LES TERPÈNES DU PIN MARITIME : ASPECTS BIOLOGIQUES ET GÉNÉTIQUES

IV. — HÉRÉDITÉ DE LA TENEUR EN DEUX SESQUITERPÈNES : LE LONGIFOLÈNE ET LE CARYOPHYLLÈNE

A. MARPEAU, Ph. BARADAT* et C. BERNARD-DAGAN

*Laboratoire de Biologie végétale de l'Université de Bordeaux I,
Avenue des Facultés,
33405 Talence*

** Laboratoire d'Amélioration des Conifères,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
Domaine de l'Hermitage,
33610 Pierroton-Cestas*

RÉSUMÉ

Poursuivant l'étude du mode de transmission héréditaire des terpènes extraits des tissus corticaux du Pin maritime, nous avons montré l'existence de 2 nouveaux loci : ils contrôlent chacun la synthèse d'un sesquiterpène. Le locus Lo intervient dans la synthèse du longifolène, le locus Ca est responsable de celle du caryophyllène.

Au locus Lo, l'allèle de richesse est dominant, par contre cet allèle est récessif au locus Ca. Ce fait constitue une nouveauté par rapport aux mécanismes déjà mis en évidence chez le Pin maritime (contrôle génétique du Δ_3 -carène, du myrcène et du longifolène).

L'allèle Lo⁺ a une action pléiotrope : il permet simultanément la synthèse du longifolène et celle d'un autre sesquiterpène, l' α -longipinène.

Les sesquiterpènes, carbures de formule C₁₅H₂₄, se rencontrent à côté des monoterpènes (C₁₀H₁₆) dans la plupart des essences de Pins mais en proportions généralement plus faibles. Si l'étude de l'hérédité des monoterpènes a fait l'objet, depuis 1966, de nombreux travaux, celle des terpènes supérieurs n'a pas été entreprise jusqu'à ce jour. Certes, les sesquiterpènes ont été signalés dans de nombreuses espèces et sont à la base d'études chimiotaxinomiques sur *Hypericum* (MATHIS et OURISSON, 1964), *Abies magnifica* (SMEDMAN *et al.*, 1969), *Lindera* (ISHII *et al.*, 1970),

Ulmus (ROWE, 1972). De même, des classements taxinomiques ont été proposés d'après les compositions en diterpènes ou en triterpènes : Podocarpées (APLIN *et al.*, 1963), Conifères (ALSTON et TURNER, 1963), *Euphorbia* (PONSINET et OURISSON, 1968 ; EVANS et KINGHORN, 1974). Mais, à notre connaissance, le mode de transmission héréditaire de ces substances chez les végétaux n'a jamais été étudié ; seul SQUILLACE (1971) a signalé qu'il existait, pour un diterpène, l'acide lévopimarique, une variabilité génétique qui se traduit par des différences entre clones, chez *Pinus elliotii*. En ce qui concerne les sesquiterpènes, des schémas de biosynthèse ont été proposés d'après leurs configurations chimiques et leurs répartitions au sein du monde végétal (WEISMANN, 1966 ; SMEDMAN *et al.*, 1969 ; ANDERSEN et SYRDAL, 1970), mais rien, semble-t-il, n'a été publié sur le mode de transmission des composés sesquiterpéniques. Peut-être cette lacune tient-elle aux difficultés que présente leur analyse en grande série : la séparation chromatographique de ces constituants est en effet plus longue et plus délicate que celle des monoterpènes et ne peut donner de résultats satisfaisants sans un fractionnement préalable des extraits.

Chez le Pin maritime (PAULY *et al.*, 1973), les carbures sesquiterpéniques sont plus nombreux et plus abondants dans les essences de feuilles que dans les essences extraites des tissus corticaux. Celles-ci renferment principalement du caryophyllène (de 1 à 18 p. 100) des traces d' α -longipinène (moins de 1 p. 100 dans la plupart des cas) et des proportions faibles et pratiquement constantes de cadinènes, germacrène, muurolènes, et humulènes ($\Sigma = 1$ à 3 p. 100). Un carbure sesquiterpénique apparaît de façon irrégulière : le longifolène. Beaucoup d'arbres en sont dépourvus mais chez certains individus il peut représenter jusqu'à 18 p. 100 des carbures totaux. Le caryophyllène, s'il est le plus souvent présent en quantité appréciable (6 à 18 p. 100), peut parfois tomber à une concentration inférieure à 2 p. 100.

C'est donc sur le caryophyllène (1) et le longifolène (2) qu'a été entreprise, du fait de leur variabilité, l'étude portant sur leur mode de transmission héréditaire.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour des raisons discutées dans un précédent article (BERNARD-DAGAN *et al.*, 1971), cette étude, comme celle des autres monoterpènes, porte sur les essences extraites à partir des tissus extérieurs au bois des pousses de un an appartenant au verticille de deux ans.

I. 1. — *Extraction*

Aussitôt après le prélèvement, chaque échantillon (10-15 g), réparti sur toute la pousse, est coupé en menus morceaux, puis mis à macérer pendant 3 h au moins dans 30 à 50 ml de pentane pur (à 99 p. 100). L'extrait, après filtration et séchage sur sulfate de sodium anhydre, contient, à côté des carbures mono- et sesquiterpéniques, des terpènes oxygénés, des lipides, des acides résiniques, des pigments. Beaucoup de ces constituants peuvent interférer sur les analyses en chromatographie gazeuse ou nuire à leur sensibilité. Un préfractionnement s'impose donc.

I. 2. — *Préfractionnement*

Le volume de l'extrait obtenu par macération, est réduit par évaporation douce ; cette solution colorée, est ensuite déposée au sommet d'une colonne de chromatographie ($\varnothing = 1$ cm, $L = 15$ cm) remplie de gel de silice (Kieselgel 60) préalablement saturé par un mélange pentane-éther éthylique 99 : 1. Le passage de 30 ml du même mélange (pentane-éther éthylique, 99 : 1) permet l'élution d'un extrait limpide et incolore contenant la totalité des carbures mono- et sesquiterpéniques ; les autres composés oxygénés (terpéniques ou non) sont retenus sur la colonne.

L'extrait élué doit être réduit à un faible volume (1 à 2 ml) dans des conditions évitant la volatilisation des carbures légers, en particulier celle de l' α -pinène. Nous procédons à cette évaporation en balayant la surface de l'extrait par un très faible courant d'azote dans une sorbonne bien ventilée.

