

Recherche d'un pollinisateur de la variété de pommier (*Malus pumila* Mill.) Anna

Mamouni A.
INRA, Programme Arboriculture Fruitière, Meknès

Résumé

La variété précoce de pommier " Anna " a connu, ces dernières années, un intérêt croissant dans les zones à faibles disponibilités en froid. Son pollinisateur n'est pas encore défini au Maroc. Ce travail consiste à vérifier la possibilité de son autopollinisation et de déterminer le meilleur pollinisateur parmi les cultivars Llorca, Ein Scheimer et Dorset Golden. Le taux de germination du pollen, in vitro, pour les différentes variétés est élevé et varie de 80 à 95 % à des températures de 15 à 25 °C. Les taux de nouaison obtenus en pollinisations manuelles d'Anna dépassent 20 %. En auto- pollinisation le taux de fructification réalisé est proche de 10 %. Son autocompatibilité serait partielle.

La variété Dorset Golden constitue le meilleur pollinisateur pour Anna grâce au taux de nouaison qu'il permet d'obtenir (43 %) et à la concordance totale des époques de floraison.

Mots clés : Pommier, Anna, pollinisation, germination, nouaison, *Malus pumila*

Abstract : Pollinisateur's apple (*Malus domestica* Bokht.) Cultivar " Anna " Research

The early apple varietie ' Anna ' was knew, in the last years, an increasing interest in the areas where the chilling unit is low. Its cultural system with the pollination has not been defined yet. This study aims to verify the possibilities to cultivate this variety alone and to determine the best pollinator for the cultivars for which the blomming period is similar (Llorca, Ein Scheimer et Dorset Golden). The pollen value of all the varietie, cultured in vitro and tested, is very satisfactory (rate 80 to 95 % at 15-20 °C).

The pollinations of Anna and the other cultivars are compatible. The fruit set of hand pollination is beyond 20 %. The anna self pollination is partial. The fruit set obtained in this case is nearer to 10 %.

The varieté Dorset Golden, with the pollen capacity, the fruit set obtained (43 %), constitutes a best pollinateur for Anna.

Key words : Apples, Anna, pollination, pollen germination, fruit set. *Malus pumila*

ملخص : البحث عن ملقح ملائم لاصنف التفاح «أنا»

عاموني ع.

المركز الجهوي للبحث الزراعي، برنامج الأشجار المثمرة، مكناس، المغرب

عرف صنف التفاح «أنا» الذي لا يحتاج الى كمية كبيرة من البرودة، تطورا متزايدا خلال السنين الأخيرة، وذلك في المناطق ذات الشتاء المتوسط البرودة، ولم تكن هناك تجارب لتبيين ما هو النوع الذي يوافقه من حيث تلقيح الأزهار. لقد حاولنا في هذه الدراسة معرفة مدى إمكانية زراعة هذا الصنف لوحده، وكذلك اختيار احسن ملقح له من بين الاصناف الثلاثة «إين شيمير» «اللوركة» و«ضورسة كولدن»، وقد تبين إنبات حب اللقح في المختبر انها ذات قيمة جيدة في جميع الحالات، وتتراوح نسبة الانبات بين 80 و 95% عندما تكون الحرارة ما بين 15 و 25 درجة حرارية. وتبين كذلك ان التوافق من حيث اللقح حاصل بين الاصناف الثلاثة و «أنا» حيث فاقت نسبة الثمار الصاعدة 20% بعد عملية التلقيح اليدوية.

أما التلقيح الذاتي فقد أدى الى نسبة لا تتجاوز 10%. وبهذا يُعتبر صنف «أنا» ذا تلقيح ذاتي نسبي ولكن غير كافي لزراعته لوحده.

ويعد صنف «ضورسة كولدن»، نظرا لأهمية حبات لقاحه، ونسبة الثمار الصاعدة التي يوفرها (43%) و توافق زمن إزهاره مع «أنا» أحسن صنف ملقح.

