

# Note sur l'incompatibilité de greffe chez les conifères<sup>1)</sup>

Par R. CORTI, E. MAGINI, C. CIAMPI, V. BACCARI, A. GUERRITORE, G. RAMPONI, A. M. FIRENZUOLI, P. VANNI, E. MASTRONUZZI  
et A. ZANOBINI

Université de Florence, Italie

Le greffage est un moyen précieux pour le travail d'amélioration des plantes forestières, qui, à l'heure actuelle, est employé de plus en plus surtout en ce qui concerne la constitution des vergers à graines de conifères.

En matière de plantes forestières nous ne savons pas grand-chose sur ces rapports entre le greffon et le sujet qui pourraient nous éclaircir le problème de l'incompatibilité de greffe. C'est un fait que des réactions d'incompatibilité, qui peuvent apparaître après plusieurs années, ont été mises en évidence pour les chênes par SKINNER (39 et 40) et par MIROV et CUNNING (NIENSTADT *et al.* [36]), et pour les noyers par GARAVEL (16). Dans les greffes interspécifiques de peupliers la compatibilité de greffe va de pair avec l'affinité génétique, mesurée par la possibilité et la facilité du croisement (5 et 24).

Des cas d'incompatibilité ont été observés non seulement pour les feuillus mais aussi pour les conifères. Notamment la mort de plants greffes, en apparence par incompatibilité entre greffon et sujet, a été remarquée par ZOBEL *et al.* (44) dans des vergers à graines de la Géorgie. Ce qui est très intéressant c'est le fait que dans des pineraies de *Pinus caribaea* on découvrit deux clones qui produisaient des greffes à réussite initiale excellente, mais devant être suivie après plusieurs mois de la mort des symbiotes.

Donc le problème de l'incompatibilité peut avoir une importance pratique considérable. Le retard de l'apparition des symptômes de l'incompatibilité, qui peut atteindre plusieurs mois et même plusieurs années, rend, d'un côté, l'étude du problème plus utile et, d'autre côté, il accroît de beaucoup les difficultés.

Il existe trois types fondamentaux de greffage suivant les rapports d'affinité entre le greffon et le sujet. Dans le greffage *autoplastique* le greffon et le sujet appartiennent au même génotype, dans le greffage *homoplastique* ils sont de la même espèce, et dans le greffage *hétéroplastique* non seulement l'espèce est différente, mais aussi le genre ou même la famille.

L'incompatibilité a été étudiée de façon plus approfondie pour les arbres fruitiers. Cependant, on ne peut pas dire, pour ces plantes non plus, quelle est la cause ou quelles sont les causes fondamentales de l'incompatibilité (22).

Parmi les différentes théories présentées pour expliquer l'incompatibilité, aucune d'entre elles n'est dénuée de points faibles. En tout cas, les principales théories supposent que l'incompatibilité est causée par: 1) Différences de la vitesse d'accroissement et du rythme végétatif entre greffon et sujet. Cette théorie a été souvent démentie par les faits et elle trouve de moins en moins de crédit; 2) Différences anatomiques concernant les dimensions des vaisseaux des deux biotes. HERRERO (26) a démontré que les différences sont quelquefois plus considérables dans les unions compatibles que dans les unions défectueuses; 3) Différences de nutrition. Le sujet, quand il est contraint à vivre aux dépens du greffon, n'a plus les éléments nutritifs essentiels ou les substances de croissance et, par conséquent, la greffe meurt. Le fait ne se produit pas tant que le sujet est pourvu de

feuilles. A l'union du xylème ne correspond pas celle du phloème: dans la zone du greffage tout se passe comme si l'on avait exécuté une incision annulaire de durée permanente; 4) Différences biochimiques. La théorie biochimique a été appuyée par des recherches sur les greffages entre le pêcher et le myrobalanier (26, 27, 33, 34 et 35). Les altérations du greffon et du sujet dépassent celles qui apparaissent à la suite d'une décortication annulaire. Le sujet est influencé de façon plus considérable et avant le greffon et il se remet à croître normalement si ce dernier est éloigné. L'incompatibilité est causée par le déséquilibre biochimique trop marqué entre les deux partenaires, mais le dommage biochimique peut être différent selon les cas, car il peut concerner surtout la zone de soudure quand la rencontre des produits des symbiotes engendre des substances toxiques, ou même toute la plante au cas où des fonctions plus générales ont été atteintes. En ce type d'incompatibilité la conséquence la plus immédiate se produirait au détriment des processus biochimiques du phloème (GUR, 1957 en CERLETTI [7]).

A partir de 1963, après une année environ de préparation, les Instituts de Botanique Agraire et Forestière, de Sylviculture et de Chimie Biologique de l'Université de Florence ont entrepris des recherches collégiales sur l'incompatibilité de greffage chez les conifères, en accord avec le U. S. A. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (Grant FG-It-128). Dans les pages suivantes les participants aux recherches dans les différents domaines exposent de façon synthétique les principales expériences et recherches accomplies et les conclusions qui en dérivent.

## I. Expériences de greffage

Par E. MAGINI<sup>2)</sup>

Depuis plusieurs années l'Institut de Sylviculture de Florence a entrepris des recherches afin de mettre au point une technique de greffage appropriée au pin pinier (*Pinus pinea* L.). Au cours des recherches mentionnées, qui, dans l'ensemble, ont atteint leur but (31 et 32), on a constaté un type de *mortalité différée* par concurrence apparente entre greffon et sujet. Cette mortalité ne frappait que les petits plants très jeunes (16 mois) sur lesquels on avait inséré de greffons de plantes adultes pourvus de cône de l'année, et le phénomène apparaissait deux années après le greffage quand le cône grossissait rapidement peu avant la fécondation. Dans le pin pinier cette dernière a lieu deux années environ après la pollinisation, vers la moitié de juin de la troisième année, comme le démontrent les études de FRANCINI (15).

Par rapport au programme collégial mentionné ci-dessus, l'Institut de Sylviculture, à partir de 1962, a conçu et exécuté de nombreux greffages afin de pouvoir fournir le matériel nécessaire aux recherches de nature anatomique et biochimique.

Tout d'abord il était très important de trouver des combinaisons de greffage pouvant offrir un intérêt particulier. On pensa donc de viser surtout à une seule méthode de

<sup>1)</sup> Le texte de cette communication a été lu par le Prof. ROBERTO CORTI au XIV Congrès de l'IUFRO, Sect. 22, Munich, le 6 Sept. 1967.

<sup>2)</sup> Institut de Sylviculture, Faculté d'Agriculture et des Forêts.



Fig. 1. — Vue d'ensemble de greffes venant d'être réalisées dans un jeune reboisement.

greffage (greffe en fente ordinaire dans la flèche) et à une seule espèce de sujet (*Pinus pinea*) pour essayer plusieurs combinaisons de greffage entre des espèces à affinité systématique différente, et, par conséquent, ayant une probable affinité différente de greffage. Aussi groupa-t-on dans le plan expérimental le greffage autoplastique, le greffage homoplastique, le greffage entre le pin pinier et d'autres pins (*Pinus brutia*, *P. canariensis*, *P. halepensis*, *P. pinaster*, *P. radiata*, *P. sabiniana*), celui du pin pinier avec des espèces du genre *Cedrus* (*C. atlantica* et *C. deodara*) et même le greffage interfamilial entre *Pinus pinea* et *Biota* (*Thuja orientalis*).

D'ailleurs plus récemment nous avons étudié de façon plus approfondie l'importance des différences clonales, de la saison ou de caractères particuliers de la technique de greffage sur la réussite de combinaisons différentes et nous avons étendu la recherche aux greffages homoplastiques de *P. pinaster* et *B. orientalis*, de façon à obtenir des termes de comparaison pour évaluer la réaction du greffon sur des espèces différentes.

C'est là un travail qui a entraîné l'exécution de plus de 5000 greffages, qui a fourni plusieurs données et a permis de nombreuses observations. Nous résumons ci-dessous ce qui nous semble, considérant le stade actuel des études, le plus certain et le plus significatif.

Des pourcentages satisfaisants de reprises ont été obtenus maintes fois avec le greffage autoplastique et homoplastique de *P. pinea*. La réussite d'une série en forêt, 3 années après

le greffage, a été de 80% environ pour le greffage autoplastique et de 90% pour le greffage homoplastique. Pour une série analogue plus récente les chiffres correspondants, 18 mois après le greffage, ont atteint 61 et 63%. On a donc constaté la faible infériorité du greffage autoplastique par rapport au greffage homoplastique, qui dérive probablement de la nécessité fréquente de greffer sur les branches au lieu d'effectuer le greffage sur la flèche ou de la difficulté de trouver des greffons ayant un diamètre égal à celui du sujet.

