

## ÉTUDE DE LA LONGEVITE DU POLLEN DE COLZA SOUMIS A DIFFERENTES CONDITIONS DE TEMPERATURE ET D'HYGROMETRIE

### *RAPSEED POLLEN LONGEVITY UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF TEMPERATURE AND HYGROMETRY*

#### **J. PIERRE**

UMR INRA/ENSAR, Bio 3P, BP 35327, 35653 Le Rheu cedex

#### **M. RENARD**

UMR INRA/ENSAR, Amélioration des plantes et Biotechnologies végétales. INRA, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu cedex

#### **RESUME**

Du pollen de colza a été soumis à 4 conditions de température et d'hygrométrie (conditions extérieures ; 20°C et HR<sup>1</sup> 60 % ; 20°C et HR 40 % ; 3 à 5°C. et HR variable de 40 à 95 %) pendant une durée de 0 à 15 jours. Sa viabilité a été mesurée par un test de coloration au TTC (Triphényl tétrazolium chloride). Les résultats montrent que la viabilité du pollen décroît très rapidement au bout de huit jours. C'est en conditions extérieures que la longévité est la plus courte (taux de viabilité de 9% à 8 jours). Les conditions les plus conservatrices sont celles correspondant à une faible température même lorsque l'hygrométrie peut être très élevée. Dans tous les cas, la longévité ne dépasse pas 15 jours. Les tests de viabilité étant réputés peu fiables, l'étude de la longévité a été complétée par un test du pouvoir fécondant du pollen sur fleurs mâles stériles coupées maintenues en culture. Malgré les difficultés de mise en œuvre de ce dernier test, les résultats obtenus sont

conformes au test de viabilité par coloration : la durée de vie du pollen de colza n'excède pas 15 jours.

Ces résultats amènent deux conclusions. La première est d'ordre technique : le test TTC de viabilité, simple et rapide, donne une bonne estimation du pouvoir fécondant effectif du colza. La seconde concerne les risques de dispersion de pollen par le vent sur de longues distances : le pollen une fois mis en suspension dans les couches supérieures de l'atmosphère où la température est faible et l'hygrométrie très variable conserve son pouvoir fécondant suffisamment longtemps pour subir sans dommage un transport atmosphérique durant plusieurs jours.

---

<sup>1</sup> HR : humidité relative

## SUMMARY

Pollen longevity of oilseed rape was studied under 4 conditions of temperature and relative humidity (external conditions ; T° 20°C., RH 40% ; T° 20°C., RH 60% ; T° 3 to 5°C., RH 40 to 95%) and stored during 0 to 15 days. Longevity was measured by viability (Triphenyl Tetrazolium Chlorid stainability test) and by pollination effectiveness which was tested on cut female flowers (fruit set and number of seeds per pod). The results showed that the viability decreased until 8 days. Low temperature with variable RH was the most conservative treatment (9% on the 8th day). In all conditions, viability did not exceed 15 days. The testing of pollination effectiveness was more difficult to manage, nevertheless the

results were in accordance with the viability tests. Our results indicate a higher longevity than that previously described in the literature (3 days).

The results lead to two conclusions. First, the TTC stainability test is a rapid and reliable method to study OSR pollen longevity and could be used to study the variability of pollen longevity in various oilseed rape varieties. Second, when considering the longevity of pollen stored under variable conditions and especially under low temperature, it can be assumed that a long distance and efficient pollen dispersal over several days in the atmosphere is likely.

