

Technique de pollinisation contrôlée du *Tabebuia heterophylla* ou Poirier pays

Chantal Flereau Lunion¹



Résumé. L'espèce *Tabebuia heterophylla*, implantée dans le bassin Caraïbéen, possède la particularité de pousser dans les zones à saison sèche marquée. C'est un arbre dont la taille atteint une vingtaine de mètres de haut, fournit un excellent bois d'œuvre très prisé par les menuisiers et les ébénistes. Les sujets aux troncs bien conformés ont été surexploités, entraînant la diminution de la population intéressante. Afin de remédier à la disparition de la ressource exploitable, l'ancienne Unité de Recherche Forestière de l'Inra de Guadeloupe fermée en 2002 a lancé une étude sur l'amélioration génétique de cet arbre. La première étape de ce travail a concerné la pollinisation contrôlée de cette espèce. Cela a commencé par la sélection d'arbres dans les Petites Antilles pour la mise en place, sur le site de Duclos, de deux parcs à clones et d'un verger à graines. Nous avons ensuite pollinisé les clones avec le mélange de pollen (polycross) et obtenu des plants aptes à subir les tests de descendance.

Mots clés : Pollinisation contrôlée, *Tabebuia heterophylla*, conservation du pollen, pool pollinique, polycross, induction florale.

Abstract. The species *Tabebuia heterophylla*, implanted in the Caribbean basin, has the particularity of growing in areas with a marked dry season. It is a tree whose size reaches twenty meters high, provides excellent timber highly valued by carpenters and cabinetmakers. Subjects with well-shaped trunks have been overexploited, resulting in the decrease of the interesting population. In order to remedy the disappearance of the exploitable resource, the former Forest Research Unit of the Inra Guadeloupe closed in 2002 launched a study on the genetic improvement of this tree. The first step of this work involved the controlled pollination of this species. This began with the selection of trees in the Lesser Antilles for the establishment of two clone parks and a seed orchard on the Duclos site. We then pollinated the clones with the mixture of pollen (polycross) and obtained plants suitable for progeny tests.

Keywords. Controlled pollination, *Tabebuia heterophylla*, pollen conservation, pollen pool, polycross, floral induction.

Introduction

L'espèce *Tabebuia heterophylla*, implantée dans le bassin Caraïbéen, très prisée par les menuisiers ainsi que les ébénistes est un arbre dont la taille atteint une vingtaine de mètres de haut qui fournit un excellent bois d'œuvre et ayant la particularité de s'implanter dans les zones à saison sèche marquée. Sa surexploitation a entraîné une forte diminution des sujets aux troncs bien conformés. L'Unité de Recherche Forestière de l'Inra de Guadeloupe a lancé une étude sur l'amélioration génétique de cet arbre afin de remédier à la disparition de la ressource exploitable. La première étape de ce travail a concerné la pollinisation contrôlée de cette espèce.

¹ Unité de Recherche ASTRO (Agro Système Tropicaux)

chantal.flereau@inra.fr

La pollinisation contrôlée du *Tabebuia heterophylla* est une technique qui, après sélection, permet d'obtenir des arbres à la conformation améliorée. Elle peut être qualifiée de « contrôlée » ou « dirigée » puisque les provenances des pollens sont connues et que l'opération s'effectue manuellement.

Une étape de prospection a débuté en 1990 sur plusieurs îles des Petites Antilles. Elle a conduit à la sélection de 100 arbres sur lesquels des greffons ont été prélevés permettant la mise en place, sur un même site, des dispositifs expérimentaux.

Nous avons collecté le pollen sur ces différents arbres afin de constituer une collection de pollens à partir de laquelle a été créé le mélange de pollen dit : polycross ou « pool pollinique ». Nous avons pollinisé 31 % des arbres du verger à graines avec le polycross et obtenu des plants destinés à subir des tests de descendance selon 3 critères : conformation du tronc, résistance à la sécheresse et croissance (ex : hauteur, circonférence du tronc).

Cet article ne rend compte que des résultats de la pollinisation².