I. 3. — *Analyse de l'extrait*

Les extraits sont analysés par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil Varian 1400 ou un appareil Intersmat, IGC 120 FL, tous deux pourvus de détecteurs à ionisation de flamme.

La séparation chromatographique est faite sur des colonnes de 1/8 de pouce, longues de 2,40 m, remplies de Chromosorb P 80/100 (non lavé à l'acide) imprégné de 15 p. 100 de sésabate de polypropylène glycol. L'azote, employé comme gaz vecteur, est réglé à un débit de 9 ml/minute. Les températures des injecteurs et détecteurs sont respectivement de 140° et 220°C.

L'analyse se déroule selon un programme de température s'élevant de 2° par minute depuis 72° jusqu'à 180°C. La séparation des différents constituants est satisfaisante et permet, après estimation de la surface des pics par planimétrie, de calculer le taux de chaque constituant pour 100 de carbures totaux.

L'identification des carbures a été effectuée par piégeage de chaque constituant en sortie de colonne de chromatographie de type préparatif puis détermination par spectrométrie de masse, spectrométrie infrarouge ou résonance magnétique nucléaire et comparaison avec des spectres de référence (PAULY *et al.*, 1973).

I. 4. — *Matériel végétal d'expérimentation*

Ces analyses, menées au laboratoire de Biologie végétale de l'Université de Bordeaux I, ont permis d'étudier individuellement les tissus corticaux de Pins maritimes choisis dans les parcs à clones ou les plantations comparatives de descendances du laboratoire d'Amélioration des Conifères de Bordeaux.

Les familles de pleins-frères utilisées ont été mises en place en 1967 (test 2-448) et en 1968 (test 2-449) ; elles étaient obtenues par pollinisations contrôlées effectuées sur des clones installés après greffage en 1961 et 1962. La composition terpénique des parents pouvait donc être connue par analyse des tissus corticaux des arbres greffés (sur une moyenne de 3 arbres au moins).

2. — MÉCANISME DE LA TRANSMISSION HÉRÉDITAIRE DU LONGIFOLÈNE

L'examen des analyses de sesquiterpènes, portant sur 92 clones avait révélé la rareté du phénotype riche en longifolène : quatre clones seulement présentaient une teneur supérieure à 6 p. 100. La reproductibilité des analyses portant sur un

même génotype a été testée par l'estimation de l'héritabilité au sens large de la concentration en longifolène. Sur 18 clones, on a analysé séparément un nombre de greffes variant de 2 à 4. La valeur de l'héritabilité au sens large est de 0,98, ce qui nous permettra de considérer par la suite que, pratiquement, toute la variabilité observée pour la concentration en longifolène est d'origine génétique.

Nous avons étudié 4 familles différentes représentant 3 types de croisements entre clones identiques (autofécondation) ou différents : un clone pauvre en longifolène, le 02.35 (4,18 p. 100) et deux clones riches en longifolène, le 13.01 (10,22 p. 100) et le 13.07 (10,84 p. 100). Le test de descendance de pleins-frères utilisé était âgé de 8 ans au moment des analyses.

Les 3 combinaisons parentales sont : « pauvre » $\times$ « pauvre », « riche » $\times$ « riche », « pauvre » $\times$ « riche ». Par ailleurs, l'étude de l'hérédité des terpènes autres que le longifolène nous avait conduits à analyser un grand nombre d'autres individus descendant de parents tous deux pauvres en ce sesquiterpène. On peut donc utiliser les résultats de ces analyses pour confirmer ceux que donne la famille 02.35 $\times$ 02.35.

2. 1. — *Étude des histogrammes correspondant aux croisements choisis*

La figure 1 représente, dans l'ordre, les histogrammes des 4 familles choisies :

- (a) 02.35 $\times$ 02.35 (20 plants)
- (b) 13.07 $\times$ 13.07 (48 plants)
- (c) 13.01 $\times$ 13.07 (24 plants)
- (d) 02.35 $\times$ 13.07 (64 plants).

Nous constatons que, chez les individus issus du croisement « pauvre » $\times$ « pauvre » (a), le longifolène ne dépasse jamais le taux de 6 p. 100. Cette observation est à rapprocher des études antérieures où les descendants de 2 parents pauvres en longifolène ne présentaient jamais de concentrations supérieures à ce seuil.

Les croisements « riche » $\times$ « riche » (b et c) permettent de distinguer deux classes : « pauvre » en longifolène de 0 à 6 p. 100, et « riche » en longifolène de 6 à 19 p. 100. Sur 72 individus analysés, 18 appartiennent à la première de ces classes et 54 à la seconde.

Enfin la combinaison d'un parent « riche » avec un parent « pauvre » (d) révèle également une forte bimodalité. Il est licite de considérer comme « riches » tous les individus de cette famille dont la teneur en longifolène excède 6 p. 100 ⁽¹⁾. En effet, la famille (a), composée uniquement de plants pauvres en longifolène, présente des individus situés dans la classe 5-6 p. 100. En adoptant comme limite entre les 2 classes une concentration de 6 p. 100, la famille (d) comporte 29 individus pauvres et 35 individus riches.

2. 2. — *Hypothèse génétique*

Le type d'hérédité le plus simple qui rende compte des résultats observés est identique à celui que nous avons mis en évidence pour le Δ_3 -carène et le myrcène.

⁽¹⁾ On pourrait fixer la limite entre « riches » et « pauvres » à 5 p. 100 ou à 7 p. 100 sans altérer pour autant les conclusions : peu de valeurs sont situées dans la zone 5-7 p. 100.

FIG. 1

Répartition des teneurs en longifolène.

- (a) chez 20 plants issus du croisement 02.35 × 02.35 (autofécondation)
- (b) chez 48 plants issus du croisement 13.07 × 13.07 (autofécondation)
- (c) chez 24 plants issus du croisement 13.01 × 13.07
- (d) chez 64 plants issus du croisement 02.35 × 13.07

Aire hachurée : distribution des plants de phénotype [R]

Les classes représentent des intervalles de 1 p. 100 depuis 0 jusqu'à la teneur maximale

Histograms showing the repartition of longifolene concentrations

- (a) for 20 plants from 02.35 × 02.35 cross (self)
- (b) for 48 plants from 13.07 × 13.07 cross (self)
- (c) for 24 plants from 13.01 × 13.07 cross
- (d) for 64 plants from 02.35 × 13.07 cross

Classes are 1 p. 100 ranges from 0 to maximum value

Le caractère « riche » ou « pauvre » en longifolène serait contrôlé par un seul couple d'allèles : Lo^+ , dominant, entraînant la richesse en longifolène ; Lo^- , récessif, conduisant au phénotype « pauvre » à l'état homozygote.

