



HAL
open science

Reconnaissance de composés volatils du colza (*Brassica napus* L var *oleifera*) par l'abeille

M.H. Pham-Delègue, Dorine Laloi, O. Bailez, Maxime Le Métayer, F. Marion-Poll, M. Blight, L. Wadhams

► To cite this version:

M.H. Pham-Delègue, Dorine Laloi, O. Bailez, Maxime Le Métayer, F. Marion-Poll, et al.. Reconnaissance de composés volatils du colza (*Brassica napus* L var *oleifera*) par l'abeille. *Apidologie*, 1994, 25, pp.422-432. hal-02714141

HAL Id: hal-02714141

<https://hal.inrae.fr/hal-02714141v1>

Submitted on 1 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Groupe de travail Pollinisation de l'Institut national de la recherche agronomique
(INRA, France).**

Réunion de Montfavet des 8 et 9 mars 1994

La station de zoologie et apidologie de Montfavet a accueilli la réunion annuelle du groupe de travail Pollinisation, qui s'est agrandi cette année d'un membre supplémentaire avec la station de génétique et d'amélioration des plantes de Montpellier. Pour la première fois, la réunion était ouverte à quelques intervenants extérieurs travaillant sur des thèmes qui interfèrent avec ceux du groupe. Le contenu de ces journées a été apprécié pour la qualité des interventions scientifiques et la concrétisation des collaborations entre les différentes équipes.

**Pollination working group of the National Institute
of Agronomic Research (INRA), France.
Meeting in Montfavet, March 8–9, 1994**

The Zoology and Apidology Station in Montfavet, near Avignon, received the annual meeting of the working group and welcomed a new member: the Genetics and Plant Breeding Station in Montpellier. For the first time, the meeting was open to external speakers, whose research themes overlap with those of the working group. The meeting was confirmed a success by the quality of the scientific talks and the collaborations formed between the various teams.

**Arbeitsgruppe Bestäubung des nationalen Instituts für landwirtschaftliche
Forschung (INRA), Frankreich.
Tagung in Montfavet, März 8–9, 1994**

Die Station für Zoologie und Apidologie in Montfavet in der Nähe von Avignon hatte die Arbeitsgruppe Bestäubung zum jährlichen Treffen eingeladen. Die Arbeitsgruppe erweiterte sich dieses Jahr um ein Mitglied: um die Station für Genetik und Zucht der Pflanzen von Montpellier. Zum ersten Mal waren auch Teilnehmer aus anderen Arbeitsgruppen zugegen, deren Arbeitsgebiete sich mit demselben Themenkreis befassen. Die Vorträge der beiden Tage regten durch ihre Qualität nicht nur zu wissenschaftlichen Diskussionen an, sondern es wurden auch Absprachen zur Zusammenarbeit zwischen den verschiedenen Arbeitsgruppen getroffen.

Liste des communications (* à la fin du titre indique que le résumé de la communication n'est pas publié dans ce numéro)

List of reports (abstracts of the reports marked with an asterisk are not published in this issue)

Verzeichnis der Referate (* bedeutet, daß zu diesem Titel im Anschluß keine Zusammenfassung veröffentlicht wird)

1. Programme de recherches «relations abeilles–plantes» du laboratoire de Bures en 1993-1994. * *MH Pham-Delègue*

Research program on bee–plant relationships of the Bures laboratory in 1993–1994 *

Versuchsprogramm von 1993–1994 über die Beziehungen Bienen – Pflanzen im Labor von Bures *

2. Utilisation d'inhibiteurs de protéases pour la création de colzas plus résistants aux insectes. *L Jouanin, M Bonadé-Bottino*

Use of protease inhibitors to obtain insect-resistant rapeseed

Einsatz von Proteaseinhibitoren zur Erzeugung insektenresistenter Rapsorten

3. Incidence du caractère apétale chez le colza (*Brassica napus* L var *oleifera*) sur le comportement de butinage de l'abeille domestique (*Apis mellifera* L) : étude préliminaire. *J Pierre, M Renard*

The incidence of the lack of petals in oilseed rape (*Brassica napus* L var *oleifera*) on the foraging behaviour of honeybees (*Apis mellifera* L): a preliminary study

Einfluß von fehlenden Blütenblättern beim Raps (*Brassica napus* L var *oleifera*) auf das Verhalten der Honigbienen (*Apis mellifera* L): eine vorläufige Untersuchung

4. Reconnaissance de composés volatils du colza (*Brassica napus* L var *oleifera*) par l'abeille (*Apis mellifera* L). *MH Pham-Delègue, D Laloï, O Bailez, M Le Métayer, F Marion-Poll, M Blight, L Wadhams*

Oilseed rape (*Brassica napus* L var *oleifera*) volatiles recognition by the honeybee

Erkennung der Duftstoffkomposition der Rapsblüte (*Brassica napus* L var *oleifera*) durch die Honigbiene

5. Pollinisation de plantes mâles stériles de soja (*Glycine max* L) sous cage d'isolement avec *Megachile rotundata* F comme vecteur de pollen : estimations de la production de graines hybrides et du flux pollinique efficace. *P Roumet*

Use of *Megachile rotundata* F to pollinate male sterile soybeans (*Glycine max* L) in caged plots: estimation of hybrid seed production and efficient pollen flow

Bestäubung von männlich-sterilen Soyabohnen (*Glycine max* L) in Flugzellen durch *Megachile rotundata*: Schätzung der Produktion von Hybrid-samen und des effektiven Pollenflusses

6. Pollinisation et qualité grainière chez la carotte (*Daucus carota*). * *G Rodet*

Pollination and seed quality in carrot (*Daucus carota*) *

Bestäubung und Qualität des Saatgutes bei Karotten (*Daucus carota*) *

7. Intensité de pollinisation et fructification chez 'Lauranne', variété autocompatible d'amandier (*Prunus amygdalus* Batsch). *JP Torre Grossa, M Cousin, B Vaissière, G Rodet*