Description et caractéristiques botaniques du *Tabebuia heterophylla*

Famille	Genre	Nom	Nom vernaculaire
Bignoniaceae	Tabebuia	<i>Tabebuia heterophylla</i> (DC.) Britt., 1915	Poirier pays

Le *Tabebuia heterophylla* est un arbre à tronc cylindrique présentant souvent de profondes cannelures et fissures, avec des feuilles simples (1 foliole) à composées (3 à 5 folioles), et une fleur rose ou blanche en forme de trompette qui fructifie en gousses ou siliques portant en moyenne 120 graines ailées. Il a deux périodes de floraison : la première, plus importante, en début du mois d'avril et la seconde en début du mois d'octobre. La durée de vie de la fleur (1 jour), le Pic de nectar, les insectes floricoles et leur comportement (*Apis mellifica* ou abeille, *Xylocopa mordax* ou abeille charpentière), la déhiscence des anthères, la PEP (Période effective de pollinisation) ont fait l'objet d'études antérieures (Torregrossa et al., 1996). L'arbre est doté de caractéristiques qui ont permis une meilleure exploitation des possibilités pour la pollinisation :

- pollinisation originale sans émasculature ;
- lobes stigmatiques se refermant dans les secondes après la charge pollinique adéquate ;
- fructification rapide qui intervient 39 jours après la pollinisation.

Matériel et méthodes

La constitution des parcs et du verger à graines

Les prospections ont été menées sur diverses îles des Petites Antilles, (Guadeloupe, Marie-Galante, Martinique, Dominique, Sainte-Lucie, Saint-Vincent, Montserrat, Terre de Bas, Union et Bequia).

La sélection des 100 arbres a été faite suivant les critères de conformation cylindrique du tronc et la circonférence de 100 cm minimum, mesurée à 1,50 m du sol. Une dizaine de greffons a été prélevée par arbre puis greffée en pépinière. Ils serviront à constituer :

- des parcs à clones (arbres identifiés selon l'origine des greffons, permettant la conservation du patrimoine génétique)
- un verger à graines (arbres sous serre, en milieu contrôlé, destiné à la pollinisation et à la récolte de semences)



² Ce travail a été réalisé avec la collaboration de mon responsable de programme P. LABBE, un entomologiste J-P TORREGROSSA, deux techniciens S. PREDINE et T. MESINELE ainsi que le personnel du laboratoire de semences et de pollen de l'Unité de Recherche Forestière d'Orléans.

La création des collections de pollen

Les collections de pollen ont été constituées de février 2000 à mai 2001. Cette longue période s'explique par le fait que la floraison n'est pas synchronisée pour les 100 arbres et que les conditions phytosanitaires n'étaient pas toujours favorables, notamment, à cause des invasions de thrips (insectes pollinivores) et de chenilles.

La viabilité du pollen dépend des étapes précédant sa conservation ainsi que son conditionnement.

Avant la mise en conservation

La récolte des fleurs : entre terrain et laboratoire

Afin d'éviter toute intrusion d'insectes ou autres nuisibles, les inflorescences devant être collectées sont mises la veille dans des sachets troués. La déhiscence des anthères s'effectuant autour de 11 h, l'heure optimale pour cette récolte est entre 8 h et 10 h. Les fleurs étant très fragiles, il est important de les placer dans une glacière $18 \pm 2^\circ\text{C}$ dès le prélèvement. Il faut un minimum de 10 fleurs pour obtenir 1 à 3 mg de pollen.

Conditions ambiantes

L'extraction du pollen doit se faire à une température d'environ 20°C et une humidité relative (HR) de 45 %. Il est nécessaire de travailler dans une **salle climatisée deshumidifiée** : cela permet d'optimiser les conditions d'extraction et d'augmenter la quantité de pollen viable.

Forçage des sacs polliniques

Il faut se placer au-dessus d'une boîte de pétri et à l'aide de deux pinces chirurgicales courbées, tenir le sac pollinique, exercer une pression afin de l'ouvrir et d'en faire tomber le pollen. Les boîtes doivent être larges et peu profondes pour assurer une meilleure répartition du pollen et ainsi, favoriser un dessèchement homogène.

Les conditions de la conservation

Le séchage du pollen

De tous les facteurs intervenant durant la conservation, la teneur en eau est le plus important. Pour une conservation optimale une teneur en eau entre 7 et 8 % est requise. Nous avons opté pour le **séchage lent** en présence de solution saturée de CaCl_2 de façon à ne pas abîmer les pollens fragiles. L'opération nécessite un dessiccateur dont la partie inférieure contient la solution. Les boîtes de pétri avec le pollen sont installées immédiatement après le forçage sur le séparateur (voir photo ci-dessous).

