

# Genetics and breeding in the group halepensis

by Kostas P. PANETSOS\*

## Améliorations génétiques dans le groupe halepensis

### 1. — Introduction

The group halepensis, comprises two major species, *Pinus halepensis* and *P. brutia* (species complex). They are distinguished from each other by a number of morphological, anatomical and chemical characters (Panetsos 1981, Nahal 1984).

In their natural range, there is well-defined spatial isolation (Panetsos 1981, Nahal 1984), the shortest distance being about 50 kilometers, between the natural populations of the mountain Athos (Chalkidiki) and the island Thassos in the North Aegean sea. Isolated occurrences of one species inside the range of the other, have been attributed to human interferences (Panetsos 1981).

The two species, besides spatial isolation, have developed other kinds of barriers, such as prevention of fertilization when *P. halepensis* is the female partner, reduced embryo viability in hybrid seeds, low temperature tolerance, as well as differences in blooming periods. They should be considered, therefore, as two well established pine species.

In many cases, however, when they come in contact they hybridize. The extent of the hybridization and the fate of their hybrids depends upon prevailing ecological conditions in the area (Vidacović and Karstinić 1974, Panetsos 1975).

The distribution of the two species in the Mediterranean basin and their ability to grow in the most adverse climatic and soil conditions make them very important for multiple purpose forestry. Moreover, on favourable sites they exhibit growth potentialities, competing successfully with the so-called fast-growing species (Matziris 1982). In the case of *P. halepensis*, and to some extent of *P. brutia*, their closed cone habit makes them irreplaceable forest species in the special and delicate mediterranean ecosystem. Therefore, not only is the initiation of a breeding programme in the section justifiable, but also an urgent necessity, in view of the fact that valuable genetic material is being lost each year due to different reasons.

### 1. — Introduction

Le groupe halepensis, comprend deux espèces principales, *Pinus halepensis* et *P. brutia* (species complex). Ils se distinguent l'un de l'autre par un certain nombre de caractères morphologiques, anatomiques et chimiques (Panetsos 1981, Nahal 1984).

Dans leur zone naturelle, ils sont bien isolés l'un de l'autre (Panetsos 1981, Nahal 1984), la plus courte distance étant d'environ 50 kilomètres entre les peuplements naturels du Mont Athos (chalcidique) et l'île de Thassos dans le Nord de la mer Egée. Les quelques rencontres de l'une des espèces à l'intérieur des zones de l'autre ont été attribuées à des interventions humaines (Panetsos 1981).

Les deux espèces, outre leur séparation dans l'espace, ont développé d'autres sortes de barrières, telles qu'une difficulté de fécondation quand *P. halepensis* est le partenaire femelle, réduction de la viabilité de l'embryon dans les graines hybrides, exigence de température, aussi bien que des différences dans les périodes de floraison. On devrait donc les considérer comme deux espèces de pins bien distinctes.

Dans beaucoup de cas cependant, quand ils sont en contact, ils s'hybrident. L'extension de l'hybridation et le sort de leurs hybrides dépendent des conditions écologiques qui prévalent dans la station (Vidocovic et Karstinić 1974, Panetsos 1975).

La répartition des deux espèces dans le bassin méditerranéen et leur aptitude à pousser dans des conditions de sol et de climat les plus défavorables les rendent près importantes pour de nombreux usages forestiers. Lorsqu'elles poussent sur des sites favorables elles montrent des potentialités de croissance compétitives avec les espèces dites à croissance rapide (Matziris 1982). Dans le cas du *P. halepensis*, et dans une certaine mesure dans celui du *P. brutia* le fait qu'ils aient des cônes rapprochés les rend irremplaçables comme espèces forestières dans l'écosystème méditerranéen particulier et fragiles. Donc, non seulement le lancement d'un programme d'amélioration se justifie, mais encore il est urgent, du fait qu'un matériel génétique de grande valeur se perd chaque année pour différentes raisons.

\*Kostas P. PANETSOS

Professor  
Department of Forestry and Natural Resources  
Aristotelion University of Thessaloniki  
54006 — Thessaloniki — Grèce

## 2. — Variation

### 2.1. — In natural forests

A selective breeding programme, in order to be effective, should be based on existing genetic variation in the species under consideration.

This variation can stem from three different sources :

- a. — (i) Geographic variability, which is related to the size of the species range, (ii) environmental diversity encountered within its distribution, and also (iii) the extent of the range discontinuities. This variability can be studied and determined by provenance tests. In species with these qualifications, genetic differences related to place of origin have often been found to be several times as great as those among individual trees in the same provenance.
- b. — Variation among stands in the same provenance. This can be attributed to edaphic factors, to elevational range, and also to selective pressures imposed on some stands by human interference, i.e. by deliberate heavy exploitation over a long period.
- c. — Finally, genetic variability exists between trees in the same stand, due to the predominating reproductive system in forest species, so that no two trees are of the same genotype.

In the two species of the section *halepensis*, there exist all the presumptions, promoting the development of genetic variation of the three sources mentioned above; extensive discontinuous distribution, accompanied by long-time isolation, due mainly to geological history of the total region, and to some extent to the gradual changes of climate. Most of their forest, being along the coast of the Mediterranean Sea and around the centres of old civilizations, have been subjected to destructive exploitation with dramatic changes of their gene pool and frequencies. Inaccessible stands, however, as for example those inside the Gorge of Samaria on the island of Crete, present excellent growth and comprise trees with straight stem form and fine branches (Panetsos 1981). The same is true for stands in the remote region around Taurus (Turkey), as is reported by Arbez (1974).