Comme pour le Δ_3 -carène et le myrcène, trois génotypes sont possibles, correspondant à 2 phénotypes :

$$Lo^+/Lo^+ \quad \text{et} \quad Lo^+/Lo^- = \text{phénotype « riche », [R]} \\ Lo^-/Lo^- = \text{phénotype « pauvre », [P]}$$

Selon cette hypothèse le clone 02.35 qui, en autofécondation, donne uniquement des descendants [P] aurait le génotype Lo^-/Lo^- . Le clone 13.07, de phénotype [R] qui, aussi bien en autofécondation que par croisement avec un parent [P], donne à la fois des descendants [R] et [P] aurait le génotype Lo^+/Lo^- . Le clone 13.01 de phénotype « riche » qui, croisé avec 13.07 donne une ségrégation [R], [P] dans une proportion de 3/4 [R] et 1/4 [P] serait également de génotype Lo^+/Lo^- .

2. 3. — *Test de l'hypothèse du contrôle génétique du longifolène par un couple d'allèles*

La figure 2 indique les 6 catégories de croisements possibles entre génotypes différents ou identiques. Dans chaque case, sont précisées les proportions théoriques des génotypes et phénotypes que l'on doit obtenir pour chaque croisement.

	Lo^-/Lo^-	Lo^+/Lo^-	Lo^+/Lo^+
Lo^-/Lo^-	(1) Lo^-/Lo^- : [P]	(2) $\left\{ \begin{array}{l} 1/2 \text{ } Lo^+/Lo^- : [R] \\ 1/2 \text{ } Lo^-/Lo^- : [P] \end{array} \right.$	(3) $Lo^+/Lo^- : [R]$
Lo^+/Lo^-		(4) $\left\{ \begin{array}{l} 1/4 \text{ } Lo^+/Lo^+ \\ 1/2 \text{ } Lo^+/Lo^- \\ 1/4 \text{ } Lo^-/Lo^- \end{array} \right. : \begin{array}{l} 3/4 \text{ [R]} \\ 1/4 \text{ [P]} \end{array}$	(5) $\left[\begin{array}{l} 1/2 \text{ } Lo^+/Lo^- \\ 1/2 \text{ } Lo^+/Lo^+ \end{array} \right] : [R]$
Lo^+/Lo^+			(6) $Lo^+/Lo^+ : [R]$

FIG. 2. — *Types de croisements possibles. Proportions théoriques de génotypes et de phénotypes*

FIG. 2. — *Kinds of possible and theoretical proportions of genotypes and phenotypes*

Nous avons étudié des croisements de type (1), (2) et (4).

Comme l'implique le mode d'hérédité envisagé, le croisement de type (1) ne donne pas d'individus [R], par contre les types (2) et (4) étudiés donnent une ségrégation sensiblement conforme aux proportions attendues. Le tableau 1 récapitule, pour les 3 types de combinaisons rencontrés, les effectifs observés et les effectifs théoriques pour les 2 phénotypes [R] et [P]. Les valeurs de χ^2 sont indiquées pour les 2 croisements où il y a ségrégation.

TABLEAU I

*Comparaison des fréquences théoriques
et observées des phénotypes [R] et [P] en longifolène
pour les 3 types de croisements rencontrés*

*Comparison of expected and observed frequencies
for the 3 kinds of studied matings*

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

Type de croisement		Nombre théorique		Nombre observé		Test χ^2 (1 dl)
		[R]	[P]	[R]	[P]	
$Lo^-/Lo^- \times Lo^-/Lo^-$ (1)	02.35 $\times$ 02.35	0	20	0	20	
$Lo^-/Lo^- \times Lo^+/Lo^-$ (2)	02.35 $\times$ 13.07	32	32	35	29	0,56 ($p = 0,46$)
$Lo^+/Lo^- \times Lo^+/Lo^-$ (3)	13.07 $\times$ 13.07	36	12	32	16	1,78 ($p = 0,20$)
	13.01 $\times$ 13.07	18	6	18	6	0
		54	18	50	22	1,02 ($p = 0,30$)

Ces résultats concordent bien avec un mécanisme d'hérédité monogénique du longifolène. Les réserves déjà formulées pour le Δ_8 -carène et le myrcène concernant la possibilité d'un allélisme multiple restent valables également pour le longifolène.

2. 4. — Relation de dominance de l'allèle Lo^+ sur l'allèle Lo^-

Nous pouvons estimer directement les valeurs moyennes des génotypes Lo^-/Lo^- (phénotype [P]) d'après les résultats des 4 familles étudiées.

De même la valeur moyenne des génotypes Lo^+/Lo^- peut être obtenue en considérant la famille 02.35 $\times$ 13.07 qui ne comporte que des hétérozygotes parmi les phénotypes [R]. On obtient ainsi une concentration moyenne de 2,42 p. 100 pour les génotypes Lo^-/Lo^- et de 9,10 p. 100 pour les génotypes Lo^+/Lo^- .

La concentration moyenne des phénotypes [R] possédant le génotype Lo^+/Lo^+ a été estimée de façon indirecte en utilisant les résultats des familles 13.07 $\times$ 13.07 et 13.01 $\times$ 13.07. Parmi les phénotypes [R] les hétérozygotes Lo^+/Lo^- et les homozygotes Lo^+/Lo^+ se trouvent respectivement dans les proportions 2/3 et 1/3, ce qui permet d'écrire la relation $2/3 [Lo^+/Lo^-]^{(1)} + 1/3 [Lo^+/Lo^+] = 11,86$, concentration moyenne des phénotypes [R] des 2 familles ; en remplaçant $[Lo^+/Lo^-]$ par sa valeur 9,10 p. 100 on obtient $[Lo^+/Lo^+] = 17,40$ p. 100.

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

Comme nous l'avons fait pour le myrcène, nous pouvons représenter les valeurs moyennes respectives des 3 génotypes de façon conventionnelle en désignant par $2a$ la différence entre les teneurs moyennes des 2 homozygotes. On attribue la valeur $-a$ à l'homozygote pour l'allèle récessif Lo^-/Lo^- et $+a$ à l'homozygote pour l'allèle dominant Lo^+/Lo^+ ; en l'absence de dominance, l'hétérozygote, situé à mi-chemin entre les homozygotes, devra avoir une déviation d nulle. La figure 3 montre que la concentration moyenne de l'hétérozygote se situe assez loin de celle de l'homozygote pour l'allèle dominant.