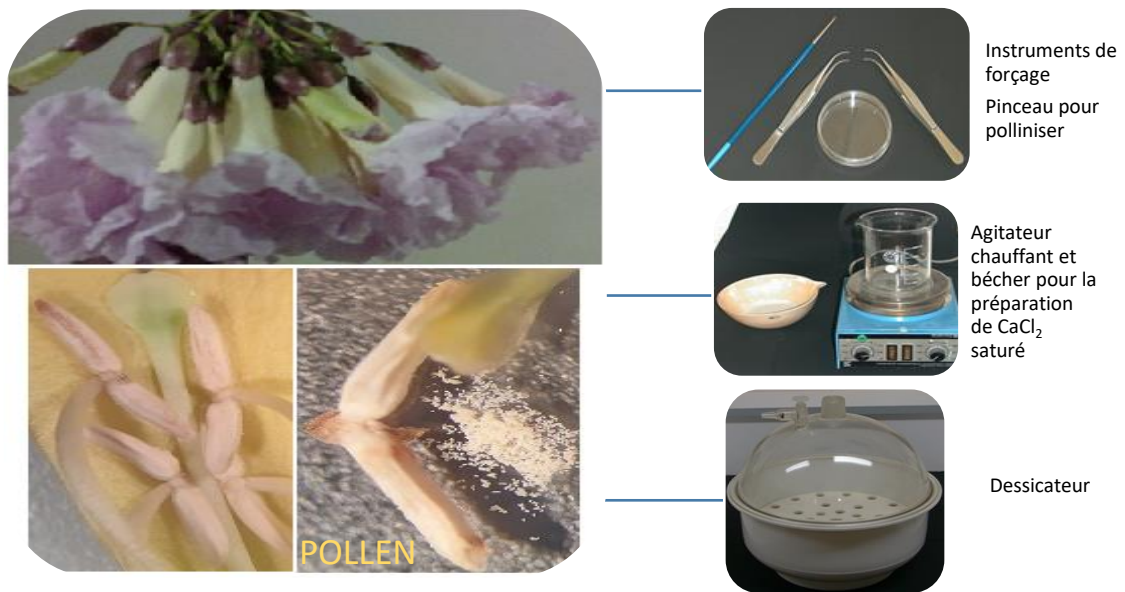


Figure 1. Matériel végétal et équipements

Le conditionnement du pollen et la mise en conservation

La meilleure façon de conditionner le pollen, c'est d'éviter sa réhydratation. C'est pour cela que l'on travaille dans une **salle climatisée** où un **déshumidificateur** permet d'atteindre un taux d'hygrométrie proche de 45 %. Les microtubes utilisés peuvent produire de l'électricité statique rendant leur remplissage difficile. L'opération consiste à insérer l'échantillon dans un tube identifié et de le mettre sur des portoirs en fonction des numéros des collections, puis conserver les collections au congélateur à -20°C .

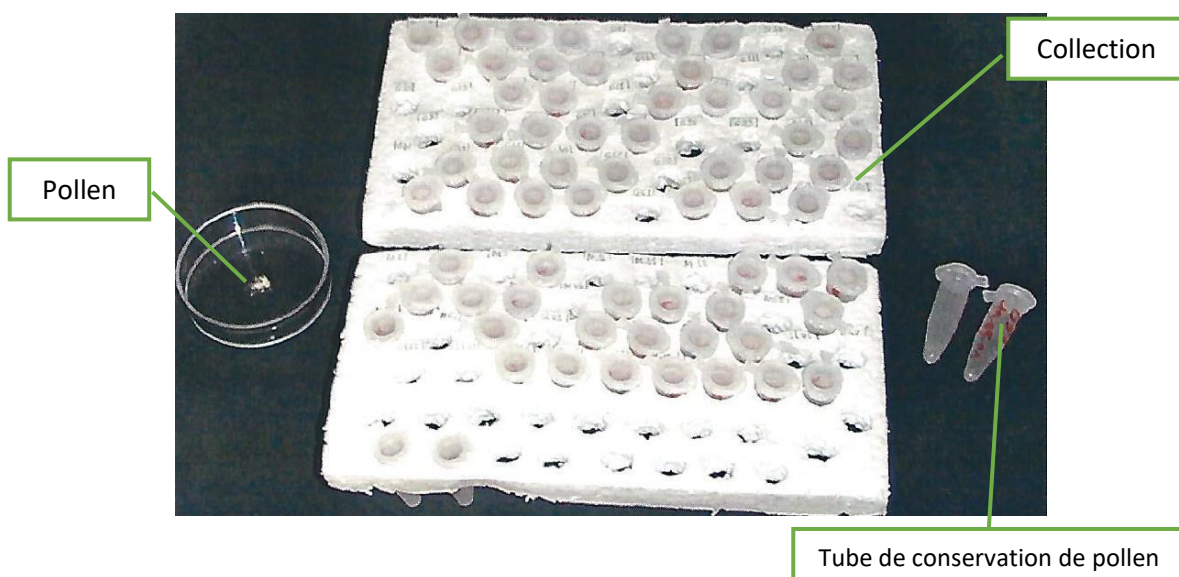
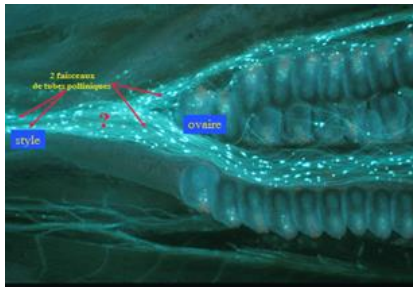


