Caractérisation de quelques provenances de *Pinus halepensis* Mill. sur la base de la structure anatomique et morphologique des aiguilles

R. CALAMASSI

*Département de Biologie végétale, Laboratoire de Botanique agricole et forestière
P.le delle Cascine 28, 50144 Florence, Italie*

Résumé

Quelques caractères anatomiques et morphologiques des aiguilles des jeunes plantes et des arbres adultes de *Pinus halepensis* Mill. provenant de 10 origines différentes, ont été examinés et analysés dans le but de caractériser les provenances et de vérifier la valeur discriminante de certains caractères en fonction de l'âge et du milieu de croissance.

Les résultats confirment la considérable variabilité de quelques caractères en fonction de l'âge des plantes et du milieu, et montrent que les caractères qui distinguent les provenances chez les jeunes plantes ne sont pas les mêmes que ceux qui les caractérisent à l'âge adulte.

La stabilité de certains caractères et leur association en quelques populations ont toutefois permis de distinguer, parmi les provenances étudiées, des groupements bien différenciés, représentés par les provenances grecques (A 2, A 3, A 4), par les provenances plus occidentales et/ou d'altitude (A 17, A 25, A 29, A 30), tandis que les provenances d'Italie centre-méridionale (A 26, A 27, A 28) se placent en position intermédiaire entre les deux groupes.

Une variation géographique, allant d'ouest à est, a été mise également en évidence.

1. Introduction

L'aire naturelle de *Pinus halepensis* Mill. est assez étendue (NAHAL, 1962 ; PANETSOS, 1981), et, selon FRANCINI (1953), cette espèce est pourvue d'une ample capacité d'adaptation au milieu. Cela fait supposer l'existence d'écotypes à l'allure assez caractérisée, dont quelques-uns ont déjà été individualisés dans quelques provenances (PALMBERG, 1975 ; PELIZZO & TOCCI, 1978).

La caractérisation des provenances de *Pinus halepensis* Mill. est un des objectifs du Projet FAO 4 bis « Expériences internationales sur les provenances de *Pinus halepensis* et *Pinus brutia* », dont l'Institut Expérimental pour la Sylviculture d'Arezzo, est le coordinateur, et le présent travail a été entrepris dans le même but,

ainsi que d'autres recherches déjà parues sur les caractères et les comportements des semences et des jeunes plantes (PELIZZO & TOCCI, 1978), par rapport à la germination (CALAMASSI, 1982 ; CALAMASSI *et al.*, 1984), et à la résistance aux stress des semences et des plantes adultes (CALAMASSI *et al.*, 1980 ; FALUSI *et al.*, 1983 ; FALUSI *et al.*, 1984).

La caractérisation des provenances à partir de la morphologie et de l'anatomie est la première façon d'approcher le problème ; et les données de la littérature établissent la crédibilité de cette méthode.

JÄRIG (1962) classe les pins sur cette base, et l'identification de la plupart des espèces a recours à des clefs fondées sur les caractéristiques des feuilles (DURRELL, 1916 ; HOSIE, 1969). La structure anatomique des aiguilles peut être utilisée pour étudier la variabilité d'une espèce dans son milieu naturel, VIDAKOVIC (1957) classe les populations de *Pinus nigra* de Yougoslavie uniquement suivant cette méthode. GELLINI (1968) éclaircit la position systématique du Pin noir de Villetta Barrea sur la base des couches de cellules de l'hypoderme et de la longueur de l'aiguille soit sur des individus dans leur milieu naturel, soit sur certains autres qui ont été élevés dans le même milieu (pépinière). Quelques autres auteurs ont utilisé cette méthode sur des plantes élevées dans le même milieu pour vérifier l'attribution des provenances à des sous-espèces (ARBEZ & MILLIER, 1971), ou bien pour augmenter les connaissances sur les mécanismes de variation physiologique et génétique d'une espèce (MERGEN, 1963). De même VIDAKOVIC (1958), KENG & LITTLE (1961), FERRÉ (1965), NAPPZINN (1966), ROLLER (1966) soutiennent la valeur taxinomique des caractères anatomiques des aiguilles, pourvu que le matériel à étudier soit comparable.

Récemment PANETSOS (1975) et RIVA & VENDRAMIN (1983) ont fait recours à cette technique pour discriminer les hybrides (naturels et artificiels) de *P. brutia* × *P. halepensis*.

Des recherches très détaillées ont été conduites pour évaluer les effets du milieu sur les caractères anatomiques des aiguilles (LEYTON & JUNIPER, 1963 ; LEYTON & ARMITAGE, 1968 ; EVANS & MILLER, 1976 ; BAIG & TRANQUILLINI, 1976) ; selon OPPENHEIMER (1968) les critères anatomiques et histologiques seuls ne suffisent pas pour caractériser exactement la résistance à la sécheresse, mais ils sont parfois de quelque intérêt pour en éclaircir plusieurs aspects.

Les descriptions des caractères anatomiques et morphologiques des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. peuvent avoir une valeur générale (FLORA EUROPAEA, 1964 ; MIROV, 1967), ou bien elles sont plus orientées, avec l'emploi de peu de critères, sur l'identification des hybrides (PANETSOS, 1975 ; RIVA & VENDRAMIN, 1983). COLAONE seul (1971) s'attache à l'identification des provenances de *P. halepensis*, élevées en pépinière, sur la base de la structure, mais il n'utilise qu'un nombre très limité de caractères et de provenances.

Le but de cette recherche effectuée sur 10 provenances de *Pinus halepensis* Mill. (tabl. 1), est la caractérisation de celles-ci sur une base anatomique et morphologique ; de plus, la vérification de la valeur discriminante de quelques-uns des caractères examinés, leur stabilité ou variation en fonction de l'âge et, si possible, la comparaison de nos résultats avec ceux qui ont été obtenus dans les régions d'origine pour évaluer les effets du milieu de croissance.

