

# Conservation des pollens de deux plantes mellifères (*Vitellaria paradoxa* et *Steganotaenia araliacea*) de la région de l'Adamaoua (Cameroun)

E. Youmbi<sup>1\*</sup>, R. Tamnet<sup>1</sup> & G. Tsala Ndzomo<sup>2</sup>

Keywords: Male gametophyte- Germination- Dehydration- Storage, Melliferous species- Cameroon

## Résumé

La Région de l'Adamaoua au Cameroun est une zone apicole importante. Les menaces qui affectent la biodiversité végétale de cette zone font de la conservation des pollens un pôle d'intérêt pour l'amélioration et la préservation des plantes mellifères. Afin d'optimiser les paramètres de conservation des pollens de deux plantes mellifères menacées: *Vitellaria paradoxa* et *Steganotaenia araliacea*, des tests de germination *in vitro* (milieu de base, concentration en saccharose, température, pH), de déshydratation, puis de stockage au réfrigérateur (+ 10 °C) et au congélateur (- 20 °C) de pollens ont été effectués. Les résultats montrent que les pollens de ces deux espèces présentent un pourcentage de germination élevé sur milieu Heslop-Harrison additionné de 10 et 15% de saccharose respectivement pour *V. paradoxa* et *S. araliacea*. Les taux optimaux de germination (39, 20%) ont été obtenus dans le même ordre aux pH 5,6 et 5,9 et à une température de 30 °C. Les pollens de *S. araliacea* ont été plus tolérants à la déshydratation après 8 semaines de dessiccation aux cristaux de silice. Les pollens de deux espèces germent encore à plus de 1% après 8 semaines de conservation au congélateur. La déshydratation d'une semaine au dessiccateur a permis de prolonger considérablement la durée (22 semaines) de stockage des pollens des deux espèces, comparée au témoin. Dans les conditions ainsi définies, les pollens de deux espèces peuvent être stockés et utilisés ultérieurement dans les programmes de création variétale.

## Summary

### Conservation of Pollens of Two Honey Species (*Vitellaria paradoxa* and *Steganotaenia araliacea*) in the Region of Adamawa (Cameroon)

The Adamaoua Region of Cameroon is a significant apiculture zone. The threats on the plant biodiversity of this zone calls for the conservation of pollens, which in turn is necessary for the improvement and conservation of melliferous plants. Permanent maintenance of the flora is essential in research where pollens serve as base of plant material. In order to optimize conservation parameters of pollens of the two melliferous plants threatened (*Vitellaria paradoxa* and *Steganotaenia araliacea*), *in vitro* tests (base medium, sucrose concentration, temperature, pH), dehydration time, and then storage of pollens in the fridge (+ 10 °C) as well as in the freezer (- 20 °C) were carried out. According to the results, pollen of the two plant species showed high germination rate in the Heslop-Harrison medium supplemented with 10 and 15% sucrose respectively for *V. paradoxa* and *S. araliacea*. The optimum germination rates (39% and 20%) were obtained respectively at pH 5.6 and 5.9 while optimum temperature was at 30 °C. Pollen of *S. araliacea* were more tolerant to dehydration 8 weeks after drying in a desiccator containing silice grains. Pollen of two species still germinated more than 1% after 8 weeks of storage in the freezer. One week dehydration considerably extended storage period of pollens of the two plant species compared to the control. In the defined conditions, pollen grains of the two species can be stored for future use in plant breeding programs.

## Introduction

Les grains de pollen se présentent sous forme de grains microscopiques pulvérulents dont les dimensions varient de 2,5 à 300 µm. Ce sont les gamétophytes mâles dont le rôle est de transmettre à la descendance, l'information génétique des parents mâles lors de la fécondation (2, 6, 15).

La préservation des capacités germinatives du pollen et plus particulièrement de sa viabilité utilisant des moyens de conservation et de stockage

efficaces est d'une grande importance dans les programmes d'amélioration génétiques des plantes. Car le stockage facilite le transport et la diffusion du pollen, et permet d'effectuer des hybridations entre les espèces éloignées dans l'espace et à floraison décalée dans le temps (9, 10, 12). L'intégrité physiologique du pollen ainsi plus ou moins préservée est indispensable à la réalisation d'une culture *in vitro*, procédé biotechnologique aboutissant à l'obtention

<sup>1</sup>Laboratoire des Biotechnologies Végétales et de l'Environnement, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I - Cameroun.

<sup>2</sup>Laboratoire associé francophone (AUELF-UREF) des Biotechnologies Végétales, Ecole Normale Supérieure, Université de Yaoundé I- Cameroun.

\*Auteur pour correspondance: [yumbi\\_emmanuel@yahoo.fr](mailto:yumbi_emmanuel@yahoo.fr)

Reçu le 25.08.08 et accepté pour publication le 12.07.11.

de plantes diploïdes homozygotes (variétés pures) ou à la recherche de mutations intéressantes (3).

Le secteur apicole des états africains subsahariens en général et celui du Cameroun en particulier ne bénéficie pas toujours des moyens conséquents de recherche axée sur la protection et l'amélioration des plantes mellifères. Pourtant, diverses menaces (désertification galopante, abattage incontrôlé d'espèces, feux de brousse, etc...) affectent ces plantes utiles à l'activité des abeilles butineuses. La région soudano-guinéenne de l'Adamaoua, malgré sa végétation propice à l'apiculture, présente toutes les difficultés sus-évoquées. Or, il est reconnu que la productivité des colonies d'abeilles mellifères dans une zone déterminée est proportionnelle à l'abondance et à l'attractivité des plantes pollinifères présentes (22, 26). Ces difficultés entravent considérablement l'expansion de son secteur apicole et constitue un handicap à l'amélioration du pouvoir d'achat des populations impliquées dans cette activité.

