

VARIABILITÉ INTRASPÉCIFIQUE DES MONOTERPÈNES
DE *PINUS NIGRA* ARN.
BILAN DES PREMIERS RÉSULTATS

M. ARBEZ, Colette BERNARD-DAGAN* et Christiane FILLON*

Laboratoire d'Amélioration des Conifères
Station de Recherches forestières de Bordeaux, I.N.R.A.,
Pierroton, Cestas - 33610 Gazinet

*Laboratoire de Biologie végétale
Université de Bordeaux I
33405 Talence

RÉSUMÉ

L'étude portait sur 14 provenances constituant un échantillon assez représentatif de la variabilité géographique. Les analyses par chromatographie en phase gazeuse concernaient les tissus extérieurs au bois de pousses latérales d'un an prélevées sur 21 arbres par provenance (échantillon moyen). Ces arbres appartenaient à une plantation comparative de provenances, ils étaient âgés de 9 ans au moment des prélèvements.

Les profils monoterpéniques mis en évidence (tableaux 2 et 3) permettent de regrouper les provenances par région géographique d'origine :

- A l'intérieur de la sous-espèce *Laricio*, les groupes Corse et Calabre diffèrent nettement : le Pin *Laricio* de Corse est caractérisé par les plus fortes teneurs en limonène et par des traces de Δ_3 -carène et de terpinolène, le Pin *Laricio* de Calabre contient surtout de l' α -pinène.
- La sous-espèce *clusiana* se distingue par l'abondance relative du myrcène.
- Les sous-espèces *nigricans* et *pallasiana* se ressemblent par les plus fortes teneurs en β -pinène mais se différencient sur la base des teneurs en limonène.

Les conséquences taxinomiques de ces premiers résultats coïncident avec les conclusions déjà obtenues par l'étude de caractères radicalement différents (caractères morphologiques des aiguilles, couleur hivernale des plantules, sensibilité différente aux attaques de rongeurs).

Dans cette étude a également été discuté l'effet de divers facteurs pouvant affecter la composition monoterpénique : date de prélèvement, âge des arbres, variabilité individuelle :

- La composition monoterpénique est restée pratiquement stable durant toute la période de prélèvement, depuis la fin du mois d'avril jusqu'à la mi-septembre (tableau 4).
- Les différences de profils monoterpéniques entre provenances de Corse et de Calabre s'atténuent beaucoup chez les arbres adultes (71 ans) principalement pour le limonène (tableau 5).
- A l'intérieur d'une provenance donnée, il existe de grandes différences de composition monoterpénique entre les individus (limonène et α -pinène notamment). La répartition des teneurs individuelles pour chaque monoterpène est souvent multimodale, ce qui évoque un contrôle génétique simple (petit nombre de gènes en cause) en accord avec les résultats mis en évidence sur d'autres espèces.

INTRODUCTION

L'espèce collective *Pinus nigra* Arn. se caractérise par une aire de répartition circum-méditerranéenne, vaste et morcelée. Des différences morphologiques importantes relevées entre races géographiques ont conduit les botanistes à distinguer quatre grandes sous-espèces :

- clusiana* comprenant les formes de la partie occidentale de l'aire (Espagne, Sud de la France, Djurdjura en Algérie et Rif occidental au Maroc)
- laricio* regroupant les formes de Corse, de Calabre et de Sicile
- nigricans* distribuée principalement en Autriche et dans les Balkans
- pallasiana* occupant la partie orientale de l'aire : Turquie et Crimée.

Mais la séparation géographique des deux dernières sous-espèces n'est peut-être pas aussi schématique et d'autre part, des études de taxinomie expérimentale récentes suggèrent de faire éclater la sous-espèce *laricio* en deux groupes distincts : Corse et Calabre. Pour bien faire cette différence, nous substituerons souvent dans la suite la notion de groupe géographique à celle de sous-espèce.

Outre les différences botaniques, les groupes varient considérablement par leurs valeurs économique et forestière. Sur le plan pratique, il importe donc de pouvoir exercer un contrôle précoce de l'origine des graines (provenance) au moyen de tests variétaux rigoureux. L'utilisation des caractères morphologiques (ARBEZ et MILLIER, 1971) et anatomiques (DELEVOY, 1949) semble provisoirement impuissante à réaliser une discrimination claire entre les sous-espèces *pallasiana* et *nigricans*. Par ailleurs, l'amélioration génétique du Pin Laricio de Corse et les sélections individuelles correspondantes dans les peuplements artificiels de France continentale, impliquent une reconnaissance certaine des formes de Corse et de Calabre au stade adulte. Cela n'est actuellement pas le cas.