Pollination intensity and fruit set in 'Lauranne', a self-compatible almond cultivar (*Prunus amygdalus* Batsch)

Intensität der Bestäubung und des Fruchtansatzes bei "Lauranne", einer selbst-kompatiblen Zuchtform der Mandel (*Prunus amygdalus* Batsch)

8. Prévisions des productions agricoles par la méthode aéropalynologique : exemple de la vigne et de l'olivier et influence de la température sur les émissions polliniques. * *P Cour*

Agricultural production estimates by means of the aeropalynological method: example of vine and olive tree and temperature action on pollen emissions *

Vorhersage der landwirtschaftlichen Produktion mit der Methode der Flugpollen - Analyse: Wein und Oliven als Beispiel und Einfluß der Temperatur auf den Pollenflug *

9. Pollinisation et flux polliniques dans l'atmosphère d'un verger de kiwi, *Actinidia deliciosa* var *deliciosa* Chev. *F Malabœuf, B Vaissière, P Cour, G Rodet, JP Torre Grossa*

Pollination and pollen flow in the atmosphere of a kiwifruit orchard, *Actinidia deliciosa* var *deliciosa* Chev

Bestäubung und Pollenflug in einer Kiwifruchtplantage (*Actinidia deliciosa* var *deliciosa* Chev)

10. Pollinisation des plantes mâles stériles de soja : étude des relations entre flux polliniques et la répartition spatiale des plantes mâles stériles. * *S Carrière*

Pollination of soybean (*Glycine max* L) male sterile plants: study of relationships between pollen flow and spatial distribution of male sterile plants *

Bestäubung von männlich-sterilen Soyapflanzen: Untersuchung über den Einfluß von Pollenflug und räumliche Verteilung der männlich-sterilen Pflanzen *

11. Évaluation de l'incompatibilité entre le pistil de mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum*) et le pollen d'autres graminées. * G Chaix

Estimation of incompatibility between pistil of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) and pollen from other grasses *

Schätzung der Inkompatibilität zwischen Pistill der Perlhirse (*Pennisetum glaucum*) und Pollen von anderen Gräsern *

12. Comportement de butinage des bourdons (*Bombus* sp) sur féverole (*Vicia faba*) et charges polliniques. * S Carré

Foraging behaviour of bumblebees (*Bombus* sp) on faba bean (*Vicia faba*) *

Sammelverhalten von Hummeln (*Bombus* sp) auf der Pflanzebohne (*Vicia faba*) *

13. Efficacités pollinisatrices comparées de l'abeille domestique et du bourdon *Bombus terrestris* sur le melon en culture sous abri clos. * B Vaissière, M Subirana

Comparison of honeybee and bumblebee (*Bombus terrestris*) pollinating efficiency on melon grown in greenhouses *

Vergleich der Bestäubungsleistung von Honigbienen und Erdhummeln (*Bombus terrestris*) bei Melonen in Gewächshäusern *

14. Comparaison des performances de pollinisateur du pollinisateur (*Blastophaga psenes*) et d'un parasite (*Philotrypsis caricae*) de figuier. MC Anstett, A Tayou, F Kjellberg

A comparison of the pollinating ability of fig pollinators (*Blastophaga psenes*) and fig parasites (*Philotrypsis caricae*)

Vergleich der Bestäubungsleistung von Bestäubern (*Blastophaga psenes*) und Parasiten (*Philotrypsis caricae*) beim Feigenbaum (*Ficus* sp)

2. Utilisation d'inhibiteurs de protéases pour la création de colzas plus résistants aux insectes. L Jouanin, M Bonadé-Botino (INRA, laboratoire de biologie cellulaire, 78026 Versailles CEDEX, France)

Le colza (*Brassica napus* L var *oleifera*) est la cible de nombreux insectes phytophages,

principalement des coléoptères, dont les larves peuvent causer des dégâts très importants sur la culture. La mise en œuvre de la lutte chimique contre ces insectes est particulièrement contraignante. Une nouvelle stratégie de défense, par expression *in planta* d'inhibiteurs de protéases, a été initiée. Les protéases digestives de 2 coléoptères ravageurs du colza, *Baris coerulescens* et *Ceuthorrhynchus napi*, ont été identifiées. Ces activités peuvent être inhibées *in vitro* par des inhibiteurs d'origine végétale, respectivement BBI de soja et OCI de riz.

Une méthode de transfert de gène *via Agrobacterium tumefaciens* a été mise au point sur le cultivar de printemps "00" Drakar. Des plantes exprimant un inhibiteur de protéases à sérine (CII de soja) ou un inhibiteur de protéase à cystéine (OCI) ont été obtenues et caractérisées au niveau moléculaire. Des plantes homozygotes des clones exprimant à un fort niveau OCI et CII sont en cours de sélection. Ces plantes doivent être multipliées afin de pouvoir évaluer leur effet sur différents ravageurs (insectes, nématodes, champignons). D'autre part, le colza étant une plante mellifère, il est primordial de vérifier que l'expression de ces inhibiteurs n'a pas d'impact sur les abeilles.

Use of protease inhibitors to obtain insect-resistant rapeseed

Rapeseed (*Brassica napus* L var *oleifera*) is the target of numerous phytophagous insects, mainly Coleoptera, whose larvae can severely damage this crop. The use of chemicals to control these insects is becoming controversial. A new defence strategy is proposed for rapeseed, based upon the *in planta* expression of proteinase inhibitors (PI). The digestive proteinases of *Baris coerulescens* and *Ceuthorrhynchus napi* were studied; they are members of serine and cysteine proteinase families. These activities can be inhibited by the plant proteinase inhibitors, BBI from soybean and OCI from rice.