TABLEAU 1

Liste des provenances de Pinus halepensis Mill.
List of Pinus halepensis Mill. provenances.

Provenances			Lat. Nord	Longitude	Altitude
A2	Elée	Grèce	37°46'	21°32' E	200 m
A3	Eubée	"	38°58'	23°18' E	200 m
A4	Chalkidike I	"	40°11'	23°21' E	125 m
A17	Guadalmedina	Espagne	37°02'	2°15' O	1000 m
A25	Imperia	Italie	43°54'	8°03' E	200 m
A26	Otricoli	"	42°24'	12°38' E	400 m
A27	Patemisco	"	40°39'	17°20' E	5 m
A28	Vico del Gargano	"	41°54'	16°00' E	225 m
A29	Aures Beni Melloul	Algérie	35°10'	6°50' E	1350 m
A30	Senalba	"	34°40'	3°02' E	1250 m

2. Matériel et méthodes

A la fin de la saison de croissance 1980, sur 10 plantes de chaque provenance, ont été récoltés 20 brachyblastes appartenant à 2 branches différentes, sur la pousse de l'année et sur le côté supérieur de la cime. Les plantes étaient âgées de 4 ans, ayant été transplantées en 1977 dans la pépinière de l'Institut Expérimental pour la Sylviculture d'Arezzo. Dispositif constitué de 24 provenances (10 *P. halepensis*, 13 *P. brutia*, 1 *P. eldarica*) selon schéma à bloc randomisé avec 30 répétitions.

Tous les brachyblastes ont été récoltés dans la même journée et réfrigérés jusqu'au moment de l'analyse.

Une opération similaire a été accomplie à la fin de saison de croissance 1984, lorsque toutes les provenances en étaient à la phase de reproduction (arbres adultes).

Une aiguille pour chaque brachyblaste a été examinée (200 aiguilles par provenances).

La longueur de l'aiguille et de la gaine a été mesurée au mm près. Dans la zone moyenne les lignes stomatifères ont été comptées, aussi bien du côté dorsal que du côté ventral; sur les sections transversales les dimensions de l'aiguille (largeur et hauteur) ont été mesurées (à l'oculaire micrométrique), et le nombre et la position des canaux sécréteurs ont été enregistrés.

Sur les aiguilles de 1984, outre ce qui a déjà été cité, on a relevé le nombre des stomates par cm linéaire sur deux lignes, l'épaisseur de la cuticule des cellules de l'épiderme, et le nombre des couches de l'hypoderme sur des sections transversales de 18 μ .

Pour distinguer la cuticule de la paroi cellulaire cutinisée, les sections ont été immergées dans l'acide chromique (10 p. 100) pendant 10 minutes, lavées à l'eau et placées dans une solution saturée de Soudan III pendant 1 heure, lavées à l'alcool à 50 p. 100 et montées en jelly comme indiqué par BAIG & TRANQUILLINI (1976).

Les résultats ont été analysés selon l'analyse de la variance à 1 et 2 facteurs, et les comparaisons effectuées à l'aide du test des moindres différences significatives (MDS), au niveau $P = 0,01$, sauf indication différente.

Une matrice de corrélation linéaire a été calculée, utilisant la latitude, la longitude et l'altitude des stations d'origine des semences et les valeurs de chaque caractère anatomique et morphologique des aiguilles.

3. Résultats

3.1. Longueur des aiguilles

Dans le cas de jeunes plantes les différences dues à ce caractère sont significatives. En particulier les aiguilles d'A 28 et d'A 29 sont plus longues que celles d'A 25 et d'A 27 (tabl. 2) ; ces différences vont disparaître dans le cas des arbres adultes (tabl. 3), d'où résulte pour ceux-ci un classement très différent.

TABLEAU 2

*Caractéristiques morphologiques et anatomiques (valeurs moyennes)
des aiguilles des plantes de 4 années des provenances de Pinus halepensis Mill.*

*Morphological and anatomical needle characteristics (average values)
of the 4 year old seedlings of Pinus halepensis Mill. provenances.*

Provenances	A2	A3	A4	A17	A25	A26	A27	A28	A29	A30	MDS		
											0,01	0,05	
Dimensions aiguilles:													
longueur (mm)	84,4	85,5	86,8	93,3	82,3	87,8	80,4	100,3	97,1	93,0	14,50	11,00	
largeur (μ)	845	774	771	818	832	770	827	841	790	808	73,22	55,72	
hauteur (μ)	538	501	498	532	538	509	533	537	502	515	n.s.		
Longueur gaine (mm)	5,8	5,7	5,4	6,1	6,9	6,8	5,9	6,5	7,0	6,3	0,89	0,68	
Canaux sécréteurs:													
total	2,04	0,74	1,17	2,53	2,46	1,79	1,29	2,30	2,85	2,24	1,11	0,83	
en position médiane:													
% réels	20,52	35,30	15,54	13,25	7,75	56,52	21,37	20,75	13,15	8,64			
% transformés	23,48	31,70	16,45	17,29	12,86	47,49	24,10	23,53	16,53	14,13	19,25	14,65	
Lignes stomatiformes:													
dorsales	6,2	5,5	5,9	5,9	6,4	5,7	5,6	5,7	6,4	5,7	n.s.		
ventrales	2,7	2,6	2,7	2,4	2,5	2,1	2,5	2,5	2,8	2,2	0,44	0,35	
totales	8,9	8,1	8,6	8,3	8,9	7,8	8,1	8,2	9,2	7,9	n.s.		

D'après les données du tableau 4, aucune différence significative n'a été mise en évidence, ni parmi les populations, ni entre les deux groupes de plantes d'âge différent.