Or, les études conduites depuis ces dernières années ont montré que la composition qualitative et quantitative en terpènes des essences est sous une dépendance génétique forte : il existe de ce fait des différences très marquées entre les espèces et, chez une même espèce, selon l'origine géographique et les individus.

L'analyse des monoterpènes s'est révélée un critère particulièrement déterminant pour l'étude de la variabilité intraspécifique chez de nombreux résineux et en particulier chez ceux du genre *Pinus* ⁽¹⁾.

Aucune étude de ce type n'ayant à notre connaissance été effectuée sur *Pinus nigra*, il nous a paru indispensable de l'entreprendre en vue de trouver par la voie chimique une discrimination plus rigoureuse des différentes formes géographiques.

(1) *Pinus radiata* (BANNISTER et coll., 1962), *Pinus contorta* (SMITH, 1964), *Pinus eliotti* (BARRETT et coll., 1964; SQUILLACE A.-E., 1966), *Pinus muricata* (FORDE et coll., 1964), *Pinus khasya* (ZAVARIN et coll., 1968), *Pinus sylvestris* (TOBOLSKY, 1968), *Pinus pinaster* (BERNARD-DAGAN et coll., 1971).

1. — MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Les études ont porté sur 14 provenances représentant les quatre sous-espèces traditionnellement reconnues, en individualisant les populations de Corse et de Calabre au sein de la sous-espèce *laricio*. Les informations sur les provenances étudiées font l'objet du tableau 1.

Cet échantillonnage fournit une représentation assez satisfaisante de la variabilité intraspécifique mais demanderait à être amélioré à l'intérieur de certaines sous-espèces, *nigricans* en particulier.

Ce matériel a été emprunté à une plantation comparative de provenances installée en Lorraine (Forêt domaniale d'Amance) par DEBAZAC en 1965.

Les arbres étaient âgés de 7 ans au moment des prélèvements (printemps 1972) et mesuraient en moyenne de 1,60 m à 2,70 m suivant les provenances.

Les échantillons moyens par provenance ont été constitués à partir de 21 arbres (7 arbres dans chacune des trois répétitions spatiales du dispositif) de façon à « tamponner » les effets de la variabilité génétique individuelle. Les très rares arbres attaqués par *Evetria* (insecte mineur des bourgeons) étaient systématiquement éliminés des échantillons. On pouvait redouter en effet que ces attaques d'insectes puissent altérer la constitution monoterpénique des individus affectés comme l'ont observé SMITH (1966) et BERNARD-DAGAN et coll. (1971) sur *Pinus ponderosa* et *Pinus pinaster*.

On prélevait, sur chaque arbre, la pousse terminale d'une branche de l'avant-dernier verticille (bois d'un an). Les prélèvements ont été effectués en trois fois (28 avril, 18 mai et 8 juin 1972) à raison d'une provenance par groupe géographique à chaque fois. Durant la période séparant le prélèvement de l'extraction des monoterpènes, les échantillons étaient conservés au froid (+ 5 °C environ durant le transport entre la plantation et le laboratoire).

2. — MÉTHODES

Les analyses par provenance ont été effectuées sur des échantillons composés d'un mélange à poids égal de tissus extérieurs au bois (écorce + liber) des pousses d'un an appartenant à chacun des 21 arbres de la provenance.

Des analyses individuelles ont été effectuées sur deux provenances; dans ce cas, les tissus extérieurs au bois étaient prélevés arbre par arbre.

Les tissus isolés étaient aussitôt mis à macérer dans du pentane (pur à 99 p. 100 Merck) pendant trois heures. Après filtration et séchage sur SO_2Na_2 anhydre, le pentane était évaporé sous faible courant d'azote, et les produits, solubilisés lors de la macération, analysés par chromatographie en phase gazeuse. Les séparations chromatographiques furent conduites sur un appareil Varian 1400 muni d'un détecteur à ionisation de flamme avec une colonne présentant un diamètre de 1/8^e inch et une longueur de 3,60 m, remplie de Chromosorb W 80/100 imprégné par 25 p. 100 de succinate de diéthylène glycol, avec l'azote comme gaz vecteur.

La caractérisation des pics a été confirmée par co-injection avec l'extrait de constituants purs sur des colonnes de polarités différentes ou par piégeage du corps et spectrométrie infra-rouge (limonène).

3. — RÉSULTATS

Les valeurs groupées dans le tableau 2 ont été calculées par la mesure de la surface des pics sur les chromatogrammes et rapportées, pour chaque corps, aux monoterpènes totaux.