A gene transfer method using *Agrobacterium tumefaciens* was established using the spring

'00' cultivar Drakkar. Plants expressing constitutively CII (serine PI) and OCI (cysteine PI) proteins were obtained and characterized. These plants will be multiplied in order to evaluate these effects on different pests (insects, nematodes, and fungi). Moreover, since rapeseed produces large amount of nectar, it is important to be sure that proteinase inhibitor expression will not have an effect on honeybee behaviour.

Einsatz von Proteaseinhibitoren zur Erzeugung insektenresistenter Rapsorten

Raps (*Brassica napus* L var *oleifera*) wird von vielen pflanzenfressenden Insekten befallen, hauptsächlich von Käfern, deren Larven die Ernte stark beeinträchtigen können. Der Gebrauch von Insektiziden wird zunehmend konträr diskutiert. Für Raps wird eine neue Strategie des Pflanzenschutzes vorgeschlagen, die auf Protease Inhibitoren (PI) beruht. Deshalb wurden Verdauungsproteasen von *Baris coerulescens* und *Ceuthorrhynchus napi* untersucht; sie gehören zu den Gruppen der Serin- und Cystein-Proteasen, deren Aktivitäten durch pflanzliche PI gehemmt werden können (durch BBI von Soyabohnen und OCI vom Reis).

Eine Methode des Gentransfer über *Agrobacterium tumefaciens* wurde unter Nutzung des Frühlings 'OO' Cultivar Drakkar eingesetzt. Es wurden Pflanzen gewonnen und charakterisiert, die die Ausbildung der Inhibitoren CII aus Soya (Serin PI) und OCI aus Reis (Cystein PI) zeigten. Diese Pflanzen sollen vermehrt werden, um ihre Auswirkung auf verschiedene Schädlinge (Insekten, Nematoden, Pilze) zu erforschen. Da Raps eine gute Bienenpflanze ist, muß dringend untersucht werden, ob die PI Eigenschaft einen Einfluß auf das Verhalten der Honigbienen hat.

3. Incidence du caractère apétale chez le colza (*Brassica napus* L var *oleifera*) sur le comportement de butinage de l'abeille domestique (*Apis mellifera* L) : étude préliminaire. J Pierre ¹, M Renard ² (¹ INRA, laboratoire de zoologie; ² INRA, station d'amélioration des plantes, BP 29, F-35650 Le Rheu, France)

Des lignées de colza sans pétales ont été récemment sélectionnées en raison de l'inté-

rêt qu'elles peuvent présenter dans la lutte contre la transmission de la sclérotiniose par ces organes. Des observations ont été conduites pour connaître les incidences de cette importante modification de la morphologie florale sur le comportement de butinage des abeilles en plein champ. Pour cela, une microparcelle de colza sans pétale A a été insérée entre 2 lignées témoins (T1, T2) et l'on a comparé leur production en fleurs et en nectar à différentes dates en tant que facteurs d'attractivité. On ne détecte aucune différence entre lignées pour la production de nectar, si ce n'est à une date à laquelle la quantité est faible et où la production de A est significativement légèrement supérieure. Les insectes sont plus nombreux sur la lignée apétale même quand le nombre de fleurs est équivalent entre les 2 lignées. Des mesures de flux des insectes entre les 2 types de fleurs montrent que les abeilles restent fidèles à une lignée (79,7%), que seulement 7,8% passent de A vers T1 et 12,5% de A vers T2 et que, par conséquent, il n'y a pas de passage de T1 ou T2 vers A. Des travaux ultérieurs sur le comportement de butinage *stricto sensu* et la mesure de la charge pollinique sur le corps des insectes sur ces fleurs doivent compléter cette première étude.

The incidence of the lack of petals in oilseed rape (*Brassica napus* L var *oleifera*) on the foraging behaviour of honeybees (*Apis mellifera* L): a preliminary study

Rapeseed lines without petals have recently been selected because of their advantage in avoiding the transmission of the *Sclerotinia* disease by these organs. Observations were made to know the incidence of this important modification of the flower morphology on the foraging behaviour of honeybees in the field. A plot of an apetalous line A inserted between 2 petalous ones (T1, T2) were compared for their flower density at different dates and for their nectar production as factors of attractivity. No significant difference in nectar production was detected except at one date when the quantities were low. In this case the apetalous line secreted slightly more. The

insects were more numerous on the apetalous line even when the number of flowers showed that the honeybees stayed on one line (79.7%). Only 7.8% moved from A to T1 and 12.5% from A to T2. This means there is no transfer from T1 or T2 to A. Further studies on the foraging behaviour *sensu stricto* (by video records) and measurements of pollen load on the insect body are continuing.

Einfluß von fehlenden Blütenblättern beim Raps (*Brassica napus* L var *oleifera*) auf das Verhalten der Honigbienen (*Apis mellifera* L): eine vorläufige Untersuchung

Rapssorten sind kürzlich ohne Blütenblätter gezüchtet worden. Sie haben den Vorteil, daß die Übertragung von *Sclerotinia*, die durch diese Organe erfolgt, vermieden wird. Im Feldversuch wurde beobachtet, welchen Einfluß diese wichtige Veränderung der Blütenmorphologie auf das Sammelverhalten der Honigbienen hat. Dafür wurde eine kleine Parzelle der blütenblattlosen Linie A zwischen 2 Reihen mit den Linien T1 und T2 gepflanzt, die Blütenblätter besitzen. Bei den Linien wurde die Blütenzahl zu verschiedenen Zeiten und die Nektarproduktion als Attraktivitätsmerkmal verglichen. Es wurde kein signifikanter Unterschied in der Nektarproduktion gefunden. Nur an einem Zeitpunkt, an dem die Menge insgesamt niedrig war, hatten die apetalen Linien etwas mehr Nektar. Insekten fanden sich häufiger auf der apetalen Linie, obwohl die Blütenzahl der Linien gleich war. Messungen zeigten, daß Honigbienen bei den jeweiligen Linien blütenstetig blieben (79,7%). Nur 7,8% wechselten von A zu T1 und 12,5% von A zu T2, es erfolgte also kein Transfer von T1 und T2 zu A. Es werden weitere Versuche zum Sammelverhalten im engeren Sinn (durch Videoaufnahmen) und Messungen über die Pollenmengen am Körper der Insekten auf den Blüten durchgeführt.

