



**HAL**  
open science

# Pollinisation inter-parcellaire chez le maïs: analyse et coupage des processus conditionnant la présence du pollen viable en fonction de la distance à la source

Alexis Marceau

## ► To cite this version:

Alexis Marceau. Pollinisation inter-parcellaire chez le maïs: analyse et coupage des processus conditionnant la présence du pollen viable en fonction de la distance à la source. Bioclimatologie. AgroParis-Tech, 2010. Français. NNT : . pastel-00555879

**HAL Id: pastel-00555879**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00555879>**

Submitted on 14 Jan 2011

**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.

## Doctorat ParisTech

# THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

## L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

Spécialité : sciences de l'environnement

*présentée et soutenue publiquement par*

**Alexis MARCEAU**

le 07 Juillet 2010

### **Pollinisation inter-parcellaire chez le maïs : analyse et couplage des processus conditionnant la présence du pollen viable en fonction de la distance à la source**

Directeur de thèse : **Laurent HUBER**

#### **Jury**

**M. Yves BRUNET**, Directeur de recherche, INRA, Bordeaux  
**M. Etienne KLEIN**, Chargé de recherche, INRA, Avignon  
**M. Benoît GABRIELLE**, Professeur, AgroParisTech, Paris  
**M. Régis BOISSEAU**, Ingénieur, GNIS, Toulouse  
**M. Xavier FOUEILLASSAR**, Ingénieur, Arvalis – Institut du Végétal, Montardon  
**M. Laurent HUBER**, Directeur de recherche, INRA, Grignon

Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur  
Examineur



## Remerciements

Cette thèse a été réalisée à l'INRA UMR Environnement et Grandes Cultures de Thiverval-Grignon financée dans le cadre d'une bourse CIFRE par Arvalis - institut du végétal et l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie.

Mes premiers remerciements s'adressent à mon directeur, Laurent Huber, et mon co-directeur de thèse, Xavier Foueillassar, pour m'avoir associé à ce partenariat et l'avoir rendu possible malgré des difficultés initiales d'ordre juridique. Leur complémentarité m'aura été bénéfique sur le plan humain et professionnel.

C'est vers ma coéquipière de terrain, Brigitte Durand, que vont mes plus affectueux remerciements. C'est grâce à son irremplaçable expérience et sa sympathie que j'ai obtenu les résultats les plus concrets de ma thèse mais aussi que j'ai pu échappé à plusieurs intempéries sur le terrain... et tout ceci dans la bonne humeur.

Je remercie particulièrement Sébastien Saint-Jean pour son aide sur le plan scientifique mais surtout pour son soutien essentiel durant des périodes de stress. Merci aussi à Benjamin Loubet vers qui je me suis régulièrement rendu dans un état de confusion et que je quittais invariablement lucide, enfin j'ose le croire... Merci également à Bruno Andrieu, grâce à son altruisme nos discussions ont été l'occasion d'un remue-méninge fructueux.

Ma gratitude va également à Benoît Gabrielle pour avoir accepté d'être le président de mon jury de thèse et de m'avoir offert un peu de répit en fin de thèse. Merci à Yves Brunet et Etienne Klein, mes rapporteurs, pour leurs remarques constructives. Je remercie aussi les membres du groupe de travail « transport du pollen et pureté variétale » et notamment Régis Boisseau pour son intérêt pour mes travaux.

Je tiens aussi à remercier pour les moments de détente toute l'équipe « biosphère-atmosphère » et notamment Nathalie, Patricia, Jean-Louis, Sylvie, Sylvia, Christophe, Simon et Lucas. Je pense également à Nadler, Martin et Michel qui m'ont assisté durant les expérimentations, ainsi qu'à Olivier qui m'a initié à la photographie pour les besoins exclusifs du projet...

Je remercie de tout mon cœur Jessica pour son aide lors de la rédaction du manuscrit et aussi pour sa présence encourageante au quotidien.

Enfin, j'ai une pensée affectueuse pour mes parents et la toute nouvelle famille de mon frère qui m'ont soutenu à leur manière.



## Résumé

La coexistence de parcelles de maïs implique des transferts de pollen inter-parcellaire, sous l'action du vent, qui peuvent altérer la pureté des productions en grains ou être le vecteur de dissémination de transgènes. Pour limiter ces transferts, différents isolements spatiaux sont préconisés (distances, barrières polliniques). Cependant, aucun outil n'est à disposition des professionnels pour estimer l'efficacité de ces isolements. Ma thèse, réalisée à l'INRA (UMR EGC, Grignon, 78) et financée par une bourse CIFRE en partenariat avec Arvalis – Institut du végétal, entreprend de compléter et d'intégrer les connaissances au sein d'un modèle opérationnel de pollinisation inter-parcellaire efficace. Son originalité est de prendre en compte l'effet des conditions météorologiques sur un pas de temps horaire tout au long de la saison d'émission du pollen.

Le modèle résulte du couplage de trois sous-modèles, formant les axes de mon projet, qui prédisent: l'émission en termes de quantité et de qualité ainsi que la dispersion atmosphérique. Chacun des sous-modèles est simple et opérationnel et s'appuie sur des expérimentations menées en grande partie durant la thèse.

(1) Une étude statistique sur un vaste jeu de données collecté sur cinq ans a permis de développer un modèle de dynamique d'émission ayant une composante saisonnière et une composante journalière. Les paramètres des dynamiques ont été reliés aux conditions météorologiques en utilisant un modèle de développement et des arbres de régression.

(2) La qualité du pollen correspond à sa viabilité et sa vitesse de sédimentation. Des relations empiriques ont été mises en évidence entre ces caractéristiques et la teneur en eau du pollen à partir de mesures expérimentales collectées sur 2 ans. Un modèle de qualité du pollen a été développé sur la base de ces relations et d'un modèle existant de déshydratation en fonction de l'humidité de l'air.

(3) La modélisation de la dispersion aérienne repose sur une solution analytique des équations d'advection-diffusion de la littérature. Elle a été validée sur des données expérimentales d'une année et sur les simulations d'un modèle mécaniste de type lagrangien.

Le modèle a été utilisé pour comparer l'efficacité de différents isolements pour des scénarios météorologiques contrastés en estimant des pourcentages moyens de pollen exogène viable arrivant sur une parcelle réceptrice. Il a permis de constater que l'augmentation de la pollinisation inter-parcellaire lorsque les distances d'isolement sont réduites peut être compensée par une barrière pollinique. Il a aussi révélé les rôles déterminant de la vitesse du vent et des productions totales de pollen des parcelles qui coexistent.

### **Mots clefs :**

*Zea mays*, coexistence, pollinisation croisée, pollen, dispersion, émission, viabilité



## Abstract

Coexistence of maize crops involves cross-pollination, governed by wind, which may reduce purity of maize seed productions or lead to transgene dissemination. To reduce cross-pollination, several spatial isolation methods are used (distance, pollen barrier). However, none tool is available for professionals to estimate efficiencies of these isolations methods. This PhD, carried out at INRA (UMR EGC, Grignon, 78) and funded by Arvalis – Institut du vegetal, undertakes to complete and integrate knowledge in an operational model to predict efficient cross-pollination. Its originality is to account for meteorological conditions on an hourly time step over the pollen emission season.

The model is built by coupling three sub-models, defining my research axis, predicting: quantity and quality of pollen at emission as well as atmospheric dispersal. Each sub-model is simple and operational based on experimental data mainly collected during my PhD.

(1) A statistical analysis of a large dataset collected over 5 years provides a model to predict seasonal and daily patterns of pollen emission. Parameters of these temporal patterns are related to meteorological conditions using a development model and regression trees.

(2) Pollen quality corresponds to its viability and its settling velocity. Empirical relationships between these characteristics and water content are estimated from experimental data collected over 2 years. A model has been developed based on these relationships and on existing model of dehydration accounting for air humidity.

(3) Modelling of pollen dispersal is based on analytic solution to the advection-diffusion equation found in the literature. It was validated on experimental data collected over 1 year and simulations of mechanistic lagrangian model.

The model has been used to compare efficiencies of different isolation methods under contrasted meteorological scenarios by estimating mean percentages of exogenous viable pollen in a receptive field. It reveals that the increasing of cross-pollination when isolation distances are reduced could be compensated by the use of pollen barrier. It also reveals the main effects of wind speed and total pollen productions of coexisting maize crops.