Afin de contribuer à l'éradication de ces difficultés, la présente étude s'est fixée pour but de constituer une banque de pollens viables et durables des espèces *Vitellaria paradoxa* et *Steganotaenia araliacea*. Plus spécifiquement, il s'agit de déterminer d'une part les paramètres pouvant permettre une germination optimale *in vitro* des pollens, et d'autre part les conditions favorables à la conservation et au stockage des pollens.

## Matériel et méthodes

### 1. Site de l'étude

L'Adamaoua est une région administrative de la partie septentrionale du Cameroun (LN6°02' - 7°38' et LE 11°36' - 14°57'). Elle s'étend sur une superficie de 63.691 km<sup>2</sup>. C'est une zone importante pour la production du miel. En effet, la région de l'Adamaoua, seule, assurerait plus de 90% de cette production (23). Elle se compose de hauts plateaux situés entre 1000 et 2000 m d'altitude. Son climat est relativement frais et la température journalière moyenne se situe entre 22 et 25 °C. Cette région appartient à la zone soudano-guinéenne d'Afrique (26).

La végétation principale est la savane. Cette savane est boisée dans sa partie sud. Ce boisement diminue progressivement au fur et à mesure que l'on s'éloigne du sud, pour donner place à une savane herbacée dans sa partie Nord.

### 2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des pollens de *Vitellaria paradoxa* et *Steganotaenia araliacea*. Ce sont des espèces mellifères abondantes sur le site de l'étude. Elles fleurissent de novembre à mars. Le prélèvement sur le site se fait par les anthères (50 anthères par arbre sur 20 arbres) qui sont récoltées tôt le matin (7 heures) avant déhiscence de celles-ci (25). Elles sont conservées dans des sachets spéciaux

capables de préserver la viabilité des pollens, et une fois au laboratoire, les pollens sont extraits des anthères à l'aide de pinces et spatules.

### 3. Tests de germination *in vitro*

Deux milieux de base ont été utilisés pour les tests de germination *in vitro* des pollens. Il s'agit de ceux de Brewbaker et Kwack (BK) (7) et de Heslop-Harrison (HH) (16). Un volume de 12,5 ml de chaque solution stock est prélevé et porté à chaud auquel, de l'agar est ajouté à une concentration de 1% (0,125 g).

Après refroidissement, le saccharose (SOSUCAM) y est ajouté à des concentrations variables (0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%). En ce qui concerne la détermination du pH favorable à la germination des pollens, le milieu de base (HH) ayant montré le taux élevé de germination a été préparé comme indiqué ci-dessus et ajusté à différents pH à l'aide de la soude (NaOH 0,1 N) et d'acide chlorhydrique (HCl 0,1 N). La lecture des valeurs du pH de la solution est faite au moyen d'un pH mètre de marque HANNA. Diverses valeurs de températures d'incubation (20, 25, 30, 35, 40 °C) ont été testées en vue d'identifier celle qui permet une germination optimale de pollens. Les pollens contenus dans des piluliers de type VB T3 5 ml ouverts ont été introduits dans un dessiccateur contenant des cristaux bleus de silice pendant des durées variables pour déshydratation. La conservation ultérieure des pollens déshydratés et les témoins non déshydratés a été faite simultanément à - 20 °C (congélateur) et à + 10 °C (réfrigérateur). Les tests de germination *in vitro* ont été effectués chaque semaine. Les différents milieux ainsi préparés et réajustés sont coulés sur lames et laissés au refroidissement pendant quelques minutes avant d'êtreensemencés de pollens et mis en culture pour 24 heures. Au bout de 24 heures, les lames sont sorties de l'incubateur et colorées à l'Alexander (1), puis elles sont recouvertes de lamelles et sont ensuite observées au microscope photonique de marque Olympus CH-2 à l'objectif (4 x 100) pour déterminer le taux de germination des pollens.

Les pollens germés sont comptés au microscope photonique (grossissement 40) et le pourcentage est évalué par rapport à un nombre total de pollens (germés ou non) recensés sur chaque lame. Ce nombre est supérieur ou égal à 400. Un grain de pollen est considéré comme ayant germé lorsque la longueur du tube pollinique est supérieure à la moitié de son diamètre (5, 28).

### 4. Analyse des données

Le dispositif expérimental de type Split-plot a été utilisé. Les facteurs principaux étaient constitués de deux milieux de culture: HH et BK. Les facteurs secondaires étaient constitués de la concentration en saccharose, de la température de culture, du pH de culture et de la période de dessiccation. Le logiciel

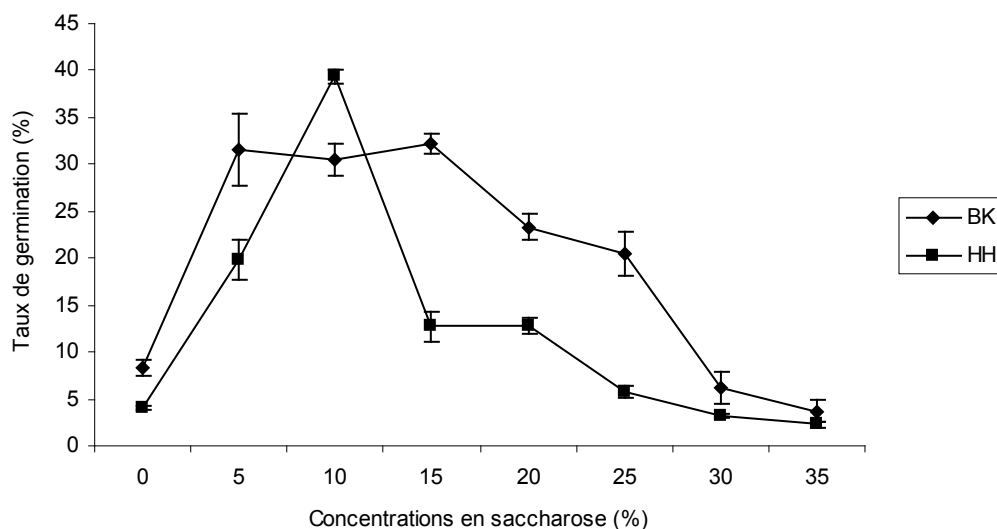


Figure 1: Influence du milieu de base (BK et HH) et des concentrations en saccharose sur la germination des pollens de *Vitellaria paradoxa*.

de statistique SPSS a permis d'effectuer les analyses des variances des données obtenues. Les tests de comparaison multiple ont été effectués en utilisant le test de Duncan.