It is interesting to mention the altitudinal variation of *Pinus brutia* related to crown form. Narrow crowned trees (fig. 1) were found in the transitional zone of this species with *Pinus nigra* on the islands of Thassos and Lesvos, as well as in the Gorge of Samaria (Crete) at high elevation (800-1000 m). this is also noted by Arbez (1974), with reference to the population of Eskibag (Turkey — elevation 950 m).

Apart from this variation, on the island of Lesvos and in the S.E. part of it, a form of *Pinus brutia* which has not been found in other forests of that species complex occurs naturally. This form develops a spherical crown, without main leader, dense branches, small cones and seeds, needles (6-7 cm), while the stem is ramified just above the ground (fig. 2). This form is mixed with typical trees in various frequencies, ranging from 3-35 %. It seems that in this particular area natural selection favours the establishment and expansion of the new form, as can be inferred by comparing its percentage in old trees and their progenies.

On the island (Lesvos) the high occurrence of trees with witches brooms (fig. 3) is conspicuous. Seeds collected from one of them raised plants which are normal, and dwarfs, like the ones obtained from a broom growing on an Aleppo pine tree (Panetsos 1981).



Photo 1. Narrow crowned *P. brutia* trees in the gorge of Samaria (Crete).  
Pins brutia à cimes étroites dans les gorges de Samaria (Crète).



Photo 3. *P. brutia* tree, with a well developed witches broom.  
Pin brutia avec un balai de sorcière très développé.



Photo 2. Form of *P. brutia* growing naturally in the island of Lesbos.  
Forme de *P. brutia* dans l'île de Lesbos.

## 2. — Variation

### 2.1. — Dans les forêts naturelles

Un programme sélectif d'amélioration pour être efficace, sera basé sur les variations génétiques des espèces considérées.

Cette variation peut provenir de 3 causes différentes :

- a. — (i) une variabilité géographique, qui se rapporte à la taille de l'aire d'extension de l'espèce, (ii) une variation des conditions du milieu au sein de son aire de distribution, et aussi (iii) la superficie des zones de discontinuité dans cette aire. Cette variabilité peut être étudiée et déterminée par des tests de provenance. Dans de telles espèces, les différences génétiques liées au lieu d'origine sont souvent apparues comme aussi importantes que celles entre individus d'une même provenance.
- b. — Variation suivant les stations avec la même provenance. Ceci peut être attribué à des conditions édaphiques, à la qualité des pratiques culturales, et aussi aux pressions sélectives imposées à certaines stations par des interventions de l'homme, c'est-à-dire par une exploitation continue durant une longue période.
- c. — Enfin, une variabilité génétique existe entre arbres sur la même station, due au système reproductif prédominant dans les espèces forestières, tel qu'il n'y a pas deux arbres avec le même génotype.

Dans les deux espèces de la section halepensis, tout porte à croire que les trois causes mentionnées plus haut favorisant le développement des variations génétiques interviennent; une

répartition étendue mais discontinue, accompagnée d'une isolation de longue durée — due principalement à l'histoire géologique de la région entière et, dans une certaine mesure, aux changements progressifs du climat. La plupart de leurs forêts, se trouvant le long de la côte méditerranéenne et autour de centres de vieilles civilisations, ont subi une exploitation destructrice avec des changements dramatiques de leur capital génétique et de leur nombre. Des stations inaccessibles, cependant, comme par exemple à l'intérieur des gorges de Samaria en Crète, offrent une excellente croissance et présentent des arbres de belle venue, aux troncs droits et aux branches bien formées et belles (Panetsos 1981); On observe la même chose dans des stations reculées près du Taurus (Turquie) comme le rapporte Arbez (1974).

Il est intéressant de noter la relation entre l'altitude du Pin brutia et la forme des cimes. Les arbres à cime étroite (Photo 1) se trouvent dans les zones de transition de ces espèces, avec le Pin noir sur les îles de Thassos et Lesbos

aussi bien que dans les Gorges de Samaria (Crète) à haute altitude (800-1000 m). C'est également noté par Arbez (1974) à propos du peuplement de Eskibag (Turquie — altitude 950 ).

En dehors de cette variation, on trouve sur l'île de Lesbos et dans sa partie S.E., une forme de pin brutia qu'on ne trouve pas dans les autres forêts de cette espèce. Cette forme développe une cime sphérique, sans branche principale, avec des branches épaisses, des graines et des cônes de petite dimension, des aiguilles de 6 à 7 cm, tandis que le tronc se ramifie juste au-dessus du sol (Photo 2). Cette forme se mélange aux arbres typiques avec une fréquence variant de 3 à 35 %. Il semble que dans cette zone particulière la sélection naturelle favorise l'installation et le développement de cette nouvelle forme, comme on peut le déduire de la comparaison des pourcentages chez les vieux arbres et chez les jeunes.

Sur l'île de Lesbos la rencontre fréquente d'arbres avec des « balais de sorcières » est remarquable. Des graines récoltées sur l'un d'entre eux produisirent des plants qui furent normaux et des nains comparables à ceux obtenus d'un « balai » poussant sur un pin d'Alep. (Panetsos 1981).



Photo 4. Narrow crowned *P. halepensis* tree.  
Pin d'Alep à cime étroite.