### **Keywords:**

*Zea mays*, coexistence, cross-pollination, pollen, dispersal, emission, viability



# Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I Revue bibliographique</b> .....	<b>5</b>
<u>I.1. Chronologie de la fécondation</u> .....	7
I.1.1. La floraison mâle .....	8
I.1.2. La floraison femelle .....	12
I.1.3. Le transport atmosphérique du pollen .....	14
I.1.4. La rencontre du pollen et de l'ovule : la fécondation .....	18
<u>I.2. Les modèles mis en œuvre pour rendre compte des flux de gènes</u> .....	22
I.2.1. L'approche écologique : une approche intégrée pour prédire les taux de fécondation croisée à l'échelle de la saison .....	23
I.2.2. L'approche biophysique : une approche mécaniste pour prédire la pollinisation inter-parcellaire sur un pas de temps court .....	25
<u>I.3. Positionnement du sujet et axes de recherche</u> .....	30
I.3.1. Principaux éléments du contexte scientifique .....	30
I.3.2. Objectifs et plan de travail .....	31
<b>Chapitre II Modelling diurnal and seasonal patterns of maize pollen emission in relation to meteorological factors</b> .....	<b>37</b>
<u>I.1. Introduction</u> .....	39
<u>I.2. Material and Methods</u> .....	41
I.2.1. Experimental data .....	41
I.1.2. Modelling pollen emission on two time steps .....	43
<u>II.3. Results</u> .....	48
II.3.1. Measured variability and similarity of temporal patterns and total pollen production .....	48
II.3.2. Modelling diurnal and seasonal patterns of pollen emission in relation to meteorological factors and variety .....	50
<u>II.4. Discussion</u> .....	55
II.4.1. Measurements accuracy and definition of the main pollen season .....	56
II.4.2. Modelling the effects of meteorological variables on pollen emission ..	56
II.4.3. The main effect of variety on total pollen production .....	58

<u>II.5. Conclusions</u> .....	59
<b>Chapitre III Biophysical characteristics of maize pollen: variability during emission and consequences on cross-pollination risks</b> .....	<b>63</b>
<u>III.1. Introduction</u> .....	65
<u>III.2. Material and Methods</u> .....	67
III.2.1. Experimental data .....	67
III.2.2. Modelling of pollen water content at emission time .....	70
III.2.3. Pollen dehydration consequences on settling velocity distribution and viability rate .....	70
III.2.4. Air humidity effects on cross-pollination risks .....	76
<u>III.3. Results</u> .....	76
III.3.1. Modelling of pollen water content at emission time .....	76
III.3.2. Pollen dehydration consequences on settling velocity distribution and viability rate .....	78
III.3.3. Air humidity effects on cross-pollination risks .....	83
<u>III.4. Discussion</u> .....	85
<b>Chapitre IV Un modèle opérationnel pour évaluer la pollinisation inter-parcellaire</b> .....	<b>93</b>
<u>IV.1. Introduction</u> .....	95
<u>IV.2. Matériel et méthodes</u> .....	97
IV.2.1 Données expérimentales .....	97
IV.2.2. Couplage des modèles d'émission, de qualité et de dispersion du pollen .....	99
IV.2.3. Analyse de scénarios météorologiques et de configurations d'isolement sur les risques de fécondation croisée .....	102
<u>IV.3. Résultats</u> .....	103
IV.3.1. Validation du modèle de dispersion GDS .....	103
IV.3.2. Pollinisation inter-parcellaire pour différentes configurations d'isolement et scénarios météorologiques .....	106
<u>IV.4. Discussion</u> .....	111
<u>IV.5. Conclusion</u> .....	114
<b>Chapitre V Discussion générale</b> .....	<b>119</b>

# Introduction

Le maïs (*Zea mays* (L.) subsp. *mays*) est une plante tropicale herbacée annuelle de la famille des *Poacées* (graminées). Cette plante, à caractère religieux dans la civilisation précolombienne, est aujourd'hui un symbole de l'agriculture intensive. C'est la première céréale cultivée au monde devant le riz et le blé et la deuxième en France après le blé. Elle est le résultat d'un long processus de domestication à partir d'une espèce sauvage, la téosinte (*Zea mays* (L.) subsp. *mexicana*). La transformation de la téosinte en maïs fut initiée il y a environ 8000 ans par les Amérindiens de l'actuel Mexique (Galinat, 1992). Le maïs s'est peu à peu répandu à travers toute l'Amérique puis, après la découverte de l'Amérique, à travers l'Europe et les autres continents. Cette domestication, très spectaculaire au regard de la grande divergence entre l'espèce sauvage et l'espèce domestique, a conduit à son adaptation à l'agriculture. En effet, la téosinte est multi-ramifiée avec des inflorescences mâles à chaque extrémité et de petites inflorescences femelles situées à l'aisselle des feuilles et produisant peu de grains (9-12 sur chacune des 30-40 inflorescences femelles). Quant au maïs, il présente un seul axe avec une seule inflorescence mâle et une inflorescence femelle principale, volumineuse, produisant de nombreux grains (~500-1000 par épis), plus faciles à récolter.

Jusqu'en 1950 la sélection massale du maïs a permis d'améliorer les rendements et de développer des populations de maïs adaptées aux régions: chaque année, les paysans semaient les grains des plus beaux épis de l'année précédente. Depuis, les variétés hybrides ont été adoptées par les agriculteurs. Cette hybridation est le résultat du croisement de deux lignées pures, c'est à dire de variétés ayant des traits phénotypiques qui restent inchangés d'une génération à l'autre. L'hybridation permet d'obtenir des variétés ayant des combinaisons de caractères qui les rendent adaptées à certains usages ou conditions de culture. De plus, les hybrides présentent une grande homogénéité morphologique par rapport aux populations cultivées jusqu'en 1950. En contrepartie, en raison de l'instabilité des caractères des lignées parentes chez les descendants des hybrides et de la certification d'obtention végétale (COV) des lignées pures, la culture d'hybride nécessite de racheter les semences chaque année. Cela a favorisé l'émergence de la filière « semences » qui s'investit dans l'innovation variétale et propose, depuis 1996, des semences d'hybrides génétiquement modifiés (OGM). Ces semences sont le produit de deux lignées pures dont au moins une possède un événement

OGM. Le maïs OGM est bien implanté aux Etats-Unis (40 % des surfaces de maïs) mais suscite au contraire une grande défiance en Europe. Cela conduit soit à son interdiction (France, Allemagne,...), soit à imposer des règles pour garantir le maintien des filières sans OGM (Espagne). Dans ce dernier cas, la production d'OGM est conditionnée par une séparation avec les filières sans OGM qu'elles soient biologiques ou conventionnelles.

Actuellement, la diversité variétale du maïs alimente déjà plusieurs filières séparées qui garantissent la spécificité de chaque production destinée à un usage particulier (Fig. 0-1). La production de maïs est destinée à quatre grands usages que sont : la consommation animale et humaine, la transformation agro-alimentaire (amidon, semoule, agro-carburant,...) et la production de semences.

En France, les variétés les plus utilisées sont des hybrides de maïs corné-denté : certaines sont cultivées pour leurs grains destinés à la consommation animale ou à l'industrie (maïs grain, 1.7 million d'ha) et d'autres sont cultivées pour la plante entière destinée à la

consommation animale (maïs fourrage, 1.4 million d'ha). En plus de ces grandes filières, des petites filières existent fondées sur la culture de variété aux propriétés très particulières. Par exemple, pour l'alimentation humaine on trouve le maïs doux (25 000 ha) et le maïs éclaté (pop corn, 4 500 ha) et pour l'industrie on trouve le maïs waxy (30 000 ha). Ces petites filières ont des exigences fortes en termes de pureté et de qualité de la production. On retrouve également cette contrainte en production de semences qui doit garantir la pureté des lots de semences (45 000 ha).

Il existe également des filières définies par le mode de production, on trouve les productions conventionnelle, biologique et OGM. La filière biologique doit être séparée des autres pour garantir son label. A l'inverse, la production OGM est écartée des autres pour assurer le maintien des filières sans OGM.



**Fig. 0-1.** Illustration de la diversité des épis et des grains pour 17 variétés. Les grains peuvent avoir une structure très cornée (maïs à éclater épis 1,11,12) cornés-dentés (6,13), dentée (14), farineuse (17), sucrée (10) ou cireuse (17) (d'après Gay,1984)

Si la séparation des filières en ce qui concerne la collecte, le stockage, le transport et la transformation peut être gérée par la profession, il est en revanche beaucoup plus difficile de gérer les flux de gènes résultant de la coexistence entre parcelles destinées à des filières différentes et pouvant altérer la pureté ou la qualité des grains.

Le maïs est une espèce largement allogame du fait de la séparation verticale des organes mâles et femelles et de la précocité de la floraison mâle par rapport à la floraison femelle (phénomène de protandrie): 95 % des grains sont le fruit d'une fécondation croisée (Poehlman, 1959). Ces flux de gènes résultent de la dispersion du pollen par voie aérienne et sont indésirables lorsqu'ils se produisent depuis des plantes OGM vers des plantes non OGM ou lorsqu'ils altèrent la pureté et la qualité des grains. Par exemple, pour le maïs waxy, la production peut être déclassée si le taux de grains non waxy dépasse 4%. En ce qui concerne les OGM, la présence, dans une production non OGM, d'un taux d'OGM au-dessus du seuil de présence fortuite de 0.9 % peut aussi entraîner un déclassement de la production. Quant aux vieilles populations régionales, leur maintien souffre des croisements avec les nouveaux hybrides.