TABLEAU 1 — TABLE 1

Informations sur les provenances étudiées
Informations about the studied provenances

Sous-espèce	Provenance	Abréviation	Pays	Région	Latitude	Longitude	Altitude (m)
clusiana	Siles la Toba Navahondona Saint-Guilhem	SILE NAVA SGUL	Espagne Espagne France	Sierra de Segura Sierra de Cazorla Hérault	37° 50' N	3° 00' O	400
					43° 41' N	3° 35' E	
laricio var. corsicana	Valdoniello Palneca Vezzani	VALD PALN VEZZ	France France France	Corse Corse Corse	42° 18' N	8° 57' E	1 100
					41° 59' N	9° 12' E	900
					42° 09' N	9° 15' E	1 100
var. calabrica	Grancia Trenta Costa Macchia della Tavola	GRAN TR-CO MA-TA	Italie Italie Italie	Calabre Calabre Calabre	39° 25' N	16° 35' E	850
					39° 25' N	16° 35' E	1 050
					39° 25' N	16° 35' E	950
nigricans	Menges Vrhovine Kustendil	MENG VRHO KUST	Yougoslavie Yougoslavie Bulgarie	Slovénie Croatie Mgne d'Ossogovo	42° 16' N	22° 40' E	400
							800
							1 000
pallasiana	Alaçam Crimée	ALAC CRIM	Turquie U.R.S.S.	Anatolie Crimée	39° 35' N	28° 35' E	900
					44° 40' N	34° 20' E	500

TABLEAU 2 — TABLE 2

« Profils monoterpéniques » des différentes provenances (arbres de 7 ans, résultats exprimés en % des monoterpènes totaux)

Monoterpène composition of the different provenances (7 years old trees, results given in % of total monoterpenes)

Provenance	Date de prélèvement	α -Pinène	Camphène	β -Pinène	Δ_3 -Carène	Myrcène	Limonène	Terpinolène
Ssp clusiana								
SILE	28 avril	40,20	0,49	3,85	0	31,48	23,98	0
NAVA	18 mai	54,59	1,18	8,84	0	24,18	11,20	0
SGUL	8 juin	70,66	2,20	9,55	0	6,52	11,06	0
Ssp laricio var. corsicana								
VALD	28 avril	56,86	0,81	3,55	5,34	4,76	28,00	0,65
PALN	18 mai	58,36	1,88	4,65	0,18	5,31	29,34	0,26
VEZZ	8 juin	70,43	2,27	3,55	0	2,29	21,45	0
Ssp laricio var. calabrica								
GRAN	28 avril	92,84	1,41	3,00	0	1,03	1,72	0
TR-CO	18 mai	87,96	1,84	8,08	0	0,66	1,46	0
MA-TA	8 juin	85,87	3,01	7,00	0	1,61	2,51	0
Ssp nigricans								
MENG	28 avril	72,48	1,11	10,73	0	1,28	14,40	0
VRHO	18 mai	71,47	1,13	14,46	0	0	12,93	0
KUST	8 juin	72,83	2,77	5,21	0	1,54	17,64	0
Ssp pallasiana								
ALAC	28 avril	76,52	1,20	14,31	0	0,93	7,04	0
CRIM	18 mai	82,68	1,39	11,21	0	0,44	4,27	0

Bien qu'il existe une variabilité entre provenances d'un même groupe géographique, les différences de profil monoterpénique entre groupes sont suffisamment nettes pour qu'il soit possible de les discriminer. C'est ce que nous avons tenté de faire dans le tableau 3.

TABLEAU 3 — TABLE 3

Essai de caractérisation des groupes géographiques d'après leur « profil » monoterpénique (pour chaque monoterpène considéré, le nombre d'astérisques augmente avec l'abondance relative; dans chaque cas les plus discriminants ont été encadrés.)

Scheme of geographic group recognition on a monoterpene composition basis (for each monoterpene the number of asterisks increases with the relative abundance; in every case the most discriminant ones has been enclosed.)

groupe géographique	limonène	myrcène	β -pinène	Δ_3 -carène	terpinolène
clusiana	***	*****	*		
laricio de Corse	*****	**	*	ϵ	ϵ
laricio de Calabre	*	*	*		
nigricans	***	*	***		
pallasiana	**	*	***		

On notera l'éclatement indiscutable de la sous-espèce *laricio* en deux groupes distincts : Calabre et Corse. Le premier groupe est caractérisé par de très faibles teneurs en monoterpènes autres que l' α -pinène, le second par des teneurs plus fortes en limonène et des traces de Δ_3 -carène et de terpinolène.