Des pourcentages favorables ont été obtenus par le greffage *P. brutia*/*P. pinea* (en pépinière, 3 ans après le greffage, 70%). Des chiffres moins élevés ont été enregistrés par le greffage du pin d'Alep et du pin sabinien avec le pin pinier (en forêt, après 3 ans, environ 60%). Avec la combinaison *P. radiata*/*P. pinea* on a obtenu une considérable réussite initiale, mais, après deux années, une quantité élevée des greffes a dégénéré à cause de dégâts provoqués par le gel et *Pissodes* sp. pl.

Parmi les greffages entre pins les pires résultats, au cours des deux premières années à partir de l'exécution, ont été donnés par la combinaison *P. pinaster*/*P. pinea*, laquelle est cependant en mesure d'assurer elle-aussi des unions durables (10 ans au moins). Cette combinaison présente d'habitude une mortalité élevée dès la première année; ensuite, il se produit souvent une dégradation progressive qui poursuit pendant plusieurs années. Assez souvent, pour certains clones, et employant la technique la plus ordinaire, elle s'est soldée par la mort de toutes les greffes. En réalité, outre le clone, ce qui est important dans cette combinaison c'est la méthode de greffage. Des expérimentations préliminaires démontrent que, par exemple, si l'on emploie des greffons courts, de sorte que le bourgeon ne soit pas accompagné d'aiguilles, la greffe échoue rapidement et qu'avec les greffons longs (10–15 paires d'aiguilles) les meilleurs résultats sont obtenus si l'on effectue des coupes longues (coin très aigu).

Les graphiques (Fig. 2 et 3) montrent les différences de survivance dans le temps des greffes entre les pins les plus similaires et les moins similaires. Des courbes qui tendent à devenir rapidement asymptotes caractérisent les combinaisons les plus sûres; les combinaisons entre pins moins similaires fournissent des courbes qui ne semblent pas tendre, en général, vers une stabilisation rapide.

Au début, nous n'avons pas obtenu de succès avec les greffages intergénériques *Cedrus*/*P. pinea*. Ensuite, nous

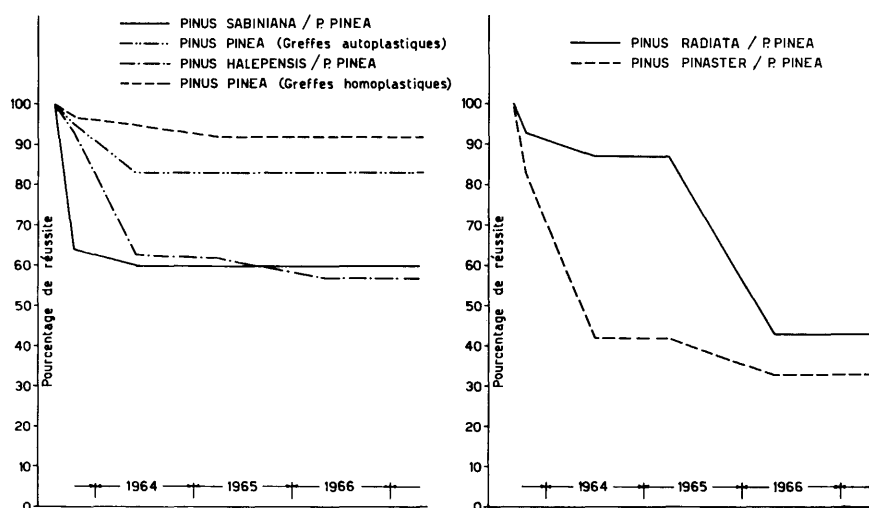


Fig. 2.

Variation dans le temps du pourcentage de réussite des greffes réalisées en 1963 dans un jeune reboisement.

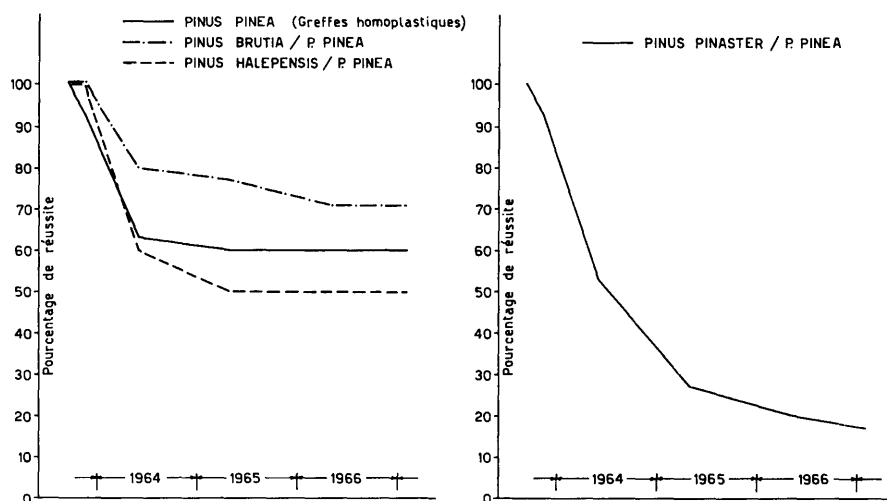


Fig. 3.

Variation dans le temps du pourcentage de réussite des greffes réalisées en 1963 en pépinière.

avons enregistré quelque réussite (10% une année après le greffage) avec la combinaison *Cedrus deodara*/*Pinus pinea*. Plus tard des résultats bien plus satisfaisants ont été fournis par la combinaison *Cedrus atlantica*/*P. pinea*, surtout en pépinière (après une année, 30-40% de réussite moyenne). Toutefois, ces greffes, qui réussissent mieux si on les effectue au printemps et en automne, ne semblent pas être à même de survivre pour plus de deux années.

Le greffage en fente ordinaire, dans la première combinaison, a mis bientôt en évidence une luxuriance du greffon; on a observé ensuite des grossissements irréguliers et marqués dans le greffon et la dégradation progressive de la greffe. La seconde combinaison a donné une hétérosis moins évidente; les altérations visibles de l'extérieur ont été peu marquées et la mort a eu lieu de façon presque soudaine, peut-être par atrophie du système radical (des signes d'hétérosis du greffon ont été constatés également dans la combinaison *P. radiata*/*P. pinea*).

Dans toutes les greffes de cèdre sur pin (comme d'ailleurs dans les greffes destinées à dépérir de *P. pinaster*/*P. pinea*), le sujet tend à réagir de façon vigoureuse s'il est élagué et à repousser d'autres aiguilles. L'union est imparfaite, nonobstant les apparences, car le greffon ne réussit pas à exercer sa dominance apicale.

La greffe interfamiliale *Biota orientalis*/*Pinus pinea* n'a jamais donné le moindre succès passager, bien que les tentatives aient été nombreuses et qu'elles aient été accomplies sur une grande échelle. Seulement en serre, avec le greffage

par approximation de jeunes plantules, on a remarqué de rares cas de soudure vraisemblablement éphémère.

Les expériences réalisées indiqueraient, en conclusion, qu'il n'existe aucune différence appréciable entre greffage *auto* et *homoplastique* de *Pinus pinea* et que dans les pins une combinaison souvent peu durable est celle du *P. pinaster* sur *P. pinea*. L'incompatibilité entre le pin pinier et le thuya est totale. Les espèces du genre *Cedrus* présenteraient vis-à-vis du pin pinier une incompatibilité moins grave qui pourrait permettre une union de la durée de quelques années.

## II. Recherches anatomiques

Par C. CIAMPI<sup>3)</sup>

L'étude histologique est un moyen indispensable pour la recherche des facteurs intrinsèques responsables de l'incompatibilité. Elle permet de suivre les processus cicatriciels et de contrôler les phénomènes histologiques liés à cette dernière: l'intensité de réaction des tissus à la blessure, la participation des différents tissus et la contribution des deux symbiotes aux processus de soudure. Elle permet en outre de découvrir les différences anatomiques éventuelles qui entravent le processus de soudure et qui peuvent constituer, d'elles-mêmes, un facteur d'incompatibilité ou les défauts de technique éventuels qui peuvent influencer de façon négative le processus de soudure régulier. Et, en dernier lieu, elle permet de découvrir les altérations histologiques et cytologiques ou les phénomènes de nécrose qui



Fig. 4. — Hétérosis des greffons de *Cedrus deodara* sur *Pinus pinea* 14 mois après le greffage.



Fig. 5. — Les greffons de *Cedrus atlantica* présentent souvent une hétérosis lorsqu'ils sont insérés sur *Pinus pinea* (à gauche), mais ils en sont exempts en cas de greffage homoplastique (à droite).

<sup>3)</sup> Institut de Botanique, Faculté d'Agriculture et des Forêts.