De plus, ces flux de gènes peuvent avoir un impact négatif sur l'environnement. Au Mexique, l'introduction des OGM provoque des inquiétudes sur la préservation de la téosinte sauvage. Cependant, des études ont montré que la téosinte était génétiquement protégée d'une pollinisation avec le maïs, ce qui explique pourquoi elle continue de coexister avec lui depuis si longtemps (Baltazar *et al.*, 2005).

L'isolement spatial constitue la méthode la plus utilisée pour réduire les risques de pollinisation croisée. Des distances d'isolement de 100 m à 200 m sont utilisées en production de semences hybrides en fonction du voisinage. En production de semences lignées, elles sont de 400 m. Les distances d'isolement des parcelles OGM sont très contrastées entre pays européens: de 25 m pour les Pays-Bas à 800 m pour le Luxembourg.

En production de semences de maïs, ces flux de gènes font l'objet d'un questionnement par l'interprofession semencière (Fédération Nationale de la Production de Semences de Maïs et de Sorgho) qui est rassemblée sous l'égide d'Arvalis – Institut du Végétal au sein d'un groupe de travail « Transport du pollen et pureté variétale ». Quelles sont les distances d'isolement optimales ? Comment identifier les parcelles dont la pureté de la production est diminuée ? Quelles sont les conditions météorologiques qui augmentent ou limitent ces risques ?

Pour répondre à ces questions il est nécessaire de comprendre et de rendre compte de la grande variabilité des flux de gènes. Cette variabilité résulte de l'existence de nombreux

facteurs et de leurs interactions : les quantités de pollen libérées, les surfaces et l'agencement des parcelles ainsi que les distances d'isolement, la synchronisation de floraison entre mâles et femelles ou encore les conditions météorologiques, notamment la direction et la vitesse du vent. Ainsi, il est difficile d'apporter des réponses en quantifiant les flux de gènes directement et il est préférable d'étudier indépendamment toutes les étapes conduisant à la fécondation croisée. Pour cela, une première thèse au sein de l'équipe Biosphère-Atmosphère de l'UMR INRA-AgroParisTech « Environnement et Grandes Cultures » (EGC) de l'Institut National de Recherche Agronomique en partenariat avec Arvalis - Institut du Végétal a été initiée (Jarosz, 2003). L'équipe a acquis une expérience en métrologie notamment sur l'émission de pollen en termes de quantité et de qualité et a développé un modèle physique de dispersion aérienne de pollen.

Financée dans le cadre d'une convention CIFRE, l'objectif de la présente thèse est de compléter et d'intégrer les connaissances au sein d'un modèle opérationnel pour estimer la contribution de la pollinisation inter-parcellaire, i.e., du transfert de pollen entre parcelles voisines, au succès de la fécondation croisée. Plus précisément, nous cherchons à estimer la dispersion de pollen viable tout au long de la saison d'émission de pollen à partir de l'étude et de la modélisation des processus d'émission, de perte de la viabilité et de la dispersion du bioaérosol pollinique. Ce modèle a vocation à faire partie de la panoplie des outils d'aide à la décision utilisables dans la gestion de la coexistence de parcelles de maïs, caractérisées par leur diversité génétique par leur mode de production, et notamment en production de semences.

Dans le chapitre qui suit, à partir d'un état des lieux de la bibliographie, nous présentons les mécanismes impliqués dans la reproduction sexuée chez le maïs. Ensuite, nous faisons un panorama des différentes approches de modélisation qui ont été proposées pour rendre compte des risques de fécondation croisée. A l'issue de ce chapitre bibliographique, nous présentons nos choix de modélisation et les positionnons par rapport au contexte scientifique. Enfin, nous détaillons les objectifs intermédiaires nécessaires au développement d'un modèle à caractère opérationnel et qui forment les chapitres de ce manuscrit.

# **Chapitre I**

Revue bibliographique



**Fig. I-1.** Schéma d'un plante de maïs au stade de floraison (d'après Freeling et Walbot, 1996).

## **I.1. Chronologie de la fécondation**

Nous nous intéressons dans cette partie aux processus biophysiques conduisant à la fécondation chez des plantes de maïs ayant atteint leur stade de floraison, c'est à dire lorsque les appareils reproducteurs sont formés et visibles (Fig. I-1). Pour des informations sur le développement de l'appareil reproducteur, on pourra se référer à des livres synthétiques sur le sujet (Freeling et Walbot, 1996) ou à la série photographique de Tranel *et al.* (2008) illustrant le développement de l'inflorescence mâle.

Semé en général entre mi-avril et mi-mai, le maïs atteint son stade de floraison durant le mois de juillet. La floraison est atteinte lorsqu'une certaine somme de températures a été accumulée (somme de degrés-jours, °C-jours). Cette somme dépend de la variété : on distingue des variétés précoces nécessitant entre 775 et 950 °C-jours et des variétés tardives nécessitant entre 925 et 1075 °C-jours (aux seuils 6-30 °C). Les variétés précoces sont adaptées aux conditions plus fraîches du Nord de l'Europe alors que les variétés tardives valorisent les températures estivales plus chaudes du Sud de l'Europe en produisant plus de matière sèche. Le stade de floraison est atteint 3 mois environ après le semis, ce qui fait du maïs une plante avec une acquisition de matière sèche très rapide. Nous pouvons noter l'effet théorique du réchauffement climatique qui devrait raccourcir la durée du cycle du maïs d'au moins 10 % (Gate, 2007) en accélérant la réalisation des stades.

A floraison, la plante de maïs a atteint sa taille maximale, en générale comprise entre 2 et 2.5 m. Certaines variétés ont des tailles extrêmes, les plus petites font 0.5 m de haut alors que les plus grandes atteignent 5 m. Le maïs est dioïque : les organes reproducteurs mâle (la panicule) et femelle (les épis) sont séparés verticalement sur le même pied. Son mode de reproduction est anémophile. La production en grains d'un champ de maïs résulte du bon fonctionnement de son système reproducteur. Ce système est composé d'un ensemble d'organes et de mécanismes interagissant entre eux : la production des gamètes, la libération, le transport et la viabilité du pollen ainsi que l'élongation et la réceptivité des soies.

Nous détaillons dans les paragraphes suivants, dans un ordre chronologique, les processus impliqués dans la reproduction sexuée chez le maïs en commençant par la floraison mâle (i.e., l'émission du pollen) puis par la floraison femelle (i.e., l'émission des soies) étant donné le phénomène de protandrie. Ensuite, nous synthétisons les mécanismes qui gouvernent le transport du pollen dans l'atmosphère puis ceux qui conduisent à la fécondation en tant que tel. Nous donnons également quelques chiffres sur la fécondation croisée entre parcelles de maïs.

### I.1.1. La floraison mâle

#### a) L'inflorescence mâle : la panicule

Le développement de la panicule, qui porte les fleurs mâles, est initié environ un mois et demi avant la floraison. Au sommet de l'axe principal, on commence à apercevoir l'apex de la panicule alors qu'elle est encore enroulée dans les 3-4 dernières feuilles constituant un cornet. Le cornet se déroule peu à peu et la panicule s'extrait poussée par la croissance de son pédoncule. Les ramifications se déploient autour du rachis et la panicule domine la plante. Il arrive cependant que la panicule ne soit pas entièrement déployée, avec sa base coincée dans le cornet lorsque l'émission de pollen commence ce qui peut limiter le transfert du pollen dans l'atmosphère. Le nombre et la taille des ramifications ainsi que la taille du rachis sont des caractéristiques variétales. Cependant, de mauvaises conditions météorologiques durant la phase de transition florale, comme le froid, peuvent réduire les dimensions potentielles (Bechoux *et al.*, 2000).

Tout au long du rachis et des ramifications on trouve des épillets insérés par paires : un des épillets est pédicellé et l'autre est sessile (Fig. I-2). L'épillet est l'inflorescence élémentaire de la famille des *Poacées* (graminées). Ces paires d'épillets sont alignées sur plusieurs rangs le long du rachis et sur seulement deux rangs le long des ramifications. Ainsi, le rachis comporte beaucoup d'épillets par rapport aux ramifications. Pour chaque épillet, deux glumes se font face constituant l'écrin de deux fleurs mâles, une supérieure et une inférieure. Chaque fleur se compose de deux glumelles face à face formant une enveloppe qui enferme trois étamines. Chaque étamine est constituée d'un filet et d'une anthère contenant environ un millier de grains de pollen.