FIG. 3. — Représentation de la valeur des 3 génotypes pour la concentration en longifolène

La signification des symboles est donnée dans le texte

FIG. 3. — Average values of the 3 genotypes for longifolene concentration on a conventional scale

La dominance de l'allèle Lo^+ sur l'allèle Lo^- semble donc faible; c'est la situation que nous avons déjà rencontrée pour le myrcène.

3. — MÉCANISME DE LA TRANSMISSION HÉRÉDITAIRE DU CARYOPHYLLÈNE

Les résultats des analyses de sesquiterpènes de 92 clones ont montré que le phénotype riche en caryophyllène est, de loin, le plus fréquent: 2 clones présentent une concentration inférieure à 2 p. 100, et 4 clones une teneur comprise entre 4 et 6 p. 100. Neuf clones ont une concentration comprise entre 6 et 8 p. 100 alors que les individus les plus riches peuvent atteindre une concentration de l'ordre de 17 p. 100. La limite entre individus riches et pauvres en caryophyllène semble moins nette que la limite rencontrée pour le longifolène. Pour notre étude nous avons utilisé des croisements entre parents qui se classaient sans ambiguïté dans un type ou dans l'autre: le 00.07 (15,42 p. 100) le 00.01 (15,36 p. 100), le 01.46 (9,81 p. 100) et le 31.15 (1,20 p. 100).

En utilisant les clones sur lesquels les teneurs en sesquiterpènes ont été déterminées, nous obtenons, pour le caryophyllène, une valeur de l'hérédité au sens large de 0,89. La majeure partie de la variabilité entre phénotypes est donc d'origine génétique.

3. 1. — Étude des histogrammes correspondant aux croisements choisis

La figure 4 représente les histogrammes des 3 familles étudiées:

- (a) 00.01 $\times$ 01.46 20 plants
- (b) 31.15 $\times$ 31.15 64 plants
- (c) 31.15 $\times$ 00.07 32 plants

FIG. 4

Répartition des teneurs en caryophyllène.

- (a) chez 20 plants issus du croisement 00.01 × 01.46
- (b) chez 64 plants issus du croisement 31.15 × 31.15 (autofécondation)
- (c) chez 32 plants issus du croisement 31.15 × 00.07

Aire hachurée : distribution des plants de phénotype [R]

Les classes représentent des intervalles de 1 p. 100 depuis 0 jusqu'à la teneur maximale

Histograms showing the repartition of caryophyllene concentrations

- (a) for 20 plants from 00.01 × 01.46 cross
- (b) for 64 plants from 31.15 × 31.15 cross (self)
- (c) for 32 plants from 31.15 × 00.07 cross

Classes are 1 p. 100 ranges from 0 to maximum value

Le croisement de type (a) ne montre pas de ségrégation décelable entre phénotypes riches ou pauvres : l'histogramme est unimodal bien que relativement étalé. La famille (b) révèle un histogramme nettement bimodal qui permet de séparer des phénotypes riches et pauvres. Les histogrammes (a), (b) et (c) suggèrent comme limite entre phénotypes [R] et [P] la zone comprise entre 6 et 7 p. 100. Si nous considérons comme riches les individus dont la concentration en caryophyllène dépasse 6 p. 100 ⁽¹⁾, nous obtenons pour la famille (b) 48 individus de phénotype [R] et 16 de phénotype [P]. Enfin, la famille (c) qui résulte d'un croisement entre parent [P] et parent [R]

⁽¹⁾ On pourrait fixer la limite entre « riches » et « pauvres » à 5 p. 100 ou à 7 p. 100 sans altérer pour autant les conclusions : peu de valeurs sont situées dans la zone 5-7 p. 100.

donne un histogramme bimodal et la limite entre [R] et [P] se situe également entre 6 et 7 p. 100. En adoptant le même seuil que pour la famille précédente (6 p. 100), nous obtenons 18 descendants de phénotype [P] et 14 de phénotype [R].

3.2. — Hypothèse génétique

Nous constatons, en incluant les familles de type (a) et (b), que le croisement [R] $\times$ [R] donne uniquement des phénotypes [R] alors que le croisement [P] $\times$ [P] donne une ségrégation : cette observation nous conduit donc à penser, si le mécanisme de transmission est monogénique, que le phénotype [P] peut être hétérozygote. De plus, la proportion de phénotypes observés dans le croisement (b) est sensiblement 3/4 [P] et 1/4 [R]. Contrairement à ce que nous avons rencontré jusqu'à présent, le caractère de pauvreté en caryophyllène semble être dominant sur le caractère de richesse. Les résultats observés pour la famille (c) : 18 [P] et 14 [R] peuvent s'interpréter également sur la base de cette hypothèse. Donc 3 génotypes sont possibles correspondant à 2 phénotypes :

Ca^+/Ca^- et Ca^-/Ca^- : phénotype « pauvre » [P]

Ca^+/Ca^+ phénotype « riche » [R]

3.3. — Test de l'hypothèse du contrôle génétique du caryophyllène par un couple d'allèles

La figure 5 récapitule les types de croisements que nous avons rencontrés parmi ceux qui peuvent exister entre génotypes identiques ou différents.

	Ca^-/Ca^-	Ca^+/Ca	Ca^+/Ca^-
Ca^-/Ca^-	(1) Ca^-/Ca^- : [P]	(2) $\begin{Bmatrix} 1/2 Ca^+/Ca \\ 1/2 Ca^-/Ca \end{Bmatrix}$: [P]	(3) Ca^+/Ca^- : [P]
Ca^+/Ca^-		(4) $\begin{Bmatrix} 1/4 Ca^+/Ca^- : 1/4 [R] \\ 1/2 Ca^+/Ca \\ 1/4 Ca^-/Ca \end{Bmatrix}$: 3/4 [P]	(5) $\begin{Bmatrix} 1/2 Ca^+/Ca : [P] \\ 1/2 Ca^+/Ca^- : [R] \end{Bmatrix}$
Ca^+/Ca^+			(6) Ca^+/Ca^+ : [R]

FIG. 5. — Types de croisements possibles.
Proportions théoriques de génotypes et de phénotypes

FIG. 5. — Kinds of possible matings
and theoretical proportions of genotypes and phenotypes

Nous avons rencontré les types de croisements (4), (5) et (6).