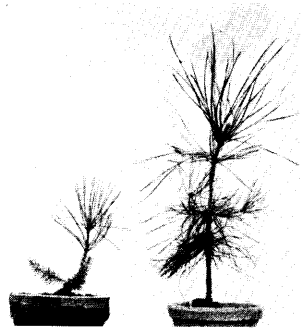


Fig. 6. — Les greffons de *Pinus pinaster* montrent souvent un comportement totalement différent de ceux de *Cedrus* sp. en cas de greffage hétéroplastique, donnant lieu à des phénomènes de nanisme (à gauche greffe hétéroplastique de *P. pinaster* sur *P. pinea*; à droite greffe homoplastique de *P. pinaster* du même âge).

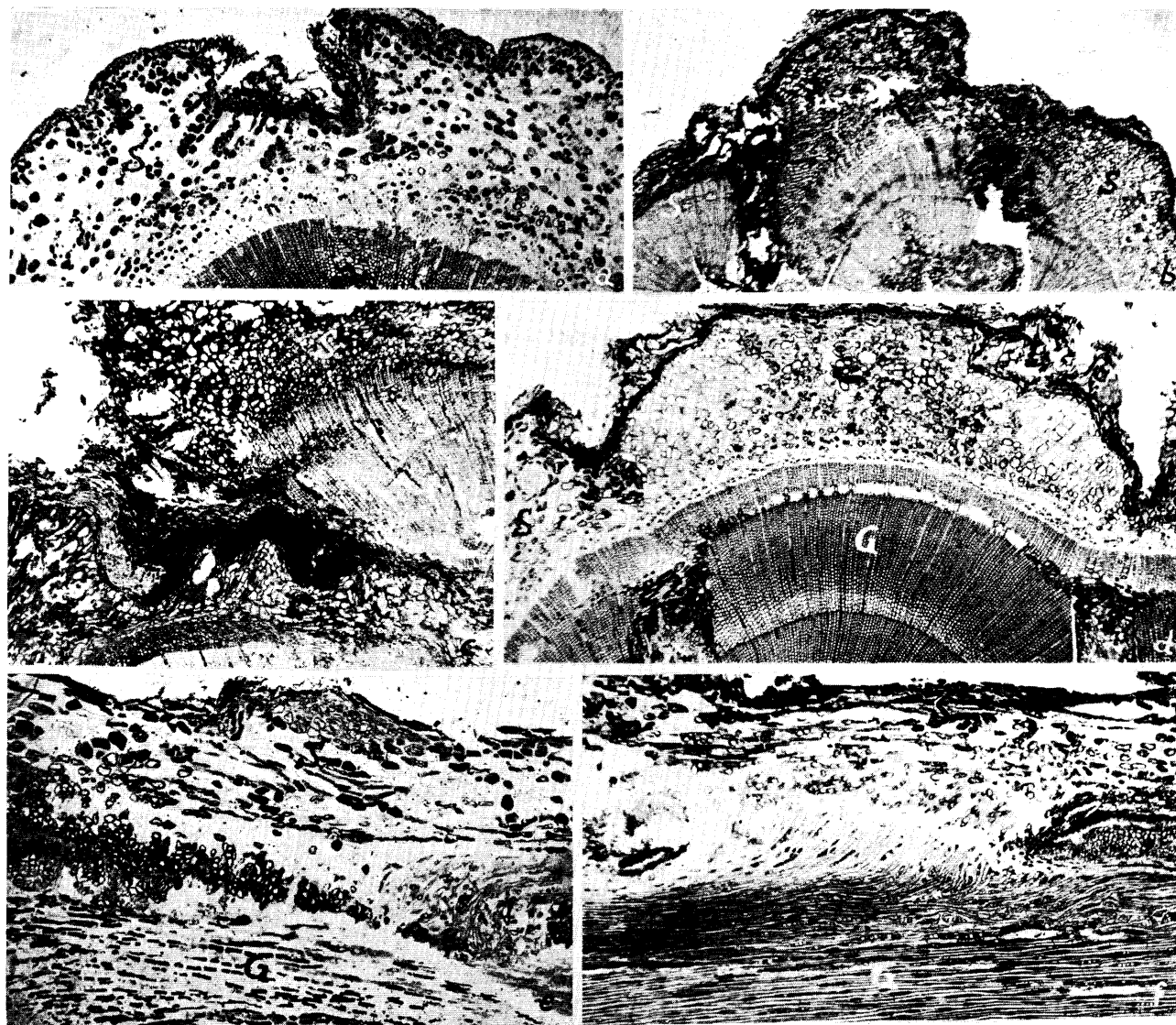
révèlent la nature physiologique ou biochimique de l'incompatibilité.

L'étude anatomique des greffes de conifères a été commencée vers la fin de 1963. Les expériences de greffage ont fourni matériel considérable qui a permis de choisir les combinaisons paraissant les plus intéressantes pour l'étude de l'incompatibilité.

Nous n'avons pris en considération, en premier lieu, que les greffages autoplastiques et homoplastiques de *Pinus pinea*, c'est-à-dire les types qui sont probablement compatibles. L'étude a été particulièrement utile pour connaître l'évolution de la soudure des processus ordinaires. Nous avons étudié ensuite les greffages hétéroplastiques à degré d'affinité différent: *Pinus halepensis*/*Pinus pinea*, *Pinus pinaster*/*Pinus pinea*, *Cedrus deodara*/*Pinus pinea*, *Cedrus atlantica*/*Pinus pinea* et *Biota orientalis*/*Pinus pinea*.

L'étude anatomique a demandé un travail long et patient pour l'obtention de séries très nombreuses de préparations microscopiques. Comme les processus de soudure ont lieu souvent de façon très lente et qu'ils peuvent apparaître séparément aux différents niveaux de la blessure ou suivre des évolutions différentes, il faut considérer toute la région de la blessure; les coupes limitées à un seul secteur entraînent souvent des interprétations erronées. Les coupes transversales sont indispensables pour une interprétation plus exacte du processus de soudure, les coupes longitudinales se prêtent mieux à une vue d'ensemble.

En général, l'affinité plus faible est montrée, au microscope, par une torpeur évidente des tissus qui pourvoient d'habitude à l'union des parties et, quelquefois, par l'inertie absolue de quelques-uns d'entre eux. La lenteur du processus de différenciation s'ajoute au tableau mentionné.



La plus grande contribution à la formation d'éléments d'union est fournie, dans tous les cas, par l'écorce interne, dans la région du phloème plus proche du cambium et elle est d'autant plus grande qu'est moins élevé le degré de différenciation de ses cellules. Mais tous les tissus vivants peuvent intervenir: les parenchymes des rayons, des traces raméales, des canaux sécréteurs, à condition qu'ils soient atteints par la blessure; l'intensité de leur participation dépend elle aussi du niveau de la différenciation. Les parenchymes du phelloderme et de la moelle ont, en général, une réaction plus lente.

L'étude anatomique a permis également de découvrir l'importance de la technique d'exécution des greffages établissant les rapports de proximité des tissus des deux symbiotes. Les conditions nécessaires pour obtenir une soudure efficace sont déterminées par la correspondance des tissus homologues et de leur adhésion parfaite le long de toute la surface de la blessure; l'existence de zones vides favorise la formation de tissus de séparation qui peuvent compromettre la cicatrisation même dans les greffages compatibles.

Dans les greffes autoplastiques et homoplastiques de *Pinus pinea* il suffit que le contact s'établisse entre les zones cambiales afin que l'union soit rapide, cette dernière ayant lieu avec la simple différenciation des cellules de jonction (fig. 7 a). Dans ces types de greffes la réponse des tissus est immédiate; l'intensité de leur réaction devient évidente quand la correspondance des tissus homologues ou l'adhésion des parties est imparfaite: ce qui se produit dans ce cas c'est une prolifération abondante et la formation de callus qui pourvoit à l'union vasculaire. Les aspects des processus de soudure correspondent à ceux qui ont été décrits à propos des greffages homoplastiques d'autres conifères (en *Pinus silvestris* et *Picea abies* [10]; en *Pinus pinaster* [30]).

La même aptitude à la soudure et des processus analogues d'union ont été observés dans la combinaison *Pinus halepensis*/*Pinus pinea*.

Dans ce trois types le problème de l'incompatibilité anatomique semble ne pas surgir. Si l'on a évité les facteurs saisonniers et du milieu qui influencent le résultat de façon négative, les insuccès éventuels devraient être imputés à des erreurs de technique telles que blessure ou ligature défectueuses, emploi de greffons de diamètre non approprié, etc. (8 et 9).

Les greffes interspécifiques de *Pinus pinaster*/*Pinus pinea* ont donné dans l'ensemble un pourcentage de reprises très peu élevé; la mort a lieu de façon scalaire, après une période plus ou moins longue de réussite apparente.