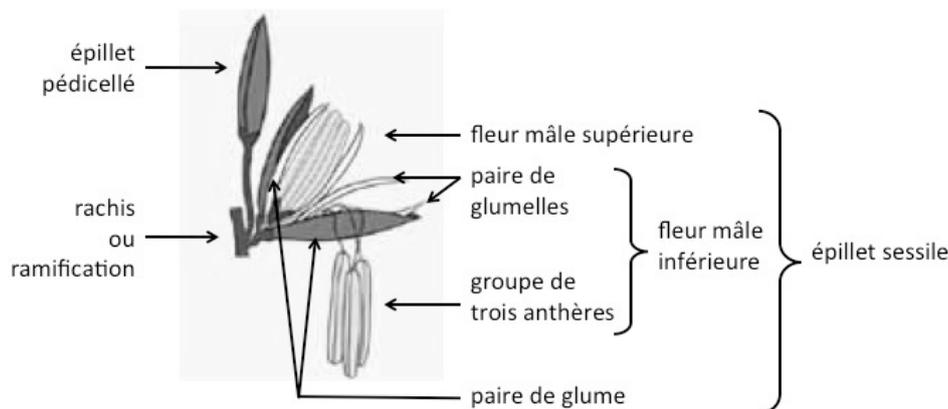


Fig. I-2. Schéma d'un épillet mâle chez le maïs (d'après le site internet de l'Antenne de Formation à Distance)

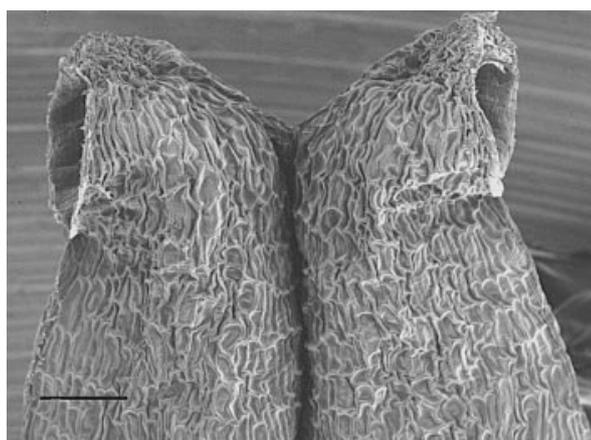
Entre les variétés, la production totale de pollen est très variable en fonction des dimensions de la panicule et du nombre de ramifications. Fonseca *et al.* (2003) rapportent des

quantités de pollen de l'ordre de 20-40 millions par panicule pour des populations anciennes, 3-11 pour des hybrides modernes et 0.2-3 pour des lignées. D'autres estimations sont fournies par Arvalis - Institut du Végétal pour des hybrides de maïs doux, 11-18 millions panicule<sup>-1</sup>, des hybrides de maïs grains, 7-14 millions panicule<sup>-1</sup> et des lignées, 1-5 millions panicule<sup>-1</sup> (Foueillassar, 2001).

### ***b) La libération du pollen : l'anthèse et la déhiscence***

Le stade de floraison mâle est atteint lorsque la panicule commence à libérer du pollen. A l'échelle d'un champ, de nombreux auteurs définissent le stade de floraison comme étant le moment où plus de 50% des plantes émettent du pollen. L'émission de pollen se produit essentiellement durant la phase diurne. Les étapes qui y conduisent sont l'ouverture des épillets et des fleurs puis l'extraction et la déhiscence des anthères.

L'anthèse, i.e., l'ouverture de l'épillet et de la fleur et par conséquent l'apparition des anthères, se produit après imbibition d'eau de l'épillet entraînant l'augmentation de son volume et l'écartement mécanique des deux glumes et des deux glumelles. Elle a lieu à des moments différents pour les deux fleurs d'un même épillet car elles ne sont pas matures en même temps comme nous verrons plus loin. Simultanément le filet s'allonge et pousse l'anthère hors de l'épillet jusqu'à ce qu'elle soit totalement suspendue au dessus du vide. A ce stade, les anthères ressemblent à un double canon de fusil, chaque canon constituant un sac pollinique. Rapidement après l'extraction, un pore s'ouvre à l'apex des deux sacs polliniques, c'est la déhiscence des anthères (Fig. I-3).



**Fig. I-3.** Photo de l'apex d'une anthère au début de la déhiscence. L'anthère a une forme de double canon de fusil à l'extrémité desquels se forme un pore par lequel s'échappe le pollen. La barre noire représente 100 µm (d'après Keijzer *et al.*, 1996)

Durant la déhiscence, le pore s'élargit et ses bords se retroussent légèrement jusqu'à ce que l'orifice ait une forme évasée. C'est par ce pore que les grains de pollen stockés dans

l'anthere s'échappent. Keijzer *et al.* (1996) supposent que l'initiation du pore, qui se produit une heure avant l'anthèse, est le résultat d'une lyse cellulaire et que les cellules bordant le pore sont prédestinées. Au contraire, l'élargissement du pore résulte de la dessiccation de la région apicale provoquée principalement par une déshydratation au contact de l'air, ce qui en fait un processus réversible par humectation (Keiszer *et al.*, 1995).

L'ordre dans lequel les fleurs s'ouvrent est déterminé en partie par leur âge depuis l'initiation de leur développement (Freeling et Walbot, 1996). Les premières fleurs qui s'ouvrent, les plus âgées, se trouvent au niveau du tiers supérieur du rachis puis c'est le tour des fleurs plus jeunes se trouvant de part et d'autre. L'anthèse se poursuit sur les ramifications 1 à 2 jours après avoir commencé sur le rachis et selon la même séquence, en commençant par le tiers supérieur (Fonseca *et al.*, 2003). La figure I-4 illustre le caractère séquentiel de l'anthèse sur une ramification à l'échelle d'une matinée. Toutefois, l'âge n'est pas seul à déterminer la séquence de l'anthèse. Un délai de 2 à 3 jours est observé entre l'ouverture de la fleur supérieure et l'ouverture de la fleur inférieure d'un même épillet malgré un développement morphologique synchrone. Pour expliquer ce délai, Skibbe *et al.* (2008) ont mis en évidence une différence dans l'expression de certains gènes.



**Fig. I-4.** Séquence photographique de l'anthèse et de la libération du pollen au niveau d'une ramification latérale située à droite du rachis entre 6 et 9h (heures en temps universelle).

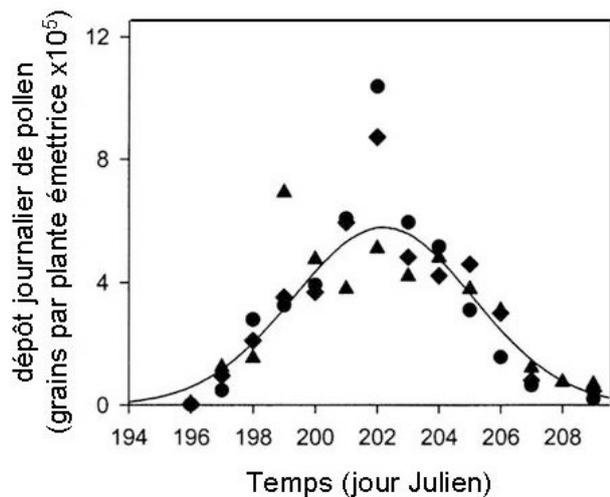
### ***c) La dynamique d'émission du pollen à l'échelle d'une plante et d'une parcelle***

A l'échelle d'une plante, la saison d'émission du pollen s'étend sur plusieurs jours en raison de la différence de maturité des épillets et des fleurs. Des durées d'émission de 4 à 7 jours ont été mesurées pour des panicules de plantes hybrides (Bassetti et Westgate, 1994 ; Westgate *et al.*, 2003). Foueillassar (2001) a montré que la durée de floraison des lignées était légèrement inférieure à celle des hybrides probablement en lien avec les plus petites dimensions des panicules. La durée de la saison d'émission va également varier en fonction des conditions météorologiques : lorsque les températures diminuent ou en cas de stress hydrique la saison d'émission est plus longue (Hall *et al.*, 1982 ; Struik *et al.*, 1986). Au cours de la floraison d'une panicule, les quantités journalières émises varient selon une dynamique temporelle qui reste, à notre connaissance, à mieux caractériser. Uribelarrea *et al.* (2002) évaluent indirectement une dynamique proche d'une courbe Gaussienne tandis que Angevin *et al.* (2008) rapportent que la majorité du pollen est libérée pendant les deux premiers jours.

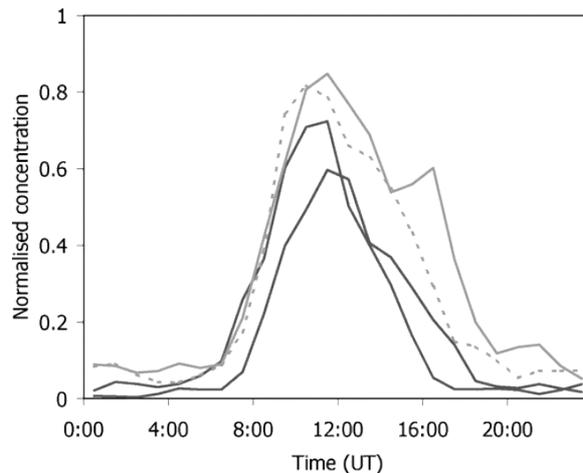
A l'échelle d'un champ, du fait de l'hétérogénéité de floraison au sein du peuplement, la saison d'émission du pollen est plus longue. L'hétérogénéité de floraison peut être estimée par la distribution des dates de démarrage de la floraison. Plusieurs auteurs observent qu'une période de 5 à 8 jours est nécessaire pour que toutes les plantes atteignent la floraison (Fonseca *et al.*, 2004 ; Angevin *et al.*, 2008). Il en résulte des durées d'émission de pollen comprises entre 10 et 14 jours (Vogler *et al.*, 2009; Jarosz *et al.*, 2003). Cependant, Ogden *et al.* (1969) observent que la majorité du pollen est libérée en seulement 5-8 jours.