## Résultats

### 1. Influence des milieux de culture et des concentrations en saccharose sur la germination des pollens

Le taux de germination le plus élevé ( $39,35 \pm 0,84\%$ ) chez *Vitellaria paradoxa* est obtenu sur milieu de culture d'Heslop-Harrison (HH) additionné de 10% de saccharose. A cette même concentration, le taux de germination est de  $30 \pm 0,78\%$  sur milieu de culture de Brewbaker et Kwack (BK). Le taux de germination maximum sur ce milieu est de  $32,17 \pm 1\%$ , mais avec une concentration de 15% en saccharose. Au-delà de ces taux optimums, les pourcentages de germination diminuent progressivement avec l'accroissement de la concentration en saccharose. Sur les deux milieux de base additionnés de 35% en saccharose, leurs valeurs minimales sont de 3,69 et de 2,29%, obtenues

respectivement sur milieu BK et HH (Figure 1). La germination chez *Vitellaria* n'est pas nulle mais faible (4 % et 8%) sur les deux milieux (HH & BK) dépourvus de saccharose.

Chez *Steganotaenia araliacea* et sur milieu de base BK, le taux de germination est nul à 0% de saccharose. Le taux le plus élevé ( $36,67 \pm 3,09\%$ ) est obtenu à la concentration de 10% en saccharose tandis que sur le milieu HH dépourvu de saccharose (0%), le taux de germination est faible ( $2,89\%$ ). Le taux le plus élevé ( $49,48 \pm 2,15\%$ ) est obtenu avec 15% en saccharose (Figure 2).

Chez *S. araliacea*, comme chez *V. paradoxa* les taux de germination diminuent progressivement avec l'accroissement de la concentration en saccharose pour devenir minimums (11,27 & 9,80%) à 35% en saccharose respectivement sur milieu BK et HH.

Ces résultats montrent que les deux espèces ont une germination optimale sur le milieu de base de Heslop-Harrison. Le taux de germination nul ou faible chez les deux espèces montre l'importance de ce composé pour optimiser la germination de leurs pollens, mais à une concentration bien donnée.

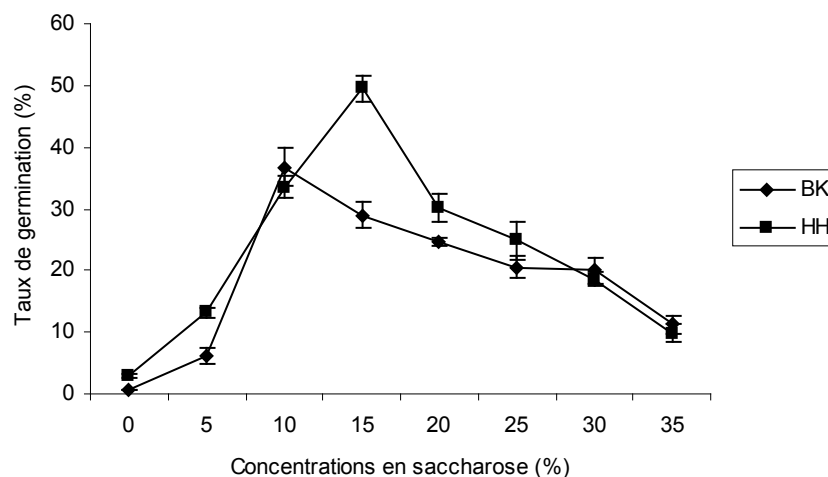


Figure 2: Influence du milieu de base (BK et HH) et des concentrations en saccharose sur la germination des pollens de *Steganotaenia araliacea*.

Tableau 1  
Germination des pollens en fonction de la température de culture

Espèces	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C
<i>V. paradoxa</i>	15,27 ± 1,61 <sup>a</sup>	29,78 ± 2,01 <sup>b</sup>	39,35 ± 2,84 <sup>c</sup>	11,13 ± 0,64 <sup>d</sup>	6,42 ± 0,20 <sup>e</sup>
<i>S. araliacea</i>	10,43 ± 1,47 <sup>td</sup>	11,62 ± 1,40 <sup>d</sup>	49,48 ± 2,15 <sup>g</sup>	7,56 ± 0,53 <sup>ef</sup>	3,21 ± 0,012 <sup>h</sup>

\*\*

## 2. Influence de la température de culture sur le taux de germination des pollens

Chez les deux espèces, les taux de germination sont faibles: 15,27 ± 1,61; 29,78 ± 2,01 pour *Vitellaria*; 10,43 ± 1,47; 11,62 ± 1,40 pour *Steganotaenia* aux faibles valeurs de température testées ici (20, 25 °C) respectivement. Ils sont maximums (39,35 ± 2,84 et 49,48 ± 2,15) à 30 °C respectivement pour *V. paradoxa* et *S. araliacea* (Tableau 1). Au-delà de 30 °C, les taux de germination diminuent et deviennent minimums (6,42 ± 0,20 et 3,21 ± 0,012) à 40 °C respectivement pour *V. paradoxa* et *S. araliacea*.