Les coupes de greffes faibles ou mortes montrent des unions fragmentaires tandis que de larges zones à proximité de la marge de la blessure apparaissent revêtues de liège ou entourées de cellules mortes (fig. 7 b et c). Dans cette combinaison les processus de soudure ont lieu de façon plus lente, l'intensité de réaction des tissus semble plus faible, souvent quelques parenchymes restent inertes. Toutefois, dans les conditions les plus favorables de contact et de correspondance des tissus, il est possible d'obtenir une union parfaite.

Les observations anatomiques qui ont pris en considération un nombre élevé de cas, ont mis en évidence des aspects d'*incompatibilité anatomique* qui se répètent plus ou moins sensiblement dans toutes les greffes étudiées. Il se produit des différences de développement de l'écorce (plus large dans le greffon) et du cylindre vasculaire (plus large dans le sujet) qui entraînent un déphasage des tissus homologues et rendent plus complexes les processus cicatriciels.

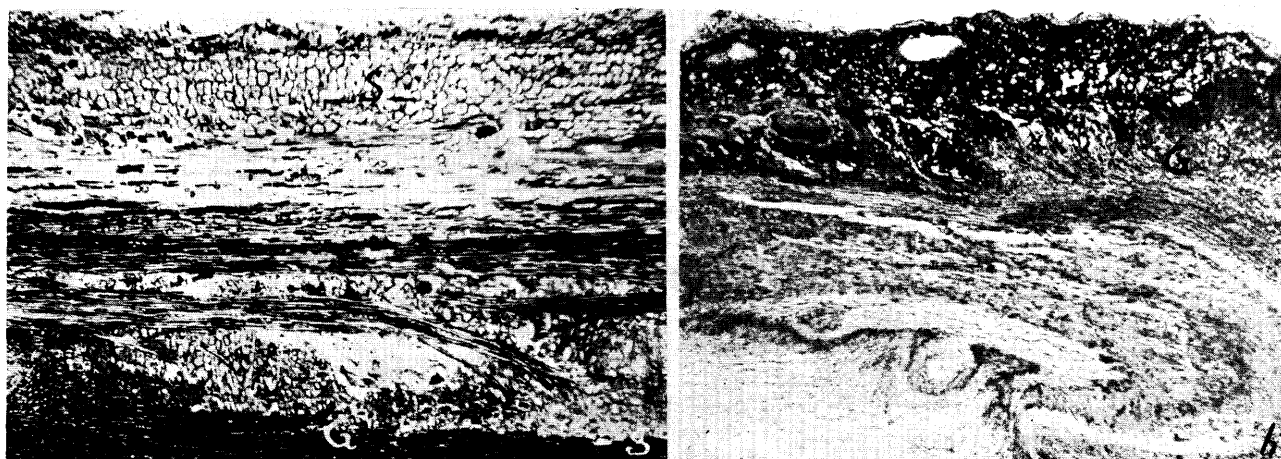


Fig. 7.

- (a) Greffe autoplastique de *Pinus pinea* (au bout de six mois). La soudure s'est réalisée directement par simple différenciation des cellules de jonction de l'écorce et du bois (Coupe transv.  $\times 25$ ).
- (b) Greffe de *Pinus pinaster* sur *Pinus pinea* (au bout de quatorze mois). La soudure est partielle. Zones nécrosées à proximité de la marge de la blessure (Coupe transv.  $\times 25$ ).
- (c) Greffe de *Pinus pinaster* sur *Pinus pinea* (au bout de vingt mois). Le manque de correspondance des tissus homologues est responsable de la subérification et de la dégénération des cellules de la ligne de soudure (Coupe transv.  $\times 25$ ).
- (d) Greffe de *Cedrus atlantica* sur *Pinus pinea* (au bout de trois mois). L'union réalisée par la jonction du phloème et du bois des deux partenaires apparaît nettement (Coupe transv.  $\times 25$ ).
- (e) Greffe de *Cedrus atlantica* sur *Pinus pinea* (au bout de trois mois). Différenciation des éléments de jonction entre les écorces du sujet et du greffon (Coupe long.  $\times 25$ ).
- (f) Greffe de *Cedrus deodara* sur *Pinus pinea* (au bout de trois mois). Différenciation des cellules du callus interposées entre le bois du sujet et l'écorce du greffon (Coupe long.  $\times 25$ ).
- (g) Greffe de *Cedrus atlantica* sur *Pinus pinea* (au bout de treize mois). Différenciation des cellules du callus interposées entre le bois du greffon et le bois du sujet (Coupe long.  $\times 25$ ).
- (h) Greffe de *Cedrus atlantica* sur *Pinus pinea* (au bout de dix-huit mois). Dégénération cellulaire et plaques de tissus nécrosés le long de la ligne de cicatrisation (Coupe long.  $\times 25$ ).

G = greffon; S = sujet.

La correspondance des zones cambiales, c'est-à-dire la situation la plus favorable à l'évolution normale des processus cicatriciels, ne s'établit que rarement. Il existe aussi un obstacle morphologique qui tend à compliquer les rapports de proximité entre greffon et sujet. Le périoderme du greffon est plus épais et il tend à s'introduire dans l'écorce en sillons profonds créant ainsi une aspérité superficielle qui entrave l'adhésion parfaite des deux écorces. Les marges de ces dernières restent souvent indépendantes et elles tendent à se cicatriser séparément. Le manque de correspondance des tissus, leur faible aptitude à la cicatrisation, favorisent la mort des cellules superficielles de larges zones de la surface de blessure; des soudures limitées s'établissent, mais ces dernières ne peuvent fournir au greffon qu'un faible approvisionnement hydrique; quand les exigences du métabolisme augmentent, interviennent des signes des souffrance suivis de la mort du greffon.

Les différences anatomiques sont d'autant plus marquées que le sujet est très jeune; en fait les greffages sur des sujets moins jeunes offrent une plus grande possibilité de succès.

Il est probable que le facteur anatomique est lié à un autre facteur d'incompatibilité, peut-être de nature biochimique, qui n'entrave pas, cependant, et ne limite pas non plus la possibilité de soudure quand les rapports de proximité entre greffon et sujet sont favorables à l'union.

Même les greffes de *Cedrus deodara*/*Pinus pinea* et de *Cedrus atlantica*/*Pinus pinea* présentent des phénomènes d'incompatibilité différée. Les greffons qui survivent à la crise de l'opération de greffage sont caractérisés par une bonne reprise, même vigoureuse, dans le Cèdre de l'Himalaya. Les signes de souffrance et la mort ont lieu après l'élongation de la nouvelle pousse, pendant la première ou la deuxième année à partir de l'exécution du greffage. Jusqu'à aujourd'hui aucune greffe de ce type n'a dépassé la deuxième année de vie. Les caractéristiques histologiques de l'union, très semblables dans les deux combinaisons, montrent des signes évidents d'*incompatibilité physiologique*.

Le greffon participe activement à l'union des surfaces de blessure produisant un callus abondant qui s'interpose entre les surfaces de blessure elles-mêmes et qui les revêt complètement (fig. 7 d). Ce tissu, à l'état indifférencié, lie de façon efficace le bois du greffon et du sujet. Sa différenciation suivante (fig. 7 f et g) crée une cicatrisation parfaite. L'union au niveau de l'écorce a lieu par néo-formation de cellules de jonction sans production de callus (fig. 7 e). L'union des méristèmes du cambium se produit immédiatement après et la formation d'une nouvelle couche continue de bois et de liber commence. Les premières altérations apparaissent dans le nouveau phloème du greffon qui tend à proliférer; ensuite, des altérations cytologiques s'ajoutent aux altérations mentionnées. Beaucoup de cellules du parenchyme libérien et des rayons grossissent et elles compriment les groupes d'éléments environnants. Quelques-unes de ces cellules hypertrophiées se remplissent de granulations d'amidon, d'autres de substances d'une couleur sombre, probablement de nature tannique. Ce sont là les premiers signes de la dégénération cellulaire qui envahit au début la ligne de soudure et qui s'étend ensuite sur de vastes zones de l'écorce du greffon et du sujet (fig. 7 h). Il s'agit évidemment d'un phénomène d'étanchement des solutions descendantes, provoqué vraisemblablement par des défauts de différenciation des éléments de jonction des deux écorces.

La combinaison *Biota orientalis*/*Pinus pinea* est un exemple d'*incompatibilité complète*. Aucun des deux symbiotes ne réagit à la blessure.

Les processus différents des phénomènes de soudure témoignent de l'importance des rapports histologiques qui s'établissent entre greffon et sujet; les résultats de l'union dépendent de ces derniers, qui peuvent favoriser, limiter ou entraver les échanges indispensables entre les deux symbiotes. Mais si l'on considère les phénomènes d'union au point de vue de la contribution mutuelle des deux partenaires, ce qui apparaît évident c'est le contrôle exercé par des facteurs intrinsèques de nature biochimique.