A l'échelle d'un champ, la dynamique saisonnière d'émission a une forme caractéristique pouvant être représentée par une courbe Gaussienne: les quantités journalières émises augmentent jusqu'à atteindre un maximum puis diminuent (Fig. I-5; Westgate *et al.*, 2003). Fonseca *et al.* (2004) rapportent que le maximum d'émission est atteint 2 à 3 jours après que 50 % des plantes ont commencé à émettre du pollen.

Dans le cours d'une journée, l'émission de pollen suit également une dynamique qui a une forme caractéristique. L'émission commence quelques heures après le lever du soleil, en fonction des conditions d'humidité, et atteint son maximum entre 08:00 et 10:00 TU. Parfois la présence d'un deuxième pic d'émission l'après-midi est observée (Jarosz *et al.*, 2003; Van Hout *et al.*, 2008; Viner *et al.*, 2010). La Figure I-6 montre, pour 4 journées, la variabilité horaire des concentrations de pollen au dessus d'une parcelle de maïs qui sont représentatives de la dynamique journalière.



**Fig. I-5.** Dépôt journalier de pollen mesuré tout au long de la saison d'émission d'une parcelle. Ces mesures représentent la forme caractéristique de la dynamique saisonnière de l'émission de pollen (d'après Lizaso *et al.*, 2003)

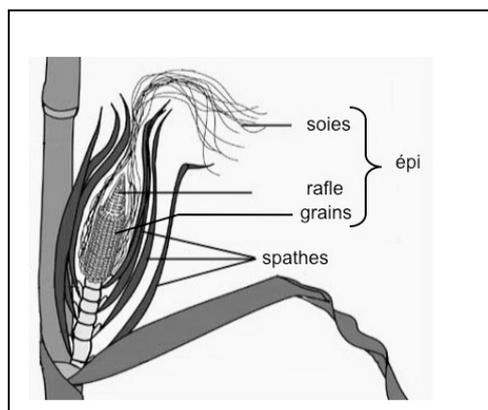


**Fig. I-6.** Concentration de pollen mesurée juste au-dessus d'une parcelle de maïs en fonction de l'heure dans la journée au cours de 4 journées. Ces mesures représentent la forme caractéristique de la dynamique journalière de l'émission de pollen (d'après Jarosz, 2003)

### I.1.2. La floraison femelle

#### a) L'inflorescence femelle : l'épi

L'épi est l'inflorescence femelle du maïs, on en trouve entre 3 et 4 mais en général un seul a un développement complet. Chacun se trouve à l'extrémité d'une ramification de l'axe principal prenant naissance à l'aisselle d'une feuille située généralement à mi-hauteur de la plante, entre 0.7 et 1.3 m (Angevin *et al.*, 2008). L'épi se développe au sein de la gaine foliaire de la feuille à l'aisselle de laquelle il va sortir, on peut le deviner par un renflement de la gaine foliaire. Il va émerger peu à peu de l'aisselle de la feuille poussé par la croissance de la ramification. La ramification est constituée d'une suite de nœuds très courts portant chacun



**Fig. I-7.** Schéma d'un épi de maïs au stade de la floraison (d'après le site internet de l'Antenne de Formation à Distance).

un organe foliaire appelé spathe (Fig. I-7). L'ensemble des spathes forme un cornet qui protège l'épi. L'épi est constitué d'une rafle le long de laquelle on trouve les épillets femelles disposés en double rangée. Les épillets femelles sont constitués de deux fleurs l'une stérile et l'autre fertile. La fleur fertile contient un seul ovule et le nombre total d'ovules de l'épi varie de 300 à 600 pour les lignées et de 500 à 1000 pour les hybrides. Durant leur développement, chaque ovule développe un style (ou soie) qui s'allonge

progressivement jusqu'à sortir du cornet. Ces soies, parsemées de poils collants, sont les récepteurs du pollen.

### ***b) Le stade de floraison femelle : l'émergence des soies***

Lorsque les soies émergent du cornet et deviennent visibles, c'est le stade de floraison femelle. Ce stade est généralement atteint quelques jours après le stade de floraison mâle due à l'initiation postérieure du développement de l'épi par rapport à celui de la panicule. L'intervalle de temps entre ces deux événements est appelé ASI (Anthesis-to-Silking Interval). A l'échelle du champ, il est souvent calculé comme l'intervalle de temps entre le jour où 50 % des plantes ont commencé à émettre du pollen et le jour où 50% des plantes ont commencé à émettre des soies. Il est en moyenne de 1 à 2 jours, mais il peut fortement varier entre -2 et 10 jours en fonction de facteurs météorologiques et de la densité de plantes (Uribellarrea *et al.*, 2002 ; Bassetti et westgate, 1994). Lorsque les températures sont faibles, le ASI est négatif, c'est ce qu'il se passe souvent dans le nord de l'Europe (Stuik *et al.*, 1986). Au contraire, le ASI est long en cas de stress hydrique car l'élongation des soies est ralentie ou inhibée par manque d'eau (Westgate et Boyer, 1986). Dans le cas de stress sévère, l'émission de pollen peut finir avant l'apparition des soies. Il en résulte que l'augmentation du ASI est négativement corrélée avec le rendement (Bolanos et Edmeades, 1993).

### ***c) La dynamique d'émission des soies***

Comme pour la floraison mâle, les ovules les plus âgés, situés à la base de l'épi, atteignent la floraison les premiers suivis par les ovules plus jeunes. Pour un épi, la différence de maturité des ovules fait que l'émergence des soies est étalée sur 3 à 5 jours (Bassetti et Westgate, 1994). Cependant, la majorité des soies est émise durant les deux premiers jours. Les soies s'allongent jusqu'à atteindre une longueur de 20-30 cm. Une soie est réceptive durant environ 5 jours puis elle devient sénescence et s'assèche. On peut identifier visuellement les soies sénescences par leur couleur qui vire du jaune au marron. La durée de réceptivité est une caractéristique génétique dont l'expression dépend des conditions météorologiques. Par exemple, un stress hydrique après la sortie des soies entraîne une sénescence prématurée des soies (Bassetti et Westgate, 1993c).

A l'échelle de la parcelle, la durée de floraison femelle dépend de l'hétérogénéité de floraison du peuplement. La majorité des plantes atteint le stade de floraison femelle en 5-7 jours. Il en résulte des durées de floraison femelle comprises entre 8 et 12 jours. Lizaso *et al.* (2003) estiment une dynamique saisonnière en forme de cloche alors que, à notre

connaissance, aucune étude expérimentale n'a été menée pour accéder à la dynamique journalière.

### I.1.3. Le transport du pollen dans l'atmosphère

Le maïs a un mode de pollinisation anémophile: le vent est le vecteur assurant le transport du gamète mâle vers l'ovule. Le transfert du pollen de maïs depuis les anthères déhiscentes vers l'atmosphère est déclenché par l'agitation des panicules et des anthères sous l'action du vent (Urzay *et al.*, 2009). La masse du grain de pollen, comprise entre 0.2 et 0.7  $\mu\text{g}$  en fonction de sa teneur en eau, fait qu'il est suffisamment léger pour être transporté dans l'écoulement turbulent de l'air mais aussi suffisamment lourd pour que l'attraction terrestre influence notablement sa trajectoire (Jarosz, 2003). Ainsi, la trajectoire du pollen va être déterminée par la hauteur des panicules ( $H$ ), la vitesse de sédimentation du pollen ( $v_s$ ), les caractéristiques de l'écoulement turbulent et la présence d'obstacles.

#### *a) Entraînement dans l'écoulement turbulent*

La dissémination du pollen se fait par l'entraînement au sein de l'écoulement aérien. Cet écoulement horizontal est créé par les différences de pression dans l'atmosphère et par la rotation de la terre. Le transport horizontal du pollen (advection) est déterminé par la direction et la vitesse du vent ( $\theta$  et  $u$ ). On peut calculer l'ordre de grandeur des distances parcourues dans le sens du vent à l'aide de l'échelle de longueur  $\bar{x} = Hu / v_s$ . Pour les deux situations contrastées suivantes :  $\{u = 1 \text{ m s}^{-1}, H = 2 \text{ m et } v_s = 0.32 \text{ m s}^{-1}\}$  et  $\{u = 4 \text{ m s}^{-1}, H = 3 \text{ m et } v_s = 0.17 \text{ m s}^{-1}\}$ , l'échelle de longueur est égale à 6 et 70 m, respectivement.

