

**Groupe de travail Pollinisation de l'Institut national de la recherche agronomique  
(INRA, France).  
Réunion de Montpellier du 17 mars 1995**

**Pollination Working Group of the National Institute  
of Agronomic Research (INRA), France.  
Meeting in Montpellier, March 17, 1995**

**Arbeitsgruppe Bestäubung des nationalen Instituts  
für landwirtschaftliche Forschung (INRA), Frankreich.  
Tagung in Montpellier, März 17, 1995**

**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** (\* after the title indicates that no abstract of this report is published in this issue)

**Verzeichnis der Referate** (\* bedeutet, daß zu diesem Thema keine Zusammenfassung aufgeführt ist)

**Cytométrie en flux  
Flow cytometry  
Durchfluß - Cytometrie**

1. Cytométrie en flux : présentation. \* *S Brown*

Flow cytometry: presentation \*

Durchfluß- Cytometrie: Präsentation \*

2. Étude du pollen par cytométrie en flux. \* *C Mousset Declas*

Flow cytometry applied to pollen study \*

Pollenstudien mit Durchfluß - Cytometrie \*

**Flux de pollen et flux de gènes  
Pollen flow and gene flow  
Pollenflug und Genfluß**

3. Effets théoriques de l'efficacité pollinique sur les allocations de ressources, le rapport pollen/ovule et le *seed set* dans le cas de plantes apomictiques hermaphrodites. \* *M Noiro*

Theoretical effects of pollen efficiency on resource allocations, pollen/ovule ratio and the seed set for apomictic hermaphrodite plants \*

Theoretischer Wirkungsgrad der Bestäubung auf die Verteilung der Ressourcen, auf das Verhältnis von Pollen/Samenanlage und Samenansatz bei apomiktischen, zwittrigen Pflanzen \*

4. Systèmes de reproduction et flux de gènes dans les populations. \* *J Ronfort*

Reproductive systems and gene flow in population \*

Fortpflanzungssystem und Genfluß in Populationen \*

5. Structuration de la variabilité génétique et caractérisation des flux de gènes à l'intérieur du complexe *Medicago sativa*.

\* E Jenczewski

Pattern of the genetic variability and gene flow within the *Medicago sativa* complex \*

Struktur der Genvariabilität und Charakterisierung des Genflusses im *Medicago sativa* Komplex \*

### Efficienc e de la pollinisation

#### Pollination efficiency

#### Bestäubungsleistung

6. Efficience pollinisatrice de quelques insectes sur des populations d'espèces sauvages du genre *Helianthus*. S Meynié

Pollinator efficiency of some insects in relation to wild populations of the *Helianthus* genus

Die Bestäubungsleistung einiger Insektenarten auf wildwachsenden Arten von *Helianthus*

7. La place de l'autopollen dans la pollinisation du trèfle blanc (*Trifolium repens* L). G Rodet

Function of the self-pollen in white clover *Trifolium repens* L pollination

Einfluß von eigenem Pollen auf die Samenerzeugung beim Weißklee (*Trifolium repens* L)

8. Influence de l'intensité de pollinisation sur la tenue et le remplissage des fruits de cacaoyer (*Theobroma cacao* L). M Falque

Influence of pollination intensity on yield components of cacao (*Theobroma cacao* L)

Einfluß der Bestäubungsintensität auf Komponenten des Kakaoertrages (*Theobroma cacao* L)

### Biologie des insectes

#### Insect biology

#### Insektenbiologie

9. Quelques aspects de la biologie des dasypodes (apoïdes). Exploitation des ressources alimentaires. Y Loublier, A Pouvreau

Observations on the biology of *Dasypoda hirtipes* F (Apoidea)

Beobachtungen zur Biologie von *Dasypoda hirtipes* Fabricius 1793 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae)

**6. Efficience pollinisatrice de quelques insectes sur des populations d'espèces sauvages du genre *Helianthus*. S Meynié (INRA, SGAP, 34130 Montpellier, France)**

