



## Compte-rendu d'essai

---

# CHATAIGNIER 2014

## Pollinisation complémentaire en verger de Marigoule

---

Date : Mai 2015

Rédacteur(s) : Amélie Devillepoix, Guillaume Pagès

Essai rattaché à l'action n° : 18.2003.03

Titre de l'action : Sélection de nouvelles variétés adaptées aux différents terroirs

---

### 1. Thème de l'essai

Dans la conception du verger, il est conseillé d'introduire une proportion de pollinisateurs de 10% minimum pour une production optimisée. C'est un facteur capital à la production de Marigoule, variété principale du Sud-Ouest, qui pose de réels problèmes de fécondation. Exigeante en pollen pour un rendement régulier, cette variété nécessite un environnement pollinique abondant. Cependant, l'introduction de pollinisateurs a souvent été omise lors de la plantation, dans l'espoir trop optimiste que la proximité de taillis suffirait à couvrir les besoins. Quatre axes d'amélioration ont été identifiés : l'équilibre de la nutrition, l'augmentation de la biodiversité génétique au verger, l'amélioration du transport du pollen, et l'apport de pollen complémentaire. Pour les deux derniers axes, peu de connaissances fondamentales sont disponibles sur châtaignier. Toutefois, ils constituent une piste crédible pour combler le déficit en pollen, particulièrement en vergers âgés. Des manipulations et tests exploratoires ont été réalisés en 2014.

### 2. But de l'essai

L'apport de pollen complémentaire, pollinisation dite « artificielle », est envisageable à grande échelle pour pallier au manque de pollinisateurs dans les vergers. Le but de l'essai sera de mettre au point un protocole de collecte et préparation du pollen de châtaignier en préservant ses qualités pollinisatrices.

### 3. Facteurs et modalités étudiés

**Facteur(s)** : Méthodes de préparation du pollen ;

**Modalité(s)** : Plusieurs modalités sont testées, la méthode initiale de préparation du pollen est sujette à modification en fonction du taux de viabilité obtenu lors de la manipulation précédente (cf. matériel et méthodes). Les évolutions potentielles portent sur la durée et les conditions de séchage des inflorescences mâles pour faciliter l'ouverture des anthères sans altérer la viabilité du pollen.

#### 4. Matériel et Méthodes

##### – Origine du pollen :

La collecte des inflorescences mâles (chatons) est réalisée sur des variétés méso ou longistaminées (quantité importante de pollen et taux élevé de germination) qui présentent une pleine floraison mâle plus précoce que la floraison femelle de Marigoule. Pour l'obtention d'une compatibilité génétique et temporelle optimale, le choix variétal pour la réalisation de l'étude s'est porté sur 3 variétés *C. sativa* : Marron de Chevanceaux (collecte des chatons par Inovchâtaine sur son site de Busserolles), ainsi que sur Verdale et Belle Épine (collectes Invenio sur son site de Douville).

##### – Protocole :

Le protocole de départ a été établi grâce à l'expérience de membres de l'UREF (Unité de Recherches sur les Espèces Fruitières) de l'INRA de Bordeaux, qui ont œuvré à la création variétale châtaignier par pollinisation contrôlée. Une fois récoltés, les chatons sont séchés et tamisés pour récupérer les sacs polliniques ; ces derniers sont ensuite placés dans une atmosphère confinée avec un dessiccant afin de permettre l'ouverture des anthères et la récupération du pollen.

##### Protocole de départ :

- 1) **Collecte** manuelle des chatons par temps sec avant l'ouverture totale des anthères - stade pleine floraison Fm2 - avec un optimum de 20% maximum de déhiscence (*vergers sites Douville et Busserolles*) ;
- 2) **Séchage** à température ambiante sur du papier pendant 48h, puis passage à l'étuve 48h à 40°C (*laboratoire site Douville*) ;
- 3) **Tamissage** à l'aide de tamis de maçon : élimination des débris de végétaux, parties ligneuses notamment, et récupération des filets et sacs polliniques (*laboratoire site Douville*) ;
- 4) **Stockage** 24h à 48h dans des boîtes hermétiques en atmosphère dessiccante : utilisation de chlorure de calcium anhydre -  $\text{CaCl}_2$  (*laboratoire site Douville*).



*Photo 1. Méthode de préparation du pollen*

Dès qu'un lot de pollen a subi ces traitements, sa viabilité est évaluée (cf. observations et mesures), et le protocole précédent réajusté (temps de séchage, température...).

##### – Observations et mesures :

La qualité du pollen a été estimée par une **mesure de viabilité**. L'estimation rapide de ce paramètre est notamment permise par l'observation au microscope à fluorescence (cytométrie de flux) : après mise en contact des grains de pollen avec du Di-Acétate de Fluorescéine pendant 15 min, seuls les grains de pollen ayant une activité métabolique, donc vivants, émettent une fluorescence sous lumière UV. Le taux de viabilité correspond au nombre de grains de pollen qui émettent une fluorescence par rapport au nombre de grains de pollen total. Les mesures réalisées ne permettent pas de connaître le nombre de grains viables qui seraient appliqués par arbre. *Ces mesures ont été réalisées au sein d'un laboratoire de l'INRA de Bordeaux avec l'appui de l'équipe BFP (Biologie du Fruit et Pathologie).*

## 5. Résultats détaillés

*Tableau 1. Qualité du pollen collectée*

<b>Variété(s) – date de collecte</b>	<b>Taux de viabilité (estimation microscopie optique)</b>
Marron de Chevanceaux – 16 juin	2,8%
Marron de Chevanceaux – 24 juin	21,6%
Belle-Epine et Verdale – 27 juin	16,9%

Le taux de viabilité mesuré est globalement peu élevé. La première série (16 juin) révèle une proportion très faible qui pourrait s'expliquer par une température trop élevée lors de la phase de séchage à l'étuve.

### **Protocole retenu après les 3 séries de collecte :**

- 1) Collecte des chatons ;
- 2) Séchage 48h dans des séchoirs à tabac (présents sur le site de Douville) abrités des courants d'air par des toiles de P17 : température autour de 20°C, légers mouvements d'air ;
- 3) Tamisage (maille de 5mm)
- 4) Stockage 24h dans une boîte hermétique avec dessicant (Chlorure de calcium)

## 6. Conclusions de l'essai

La collecte manuelle des chatons reste chronophage et les différentes étapes de traitement du pollen sont à perfectionner. L'observation au microscope à fluorescence offre la possibilité de comparer rapidement les taux de viabilité des différentes séries de collecte/traitement, mais elle ne permet pas de connaître le nombre de grains de pollen qui germeront dans une quantité de mélange pollen-support vecteur définie. Le protocole retenu servira de base pour des tests préliminaires en 2015 d'applications de pollen en verger par voies mécaniques.