4. Reconnaissance de composés volatils du colza (*Brassica napus* L var *oleifera*) par l'abeille (*Apis mellifera* L). MH Pham-Delègue ¹, D Laloi ¹, O Bailez ¹, M Le Métayer ¹, F Marion-Poll ², M Blight ³, L Wadhams ³ (¹ INRA-CNRS (URA 1190), laboratoire de neurobiologie comparée des invertébrés, BP 23, 91440 Bures-sur-

Yvette ; ² INRA, station de phytopharmacie, 78026 Versailles CEDEX, France ; ³ Department of Biological and Ecological Chemistry, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Hertsfordshire, AL5 2JQ, UK)

Chez l'abeille domestique la prépondérance des signaux chimiques et la mise en jeu de capacités d'apprentissage olfactif dans le butinage de ressources florales ont été démontrées. Ce travail est une contribution à l'étude des processus de reconnaissance de mélanges volatils floraux. Les stimulus odorants utilisés sont des composés purs ou en mélanges, et des extraits naturels, provenant de fleurs de colza, plante très visitée par les abeilles. Trois approches expérimentales ont été conduites en parallèle :

i) Extension conditionnée du proboscis (ECP) : des abeilles en contention sont soumises individuellement à un conditionnement du réflexe d'extension du proboscis, avec un mélange de 9 composés. Après conditionnement, les abeilles sont testées avec les produits individuels. Quatre produits sont bien reconnus par les abeilles (> 70% réponses conditionnées).

ii) Comportement de butinage en cage de vol : les butineuses en vol libre d'une colonie d'abeilles subissent un conditionnement olfactif avec un dispositif fournissant une solution sucrée associée au mélange de 9 composés volatils. Elles sont testées avec le même dispositif diffusant le mélange et un des 9 produits. Sur la base du nombre de visites aux différents sites, il apparaît que 3 produits sont aussi attractifs que le mélange. Ces résultats mettent en évidence un processus de reconnaissance d'un mélange sur la base d'un nombre réduit de composés (2 produits communs aux 2 expérimentations) sont reconnus comme le mélange).

iii) Couplage chromatographie en phase gazeuse (CG)/ECP : les abeilles subissent

3 traitements : conditionnement de l'extension du proboscis en réponse à un extrait floral de colza, pseudo-conditionnement par présentation dissociée dans le temps de la récompense et de l'odeur, pas de traitement. Des abeilles de chaque groupe sont testées simultanément en sortie de CG. Au cours de l'éluion des produits, 4 zones de réponses sont définies, avec des hypothèses sur les composés actifs. Des réponses spontanées apparaissent chez les individus naïfs ; ces réponses sont accrues par le conditionnement, et réduites par le pseudo-conditionnement.

Oilseed rape (*Brassica napus* L var *Oleifera*) volatiles recognition by the honeybee (*Apis mellifera*)

The prevalence of chemical cues in the honeybee and the role of olfactory learning in their foraging behaviour have been demonstrated. This work is a contribution to the study of floral volatile mixture recognition processes. Oilseed rape flower extract or volatile components, either individual or in mixtures, were used as odour stimuli, the oilseed rape crop being highly attractive to bees. Three sets of experiments were conducted in parallel:

- i) Conditioned proboscis extension (CPE) assay. Restrained bees were individually subjected to an olfactory conditioning of the proboscis extension reflex, with a mixture of 9 components. After conditioning, the bees were tested with the individual components. Four components elicited high level of conditioned responses (> 70%).
- ii) Foraging behaviour in a flight room. Free-flying bees from a colony were subjected to olfactory conditioning on a device providing a sugar solution associated with the 9-component mixture. The foragers were tested on the device diffusing the mixture and one of the 9 individual components. From the respective number of visits to the different odour sources, 3 components were shown to elicit the same level of attraction than the mixture. These data indicate a mixture recognition process based on a reduced number of components (2 of them being recognised at the same level as the mixture in both experiments).
- iii) Combined gas chromatography (GC)/CPE. Bees received 3 treatments, ie conditioning of

the proboscis extension to an oilseed rape floral extract, pseudo-conditioning by separate presentation of the odour and the reward, and no treatment. Bees from each group were simultaneously tested at the output of the GC. During the elution time, 4 CPE areas were defined, with hypothesis on the active components. Spontaneous responses were found in the untreated group; these responses were increased in the conditioned group and depressed after pseudo-conditioning.

Erkennung der Duftstoffkomposition der Rapsblüte (*Brassica napus* L var *oleifera*) durch die Honigbiene

Bei der Honigbiene sind chemische Reize (Duftstoffe) vorherrschend und die Bedeutung des olfaktorischen Lernens beim Sammelverhalten konnte nachgewiesen werden. Diese Arbeit ist ein Beitrag zum Studium des Erkennungsprozesses von Gemischen aus Blütenduftstoffen. Als Testsubstanzen wurden Extrakte von Rapsblüten oder einzelne bzw eine Mischung von Duftstoffen benutzt. Die Rapsblüte ist ein besonders attraktiver Stimulus für Bienen. Folgende Versuchsansätze wurden parallel durchgeführt:

- i) Biotest mit dem konditionierten Rüsselreflex: fixierte Bienen wurden einzeln einem olfaktorischen Konditionsreiz mit einer Mischung aus 9 verschiedenen Duftstoffen ausgesetzt. Nach der Konditionierung wurden die Bienen mit den Einzelkomponenten der Mischung getestet. Bei 4 Komponenten reagierten sie ebensogut (>70%) wie auf den konditionierten Reiz.
- ii) Sammelverhalten im Flugraum: bei frei fliegenden Bienen wurde eine olfaktorische Konditionierung durchgeführt. Hierzu wurde eine Zuckerlösung in Verbindung mit einer 9 Komponenten-Duftmischung geboten. Im Test wurde den Bienen unter gleichen Bedingungen die Mischung oder jeweils eine Einzelkomponente der Mischung geboten. Die Anzahl der Anflüge auf die verschiedenen Duftquellen zeigte, daß 3 Komponenten das gleiche Niveau von Anflügen auslöste wie die Mischung. Diese Daten weisen darauf hin, daß der Erkennungsprozess der Duftmischung auf eine reduzierte Zahl der Komponenten beschränkt ist (Bei beiden Experimenten wurden 2 Komponenten mit dem gleichen Niveau beantwortet wie die Mischung).
- iii) Kombinierte Gaschromatographie GC/ECP: Die Bienen erhielten 3 Behandlungen: Konditio-

nierung auf Blütenduftstoffe des Raps im Rüsselreflextest - Pseudo-Konditionierung durch eine zeitliche Trennung von Anbietung der Duftstoffe und Belohnung - keine Behandlung. Die Bienen jeder Gruppe wurden gleichzeitig am Ausgang des GCs getestet. Während der Elutionszeit ergaben sich 4 Reaktionsbereiche, die ebenfalls für die Hypothesen von 4 aktiven Komponenten sprechen. Bei unerfahrenen Gruppen gab es spontane Reaktionen, diese Reaktionen nahmen bei konditionierten Gruppen zu, nach der Pseudo-Konditionierung nahmen sie ab.

5. Pollinisation de plantes mâles stériles de soja (*Glycine max* L) sous cage d'isolement avec *Megachile rotundata* F comme vecteur de pollen : estimations de la production de graines hybrides et du flux pollinique efficace. P Roumet (INRA, station de génétique et d'amélioration des plantes, domaine de Melgueil, 34130 Mauguio, France)

L'aptitude de *Megachile rotundata* à polliniser des plantes mâles stériles de soja (gène *ms2*) a été observée d'un point de vue quantitatif et qualitatif à travers 4 expérimentations. Le nombre de graines produit par les plantes mâles stériles a été satisfaisant : il représentait, en moyenne, 60% de celui des plantes fertiles isogéniques (avec des valeurs extrêmes de 44 et 69%). Cette productivité grainière plus faible des plantes stériles était liée à un moindre nombre de nœuds reproducteurs portant des gousses. Le flux pollinique efficace a été observé au cours de la floraison à l'aide de marqueurs morphologiques et enzymatiques. Les différences entre les durées de floraison des différents géniteurs expliquaient l'essentiel des différences de contribution entre chaque donneur de pollen au nuage pollinique efficace. En effet, pour un nombre de fleurs similaire, le nombre de descendants de chaque géniteur n'était pas statistiquement différent. Compte tenu de ces résultats, cette utilisation de *Megachile rotundata* représente un outil très intéres-

sant pour la gestion dynamique de la variabilité génétique et la production en nombre de graines hybrides.

Use of *Megachile rotundata* F to pollinate male sterile soybeans (*Glycine max* L) in caged plots: estimation of hybrid seed production and efficient pollen flow

The aptitude of leafcutter bees to pollinate male sterile soybean plants (*ms2* gene) in caged plots was evaluated in 4 experiments from both quantitative and qualitative points of view. The *ms* plant seed set was satisfactory; on average, it represented 60% of the male fertile isogenic seed set (with a range between 44 and 68%). The lower yield of *ms* plants was linked to a smaller number of fertile reproductive nodes. An efficient pollen flow was observed over the flowering period with both morphological and electrophoretic markers. Differences between flowering duration of pollen donors appear to be the major factor inducing unbalanced populations. This technique provides breeders with a tool for dynamic management of genetic resources or for hybrid seed production.

Bestäubung von männlich-sterilen Soyabohnen (*Glycine max* L) in Flugzelten durch *Megachile rotundata*: Schätzung der Produktion von Hybridsamen und des effektiven Pollenflusses

Die Eignung der Blattschneiderbienen zur Bestäubung männlich-steriler Blüten der Soyapflanzen (*ms2* Gene) in Flugzelten wurde in 4 Versuchen sowohl quantitativ als auch qualitativ bewertet. Der Samenansatz der *ms2* Pflanzen war zufriedenstellend: im Durchschnitt hatten 60% des männlich fertilen Isogens Samen angesetzt (im Bereich von 44% und 69%). Der geringere Ertrag der sterilen Pflanzen war gekoppelt mit einer kleineren Anzahl der fertilen Fruchtknoten. Der effektive Pollenfluß wurde während der Blühphase sowohl mit morphologischen als auch mit elektrophoretischen Markern untersucht. Unterschiede in der Blühdauer der Pollenspender scheint der Hauptfaktor zu sein, der unbalancierte Populationen erzeugt. Diese Technik eröffnet den Züchtern eine Methode für eine dynamische Nutzung der genetischen Ressourcen und für die Erzeugung von Hybridsamen.

7. Intensité de pollinisation et fructification chez 'Lauranne', variété autocompatible d'amandier (*Prunus amygdalus* Batsch) JP Torre Grossa, M Cousin, B Vaissière, G Rodet (INRA, station de zoologie et d'apiculture, BP 91, F-84143 Montfavet CEDEX)

'Lauranne' est une nouvelle variété d'amandier sélectionnée pour sa tardiveté et son autocompatibilité. Le travail mené depuis 3 ans a pour objectif de définir ses besoins en pollinisation. Les résultats de 1991 et 1992 ont montré en particulier qu'en conditions d'autopollinisation passive, comme celles pouvant survenir en l'absence d'abeilles, cette variété fructifie moins et produit des amandons plus petits que lors d'une pollinisation active avec de l'auto- ou de l'allopollen. Ces résultats suggèrent une relation entre l'intensité de pollinisation et la production d'amandons que nous avons examinée en 1993.