Le croisement de type 6 (famille 00.01 $\times$ 01.46, a) donne effectivement des phénotypes tous riches. Le croisement de type 4 est représenté par la famille

31.15×31.15 (b) ; il donne bien la proportion attendue de $3/4$ [P] et $1/4$ [R]. La famille 31.15×00.07 (c) qui appartient au type 5 donne 18 individus de phénotype [P] et 14 de phénotypes [R] ; la valeur du test χ^2 est compatible avec l'hypothèse d'une ségrégation $1/2$ [P] et $1/2$ [R].

TABLEAU 2

*Comparaison des fréquences théoriques
et observées des phénotypes [R] et [P] en caryophyllène
pour les 3 types de croisements rencontrés*

*Comparison of expected and observed frequencies
for the 3 kinds of studied matings*

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

Type de croisement		Nombre théorique		Nombre observé		Test χ^2 (1 dl)
		[R]	[P]	[R]	[P]	
$\text{Ca}^+/\text{Ca}^+ \times \text{Ca}^+/\text{Ca}^+$ (6)	00.01×01.46	20	0	20	0	
$\text{Ca}^+/\text{Ca}^- \times \text{Ca}^+/\text{Ca}^+$ (5)	31.15×00.07	16	16	14	18	$0,50$ ($p = 0,40$)
$\text{Ca}^+/\text{Ca}^- \times \text{Ca}^-/\text{Ca}^-$ (4)	31.15×31.15	16	48	16	48	0 ($p = 1$)

Ces résultats confirment un type d'hérédité monogénique de la concentration en caryophyllène. L'allèle qui confère la richesse en ce sesquiterpène est récessif. Comme nous l'avons déjà signalé, c'est la première fois que nous rencontrons cette situation chez le Pin maritime. Plus généralement dans les études portant sur l'hérédité des terpènes chez les Conifères, un seul cas de ce genre a été signalé : l'hérédité de la concentration en limonène chez *Pinus taeda* (ROCKWOOD, 1973). Encore la preuve de la récessivité de la richesse en limonène n'est-elle pas entièrement apportée.

3. 4. — Relation de dominance de l'allèle Ca^- sur l'allèle Ca^+

Nous pouvons calculer la valeur moyenne des génotypes Ca^+/Ca^+ et Ca^+/Ca^- . La concentration moyenne de l'hétérozygote est obtenue directement à partir des phénotypes [P] de la famille 31.15×00.07 et celle de l'homozygote Ca^+/Ca^+ à partir des phénotypes [R] des 3 familles. Les valeurs obtenues sont de 14,36 pour le génotype Ca^+/Ca^+ et de 2,16 p. 100 pour le génotype Ca^+/Ca^- . La concentration moyenne du génotype Ca^-/Ca^- est estimée de façon indirecte à partir de la teneur en caryophyllène des individus [P] appartenant à la famille 31.15×31.15 . Parmi ces phénotypes nous pouvons utiliser la relation $2/3 [\text{Ca}^+/\text{Ca}^-] + 1/3 [\text{Ca}^-/\text{Ca}^-] = 1,25$ p. 100 (concentration moyenne des phénotypes [P] de la famille).

D'après la concentration moyenne calculée des hétérozygotes (2,16 p. 100) nous obtenons une estimation de — 0,57 p. 100 pour la teneur des génotypes Ca^-/Ca^- . Cette estimation négative de valeur absolue très faible, est due aux fluctuations de notre échantillonnage ; elle signifie que les homozygotes Ca^-/Ca^- ont une teneur en caryophyllène pratiquement nulle. La figure 6 représente, avec les mêmes conventions que pour la figure 3, les valeurs relatives des 3 génotypes.

FIG. 6. — Représentation de la valeur des 3 génotypes pour la concentration en caryophyllène

La signification des symboles est donnée dans le texte

FIG. 6. — Average values of the 3 genotypes for caryophyllene concentration on a conventional scale

Nous constatons que la dominance de l'allèle Ca^- sur l'allèle Ca^+ est très forte, à l'inverse de ce que nous avons constaté pour le longifolène qui semble suivre une hérédité presque additive. Cette situation évoque, pour le caryophyllène, celle que nous avons décrite pour le Δ_3 -carène.

4. — ÉTUDE DES LIAISONS ENTRE LOCI

Les familles que nous avons étudiées pour établir le déterminisme génétique du longifolène et du caryophyllène ne permettent pas de déterminer si les loci Lo et Ca sont en situation de linkage ou d'indépendance : nous n'avons pas rencontré de parents doubles hétérozygotes pour les loci contrôlant ces 2 sesquiterpènes. Par contre nous pouvons situer chacun d'eux par rapport au locus C qui contrôle la synthèse du Δ_3 -carène.

4. 1. — Relations entre les loci C (Δ_3 -carène) et Lo (longifolène)

Deux familles 13.07×13.07 et 02.35×13.07 comportent au moins un parent double hétérozygote pour ces 2 terpènes.

4. 1. 1. — Famille 13.07×13.07 .

C'est un croisement du type

En cas d'indépendance des 2 loci, le tableau des gamètes permet de prévoir les proportions classiques 9/16 [Rc] [Rlo], 3/16 [Rc] [Plo], 3/16 [Pc] [Rlo] et 1/16 [Pc] [Plo]. Les résultats du tableau 3 montrent que les effectifs obtenus pour chaque catégorie sont en accord avec ceux que l'on doit attendre si les 2 loci sont indépendants.

TABLEAU 3

Comparaison des effectifs de phénotypes observés (No) dans la famille 13.07 × 13.07 à leurs fréquences théoriques (Nc) en cas d'indépendance des loci [C] et [Lo]

Comparison of observed numbers of phenotypes for the 13.07 × 13.07 family with the theoretical numbers expected in the case of independancy

	Nc	No
[Rc] [Rlo] : 9/16	27	26
[Rc] [Plo] : 3/16	9	11
[Pc] [Rlo] : 3/16	9	6
[Pc] [Plo] : 1/16	3	5

$$\chi_3 = 2,81 (p \sim 0,42).$$

4. 1.2. — Famille 02.35 × 13.07.

Le croisement est du type

$$\frac{C^+ Lo^-}{C^- Lo^-} \times \frac{C^+ Lo^+}{C^- Lo^-}$$

Le tableau des gamètes donne, dans l'hypothèse d'indépendance, les proportions 3/8 pour les phénotypes [Rc] [Rlo] et [Rc] [Plo] et 1/8 pour les phénotypes [Pc] [Rlo] et [Pc] [Plo]. Le tableau 4 compare les effectifs calculés Nc et les effectifs observés No.