## INTRODUCTION

Dans le cadre des études de risques de dissémination du pollen, en connaître la longévité permet de savoir combien de temps une parcelle, dont la floraison est terminée, reste une source de pollen fécondant. Par ailleurs, diverses études menées sur la dissémination du pollen de colza comportent des éléments contradictoires qu'une étude de la longévité du pollen pourrait permettre de mieux comprendre. En effet, alors qu'il apparaît clairement que ce pollen est peu anémophile et qu'au niveau de la parcelle sa dispersion se fait sur de courtes distances, des cas de contaminations sur de grandes distances ont été signalés et les relevés palynologiques effectués sur des filtres (placés à 10 m de hauteur voire plus) confirment que ce pollen peut se disperser sur de grandes distances. Si l'on fait l'hypothèse que cette dernière dispersion se fait par le biais de la mise en suspension du pollen dans l'air dans les couches de l'atmosphère et que son transport dure un certain temps, il devient également nécessaire de connaître la durée de vie du pollen pour mieux évaluer les risques de ce type de dissémination.

Au plan méthodologique, mesurer la longévité du pollen peut *a priori* paraître simple. Cependant, les critères retenus peuvent être divers : mesure de la viabilité, mesure du pouvoir germinatif *in vitro* ou *in vivo*, mesure du pouvoir fécondant réel. Dans chacun des cas, les techniques appliquées sont différentes et chacune comporte des biais parfois importants. L'objectif de notre travail a donc été double : mesurer la longévité du pollen de colza dans diverses conditions de température et d'hygrométrie correspondant à des situations types et tester cette longévité selon deux méthodes très contrastées afin de valider au mieux les résultats et choisir à l'avenir la méthode la plus fiable.

## MATERIEL ET METHODES

Du pollen de colza (cv. 'Tanto') a été prélevé au tout début de l'anthèse et maintenu durant 15 jours dans les 4 conditions de température et d'humidité relative suivantes :

Traitement 1 : conditions extérieures

T° de 11 à 18°C., HR de 66 à 92 %, année 1

T° de 10 à 33°C., HR de 60 à 95 %, année 2

Traitement 2 : T° 20°C., HR 40 % (16h jour ; 8h nuit)

Traitement 3 : T° 20°C., HR 60 % (16h jour ; 8h nuit)

Traitement 4 : T° 3 à 5° C., HR de 40 à 95 % (16h jour ; 8h nuit)

Les tests ont été effectués sur le pollen aux jours J, soit à Jo (pollen frais), J3, J8, J10, J15.

Pour des raisons de planning, les tests ont été répartis en 3 séries dans le temps : les deux premières à 1 jour d'intervalle, la troisième une semaine plus tard.

### Mesure de la viabilité

Le test de coloration par TTC (Triphényl Tétrazolium Chloride) a été retenu comme paraissant, selon la littérature, le plus fiable et le plus rapide. Il est fondé sur une réaction d'oxydo-réduction. Le taux de viabilité a été évalué par le ratio grains colorés en rouge (= viables)/grains totaux, en %. Les comptages ont été faits sur 30 grains et répétés 12 fois par traitement.

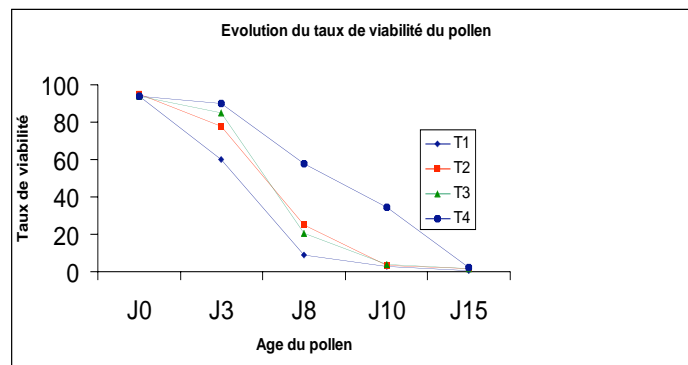
### Mesure du pouvoir fécondant sur fleurs mâles stériles coupées

Le pollen a été déposé sur des fleurs mâles stériles ('Fu-Tanto') coupées et maintenues en culture durant 40 jours selon une technique développée par ailleurs. Les dépôts ont été faits de sorte que le stigmate soit largement recouvert de grains de pollen. Le pouvoir fécondant a été mesuré par le taux de nouaison (nombre de fleurs ayant donné des siliques/ nombre de fleurs, en %) et par le nombre de grains par silique. Soixante fleurs ont été testées par traitement.