La sous-espèce *clusiana* se distingue par l'abondance relative du myrcène, très marquée chez les deux provenances méridionales espagnoles, bien moindre chez la provenance française.

Les sous-espèces *nigricans* et *pallasiana* sont très semblables, en particulier elles contiennent plus de β -pinène que les autres sous-espèces. Seule la différence des teneurs en limonène semble capable de les départager.

Sur la base de ces seuls résultats, la discrimination entre groupes géographiques apparaît donc possible, des confirmations fondées sur un plus grand nombre de provenances par groupe seront néanmoins nécessaires.

4. — EFFET DE DIVERS FACTEURS

Avant de conclure, il importe de discuter l'importance de divers facteurs pouvant affecter la composition monoterpénique : effets de la date du prélèvement et de l'âge des arbres, variabilité individuelle.

4.1. — *Stabilité de la composition monoterpénique en fonction de la date du prélèvement*

Nous avons été amenés à effectuer les prélèvements à trois dates différentes, couvrant toute la période d'élongation de la nouvelle pousse (28 avril, 18 mai, 8 juin). Dans quelle mesure cette période d'activité biochimique, pendant laquelle s'élaborent d'importantes quantités de terpènes, ne s'accompagne-t-elle pas de modifications dans les teneurs respectives de chaque monoterpène? Nous avons voulu lever ce doute en renouvelant en septembre des prélèvements et des analyses de 6 provenances qui avaient été étudiées soit au début, soit à la fin de la période de croissance. Les résultats de ces analyses comparatives, groupés dans le tableau 4, montrent que, chez *Pinus nigra*, la date du prélèvement ne semble pas avoir d'effet important sur la composition monoterpénique des tissus extérieurs au bois. Ces résultats confirment les observations déjà signalées sur *Pinus contorta* (SMITH, 1964), *Picea glauca* (VON RUDLOFF, 1967) ou *Pinus pinaster* (BERNARD-DAGAN, 1971). Il importe cependant de signaler que DUPONT et BARRAUD (1925) ont montré que le pouvoir rotatoire de l'essence de *Pinus nigra* varie considérablement suivant l'échantillon et suivant la saison. Ces modifications traduisent non une variation de la composition chimique globale de l'essence mais celle du pouvoir rotatoire de l' α -pinène, constituant principal de cette térébenthine.

4.2. — *Effet de l'âge*

Pour préciser l'influence de l'âge des individus sur la teneur en monoterpènes et plus spécialement en limonène, nous avons effectué des analyses sur les Pins Laricio âgés de 71 ans de l'Arboretum d'Amance (originaires de Corse et de Calabre). Les branches étaient prélevées à la cime des arbres (5 arbres par variété) et les prélèvements de « tissus corticaux » effectués sur les pousses terminales. Les différences entre les deux provenances, si elles restent nettes, se révèlent cependant beaucoup moins accusées que chez les arbres jeunes, principalement en ce qui concerne le limonène (tableau 5).

Chez *Pinus pinaster* (BARADAT, BERNARD-DAGAN et coll., 1972), la biogénèse du limonène paraît s'établir assez tardivement : les très jeunes plantules sont pauvres en limonène et il faut attendre un développement de 8 à 10 ans pour que le taux de limonène des tissus extérieurs atteigne une valeur stable, et de ce fait représentative dans le « profil monoterpénique ». Mais il est possible que la richesse individuelle en limonène manifeste, comme celle du Δ_3 -carène chez *Pinus pinaster*, une modification lente et progressive dans les pousses des arbres âgés, traduisant un ralentissement du pouvoir de synthèse de ces monoterpènes (en faveur de l' α -pinène) chez les individus moins vigoureux.

Des analyses complémentaires seront nécessaires pour conclure à la possibilité de discerner de façon rigoureuse les Pins Laricio de Corse et de Calabre à l'âge adulte.

Sur les mêmes arbres, l'analyse de carottes de bois prélevées à hauteur d'homme dans le tronc a donné des résultats décevants, caractérisés par la prépondérance écrasante de l' α -pinène dans les deux cas.

4.3. — *Variabilité individuelle des taux de monoterpènes*

On a effectué des analyses individuelles sur deux provenances. Mengès (ssp *nigricans*) et Palnéca (ssp *laricio* var. *corsicana*). Elles portaient respectivement sur 21 et 20 individus différents.