TABLEAU 4

Comparaison des effectifs de phénotypes observés (No) dans la famille 02.35 × 13.07 à leurs fréquences théoriques (Nc) dans l'hypothèse d'indépendance des loci C et Lo

Comparison of observed numbers of phenotypes for the family 02.35 × 13.07 with the theoretical numbers expected in the case of independancy

	Nc	No
[Rc] [Plo] : 3/8	24	28
[Rc] [Rlo] : 3/8	24	21
[Pc] [Rlo] : 1/8	8	7
[Pc] [Plo] : 1/8	8	8

$$\chi_3 = 1,17 (p \sim 0,75).$$

Ces nouveaux résultats sont également en accord avec l'hypothèse d'indépendance. Nous pouvons donc considérer que les 2 loci C et Lo sont portés par 2 chromosomes différents ou sont très éloignés l'un de l'autre s'ils sont portés par le même chromosome.

4. 2. — Relation entre les loci C (Δ_3 -carène) et Ca (caryophyllène)

La démarche suivie pour étudier la liaison entre ces 2 loci est identique à celle que nous venons de pratiquer. Deux familles sont utilisables.

4. 2.1. — Famille 31.15 $\times$ 31.15.

Le croisement est du type

$$\frac{C^+ Ca^+}{C^- Ca^-} \times \frac{C^+ Ca^+}{C^- Ca^-}$$

Dans l'hypothèse d'indépendance, on doit obtenir des fréquences de 9/16 pour le phénotype [Rc] [Pca], 3/16 pour les phénotypes [Rc] [Rca] et [Pc] [Pca] et 1/16 pour [Pc] [Rca]. Le tableau 5 compare les effectifs observés et les effectifs attendus dans l'hypothèse d'indépendance.

TABEAU 5

Comparaison des effectifs de phénotypes observés (No) dans la famille 31.15 $\times$ 31.15 à leurs fréquences théoriques (Nc) en cas d'indépendance des loci C et Ca

Comparison of observed numbers of phenotypes for the 31.15 $\times$ 31.15 family with the theoretical numbers expected in the case of independancy

	Nc	No
[Rc] [Rca] : 3/16	42	44
[Rc] [Pca] : 9/16	36	37
[Pc] [Rca] : 1/16	4	3
[Pc] [Pca] : 3/16	12	10
$\chi^2_3 = 0,94$ ($p = 0,81$).		

4. 2.2. — Famille 31.15 $\times$ 00.07.

Le croisement est de type

$$\frac{C^+ Ca^+}{C^- Ca^-} \times \frac{C^+ Ca^+}{C^- Ca^+}$$

Le tableau des gamètes donne les fréquences théoriques $3/8$ pour les phénotypes [Rc] [Rca] et [Rc] [Pca] et $1/8$ pour les phénotypes [Pc] [Rca] et [Pc] [Pca].

TABLEAU 6

Comparaison des effectifs théoriques de phénotypes observés (No) dans la famille 31.15 $\times$ 00.07 à leurs fréquences théoriques (Nc) dans l'hypothèse d'indépendance des loci C et Ca

Comparison of observed numbers of phenotypes for the 31.15 $\times$ 00.07 family with the theoretical numbers expected in the case of independancy

	Nc	No
[Rc] [Rca] : $3/8$	12	10
[Rc] [Pca] : $3/8$	12	13
[Pc] [Rca] : $1/8$	4	3
[Pc] [Pca] : $1/8$	4	4

$$\chi^2_3 = 1,66 \text{ (} p = 0,65 \text{)}.$$

Les proportions sont également en accord avec l'hypothèse d'indépendance. Les loci C et Ca sont donc portés par 2 chromosomes différents ou sont éloignés l'un de l'autre s'ils sont portés par le même chromosome.

Puisque les loci Lo et Ca sont indépendants du locus C, nous ne pouvons pas préciser s'ils sont liés ou indépendants. Peut-être pourrions-nous par la suite préciser leur position relative en étudiant la descendance d'un parent classé hétérozygote pour les loci Lo et Ca.

5. — DISCUSSION

Quelques remarques doivent être faites à propos des résultats que nous avons obtenus.

5. 1. — *Problème des corrélations jeune-adulte pour l'aptitude à la synthèse du longifolène et du caryophyllène*

La rareté des allèles Lo^+ et Ca^- ne nous a pas permis d'estimer la corrélation génétique jeune-adulte pour l'aptitude à la synthèse du longifolène et du caryophyllène, comme nous avons pu le faire lorsque nous avons étudié l'hérédité du myrcène (BARADAT *et al.*, 1975). Cependant, la confrontation des analyses des clones avec celles de leurs descendants permet de penser que la concentration en longifolène et caryophyllène d'un même génotype est sensiblement la même à 8 ans (âge des plants lors des prélèvements) et à l'âge adulte.

En ce qui concerne le longifolène, les 2 parents hétérozygotes (13.01 et 13.07) ont respectivement des concentrations de 10,2 et 10,8 p. 100. Ces concentrations sont voisines de la valeur moyenne que nous avons estimée sur des plants de 8 ans ayant ce génotype (9,10 p. 100). Nous n'avons pas rencontré de parents homozygotes pour l'allèle dominant mais les clones de génotype Lo^-/Lo^- ont des concentrations comprises entre 0 et 6,2 p. 100. Cette dernière concentration est précisément celle que nous avons été conduits à adopter comme limite entre [R] et [P] chez les descendants.

En ce qui concerne le caryophyllène, le seul parent hétérozygote que nous avons utilisé (31.15) a une concentration très faible (1,2 p. 100), voisine de la concentration moyenne estimée chez les jeunes plants possédant ce génotype (2,1 p. 100). Nous n'avons pas rencontré de parent homozygote pour l'allèle dominant. Nous ne pouvons donc pas vérifier que les individus ayant ce génotype ont effectivement la concentration nulle que nous avons estimée. Par contre les parents de génotypes Ca^+/Ca^+ ont des concentrations en caryophyllène qui se situent bien dans l'intervalle que nous avons assigné à ce génotype chez leurs descendants âgés de 8 ans : 7,7 p. 100 à 15,4 p. 100.

Pour ces deux sesquiterpènes, les concentrations des différents génotypes semblent donc voisines chez le jeune et chez l'adulte.

Par ailleurs, la variabilité pour la concentration en caryophyllène entre génotypes identiques au locus Ca (clones 00.07 et 01.46) doit prendre en compte les interactions entre terpènes que nous serons conduits à étudier prochainement.