Les trajectoires des grains de pollen sont naturellement plus complexes et moins déterminées en raison des caractéristiques de l'écoulement. En effet, libéré à proximité du sol, le pollen est transporté dans la couche de l'atmosphère dans laquelle l'écoulement est directement influencé par la surface terrestre. Dans cette couche, appelée couche limite atmosphérique (CLA), l'adhérence de l'air au contact du sol entraîne un gradient vertical de la vitesse moyenne du vent jusqu'à une certaine hauteur où l'écoulement n'est plus perturbé par le sol (Delmas, 2005). Ce profil vertical de vitesse peut être décrit par la fonction logarithmique suivante :

$$u(z - D) = \frac{u^*}{k} \ln\left(\frac{z - D}{z_0}\right) \quad (1)$$

où  $z$  est l'altitude (m) et  $k$  la constante de von Karman ( $\sim 0.4$ ). Deux paramètres dépendent de la hauteur du couvert ( $H$ ) au dessus du sol : la hauteur de déplacement  $D = 0.7H$  et le paramètre de rugosité  $z_0 = 0.1H$ . La vitesse de frottement,  $u^*$  ( $\text{m s}^{-1}$ ) caractérise l'intensité du gradient vertical de vitesse, il est utilisé comme le paramètre de référence pour exprimer les vitesses dans la CLA (échelle de vitesse).

Ce cisaillement de vitesse provoque des frottements entre les couches d'air qui, lorsqu'ils sont suffisants, créés des structures tourbillonnaires tridimensionnelles aléatoires : leur taille, localisation et direction sont imprévisibles (Chassaing, 2000). L'écoulement est alors turbulent, c'est à dire que le mouvement de l'air est désordonné, fluctuant induisant un brassage dans les trois dimensions. Par opposition l'écoulement est laminaire lorsqu'il est lisse et régulier. Pour appréhender ce phénomène aléatoire on utilise une approche statistique en quantifiant les fluctuations de vitesse de l'écoulement par des écart-types dans les trois directions :  $\sigma_u$  (fluctuations le long de l'axe du vent),  $\sigma_v$  (fluctuations latérales) et  $\sigma_w$  (fluctuations verticales). L'intensité de cette turbulence d'origine mécanique est proportionnelle au gradient de vitesse. Il en résulte une relation constante entre les paramètres de turbulence et  $u^*$  lorsque la turbulence est uniquement d'origine mécanique (Guyot, 1997) :  $\sigma_u/u^* \approx 2.5$  ;  $\sigma_v/u^* \approx 1.9$  ;  $\sigma_w/u^* \approx 1.3$ .

D'autre part, la turbulence peut être amplifiée ou détruite selon la stabilité de l'atmosphère (Malardel, 2005). Lorsque le sol se réchauffe sous l'action du rayonnement solaire, un gradient vertical de température négatif apparaît et amplifie les mouvements verticaux : les masses d'air chaudes montent et les masses d'air froides descendent. Dans ces conditions l'atmosphère est instable et les fluctuations verticales engendrés par la turbulence mécanique vont être amplifiées ( $\sigma_w/u^* > 1.3$ ) d'autant plus que le gradient thermique sera marqué. On notera que l'installation de ce gradient est favorisée lorsque les vents sont faibles, dans le cas contraire la turbulence mécanique homogénéise les températures verticalement. Lorsque le gradient thermique est nul, la CLA est neutre et la turbulence est uniquement d'origine mécanique avec une intensité dépendante de  $u^*$  (cf. supra.). Enfin, la CLA est stable la nuit, lorsque le gradient thermique est inversé, i.e., la température augmente avec l'altitude, due au refroidissement de la surface par l'émission de rayonnement infrarouge. Dans ce cas, les mouvements verticaux sont d'autant plus gênés que le gradient thermique inverse est fort, agissant comme un puits de turbulence. Des nombres sans dimensions existent pour mesurer

l'intensité de la turbulence prenant en compte les gradients verticaux thermiques et de vitesses (longueur d'Obukhov ou nombre de Richardson).

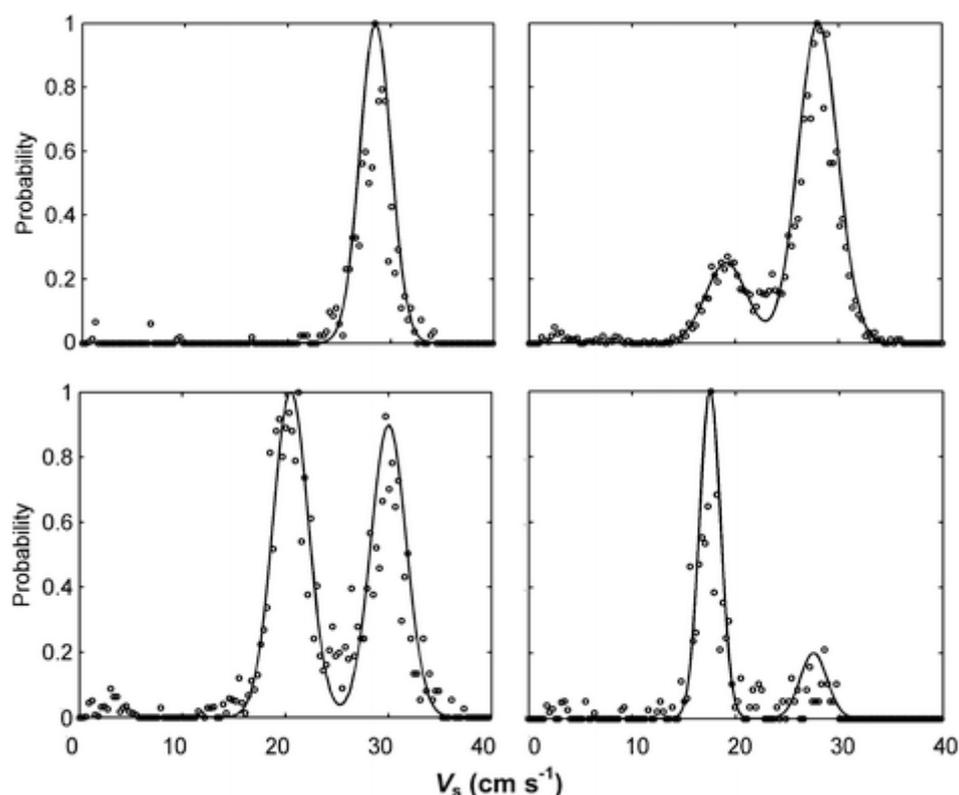
Cette turbulence va ajouter un caractère aléatoire aux trajectoires de pollen en plus du caractère déterministe de l'advection et de la sédimentation gravitationnelle. Ainsi, chaque grain de pollen a une trajectoire unique et un ensemble de grains de pollen libéré à un instant donné va former un nuage qui va diffuser avec le temps d'autant plus vite que l'intensité de la turbulence sera forte (diffusivité turbulente; Loubet, 2000). En conséquence, plus on s'éloigne de la source plus le nuage de pollen est éparpillé. Le brassage vertical entraîne les grains de pollen à des altitudes variées où les différentes vitesses de vent contribuent fortement à l'éparpillement du pollen dans le sens du vent. Ainsi, le transport de pollen à très haute altitude peut conduire à une dispersion de plusieurs kilomètres (Boehm et Aylor, 2008; Delage *et al.*, 2007). Cependant cette dispersion à longue distance implique de faibles quantités de pollen; Aylor et Boehm (2006) mesurent des concentrations inférieures à 0.1 grains  $m^{-3}$  à 90 m d'altitude au dessus d'une parcelle de maïs. Les structures tourbillonnaires sont également responsables du transport d'une petite partie du pollen dans le sens opposé au vent conduisant à la présence de pollen, en faibles quantités, en amont d'une parcelle source (Jarosz *et al.*, 2004).

En résumé, dans la situation d'un paysage homogène, le pollen est transporté sous l'action de trois phénomènes : (i) le vent caractérisé par une direction et une vitesse moyenne qui augmente avec la hauteur, (ii) des structures tourbillonnaires tridimensionnelles assurant un brassage de l'air dans les trois directions et (iii) la stabilité de l'atmosphère amplifiant ou réduisant le brassage vertical de l'air.

Un paysage est rarement homogène, et les éléments présents vont modifier plus ou moins l'écoulement en fonction de leurs caractéristiques géométriques et de leurs porosités (Guyot, 1997). Par exemple, la présence d'une parcelle de maïs entourée d'un sol nu engendre un contournement par le haut et les cotés de l'écoulement. Ainsi, au niveau du bord amont de la parcelle l'écoulement remonte, alors qu'il est dirigé vers le bas en aval de la parcelle. Dupont *et al.* (2006) supposent que la turbulence engendrée au niveau de la bordure aval de la parcelle accélère la vitesse de dépôt du pollen et augmente la dispersion à courte distance. Dans le couvert on peut noter l'atténuation de la vitesse de l'écoulement, ce qui diminuera l'advection et la diffusion du pollen qui subira d'autant plus l'effet de la gravité (Foudhil, 2002).