## RESULTATS.

### Mesure de la longévité par le test TTC de viabilité

Graphique 1



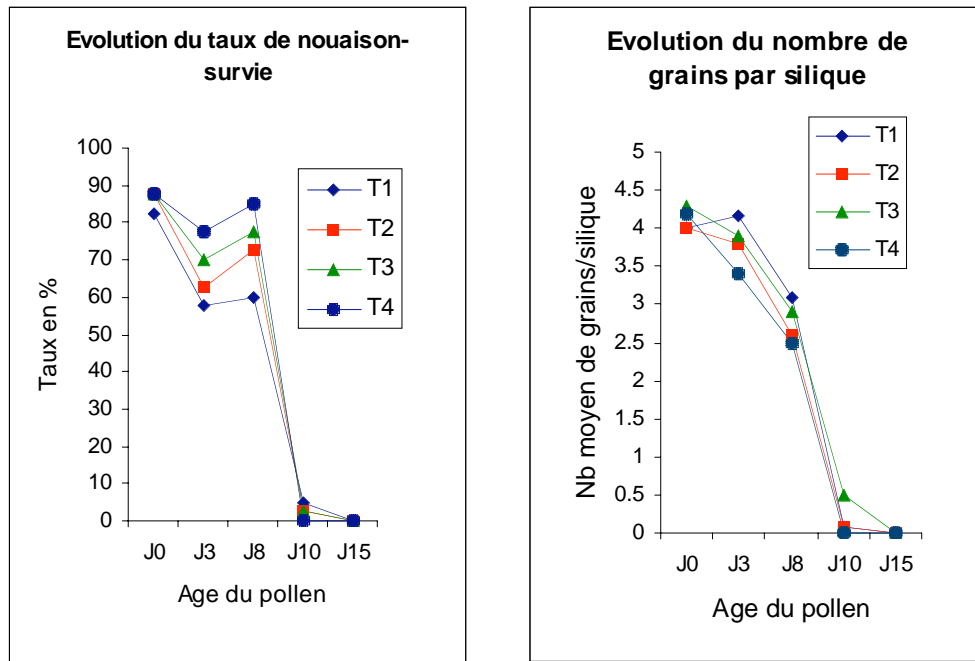
Le suivi de l'évolution du taux de viabilité du pollen (Cf. *Graphique 1*) montre que celui-ci n'excède pas une longévité de 15 jours. Au bout de 8 jours ce taux est faible (9 %) pour du pollen soumis aux conditions extérieures très variables (T1). À une température constante de 20°C. une différence d'hygrométrie de 25 % (40 % versus 65 %) n'a pas d'incidence sur l'évolution de la viabilité (T2 versus T3.) Ce sont les basses températures qui permettent le meilleur maintien de la viabilité (T4 : 35 % à J10), ceci malgré une hygrométrie parfois très élevée.

### Mesure de la longévité par le pouvoir fécondant

Les données relatives au taux de nouaison sont délicates à interpréter. En effet, une fleur non fécondée ne développe pas de siliques et est très sensible aux attaques par les champignons et bactéries malgré les conditions stériles dans lesquelles ont été réalisées les manipulations. En même temps, lorsque la plante est contaminée, il est impossible de savoir s'il y a eu ou non formation effective d'une silique et de graines. Les taux de nouaison sont donc aussi le reflet du taux de survie. Par ailleurs, les comptages de graines par siliques bien formées montrent que ceux-ci ne dépassent jamais 9, ce qui est l'indice d'une mauvaise fécondation (espérance habituelle : 20 graines par silique). Cet échec de pollinisation n'atteste pas pour autant une absence de viabilité du pollen mais peut aussi provenir du fait que la plante femelle est placée dans des conditions de survie.