In *Pinus halepensis* natural forest, phenotypic variation is very common too, at all levels. The forests of Chalkidiki and north Euboia are distinguished from the rest of the species for their growth and form. As in *P. brutia*, narrow crowned trees can also be found, not necessarily related to elevation (fig. 4). In Kassandra (Chalkidiki) a stand was spotted with high frequency of narrow crowned trees, which exhibited superiority in growth compared to trees of normal form in the same stand.

## 2.2. — Provenance and progeny tests

Besides phenotypic variation, already described, provenance testing with a large number of seed lots, covering almost all the range of *P. halepensis* and a part of *P. brutia* species complex, verifies the occurrence of genetic variation of the same nature (Palmer 1975, Bellefontaine and Raggabi 1977, Panetsos 1981). Especially in our experiments established on various sites all over Greece, significant differences were found between provenances for height, DBH, stem form, bark type, duration of juvenility, precocity and prolificity in flowering and fruiting, needle characters etc. furthermore, progeny tests conducted with open pollinated families from a number of greek provenances revealed the existence of significant differences among families within populations for growth rate, stem form, bark type and gum production in the case of *P. halepensis*. From the total variation concerning growth rate, the largest portion (2/3) accounts for between provenances and 1/3 for families.

It is interesting and significant for breeding programmes to mention that at least for *P. halepensis* no interaction of *genotype x environment* was found, regardless of site quality and climate.

From the data obtained, four races of *P. halepensis* could be distinguished : (i) the east European, (ii) the west European, (iii) the north African, and (iv) the Moroccan.

As far as *P. brutia* is concerned, on the basis of data obtained from provenance tests, it was concluded that populations of *P. brutia* on the island of Crete should be considered as an independent and distinct variety of that species (Panetsos 1981).

Crossing experiments conducted by our Laboratory for several years have shown conclusively the absence of genetic isolation among populations of *P. brutia* or between species of its complex. It was suggested that all species of *P. brutia* complex should be reduced to the rank of sub-species or varieties. The same has been proposed by Nahal (1962, 1984), Debazac and Tomassone (1965).

Recent studies of isozyme variation concerning several populations of the two species, showed that in *P. halepensis* genetically distinct groups can be recognized. These findings coincide with the results obtained in our provenance test, with the exception of the Moroccan group, which probably was not included in these studies. In the same study it was found that *P. brutia*, as a group, differs from Aleppo pine, while genetic distances among the species of *P. brutia* complex are very small and should be considered as subspecies or varieties (Grunwold C., G. Schiller and M.T. Conkle 1984 report).

Preliminary results on the effect of air pollution, and especially on concentration of sulphur dioxide (Schiller 1984), showed that *P. brutia* is sensitive to low concentration (0.060-0.120 ppm), whereas Aleppo pine displays foliage injuries only at the highest (0.300-0.400 ppm SO<sub>2</sub>).

## 3. — Improvement programme

### 3.1. — General aspects

An improvement programme should consider strategies and purposes. The data available on the genetic structure and the variation of the two species, for a number of characters, offer an orientation for the application of a programme. However, the most difficult task is to specify the objectives which should be accomplished.

For Aleppo pine the main aim should be combined improvement of wood and gum yield, since it is the only species in the mediterranean region capable of producing high quantities of resin. The target must be both quantity and quality. There is already available data indicating the existence of variation for wood and resin quality in the species.

Trees with narrow crown form can be subjected to special breeding for the development of cultivars, suitable for plantation in areas where we pursue a combination of pasture and wood production. In addition, various forms, encountered in natural forests, are valuable as ornamental trees for the mediterranean region and should be selected, evaluated and propagated. In this connection, resistance to air pollution is also a serious aspect for consideration.

As far as *P. brutia* is concerned, the effort for genetic improvement should be concentrated on wood quantity and quality, because resin production is restricted, compared to the yields obtained from Aleppo pine (Papamichael 1970). Having in mind, however, its remarkable plasticity and the fact that it grows on some of the most attractive islands in the Mediterranean Sea, the aspect of recreating and amenity forestry should not be neglected. Furthermore, forms like the ones which were found to grow naturally on Lesvos, could be propagated as ornamental plants for gardens and even for growing in pots.

Concluding, it should not be forgotten that both species are capable of producing fertile hybrids, naturally and artificially.

### 3.2. — Breeding methods

There is no best procedure for all situations, the choice depends upon the species concerned and the expected gain of the characters under consideration.

In *P. halepensis*, if the main purpose of improvement is adopted, i.e. combined selection for wood and resin production, then the establishment of seedling seed orchards with half-sib families, could be the best procedure for a number of reasons : (i) it is easy to perform at moderate cost, (ii) the species flowers early after planting and produce large seed crops for regeneration, (iii) progeny tests will allow selection of the best families, combining growth and resin yield, at the time the orchard will be ready to produce needs. In Slash pine positive correlation between volume and resin production has been found (Squillace 1965). In our provenance progeny test, the same correlation is under investigation and also the variation of gum production in relation to provenance and families.

The seed will be collected from plus trees of the best provenances, and will be shown in a replicated nursery test. Then all families will be outplanted in a replicated permanent plantation on sites favourable to the species. At the same time, all plus trees will be transferred, by grafting, to a gene bank. After 5-6 years the orchard will be thinned to leave only the best trees

Dans une forêt naturelle de pin d'Alep la variation de forme est très courante à tous les niveaux. Les forêts de Chalcidique et du Nord d'Eubée se distinguent des autres forêts de cette espèce par leur croissance et leur forme. Comme dans le pin *brutia* on peut trouver des arbres à cime étroite, pas nécessairement en rapport avec l'altitude (Photo 4). A Kassandra (Chalcidique) un endroit était parsemé de nombreux arbres à cimes étroites, qui montraient une croissance supérieure à celle des arbres de forme normale dans la même station.