Figure 2. Portoir de fabrication artisanale en polyéthylène pour la conservation des pollens

La pollinisation



La pollinisation consiste à déposer sur les fleurs sélectionnées de chaque pied mère, le mélange de pollen issu des 70 clones. Le père ne pouvant être identifié, c'est la mère qui sera testée selon les critères définis.

Pour pouvoir polliniser :

- la veille, afin d'éviter toute pollinisation des fleurs choisies, introduire les groupes de fleurs dans un sachet en papier (type fruits et légumes) préalablement troués pour l'aération. Agrafes les sachets pour les maintenir à la tige ;
- le lendemain, à température ambiante, prendre la collection de pollen la plus complète. Transvaser le contenu des microtubes, dans un bocal en verre et agiter afin d'obtenir un mélange homogène ;
- enlever les sachets protégeant les fleurs ;
- plonger les poils d'un petit pinceau fin dans le mélange pour le charger de pollen ;
passer le pinceau sur le stigmate de chacune des fleurs ouvertes. Les lobes stigmatiques se referment dans les secondes suivant la pollinisation, évitant l'introduction d'un autre pollen. Les fleurs ne sont de ce fait plus ensachées.
- Identifier la fleur pollinisée en faisant une marque à l'aide d'un emporte pièces sur le calice ;
- étiqueter la branche : nombre total de fleurs et nombre total sur l'arbre, par exemple 6/10 ;
- sept jours après la pollinisation, mettre les petites siliques dans des filets de tulle afin de les protéger de l'attaque des chenilles, en prenant soin de glisser dans le filet une étiquette avec des informations complètes.

Qu'est-ce que la pollinisation ?

La pollinisation est un des services écosystémiques rendus par la biodiversité.

Elle correspond, chez les plantes à fleurs (angiospermes et gymnospermes), au transport du pollen des organes reproducteur mâle (étamines) vers le, ou les, organes de reproduction femelle (pistil) qui va rendre possible la reproduction sexuée. C'est le stade préalable à la fécondation dans le cycle de vie de ces plantes.

Lorsque le transport du pollen a lieu à l'intérieur des fleurs, il s'agit d'**autopollinisation**. Lorsque le pollen d'une fleur se dépose sur les stigmates d'une autre fleur de la même espèce, on parle alors de **pollinisation croisée** ou **allopollinisation**. Cette dernière peut être effectuée, par exemple par un insecte pollinisateur, tel que l'abeille ou encore par le vent.

La récolte de semence

La récolte des semences a été effectuée 39 jours après la pollinisation en veillant à laisser les siliques s'ouvrir d'eux-mêmes, ce qui est un signe de maturité.

Les semences qui sont des graines sèches ailées ne nécessitent aucun traitement. Elles peuvent être stockées dans le bac à légumes d'un réfrigérateur (+4°C) pendant environ 8 mois, ce qui conserve leur pouvoir germinatif.

Après la récolte des semences, un test de germination a été effectué sur 10 semences issues de deux clones (G57 et G58).