Malgré ces restrictions, il est possible de dégager de l'ensemble des données (Cf. *Graphiques 2 et 3*) les conclusions suivantes : le taux de nouaison-survie des plantes pollinisées avec du pollen frais est assez élevé (85 %) mais le nombre de graines par silique est faible (4 en moyenne). Le taux de nouaison reste non négligeable pour un pollen âgé de huit jours dans le cas des traitements T1, T2, T3 (de 60 à 77 %) et il faut noter que c'est, une fois encore, le traitement T4 qui est le plus conservateur (85 %). Le taux décroît ensuite très rapidement et devient nul pour un pollen âgé de 15 jours. Le nombre de graines par silique formée décroît de la même manière, mais aucune différence n'apparaît entre les traitements, sans doute parce que le nombre de grains produits est trop faible.

Graphiques 2 et 3



## CONCLUSION

Il s'avère que les deux méthodes appliquées pour étudier la longévité du pollen, bien que très différentes, donnent des résultats concordants. Il semble acquis que, pour le cv. " Tanto ", la durée de vie du pollen n'excède pas 10 à 15 jours. Techniquement, l'étude du pouvoir fécondant *in vivo* sur fleur coupée est longue à mettre en œuvre et comporte de nombreux aléas liés à la technique elle-même (risque de contaminations, maintien de la fleur femelle en conditions artificielles). Elle présente, de plus, l'inconvénient d'introduire une interaction entre le pollen et l'état physiologique de la plante réceptrice. À l'avenir, on pourra retenir le test de viabilité par coloration TTC comme étant une technique rapide et fiable pour mesurer la longévité de diverses variétés de colza.

Les résultats montrent que, contrairement à ce qui est généralement rapporté sur les conditions de stockage du pollen, une hygrométrie élevée n'entraîne pas une réduction de la durée de vie sous réserve que les températures soient assez basses (3 à 5°C). De même, les fortes pluies et fortes variations de température ou d'ensoleillement enregistrées en conditions extérieures (bilan sur 2 années) permettent une durée de vie d'une semaine à 10 jours. Ces valeurs sont supérieures à celles trouvées au cours de test de germination effectués *in vitro* lors d'études précédentes. Compte tenu de ces données récentes, on peut admettre qu'une parcelle source restera contaminante un peu plus d'une semaine après la fin de floraison et que le pollen, quand il est mis en suspension dans les couches supérieures de l'atmosphère (abaissement de la température de 0,7°C par 100m), conserve une viabilité qui permettra des contaminations à distance, même après plusieurs jours de transport par le vent.

## REFERENCES

- Lavigne C., Klein E., Vallée P., Pierre J., Godelle B., Renard M., 1998. A pollen dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theor. appl. Gen.*, 96, 886-896.
- Lardon A., 1991. *Mise au point d'une technique de culture de fleurs isolées chez le colza*. Rapport de stage, Univ. Claude Bernard, Lyon, 18 p.

- Mesquida J., Renard M., 1982. Étude de la dispersion du pollen par le vent et de l'importance de la pollinisation anémophile chez le colza (*Brassica napus* L., var. *oleifera* Metzger). *Apidologie*, 13, 353-366.
- Mesquida J., Renard M., Mesquida B., 1987. Étude préliminaire sur la germination *in vitro* du pollen de colza (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzger) et sur l'évolution dans le temps de son aptitude à germer. *Agronomie*, 7, 409-416.
- Pierre J., Renard M., 2002. La longévité du pollen de colza. *OCL*, Volume 9, N°1, janvier-février 2002), pp 11 -13.
- Triboi-Blondel A.M., Castano-Colabelli M., Merrien A., 1991. Germinability and viability of rapeseed pollen under the effect of temperature. *Proc. 8<sup>th</sup> Intern. Rapeseed Congress*, Saskatoon, Canada, 9-11 July 1991.