3.2. Longueur de la gaine

Pour ce caractère aussi, les différences qui paraissent significatives dans le cas des jeunes plantes (tabl. 2), (A 29, A 25 et A 26 ont leurs gaines plus longues par rapport aux provenances grecques A 2, A 3 et A 4), ne se maintiennent pas lorsqu'on passe aux aiguilles des arbres adultes (tabl. 3).

TABLEAU 3

*Caractéristiques morphologiques et anatomiques (valeurs moyennes)
des aiguilles des plantes de 8 années des provenances de Pinus halepensis Mill.*

*Morphological and anatomical needle characteristics (average values)
of the 8 year old seedlings of Pinus halepensis Mill. provenances.*

Provenances	A2	A3	A4	A17	A25	A26	A27	A28	A29	A30	MDS		
											0,01	0,05	
Dimensions aiguilles:													
longueur (mm)	89,4	92,8	93,5	92,4	82,8	80,4	85,7	84,2	91,4	85,5	n.s.		
largeur (μ)	894	907	929	1072	1050	997	959	939	1058	1043	73,32	58,79	
hauteur (μ)	649	610	609	689	686	657	638	627	690	685	46,40	35,30	
Longueur gaine (mm)	7,6	7,3	7,4	8,1	8,6	8,1	7,5	7,9	8,4	8,3	n.s.		
Canaux sécréteurs:													
total	2,24	0,80	1,94	5,44	5,87	4,12	2,35	3,42	5,34	5,16	2,06	1,57	
en position médiane:													
% réels	25,03	24,26	6,39	2,79	1,61	17,24	12,59	9,10	0,17	2,74			
% transformés	26,26	24,95	10,16	7,76	4,63	21,19	15,76	14,32	0,75	7,69	16,61	12,64	
Lignes stomatiformes:													
dorsales	7,5	6,8	7,3	8,3	8,5	7,3	7,6	7,0	8,1	7,9	0,80	0,61	
ventrales	3,0	3,3	3,4	3,1	2,8	2,9	3,2	3,0	3,2	2,8	0,38	0,29	
totales	10,5	10,1	10,7	11,4	11,3	10,2	10,8	10,0	11,3	10,7	0,99	0,76	
Stomates par cm	96,5	99,4	92,6	82,3	82,8	75,4	81,8	84,2	87,1	84,7	6,46	4,91	
Epiderme (μ)	17,13	16,20	17,05	17,52	16,21	17,86	17,21	17,33	18,30	18,07	n.s.		
Cellules hypoderme	2,2	1,9	1,9	2,1	2,0	2,0	1,8	1,9	2,0	2,0	n.s.		
Cuticule (μ)	3,06	2,88	3,09	3,49	3,05	3,20	3,33	3,15	3,48	3,51	0,44	0,33	

Pour ce caractère, à la différence de ce qui se vérifie pour la longueur des aiguilles, une augmentation générale des dimensions de la gaine se manifeste avec l'âge (tabl. 4), cela ne détermine aucun changement sur la position des provenances si on les classe selon la longueur de la gaine.

MDS 0,01: pour les moyennes des années = 0,35; pour les moyennes des provenances = 0,79.

3.3. *Largeur et hauteur des aiguilles*

Les valeurs moyennes de ces deux caractères sont assez homogènes sur les aiguilles des jeunes plantes (pour la seule largeur quelques différences peuvent être mises en évidence, tabl. 2), tandis que sur les arbres adultes, parallèlement à une augmentation généralisée des dimensions (tabl. 3), l'on peut relever des différences très évidentes entre les provenances grecques et celles de l'Italie méridionale d'un côté, et les provenances A 17, A 25, A 29 et A 30, de l'autre (tabl. 4). La classification reste la même, aussi bien pour la hauteur que pour la largeur, et, si l'on considère l'allure déjà observée pour les aiguilles des jeunes plantes, il paraît évident que les provenances grecques ont des dimensions décidément réduites par rapport à celles qui sont plus occidentales, ou « d'altitude ».

3.4. *Nombre moyen et position des canaux sécréteurs*

Le nombre moyen des canaux sécréteurs (assez petit dans les jeunes plantes) diffère significativement entre les provenances, aussi bien dans les jeunes plantes que dans les cas des arbres adultes (tabl. 2, 3). Les jeunes plantes des provenances occidentales et/ou « d'altitude » (A 17, A 25, A 29, A 30) ont des canaux sécréteurs en plus grand nombre par rapport aux provenances grecques (A 3 et A 4), et d'Italie du Sud, bien que, avec ces dernières, la différence soit moins évidente ; à l'état adulte les différences sont encore plus fortes et l'augmentation des canaux sécréteurs avec l'âge est plus évidente dans les provenances qui en avaient déjà davantage en tant que jeunes plantes (tabl. 3, 4).

La situation est moins claire en ce qui concerne la position des canaux sécréteurs, surtout pour les jeunes plantes (tabl. 2) ; sur les arbres adultes on observe une tendance à la réduction des canaux sécréteurs en position médiane (tabl. 3). Pour les provenances occidentales la réduction entraîne des valeurs très basses (moins 3 p. 100 sur les plantes adultes, et 10 p. 100 sur la moyenne des deux années), tandis que pour les provenances orientales une telle réduction ne se présente pas (A 2) ou bien elle est très limitée (A 3) (tabl. 4) ; on observe la réduction la plus évidente en A 26, là où les canaux en position médiane baissent de 56 p. 100 à 17 p. 100.