## 2.2. — Provenance et test de descendance

A côté des variations phénotypiques, déjà décrites, des essais de provenance, avec un grand nombre de lots de graines, provenant de presque toute l'étendue du pin d'Alep et une partie du pin *brutia species complex*, permettent d'évaluer la variation génétique (Palmer 1875, Bellefontaine et Raggabi 1977, Panetsos 1981). Spécialement dans nos expérimentations réalisées sur des sites éparpillés dans toute la Grèce, des différences significatives furent trouvées entre les provenances, quant à la hauteur, le diamètre à hauteur d'homme, la forme du tronc, le type d'écorce, la durée de la jeunesse, la précocité et la prolifcité en fleurs et fruits, le caractère des aiguilles, etc... En outre, les tests de descendance conduits en pollinisation libre à partir de provenances grecques, révèlent l'existence de différences significatives entre les familles suivant le taux de croissance, la forme du tronc, le type de l'écorce et la production de résine dans le cas du pin d'Alep. La plus grande part (2/3) de sa variation du taux de croissance s'explique par la provenance et 1/3 par la famille.

Il est intéressant et significatif pour des programmes génétiques de mentionner qu'au moins pour *P. halepensis* on ne trouve aucune interaction génotype  $\times$  environnement; le site et le climat n'interviennent pas.

D'après les résultats, on peut distinguer 4 races de *P. halepensis* : (i) celle de l'Europe de l'Est, (ii) celle de l'Europe de l'Ouest, (iii) celle de l'Afrique du Nord et (iv) celle du Maroc.

Depuis le temps qu'on étudie *P. brutia*, sur la base des résultats obtenus par des tests de provenance, on conclut que les peuplements de *P. brutia* sur l'île de Crète peuvent être considérés comme une variété indépendante et distincte de cette espèce. (Panetsos 1981).

Des expériences de croisement menées par notre laboratoire pendant

plusieurs années, ont montré de manière décisive l'absence d'isolation génétique entre les peuplements de *P. brutia* ou entre les espèces de son complexe. On a proposé que toutes les espèces du complexe *P. brutia* soient réduites au rang de sous-espèce ou variété. La même chose a été proposée par Nahal (1962-1984), Debazac et Tomassone (1965).

Des études récentes de variation isozyme concernant plusieurs peuplements des deux espèces, ont montré que dans le *P. halepensis* on peut reconnaître des groupes distincts génétiquement. Ces découvertes coïncident avec les résultats de notre test de provenance, à l'exception du groupe du Maroc, qui n'était probablement pas inclus dans ces études. Dans la même étude, on trouve que le pin *brutia* en tant que groupe, diffère du pin d'Alep tandis que les différences génétiques parmi les espèces du complexe *P. brutia* sont très petites et doivent être considérées comme sous-espèces ou variétés (Grunwold C., G. Schiller et M.T. Conkle 1984 Report).

Les résultats préalables sur l'effet de la pollution de l'air et spécialement de la concentration de dioxyde de soufre (Schiller 1984), montrent que *P. brutia* est sensible à une basse concentration (0,060-0,120 ppm); alors que le pin d'Alep ne montre de nécroses foliaires qu'à une plus haute concentration (0,300-0,400 ppm  $SO_2$ ).

## 3. — Programme d'amélioration

### 3.1. Aspects généraux

Un programme d'amélioration doit considérer les stratégies et les objectifs. Les données disponibles sur la structure génétique et la variation des deux espèces, pour un certain nombre de caractères, proposent une orientation pour l'application d'un programme. Cependant, le plus difficile est de préciser les objectifs qui devraient être visés.

Pour le pin d'Alep le but principal pourrait associer amélioration du bois et production de résine, puisqu'il est la seule espèce de la région méditerranéenne capable de produire de grandes quantités de résine. La cible doit être à la fois quantité et qualité. Il y a déjà des données disponibles indiquant l'existence de variations pour la qualité du bois et de la résine dans cette espèce.

Des arbres de forme « à la cime étroite » peuvent être soumis à une conduite spéciale, pour le développement de cultivars, adaptés aux plantations dans la région où l'on cherche une combinaison de paturage et production de bois. De plus, des

formes différentes rencontrées dans des forêts naturelles, sont précieuses comme arbres ornementaux pour la région méditerranéenne et doivent être sélectionnés, évalués et propagés. Dans ce domaine, la résistance à la pollution de l'air est aussi un aspect sérieux à considérer.

Depuis le temps qu'on étudie le *P. brutia*, l'effort d'amélioration génétique doit se concentrer sur la qualité et la quantité de bois, parce que la production de résine est limitée comparée aux productions obtenues à partir du pin d'Alep (Papamichael 1970). Ayant à l'esprit, toutefois, sa remarquable plasticité et le fait qu'il pousse sur l'une des îles les plus attrayantes de la Méditerranée, on ne peut négliger son rôle dans les forêts d'accueil. En outre, des formes comme celles qu'on a trouvées poussant naturellement à Lesbos, pourraient être répandues comme plants ornementaux pour les jardins et même pour la production en pots.

Pour conclure, on n'oubliera pas que les deux espèces, peuvent produire des hybrides fertiles, de façon naturelle et artificielle.