L'efficience pollinisatrice de 4 insectes pollinisateurs (*Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Megachile rotundata* et un diptère, la mouche bleue *Calliphora* spp) sur 3 espèces sauvages de tournesol (*Helianthus annuus*, *Helianthus argophyllus*, *Helianthus debilis cucumerifolius*) en cage de pollinisation a été comparée avec la pollinisation manuelle (sibcross) et la pollinisation libre. Quelle que soit l'espèce végétale ou quel que soit l'insecte considéré, le nombre d'akènes par capitule est significativement supérieur au nombre d'akènes obtenu par la méthode manuelle.

Dans le cas de *H debilis* (espèce dont le diamètre des capitules n'excède pas 2 cm), il n'apparaît pas de différence significative entre l'efficience pollinisatrice des 4 insectes. Pour *H annuus* et *H argophyllus*, le nombre d'akènes produit avec *Bombus terrestris* est supérieur à celui obtenu par les autres insectes et comparable au témoin «pollinisation libre». La production d'akènes enregistrée pour *Megachile rotundata* et *Calliphora* spp varie de 65 à 79% par rapport à

celle du témoin mais reste très nettement supérieure à la pollinisation manuelle (25% du témoin). *Apis mellifera* se positionne entre ces 2 groupes d'insectes.

D'une plante à l'autre, le nombre d'akènes par capitule est plus homogène avec le bourdon et l'abeille qu'avec les 2 autres insectes. Néanmoins, l'optimisation du nombre d'individus pour le mégachile ou la mouche par rapport au nombre de plante réduit la variabilité observée inter-plante.

### **Pollinator efficiency of some insects in relation to wild populations of the *Helianthus* genus**

The efficiency of 4 species of pollinator insects (*Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Megachile rotundata* and the *Calliphora* spp flies) to pollinate 3 wild sunflower species (*Helianthus annuus*, *H argophyllus*, *H debilis cucumerifolius*) in insect-proof cages was compared to hand pollination (sib-crosses) and open-pollination. Whatever the insect species, the number of kernels per head was greater than in classical hand pollination.

As regards the *H debilis* species (whose head diameter is less than 2 cm) no significant difference was found between the efficiency of the 4 insect species. Significant differences occur between insects for *H annuus* and *H argophyllus* wild species: *B terrestris* was the most efficient insect with similar results as for open-pollination (control treatment). The seed set obtained with *M rotundata* and *Calliphora* spp was lower: it represented from 65 to 79% of the control but remained significantly higher than hand pollination (25% of control). *A mellifera* gave intermediate results between these 2 groups.

Between plants, seed number was more homogeneous with bumble bees and honey bees, but the adjustment of the number of

leafcutter bees or fly-to-plant number decreases the interplant variability for seed production.

### **Die Bestäubungsleistung einiger Insektenarten auf wildwachsenden Arten von *Helianthus***

Es wurde ein Vergleich über den Bestäubungserfolg von vier blütenbesuchende Insektenarten (*Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Megachile rotundata* und *Calliphora* spp) bei drei wildwachsenden Arten der Sonnenblume (*Helianthus annuus*, *H argophyllis*, *H debilis cucumerifolius*) in insektendichten Käfigen mit manueller Bestäubung (sibcross) sowie mit offener Bestäubung als Kontrolle durchgeführt. Unabhängig von der Insektenart war bei allen Pflanzenarten die Samenzahl pro Blüte signifikant höher als bei der manuellen Bestäubung.

Bei *H debilis cucumerifolius* (deren Blüte nicht mehr als 2 cm Durchmesser erreicht) wurde kein signifikanter Unterschied in der Bestäubungsleistung der vier Insektenarten gefunden. Bei *H annuus* und *H argophyllis* wurde mit *B terrestris* der höchste Samenansatz erreicht, die Ergebnisse waren mit dem Kontrollversuch mit offener Bestäubung vergleichbar. Der mit *Megachile rotundata* und *Calliphora* spp erzielte Samenansatz war niedriger und betrug 65 bis 97% der Kontrolle, war aber immer noch signifikant höher als der der manuellen Bestäubung (25% der Kontrolle). Die Ergebnisse mit *A mellifera* lagen zwischen den letzten beiden Gruppen.