3.5. *Nombre de lignes stomatiformes*

Sur les jeunes plantes le nombre total des lignes stomatiformes est assez homogène ; quelques différences existent toutefois en ce qui concerne la distribution sur le côté dorsal et ventral ; ce dernier en particulier présente des différences parmi les provenances (A 26 et A 30 diffèrent de A 3, A 4 et A 29) (tabl. 2). Les différences deviennent encore plus évidentes sur les arbres adultes : parmi les provenances aussi bien le nombre total, que la distribution des lignes sur le côté dorsal et ventral diffèrent significativement (tabl. 3).

Sur le côté ventral l'ordre des provenances déjà établi pour les jeunes plantes se maintient : les provenances grecques A 3 et A 4 en présentent un plus grand nombre. Sur le côté dorsal et en totalité, les mêmes provenances, ajoutées à A 28, en ont le nombre plus réduit. Pour ce caractère également l'on observe une augmentation, généralisée à toutes les provenances, lorsque l'on passe des jeunes plantes aux arbres adultes.

3.6. Nombre de stomates par centimètre

Le nombre de stomates par centimètre diffère significativement selon les provenances : les provenances grecques A 2, A 3 et A 4, par rapport aux autres (tabl. 3) en ont un nombre plus élevé.

3.7. Epaisseur de l'hypoderme et nombre de cellules hypodermiques

Ces deux caractères anatomiques sont semblables pour toutes les provenances.

3.8. Epaisseur de la cuticule

La paroi des cellules épidermiques de *Pinus halepensis* n'apparaît pas cutinisée et l'on observe une seule couche cuticulaire déposée en dehors de la paroi. Quelquefois la cutine semble imprégner la lamelle moyenne, en englobant complètement la cellule. L'épaisseur de la cuticule diffère significativement selon les provenances (tabl. 3) : A 17, A 29 et A 30 (provenances « d'altitude ») ont une cuticule plus épaisse que celle d'A 3.

4. Discussion

Les données ont mis en évidence des différences considérables concernant les caractères structuraux et anatomiques des aiguilles selon les provenances de *Pinus halepensis* Mill. examinées au cours de cette recherche.

En ce qui concerne les caractères étudiés, les différences les plus remarquables ont été mises en évidence sur les aiguilles des arbres adultes, tandis que, pour les jeunes plantes, seuls quelques caractères en présentent.

De plus, toujours sur les arbres adultes, de fortes corrélations ont été trouvées entre tous les caractères des aiguilles et quelques caractéristiques (latitude, longitude, et altitude) des régions dont proviennent les semences, ainsi qu'entre les caractères eux-mêmes (tabl. 5).

La longueur de l'aiguille et celle de la gaine sont des caractères dont la valeur taxinomique est très discutée : MERGEN *et al.* (1965) remarquent que pour ces caractères une ample variabilité existe dans l'espèce, et on peut impliquer une forte influence du milieu. Toutefois MERGEN lui-même (1963), GELLINI (1968), LEE (1968) et COLAONE (1971), ont trouvé que des différences significatives existent entre la longueur des aiguilles des plantes cultivées dans leur propre milieu d'origine et celle des plantes qui proviennent d'autres régions. Les données de cette recherche semblent confirmer la variabilité de ces caractères ; il est toutefois remarquable qu'un bon accord existe avec les valeurs trouvées par COLAONE (1971) sur deux provenances italiennes (Terni et Taranto) assimilables à A 26 et A 27, utilisées dans notre recherche (80 et 86 mm par rapport à 80,4 et 85,7 mm), et que les petites différences observées soient dues soit à l'âge des arbres (15 et 8 ans) soit aux régions de croissance (Cecina et Arezzo). La longueur des aiguilles, bien qu'elle ne soit pas significativement différente selon les provenances, est cependant le seul caractère qui soit en corrélation avec la latitude (tabl. 5) ; ce résultat est également signalé par MERGEN (1963) sur *Pinus strobus* et par COLAONE (1971) sur *Pinus pinaster*.

TABLEAU 5

Matrice de corrélation : *Pinus halepensis* Mill.Correlation matrix : *Pinus halepensis* Mill.

X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	
+1,00	+0,11	-0,71*	-0,75**	+0,00	-0,24	-0,26	-0,29	-0,43	-0,02	-0,43	-0,47	-0,53	X1
	+1,00	-0,59	+0,12	-0,74**	-0,87**	-0,85**	-0,66*	+0,63*	-0,86**	-0,69*	-0,29	-0,19	X2
		+1,00	+0,34	+0,54	+0,72*	+0,71*	+0,67*	-0,19	+0,59	+0,78**	+0,66*	+0,32	X3
			+1,00	-0,42	-0,10	-0,13	+0,30	+0,71*	-0,32	+0,06	-0,03	+0,29	X4
				+1,00	+0,85**	+0,71*	+0,50	-0,61*	+0,96**	+0,46	+0,33	+0,16	X5
					+1,00	+0,66*	+0,78**	-0,49	+0,92**	+0,66*	+0,39	+0,47	X6
						+1,00	+0,32	-0,40	+0,74**	+0,62*	+0,48	+0,43	X7
							+1,00	-0,19	+0,64*	+0,61*	+0,19	+0,27	X8
								+1,00	+0,66*	+0,56	-0,43	+0,27	X9
									+1,00	+0,60*	+0,37	+0,19	X10
										+1,00	+0,38	+0,12	X11
											+1,00	+0,19	X12
												+1,00	X13
X1 = Altitude													
X2 = Longitude													
X3 = Altitude													
X4 = Longueur aiguille													
X5 = Longueur gaine													
X6 = Largeur aiguille													
X7 = Hauteur aiguille													
X8 = Lignes stomatiformes totales													
X9 = N° des stomates par cm linéaire													
X10 = N° des canaux sécréteurs													
X11 = Epaisseur cuticule													
X12 = Epaisseur épiderme													
X13 = N° des cellules hypoderme													

Selon DE WALL (1940), la longueur de la gaine est un caractère qui n'est influencé ni par le milieu ni par l'âge de la plante, observation non confirmée par notre recherche (tabl. 4). La longueur de la gaine des provenances grecques (A 2, A 3 et A 4) est plus élevée (7 mm ou plus, contre 4,5 mm) par rapport aux valeurs reportées par PANETSOS (1975) sur des populations de *Pinus halepensis* qui proviennent de régions très proches de celles que nous avons considérées.