الكلمات المفتاحية : التفاح، «أنا»، إنبات، الثمار الصاعدة

Introduction

Dans de nombreux programmes de recherche sur le pommier, la qualité du fruit, la résistance au froid et aux maladies, constituent les principaux objectifs d'amélioration variétale (Strik and Proctor, 1986 ; Lespinasse, 1990). La sélection pour le caractère de faible besoin en froid n'a intéressé que certains pays à hiver doux. Des géotypes, comme Anna, sont issus de ces programmes. La culture du pommier sur la base de variétés, à faible besoin en froid, a connu succès. Les besoins en froid sont estimés pour la variété 'Anna' à 218 unités de froid (Hauagge et Commins, 1991). Par ailleurs, la conduite en verger monovariétal s'est traduite par une fructification insuffisante (Crocker et al., 1979).

Au Maroc, l'introduction en culture de la variété Anna a eu le mérite d'étendre la culture du pommier aux zones où les cultivars usuels (Golden Delicious et Starking Delicious) manifestent régulièrement des symptômes de manque de froid (Ben Ismail, 1981, Oukabli et al; 1995). Quand Anna est associée à Ein Schiemer comme pollinisateur, il a été constaté que les périodes de floraison de ces variétés ne concordent pas entièrement (Oukabli, 1991). Elle est associée, à

d'autres génotypes comme Dorset Golden et Llorca ou même conduite en verger monovariétal. Le choix d'un génotype pouvant être un pollinisateur spécifique à la variété Anna et constituer avec elle une association variétale adéquate pour la culture n'est pas déterminé. Le but de ce travail consiste à évaluer les performances de la variété Anna quant à ses possibilités d'autofécondation et choisir un génotype inter-compatible pouvant lui être associé en tant que pollinisateur.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

La variété Anna, objet des pollinisations manuelles, et Ein Sheimer sont plantées au domaine expérimental d'Ain Taoujdate (INRA) où l'altitude est de 500 m. Les pollens de Dorset Golden et de Llorca ont été récoltés dans des plantations de la région. Les arbres, âgés de 12 années, sont greffés sur le EM27, plantés à un écartement de 2 x 4 m et conduit en axe central. Les arbres sont irrigués, par cuvette, à la fréquence moyenne d'une fois par quinze jours. Les apports d'éléments fertilisants se font en hiver pour le phosphore et le potasse sous forme d'engrais composé 0-16-30S et l'azote sous forme de sulfate d'ammoniaque. Un autre apport d'azote sous forme d'ammonitrate est apporté en fin mai début juin. Soit, en éléments fertilisants, les quantités suivantes : 92 Kg d'Azote, 56 Kg de Phosphore et 105 Kg de Potassium.

Méthodes

L'évaluation de la qualité du pollen peut se faire par différentes techniques de coloration (Parfitt et Ganeshan, 1989). Les tests de coloration au carmin acétique et de germination en culture *in vitro* donnent des résultats proches de la valeur intrinsèque du pollen. La germination *in vivo* permet également d'évaluer les qualités du pollen et donne des indications sur les interactions avec le pistil, notamment le degré d'inter-compatibilité variétale.

Test de germination *in vitro*

Les anthères de fleurs, récoltées à l'anthèse (stade D-E de Fleckinger) sur les arbres, sont immédiatement récupérées au laboratoire. Ensuite, elles sont mises à sécher dans un dessiccateur, renfermant une solution constituée de deux tiers d'acide sulfurique et un tiers d'eau distillée (Ducom ; 1968) pendant au moins 18 heures. Le pollen libéré, après le dessèchement des fleurs, est partagé en deux lots ; l'un est utilisé pour le test de germination *in vitro* et l'autre servira pour les pollinisations artificielles.