5. 2. — *Présence simultanée du longifolène et d'un autre sesquiterpène : l' α -longipinène*

Nous avons constaté qu'un sesquiterpène est constamment présent à une concentration comprise entre 0,8 p. 100 et 2,0 p. 100 chez les plants de phénotype riche en longifolène alors que les plants de génotype Lo^-/Lo^- ne dépassent jamais une concentration de 0,2 p. 100 en ce sesquiterpène.

Par piégeage de ce constituant sur colonne préparative et étude de ses spectres de masse et infrarouge, nous avons pu établir qu'il s'agissait de l' α -longipinène. Ce terpène a été isolé par MASSIAH (1973) dans des essences résiduelles provenant du traitement industriel de la gomme de Pin et les spectres qu'il a publiés nous ont servi de référence pour l'identifier dans les tissus corticaux de certains Pins maritimes.

La présence simultanée de l' α -longipinène et du longifolène est intéressante car elle fournit un support génétique aux schémas biogénétiques proposés antérieurement. En effet, à la suite de la règle isoprénique formulée par RUZICKA (1953), il a été suggéré (OURISSON, 1955 ; NAYAK *et al.*, 1963 ; PARKER *et al.*, 1967) que le longifolène, l' α -longipinène et le longicyclène pourraient dériver tous les trois de réarrangements du même carbocation issu de la cyclisation 1-11 du *trans-cis* pyrophosphate de farnésyle.

Par ailleurs, SMEDMAN *et al.* (1969) et LEE *et al.* (1974) ont confirmé cette corrélation chimique au niveau interspécifique par la présence simultanée de longifolène, d' α -longipinène et de longicyclène dans l'oléorésine d'*Abies magnifica* et *Abies balsamea*. Mais c'est la première fois que l'on montre que le même gène permet simul-

tanément la synthèse de longifolène et d' α -longipinène. Il semble donc que les allèles occupant les loci Lo aient une action pléiotrope. Il sera intéressant de préciser le mécanisme de cette action : par exemple, contrôle d'une enzyme nécessaire à la synthèse du précurseur commun proposé par les hypothèses biogénétiques antérieures.

5. 3. — *Mode d'action des gènes*

Le contrôle génétique du caryophyllène (pauvreté dominante) suggère un mode d'action des gènes différent de celui qui semble intervenir pour la synthèse des autres terpènes dans les tissus corticaux du Pin maritime. Les concentrations en Δ_3 -carène, myrcène et longifolène (pauvreté récessive) semblent être régies par des « gènes de structure » qui contrôlent la synthèse d'une enzyme nécessaire au déroulement d'une étape de leur biosynthèse (loci C , M et Lo).

Par contre, le contrôle génétique de la synthèse du caryophyllène semble relever d'un autre mécanisme : l'allèle Ca^- agirait soit en provoquant la présence d'un inhibiteur d'une enzyme nécessaire à la biosynthèse de ce sesquiterpène, soit en bloquant la synthèse de cette enzyme. Dans cette deuxième hypothèse, le gène Ca serait un gène régulateur qui contrôlerait l'activité d'un ou plusieurs gènes de structure (opéron).

Ces mécanismes permettraient une interprétation de la synthèse des terpènes ; toutefois, les interactions des différents terpènes dans leur chaîne de biosynthèse peuvent donner des schémas plus compliqués, faisant intervenir notamment des mécanismes de compétition. Nous tenterons de préciser le rôle des différents facteurs invoqués dans l'expression du phénotype d'un individu.

CONCLUSION

Nous avons montré que deux sesquiterpènes présents dans les tissus corticaux du Pin maritime suivent un mode d'hérédité monogénique. L'allèle qui permet la synthèse du longifolène (Lo^+) est dominant : on a donc une situation analogue à celle qui a été mise en évidence pour le Δ_3 -carène et le myrcène. Par contre, l'existence d'un « allèle de pauvreté » dominant pour le caryophyllène constitue une nouveauté par rapport aux mécanismes qui ont déjà été mis en évidence pour la génétique des terpènes. Nos résultats ne permettent pas de localiser les 2 loci l'un par rapport à l'autre.

L'allèle Lo^+ a une action pléiotrope car il permet, en même temps que la synthèse du longifolène, celle d'un autre sesquiterpène : l' α -longipinène. C'est un résultat nouveau, qu'il importe de signaler pour les interprétations ultérieures des relations entre terpènes dans les chaînes de biosynthèse.

Les allèles Lo^+ et Ca^- sont rares chez les provenances landaises du Pin maritime. Par contre, il se peut que la fréquence de ces allèles soit beaucoup plus élevée chez d'autres provenances, ce qui permettrait d'utiliser ces 2 sesquiterpènes comme critère de discrimination entre provenances.

Une étude entreprise sur la relation entre concentration en terpènes des tissus

corticaux et la sensibilité à *Dioryctria splendidella* chez le Pin maritime a montré que les arbres riches en longifolène étaient moins atteints en moyenne que les arbres pauvres. Il serait donc possible d'utiliser la connaissance acquise sur le mode de transmission de ce terpène en vue d'une sélection indirecte pour la résistance à *Dioryctria*.

Reçu pour publication en Juillet 1975.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer nos remerciements à M. le Doyen VALADE, Directeur de l'Institut du Pin de Bordeaux pour l'attention qu'il a portée à ce travail, à M. le Professeur DEMARLY, Directeur du Laboratoire d'Amélioration des Plantes à Orsay, à M. RIVES, Chef du Département de Génétique et Amélioration des Plantes de l'I. N. R. A., à MM. GUY et KAAH qui ont apporté le plus grand soin à la lecture et à la critique de notre manuscrit.

Que M^{me} PRADEILLE, du C. N. R. S., soit ici remerciée pour son active participation.

SUMMARY

BIOLOGY AND GENETICS OF TERPENES IN *PINUS PINASTER* AIT.

IV. — HEREDITY OF LONGIFOLENE AND CARYOPHYLLENE CONCENTRATION

The heredity of two sesquiterpene hydrocarbons (longifolene and caryophyllene) from cortical tissues has been studied with full sibs families of maritime pine (*Pinus pinaster* AIT.). The monoterpene composition of the parents of these full sibs families was known by GLC analysis of their grafts. It was shown that this heredity is monogenic. The allele involved in high concentrations of longifolene is dominant in the case of Lo locus. In contrast, the allele is recessive in the case of Ca locus for high concentrations of caryophyllene and this is a new mechanism of heredity compared with the other kind of control described for Δ_3 -carene, myrcene and longifolene.