Der Samenansatz war bei Bestäubung durch Honigbienen und Hummeln gleichmäßiger als bei den beiden anderen Insektenarten. Allerdings vermindert eine Optimierung der Individuenzahl der Blattschneiderbienen oder der Fliegen im Verhältnis zur Anzahl der Pflanzen die Schwankungen in der Samenproduktion.

**7. La place de l'autopollen dans la pollinisation du trèfle blanc (*Trifolium repens* L) en production de semences.** G Rodet (INRA, CRAA, 84914 Avignon, France)

Le trèfle blanc (*Trifolium repens* L) a une fleur zygomorphe, hermaphrodite, auto-incompatible (incompatibilité gamétophytique) mais, la déhiscence de ses anthères ayant lieu avant l'anthèse, elle est capable de s'autopolliniser avant de s'épanouir. On compare les dépôts de pollen obtenus sur des fleurs émasculées ou non modifiées après qu'elles ont subi 3 traitements de pollinisation : i) une visite d'abeille domestique (*Apis mellifera* L), ii) l'exposition pendant une journée au butinage spontané qui a été réalisée par les seules abeilles domestiques au cours de nos 3 essais et iii) l'absence de toute visite, assurée par l'ensachage des inflorescences. Les quantités de pollen déposées montrent que les fleurs sont visitées plusieurs fois au cours de la journée, mais que la présence systématique de l'autopollen entraîne la saturation du stigmate dès la première visite d'une abeille. Les visites supplémentaires n'augmentent pas la quantité de pollen déposée sur le stigmate mais améliorent l'efficacité de ce pollen si l'on considère les quantités de tubes polliniques qui atteignent l'ovaire et les taux de fécondation obtenus. L'autopollinisation, qui est obligatoire, est un facteur limitant de la pollinisation des fleurs de trèfle blanc dont les effets peuvent être atténués par la multiplication des visites d'un insecte pollinisateur tel que l'abeille domestique.

**Function of the self-pollen in white clover (*Trifolium repens* L) pollination**

Flowers of white clover (*Trifolium repens* L) are zygomorphic, hermaphrodite and self-incompatible and their cross-pollination depends solely on anthophilous insect traffic, essentially of the order Hymenoptera. Because self-pollination of white clover

occurs before the flower anthesis and therefore any bee visit, we determined whether selfing could affect the pollination efficiency of a honeybee visit. We compared pollen deposition between emasculated and intact flowers following: (1) a single foraging visit by a honeybee; (2) open-pollination for a day (only honeybees foraged on white clover during our experiments); and (3) enclosure in a cloth bag to prevent any insect visit. Pollen deposition on emasculated flowers showed that most of the open-pollinated flowers were visited more than once. However, because of self-pollination, saturation of the stigma was achieved after the first visit of a honeybee. Additional visits did not enhance pollen deposition, but they improved pollen efficiency in terms of numbers of pollen tubes reaching the ovary and fertilization rates. In such a context of easily saturated stigma, self-pollen might hamper cross-pollination because it behaves as a diluant in pollen transfer processes.

**Einfluß von eigenem Pollen auf die Samenerzeugung beim Weißklee (*Trifolium repens* L)**

Die Blüten des Weißklee (*Trifolium repens* L) sind zygomorph, zwittrig und selbststeril. Ihre Fremdbestäubung beruht allein auf dem Bflug durch blütenbesuchende Insekten, vor allem von Hymenopteren. Da die Selbstbestäubung des Weißklee vor der Blütezeit und dadurch vor einem Bienenbesuch erfolgt, untersuchten wir, ob die Selbstbestäubung einen Einfluß auf den Bestäubungserfolg einer Honigbiene hat. Wir verglichen die Pollenübertragung auf eine Blüte mit entfernten Staubblätter mit der auf eine intakte Blüte: 1) nach einem Einzelbflug durch eine Honigbiene; 2) nach freier Bestäubung während eines Tages (während unserer Versuche haben nur Honigbienen den Klee befliegen); und 3) nach Umhüllung mit einem Stoffbeutel, der jeden Insektenbflug verhinderte. Die