Résultats et analyses

Les collections de pollen

Plusieurs campagnes de récolte de pollen ont eu lieu en fonction de l'avancée des floraisons, nous permettant de constituer plusieurs collections.

Pour le mélange de pollen qui a servi à la pollinisation, nous avons utilisé la collection la plus complète. Elle contenait des pollens issus de clones provenant de chacune des îles, pour un total de **70 %** de la totalité des arbres.

Les provenances

Le tableau 1 indique en fonction de l'île d'origine, le nombre total d'individus greffés, le nombre d'individus sur lesquels du pollen a été prélevé, le pourcentage d'individus ayant été pollinisés et le nombre d'arbre ayant donné des semences.

Provenance	Sigle	Nombre d'individus issus de greffe	Nombre d'individus ayant fourni du pollen	Nbre d'arbre pollinisés	Taux de pollinisation (%)	Nbre d'arbres ayant donné des semences
BEQUIA (iles Grenadines)	BEQ	2	2	0	0	0
DOMINIQUE	DOM	8	7	3	38	3
GUADELOUPE	GUA	46	33	13	28	10
MARTINIQUE	MAR	14	10	5	36	4
MARIE-GALANTE (Gpe)	M-G	7	5	3	43	2
MONTERRAT	MST	1	1	1	100	1
SAINT-LUCIE	SLU	9	5	5	56	3
SAINT-BARTHELEMY (Gpe)	STB	1	1	1	100	1
SAINT-VINCENT	STV	2	2	1	100	1
TERRE-de-BAS (Gpe)	TDB	1	1	0	0	0
UNION (iles Grenadines)	UNI	3	3	1	100	1
TOTAUX		94	70	33		

Tableau 1. Taux d'utilisation des individus selon leur provenance

Utilisation d'une collection de pollen

De toutes les provenances ayant été pollinisées par le mélange de pollen, seules deux ne sont pas représentées (Bequia et Terre de bas). Aussi, 5 des 33 clones n'ont pas produit de pollen. Dans ce cas, les graines provenant de ces cinq clones sont issues d'allofécondation. Pour les 28 autres clones, les graines recueillies, proviennent à la fois d'autofécondation et d'allofécondation puisque leur propre pollen est présent dans le polycross.

Le tableau 2 fait ressortir, sur les 33 clones pollinisés, ces deux types de pollinisation.

- Le nombre moyen de graines attendu après la récolte est de 4 080 (34 x 120). Nous avons collecté 3 908 graines. Cela indique un bon taux de fructification (95,78 %) pour cette pollinisation.
- Dans le cas de cette pollinisation, 33 arbres ont reçu le polycross, ce qui représente 1/3 des clones ou pieds-mère disponibles. Ils pourront être testés selon les critères prédéfinis.
- Les chiffres en gras, indiquent les deux clones dont le test de germination a été effectué à un taux de 98 %.

Le Cahier des Techniques de l'Inra

Ces résultats démontrent que, même si tous les clones ne sont pas représentés, les diverses étapes se sont bien déroulées et pourraient être reconduites.