### 3.2. — Méthode de reproduction

Il n'y a pas un procédé unique pour toutes les situations, le choix dépend des espèces concernées et de l'objectif attendu.

Pour *P. halepensis*, si l'on adopte le principal but d'amélioration, c'est-à-dire une sélection combinée pour la production de bois et de résine, alors l'installation de vergers à graines, avec des demi-fratries pourrait être le meilleur procédé pour un certain nombre de raisons : (i) c'est facile à exécuter pour un coût modéré, (ii) les espèces fleurissent vite après leur plantation et produisent beaucoup de graines pour la régénération, (iii) des tests de descendance doivent permettre une sélection des meilleures familles, combinant la croissance et la production de résine, au moment où le verger serait prêt à produire des semences. Pour le gembage une corrélation positive entre le volume et la production de résine a été trouvée (Squillace 1965). Dans nos tests de descendance selon la provenance, la même corrélation est à l'examen ainsi que la variation de la production de résine selon la provenance et les familles.

La semence serait récoltée sur les meilleurs arbres, des meilleures provenances, et serait semée dans une pépinière d'essai. Puis toutes les familles seraient transplantées dans une plantation permanente d'essai, sur des sites favorables aux espèces. En même temps, les meilleurs arbres seraient transférés, par greffage dans une banque de gènes. Après 5 ou

(for growth rate and gum yield) from each of the best families. These trees will be the seed's source for afforestation. It is anticipated that as many seed orchards as the number of races determined in our provenance tests should be established (Panetsos 1981).

The follow-up will be the establishment of a second generation orchard with full-sib families, originating by crossing the best phenotypes selected in the previous step and also the best genotypes of the parental trees growing in the gene bank. This second generation orchard, which will be in full production about 15 years after the initiation of the programme, will be thinned to leave the best trees from each superior full-sib family. In the meantime, seeds for afforestation will be supplied by the first generation orchard.

In both cycles, outstanding trees from the seed orchards and the gene bank should be mass-propagated by vegetative means. This particular aspect calls for research on methods of mass vegetative propagation of both species, which will greatly accelerate genetic improvement. Methodology applied by Chaperon, Alazard and Brunet (1983) to *Pinus spinaster*, might be suitable for the two low elevation mediterranean species. With respect to breeding for narrow crowned forms, it is anticipated that clonal seed orchard, accompanied by full-sib progeny test, is the most effective and promising procedure.

In *Pinus brutia*, as has been reported in a previous publication (Panetsos 1981), the best improvement procedure would be the establishment of clonal seed orchards. In view of the extensive and variable range of the species, and the restriction of data concerning its genetic structure, intensive selection of plus trees, from the best provenances of each physiogeographic division of the species is recommended, and establishment of corresponding orchards, accompanied by full-sib progeny tests. Narrow crowned trees can be specially selected for breeding cultivars suitable for agroforestry. The same procedure as for *P. halepensis* should be followed.

### **3.3. — Grafting of Aleppo and brutian pines**

Experiments conducted by our laboratory and others (Iktueren 1974, Schiller 1984), have shown that there is no restrictions to vegetative propagation of the two species by means of grafting. In our experiments it was found that « cleft grafting » is the most efficient method, with success of almost 80 %. It is worth mentioning that grafting scions of Aleppo pine on *P. brutia* rootstock was as successful as was grafting on rootstocks of the same species.

### **3.4. — Hybridization**

Hybridization in forestry breeding work usually refers to the crossing of different species (interspecific), or different subdivisions within a species (intraspecific). In agriculture, hybridization between different strains of the same species is a tool constantly used by the agricultural crop plant breeders. In forestry this type of crossing is not common, but as more becomes known from geographic variation experiments, intra-specific hybridization is likely to become an important way of producing new trees having special combinations of desirable traits.

In hybridization work between forest species, the main object is to obtain hybrid vigor, i.e. production of F1 generation, growing faster than the parents. Another goal of this breeding method is the production of hybrids combining desirable traits of the parental species.

Large-scale use of F1 hybrids must fulfill either one or both of the above mentioned requirements, and must also be capable of being mass-produced. Furthermore, possibilities for practical use of the hybrids should exist, which means available habitats for their successive adaptation and growth. Usually, hybrids manifest hybrid vigor in hybrid habitats, i.e. in intermediate or disturbed environments, because, as has been postulated, the pure species are usually well adapted to the environments in which they evolve (Anderson E. 1953).

*Pinus brutia* and *P. halepensis* are two species which have been subjected to long-time studies, with respect to artificial and natural hybridization. As has been pointed out, they cross readily but with one restriction; *P. brutia* should always be the female parent (Moulopoulos and Bassiotis 1961, Moulalis, Bassiotis and Metsopoulos 1976). Extensive studies of natural and artificial populations showed that the two species, when they come in contact, hybridize (Panetsos 1975). This same paper (Panetsos 1975) discusses extensively the possibilities and limitations of their hybridization, and particularly the available areas where the hybrids can be better adapted and grown.

In artificial hybridization experiments, it was found that the production of F1 interspecific hybrids can be obtained quite easily by conventional crossing methods; also that seed set was comparable to the pure species, but percentage of sound seed obtained was about 25 %, whereas in pure species or intraspecific crosses it was about 75-95 %. (Panetsos 1981). Furthermore, it was found that fertility improved considerably in subsequent generations (F2 and BC's). Especially in F2, sound seed percentage was 61-70 %, not much lower than pure species. The only exception occurred when *P. halepensis* was used as female parent in crossings with F1. In this particular case the percentage of sound seed was about 24 %, high enough to raise a large number of offspring.