Anzahl der abgelagerten Pollenkörner ergab, daß die meisten frei bestäubten Blüten mehr als einmal befliegen wurden. Aber wegen der Selbstbestäubung wurde eine Sättigung der Narbe bereits nach dem ersten Beflug durch eine Honigbiene erreicht. Zusätzlicher Beflug erhöhte die Menge des Pollen nicht, aber sie verbesserte die Wirksamkeit des Pollen in Hinsicht auf die Anzahl der Pollenschläuche, die die Samenanlage erreichten und auf die Rate der Befruchtung. Die obligatorische Selbstbestäubung ist ein Faktor, der die Bestäubung des Weißklees begrenzt. Die Auswirkungen dieses Faktors werden aber durch den mehrmaligen Besuch eines Bestäuberinsektes wie der Honigbiene abgemildert.

**8. Influence de l'intensité de pollinisation sur les composantes du rendement de cacaoyer (*Theobroma cacao* L).** M Falque (CIRAD-AGETROP, 34032 Montpellier, France)

Cette étude porte sur l'effet de l'intensité de pollinisation (IP) sur la production de fruits et de graines du cacaoyer. Les styles ont été excisés 24 h après pollinisation manuelle d'intensité variable, pour mesurer l'IP sans perturber le développement de l'ovaire.

Nous avons ainsi étudié la relation fonctionnelle entre l'IP et le taux de tenue des fruits sur un génotype auto-compatible connu pour donner des fruits bien remplis (IFC5) et deux génotypes auto-incompatibles connus pour donner des fruits mal remplis (UPA 409 et SCA6). Cette relation était de type sigmoïde, et la demi-saturation de la tenue des fruits nécessitait une IP 2 fois plus importante chez le clone IFC5 (80 grains de pollen) que chez UPA409 ou SCA6 (40 grains).

Pour SCA6 et UPA409, le nombre de graines par fruit a été observé et modélisé en fonction de l'IP. Plus de 200 grains de

pollen étaient nécessaires pour féconder les 50 à 65 ovules de l'ovaire. Les résultats de la modélisation suggèrent que les tubes polliniques peuvent décharger leurs gamètes dans des ovules déjà atteints par un autre tube. Pour le clone auto-compatible IFC5, l'IP avait peu d'influence sur le nombre de graines par fruit.

En pollinisation naturelle par les insectes, la distribution du nombre de graines par fruit était comparable à celle obtenue en pollinisation manuelle faible (< 200 grains) pour SCA6, et comparable à celle obtenue en pollinisation manuelle forte (> 200 grains) pour IFC5, ce qui peut s'expliquer par l'auto-incompatibilité de SCA6.

**Influence of pollination intensity on yield components of cacao (*Theobroma cacao* L)**

The object of this study was to assess the effect of pollination intensity (PI) on the fruit set and seed set of cacao. In order to measure PI without affecting further development of the ovary, the styles were removed 24 h after hand pollination with varying PIs.

The functional relationship between PI and fruit set was observed with a self-compatible genotype (IFC5) known to produce well-filled fruits, and with 2 self-incompatible genotypes (UPA409 and SCA6) known to produce bad-filled fruits. This relationship was sigmoidal, and half-saturation of fruit set required twice as much pollen grains for IFC5 (80 grains) than for SCA6 (40 grains).

Concerning SCA6 and UPA409, the number of seeds per fruit was observed and modelled as a function of PI. More than 200 pollen grains were required to fertilise the 50–65 ovules present in an ovary. Results of modelling suggest that some pollen tubes discharge their gametes in ovules that have already been reached by another pollen tube. Concerning the self-compatible clone

IFC5, PI had little effect on seed number per fruit.