## 3. Effet du pH sur la germination du pollen

L'étude de l'influence du pH sur la germination des pollens des deux espèces montre (Figure 3) que les pollens des deux espèces présentent des optimums de germination (41,12 ± 12% et 49,60 ± 2,80%) aux

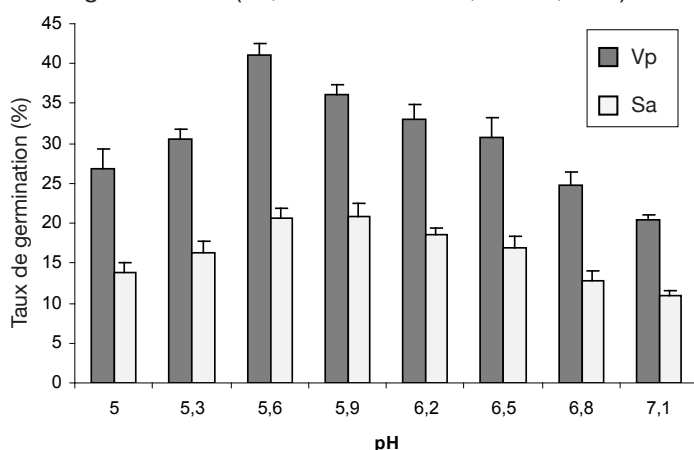


Figure 3: Germination des pollens de *Vitellaria paradoxa* et *Steganotaenia araliacea* en fonction du pH du milieu de culture HH.

pH 5,6 et 5,9 respectivement pour *Vitellaria paradoxa* et *Steganotaenia araliacea*. La germination des pollens chez les deux espèces diminue légèrement au-delà de ces valeurs de pH avec des taux inférieurs à 21% (20,51 ± 1,02% et 18,32 ± 1,12%) à la dernière valeur de pH testée (pH 7,1). Ces résultats montrent néanmoins que ces pollens peuvent germer encore au-delà de valeurs pH 7,1.

## 4. Influence de la durée de dessiccation sur le pouvoir germinatif

L'étude de l'effet de la dessiccation sur la conservation du pouvoir germinatif montre (Tableau 2) que ce traitement entraîne une baisse du pouvoir germinatif chez les deux espèces. L'ampleur de cette baisse diffère significativement au cours de la première semaine de dessiccation chez les deux espèces. Elle est faible chez *Vitellaria paradoxa* avec une valeur de 8% [39,35 ± 0,84% contre 36,09 ± 1,28% au temps témoin (0)], alors qu'elle est élevée chez *Steganotaenia araliacea* avec 80% [49,48 ± 2,15% contre 9,80 ± 1,25% au temps témoin (0)]. Après la première semaine de dessiccation, le pouvoir germinatif diminue faiblement chez *S. araliacea* où la germination persiste même chez quelques pollens après deux mois de déshydratation. Par contre chez *V. paradoxa*, si la baisse du pouvoir germinatif a été plus modérée chez les pollens dès la première semaine de dessiccation jusqu'à une durée de quatre semaines, on observe une baisse plus sensible à la cinquième semaine, de l'ordre de 67% (24,23 ± 1,04% contre 8,03 ± 0,48%) suivie d'une perte complète du pouvoir germinatif à la septième semaine de dessiccation (Tableau 2).

Tableau 3  
Influence des durées de dessiccation sur le pouvoir germinatif des pollens réfrigérés (+ 10 °C) et congelés (- 20 °C) de *Vitellaria paradoxa*

Espèces	Stock.	Dessic.	2 s	4 s	6 s	8 s	10 s
<b>V. p</b>		Tém.	20,11±2,63 <sup>a</sup>	14,52±0,75 <sup>d</sup>	4,20±1,39 <sup>g</sup>	1,46±0,50 <sup>ijklmno</sup>	1,03±0,22 <sup>lmno</sup>
	+10 °C	1 sem.	23,75±2,51 <sup>b</sup>	16,39±1,68 <sup>c</sup>	9,90±1,48 <sup>e</sup>	4,13±0,79 <sup>gh</sup>	2,69±0,58 <sup>ghijk</sup>
		2 sem.	15,36±1,43 <sup>cd</sup>	13,89±1,22 <sup>d</sup>	5,21±0,48 <sup>f</sup>	3,66±0,26 <sup>gh</sup>	3,10±0,31 <sup>ghi</sup>
		3 sem.	11,20±1,46 <sup>e</sup>	9,70±1,18 <sup>e</sup>	3,88±0,32 <sup>gh</sup>	2,01±0,50 <sup>ijklm</sup>	1,90±0,16 <sup>ijklmn</sup>
		Tém.	18,56±2,23 <sup>a</sup>	10,14±1,27 <sup>d</sup>	3,91±0,77 <sup>g</sup>	1,87±0,25 <sup>ijkl</sup>	0,86±0,19 <sup>klmn</sup>
	-20 °C	1 sem.	20,72±2,28 <sup>b</sup>	14,19±1,39 <sup>c</sup>	8,26±1,15 <sup>e</sup>	3,89±0,67 <sup>g</sup>	3,03±0,78 <sup>ghi</sup>
		2 sem.	13,59±1,13 <sup>c</sup>	10,38±0,94 <sup>d</sup>	5,36±0,37 <sup>f</sup>	2,14±0,07 <sup>ijk</sup>	1,84±0,13 <sup>ijkl</sup>
		3 sem.	9,86±1,56 <sup>d</sup>	7,17±0,90 <sup>e</sup>	3,70±0,41 <sup>gh</sup>	1,51±0,26 <sup>ijklmn</sup>	1,36±0,33 <sup>ijklmn</sup>

\*\*\* Test de Duncan (0,05): les chiffres affectés de la même lettre dans chaque compartiment de température de stockage ne sont pas significativement différents dans la ligne et dans la colonne.