Largeur et longueur de l'aiguille diffèrent selon les provenances sur les arbres adultes. Les valeurs observées s'accordent avec ce que COLAONE (1971) a constaté, et, dans le cas de A 26, la correspondance est parfaite avec sa provenance « Terni » ($L = 0,997$ mm et $H = 0,657$ mm contre $L = 1,0$ mm et $H = 0,65$ mm). STOVER (1944), pour *Pinus contorta*, trouve que les dimensions des aiguilles des plantes de milieu moyennement humide sont plus grandes que celles de milieu xérique ; cette considération paraît s'accorder à notre cas, puisque les plantes de provenance grecque (A 3 en particulier), avec les aiguilles les plus réduites (tabl. 4), sont en fait originaires d'un milieu plus xérique que les autres (WALTER & LIETH, 1967). De plus, pour ce caractère, une double corrélation a été mise en évidence : de signe négatif avec la longitude et de signe positif avec l'altitude (tabl. 5).

Le nombre de canaux sécréteurs est un caractère dont la valeur taxinomique est à débattre, étant donnée sa grande variabilité (HARLOW, 1947 ; WHITE & BEALS, 1962 ; GELLINI, 1968) : au point que ROLLER (1966) soutient la nécessité de spécifier

l'âge de la plante (ou le stade de développement), l'âge de l'aiguille et la position dans la cime.

Les résultats de notre recherche confirment ce que WHITE & BEALS (1962) ont trouvé sur la liaison entre nombre des canaux sécréteurs et l'âge de la plante ; de plus ils montrent l'influence du milieu (le nombre moyen des canaux sécréteurs des provenances A 2, A 3 et A 4 est nettement inférieur à celui que PANETSOS (1975) a trouvé sur des populations grecques de *P. halepensis*) ; mais ils confirment aussi une variation probable dans l'espèce liée à la longitude, ainsi que LEE (1968) l'a démontré pour *Pinus nigra* et COLAONE (1971) pour *Pinus halepensis*. Pour ce caractère également, un parfait accord existe entre la provenance de « Terni » et A 26 : 4,3 contre 4,1.

La position des canaux sécréteurs est considérée par quelques auteurs (DOI & MORIKAWA, 1929 ; HARLOW, 1947) comme importante pour l'identification des pins, tandis que d'autres (ROLLER, 1966) jugent ce critère surestimé. Les provenances grecques et d'Italie du Sud que nous avons considérées présentent le pourcentage le plus élevé de canaux sécréteurs en position médiane ; cette situation, ajoutée au petit nombre de canaux sécréteurs présents dans ces provenances, peut conduire à les différencier des provenances occidentales.

Le nombre total des lignes stomatifères est en corrélation négative avec la longitude et positive avec l'altitude (tabl. 5), parallèlement à ce qui a été mis en évidence pour la largeur et la hauteur des aiguilles.

ARBEZ & MILLIER (1971) estiment ce caractère parmi les meilleurs pour discriminer les sous-espèces en *Pinus nigra* ; LEE (1968) considère ce caractère relativement indépendant du milieu, et il trouve une relation entre le nombre total des lignes stomatifères et les dimensions des aiguilles. D'après nos données il en est de même (tabl. 5), toutefois il faut noter que les provenances grecques, quoique caractérisées par une largeur des aiguilles inférieure aux autres, ont cependant un nombre de lignes stomatifères supérieur sur le côté ventral (tabl. 2, 3).

Le nombre de stomates par unité de longueur est en corrélation positive avec la longitude, étant par conséquent de signe opposé à la corrélation trouvée pour les lignes stomatifères. Une étude de MERGEN (1958) sur des provenances de *Pinus elliottii* indique, pour le nombre de stomates par unité de longueur, une tendance semblable à celle que nous avons trouvée, tandis que, au cours d'un travail ultérieur (1963) sur *Pinus strobus* un gradient nord-sud est mis en évidence. VIDAKOVIC (1958, 1966), KENG & LITTLE (1961) et MERGEN (1965) considèrent le nombre de stomates comme un caractère génétiquement stable et donc utilisable pour discriminer les hybrides ; de la même façon GAUSSEN (1960) l'avait utilisé pour reconnaître les provenances et les sous-espèces.

L'épaisseur de la cuticule, plus consistante dans les provenances A 17, A 29 et A 30, se trouve en corrélation avec la longitude (négativement) et avec l'altitude (positivement) (tabl. 5). Selon STOVER (1944), BAIG & TRANQUILLINI (1976) et KOVALEV (F.A. 4 838, 1981), au moins jusqu'aux régions-limites pour la végétation, c'est précisément avec l'altitude que l'épaisseur de la cuticule est en meilleure corrélation. Il faut souligner non seulement qu'une très bonne corrélation avec l'altitude a été mise en évidence au cours de notre recherche, mais ajoutons aussi que l'on trouve dans les régions occidentales *P. halepensis* jusqu'à des altitudes de 1 500-2 000 m

N° stomates x cm lineaire	N° canaux sécréteurs
○ >90	○ 2,5<
◐ 80-90	◐ 2,5-5,0
◑ 80<	◑ >5,0
Lignes stomatifères totales	% canaux sécréteurs en pos. mediane
○ 10,5<	○ >20
◐ 10,5-11,0	◐ 10-20
◑ >11,0	◑ 10<
Largeur aiguille (μ)	Epaisseur cuticule (μ)
○ 950<	○ 3,0<
◐ 950-1000	◐ 3,0-3,25
◑ >1000	◑ >3,25

FIG. 1

Populations de Pinus halepensis Mill.