TABLEAU 4 — TABLE 4

Stabilité de la composition monoterpénique en fonction de la date de prélèvement
Stability of monoterpene composition with respect to date of sampling

Provenance	Date de prélèvement	α -Pinène	Camphène	β -Pinène	Δ_3 -Carène	Myrcène	Limonène	Terpinolène
SGUL	8 juin	70,66	2,20	9,55	0	6,52	11,06	0
	13 septembre	76,31	3,57	6,91	0	3,73	9,47	0
VEZZ	8 juin	70,43	2,27	3,55	0	2,29	21,45	0
	13 septembre	65,59	2,87	4,19	0	4,15	23,18	0
MA-TA	8 juin	85,87	3,01	7,00	0	1,61	2,51	0
	13 septembre	84,28	3,76	9,17	0	0,99	1,79	0
KUST	8 juin	72,83	2,77	5,21	0	1,54	17,64	0
	13 septembre	72,63	3,11	5,68	0	1,19	17,38	0
SILE	28 avril	40,20	0,49	3,85	0	31,48	23,98	0
	13 septembre	42,07	1,33	2,86	0	35,28	18,45	0
VALD	28 avril	56,86	0,81	3,55	5,34	4,76	28,00	0,65
	13 septembre	54,18	2,43	3,43	2,66	3,36	33,93	ε

TABLEAU 5 — TABLE 5

Effet de l'âge sur la composition monoterpénique des Pins Laricio de Corse et de Calabre
Effect of the age of the trees, on monoterpene composition of Corsican and Calabrian Pine

Origine	α -Pinène	Camphène	β -Pinène	Δ_3 -Carène	Myrcène	Limonène	Terpinolène
Corse 7 ans							
VALD	58,86	0,81	3,55	5,34	4,76	28,00	0,65
PALN	58,36	1,88	4,65	0,18	5,31	29,34	0,26
VEZZ	70,43	2,27	3,55	0	2,29	21,45	0
Moy.	62,55	1,65	3,91	1,84	4,12	26,26	0,30
Corse 71 ans	72,37	2,52	3,39	0	2,33	19,39	0
Calabre 7 ans							
GRAN	92,84	1,41	3,00	0	1,03	1,72	0
TR-CO	87,96	1,84	8,08	0	0,66	1,46	0
MA-TA	85,87	3,01	7,00	0	1,61	2,51	0
Moy.	88,89	2,09	6,03	0	1,10	1,89	0
Calabre 71 ans	83,20	2,65	2,82	0	1,43	9,90	0