**Tableau 2**  
**Effet de la dessiccation sur la germination des pollens des deux espèces**

Esp.	0 Sem.	1 Sem.	2 Sem.	3 Sem.	4 Sem.	5 Sem.	6 Sem.	7 Sem.	8 Sem.
V.p	39,35±0,84 <sup>a</sup>	36,09±1,28 <sup>c</sup>	35,83±1,52 <sup>c</sup>	32,28±1,71 <sup>d</sup>	24,34±1,00 <sup>e</sup>	8,03±0,48 <sup>gh</sup>	0,86±0,12 <sup>i</sup>	-	-
S.a	49,48±2,15 <sup>b</sup>	9,80±1,25 <sup>f</sup>	9,61±0,71 <sup>g</sup>	7,06±0,54 <sup>h</sup>	4,05±0,2 <sup>i</sup>	3,75±0,53 <sup>i</sup>	3,04±0,44 <sup>i</sup>	2,81±0,60 <sup>i</sup>	2,36±0,35 <sup>ij</sup>

\*\* Test de Duncan (0,05): Test de Duncan au seuil 0,05: les chiffres affectés de la même lettre ne sont pas significativement différents dans la ligne et dans la colonne.

### 5. Effet de la dessiccation initiale sur le stockage des pollens de *Vitellaria paradoxa*

Chez le karité, le stockage des pollens ayant subi les quatre traitements (Tableau 3) se caractérise par une diminution de leur pouvoir germinatif tant au réfrigérateur (+ 10 °C) qu'au congélateur (- 20 °C).

Au réfrigérateur, après deux semaines de stockage, les pollens témoins et ceux ayant subi une dessiccation d'une semaine présentent un taux de germination supérieur ou égal à 20%. Les pollens ayant subi trois à quatre semaines de dessiccation présentent des taux de germination faibles: 15,36% ± 1,43 et 11,20 ± 1,46 respectivement. Après six semaines de conservation, les taux de germination sont dans l'ensemble inférieurs à 10%. A douze semaines de stockage, les pollens témoins présentent un taux de germination inférieur à 1% alors que les pollens ayant subi une dessiccation ne germent plus qu'à 1% qu'après seize semaines de stockage.

Au congélateur (- 20 °C), (Tableau 3), après deux semaines de stockage, les taux de germination des pollens issus des quatre traitements sont tous inférieurs à ceux obtenus avec le stockage au réfrigérateur. A six semaines de stockage, les taux de germination sont inférieurs à 10%. Les pollens témoins présentent à dix semaines, un taux de germination inférieur à 1% (0,86 ± 0,19%). Ce même taux est plutôt obtenu après douze semaines de stockage au réfrigérateur (0,90 ± 0,14%). Ces pollens témoins persistent néanmoins et présentent de faibles taux: 0,51 ± 0,12% et 0,45 ± 0,07%; respectivement après 18 et 20 semaines de stockage, alors qu'au réfrigérateur ces pollens ne germent plus après quatorze semaines de stockage. Seuls les pollens déshydratés pendant

une et deux semaines présentent encore un taux de germination supérieur à 1% après 16 semaines de stockage. On note cependant de faibles taux de germination après vingt-deux semaines de stockage chez les pollens déshydratés pendant une semaine.

### 6. Effet de dessiccation initiale sur le stockage des pollens de *Steganotaenia araliacea*

Les taux de germination diminuent avec la durée de stockage (Tableau 4). Au réfrigérateur, le taux de germination des pollens témoins est faible (11,18 ± 1,70%) après deux semaines de stockage et ne dépasse pas 1% (1,00 ± 0,06%) après huit semaines de stockage. Les pollens ayant subi une dessiccation présentent après huit semaines des taux de germination supérieurs ou égaux à 1%. Ces taux sont inférieurs à 1% après 14 semaines de stockage et deviennent très faibles ou nuls à seize semaines de conservation.

Au congélateur, après deux semaines de stockage, les taux de germination ne sont pas différents de ceux obtenus avec le réfrigérateur. A huit semaines de stockage, les pollens de tous les traitements ont encore un taux de germination supérieur à 1%. Les pollens des témoins et ceux ayant subi une dessiccation pendant une ou deux semaines présentent un taux de germination (1,37 ± 0,08; 3,80 ± 0,79; 1,09 ± 0,18%) supérieur à 1% après 16 semaines de stockage (Tableau 4). Ces pourcentages de germination varient très peu après vingt semaines de stockage.

Les pollens frais de *S. araliacea* tolèrent mieux la congélation que le stockage au réfrigérateur. De même, les pollens déshydratés se conservent mieux au congélateur qu'au réfrigérateur.

12 s	14 s	16 s	18 s	20 s	22 s
0,90±0,14 <sup>lmno</sup>	0,64±0,36 <sup>lmno</sup>	-	-	-	-
2,67±0,48 <sup>hijk</sup>	1,73±0,64 <sup>ijklmno</sup>	1,14±0,55 <sup>lmno</sup>	0,69±0,16 <sup>lmno</sup>	0,43±0,07 <sup>no</sup>	-
3,03±0,34 <sup>ghi</sup>	2,12±0,14 <sup>ijkl</sup>	1,07±0,06 <sup>lmno</sup>	0,51±0,11 <sup>lmno</sup>	-	-
1,86±0,17 <sup>ijklmn</sup>	1,26±0,40 <sup>ijklmno</sup>	1,16±0,19 <sup>klmno</sup>	0,71±0,31 <sup>lmno</sup>	0,23±0,02 <sup>o</sup>	-
0,74±0,07 <sup>mn</sup>	0,77±0,05 <sup>mn</sup>	0,75±0,12 <sup>lmn</sup>	0,51±0,12 <sup>mn</sup>	0,45±0,07 <sup>mn</sup>	-
2,55±0,63 <sup>hij</sup>	1,71±0,43 <sup>klmn</sup>	1,29±0,64 <sup>klmn</sup>	0,97±0,14 <sup>klmn</sup>	0,61±0,08 <sup>lmn</sup>	0,39±0,08 <sup>n</sup>
1,68±0,37 <sup>klmn</sup>	1,27±0,08 <sup>klmn</sup>	1,03±0,05 <sup>klmn</sup>	0,73±0,05 <sup>lmn</sup>	-	-
1,01±0,06 <sup>klmn</sup>	0,81±0,18 <sup>mn</sup>	0,51±0,11 <sup>mn</sup>	-	-	-