The Lo⁺ allele involves both synthesis of longifolene and α -longipinene.

ZUSAMMENFASSUNG

BIOLOGIE UND GENETIK VON TERPENEN IN *PINUS PINASTER* AIT.

IV. — ERBLICHKEIT VOM GEHALT AN LONGIFOLEN UND KARYOPHYLLEN

Die Erbllichkeit von zwei sesquiterpenischen Kohlenwasserstoffen (Longifolen und Karyophyllen) aus Rindengewebe ist mit full-sibling Familien der *Pinus pinaster* AIT. untersucht worden. Die Zusammensetzung an Monoterpenen bei den Eltern von diesen full-sibling Familien wurde durch GLC-Analyse von ihren Pfropfreisen bekannt worden. Es wurde gezeigt, dass diese Erbllichkeit monogenetisch ist. Der Allele, der mit hohen Gehalten an Longifolen hincingezogen wurde, ist dominant im Falle des Lo Locus. Im Gegensatz, ist der Allele regressiv im Falle des Ca Locus bei hohen Gehalten an Karyophyllen und es ist ein neuer Mechanismus der Erbllichkeit wenn man mit der anderen Art der Steuerung vergleicht, welche für Δ_3 -Karene, Myrcen und Longifolen beschrieben wurde.

Der Lo⁺ Allele zieht zugleich den Aufbau vom Longifolen und einem anderen Sesquiterpen, dem α -Longipinen, mit hinein.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALSTON R. E., TURNER B. L., 1963. Biochemical systematics. *Prentice Hall Inc. Englewood Cliffs N. J.*, 231-267.
- ANDERSEN N. H., SYRDAL D. D., 1970. Terpenes and sesquiterpenes of *Chamaecyparis nootkatensis* leaf oil. *Phytochem.*, **9** (6), 1325-40.
- APLIN R. T., CAMBIE R. C., RUTLEGE P. S., 1963. The taxonomic distribution of some diterpene hydrocarbons. *Phytochem.*, **2** (3), 205-214.
- BARADAT Ph., BERNARD-DAGAN C., FILLON C., MARPEAU A., PAULY G., 1972. Les terpènes du Pin maritime : Aspects biologiques et génétiques. II. Hérité de la teneur en monoterpènes (3-carène). *Ann. Sci. Forest.*, **29** (3), 307-334.
- BARADAT Ph., BERNARD-DAGAN C., PAULY G., 1975. Les terpènes du Pin maritime : Aspects biologiques et génétiques. III. Hérité de la teneur en myrcène. *Ann. Sci. Forest.* (Sous presse).
- BERNARD-DAGAN C., FILLON C., PAULY G., BARADAT Ph., ILLY G., 1971. Les terpènes du Pin maritime : Aspects biologiques et génétiques. I. Variabilité de la composition monoterpénique dans un individu, entre individus et entre provenances. *Ann. Sci. Forest.*, **28** (3), 223-258.
- EVANS F. J., KINGHORN A. D., 1974. A new ingenol type diterpene from the irritant fractions of *Euphorbia myrsinites* and *Euphorbia biglandulosa*. *Phytochem.*, **13** (10), 2324-25.
- ISHII H., NAKAMURA M., TOZYO T., TAKEDA K., 1970. Gas chromatographic analysis of the furano-sesquiterpenes of *Lindera strychnifolia* in plant materials of different geographic origin. *Phytochem.*, **9** (10), 2189-92.
- LEE C. J., SNAJBERK K., ZAVARIN E., 1974. Chemical composition of the cortical essential oil from *Abies balsamea*. *Phytochem.*, **13** (1), 179-183.
- MASSIAH A., 1973. *Étude et mise en valeur des constituants des essences résiduelles provenant du traitement industriel de la gemme de Pin*. Thèse Docteur-Ingénieur, Bordeaux, juillet 1973.
- MATHIS C., OURISSON G., 1964. Étude chimio-taxonomique du genre *Hypericum*. IV. Répartition des sesquiterpènes, des alcools monoterpéniques et des aldéhydes saturés dans les huiles essentielles d'*Hypericum*. *Phytochem.*, **3** (1), 377-78.
- NAYAK U. R., DEV S., 1963. Longicyclène, the first tetracyclic sesquiterpene. *Tetrahedron Letters*, n° 4, 243-246.
- OURISSON G., 1955. Le longifolène. V. Structure absolue du longifolène. Stéréochimie de ses dérivés. Stéréochimie des santalènes. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, (6), 895-901.
- PARKER W., ROBERTS J. S., RAMAGE R., 1967. Sesquiterpene biogenesis. *Quarterly Rev.*, 331-363.
- PAULY G., GLEIZES M., BERNARD-DAGAN C., 1973. Identification des constituants de l'essence des aiguilles de *Pinus pinaster*. *Phytochem.*, **12**, 1395-98.
- PONSINET P., OURISSON G., 1968. Études chimiotaxonomiques dans la famille des *Euphorbiacées*. III. Répartition des triterpènes dans les latex d'*Euphorbia*. *Phytochem.*, **7** (1), 89-98.
- ROCKWOOD D. L., 1973. Variation in the monoterpene composition of two oleoresin systems of loblolly pine. *Forest Science*, **19** (2), 147-153.
- ROWE J. W., SEIKEL M. K., ROY D. N., JORGENSEN E., 1972. Chemotaxonomy of *Ulmus*. *Phytochem.*, **11** (8), 2513-17.
- RUZICKA L., 1953. The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Experientia*, **9** (10), 357-396.
- SMEDMAN L. A., ZAVARIN E., TERANISHI R., 1969. Composition of oxygenated monoterpeneoids and sesquiterpeneoid hydrocarbons from the cortical oleoresin of *Abies magnifica* A. MURR. *Phytochem.*, **8** (8), 1457-70.
- SMEDMAN L. A., SNAJBERK K., ZAVARIN E., 1969. Oxygenated monoterpeneoids and sesquiterpeneoid hydrocarbons of the cortical turpentine from different *Abies species*. *Phytochem.*, **8** (8), 1471-79.
- SQUILLACE A. E., HEDRICK G. W., GREEN A. J., 1971. Variation and inheritance of levopimaric acid content and its relation to oleoresin in Slash Pine. *Silvae genet.*, **20** (3), 90-1.
- WEISSMANN G., 1966. The distribution of terpenoids ; dans Comparative phytochemistry. Ed. by SWAIN T. Academic Press, London and New York, p. 97-120.