Populations of Pinus halepensis Mill.

(au Maroc), par contre, dans les régions orientales il a tendance à disparaître à partir de 200-300 m.

Le nombre des couches de cellules de l'hypoderme est un caractère dont la crédibilité est controversée. VIDA KOVIC (1958), GELLINI (1968) et LEE (1968) soutiennent qu'il ne se ressent pas de l'influence du milieu, ayant donc une remarquable importance pour la classification des provenances, tandis que d'un avis différent sont SCHUTT & HATTEMER (1958) et KRIEBEL & FLOWER (1955). D'après nos données il ne nous paraît pas être un caractère suffisant pour discriminer les provenances.

Des considérations analogues peuvent être faites à l'égard de l'épaisseur des cellules épidermiques, même si le caractère est en corrélation avec l'altitude. LARSEN (1927), pour *Pinus contorta*, estime que l'épaisseur de l'épiderme peut représenter, dans quelques emplacements, une adaptation à des conditions xériques, tandis que CRITCHFIELD (1957), toujours sur *Pinus contorta*, ne trouve aucune corrélation entre ce caractère et les régions d'où proviennent les semences, bien qu'elles soient très différentes du point de vue climatique.

5. Conclusions

Les connaissances sur la variation de quelques caractères structuraux et anatomiques des aiguilles, s'étendent à *Pinus halepensis* Mill. grâce à cette recherche. De telles variations avaient déjà été observées sur d'autres espèces du genre *Pinus*, associées à l'âge des plantes, se manifestant également durant des laps de temps parfois très courts. De la même façon nous avons observé que les caractères qui permettent de distinguer les provenances lorsque les plantes sont jeunes, ne sont pas les mêmes une fois celles-ci devenues adultes. De plus, parmi ces caractères, deux seulement (nombre de canaux sécréteurs et nombre de lignes stomatifères du côté ventral de l'aiguille) maintiennent leur stabilité, même lorsque leurs valeurs absolues changent.

D'autre part les caractères qui étaient homogènes sur les jeunes plantes (largeur et hauteur de l'aiguille, nombre de lignes stomatifères totales et sur le côté dorsal) sont devenus des caractères discriminants pour les arbres adultes.

Le milieu paraît exercer une influence sensible sur quelques caractères morphologiques et anatomiques. D'après la comparaison entre nos résultats et ceux de COLAONE (1971) sur des populations de *Pinus halepensis* différentes quant à leur lieu d'origine, la seule provenance « Terni » présente avec évidence des valeurs (longueur, largeur, hauteur de l'aiguille et nombre de canaux sécréteurs) qui s'accordent avec ce que l'on a trouvé sur A 26 (qui provient de la même région, et qui était cultivée, dans les deux cas, tout près de son lieu d'origine) ; par contre les différences sont considérables en ce qui concerne les autres provenances. Quelques caractères (longueur, largeur et hauteur de l'aiguille, longueur de la gaine, nombre de canaux sécréteurs) ont montré des différences encore plus évidentes entre nos provenances A 3 et A 4, et les populations grecques étudiées par PANETSOS (1975) en Grèce ; bien que provenant de régions très proches, le milieu de croissance, substantiellement différent, a joué un rôle très important évident.

FIG. 2

*Coupe transversale de l'aiguille d'une plante de la provenance A 2
(représentative des provenances grecques).*

*Transverse section of a needle from a tree of the provenance A 2
(representative of the Greek provenances).*

FIG. 3

*Coupe transversale de l'aiguille d'une plante de la provenance A 27
(représentative des provenances de l'Italie méridionale).*

*Transverse section of a needle from a tree of the provenance A 27
(representative of the south Italian provenances).*

FIG. 4

Coupe transversale de l'aiguille d'une plante de la provenance A 29 (représentative des provenances occidentales et/ou « d'altitude »).

Transverse section of a needle from a tree of the provenance A 29 (representative of the western and/or « of altitude » provenances).

Compte tenu de ces considérations, nos résultats permettent, grâce à la stabilité de certains caractères et leurs associations sur quelques populations, de distinguer parmi les provenances de *Pinus halepensis* Mill. des groupements bien différenciés (fig. 5).

Les provenances grecques A 3 et A 4 (et en moindre mesure A 2) diffèrent (fig. 2), des provenances occidentales (et/ou « d'altitude ») A 17, A 25, A 29 et A 30 (fig. 3) pour la quasi totalité des caractères, tandis que les provenances d'Italie centre-méridionale A 26, A 27 et A 28 (fig. 4) se placent en position intermédiaire, ressemblent à l'un ou à l'autre groupe, selon le caractère considéré. La figure 1, où les caractères sont représentés selon la méthode d'ANDERSON (1953) « pictorialized scatter diagram », méthode généralement utilisée pour la discrimination des hybrides, fait très bien ressortir ce résultat.

L'analyse des régressions, qui met en évidence la variation ouest-est de tous les caractères examinés (avec comme seule exception la longueur de l'aiguille), confirme l'existence d'une variation géographique en bon accord avec les groupements de provenance déjà mentionnés (fig. 5).

L'altitude à laquelle sont liés quelques-uns des caractères observés, représente également un composant non indifférent pour la corrélation avec la latitude (tabl. 5).

FIG. 5

Emplacement des provenances de Pinus halepensis Mill. et regroupements proposés.

Location of Pinus halepensis Mill. provenances and groupings proposed.