The percentage of sound seed obtained from crossing experiments should be considered as acceptable for mass-production of hybrids, if, of course, they meet the requirements previously mentioned in this chapter.

Recent evaluation of F1 hybrids and other combinations (F2 and BC's) 15 years after planting in four different sites in north Greece, showed that F1 hybrids possess hybrid vigor in all habitats planted (Penetsos *et al* 1983). Their superiority in growth over the pure species varied from 5-190 %, related to planting site, and to particular trees of the parental species which were crossed to produce the hybrids. Hybrid vigor was manifested in intermediate and disturbed habitats, or outside the natural distribution of the pure species, but always within their ecological range. F1 proved to be more resistant to minimum temperatures than *P. halepensis*, and it appears that *P. brutia* behaves as dominant in this particular character. F2 and BC's were always inferior in growth, compared to F1 hybrids, at least in the environments in which testing was performed.

These results, concerning vigor and adaptation in connection with the areas available for plantation in Greece and elsewhere in the Mediterranean region, shows that F1 hybrids should be put into direct practical use. The main concern however, is the production of hybrid seed in large quantities at reasonable cost. In a previous paper (Panetsos 1981) different schemes were discussed for mass-production of open pollinated F1 hybrid seed. New findings, however, showed that the most important factor for success is not only the production of seed by crossing selected plus trees, but the crossing of parents exhibiting special combining ability.

6 ans, le verger serait éclairci pour ne conserver que les meilleurs arbres du point de vue du taux de croissance et de la production de résine pour chacune des meilleures familles. Ces arbres seraient des porte-graines pour le reboisement. Il faut prévoir qu'autant de vergers à graines que de races déterminées dans nos tests de provenance devront être constitués (Panetsos 1981).

La suite serait l'installation d'un verger de seconde génération avec des fratries obtenues par croisement des meilleurs phénotypes sélectionnés auparavant avec les meilleurs génotypes des parents de la banque de gène. Ce verger de seconde génération qui serait en pleine production environ 15 ans après le début du programme, serait éclairci pour ne laisser que les meilleurs arbres des fratries. En même temps des graines pour le reboisement seraient fournies par les vergers de la première génération.

Dans les deux cycles, les arbres issus des vergers à graines et de la banque de gènes seraient reproduits en grand nombre par des moyens végétatifs. Cet aspect particulier, nécessite des méthodes de propagation végétative de masse des deux espèces qui accélèreraient grandement l'amélioration génétique. Cette méthodologie appliquée par Chaperon, Alazard et Brunet (1983) au pin maritime, pourrait être adaptée aux deux espèces méditerranéennes de petite hauteur. En ce qui concerne la reproduction des formes à cime étroite, on peut imaginer qu'un verger à graine clonal accompagné d'un test de descendance des fratries est le procédé le plus efficace et prometteur.

Pour *P. brutia*, comme on l'a dit dans une précédente publication (Panetsos 1981), le meilleur procédé d'amélioration serait l'installation de vergers à graines clonaux. Étant donné l'étendue, le taux de variabilité de l'espèce et la limitation des données concernant sa structure génétique, une sélection intensive des meilleurs arbres, des meilleures provenances de chaque division physiogéographique de l'espèce est recommandée, et l'installation de vergers correspondants, accompagnés de tests de descendance dans les fratries. Les arbres à cime étroite peuvent être spécialement sélectionnés pour la reproduction de cultivars adaptés à l'agroforesterie. On pourrait suivre le même procédé pour le *P. Halepensis*.

### 3.3. — Greffe de pins d'Alep et *brutia*

Des expériences menées par notre laboratoire et d'autres (Iktueren 1974, Schiller 1984) ont montré qu'il n'y avait pas d'inconvénient à la propagation végétative de deux espèces par

greffage. Dans nos expériences nous avons trouvé que la « greffe en fente » est la méthode la plus efficace à presque 80 %. Il vaut la peine de mentionner que les greffons de pin d'Alep sur des morceaux de racines de *P. brutia* réussissent aussi bien que des greffes sur des morceaux de racine de la même espèce.

### 3.4. — Hybridation

L'hybridation dans le travail de reproduction forestière a trait au croisement des différentes espèces (interspécifiques), ou des différentes subdivisions à l'intérieur d'une espèce (intraspécifique). En agriculture, l'hybridation entre différentes races de la même espèce est un outil d'employé continuellement par les reproducteurs de plantes agricoles. En sylviculture ce type de croisement n'est pas courant, mais comme les expériences de variation géographique deviennent mieux connues, l'hybridation intraspécifique est devenue un important moyen d'obtenir des arbres nouveaux, présentant les meilleures combinaisons des caractères recherchés.

Dans l'hybridation des espèces forestières, le principal objectif est d'obtenir la vigueur de l'hybride; c'est-à-dire que la production de la génération *F1* grandisse plus vite que ses parents. Un autre but de cette méthode de reproduction est la production d'hybrides combinant les caractères les plus recherchés des parents.

L'emploi à grande échelle des hybrides *F1* devrait répondre à l'une ou au deux exigences mentionnées plus haut, et devrait aussi se prêter à la généralisation. En outre, il est possible de développer une utilisation pratique des hybrides, ce qui implique que l'on dispose de lieux propices aux différentes stades de leur adaptation et de leur croissance. Habituellement, les hybrides montrent une vigueur d'hybride dans les « lieux hybrides », c'est-à-dire dans les environnements intermédiaires ou dégradés, parce que, comme on l'a noté au dessus de l'article les espèces pures sont généralement très adaptées à des conditions précises de milieu. (Anderson E. 1953).