Sur des pistils en culture *in vitro* à 18°C, on a appliqué 4 traitements d'autopollinisation : 1, 2, 3 dépôts et saturation de pollen sur le stigmate, un dépôt correspondant à environ 5 grains de pollen. La migration des tubes polliniques au travers du style a été observée 12, 24, 36, 48, 60 et 72 h après la pollinisation.

Dès 36 h après une pollinisation saturante, tous les pistils avaient au moins 1 tube pollinique à la base du style. Un résultat similaire n'a été obtenu que 48 à 60 h après 2 ou 3 dépôts de pollen. Avec un seul dépôt de pollen et après 72 h, seulement 70% des pistils se trouvaient dans la même situation. Ces résultats suggèrent que la présence d'agents pollinisateurs pendant la floraison maximisera toujours la production de 'Lauranne'. Seule une abondante population d'abeilles peut assurer une intensité de pollinisation uniforme et élevée, permettant de raccourcir les délais de migration des tubes polliniques et réduisant ainsi la durée d'exposition aux risques climatiques

et la probabilité d'atteindre un ovule sénescé.

Pollination intensity and fruit set in 'Lauranne', a self-compatible almond cultivar (*Prunus amygdalus* Batsch)

'Lauranne' is a new almond cultivar selected for its tardiness and its self-compatibility. We have been evaluating its pollination needs for the past 3 years. The results from 1991 and 1992 demonstrated that with self-pollination only (in the absence of bees), this cultivar sets fewer fruit and produces smaller nuts than when there is some active pollen transfer with either auto- or allo-pollen. This result suggests that there is a relationship between pollination intensity and nut production. We investigated this relationship in 1993.

Pistils were maintained *in vitro* at 18°C and received one of 4 pollination intensities with self-pollen: 1, 2, or 3 pollen loads, each load consisting of about 5 pollen grains, and thorough covering of the stigma. Pollen tube migration through the style was observed 12, 24, 36, 48, 60 and 72 h after pollination.

With the maximum pollen load, all the pistils had at least 1 pollen tube at the base of the style only 36 h after pollination. A similar result was obtained after 48 to 60 h with 2 or 3 pollen loads, while with a single pollen load, only 70% of the pistils were in the same situation after 72 h. These results suggest that the presence of an active pollinator during flowering will maximize the production of 'Lauranne' in all circumstances. Only an abundant bee population can achieve a uniformly high pollination intensity which shortens the duration of pollen tube migration across the style, thereby reducing the period during which the flowers are the most sensitive to adverse weather conditions and lowering the probability that the pollen tubes reach a senescent ovule.

Intensität der Bestäubung und des Fruchtansatzes bei 'Lauranne', einer selbst-kompatiblen Zuchtform der Mandel (*Prunus amygdalus* Batsch)

'Lauranne' ist eine neue Zuchtform der Mandel, die als Spätblüher und Selbstbestäuber (selbst-kompatibel) selektiert wurde. Während der letzten 3 Jahre haben wir den Bedarf der Bestäubung untersucht. Die Ergebnisse der Jahre 1991 und 1992 zeigten, daß diese Zuchtform bei Selbst-

bestäubung, die in Abwesenheit von Bienen erfolgen kann, weniger Früchte ansetzt und daß die Mandeln kleiner sind, als bei aktivem Pollentransfer sowohl mit eigenem als auch mit Fremdpollen. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß es eine Beziehung zwischen der Intensität der Bestäubung und der Mandelproduktion gibt. Diese Beziehung wurde 1993 untersucht.

Die Blütenstempel wurden bei 18°C *in vitro* gehalten und erhielten 4 verschiedene Behandlungen mit eigenem Pollen: sie wurden mit 1, 2 oder 3 Pollenladungen bestäubt, jede Ladung enthielt etwa 5 Pollenkörner. Der Pollen wurde sorgfältig auf der Narbe (Stigma) verteilt. Das Wachstum des Pollenschlauches durch den Griffel wurde nach 12, 24, 36, 48, 60 und 72 Stunden untersucht.

Bei der Höchstmenge der Pollenladungen war von allen Narben mindestens ein Pollenschlauch bereits nach 36 Stunden bis zum Grund des Griffels gewachsen. Ein ähnliches Ergebnis ergab sich nach 48 bzw 60 Stunden mit 2 oder 3 Pollenladungen, während bei einer einzigen Pollenladung nur bei 70% der Narben nach 72 Stunden dieses Wachstum beobachtet wurde. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß die Anwesenheit aktiver Bestäuber während der Blüte den Ertrag von 'Lauranne' in jedem Fall maximiert. Nur eine ausreichende Bienenpopulation kann eine so gleichmäßig hohe Bestäubung erreichen, daß das Wachstum des Pollenschlauches durch den Griffel beschleunigt wird. Dadurch wird die Zeitspanne zwischen Bestäubung und Befruchtung verkürzt, in der die Blüte am empfindlichsten gegen schlechte Wetterbedingungen ist. Gleichzeitig wird die Wahrscheinlichkeit verringert, daß der Pollenschlauch nur eine bereits gealterte Samenanlage erreicht.

9. Pollinisation et flux polliniques dans l'atmosphère d'un verger de kiwi, *Actinidia deliciosa* var *deliciosa* Chev. F Malabœuf¹, B Vaissière¹, P Cour², G Rodet¹, JP Torre Grossa¹ (¹INRA, station de zoologie et d'apiculture, BP 91, F-84143 Montfavet CEDEX; ²URA 327 du CNRS, laboratoire de palynologie, université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc F-34095 Montpellier CEDEX 5)

Le kiwi est une liane fonctionnellement dioïque dont les fleurs des 2 sexes produi-

sent du pollen. Des travaux menés en enceintes grillagées ont montré que le vent joue un rôle dans la pollinisation des vergers. Notre étude avait pour objectif de mesurer les flux polliniques atmosphériques issus des fleurs staminées et pistillées.