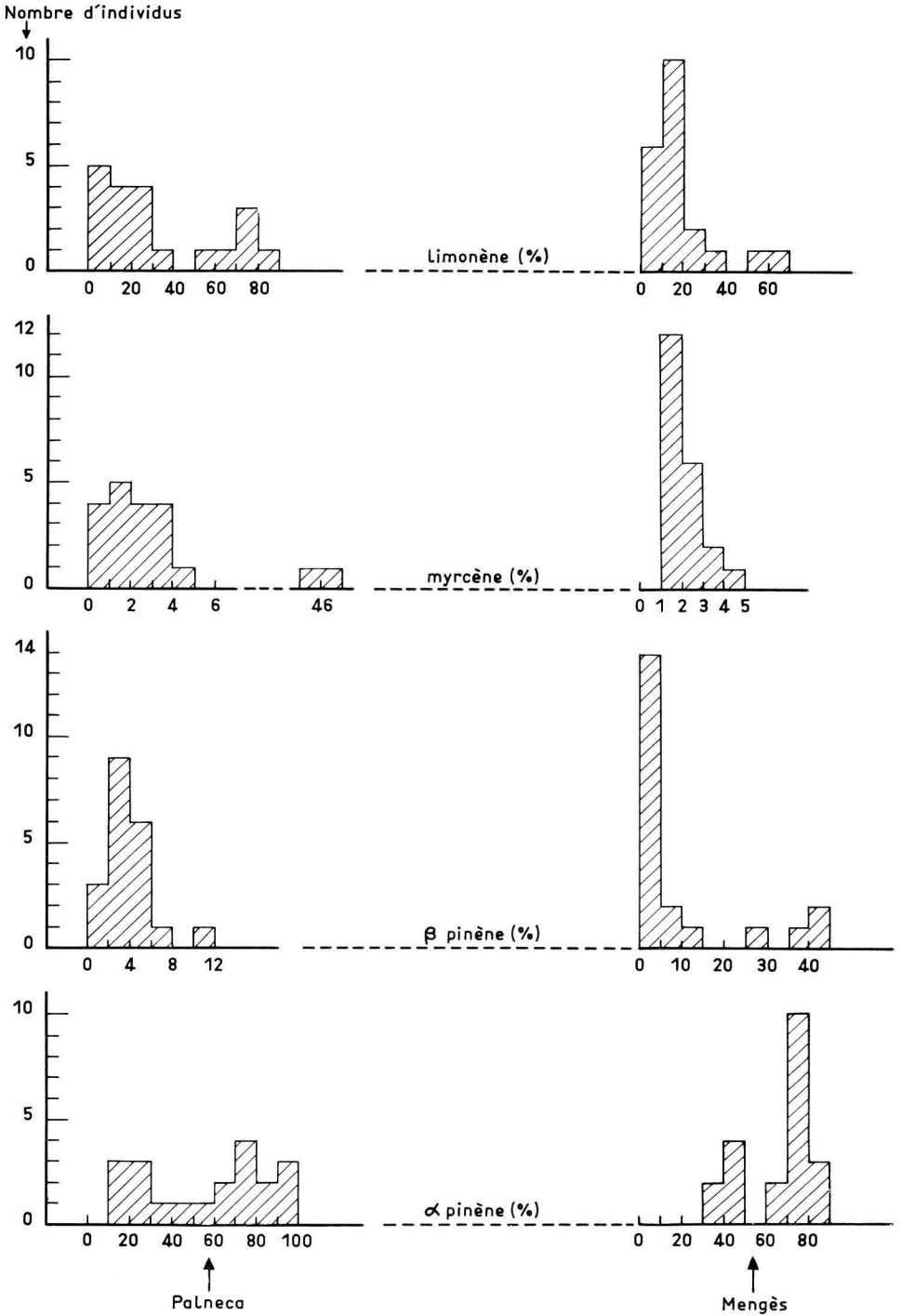


FIGURE 1

Histogrammes de répartition des teneurs individuelles de quatre monoterpènes dans deux provenances différentes : Palneca (*spp* laricio, Corse) et Mengès (*spp* nigricans).

Distribution of individual concentrations of four monoterpenes within two different provenances : Palneca (*spp* laricio, Corsica) and Mengès (*spp* nigricans)

Les histogrammes de répartition sont reproduits en figure 1. Ils appellent les observations suivantes :

— L'amplitude de la variabilité individuelle est très importante dans le cas du limonène (Palnéca = 1,3 à 80,9 p. 100; Mengès = 3,8 à 63,1 p. 100) et de l' α -pinène (Palnéca = 13,2 à 96,5 p. 100; Mengès = 30,7 à 87,0 p. 100).

— Les répartitions sont souvent multimodales, notamment pour le limonène, l' α - et peut-être le β -pinène. Les teneurs en myrcène de la plupart des individus semblent se répartir de façon unimodale entre 0 et 5 p. 100, encore que l'existence de deux individus à forte teneur chez Palnéca puisse être l'indice d'une répartition multimodale chez cette provenance. Complètement absent chez Mengès, le Δ_3 -carène est toujours présent à très faible teneur (> 1 %) chez Palnéca.

— A la condition d'être vérifiées sur des effectifs par provenance plus importants, ces répartitions multimodales évoquent des caractères sous contrôle génétique simple (petit nombre de gènes en cause) tout à fait conformes à ce qui a déjà été mis en évidence chez d'autres espèces (*Pinus monticola* : HANOVER, 1966; *Abies lasiocarpa* : ZAVARIN et coll., 1970; *Pinus pinaster* : BARADAT, BERNARD-DAGAN et coll., 1972). De plus, chez le limonène la répartition est apparemment bimodale et la discontinuité semble se situer entre les teneurs moyennes et les fortes teneurs. Ceci rappelle la situation mise en évidence chez le Pin maritime où un allèle recessif commande la richesse en limonène.

— Sur le plan pratique, on remarquera que :

— la multimodalité fréquente des répartitions confère une signification limitée aux moyennes seules,

— l'amplitude importante de la variabilité individuelle exige que, dans chaque provenance, le nombre de semenciers récoltés et de descendants étudiés soit suffisamment grand (20 ou 30 au minimum à chaque niveau) pour obtenir des résultats représentatifs.

5. — CONFRONTATION DES RÉSULTATS AVEC CEUX OBTENUS PAR D'AUTRES MÉTHODES

Il est indispensable de confronter les conclusions de cet essai de discrimination des groupes géographiques de *Pinus nigra* en fonction de leurs caractéristiques monoterpéniques, avec les résultats obtenus par d'autres voies.

Nous nous limiterons à trois exemples, concernant des caractères de nature radicalement différente, morphologie des aiguilles, couleur des aiguilles et sensibilité aux attaques de rongeurs.