Under open insect-pollination conditions, the distribution of seed number per fruit was similar to that obtained after low-intensity hand pollination (< 200 grains) with SCA6, and similar to that obtained after high-intensity hand pollination (> 200 grains) with IFC5, which can be explained by the self-incompatibility of SCA6.

### **Einfluß der Bestäubungsintensität auf Komponenten des Kakaoertrages (*Theobroma cacao* L)**

Die Wirkung der Bestäubungsintensität (BI) bei Kakaoblüten wurde für den Fruchtansatz und für den Samenansatz untersucht. Um die BI ohne weitere Beeinflussung der Entwicklung des Fruchtknotens zu messen, wurden die Griffel 24 Stunden nach der mit unterschiedlichen Methoden durchgeführten Handbestäubung entfernt.

Zur Beobachtung des funktionalen Zusammenhangs zwischen BI und Fruchtansatz wurde der selbstfertile Genotyp IFC5, der immer gut mit Samen gefüllte Früchte erzeugt, mit den beiden selbststerilen Genotypen UPA409 and SCA6 verglichen, deren Früchte nur wenig Samen erzeugen. Die Beziehung war sigmoidal, wobei für die Hälfte des möglichen Fruchtansatz bei IFC5 doppelt so viele Pollenkörner (80 Körner) wie bei SCA6 (40 Körner) benötigt wurden.

Die Anzahl der Samen pro Frucht wurde bei SCA6 und APA09 ausgewertet und als Funktion von BI aufgetragen. Um die 50 bis 65 Samenanlagen eines Fruchtknotens zu befruchten, wurden mehr als 200 Pollenkörner benötigt. Nach den Ergebnissen des Modells scheint es, daß einige Pollenschläuche ihre Gameten in Samenanlagen einführen, die bereits von anderen Pollenschläuchen erreicht waren. Bei dem selbstfertilen Klon hatte die BI nur eine geringe Wirkung auf die Samenanzahl pro Frucht.

Unter Bedingungen einer freien Bestäubung durch Insekten war die Verteilung der Samen pro Frucht bei SCA6 ähnlich wie nach einer Handbestäubung mit wenig Pollenkörnern (< 200) und bei IFC5 ähnlich wie nach einer Handbestäubung mit vielen Pollenkörnern (> 200). Dieses Ergebnis kann mit der Selbststerilität von SCA 6 erklärt werden.

### **9. Quelques aspects de la biologie des dasypodes (apoïdes) : exploitation des ressources alimentaires.** Y Loublier, A Pouvreau (INRA-CNRS, 91440 Bures-sur-Yvette, France)

Quelques aspects de la biologie de *Dasy-poda hirtipes* ont été observés sur 3 sites naturels. Les terriers de 30 à 70 cm de profondeur comprennent une galerie principale et des galeries latérales se terminant par 1 à 3 cellules, à proximité les uns des autres, constituant une bourgade. L'accouplement a lieu sur le site de la bourgade. La préparation des cellules achevée, la femelle confectionne une boulette de pollen et de miel, sphérique et reposant sur 3 pieds, sur laquelle elle dépose un œuf. La pâte pollinique sert de nourriture à la larve, pendant au moins 1 sem. Au terme de cette période, la larve entre en diapause, de la fin de l'été au début du suivant. La nymphose a lieu l'année suivante, sans formation de cocon. Le stade nymphal dure de 5 à 6 sem. L'activité de vol des dasypodes dépend des conditions météorologiques. Normale par beau temps, cette activité peut être réduite par un ciel couvert et même interrompue en cas de pluie ou de vent. Les dasypodes dépendent des fleurs (composées) pour leur alimentation. L'analyse pollinique permet d'établir la liste des fleurs visitées et confirme le caractère oligolectique de leur alimentation (*Cichoroidae*). Au total, 98% des pollens rencontrés appartiennent au type pollinique *Picris*. Le reste de la flore pollinique est représenté par 17 taxons. Les charges totales en pollens

sont très variables (9 500 à 1 039 374). Une analyse pollinique des boulettes des nids devrait permettre de confirmer l'origine végétale des différents pollens trouvés sur les scopae.