Dans les combinaisons étudiées l'activité du greffon prévaut; il semble également contrôler les possibilités de réaction du sujet. C'est dans le greffon que les premiers signes de l'activité cellulaire apparaissent et chaque fois que cette réaction initiale fait défaut, il semble que toute initiative de réaction du sujet soit absente.

Dans les greffes hétéroplastiques étudiées qui résultent de la combinaison de greffons d'espèces différentes sur une seule espèce de sujet, la contribution du greffon varie par rapport aux différentes intensités de réaction, laquelle est liée à des caractéristiques spécifiques. Mais quand on emploie, pour les greffages homoplastiques, des greffons de la même espèce que pour les greffages hétéroplastiques, on constate que le sujet à son tour peut influencer l'activité du greffon. Pour les greffes homoplastiques de *Pinus pinaster*, par exemple, la torpeur des tissus du greffon précédemment observée dans les greffes hétéroplastiques diminue; le greffon de *Biota orientalis*, tout à fait inactif dans les greffes hétéroplastiques, devient réactif dans les greffes homoplastiques. On pense, en général, que les différences biochimiques spécifiques sont déterminantes, mais il est certain que d'autres facteurs, probablement eux aussi de nature biochimique, sont liés à des caractères individuels tels que l'âge, par exemple. Les partenaires de la combinaison *Biota orientalis*/*Pinus pinea* sont complètement incompatibles quand le greffage est effectué sur des semis, mais ils sont compatibles, du moins au point de vue histologique, quand le greffage est accompli entre plantules.

### III. Recherches biochimiques

Par V. BACCARI, A. GUERRITORE, G. RAMPONI, A. M. FIRENZUOLI, P. VANNI, E. MASTRONUZZI et A. ZANOBINI<sup>1)</sup>

Afin de trouver une explication à l'incompatibilité des greffages de conifères dans les différences éventuelles des voies du métabolisme principales des espèces employées pour les greffages, nous avons déterminé des enzymes représentatifs de quelques voies examinées.

Ces recherches ont pu être accomplies grâce aux méthodes optiques, qui permettent la détermination rapide, simultanée et précise de nombreux enzymes.

Nous devons souligner, en outre, que le problème du dosage des enzymes dans les végétaux et dans les conifères en particulier, présente beaucoup de difficultés à cause de la faible quantité de substances protéiques et de la présence de vacuoles cellulaires contenant des substances qui exercent une grande action de précipitation sur les protéines et d'inhibition sur les enzymes. Comme cette action des vacuoles augmente parallèlement à l'âge des plantes, les difficultés mentionnées deviennent progressivement plus nombreuses, atteignant un niveau maximum dans les tissus adultes. A notre avis, les études sur les enzymes des conifères ne sont pas nombreuses et elles ont été effectuées, en gé-

<sup>1)</sup> Institut de Chimie Biologique, Faculté de Médecine.



néral, sur les graines d'une seule espèce à la fois (23, 6, 41, 42, 3).

En premier lieu, nous avons accompli les premières recherches sur les graines et les plantules et quand nous avons passé à l'étude des plantes adultes, nous avons dû avoir recours à des mesures particulières pour obtenir des extraits enzymatiques actifs.

Les voies du métabolisme prises en considération sont celles de la photosynthèse, des pentoso-phosphates, de la glycolyse et du cycle citrique.

Les recherches ont été réalisées sur les espèces de conifères suivantes: *Pinus pinea*, *Pinus pinaster*, *Pinus canariensis*, *Pinus halepensis*, *Pinus radiata*, *Cedrus atlantica*, et *Biota orientalis*.

Les enzymes étudiés sont les suivants; HK, hexokinase (E. C. 2. 7. 1. 1); G6PDH, glucose-6-phosphate déhydrogénase (E. C. 1. 1. 1. 49); HIM, hexosephosphate isomérase (E. C. 5. 3. 1. 9); PFK, phosphofructokinase (E. C. 2. 7. 1. 11); FDPase, fructose-1,6-diphosphatase (E. C. 3. 1. 3. 11); ALD, di-phosphofructoaldolase (E. C. 4. 1. 2. 13); TIM, triosephosphate isomérase (E. C. 5. 3. 1. 1); GDH, glycérophosphate déhydrogénase (E. C. 1. 1. 1. 8); NAD-GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate déhydrogénase NAD-dépendant (E. C. 1. 2. 1. 12); NADP-GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate déhydrogénase NADP-dépendant (E. C. 1. 2. 1. 13); PGK, phosphoglycératokinase (E. C. 2. 7. 2. 3); PK, pyruvatekinase (E. C. 2. 7. 1. 40); LDH, lactate déhydrogénase (E. C. 1. 1. 1. 27); ADH, alcool déhydrogénase (E. C. 1. 1. 1. 1); PEPCA, phosphoenolpyruvate carboxylase (E. C. 4. 1. 1. 31); GPT, glutamique-pyruvique transaminase (E. C. 2. 6. 1. 2); GOT, glutamique-oxalacétique transaminase (E. C. 2. 6. 1. 1); MDH, malique déhydrogénase (E. C. 1. 1. 1. 37); ACO, aconitase (E. C. 4. 2. 1. 3); IDH, isocitrique déhydrogénase NADP-dépendant (E. C. 1. 1. 1. 42); GLUDH, glutamique déhydrogénase (E. C. 1. 4. 1. 2).

Nous avons essayé en outre la ferredoxine, une fer-protéine qui joue un rôle catalytique comme transporteur d'électrons dans la photosynthèse (38).

**Substances<sup>5)</sup> et méthodes.** — La détermination de l'activité enzymatique a été obtenue par des méthodes optiques, basées sur la variation d'extinction entre forme réduite et oxydée de NAD ou de NADP à 366 m $\mu$ . Les tests optiques ont été exécutés suivant les indications de BÜCHER *et al.* (28), en employant un photomètre Eppendorf muni d'enregistreur, en conditions standard (25° C, pH 7,6). L'activité enzymatique, rapportée au poids de tissu frais, était exprimée en  $\mu$ mol de substrat transformé par minute.

**Préparation de l'extrait enzymatique.** — Une partie en poids de substance fraîche était homogénéisée à 0° pour 30–100 secondes avec 5 ou 10 parties (suivant la substance employée) d'un mélange contenant phosphate 100 mM, EDTA 2 mM, mercaptoéthanol 10 mM à pH 7,2 et PVP ou Tween 80. L'extraction était poursuivie pendant 30–60 minutes à 0°, avec agitation magnétique. La fraction insoluble était ensuite sédimentée dans une ultracentrifuge SPINCO pendant 30 minutes à 100.000 x g. Les activités enzymatiques étaient dosées sur le surnageant limpide.

**Dosage des protéines.** — Le contenu protéique du surnageant était déterminé avec la méthode du biuret, suivant BERSENHERZ *et al.* (4). Des mesures particulières ont été employées pour les protéines en extraits troubles ou contenant

des substances qui pouvaient influencer la coloration finale du biuret.

Dans le premier cas on effectuait, suivant les cas, des lavages du précipité, obtenu par précipitation avec TCA, au moyen d'alcool éthylique. Dans le deuxième cas, le précipité était lavé plusieurs fois au moyen de buthanol avant d'être traité avec le reactif du biuret. Pour quelques expériences nous avons déterminé l'azote protéique sur le précipité obtenu après traitement avec TCA, suivant la méthode de JACOBS (29).

## Résultats et discussion

**Extraction d'enzymes.** — Les résultats que nous avons obtenus avec l'emploi du PVP sont présentés à la Tab. 1. De ces derniers il apparaît que le fait d'ajouter le polyvinylpyrrolidone au moyen d'extraction en concentration de 5% (p/v) permet une amélioration considérable de la possibilité d'extraction des protéines et il permet aussi de mesurer quelques activités enzymatiques (20). Des résultats bien plus satisfaisants ont été obtenus avec l'emploi du Tween 80, Tab. 2 (11).

