (b) la covariance des deux descendants est :

$$\text{cov}(x_{ij}, x_{ij'}) = \text{cov HS} = 1/4 \text{ VA},$$

et la variance entre les deux éléments du couple a une espérance de :

$$\text{VP} - \text{cov HS} = 3/4 \text{ VA} + \text{VD} + \text{VE}.$$

L'espérance de la variance intra-famille peut donc être estimée par :

$$\frac{n-k}{k(n-1)} (1/2 \text{ VA} + 3/4 \text{ VD} + \text{VE}) + \frac{n(k-1)}{k(n-1)} (3/4 \text{ VA} + \text{VD} + \text{VE}).$$

On en déduit les coefficients de VA et de VD dans la variance intra-famille.

$$C_1(\text{VA}) = \frac{n-k}{2k(n-1)} + \frac{3n(k-1)}{4k(n-1)} = \frac{k(3n-2)-n}{4k(n-1)},$$

$$C_2(\text{VD}) = \frac{3(n-k)}{4k(n-1)} + \frac{n(k-1)}{k(n-1)} = \frac{k(4n-3)-n}{4k(n-1)}.$$

On vérifie que C_1 et C_2 tendent rapidement vers $3/4$ et 1 lorsque k augmente. Ces formules généralisent les résultats d'OSBORNE (1957) qui se place dans l'hypothèse d'un plan de croisements hiérarchiques.

Pour les familles que nous avons utilisées nous avons $k = 4$ et $n = 10$:

$$C_1 = 0,708 \simeq 0,71 \quad \text{et} \quad C_2 = 0,958 \simeq 0,96.$$

On remarque que la correction des coefficients est légère par rapport à la valeur qu'ils ont dans des familles de demi-frères « pures ». (0,75 et 1).

Nous avons envisagé les valeurs des coefficients des composantes de la variance génétique à l'intérieur des familles « polycross ». En ce qui concerne la variance entre familles, on peut noter que le schéma polycross (sous réserve d'égale viabilité des différents pollens) n'introduit pas de différences dans la signification génétique par rapport à la variance « mère » obtenue dans un plan de croisements factoriel (BECKER, 1967) : on estime en effet, dans les deux cas, la variance des « valeurs hybrides générales » de la mère, soit :

$$\sigma^2 f = \text{Cov HS} = 1/4 \text{ VA}.$$

Les coefficients que nous avons adoptés pour les relations (c) et (d) du tableau 2 sont établis à partir des valeurs de C_1 et C_2 .