L'ensemencement du pollen est effectué en conditions aseptiques, dans des boîtes de pétries renfermant un milieu constitué de 10 % de saccharose, 1 % d'Agar (Ducom, 1968) et 100 ppm d'acide borique (Pimienta et al;1983). Afin d'étudier les effets de températures et du temps d'incubation, 36 boîtes de pétris par variété (3 répétitions) sont déposées dans des chambres de

culture réglées à 10, 15, 20 et 25 °C et seront retirées après 12, 24, et 36 heures d'incubation. Le formol est utilisé pour arrêter la germination et empêcher le développement des microorganismes.

Les grains de pollen, colorés au carmin acétique à 45 % (Gagnieu ; 1951) sont observés à l'aide du microscope. Le taux de germination est déterminé sur un échantillon de 200 grains (Ducom, 1968). Les grains ayant des tubes polliniques dont la longueur est supérieure à leur diamètre, sont considérés comme germés.

Les analyses statistiques (analyse de la variance à un seul critère de classification) ont été effectuées de façon à comparer les variétés entre elles pour chaque température et durée d'incubation.

Germination du pollen in vivo

Les fleurs de la variété Anna, émasculées et isolées à l'anthèse (stade D-E de Fleckinger), sont pollinisées manuellement. Les croisements effectués sont :

Anna	x	Anna (autofécondation)
Dorsett Golden	x	Anna
Ein Scheimer	x	Anna
Llorca	x	Anna

Le nombre de fleurs, pollinisées pour chaque type de pollen, est de l'ordre de 200. La moitié de ce nombre servira à l'estimation des taux de nouaison alors que l'autre moitié est utilisée pour l'étude de la croissance des tubes polliniques dans les styles. Le témoin est constitué de 200 fleurs pollinisées naturellement. Dix à quinze pistils, par type de croisement, sont fixés dans une solution de F.A.A (acide acétique glacial-éthanol à 90 % 1:2 / v : v) 24, 36, 48, 72, 96 et 120 heures après pollinisation.

Pour l'observation microscopique, les pistils sont ramollis par des autoclavages de 30 mn à une pression de 0.5 bar dans une solution de sulfite de sodium à 1 % (Lansari et Iezzany, 1990). L'épiderme du pistil est ôté sous binoculaire et les tissus sont ensuite colorés par un trempage de 15 mn dans une solution du bleu d'aniline à 0,1 % et pH 8,5 (Kho and Baër, 1968). Les pistils sont ensuite écrasés entre lame et lamelle et observés au microscope à fluorescence.

Taux de fructification et poids des fruits

Pour chaque croisement, le taux de fructification est estimé par le rapport entre le nombre de fruits obtenus et le nombre de fleurs pollinisées. La différence entre l'effet de l'allo et l'auto-pollen sur les fruits est évaluée par le poids et le nombre de pépins de chaque fruit.

Résultats et discussions

Germination in vitro

Les taux de germination obtenus varient selon le génotype, la température et le temps d'incubation (Tab.1). En dehors d'une incubation de plus de 24 h à une température de 25 °C, les analyses de la variance ont montré des différences significatives entre les variétés pour les autres combinaisons.

Le pollen de la variété Dorset Golden germe rapidement à basse température. Il peut atteindre 42 % à 10 °C après uniquement 12 heures d'incubation et 74 % à 15 °C pour la même durée. Celui d'Anna s'approche de 60 % à 10 °C après 12 heures. La germination des pollens des deux autres variétés (Ein scheimer et Llorca) est en revanche retardée par les basses températures. Elle n'atteint 50 % qu'après 24 heures d'incubation à une température de 20 °C.

Tableau 1. Taux moyen de germination in vitro des grains de pollen des 4 variétés en fonction des durées et des températures d'incubation.

Température	10 °C			15 °C			20 °C			25 °C		
	12	24	36	12	24	36	12	24	36	12	24	36
Durée (H) incubation												
D.Golden	42	57	71	74	76	56	79	79	91	79	81	96
Anna	58	64	70	54	70	79	75	75	85	78	76	75
E.Schiemer	0	20	22	27	45	55	35	70	63	63	86	75
Llorca	15	18	50	44	37	71	62	59	58	59	68	79
N.D.S.	**	**	***	**	***	*	***	**	***	**	NS	NS

Niveau de signification (N.S.) au seuil de probabilité de 0.05 (*), 0.01(**) et 0.001 (***) , N.S. = différence non significative.