Type de pollinisation	Provenance	Nombre de fleurs ensachées	Nombre de fleurs pollinisées	Siliques récoltées	Nombre de graines obtenus
Autopollinisation et allopollinisation	BEQ 1	1	1	0	
	BEQ 2	1	1	0	
	DOM 1	9	2	0	
	DOM 3	2	1	0	
	DOM 5	1	1	0	
	DOM 6	1	0	0	
	DOM 11	2	1	1	115
	DOM 12	7	1	1	122
	DOM 13	10	2	1	133
	G 3b	1	1	1	99
	G 8b	2	0	0	
	G 10b	2	0	0	
	G 13	2	0	0	
	G 14	1	1	1	89
	G 24	1	0	0	
	G 25	3	2	0	
	G 26	1	1	0	
	G 27	1	0	0	
	G 28	1	0	0	
	G 29	3	1	1	71
	G 31	4	1	0	
	G 32	1	1	1	
	G 33	1	0	0	
	G 34	5	1	0	
	G 35	5	1	0	
	G 36	5	2	0	
	G 39	1	0	0	
	G 40	1	1	0	
	G 41	2	1	1	95
	G 44	1	0	0	
	G 46	2	0	0	
	G 50	2	2	0	
	G 51	5	0	0	
	G 52	1	1	1	128
	G 53	2	0	0	
	G 54	2	2	0	
	G 56	7	0	0	
	G 57	2	2	2	99
					81
	G 58	2	2	2	131
					112
	G 59	6	0	0	
					95
	G 60	4	4	4	85
					107
					104
	G 61	1	0	0	
	G 62	1	1	1	112
	G 63	6	1	0	
					85
	G 64	2	2	2	79
	M 3	7	2	0	
	M 7	1	1	1	126
	M 10	1	0	0	
	M 18	3	0	0	
	M 20	1	1	0	
M 26	1	0	0		
M 27	5	1	1	75	
M 40	4	1	1	86	
M 42	5	3	0		
M 43	2	2	1	104	
M 44	3	0	0		
M 47	1	1	0		
MG 2	2	1	1	141	
MG 3	2	0	0		
MG 4	8	2	1	54	
MG 5	6	1	0		
MG 6	1	1	1		
MST 22	5	1	1	98	
				106	
SLU 2	2	2	2	117	
SLU 3	4	1	0		
SLU 4	1	1	1	109	
SLU 5	1	1	1	89	
SLU 6	1	1	0		
STB 6	1	1	1	102	
STV 2	6	2	1	86	
UNI 1	1	1	1	95	
UNI 2	2	1	0		
				92	
G 30	6	2	2	74	
G 42	2	2	0	18	
M 17	1	1	0	107	
MG 6	1	1	1	58	
SLU 7	4	1	1	120	

Totaux	70	213	76	38	3908
--------	----	-----	----	----	------

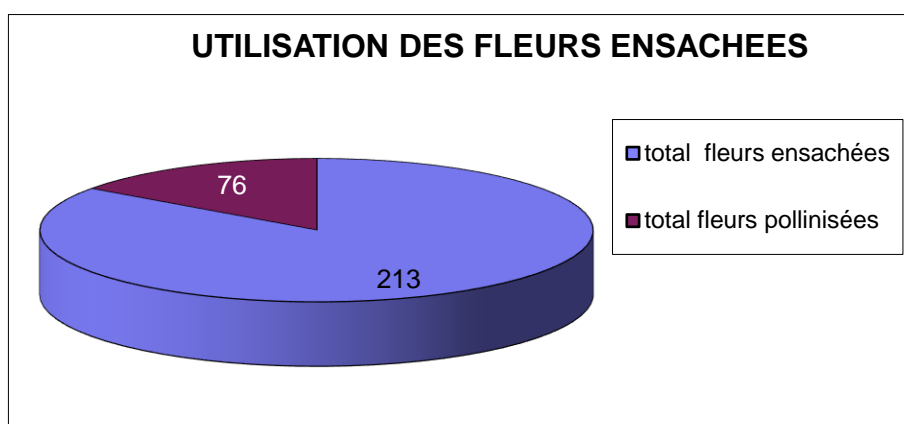
Tableau 2. Utilisation de la collection de pollen n°1

Dénombrement de fleurs pour la pollinisation (22 mai 2001)

Le graphique 1 montre que sur les 213 fleurs protégées par un sachet au stade de pré-anthèse, seules 76 ont pu être effectivement pollinisées. Au départ, nous avions en moyenne trois fleurs disponibles par clone. Dans la réalité, nous avons disposé d'à peine 1 fleur par clone. Plusieurs raisons à cela : certaines étaient avortées, d'autres attaquées par des thrips et les chenilles. Cela démontre la nécessité d'avoir un grand nombre de fleurs, donc une induction florale importante afin de pallier au problème des ravageurs présents.