**Tableau 4**  
**Influence des durées de dessiccation sur le pouvoir germinatif des pollens réfrigérés (+ 10 °C) et congelés (- 20 °C) de**  
***Steganotaenia araliacea***

Espèces	Stock.	Dessic.	2 s	4 s	6 s	8 s	10 s
<b>S. a</b>	+10 °C	Tém.	11,18±1,70 <sup>a</sup>	6,34±1,01 <sup>d</sup>	2,08±0,18 <sup>gh</sup>	1±0,06 <sup>ghij</sup>	-
		1 sem.	14,09±3,09 <sup>b</sup>	8,46±1,36 <sup>c</sup>	5,11±0,92 <sup>de</sup>	2,48±0,98 <sup>f</sup>	2,08±0,78 <sup>gh</sup>
		2 sem.	8,10±1,51 <sup>c</sup>	4,14±0,25 <sup>e</sup>	2,19±0,20 <sup>fg</sup>	1,37±0,15 <sup>ghij</sup>	0,92±0,18 <sup>ghij</sup>
		3 sem.	4,57±0,75 <sup>e</sup>	2,29±0,59 <sup>g</sup>	1,72±0,45 <sup>ghi</sup>	0,91±0,46 <sup>ghij</sup>	0,69±0,17 <sup>hij</sup>
	-20 °C	Tém.	15,27±1,12 <sup>a</sup>	7,80±0,92 <sup>de</sup>	7,44±0,56 <sup>ef</sup>	6,03±0,71 <sup>gh</sup>	3,80±0,56 <sup>i</sup>
		1 sem.	13,78±1,62 <sup>b</sup>	6,47±0,73 <sup>fg</sup>	8,72±1,60 <sup>cd</sup>	9,30±1,60 <sup>c</sup>	6,19±0,97 <sup>gh</sup>
2 sem.		9,81±1,20 <sup>c</sup>	7,71±0,71 <sup>de</sup>	5,46±0,50 <sup>gh</sup>	3,41±0,45 <sup>ij</sup>	2,68±0,54 <sup>ijk</sup>	
	3 sem.	5,68±0,79 <sup>gh</sup>	3,46±0,50 <sup>i</sup>	2,81±0,2 <sup>6ijk</sup>	1,13±0,09 <sup>mnoqr</sup>	0,93±0,22 <sup>opqrs</sup>	

\*\*\* Test de Duncan (0,05): les chiffres affectés de la même lettre dans chaque compartiment de température de stockage ne sont pas significativement différents dans la ligne et dans la colonne.

## Discussion

Des investigations de l'effet du saccharose sur la germination des pollens des deux espèces étudiées, il ressort que l'apport en saccharose est nécessaire pour stimuler la germination de ces pollens. En effet, en milieu témoin, si les pollens de *V. paradoxa* présentent un faible taux de germination, ceux de *S. araliacea* ne germent même pas. Cette observation a aussi été faite sur d'autres espèces tropicales telles que *P. lameiri*, *C. roseus* et *A. obesum* (29). Si le sucre est nécessaire pour la germination des pollens, sa concentration varie largement entre espèces d'une même famille et entre les taxons appartenant à des familles différentes. Il a été montré qu'il joue non seulement un rôle osmotique dans le milieu de culture, mais sert aussi d'élément nutritif pour la croissance du tube pollinique (28).

Par ailleurs, il a été démontré que le pourcentage et la vitesse de germination, de même que celle du développement du tube pollinique, sont maximaux lorsque la concentration maximale et spécifique en saccharose est atteinte (4, 14, 19, 28). Les éléments minéraux du milieu de culture constituent un facteur pouvant influencer de manière significative la germination des pollens.

Les taux de germination ont été plus élevés dans le milieu HH que dans celui de BK. Ceci pourrait s'expliquer par la forte concentration en sulfate de calcium dans le milieu HH. De plus, le milieu BK contient  $K^{2+}$  qui est absent dans le milieu HH. Il a été reporté que les ions  $K^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  sont antagonistes (21) et la présence des deux ions dans le milieu BK semble ralentir la germination des pollens. Des résultats similaires ont été observés lors de la germination des pollens de *Dactylis glomerata* (Poaceae) (11). Ce milieu a été développé pendant l'étude de la germination *in vitro* des pollens de *Secale cereale* (16).

La germination des pollens est sous le contrôle du facteur température. Chez les deux espèces étudiées, la germination est optimale à 30 °C. Cette température est identique à celle obtenue par

Dabandata (13) sur les espèces oléagineuses *Moringa oleifera* et *Balamites aegyptiaca*, à celle observée lors de la germination des pollens des genres *Adenium*, *Eucharis* et *Euphorbia* (28), mais elle diffère (25 °C) de celle observée par Tamnet (24) chez la variété troncata de *Musa acuminata*.

La germination des pollens est aussi sous l'influence du pH du milieu de culture. Chez les deux espèces (*V. paradoxa* et *S. araliacea*), l'optimum de germination est atteint aux pH 5,6 et 5,9, respectivement. Ces valeurs sont différentes de celles observées lors de la germination des pollens de certaines espèces tropicales (*Dacryodes edulis*, *Pachypodium lamerei*, *Euphorbia millii* et *Streptocarpus* sp., présentant des optimums de germination respectivement au pH 5,3; 6,0; 5,8 et 6,2 (29, 30). De même, ces résultats sont différents de ceux obtenus chez *Arapidopsis* (5,8) (18). Ces résultats confirment les observations selon lesquelles le pH est un facteur stimulant la germination des pollens dont la valeur est fonction de l'espèce (15).

Chez les deux espèces, les pollens non-déshydratés se conservent peu au réfrigérateur et la durée de stockage ne dépasse pas dix et huit semaines, respectivement pour *V. paradoxa* et *S. araliacea*. Si les pollens déshydratés de *V. paradoxa* supportent mieux le stockage au réfrigérateur, ceux de *S. araliacea* y perdent rapidement leur pouvoir germinatif.