Les températures optimales de germination sont de 15 et 20 °C respectivement pour Dorset Golden et Anna et de 25 °C pour Ein Scheimer-Llorca. Les taux de germination pour ces températures sont de 80 à 95 % après 36 heures d'incubation. Ces résultats sont très proches de ceux obtenus par Ducom (1967) et Modlibowski (1945) sur la même espèce.

Croissance des tubes polliniques dans les styles

L'observation microscopique des tubes polliniques dans le style de la variété 'Anna' montre qu'il y a des différences de progression selon la nature du pollen (Tab.2). Ainsi, 24 h après pollinisation, seul le pollen de la variété Dorset Golden a germé abondamment et ses tubes polliniques sont sortis du stigmate. Les autres pollens commencent à germer (Llorca et Anna) ou ne germent pas encore (Ein Scheimer). Les pollens des deux variétés Ein Scheimer et Llorca ont germé, en grand nombre, après le deuxième jour démontrant que le retard est probablement dû à l'effet des basses températures sévissant les jours suivant la pollinisation. Par contre, la quantité de pollen germé, chez Anna, demeure faible. Cette faiblesse ne peut pro-

venir d'une défaillance qualitative du pollen (la valeur germinative est démontrée in vitro). Il semble donc que le stigmate a joué un rôle inhibiteur chez la variété Anna, en réduisant le taux et la vitesse de germination. Pimenta et al (1983) ont rapporté que ce rôle inhibiteur du stigmate existe chez certaines espèces à incompatibilité gamétophytique telles que l'amandier, l'olivier et le cerisier. Le rôle inhibiteur du stigmate se manifeste par une faible rétention des grains de pollen et un faible taux de germination.

Tableau 2. Pourcentage de la longueur du style d'Anna parcourue par les tubes polliniques après pollinisation au champs

Croisement	24H	48H	72H	96H	120H
Anna x Anna	0	33	50	66	100
E.Scheimer x Anna	0	40	66	100	100
Llorca x Anna	0	33	66	100	100
D Golden x Anna	33	50	85	100	100
Température moyenne (°C) au champs	14.5	13.5	10	12.5	12

Quatre jours après pollinisation (96H), les tubes polliniques des inter-pollinisations atteignent abondamment la base du style alors que ceux de l'auto-pollinisation (Anna x Anna) ne l'ont pas encore atteint. Le style est, en effet, considéré comme le site d'inhibition caractéristique de l'incompatibilité gamétophytique (Pimenta et al, 1983). Les quelques tubes polliniques, dépassant la moitié du style, n'ont atteint la base du style que cinq jours après pollinisation. Le dépôt irrégulier de callose, était la manifestation la plus courante de l'inhibition. Modlibowski (1945), a considéré les variétés de pommier ayant un certain nombre de tubes, arrivant à la base du style, comme partiellement auto-incompatibles. Il les a distinguées des variétés totalement auto-incompatibles.

Taux de nouaison et poids des fruits

L'effet du génotype pollinisateur est retrouvé également sur le taux de nouaison (Tab.3). L'analyse de la variance a montré une différence significative. Le taux de nouaison, obtenu avec le pollen de Dorset Golden est le plus élevé (43 %). En auto-pollinisation, le taux de nouaison obtenu est de 10 % et est largement inférieur au témoin où la pollinisation est libre (sans apport d'abeilles). En fait, selon Modlibowski (1945), 5 % de fructification pourrait être suffisant pour donner une production valable quand les arbres sont dans des conditions normales de croissance. Reignard (1978) fait remarquer qu'une bonne fructification dans les vergers monovariétaux du pommier reste subordonnée aux conditions climatiques. Quand ces dernières sont défavorables (vents chauds, sécheresse ou froid) au moment de la nouaison, les fruits issus d'auto-pollinisation ont tendance à chuter pendant que ceux issus de pollinisation croisée se maintiendront grâce à une hormone " pollinique " apportée par l'allo-pollen. Dans le cas de l'auto-pollinisation, il faut attendre la formation de la graine pour sécréter ce type d'hormone.