La cuticule a tendance à augmenter, selon quelques auteurs, jusqu'à certaines limites au-dessus desquelles la tendance se renverse, et l'on observe une nette réduction (BAIG & TRANQUILLINI, 1976, ne trouvent aucune différence sur des plantes de *Picea abies* poussant entre 1 000 et 1 940 m); de plus, en milieu moyennement humide, les dimensions de l'aiguille augmentent par rapport à ce que l'on trouve en milieu xérique. *Pinus halepensis* uniquement dans les stations les plus méridionales et occidentales trouve un milieu au climat plus favorable, et il peut y coloniser des altitudes plus élevées.

En ce qui concerne d'autres caractères et comportements, l'existence de différences parmi la population de *P. halepensis* a été démontrée au cours d'études préalables (CALAMASSI *et al.*, 1980; CALAMASSI, 1982; FALUSI *et al.*, 1983; CALAMASSI *et al.*, 1984), là où la présence de variations écotypiques pour de nombreux caractères et comportements en *Pinus halepensis* Mill. soutenue par plusieurs auteurs (NAHAL, 1962; FERRE, 1965; DEBAZAC & TOMASSONE, 1965; COLAONE, 1971; PALMBERG, 1975) est vérifiée avec certitude.

Pour quelques-uns des caractères observés (nombre de stomates par cm et nombre de lignes stomatifères en position ventrale) il semble très probable qu'une forte liaison existe avec la résistance à l'aridité. Un nombre élevé de stomates est généralement considéré comme une adaptation xéromorphique, et les provenances grecques A 2, A 3 et A 4, qui présentent les valeurs les plus élevées, ont résisté le mieux aux stress hydriques pendant la germination et les premières phases de la croissance de la racine (CALAMASSI *et al.*, 1980; FALUSI *et al.*, 1983): elles proviennent en effet d'un milieu au climat thermo-méditerranéen avec 100-150 jours secs par an (WALTER & LIETH, 1967). Un bon accord existe pour d'autres provenances également:

A 29, qui paraissait être relativement résistante au sec, porte un nombre de stomates inférieur à celui des provenances grecques seulement (tabl. 3) ; tandis que A 26, très sensible aux stress hydriques, présente le nombre de stomates le plus réduit parmi les provenances examinées.

Reçu le 5 août 1985.

Accepté le 5 février 1986.

Summary

Identification of provenances of Pinus halepensis Mill. on the basis of the anatomical and morphological needle structures

Anatomical and morphological structures of needles in seedlings and adult plants of 10 provenances of *Pinus halepensis* Mill., have been analyzed in order to characterize their provenances and to ascertain the discriminating characteristics as a function of growth stage and the environment.

There is evidence of a remarkable variability in some characteristics related to the age and to the environmental conditions during the plant growth, in fact it appears that the characteristics which can be chosen to discriminate between plants from the different provenances do not maintain this ability from seedling to the adult stage.

Nevertheless some characters are constant and grouped in some populations, therefore allowing the discrimination of some well differentiated groups : the Greek provenances (A 2, A 3, A 4) on one side, and the western or « of altitude » (A 17, A 25, A 29, A 30) on the other, meanwhile the south-central Italian provenances (A 26, A 27, A 28) are situated in a central position between these two groups.

A geographical variation is also in evidence, showing a west-east trend.

Références bibliographiques

- ANDERSON E., 1953. Introgressive hybridization. *Biol. Rev.*, **28**, 280-307.
- ARBEZ M., MILLIER C., 1971. Contribution à l'étude de la variabilité géographique de *Pinus nigra* Arn. *Ann. Sci. For.*, **28**, 23-49.
- BAIG M.N., TRANQUILLINI W., 1976. Studies on upper timberline : morphology and anatomy of Norway spruce (*Picea abies*) and stone pine (*Pinus cembra*) needles from various habitat conditions. *Can. J. Bot.*, **54**, 1622-1632.
- CALAMASSI R., 1982. Effetti della luce e della temperatura sulla germinazione dei semi in provenienze di *Pinus halepensis* Mill. e *Pinus brutia* Ten. *It. For. Mont.*, **XXXVII**, 174-187.
- CALAMASSI R., FALUSI M., TOCCI A., 1980. Variazione geografica e resistenza a stress idrici in semi di *Pinus halepensis* Mill., *Pinus brutia* Ten., *Pinus eldarica* Medw. *Ann. Ist. Sper. Selv. Arezzo*, **XI**, 195-230.
- CALAMASSI R., FALUSI M., TOCCI A., 1984. Effets de la température de germination et de la stratification sur la germination des semences de *Pinus halepensis* Mill. *Silv. Genet.*, **33**, 133-139.