En ce qui concerne la durée de dessiccation, il est à remarquer que les pollens des deux espèces supportent mieux la déshydratation comparativement aux pollens de *Musa acuminata* var. parayong et var. troncata qui ne germent plus après une semaine de dessiccation (24) et aux pollens de *Zea mays* où cette durée n'excède pas un jour (31).

D'après la classification de Brewbaker (8), les pollens de *V. paradoxa* (Sapotaceae) et de *Steganotaenia araliacea* (Apiaceae) appartiennent à ce genre d'espèces qui possèdent un pollen trinué et supportant peu la dessiccation. Contrairement aux observations de cet auteur, les

12 s	14 s	16 s	18 s	20 s	22 s
-	-	-	-	-	-
1,09±0,29 <sup>ghij</sup>	0,71±0,11 <sup>hij</sup>	0,36±0,15 <sup>ij</sup>	-	-	-
0,70±0,07 <sup>hij</sup>	0,19±0,08 <sup>j</sup>	-	-	-	-
0,41±0,16 <sup>ij</sup>	0,33±0,14 <sup>ij</sup>	0,20±0,03 <sup>j</sup>	-	-	-
2,33±0,56 <sup>klj</sup>	1,86±0,18 <sup>klmnopq</sup>	1,37±0,08 <sup>lmnopq</sup>	1,32±0,08 <sup>lmnopqr</sup>	1,28±0,2 <sup>lmnopqr</sup>	-
5,12±0,93 <sup>h</sup>	2,79±0,72 <sup>ijk</sup>	3,80±0,79 <sup>j</sup>	2,75±0,49 <sup>ijk</sup>	2,22±0,39 <sup>klm</sup>	1,9±0,14 <sup>klmno</sup>
2,13±0,49 <sup>klmn</sup>	1,97±0,94 <sup>klmno</sup>	1,09±0,18 <sup>nopqrs</sup>	0,59±0,32 <sup>qrs</sup>	0,23±0,11 <sup>rs</sup>	0,14±0,03 <sup>s</sup>
0,77±0,12 <sup>pqrs</sup>	0,61±0,22 <sup>qrs</sup>	0,59±0,07 <sup>qrs</sup>	0,21±0,15 <sup>rs</sup>	-	-

pollens de ces deux espèces supportent bien deux semaines de déshydratation et germent bien à plus de 1% après 16 semaines de stockage au congélateur. Ces résultats sont aux contraires ceux obtenus par Cerceau-Larrival (9, 10) et Cerceau-Larrival et Challe (11) qui ont montré que la germination était élevée après trois heures de déshydratation et qu'elle n'était plus que de 10% après 24 heures de déshydratation chez *Impatiens balfourii*. Cependant, leur optimum de germination obtenu sur milieu Heslop-Harrison corrobore ceux de Cerceau-Larrival et Challe (11). En effet, les pollens binucléés germent mieux sur milieu Brewbaker et Kwack alors que les pollens trinucleés germent mieux sur milieu Heslop-Harrison (16). La chute rapide du pouvoir germinatif des pollens non déshydratés de *V. paradoxa* serait due suite à la formation de cristaux de glace intracellulaires, endommageant ainsi le contenu cytoplasmique des pollens (20).

## Conclusion

La présente étude avait pour objectif principal de mettre en évidence à travers divers tests, les conditions de germination *in vitro* d'une part, et celles de conservation et de stockage des pollens de deux espèces mellifères menacées de la région de

l'Adamaoua (Cameroun), d'autre part. Les résultats obtenus ont permis de relever que les pollens des deux espèces germent mieux sur le milieu de base d'Heslop-Harrison additionné de 10 et de 15% de saccharose, respectivement pour *Vitellaria paradoxa* et *Steganotaenia araliaceae*. Cette germination est optimale à 30 °C et aux pH 5,6 et 5,9 respectivement pour *V. paradoxa* et *S. araliaceae*. La déshydratation permet de prolonger le pouvoir germinatif des pollens, car les pollens déshydratés germent mieux que les pollens non-déshydratés. Les pollens déshydratés de *V. paradoxa* se conservent aussi bien au réfrigérateur (+ 10 °C) qu'au congélateur (-20 °C), et dans les deux cas des taux de germination supérieurs à 1% sont observés après 16 semaines de stockage. En ce qui concerne les pollens de *S. araliaceae*, une déshydratation d'une semaine permet d'obtenir un taux de germination supérieur à 1% après 22 semaines de stockage. Ceci montre que les pollens des deux espèces peuvent se conserver au-delà de 4 mois, présentant encore des taux de germination acceptables dans les programmes d'amélioration génétique. Ce travail mérite d'être étendu à d'autres espèces d'utilité publique menacées de l'Adamaoua ou d'ailleurs.