Tableau 3 . Taux de nouaison, poids des fruits et nombre de pépins obtenus après pollinisation de la variété Anna par 4 types de pollen

Croisements	Taux Nouaison	Nombre pépins par fruit	Poids moyen par fruit (g)
Anna x Anna	9.5	3.0	52.5
Anna x Ein Scheimer	28.0	6.5	105.0
Anna x Llorca	19.0	4.0	101.0
Anna x Dorset	43.0	6.0	78.0
Témoin	19.0	3.0	92.5
Moyenne	24.4	4.6	86.5

L'intérêt de la pollinisation croisée, par rapport à l'auto-pollinisation, est mis en évidence par le taux de nouaison et le calibre obtenus (voir tab.3). L'analyse de la variance a montré une différence significative. Le taux de nouaison élevé pourrait influencer défavorablement le poids du fruit; c'est le cas de Dorset Golden.

Le nombre de pépins par fruit présente également une différence selon la nature du pollen. Le nombre de pépin le plus important (6) est obtenu lorsque Anna est pollinisée par Ein Scheimer ou Dorset Golden. Les fruits issus de l'auto-pollinisation et de la pollinisation libre ont un nombre moyen de 3 pépins par fruit. La proportion des fruits parthénocarpiques, chez Anna, est relativement élevée (de l'ordre de 10 %). Ce type de fruit est souvent déformé, de petit calibre, sensible à la chute et mûrit précocement (Brown, 1975). La même tendance est rencontrée chez la variété Anna mais des exceptions font que certains fruits parthénocarpiques peuvent avoir des calibres aussi importants que celui des fruits fécondés. La relation entre le nombre de pépins et le calibre ne semble pas évidente.

Conclusion

La variété de pommier Anna est partiellement auto-incompatible. Le taux de fructification, obtenu par auto-pollinisation manuelle, indique qu'elle peut fournir une production plus ou moins normale, en absence de conditions climatiques défavorables. Ce taux de fructification reste largement plus faible que lorsqu'elle est associée à un pollinisateur. Ceci lui permet d'assurer avec plus de garantie, une production suffisante. L'association avec Dorset Golden permet de donner les meilleurs taux de nouaison. Ein Scheimer, en dépit d'un léger décalage de son époque de floraison, peut également lui assurer une production normale.

La culture de la variété 'Anna', en association avec d'autres variétés pollinisatrices, demeure donc, à l'instar des autres variétés de pommier, une nécessité pour assurer une production suffisante.