Tab. 1. — Effect du PVP sur l'extraction des protéines totales et des enzymes d'écorce de *Pinus pinaster*. — Les activités sont exprimées en  $\mu$ mol de substrat transformé par heure et par gramme de tissu frais; les protéines en mg par gramme de tissu frais.

|           | sans PVP | avec PVP |
|-----------|----------|----------|
| IDH       | 0        | 18       |
| G6PDH     | 0        | 1,8      |
| MDH       | 0        | 450      |
| GOT       | 0        | 36       |
| TIM       | 0        | 1260     |
| Protéines | 2,3      | 13       |

Tab. 2. — Effect du Tween 80 sur l'extraction des enzymes et de l'azote protéique des aiguilles de *Pinus pinea*. — Les activités sont exprimées en  $\mu$ mol de substrat transformé par heure et par gramme de tissu frais; l'azote protéique en mg par gramme de tissu frais.

|                 | sans TWEEN 80 | avec TWEEN 80 |
|-----------------|---------------|---------------|
| IDH             | 0             | 48            |
| G6PDH           | 0             | 99            |
| MDH             | 0             | 12000         |
| GOT             | 0             | 996           |
| TIM             | 0             | 14100         |
| Azote protéique | 0,23          | 2,7           |

Pour examiner de façon plus approfondie le mécanisme d'action du PVP et du Tween 80, nous avons étudié l'effet d'une série de composés aromatiques sur trois enzymes purifiés: la malique déhydrogénase, l'isocitrique déhydrogénase et la glucose-6-phosphate déhydrogénase, puisque ces enzymes peuvent être très aisément déterminés par les méthodes optiques directes sans l'aide d'enzymes ancillaires qui pourraient eux-mêmes être influencés par les inhibiteurs faussant, en conséquence, l'évaluation des résultats. Dans les cas d'inhibition élevée, nous avons cherché à rétablir les activités au moyen du PVP et du Tween 80 (14). De cette façon, nous avons pu faire ressortir que le PVP et le Tween 80 éliminent, dans la plupart des cas, l'inhibition provoquée par les composés aromatiques essayés. La Fig. 8 montre comme exemple le test d'inhibition avec l'extrait d'écorce de l'isocitrique déhydrogénase et la nouvelle activation suivante par le PVP et le Tween 80 (12).

De toutes ces données apparaît évidente une plus grande capacité de nouvelle activation du Tween 80, qui, en une concentration moins élevée, est bien plus actif que le PVP.

<sup>5)</sup> Les enzymes et quelques substrats avaient été fournis par la C. F. Boehringer et Soehne G.m.b.H.; d'autres substrats par la SIGMA Chem. Co.; les produits restants par la Fluka AG. et la Merck AG.

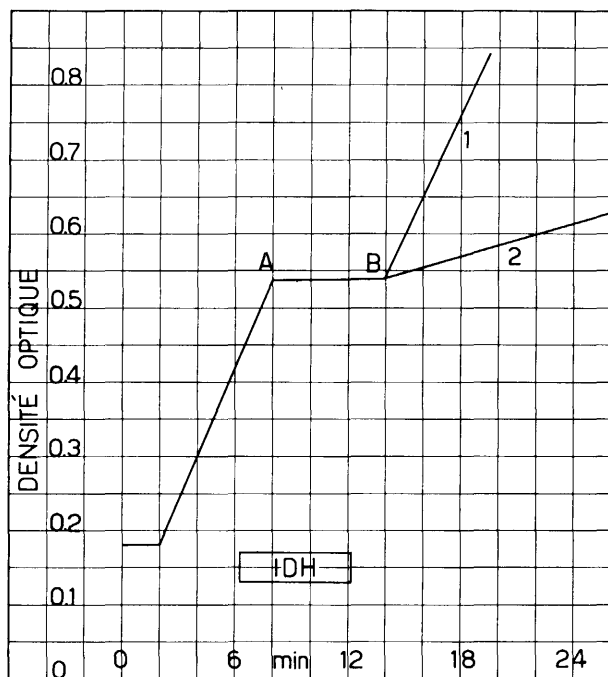


Fig. 8. — (A) Addition de 10  $\mu$ l d'extrait d'écorce. — (B) Addition de Tween 80 (1) en concentration final de 1 mg/ml ou de PVP (2) en concentration final de 9 mg/ml.

Tab. 3. — Niveaux de ferredoxin dans les aiguilles de *Pinus pinea* et de *Pinus pinaster*.

| Plantes               | Ferredoxin activité ( $\mu$ mol/min/ml) |               |
|-----------------------|---|---------------|
|                       | sans TWEEN 80                           | avec TWEEN 80 |
| <i>Pinus pinea</i>    | rien                                    | 0.62          |
| <i>Pinus pinaster</i> | rien                                    | 0.65          |

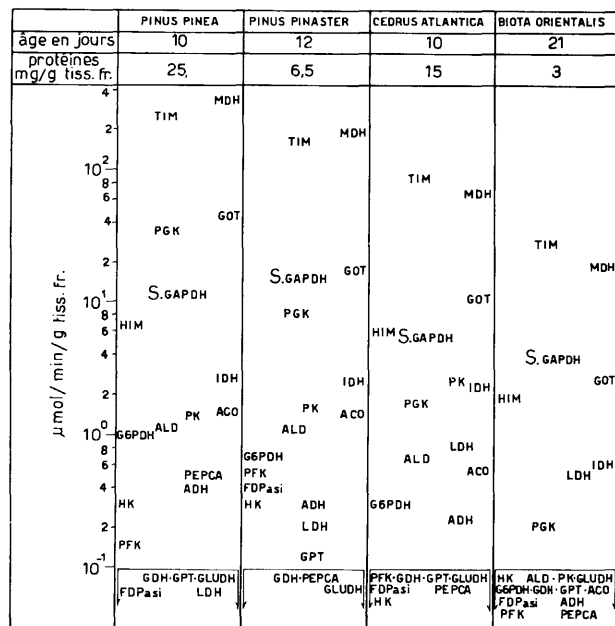


Fig. 9. — Niveaux enzymatiques dans quatre espèces de conifères. Les activités sont exprimées en  $\mu$ mol de substrat transformé par minute et par gramme de tissu frais, et reportées, sur échelle logarithmique. Dans les compartiments inférieurs sont indiqués les enzymes avec activité inférieure de 0,1  $\mu$ mol/min/g tiss. fr. L'abréviation S. GAPDH exprime la somme des activités NAD/GAPDH et NADP/GAPDH.

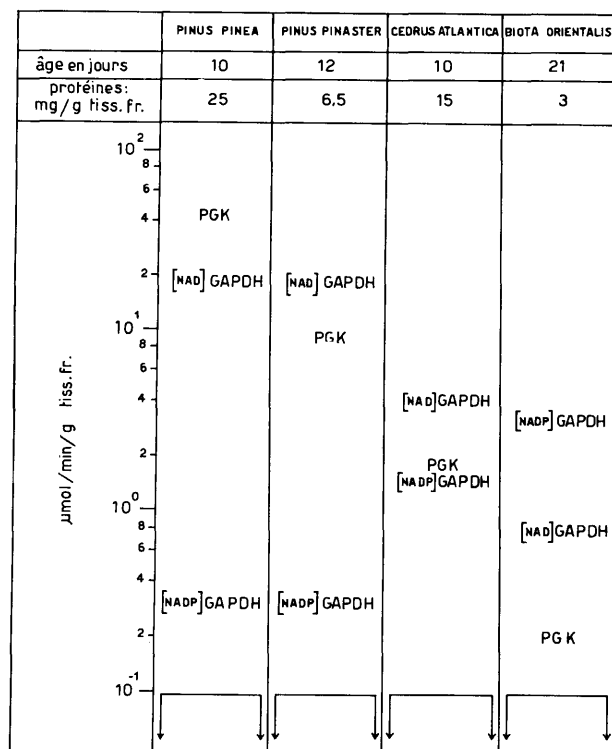


Fig. 10. — Niveaux de NAD/GAPDH, NADP/GAPDH et PGK dans quatre espèces de conifères. Les activités sont expérimentées en  $\mu$ mol de substrat transformé par minute et par gramme de tissu frais et reportées sur échelle logarithmique.

Ces résultats concordent complètement avec ce qui fut découvert par GOLDSTEIN et SWAIN (18). Ces auteurs ont démontré que le Tween 80 est le produit le plus efficace pour éliminer l'inhibition provoquée par l'acide tannique sur une préparation commerciale de  $\beta$ -glycosidase. Il faut tenir compte du fait que, sans l'emploi des composés mentionnés, toute recherche de nature enzymatique dans les tissus adultes des conifères est absolument impossible. En employant le Tween 80 nous avons pu obtenir, de façon analogue, à partir d'aiguilles de *Pinus pinea* et *Pinus pinaster*, des préparations actives de ferredoxine Tab. 3 (43). Ce résultat constitue un point de départ important pour l'étude du processus de la photosynthèse.