— L'application des méthodes statistiques (composantes principales) aux caractères morphologiques des aiguilles de jeunes arbres (3 ans) en pépinière, met en évidence quatre groupes (ARBEZ et MILLIER, 1971) :

— un groupe occidental bien différencié correspondant à la sous-espèce *clusiana*;

— deux groupes parfaitement distincts : Corse et Calabre, soit un clivage de la sous-espèce *laricio*;

— un groupe mixte *nigricans*, *pallasiana*, traduisant les ressemblances qui existent entre les deux sous-espèces les plus orientales.

— La couleur hivernale des plantules d'un an et la sensibilité des jeunes arbres aux attaques de rongeurs confirment de deux manières différentes l'originalité du Pin Laricio de Corse :

— A Nancy, sous un climat continental, seuls les semis d'un an de provenance Corse prennent en hiver une couleur uniformément violette, alors que toutes les autres provenances et en particulier celles de Pin Laricio de Calabre conservent leur couleur verte. Cette propriété, liée à la pigmentation des euphylls, semble caractéristique de la très jeune plantule; elle disparaît pratiquement à 2 ans avec l'apparition des pseudophylles. Néanmoins le caractère est suffisamment net pour constituer un test variétal simple et peu coûteux. Déjà, dès l'été qui suit la germination des graines, les provenances Corses se distinguent, mais moins nettement, par la couleur glauque (bleutée) de leurs euphylls.

— La plantation comparative d'Amance, utilisée pour l'étude des monoterpènes, possédait une répétition au Bois Lapie dans les Ardennes. Ces deux plantations ont subi des dommages de rongeurs (mulots à Amance et lapins au Bois Lapie). Les notations d'attaque des provenances dans les deux stations, sont corrélées de façon satisfaisante (0,68** pour 11 degrés de liberté). Et là encore les provenances de Corse se singularisent, elles sont en effet nettement moins attaquées que toutes les autres y compris celles de Calabre. On ne peut s'empêcher de faire un rapprochement avec la forte teneur en limonène de leurs écorces.

CONCLUSION

— Le bilan des premiers résultats obtenus chez *Pinus nigra* confirme l'intérêt de l'analyse des monoterpènes pour les études de variabilité intraspécifique.

— Malgré le nombre limité des provenances concernées par cette phase exploratoire, deux conclusions encourageantes se dégagent :

l'étude des monoterpènes permet de mettre en évidence des regroupements de provenances par région géographique d'origine;

ce découpage géographique coïncide bien avec celui révélé antérieurement par des méthodes radicalement différentes.

En effet, le clivage de la sous-espèce *laricio* entre formes de Corse et de Calabre se trouve confirmé : la forme Corse présente de plus fortes teneurs en limonène ainsi que des traces de Δ_3 -carène et de terpinolène, la forme Calabre se caractérise par la dominance de l' α -pinène. La sous-espèce *clusiana* conserve une individualité bien marquée ici par l'abondance relative du myrcène. Enfin, si l'analyse monoterpénique corrobore bien la ressemblance entre les sous-espèces *nigricans* et *pallasiana* (plus fortes teneurs en β -pinène), elle semble aussi capable de les différencier sur la base des teneurs en limonène.

— Ces résultats prometteurs incitent à étendre l'utilisation de la méthode à un grand nombre de provenances régulièrement réparties dans toute l'aire naturelle. On peut en

attendre des conséquences immédiates d'ordre taxinomique (classification intraspécifique) pourvues de retombées pratiques (tests variétaux), et à plus long terme de précieuses informations sur l'histoire génétique de l'espèce et de ses migrations.

Reçu pour publication en janvier 1974.

REMERCIEMENTS

Que Monsieur LACAZE, Directeur de la Station d'Amélioration du C.N.R.F. et Monsieur le Professeur VINDT, Directeur du Laboratoire de Biologie végétale de l'Université de Bordeaux I, trouvent ici l'expression de notre reconnaissance pour leur analyse critique du manuscrit.

Que les personnels techniques, administratifs et ouvriers des deux Laboratoires soient aussi remerciés de leur active participation à cette étude.

SUMMARY

INTRASPECIFIC VARIABILITY OF *Pinus nigra* MONOTERPENES : ANALYSIS OF THE FIRST RESULTS

This study was performed with 14 provenances corresponding with a rather good sampling of geographic variation (table 1). The analysis by gas chromatography used cortical tissues from one year old lateral shoot sampled from 21 trees by provenance. These trees were belonging to a provenance trial, they were 9 years old when used for this experiment.