### b) La vitesse de sédimentation du pollen

En air calme, sous l'effet de son poids et de la force de trainée, le pollen va tomber à une vitesse dépendant de sa masse, de sa densité et de sa forme (Di-Giovanni *et al.*, 1995). Lorsqu'il est turgescent, le pollen contient entre 55 et 60 % d'eau, il est sphéroïde avec un diamètre d'environ 100  $\mu\text{m}$  et une vitesse maximale de sédimentation d'environ 30-32  $\text{cm s}^{-1}$ . Il se déshydrate au contact de l'air en fonction du déficit de pression de vapeur de l'air (Aylor, 2003). Sa déshydratation entraîne une diminution de sa masse et de son diamètre et en conséquence de sa vitesse de sédimentation. Totalement déshydraté, le pollen a une forme de « ballon dégonflé » ou de « raisin sec » avec une vitesse de sédimentation aux alentours de 17- 20  $\text{cm s}^{-1}$  (Aylor, 2002). Loubet *et al.* (2007) mesurent la distribution de la vitesse de sédimentation de plusieurs échantillons de pollen et observent parfois une distribution bimodale qu'ils attribuent à un mélange de grains hydratés et secs (Fig. I-8).



**Fig. I-8.** Distribution de la vitesse de sédimentation de quatre échantillon de pollen (d'après Loubet *et al.*, 2007)

En air calme, le temps nécessaire au pollen pour atteindre le sol peut se calculer en première approximation par  $H / v_s$ . Libéré à  $H = 2$  m, on obtient 6 et 12 secondes pour du pollen hydraté ( $v_s = 0.32 \text{ m s}^{-1}$ ) et déshydraté ( $v_s = 0.17 \text{ m s}^{-1}$ ), respectivement.

### ***c) Le dépôt du pollen***

Au cours de son vol, le pollen peut rencontrer des obstacles qui interrompent sa course comme des structures végétales ou le sol, on dit que le pollen se dépose. Etant donnée la séparation verticale des panicules et des épis, les surfaces végétatives qui les séparent constituent un puits pour le pollen, réduisant les flux de pollen descendants favorables à la fécondation. Par modélisation, Aylor (2005) a montré qu'en moyenne le flux descendant à hauteur des épis correspond à 20 % du flux d'émission, le reste étant soit disséminé en dehors de la parcelle soit déposé sur le couvert. Au niveau du sol, des gradients de dépôt caractéristiques sont mesurés en aval d'une parcelle source, qui peuvent être décrit par une fonction exponentielle ou une loi de puissance (McCartney, 1994).

Le dépôt de pollen sur les surfaces se fait sous l'action combinée de la sédimentation gravitationnelle et de l'impaction inertielle (McCartney et Aylor, 1987). En air calme, comme par exemple près du sol, le dépôt est seulement déterminé par la sédimentation gravitationnelle et se produit uniquement sur des surfaces horizontales à une vitesse voisine de la vitesse de sédimentation. Dans un écoulement turbulent, le dépôt est possible sur toutes les inclinaisons de surfaces et va dépendre de la vitesse de la particule. L'impaction se produit lorsque l'écoulement contourne une structure végétale, plus la vitesse du pollen sera élevée plus son inertie sera forte et moins il sera capable de suivre le courant de contournement et sera conduit à impacter la structure végétale.

Lorsqu'il se dépose sur une structure relativement élevée, le pollen peut être entraîné à nouveau dans l'écoulement en rebondissant, en roulant ou encore être remis en suspension sous l'action d'un coup de vent ou le mouvement du support (Paw et Braaten, 1992; Aylor *et al.*, 2003). Le rebond se produit si la vitesse du pollen à l'impact est supérieure à 30-60 cm s<sup>-1</sup>. Le réentraînement dans l'écoulement dépend des propriétés adhésives des surfaces.

## **I.1.4. La rencontre du pollen et de l'ovule : la fécondation**

### ***a) Une rencontre peu probable***

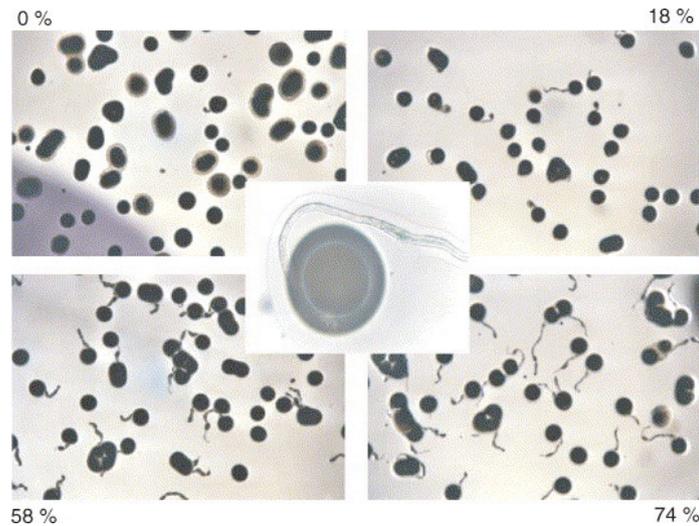
La condition première pour la fécondation est la disponibilité du pollen associée à la réceptivité des soies. Plus les stades de floraison mâle et femelle sont décalés plus le nombre d'ovule fécondé diminue (Bolanos et Edmeades, 1993).

Etant donnée la séparation des organes et les petites dimensions des soies, la chance qu'un grain de pollen viable se dépose sur une soie est faible: il faut donc un nombre suffisamment élevé de grains de pollen par soie pour assurer la fécondation. Pour un hybride produisant 10

millions de grains et 1000 soies, il y a une disponibilité moyenne de 10 000 grains de pollen par soie. Cependant, la disponibilité journalière va être très variable en fonction des dynamiques d'émission de pollen et de soies ainsi que du ASI et de l'hétérogénéité de floraison. Bassetti et Westgate (1994) estimaient qu'il faut au moins 1 million de grains  $m^{-2}$  jour<sup>-1</sup> pour que tous les ovules connectés à des soies extraites et réceptives soient fécondés. En dessous de ce seuil la proportion d'ovules fécondés diminue linéairement avec le nombre de grains de pollen. Quant à lui, Aylor *et al.* (2003) estime la chance qu'a un grain de pollen de tomber sur une soie en utilisant les dimensions des soies. Il définit un indice de surface correspondant à la surface horizontale projetée occupée par les soies par unité de surface de sol. Cet indice varie de 0.003  $m^2 m^{-2}$  lorsque quelques soies viennent juste d'émerger à 0.06  $m^2 m^{-2}$  lorsque plusieurs centaines de soies d'une longueur de 12-18 cm ont émergées; ce constat a pour corollaire qu'une très grande majorité de grains de pollen tombe sur d'autres structures végétatives que les soies.

#### ***b) La viabilité du pollen et la fécondation***

Si un grain de pollen se dépose sur une soie réceptive, il se réhydrate et, dans un état turgescent, peut alors développer un tube pollinique dont le rôle sera d'acheminer le matériel chromosomique du pollen vers l'ovule. La réhydratation du pollen sur le stigmate est supposée être le signal déclenchant le développement du tube. La capacité à développer un tube pollinique permet de définir la viabilité du pollen. Le taux de viabilité du pollen peut être testé *in vivo* par observation directe sur les soies, ce qui suppose que les soies soient bien réceptives, ou *in vitro* en utilisant des milieux de germination dont la composition est déterminée empiriquement. La Figure I-9 montre différentes proportions de grains de pollen viables et non viables sur quatre milieux de germination. Pour un échantillon de pollen, le taux de viabilité est relié positivement à la teneur moyenne en eau. Fonseca et Westgate (2005) ont montré qu'en dessous de 30 % d'eau le taux de viabilité est nul. Pour une teneur critique en eau équivalente (28%), Kerhoas *et al.* (1987) ont observé des dommages irréversibles dans la perméabilité des membranes et l'activité métabolique. Roedel-Drevet *et al.* (1995) proposent deux hypothèses pour expliquer la perte de viabilité: (i) la difficulté à se réhydrater et devenir turgescent et (ii) l'incapacité à recouvrer son métabolisme stationnaire après réhydratation. Ainsi, le pollen tolère la déshydratation jusqu'à une certaine teneur en eau à partir de laquelle il subit des dégâts irréversibles qui l'empêchent de développer un tube. On peut également noter que peu d'études rapportent des taux de viabilité de 100 % ce qui suggère l'existence d'une proportion de pollen initialement défectueux.