En 1992, dans le département des Landes, une girouette porte-filtres (interception passive du pollen) a été placée au milieu d'un verger de 9 ans, entre 2 lianes femelles et à égale distance des lianes mâles les plus proches. Les lianes femelles (cv 'Hayward') et mâles (cv 'Matua') étaient conduites en T-bar et les filtres étaient au niveau des fleurs les plus hautes (2 m). Les filtres ont été exposés pendant des périodes de 2 h sur 2 j consécutifs et des périodes de 24 h durant toute la floraison des lianes femelles. Ces filtres de 400 cm² en gaze hydrophile imprégnée d'huile de silicone ont été dissous. Après acétolyse, nous avons dénombré séparément le pollen des 2 types de fleurs.

Les concentrations polliniques quotidiennes ont évolué de façon semblable au cours de la floraison avec un maximum de 43 et 39 grains de pollen de kiwi par m³ d'air et par jour pour les fleurs staminées et pistillées, respectivement. Les flux polliniques ont nettement varié au cours de la journée avec un pic se situant entre 7 h et 13 h (temps universel) pour le pollen des fleurs staminées (78% du total de grains capturés par jour) et entre 9 h et 13 h pour le pollen des fleurs pistillées (73% du total de grains capturés par jour). Ces périodes coïncident avec les phases de déhiscence des anthères et d'activité maximale des abeilles.

Pollination and pollen flow in the atmosphere of a kiwifruit orchard, *Actinidia deliciosa* var *deliciosa* Chev

Kiwifruit is a functionally dioecious vine and flowers of both sexes produce pollen. Studies with insect-proof cages have shown that wind plays a significant role in pollination of kiwifruit orchards. Our objective was to measure the atmospheric

pollen flow from staminate and pistillate kiwifruit flowers.

In 1992, we installed a pollen sampler (passive pollen capture) between 2 female vines and at the same distance from the nearest male vines in the middle of a 9-year-old orchard in the Landes (southwest France). Female (cv 'Hayward') and male (cv 'Matua') vines were trained on standard T-bar and pollen filters were at the level of the highest flowers (2 m). Filters were exposed continuously for periods of 2 h on 2 consecutive days and for periods of 24 h throughout female blooming. The 400 cm² filters were made of cellulose gauze slightly impregnated with silicon oil. They were dissolved and, after acetolysis, the amount of pollen from staminate and pistillate kiwifruit flowers was recorded separately.

Daily atmospheric pollen concentration varied similarly throughout the blooming season with maxima of 43 and 39 kiwifruit pollen grains per m³ of air and per day for staminate and pistillate flowers, respectively. Airborne pollen flow varied throughout the day with a peak between 0700 h and 1300 h (universal time) for the pollen of staminate flowers (78% of the total number of pollen grains captured per day) and 0900 h and 1300 h for the pollen of pistillate flowers (73% of the total number of pollen grains captured per day). These periods coincide with those of anthesis and maximum insect foraging.

Bestäubung und Pollenflug in einer Kiwifruuchtplantage (*Actinidia deliciosa* var *deliciosa* Chev)

Die Kiwifruucht ist funktionell eine zweihäusige Rankenpflanze, obwohl beide Geschlechter Pollen erzeugen. Versuche in für Insekten undurchlässigen Käfigen haben gezeigt, daß der Wind eine bedeutende Rolle bei der Bestäubung der Kiwiplantagen spielt. Unser Ziel war es zu bestimmen, wieviel Flugpollen von den Staubbeuteln (Stamina) auf die Narben der Kiwiblüten gelangen.

1992 stellten wir einen Pollensammler (passive Pollenfalle) mitten in einer 9 Jahre alten Plantage (Landes, Südwest Frankreich) zwischen 2 weibliche Pflanzen und im gleichen Abstand von der nächsten männlichen Pflanze auf. Die Ranken von vorwiegend weiblichen (cv 'Hayward') bzw männlichen (cv 'Matua') Pflanzen wurden an Standard T-Balken gezogen und die Pollenfilter waren in Höhe der höchsten Blüten (2 m) angebracht. Die Filter wurden fortlaufend für die Dauer

von 2 Stunden an 2 aufeinanderfolgenden Tagen und für je 24 Stunden während der gesamten Blüte aufgestellt. Die Filter, die aus 400 cm² Zellulosegaze bestanden und leicht mit Silikonöl getränkt waren, wurden aufgelöst. Nach der Acetolyse bestimmten wir getrennt die Pollenmenge von den vorwiegend männlichen (staminaten) bzw weiblichen (pistillaten) Blüten.

Die tägliche Konzentration der Flugpollen variierte bei staminaten und pistillaten Blüten in ähnlichem Bereich während der ganzen Blühsaison mit Maxima von 43 bis 39 Pollenkörnern pro m³ Luft und Tag. Während des Tagesverlaufs variierte die Menge des Flugpollens mit einem Peak zwischen 7.00 und 13.00 h (Weltzeit) bei Pollen der staminaten Blüten (78% der Gesamtmenge der Pollenkörner pro Tag) und einem Peak zwischen 9.00 und 13.00 h für Pollen der pistillaten Blüten (73% der Gesamtmenge pro Tag). Diese Periode fällt mit der Blühzeit und dem Maximum der Sammelaktivität der Insekten zusammen.