The monoterpene compositions shown off by these analysis (tables 2 and 3) allow to class provenances by geographic regions they come from :

- Within the Laricio subspecies, the Corsican and Calabrian groups are clearly different : the Corsican Pine is characterised by the highest rate of lemonene and some traces of Δ -3 carene and terpinolene.
- The *clusiana* subspecies is recognizable by the relative abundance of myrcene.
- The *nigricans* and *pallasiana* subspecies seems alike, both have the highest rate of β -pinene but they differ from one another by lemonene rate.

The taxinomic consequences of these first results are in good agreement with the conclusions already obtained by investigations conducted with different traits (morphological traits of needles, winter color of one year old seedlings, differences in susceptibility to rodent attacks.).

This study was also devoted to the effect of various factors able to influence monoterpene composition (date of sampling, tree age, individual variations).

- The monoterpene composition remains practically without changes during the whole sampling period, from the end of April to mid-September (table 4).
- Differences in monoterpene composition between Corsican and Calabrian Pines are clearly decreasing on mature trees (71 years) mainly for lemonene (table 5).
- Within provenance, there are great differences between individuals in monoterpene composition (about lemonene and α -pinene concentrations, for example). The distribution of individual values for each monoterpene is often multimodal, what suggests a simple genetic control (small number of genes) in agreement with the results already shown on other species.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARBEZ M., MILLIER C., 1971. — Contribution à l'étude de la variabilité géographique de *Pinus nigra* Arn. *Ann. Sci. Forest.*, **28** (1), 23-49.
- BANNISTER L.-H., ALLETTE L.W. et MAC DONALD R.-C., 1962. — Variation of turpentine composition in five population samples of *Pinus radiata*. *New Zealand J. Sci.*, **5**, 486-495.
- BARADAT Ph., BERNARD-DAGAN C., FILLON C., MARPEAU A., PAULY G., 1972. — Les terpènes du Pin maritime : aspects biologiques et génétiques. II. Héritéité de la teneur en monoterpènes. *Ann. Sci. forest.*, **29** (3), 307-334.
- BARRETT J.-P., BENGSTON G.-W., 1964. — Oleoresin yields for slash pines from seven seed sources. *Forest Sci.*, **10** (2), 159-164.
- 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. Sci. forest.*, **28** (3), 223-258.
- DEBAZAC E.-F., 1964. — Manuel des conifères, Gap.
- DELEVOY G., 1949. — A propos de la systématique de *Pinus nigra* Arn. *Ann. Sta. Rech. Groenendaal*, Trav. Série B, n° 12, 1-37.
- DUPONT G., BARRAUD M., 1925. — Sur l'essence de térébenthine du Pin noir d'Autriche *Pinus Laricio austriaca*. Variations des propriétés de cette essence. P. V. Soc. Sc. Phy. et Nat. Bx. 1923-24, 6-12.
- FORDE M.-B., BLIGHT M.-N., 1964. — Geographical variation in the turpentine of Bishop Pine (*Pinus muricata*) New Zealand J. Bot. **2** (1), 44-52.
- FUKARECK P., 1958. — Beitrag zur Kenntnis der systematischen Stellung, Gliederung und der rezenten Verbreitung, der Schwarzkiefer *Pinus nigra* Arn. Arbeiten der Fakultät für Landschaft und Forstwesen, **3**, 1-91.
- 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* Dougl... *Forest Science* **14** (2) 447-50.
- RUDLOFF E. von., 1967. — Chemiosystematic studies in the genus *Picea* (Pinaceae). I. Introduction. *Canad. J. Bot.* **45**, 891-90.
- SMITH H.-R., 1964. — The monoterpenes of Lodgepole pine oleoresin. *Phytochem.* **3** (2), 259-62.
- SMITH H.-R., 1966. — The monoterpene composition of *Pinus Ponderosa* xylem resin and of *Dendroctonus brevicomis* Pitch tubes. *Forest Sci.*, **12** (1) 63-68.
- SQUILLACE A.-E., 1966. — Geographic Variation in Slash Pine. *Forest Science*, Monograph 10, P. 1-56.
- TOBOLSKY J.-J., 1968. — Variations in Monoterpenes in Scotch Pine (*Pinus sylvestris* L.) Thèse Michigan (Forestry).
- TOBOLSKY J.-J., HANOVER J., 1971. — Genetic variation in the monoterpenes of Scotch Pine. *Forest Science*, **17** (3), 293-229.
- ZAVARIN E., SNAJBERK 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.
- ZAVARIN E., FIELDS W.-C., 1970. — Oleoresin variability in *Pinus Ponderosa*. *Phytochem.*, **9** (12) 2509-2517
- ZAVARIN E., 1966. — Turpentine chemistry and taxonomy of three pines of Southeastern Asia. *Phytochem.* **5**, 91-96.