**Etudes sur les graines et les plantules.** — Les résultats sont présentés à la Fig. 9 et à la Fig. 10 et ils concernent quatre espèces de conifères (19); pour les autres espèces les valeurs des niveaux enzymatiques sont presque semblables à celles du *Pinus pinea*. Dans les quatre espèces étudiées la distance systématique est maxima entre *Pinus pinea* et *Biota orientalis*; elle diminue entre *Pinus pinea* et *Cedrus atlantica* et elle est encore moins élevée entre *Pinus pinea* et *Pinus pinaster*. La Fig. 9 montre que les analogies et les différences entre les structures du métabolisme examinées correspondent aux distances systématiques dans le sens que les analogies les plus étroites existent entre *Pinus pinea* et *Pinus pinaster* et les différences les plus marquées entre *Pinus pinea* et *Biota orientalis*. Les résultats donnés à la Fig. 10

Tab. 4. — Niveaux de chlorophyll en relation avec l'âge. Chlorophyll en mg/g tiss. fr.

| Espèces                 | Âge des plantules en jours |   |     |     |     |      |      |      | Plantes adultes |
|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|------|------|------|-----------------|
|                         | 0                          | 4 | 8   | 12  | 16  | 18   | 24   | 48   |                 |
| <i>Pinus pinea</i>      | 0                          | 0 | .05 | .09 | .55 | .73  | .82  | 1.86 | 1.26            |
| <i>Biota orientalis</i> | 0                          | 0 | .14 | .16 | .95 | 1.22 | 1.32 | 1.85 | 1.16            |



nous semblent particulièrement intéressants; dans le *Biota orientalis* les niveaux de GAPDH/NADP/dépendant sont plus élevés que dans les trois autres espèces. Si l'on accepte l'hypothèse de la relation entre cet enzyme et la photosynthèse (17, 2, 37, 21), la donnée mentionnée ci-dessus concorde parfaitement avec la teneur en chlorophylle des plantules. En effet, le Tab. 4 montre que dans le *Biota orientalis* pendant les premiers stades de la germination, la teneur en chlorophylle est toujours plus élevée que dans le *Pinus pinea*. Cette différence disparaît avec le temps, de sorte qu'il n'y a plus de différences considérables dans les plantes adultes. Il serait intéressant, au cours d'essais éventuels de greffages entre plantules, de tenir compte des différences de métabolisme que nous avons observées.

*Etudes sur les plantes adultes.* — Deux groupes, parmi les recherches réalisées sur les plantes adultes, doivent être pris en considération pour le moment.

Dans le premier groupe d'analyses nous avons recherché si, pendant la nouvelle poussée de croissance, des différences entre les bourgeons des espèces systématiquement voisines pouvaient apparaître en ce qui concerne un certain nombre d'enzymes (13). Le tableau enzymatique des bourgeons pendant la nouvelle poussée de croissance du *Pinus pinea* et du *Pinus pinaster* est très similaire: les activités enzymatiques augmentent de façon presque uniforme, seulement la transaminase, dans l'espèce «*pinea*», semble diminuer faiblement.

Dans le second groupe de recherches nous avons étudié, pendant différentes périodes de l'année, le contenu enzymatique d'aiguilles appartenant à *Pinus pinea*, *Pinus pinaster*, *Cedrus atlantica* et *Biota orientalis* pour vérifier si les différences enregistrées dans les plantules apparaissent aussi dans les plantes adultes. Les échantillons pris dans la pineraie expérimentale de Cecina de plantes de 13 ans environ ont donné des résultats très hétérogènes. Nous avons réalisé à peu près 160 prélèvements, prenant les échantillons de plantes appartenant aux quatre espèces étudiées, et pour chaque échantillon, nous avons dosé 8 enzymes, les protéines et la chlorophylle. De ces études il résulte également une variabilité entre exemplaires de la même espèce et entre greffons prélevés sur le même exemplaire, ce qui pourrait expliquer l'échec de quelques greffages homoplastiques et autoplastiques.

Les données mentionnées ci-dessus semblent suggérer des observations différentes dans le cas de plantules ou, au contraire, de plantes adultes. Dans le stade juvénile, étant donné les différences du contenu enzymatique dû aux disparités entre une espèce et l'autre, il est possible de prévoir une réussite plus aisée entre les espèces les plus proches au point de vue systématique. Quand il s'agit de plantes adultes, où la variabilité individuelle atteint des valeurs élevées, on peut avancer l'hypothèse que le problème des analogies et des différences enzymatiques devrait également être considéré sur une base intraspécifique.

Bien qu'on ne puisse affirmer pour le moment que l'incompatibilité des greffes de conifères résulte d'une différence des enzymes, les résultats obtenus jusqu'à présent confirment l'importance d'une telle recherche et ils conseillent de poursuivre les recherches en ce domaine particulier.

L'évolution des recherches, qui en divers domaines sont encore en cours, le déphasage inévitable entre l'étude anatomique et les contrôles biochimiques et l'incertitude de quelques résultats ne nous permettent pas d'apporter de véritables conclusions. Nous pouvons affirmer toutefois que la réalisation d'un vaste programme d'expérimentation et

de recherches collégiales nous a permis d'évaluer, outre le degré d'affinité entre les deux partenaires dans les différentes combinaisons, l'influence de certains facteurs sur la réussite des greffages, non seulement des facteurs saisonniers mais aussi et surtout des facteurs individuels tels que l'âge, les caractéristiques génétiques, l'état d'activité des symbiontes, etc. Les recherches anatomiques ont révélé des aspects intéressants du comportement du greffon et du sujet. Au point de vue biochimique, nous avons surtout mis au point des techniques nouvelles, qui semblent particulièrement aptes à approfondir les études, sur des substances très délicates telles que celles des plantes résineuses, et nous avons démontré que dans les plantules les différences du métabolisme augmentent avec l'incompatibilité de greffe, et parallèlement à l'augmentation des distances systématiques.

### Summary

The trials carried out involved the performance in the field and nursery of more than 5000 grafts.

Combinations exhibiting different grafting affinities were studied.

The basic series, in which only *Pinus pinea* was employed as stock, included autoplasmic and homoplasmic grafts of this species, interpine grafts intergeneric grafts of *Cedrus* sp./*P. pinea* and interfamilial grafts of *Biota orientalis*/*P. pinea*.

While the autoplasmic and homoplasmic grafts gave usually satisfactory results, the combination of *Pinus pinaster*/*P. pinea* often ended in a failure. The grafts of *Cedrus* sp. on *P. pinea* always displayed the luxuriance of the scion, but their success was only ephemeral. Interfamilial grafts failed in a short time without exception.

The anatomical investigations showed that the autoplasmic and homoplasmic grafts of *P. pinea* as well as the heteroplasmic grafts of *Pinus halepensis*/*P. pinea* were distinguished by a remarkable grafting affinity resulting in regular union processes.

Heteroplasmic grafts of *Pinus pinaster*/*P. pinea* often exhibited an anatomical incompatibility owing to the different growth of the correspondent tissues of the stock and scion.

The intergeneric grafts of *Cedrus deodara*/*P. pinea* and *C. atlantica*/*P. pinea* proved to be clear examples of physiological incompatibility: healing processes are very active but when the union is reached in the bark cellular degeneration occurs.

The failure of the combination of *Biota orientalis*/*P. pinea* is caused by the lack of any reaction both in scion and stock tissues.

The biochemical investigations concerned particularly new improved techniques for the extraction of enzymes. These techniques were very useful for investigating the metabolic pathways in conifers. The enzymes of glycolysis, pentose phosphate shunt, the citric acid cycle and photosynthesis were investigated.

The comparison between patterns of enzymes in young and adult plants pointed out physiological differences among the species examined. These differences increased with the systematic distance, this being especially true when young plants were concerned.

### Bibliographie

- (1) AHLGREN, C. E.: Some factors influencing survival, growth and flowering of intraspecific and interspecific Pine grafts. *Jour. Forestry* 11 (1962). — (2) ARNON, D. I.: Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase of green plants. *Science* 116, 635 (1952). — (3) BARTELS, H.: Enzymaktivitäten in ruhenden und keimenden Samen von *Pinus nigra* Arn. *Planta* 55, 573 (1960). — (4) BEISENHERZ, G., BOLTZE,