*Pinus brutia* et *P. Halepensis* sont deux espèces qui sont étudiées depuis longtemps en ce qui concerne l'hybridation artificielle et naturelle. Comme on l'a fait remarquer, ils se croisent sans difficulté, mais avec une restriction : le *P. brutia* sera toujours le parent femelle (Moulopoulos et Bassiotis 1961, Bassiotis et Metsoopoulos 1976). De vastes études de peuplements naturels et artificiels montrent que les deux espèces, quand elles sont en contact, s'hybrident (Panetsos 1975). Cette même publication (Panetsos 1975) débat très lar-

gement des possibilités et des limites de leur hybridation, et particulièrement des zones utilisables où les hybrides peuvent le mieux s'adapter et pousser.

Dans les expériences d'hybridation artificielle, on a remarqué que la production d'hybrides interspécifiques s'obtenait très facilement par les méthodes conventionnelles de croisements; cet ensemble de graines était comparable à l'espèce pure, mais le taux de germination obtenu était d'environ 25 % alors que dans l'espèce pure ou les croisements intraspécifiques il se situe autour de 75-95 %. (Panetsos 1981). En outre, on a remarqué que la fertilité s'accroissait considérablement dans les générations suivantes (*F2* et *BC*). Spécialement en *F2*, le taux de germination 61-70 % n'était pas beaucoup plus bas que chez l'espèce pure. La seule exception s'est manifesté quand *P. Halepensis* a été utilisé comme parent femelle en croisement avec *F1*. Dans ce cas particulier le taux de germination a été d'environ 24 %, assez haut pour produire un grand nombre de plants.

Le taux de germination obtenu des expériences de croisements peut-être considéré comme acceptable quand à la production en masse d'hybrides, si, bien sûr, elles rencontrent les conditions requises précédemment mentionnées dans ce chapitre.

L'évaluation récente des hybrides *F1* et autres combinaisons (*F1* et *BC*) 15 années après leur plantation dans quatre sites différents du Nord de la Grèce, montre que les hybrides *F1* possèdent la vigueur d'hybride dans toutes les stations (Panetsos et al., 1983). Leur supériorité de croissance sur les espèces pures variait de 5 à 190 %, selon le site planté et les caractères particuliers des parents qui furent croisés pour produire les hybrides. La vigueur de l'hybride se manifeste dans les habitats intermédiaires et dégradés, ou hors de la distribution naturelle de l'espèce pure, mais toujours à l'intérieur de leur zone écologique. *F1* se révèle être plus résistante aux températures minimales que *P. Halepensis*, et on voit que *P. brutia* se conduit comme dominant dans ce caractère particulier. *F2* et *BC* sont toujours inférieurs en croissance, comparés aux hybrides *F1*, au moins dans l'environnement dans lequel sont situés les tests.

Ces résultats, concernant la vigueur et l'adaptation en liaison avec les zones favorables aux plantations en Grèce et ailleurs dans la région méditerranéenne, montrent que les hybrides *F1* peuvent être utilisés directement dans la pratique. Le principal intérêt toutefois est la production de semence hybride en grande quantité et à un coût raison-

The fulfilment of this requirement can be achieved in different ways. One approach could be the establishment of several biclonal seed orchards, a method applied by Hyun (1976) for mass production of Pitch pine  $\times$  Loblolly pine hybrids.

Another approach which might also be considered, is the establishment of a multiclonal plantation of *P. brutia*, by keeping its clone in separate block. The same applies to selected and grafted plus trees of *P. halepensis*; both orchards being isolated by distance from each other and trees of the same species. When *P. brutia* starts flowering, male flowers will be removed by hand, while females will be pollinated by using a pollen-dispersing device. In this way all seeds will be of hybrid origin, and each clone will be pollinated with pollen of desirable clone(s) of the other species.

Information of specific combining ability can be obtained by raising full-sib families from controlled pollination of each selected *P. brutia* tree with several males. It is anticipated, that if crossing is performed at the time of plus tree selection, enough data will be available by the time the orchard starts flowering.