14. Comparaison des performances pollinisatrices du pollinisateur (*Blastophaga psenes*) et d'un parasite (*Philotrypesis caricae*) de figuier. MC Anstett, A Tayou, F Kjellberg (CEFE, CNRS, 1919, route de Mende, BP 5051, F-34033 Montpellier CEDEX 01)

L'étude de la coévolution entre les plantes et leurs pollinisateurs est particulièrement importante dans le cas d'interactions spécifiques obligatoires tel le mutualisme figuier-pollinisateur. Les fleurs de figuiers (*Moraceae*, *Ficus* sp) sont enfermées dans les figues. Elles ne sont pollinisées que par un chalcidien spécifique (*Agonidae*) qui pond à l'intérieur de certains ovaires de figuier. D'autres chalcidiens sont parasites, ils pondent à travers la paroi de la figue et ne pollinisent pas puisqu'ils n'entrent jamais dans la figue. Après quelques semaines, les nouveaux insectes émergent dans la cavité de leur figue natale. En sortant ils traversent une zone remplie de fleurs mâles et se chargent de pollen. Une fois dehors, ils s'envolent à la recherche d'une autre figue réceptive où pondre leurs oeufs. La comparaison

entre *Blastophaga psenes* (pollinisateur du figuier cultivé) et *Philotrypesis caricae* (son parasite) montre que i) le *Philotrypesis* transporte un peu moins de pollen que le pollinisateur (env 80%) ; ii) une figue sans pollinisateur où un *Philotrypesis* est introduit de force produit moitié moins de graines qu'une figue pollinisée normalement. Le comportement des insectes peut expliquer cette différence : le pollinisateur parcourt toute la cavité pour chercher un site de ponte alors que le comportement du *Philotrypesis* est sans doute erratique.

Ces faibles différences montrent qu'aucune adaptation n'est indispensable au transport de pollen. Pour être un pollinisateur de figuier efficace, il suffirait au parasite de rentrer dans la figue au bon moment.

A comparison of the pollinating ability of fig pollinators (*Blastophaga psenes*) and fig parasites (*Philotrypesis caricae*)

Studies on the coevolution of plants and their pollinators are particularly important when the interaction is obligatory and species specific. This is the case for the mutualism between fig trees (*Moraceae*, *Ficus* sp) and fig wasps. Fig flowers are contained within the fig (sycone) and can only be pollinated by a specific chalcidoid (*Agonidae*) which lays eggs inside the ovaries. Other chalcidoid species are parasites and also lay eggs inside the ovaries but from the outside of the sycone; they never pollinate since they do not enter the sycone. A few weeks later, newly born wasps emerge in the cavity of their natal sycone. When leaving the sycone, they pass the gorge of the sycone where they brush against male flowers and are thus loaded with pollen. Once outside, pollinators and parasites fly in search of another receptive fig in which to lay their eggs. In this study, the comparison between *Blastophaga psenes* (the pollinator of the cultivated fig tree) and *Philotrypesis caricae* (the parasite) has shown that: 1) *Philotrypesis* carries slightly less pollen than *Blastophaga* (circa 80%); and 2) when a *Philotrypesis* is artificially introduced into a receptive fig, the fig produces 50% of the normal seed set. Wasp behaviour may explain this difference in that pollinators explore all fig cavities as they search for a site in which to lay eggs, whereas parasite probably have a more random behaviour.

The small differences between pollinators and parasites indicate that no particular adaptation is necessary for pollen transport. For the parasitic wasps, entering a fig at the correct development stage is enough for it to act as an efficient fig pollinator.

Vergleich der Bestäubungsleistung beim Feigenbaum (*Ficus* sp) von Feigen-Bestäubern (*Blastophaga psenes*) und Feigen-Parasiten (*Philotrypesis caricae*)

Studien über die Coevolution von Pflanzen und ihren Bestäubern sind besonders wichtig, wenn diese Beziehung obligatorisch und artspezifisch ist. Das trifft im Falle des Mutualismus zwischen den Feigenbäumen (*Moraceae*, *Ficus* sp) und den Feigen-Wespen zu. Feigenblüten befinden sich innerhalb der Feige (Scheinfrucht) und können nur durch eine spezifische Erzwespe (*Chalcidoidea*, *Agonidae*) bestäubt werden, die ihre Eier innen an der Samenanlage ablegt. Andere Erzwespenarten sind Parasiten, die ihre Eier auch in die Samenanlage ablegen, die Scheinfrucht aber von außen anstechen und niemals bestäuben, da sie nie in die Scheinfrucht gelangen. Ein paar Wochen später schlüpfen die jungen Wespen in der Höhle ihrer Geburtsfrucht. Beim Verlassen der Scheinfrucht müssen sie durch einen engen Hals laufen, wobei sie gegen die männlichen Blüten stoßen und dabei mit Pollen beladen werden. Einmal außerhalb, suchen sowohl die Bestäuber als auch die Parasiten neue geeignete Feigenblüten, in die sie ihre Eier legen. In dieser Studie zeigte der Vergleich zwischen *Blastophaga psenes* (dem Bestäuber der kultivierten Feigenbäume) und *Philotrypesis caricae* (dem Parasit), daß *Philotrypesis* etwas weniger Pollen trägt als *Blastophaga* (ca 80%). Weiter zeigte sich, daß bei künstlicher Einbringung von *Philotrypesis* in eine rezepive Feigenblüte, die Feige 50% des normalen Samenansatzes bildet. Dieser Unterschied könnte durch das Verhalten der Wespe erklärt werden. Die Bestäuberwespe inspiziert alle Höhlen der Scheinfrucht auf der Suche nach dem Platz, an dem sie die Eier ablegen kann, während der Parasit wahrscheinlich eine mehr zufällige Bewegung zeigt.

Die geringen Unterschiede zwischen Bestäuber und Parasit zeigen, daß es keiner besonderen Anpassung für den Pollentransport bedarf. Um ein guter Bestäuber zu sein, ist es auch bei der parasitischen Wespe ausreichend, im richtigen Entwicklungsstadium in die Feige einzudringen.