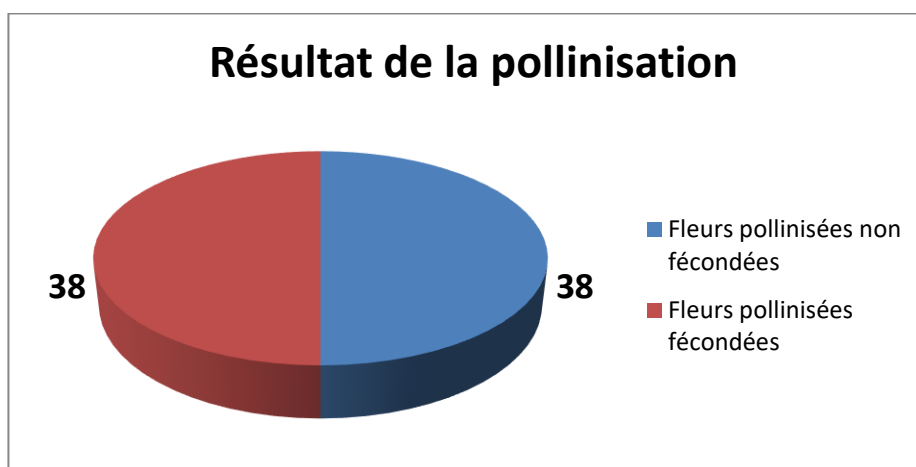
L'induction florale

L'induction florale est un phénomène botanique qui fait qu'un bourgeon à feuilles évolue en bouton à fleur. Elle est d'une **importance capitale** : plus il y a de fleurs, plus la multiplication est importante. L'induction florale peut être obtenue de diverses manières dont le stress hydrique.



Graphique 1. Utilisation des fleurs ensachées

Le graphique 2 montre que, sur les 76 fleurs effectivement pollinisées, seules 38 ont réellement produit des siliques ce qui donne un taux de réussite de la fécondation de 50 %. Encore une fois, le taux de fleurs pollinisées doit lui aussi être maximisé.



Graphique 2. Fécondation

Conclusion

L'objectif de ce travail était d'obtenir, par la pollinisation contrôlée, des semences de *Tabebuia heterophylla* qui serviront à des tests de descendance dans une optique d'amélioration génétique.

Au cours de la campagne, nous avons recueilli 100 clones, six ont été perdus donc nous avons travaillé sur 94 arbres, dont 33 ont pu être pollinisés. Malgré les problèmes d'ordre phytosanitaire, comme l'invasion des thrips, nous avons obtenu des semences à partir de ces 33 clones, ce qui porte à 31 % le taux de descendance qui peut être testée.

Il est important de rappeler que le *Tabebuia heterophylla* est un excellent arbre de reboisement pour les zones sèches occultes ayant subi une déforestation massive. À l'heure où il est question de transition écologique, de réduction des gaz à effet de serre et de changement climatique, cet arbre peut contribuer à reboiser toutes les zones qui sont à nu et fournir des services écosystémiques tels que le stockage de CO₂ et la préservation de la biodiversité du sol.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA).



<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Le Cahier des Techniques de l'Inra », la date de sa publication et son URL).

Références bibliographiques

Baldet P (2000) CEMAGREF Sécheur de pollen et de semences. Nogent sur Vernisson, division RGNO. (Communication personnelle)

Huc R & Bariteau M (1987) *Tabebuia heterophylla* (DC) Britton. Données nouvelles sur la reproduction sexuées et végétative. Annales of Forest Science, 44(3), 359-364

Mellerowiz E (1983) Pollen de douglas- melezes- aulnes et peupliers. Bilan des recherches conduites en 1982-1983. Douglas : état d'hydratation et germination in vitro et in vivo. Melezes : germination in vitro, tests de viabilité. Aulnes et peupliers : conditions d'extraction, germination in vitro, tests de viabilité, 51 p. Première partie : Texte- Collection INRA

Muller C (1986) Point sur la conservation des semences forestières et la levée de dormance. Revue Forestière Française Vol XXXVIII- n°3-1986, 200-204

Muller C & Laroppe E (1993) Conservation et germination des semences forestières. Revue forestière française, Vol XLV –n° 3-1993, p 253-260

Ruiz I. (1990) Monographie du poirier pays (*Tabebuia heterophylla*) (DC.) Britton) Variabilité morphologique. Comportement écophysiological. Mémoire de 3^{ème} année. Ecole Nationale des Ingénieurs des travaux des Eaux et Forêts

Torregrossa J-P, Labbé P, Flereau C, Cousin M, Bonnier S. (1996) Données sur la biologie florale et l'écologie de la pollinisation de *Tabebuia heterophylla* (bignoniacée) « Poirier pays » de la Guadeloupe, 18 p.

- HAL Id : **hal-01190954, version 1**
- PRODINRA : [128684](#)

<http://transfaire.antilles.inra.fr/spip.php?article214>

http://transfaire.antilles.inra.fr/IMG/pdf/torregrossa_tabebuia_2003.pdf