- COLAONE M., 1971. Indagini preliminari sui caratteri anatomici degli aghi di alcune provenienze di *Pinus Pinaster* Ait. e *Pinus halepensis* Mill. *It. For. Mont.*, **XXVI**, 164-171.
- CRITCHFIELD W.B., 1957. Geographic variation in *Pinus contorta*. Maria Moors Cabot Foundation, Publ. 3, 118 p. Cité par MERGEN F., 1963.
- DEBAZAC E., TOMASSONE R., 1965. Contribution à une étude comparée de Pins méditerranéens de la section halepensis. *Ann. Eco. Natio. des Eaux et For.*, **27**, 215-256.
- DOI T., MORIKAWA K., 1929. An anatomical study of leaves of the genus *Pinus*. *J. Dept. Agric.*, Kijushu University, II, N° 6, 149-168. Cité par LEE C.H., 1968.
- DURRELL L.W., 1916. Notes on some North conifers based on leaf characters. *Iowa Acad. Sci.*, **23**, 519-582.
- DE WALL W.B., 1940. A diagnostic taxonomic constant for separating slash and longleaf pines. *Fla. Acad. Sci. Proc.*, **4**, 113-115.
- EVANS L.S., MILLER P.R., 1972. Ozone damage to ponderosa pine : an istological and Hystochemical appraisal. *Amer. J. Bot.*, **59**, 297-304.
- FALUSI M., CALAMASSI R., TOCCI A., 1983. Sensitivity of seed germination and seedling root growth to moisture stress in four provenances of *Pinus halepensis* Mill. *Silv. Genet.*, **32**, 4-9.
- FALUSI M., CALAMASSI R., TOCCI A., 1984. Resistenza al freddo in *Pinus halepensis* Mill. *Pinus brutia* Ten. e *Pinus eldarica* Medw. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat.*, Mem., Serie B, **XCI**, 1-23.
- FERRE Y. DE, 1965. Structure des plantules et systématique du genre *Pinus*. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*, Tome 100, Fasc. 1-2.
- FLORA EUROPAEA, 1964. *Lycopodiaceae* to *Platanaceae*. Vol. 1, **35**. Cambridge Univ. Press.
- FRANCINI E., 1953. Il pino d'Aleppo in Puglia. *Ann. Fac. Agraria*, Bari, **VIII**, 309-416.
- GAUSSEN H., 1960. Les Gymnospermes actuelles et fossiles. Toulouse, Fasc. VI, 14-29.
- GELLINI R., 1968. Posizione sistematica del Pino nero di Villetta Barrea in base ai caratteri anatomici degli aghi. *Ann. Accad. It. Sci. For.*, **17**, 101-122.
- HARLOW W.M., 1947. The identification of the pines of the United States native and introduced by needle structure. *Bull. New York Coll. For.*, Syracuse Univ., **XX**, Fasc. 2.
- HOSIE R.C., 1969. Native trees of Canada. Can. for. Service Departement of Environment, Ottawa.
- JARIG M., 1962. Beiträge zur Nadelanatomie und Taxonomie der Gattung *Pinus* L. *Willdonovia*, **3**, 329-366.
- KENG H., LITTLE E.L. Jr., 1961. Needle characteristics of hybrid pines. *Silv. Genet.*, **13**, 131-146.
- KRIEBEL H.B., FOWLER D.P., 1965. Variability in needle characteristics of soft pine species and hybrids. *Silv. Genet.*, **14**, 73-76.
- LARSEN J.A., 1927. The relation of leaf structure of conifers to light and moisture. *Ecology*, **8**, 371-377. Cité par MERGEN F., 1963.
- LEE C.H., 1968. Geographic variation in European black pine. *Silv. Genet.*, **17**, 165-172.
- LEYTON L., JUNIPER B.E., 1963. Cuticle structure and water relations of pines needles. *Nature*, **198**, 770-771.
- LEYTON L., ARMITAGE I.P., 1968. Cuticle structure and water relations of pines needles of *Pinus radiata* (D. Don). *New Phytol.*, **67**, 31-38.
- MERGEN F., 1958. Genetic variation in needle characteristics of slash pine and in some of the hybrids. *Silv. Genet.*, **7**, 1-9.
- MERGEN F., 1963. Ecotypic variation in *Pinus strobus* L. *Ecology*, **44**, 716-727.
- MERGEN F., STAIRS R.G., SNYDER E.B., 1965. Natural and controlled loblolly $\times$ short-leaf hybrids in Mississippi. *For. Sci.*, **11**, 306-314.
- MIROV N.T., 1967. The genus *Pinus*. Ronald Press Co., New York.
- NAHAL I., 1962. Le Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.). Etude taxinomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Ann. Eco. Natio. des Eaux et For.*, **XIX**, 208 pp.

- NAPPZINN K., 1966. Anatomie des blattes. I. Gymnosperm. *Enc. Plant Anatomy*, Gebunde Baurtragen Berlin.
- OPPENHEIMER H.R., 1968. Drought resistance of Monterey pine needles. *Isr. J. Bot.*, **17**, 163-168.
- PALMBERG C., 1975. Geographic variation and early growth in souther-eastern semi-arid Australia of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus brutia* Ten. species complex. *Silv. Genet.*, **24**, 150-160.
- PANETSOS K.C.P., 1981. Monograph of *Pinus halepensis* (Mill.) and *Pinus brutia* (Ten.). *Ann. Forest.*, **9/2**, 39-77.
- PELIZZO A., TOCCI A., 1978. Indagini preliminari su semi e semenzali di *Pinus halepensis* e *Pinus brutia-eldarica*. *Ann. Ist. Sper. Selv.*, Arezzo, **IX**, 111-130.
- RIVA L., VENDRAMIN G., 1983. Prime osservazioni sull'ibrido artificiale *Pinus brutia* $\times$ *Pinus halepensis*. *It. For. Mont.*, **XXXVIII**, 234-248.
- ROLLER K.J., 1966. Resin canal position in the needles of balsam, alpine and frasers firs. *For. Sci.*, **12**, 348-355.
- STOVER E.L., 1944. Varying structure of conifer leaves in different habitats. *Bot. Gaz.*, **106**, 12-25.
- SCHUTT P., HATTAMER H.H., 1958. Die Eigung von Merkmalen der Nadelquerschnitts für Kiefern. Bastard diagnose. *Silv. Genet.*, **8**, 93-99.
- VIDAKOVIC M., 1957. Forms of *Pinus nigra* in Jugoslavia on the basis of anatomical structure of the needles (Yu). *Glasu Sunske Pakuse*, Zagreb, **13**, 111-148.
- VIDAKOVIC M., 1958. Investigations of the intermediate type between the Austrian and Scots pine. *Silv. Genet.*, **7**, 12-19.
- WALTER H., LIETH H., 1967. Klimadiagramm-weltatlas. G. Fischer, Jena.
- WHITE D.B., BEALS H.O., 1962. Variation in number of resin canals per needles in ponderosa pine. *Bot. Gaz.*, **124**, 251-253.