## Références bibliographiques

- Alexander M.P., 1969, Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Technology*, **44**, 3, 117-122.
- Ambougou-Atisso V., 1991, *Apis mellifica adansonii* Lat. et les plantes mellifères gabonaises (Département de l'lvindo). Recherches palynologiques. Thèse de Doctorat. Université Paris 6°.
- Augé R., Bauchesne G., Boccon-Gibod J., Decourtye L., Digat B., Jalouzot R., Minier R., Morand J.-Cl., Reynoard J.P., Strullu D.G. & Vidalie H., 1989, La culture *in vitro* et ses applications horticoles. 3<sup>e</sup> édition. Lavoisier 225 p.
- Baloch M.J., Lakho A.R., Bhutto H.U. & Solangi M.Y., 2001, Impact of sucrose concentrations on *in vitro* pollen germination of *Okra, Hibiscus esculentus* Pakistan *Journal of Biological Sciences*, **4**, 4, 402-403.
- Bocquel C., 1995, Technologie de conservation et de stockage du pollen de bouleau (*Betula verrucosa*). Germination *in vitro* de pollen frais et pollué: action des facteurs environnementaux. *Grana*, **34**, 413-420.
- Bonnemain J.L. & Dumas C., 1998, La biologie végétale. Que sais-je ? PUF. 93-104.
- Brewbaker J.L. & Kwack B.H., 1963, The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany*, **50**, 859-865.
- Brewbaker J.L., 1967, The distribution and phylogenetic significance of binucleated and trinucleated pollen grain in angiosperms. *American Journal of Botany*, **54**, 1069-1083.
- Cerceau-Larrival M.T., 1989, La conservation à long terme du pollen par lyophilisation au service des plantes menacées. *In: Plantes sauvages menacées. Bilan et protection. Actes du colloque, Brest, 1987* (ed. M. Chaudet), Bureau des ressources génétiques, Paris. 355-373.
- Cerceau-Larrival M.T., 1990, Le pollen: gamétophyte mâle, *Bull. Soc. Bot. Fr.*, **137** Actual. Bot. 2, 7-20.
- Cerceau-Larrival M.T. & Challe J., 1986, Biopalynology and maintenance of germination capacity of stored pollen in some angiosperm families. *In: Pollen and spores. Form and function.* (Ed. S. Blackmore & I.K. Ferguson), pp. 151-164. *Linn. Soc. Sym. Ser. V. 12.* Academic Press, London.
- Charrier A., 1990, Pollen et ressources génétiques. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, **137**, Actual Bot. 2, 101-104.
- Dabandata C., 2000, Effet des conditions de conservation sur la viabilité du pollen de trois oléagineux du Grand Nord-Cameroun: *Balanites*

- aegyptiaca*, *Moringa oleifera*, *Vitellaria paradoxa*. Mémoire de Maîtrise. Université de Ngaoundéré, 33 p.
14. Dumas C., 1984, Ecologie florale et pollinisation. *In*: pollinisation et productions végétales. INRA p. 31-46.
  15. Goddard R.E. & Mathews F.R., 1981, Pollen testing. *In*: Pollen Management Handbook (ed. E.C. Franklin) pp. Agriculture Handbook V. 587.
  16. Heslop-Harrison J., 1979, Aspect of the structure, cytochemistry and germination of the pollen of Rye (*Secale cereale* L.). *Ann. Bot.* 44, 2-65.
  17. Iwanami Y., Sasakuma T. & Yamada Y., 1988, Pollen: illustrations and scanning electronmicrographs. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York, London, Paris, Tokyo, Kodansha Tokyo, 198 p.
  18. Liu-Min F., Yong-Fei W., Hong Wang & Wei-Hua W., 2001, *In vitro Arabidopsis* pollen germination and characterization of the inward potassium currents in *Arabidopsis* pollen grain protoplasts. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 52, 361, 1603-1614.
  19. Malik C.P., Chawla J. & Gill P.K., 1982, *Journal of Botany*, Italy, 116, 211-215.
  20. Mazur P., 1984, Freezing of living cells: mechanisms and applications. *Am. J. Physiol.* 247.
  21. Richard M., Stephan M., Loubet E. & Bobiloit J.T., 1970, Atlas de biologie. N° Edit. 3354 Italie. P. 565
  22. Sabot J., 1980, 150 plantes mellifères. Paris: La Maison Rustique.
  23. SNV (Schweizerische-Normen-Vereinigung), 2006, Honey and bee product market study. Commission Report's. 61 p.
  24. Tamnet R., 2002, Etude de quelques conditions de conservation des pollens de deux variétés diploïdes de bananier (*Musa acuminata*). Mémoire de DEA. Université de Yaoundé I, 42 p.
  25. Tchuenguem F.F.N., Mapongmetsem P.M., Hentchoya H.J., 1997, Activités d'*Apis mellifica* L. (Hymenoptera, Apidae) sur les fleurs de quelques plantes ligneuses à Dang (Adamaoua, Cameroun). *Cam. J. Bioch. Sc.* 7, 1, 86-91.
  26. Tchotsoua M., 2005, Evolution récente des territoires de l'Adamaoua central, de la spatialisation à l'aide pour un développement maîtrisé. HDR. Université d'Orléans, V. 3. Mémoire original et projet de recherche, 131 p.
  27. Villiers B., 1987, Le point sur l'apiculture en Afrique tropicale. 220 p.
  28. Visser T., 1955, Germination and storage of pollen. *Meded. Landbouwhog. Wageningen*, 55, 1-68.
  29. Youmbi E., 1993, Recherche sur la germination *in vitro* des pollens de quelques espèces tropicales vivantes du Muséum, contrôle de la viabilité de certains pollens conservés et stockés dans la banque de pollens du laboratoire de palynologie. Mémoire de Recherche Post-Doctorale. Palynologie. Muséum National d'Histoire Naturelle. Paris.
  30. Youmbi E., Cerceau-Larrival M.T., Verhille A.M. & Carbonnier-Jarreau M.C., 1998, Morphologie et germination *in vitro* du pollen de *Dacryodes edulis* (Burseraceae). *Grana*, 37, 87-92.
  31. Youmbi E., Thé C. & Tedjacno A., 2005, Conservation of germination capacity of pollen grains in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Grana*, 44, 159.

E. Youmbi, Camerounais, Docteur ès Sciences (Biologie Végétale), Maître des Conférences à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, BP. 812, Yaoundé, Cameroun.

R. Tamnet, Camerounais, Doctorant en Biotechnologies Végétales, au Département de Biologie et Physiologie Végétales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, BP. 812, Yaoundé, Cameroun.

G. Tsala Ndzomo, Camerounais, Docteur ès Sciences (Biologie Végétale), Maître des Conférences à l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I, Vice-Recteur chargé de la Recherche, de la Coopération et de l'Innovation à l'Université de Yaoundé I, BP. 332 Yaoundé, Cameroun.