### Observations on the biology of *Dasy-poda hirtipes* F Apoidea

Some aspects of the biology of *Dasy-poda hirtipes* were investigated in 3 natural sites. The ground was predominantly sandy and permitted the digging of many burrows, close to one another, constituting a bourgade. The preparation of the nest in July was done by about 60 females. The burrows are dug at 30–70 cm in depth, and include side galleries that open on to the main gallery, with an oblique then vertical course. Four to 8 ovoid cells are situated at the end of each side gallery. The mating takes place on the bourgade site. Once the preparation of cells is completed, the females prepare a pellet of pollen and honey, which is spherical and rests on 3 legs, and on which it lays an egg. This pollen paste is used as food for the larva for at least a week. At the end of this period, larva enters a state of diapause from the end of one summer to the beginning of the next. Pupation takes place during the next year, without formation of a cocoon. The pupal stage lasts about 5–6 weeks. The flying activity of *Dasy-poda* depends, to a certain extent, on the weather conditions. This activity is normal in fine weather, but may be reduced under an overcast sky, and may even stop in rain or wind. *Dasy-poda* depends on flowers for feeding, mainly Compositae (*Cichoroideae*). Pollen analysis has enabled us to draw up a list of flowers visited and confirm the oligolectic diet: 98% of pollen grains belong the *Picris* type. The pollen load varies from 9 500 to 1 039 374. A pollen analysis of the pollen paste will confirm the floral origin of the pollen grains caught on the scopae.

### Beobachtungen zur Biologie von *Dasy-poda hirtipes* Fabricius 1793 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae)

Einige Aspekte der Biologie von *Dasy-poda hirtipes* wurden an natürlichen Standorten untersucht. Der überwiegend sandige Untergrund erlaubte es, daß zahlreiche Nisthöhlen dicht nebeneinander angelegt wurden, die jeweils eine Nistgemeinschaft bildeten. Die Anlage der Nester von etwa 60 Weibchen wurde genau verfolgt. Die Nisthöhlen werden bis in eine Tiefe von 30 bis 70 cm gegraben. Von dem Hauptgang führen Seitengänge zunächst schräg und dann in vertikaler Richtung ab. Jeder Seitengang endet mit einer Reihe von vier bis acht eiförmigen Zellen. Die Paarung findet an dem Platz der Nistgemeinschaft statt. Sobald die Zellen fertig sind, stellen die Weibchen ein auf drei Füßchen ruhendes Kügelchen aus Pollen und Honig her, auf das sie ein Ei legen. Dieser dient der Larve für mindestens eine Woche als Nahrung. Anschließend tritt die Larve vom Ende des Sommers bis zum Anfang des nächsten Sommers in eine Diapause ein. Im nächsten Jahr verpuppt sie sich, ohne einen Kokon zu bilden. Das Puppenstadium dauert etwa 5 bis 6 Wochen. Die Flugaktivität von *Dasy-poda* ist bis zu einem bestimmten Grad von den Wetterbedingungen bestimmt. Die normale Flugaktivität bei schönem Wetter ist bei bedecktem Himmel vermindert und wird bei Regen oder Wind unter Umständen völlig eingestellt. *Dasy-poda* ist zur Nahrungsaufnahme auf Blüten, vorwiegend Compositen (*Cichoroidea*) angewiesen. Durch Pollenanalyse konnten wir eine Liste der besuchten Blüten anlegen und eine oligolectische Ernährung bestätigen, wobei 98% der Pollenkörner dem *Picris*-Typus angehörten. Die Pollenladung schwankte zwischen 9,500 bis 1,039,374. Eine Pollenanalyse der Pollenpaste könnte die Blütenherkunft des aus den Pollenhöschchen gewonnene Pollens bestätigen.