- H. J., BÜCHER, TH., CZOK, R., GARBADE, H. K., MEYER-ARENDT, E., et PFLEIDERER, G.: Diphosphofructose Aldolase, Phosphoglyceraldéhyde-Dehydrogenase und Pyruvat-Kinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang. Z. Naturforsch. 8 b, 555 (1953). — (5) BOGDANOV, P. L.: New method of vegetative propagation of poplars. Proc. Central Sci. Inv. Inst. Forestry 1, 27 (1936). — (6) CARDINI, C. E., LELOIR, L. F., et CHIRIBOGA, J.: The biosynthesis of sucrose. J. Biol. Chem. 214, 149 (1955). — (7) CERLETTI, P.: Aspetti biochimici dell'innesto e della incompatibilità nelle piante. La Ricerca Scientifica 7, 921 (1960). — (8) CIAMPI, C.: Studio anatomico su innesti di Conifere. Innesti omoplastici ed autoplastici di *Pinus pinea* L., considerazioni sulla importanza della tecnica di innesto. Atti delle Giornate di Studio su la Propagazione delle Specie Legnose, p. 498, Pisa (1964). — (9) CIAMPI, C.: Anatomical investigations on Pine grafts. Rapport transmis au VIe Congrès Mondial Forestier de Madrid (1966). (10) DORMLING, I.: Anatomical and Histological Examinations of the Union of Scion and Stock in Grafts of Scots pine (*Pinus silvestris* L.) and Norway spruce (*Picea abies* [L.] KARST.). Studia Forest. Suecica, Nr. 13 (1963). — (11) FIRENZUOLI, A. M., VANNI, P., et MASTRONUZZI, E.: Uso del Tween 80 nell'estrazione di proteine vegetali. Boll. Soc. It. Biol. Sper. 42, 456 (1966). — (12) FIRENZUOLI, A. M., VANNI, P., et MASTRONUZZI, E.: Riattivazione con PVP e Tween 80 di deidrogenasi inibite con estratto di corteccia di *Pinus pinea*. Boll. Soc. It. Biol. Sper. 42, fasc. 20 b, n° 112 extr. (1966). — (13) FIRENZUOLI, A. M., VANNI, P., et MASTRONUZZI, E.: Livelli enzimatici durante la germinazione e la ripresa vegetativa in *Pinus pinea* e *Pinus pinaster*. Boll. Soc. It. Biol. Sper. 42, 453 (1966). — (14) FIRENZUOLI, A. M., VANNI, P., MASTRONUZZI, E., et GUERRITORE, A.: The effect of some aromatic compounds on pure enzymes and subsequent reactivation by PVP and Tween 80 (en cours d'élaboration). — (15) FRANCINI, E.: Ecologia comparata di *Pinus halepensis* MILL., *Pinus pinaster* SOL. e *Pinus pinea* L. sulla base del comportamento del gametofito femminile. Ann. Acc. It. Sci. for. VII, 107 (1958). — (16) GARAVEL, M.: Enquête sur le comportement du noyer noir d'Amérique en tant que porte-greffe des variétés de noyers indigènes. Revue for. franç. 1954, no. 6, 217. — (17) GIBBS, M.: Triosephosphate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in the pea plant. Nature 170, 164 (1952). — (18) GOLDSTEIN, J. L., et SWAIN, T.: The inhibition of enzymes by tannins. Phytochem. 4, 185 (1965). — (19) GUERRITORE, A., FIRENZUOLI, A. M., FARNARARO, M., VANNI, P., et BACCARI, V.: Quadro comparativo di livelli enzimatici in alcune conifere. Boll. Soc. It. Biol. Sper. 40, 1997 (1964). — (20) GUERRITORE, A., FIRENZUOLI, A. M., FARNARARO, M., et BACCARI, V.: Uso del polivinilpirrolidone nell'estrazione delle proteine vegetali. Boll. Soc. It. Biol. Sper. 41, 483 (1965). — (21) HAGEMAN, R. H., et ARNON, D. I.: Changes in glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase during the life cycle of a green plant. Arch. Biochem. Biophys. 57, 421 (1955). — (22) HARTMANN, H. T., et KESTER, D. E.: Plant propagation. Prentice-Hall, inc. Englewood Cliffs, N. J. (1960). — (23) HASEGAWA, M., TAKAYAMA, T., et SHIROYA, T.: The carbohydrates contained in seeds. Kagaku (Science) 21, 593 (1951). — (24) HEIMBURGER, C.: Report on poplar hybridization II, 1937 and 1938. Forestry Chron. 16, 149 (1940). — (25) HERRMANN, S.: Heteroplastische Transplantationen bei Holzpflanzen. Naturwiss. Berlin, 1951, p. 101. — (26) HERRERO, J.: Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees. Journ. Hort. Sci. 26, 186 (1951). — (27) HERRERO, J.: Incompatibilidad entre patrón e injerto. III. Comparacion de sintomas producidos por incompatibilidad y por el anillado del tronco. Ann. Est. Exp. Aula Dei 26, 186 (1956). — (28) BÜCHER, TH., LUH, W., et PETTE, D.: Einfache und zusammengesetzte optische Tests mit Pyridinnucleotiden. Handbuch der Physiol. und Pathol.-chemischen Analyse. F. HOPPE-SEYLER und H. THIERFELDER. Springer, Heidelberg. Band 6, p. 292 (1964). — (29) JACOBS, S.: Determination of Nitrogen in protein by means of indanetrione hydrate. Nature 183, 262 (1959). — (30) LAUNAY, J.: Etude physiologique et histologique du greffage chez «*Pinus pinaster*» SOLAND. Mém. Soc. Sci. Phys. Nat. Bordeaux, 8e sér., IV, 145 (1964). — (31) MAGINI, E.: Esperienze sull'innesto all'aperto del Pino domestico. Atti delle giornate di studio su la Propagazione delle Specie Legnose, p. 508, Pisa (1964). — (32) MAGINI, E.: Grafting umbrella pine (*Pinus pinea* L.) in the open. Rapport transmis au VIe Congrès Mondial Forestier de Madrid (1966). — (33) MONTGOMERY, H. B. S.: A field of measures designed for the control of the bacterial canker of Victoria plum trees. Ann. Rept. East Malling Res. Sta., A 16, 53 (1943). — (34) MOSSE, B.: Symptoms of incompatibility induced in a peach by ring grafting with an incompatible rootstock variety. Ann. Rept. East Malling Res. Sta., 1954, 76 (1955). — (35) MOSSE, B., et GARNER, R. J.: Growth and structural changes induced in plum by an additional scion. Jour. Hort. Sci. 29, 12 (1954). — (36) NIENSTAEDT, H., CECI, F. C., MERGEN, F., WANG, CHI-WU, and ZAK, B.: Vegetative propagation in forest genetics research and practice. J. Forestry 11, 826 (1958). — (37) ROSEMBERG, L. L., et ARNON, D. I.: The preparation and properties of a new glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from photosynthetic tissues. J. Biol. Chem. 217, 361 (1955). — (38) SAN PIETRO, A., et BLACK, C. C.: Enzymology of energy conversion in photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. 16, 155 (1965). — (39) SKINNER, H. T.: Propagation of oaks. Amer. Nurseryman 98, 10 (1953). — (40) SKINNER, H. T.: Grafting still top method for vegetative propagation of oaks. Florist Exchange, 121 (13), 28 (1953). — (41) STANLEY, R. G.: Krebs cycle activity of mitochondria from endosperm of sugar pine seed (*Pinus lambertiana* DOUGL.). Plant Physiol. 32, 409 (1957). — (42) STANLEY, R. G., et CONN, E. C.: Enzyme activity of mitochondria from germinating seedlings of sugar pine (*Pinus lambertiana* DOUGL.). Plant Physiol. 32, 412 (1957). — (43) ZANOBINI, A., VANNI, P., MASTRONUZZI, E., FIRENZUOLI, A. M., et RAMPONI, G.: Use of Tween 80 in ferredoxin extraction from Gymnosperms. Phytochem. 6, in press (1967). — (44) ZOBEL, B., BARBER, J., BROWN, C., et PERRY, T. O.: Seed orchards. Their concept and management. Jour. Forestry 11, 825 (1958).

## Perspectives d'amélioration en première génération par sélection des provenances

Par A. NANSON

Station de Recherches des Eaux et Forêts  
Groenendaal-Hoeilaart (Belgique)

L'estimation des gains probables résultant de la sélection et de l'utilisation des meilleures provenances d'une espèce donnée est un problème d'un intérêt évident. La présente note lui est consacrée.

### I. — Révision de certaines notions de génétique quantitative

Supposons que nous ayons un test de provenances installé dans un milieu doné. Chaque «élément génétique»<sup>1)</sup> (ici provenance) a une production moyenne mesurable (exemple:

<sup>1)</sup> Suivant notre définition (NANSON, 1965), l'élément génétique est l'unité de base soumise au test. Il peut donc désigner une provenance (ou origine), une descendance «half-sib», une descendance «full-sib», un clone, etc.

m<sup>3</sup> de bois) que nous appellerons: «valeur phénotypique» (P). Cette valeur apparente n'est qu'une image déformée de la vraie valeur (génomique), par suite de variations locales du milieu à l'intérieur du test, d'erreurs de mesures, etc. On peut admettre que:

$$P = G + E,$$

où: P = valeur phénotypique, G = valeur génomique, et E = déviation environnementale. Cette dernière est telle que la somme pour tous les éléments génétiques du test est nulle:

$$\Sigma E = 0.$$

Il en résulte que  $\bar{P} = \bar{G}$ .

Signalons que la valeur génomique peut elle-même se décomposer en valeur d'amélioration (A) qui est transmis-