Références Bibliographiques

- Barbier, E. ; 1978. La pollinisation et les moyens modernes d'assurer une bonne fécondation-Journées fruitières d'Avignon-Montfavet-INVUFLEC.
- Ben Ismail, 1981. Contribution à l'étude de la dormance des bourgeons et de l'effet de leur forçage chez le pommier (R. des reinettes et Golden Delicious) dans le Gharb- Mémoire de 3ème cycle d'Agronomie, IAV HassanII.
- Brown, A. G. ; 1975. Apples in Advances in fruit breeding- Edited by Jules Janick and James, v. Moore pp.3-30.
- Crocker, T. E., W.B.Sherman, and R. J. Knight, Jr. 1979 . Self- unfruitfulness of 'Anna' apple. - fruit Var.J. 33 pp : 65-66.
- Ducom, P. ; 1968. La fructification des arbres fruitiers ; étude de quelques caractères du pollen et de la biologie florale de l'amandier et du pommier- Pomologie Française n°5,6,7 pp : 195-209.
- Gagnieu, A ; 1951. Production de pollen chez le pommier; possibilité de léthalité génétique monofactorielle- Annale de l'amélioration des plantes, sérieB pp : 455-496.
- Griggs. W. H. ; IWAKIRI, B. T. and M.T. Bradley ; 1975.pollen tube growing almond flowers - California agriculture, july : 4-7.
- Haugge, R. and Cummins, J. N. ; 1991. Age, growing temperatures and growth retardants influence induction length of dormancy in Malus - J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(1) : 116-160.
- Hugard, J ; 1975. Pollinisation et fécondation Pomologie Française Tome XVII, pp. 63-78.
- Kho, Y.O. and Baer, J. ; 1968. Observing pollen tube by means of fluorescence - Euphytica, 17 : 298-302.
- Lespinasse, Y ; 1990. La pomme ; L'amélioration génétique - Arbo. Fruit. N° 434 pp : 17-22
- Lansari, A. and A. Iezzani ; 1990. A preliminary analysis of self- incompatibility in sour cherry- Hortscience 25 (12) : 1636-1638.
- Linskens, H. F. ; 1967. Pollen physiology - Ann. Rev. Plant physiol. pp : 255-270.
- Misset, M. T. et Gourret, J. P. ; 1989. Voir, connaître et utiliser le pollen- Document INRA 83.
- Modlibowska, I. ; 1945. pollen tube growth and embryo sac development in apple and pears - J. Pom. & Hort. sci. 21 : 57-89.
- Mulcahy, D. L. and Mulcahy, G. B. ; 1983. Gametphytic self - incompatibility reexamined - Science, 17 juine - vol.220 : 1247-1251.
- Oukabli,A. ; 1991. Etude de comportement d'une collection de 27 variétés de pommier au Domaine d'Ain Taoujdate - Rapport interne à l'INRA.
- Oukabli, A ; Mamouni, A. et Quennou, M. 1995 - Réaction de quelques variétés de pommier à l'influence de trois milieux écologiques différents au Maroc - La fruit Belge n° 457 pp : 148-152.
- Parfitt, D.E. and Ganeshan, S ; 1989. Comparaison of procedures for estimating viability of Prunus pollen - Hortscience 24(2) pp : 354-356.
- Pimienta, E. ; Polito, V.S. and Kester,D.E. ; 1983 -Pollen tube growth in cross and self pollinated 'Non-pareil' almond - J.Amer.Soc.Hort.Sci. 108 (4) : 643-647.
- Seavey, S.R. and Bawa,K.S. ; 1986. Late acting self-incompatibility in Angiosperme - The botanical review, vol. 52 N°2 : 195-219.

Socias i company, R. ; 1987. Le rôle du pistil dans la croissance des tubes polliniques chez l'amandier-Grempa - colloque - Options méditerranéennes.

Socias i company, R. and Felipe, A.J. ; 1987. pollen tube growth and fruit set in a self compatible almond selections- Hortscience 22(1) : 113-116.

Socias i company, R. ; Kester, D. E. and Bradley, m.K. ; 1976. Effet of temperature and génotype on pollen tube growth in some self-incompatible and self-compatible almond cultivars- J. Amer. Soc. Hort. Sci. 101(5) : 490-493.

Strik, B. C. and J. T. Proctor ; 1986. Apple cultivars bred in Canada : Selection from controlled crosses for commercial production - Frutivarietes Journal, 40 (2) pp : 51-55.

Vasilakakis, M. D. and Porlingis, I. C. ; 1984. Self - incompatibility in 'truoitto' almond and the effet of temperature on self and crossed pollen tube growth - Hortscience 19(5) : 659-661.

Way, R. D. ; 1972. Pollen incompatibility groups of sweet cherry clones- J. Amer.Soc.Hort.Sci. 92 : 119-123.

Weinbaum, S. A. ; Parfitt, D. E. and Polito, V.S. ; 1984. Differential cold sensitivity of pollen grain germination in two Prunus species - Euphytica 33 : 419-426.