## K.P.P.

## Références

- ANDERSON, E. 1953. — Introgressive hybridization. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 28, 280-307.
- ARBEZ, M. 1974. — Distribution, ecology and variation of *Pinus brutia* in Turkey. FAO, Forest, Gen. Res. Infor. N° 3: 21-33.
- BELLEFONTAINE, R., et RAGGABI, M. 1977. — Contribution à l'étude des pins de la section *Halepensis* (*P. brutia* ten., *P. eldarica* Medw., *P. halepensis* Mill.) au Maroc. Annales de la recherche Forestière au Maroc. Vol. 17. 191-232.
- CHAPERON, H., ALAZARD, P., and BRUNET, M. 1983. — Place du bouturage dans le programme d'amélioration génétique du pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.). Annales A.F.O.C.E.L.
- DEBAZAC, F.E., and TOMASSONE, R. 1965. — Contribution à une Etude comparée des pins Méditerranéens de la section *Halepensis*. Annales Sc. For. 22 : 213-256.
- GRUNWALD, C., SCHILLER, G., and CONKLE, M.T. 1984. — Isozyme variation among populations of *Pinus halepensis*, *P. brutia* and related species. Israel Ministry of Agriculture, Agricultural Research Organization, Special publication, No 228 : 6-7.
- HYUN, S. K. 1976 : Interspecific Hybridization in Pines with the special Reference to *Pinus rigida*  $\times$  *taeda*. Silvae Genetica 25, 188-191.
- IKTÜREN, S. 1974. — Studies on the grafting technique of *Pinus brutia*. Orm. Ar. Enst. Yayınları. Bull No 75.
- MATZIRIS, D., and COOLING, N.E. 1982. — Differences among ten-year-old provenances of *Pinus brutia*. Dasiki Erevna 2, (III) : 97-121.
- MOULALIS, Chr., and BASSIOTIS, K. 1961. — Artificial hybrids of *P. halepensis* and *P. brutia*. Annales of Agr. and For. Faculty Thessaloniki, V-6: 159-185.
- MOULALIS, D., BASSIOTIS, K., and MITSOPoulos, D. 1976. — Controlled pollinations among Pine species in Greece. Silvae Genetica 25, (3-4): 95-107.
- NAHAL, I. 1962. — Le Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill). Etude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. Annales de l'Ecole Nationale des Eaux et Forêts et de la Station de Recherches et Expériences. T. XIX, Fasc. 4, pp 1-208 Nancy.
- NAHAL, I. 1983. — Le Pin Brutia (*Pinus Brutia* Ten. subsp. *brutia*). Première partie. Forêt méditerranéenne, t. v, No 2 : 165-172.
- NAHAL, I. 1984. — Le Pin Brutia (*Pinus brutia* Ten. subsp. *brutia*). Deuxième partie. Forêt méditerranéenne, t. vi, No 1 : 5-16.
- PALMBERG, C. 1975. — Geographic Variation and Early Growth in South-eastern Semi-arid Australia of *Pinus halepensis* MILL, and the *P. brutia* TEN. Species Complex. Silvae Genetica 24: 150-162.
- PANETSOS, K.P. 1975. — Natural hybridization between *Pinus brutia* and *P. halepensis* in Greece. Silvae Genetica 24, 5-6: 163-168.
- PANETSOS, K.P. 1981a. — Dwarfism in Aleppo pine (*Pinus halepensis* MILL.), origin-inheritance. Lab. of Forest Gen. Un. Thess: pp 13.
- PANETSOS, K.P. 1981b. — Monograph of *Pinus halepensis* (MILL) and *P. brutia* (TEN). Annales Forestales, vol. 9, No 2: 39-77, Zagreb.
- PANETSOS, K.P., MOULALIS, D., and MITSOPoulos, D. 1983. — Artificial hybrids between *Pinus brutia* and *P. halepensis* in Greece. Growth-Adaptation. Lab. of Forest Gen. and For. Pl. Breeding. Un. Thessaloniki.
- PAPAMICHAEL, P. 1970. — Landwirtschaftsministerium Forstliche Versuchsanstalt Untersuchungen Über Hartzung Der. Brutischen Kiefer "Pinus brutia Ten". Imwald Von "Platanion" Der Insel Rhodos. For. R. Inst. Athens, No 41 (Gr. Ger. Fr. Sum.).
- SCHILLER, G. 1984. — Grafting of Aleppo pine. Israel Ministry of Agriculture. Agricultural research organization. Special publication, No 228, pp 13.
- SQUILLACE, A.E. 1965. — Combining superior growth and timber quality with high gum yield in slash pine. South. Forest Tree Impr. Conf. Proc., 8. 73-76.
- VIDAKOVIĆ, M., and KRSTINIĆ, A. 1974. Contribution to the study of the morphological variability of spontaneous hybrids between Aleppo pine and Brutian pine. Assise Sc. Ac. Serbe des Sc. et des Arts, No 1. Beograd.

nable. Dans une publication antérieure (Panetsos 1981) différents schémas ont été examinés pour la production en masse de semence d'hybrides F1 obtenues en pollinisation libre. De nouvelles découvertes, cependant montrent que le facteur de succès le plus important n'est pas la production de semence par croisement des meilleurs arbres sélectionnés, mais le croisement de parents montrant une aptitude spéciale à la combinaison.

La réalisation de cette exigence peut être atteinte par différents moyens. Une approche pourrait être l'installation de plusieurs pépinières biclonales, méthode appliquée par Hyun (1976) pour la production en masse d'hybrides de Pitch pine  $\times$  Loblolly pine.

Une autre approche qui peut aussi être envisagée, est l'installation d'une plantation multiclonalement de *P. brutia*, en gardant ses clones dans des blocs séparés. On appliquerait la même méthode pour sélectionner et greffer les meilleurs arbres de *P. halepensis*; les deux vergers seraient séparés l'un de l'autre ainsi que les arbres d'une même espèce. Quand *P. brutia* commencera à fleurir, les fleurs mâles seront enlevées à la main, tandis que les femelles seront pollinisées avec un appareil à disperser le pollen. De cette façon, toutes les graines seront d'origine hybride, et chaque clône sera pollinisé avec le pollen du clone désiré de l'autre espèce.

On obtient des informations sur l'aptitude à la combinaison des différentes espèces en produisant des familles à partir d'une pollinisation contrôlée de chaque *P. brutia* par différents mâles. On peut prévoir que si le croisement a lieu à l'époque de la sélection des meilleurs arbres, il y aura assez de données à l'époque du début de la floraison du verger.

## K.P.P.