**Fig. I-9.** Photo de grains de pollen viable (ayant développé un tube pollinique) et non viable sur quatre milieux de germination. Les échantillons de pollen ont des taux de viabilité différents noté aux coins de l'image: 0, 18, 58 et 74 % (d'après Fonseca *et al.*, 2003)

Plusieurs auteurs ont étudié la déshydratation du pollen dans l'air en fonction du déficit de pression de vapeur (VPD) et la perte de viabilité qui en résulte (Aylor *et al.*, 2004 ; Fonseca et Westgate, 2005). Ce processus a pour conséquence une perte de viabilité du pollen durant son transport dans l'atmosphère d'autant plus rapide que le VPD est élevé. Si cette perte de viabilité n'est pas perceptible à une échelle inter-parcellaire impliquant des durées courtes de transports, elle réduit théoriquement les risques de fécondation croisée à plus longue distance. Cependant, certains auteurs ont observé que le pollen transporté à haute altitude, impliqué dans la dispersion à longue distance, a un taux de viabilité non nul due au faible VPD qui y règne (Viner et Arritt, 2007; Brunet *et al.*, 2008). D'autres études ont étudié la déshydratation et la perte de viabilité du pollen à l'émission en fonction de l'heure dans la journée. Ils ont observé une diminution de teneur en eau et de la viabilité au cours de la journée conduisant à réduire les possibilités de fécondation (Westgate et Boyer, 1986 ; Mazet, 2008).

Le pollen viable va développer un tube pollinique initié au niveau du pore du pollen qui acheminera son cytoplasme, ses noyaux végétatifs et ses deux gamètes mâles jusqu'à l'ovule. D'après Barnabas (1984), le pollen partiellement déshydraté a besoin de plus de temps pour l'initiation de son tube pollinique que le pollen turgescents. Le tube pollinique se développe et chemine à travers la soie en direction de l'ovule par un phénomène de chimiotactisme. Le tube croît à une vitesse d'environ  $0.5-0.7 \text{ cm h}^{-1}$ , puisant les éléments nécessaires à sa croissance dans la soie (Herrero et Johnson 1981 ; Girardin, 1998). Certains auteurs ont montré une incompatibilité chimique entre pollen et soie provenant de différentes variétés réduisant ou inhibant la vitesse de croissance du tube (Gay, 1980). Lorsque le tube pollinique atteint l'ovule il y a une double fécondation. Le temps entre le dépôt du pollen sur la soie et la

fécondation va dépendre de sa rapidité à se réhydrater et de la distance le séparant de l'ovule en fonction de l'endroit où il est intercepté par la soie et de la position de l'ovule sur l'épi. Cependant, le temps nécessaire à l'initiation de la germination (~5 min) est négligeable en comparaison du temps nécessaire au tube pollinique pour atteindre l'ovule (Mascarenhas, 1993). En effet, la distance à parcourir variant de quelques cm à 60 cm nécessite un temps de croissance variant de quelques heures à plusieurs jours.

Cette fécondation va entraîner la formation d'un grain constitué d'un embryon, (germe), de l'albumen (tissu de réserve) et du péricarpe (enveloppe externe). Durant la phase post-floraison, le grain grossit et se remplit d'assimilats dans des proportions variables en fonction des variétés.

### ***c) Les taux de fécondation croisée à l'échelle d'une saison***

Etant donnée la séparation des organes reproducteurs et du décalage de floraison sur une même plante, la fécondation a lieu en général entre un pollen et un ovule de plantes différentes. Le taux d'autofécondation des individus serait faible, autour de 5% (Poehlman, 1959). Cette pollinisation croisée se fait en général entre plantes d'une même parcelle mais peut naturellement avoir lieu entre plantes de différentes parcelles. Les études expérimentales rapportent des taux de pollinisation croisée entre parcelles très variables qui dépendent des conditions expérimentales comme l'agencement et les surfaces des parcelles, les variétés utilisées, la densité des plantes, les décalages de floraison ou encore les conditions météorologiques influençant la réalisation des processus impliqués, notamment la vitesse et la direction du vent. Nous rapportons ci-après quelques chiffres extrêmes pour montrer la variabilité du phénomène.

Dans une parcelle non OGM de maïs blanc, Pla *et al.* (2006) ont mesuré des taux de fécondation croisée avec des plantes OGM variant avec la distance de 2-16 % à 0 m à 0-0.65 % à 80 m. Dans une autre étude, Goggi *et al.* (2007) montrent une augmentation des taux de fécondation croisée entre parcelles hybrides plus forte lorsque dans la parcelle réceptrice 80 % des panicules sont castrées. Ces auteurs rapportent des taux de 24-64 % et 0.03-0.4 % à 1 et 100 m pour la parcelle avec castration et des taux de 10-47 % et 0.005-0.05 % pour la parcelle sans castration. Les effets des distances d'isolement sur la fécondation croisée furent étudiés par Della Porta *et al.* (2007) qui révèlent des taux élevés en bordure des parcelles réceptrices de 40%, 23% et 4% pour des isolements de 0, 20 et 35 m, respectivement. Une étude statistique sur les flux de gènes est proposée par Ireland *et al.* (2006) qui ont mesuré durant 3 ans les taux de fécondation croisée à différentes profondeurs dans 315 parcelles de

production de semences aux Etats-Unis. Ils rapportent des taux allant de 0% à 21% mais soulignent que 65% des mesures étaient inférieures à 1% et que les taux les plus forts étaient observés en bordure de parcelle.

Dans le cas des OGM, on notera que la fécondation croisée n'entraîne pas forcément une dissémination de l'événement OGM. En effet, dans le cas d'une plante OGM hémizygote seulement 50 % des grains de pollen portent l'évènement OGM.

## **I.2. Les modèles mis en œuvre pour rendre compte des flux de gènes**

Etant donnée la grande variabilité des taux de fécondation croisée en raison des nombreux facteurs impliqués et de leurs interactions, il est illusoire de vouloir comprendre et rendre compte des risques de fécondation croisée par une approche uniquement expérimentale (Treu et Emberlin, 2000).

La modélisation des flux de gènes a trois objectifs : (i) mieux comprendre les mécanismes régissant ce phénomène, (ii) estimer *a posteriori*, i.e., connaissant les conditions environnementales rencontrées, quelles parcelles ont un taux d'impureté élevé sans avoir recours à des mesures expérimentales et (iii) estimer *a priori*, i.e., en faisant des hypothèses sur les conditions environnementales futures (étude de scénarios), l'efficacité des méthodes d'isolement pour réduire les flux de gènes allochtones.

Les risques de fécondation croisée peuvent être simulés à l'échelle du paysage, par exemple pour étudier la faisabilité de la coexistence OGM / non OGM dans un paysage réaliste en fonction de différentes stratégies d'isolement. Elle peut également être utilisée à l'échelle inter-parcellaire pour identifier plus spécifiquement des conditions environnementales à risques.

Il y existe deux grandes approches pour comprendre et décrire la fécondation croisée : (i) l'approche écologique des flux de gènes basée sur des mesures expérimentales de fécondation croisée à la fin de la saison de pollinisation et (ii) l'approche physique ou biophysique des processus impliqués dans la reproduction sexuée du maïs et plus particulièrement dans le transport inter-parcellaire de pollen, i.e., la pollinisation inter-parcellaire. Jusqu'à aujourd'hui, cette dernière repose principalement sur l'étude de la dispersion atmosphérique du pollen.

### I.2.1. L'approche écologique : une approche intégrée pour prédire les taux de fécondation croisée à l'échelle de la saison

L'approche écologique des flux de gènes consiste à estimer une loi de probabilité bivariable qui décrit « la probabilité qu'un grain de pollen émis par une source située à la position (0,0) féconde un ovule en tout point (x,y) » (Klein *et al.*, 2003). Plusieurs lois de probabilité, ou noyaux de dispersion, existent. Par exemple Klein *et al.* (2006) en proposent huit en les comparant selon des critères statistiques. Le noyau de dispersion est estimé à partir de mesures expérimentales de fécondation croisée à l'échelle d'une parcelle à la fin de la saison de pollinisation. La force de l'approche est d'estimer les noyaux de dispersion en prenant en compte la disposition spatiale et les surfaces des parcelles donatrice et réceptrice de pollen. Le noyau de dispersion estimé représente une probabilité de fécondation moyenne par plante et sa robustesse pour la prédiction dépend de la taille du jeu de données utilisé.

Cependant, les mesures de fécondation croisée à partir desquelles est estimé le noyau de dispersion ne dépendent pas seulement de l'agencement et des surfaces des parcelles. En effet, de nombreux autres facteurs biophysiques interviennent comme la synchronisation de floraison, les quantités absolues émises, la vitesse et la direction du vent ou encore l'utilisation de distances d'isolement. Ainsi, le domaine de validité du noyau de dispersion est donné par les conditions expérimentales. Par exemple, Angevin *et al.* (2008) estiment que la fonction de dispersion proposée est seulement valide pour des couverts continus et une floraison synchronisée entre parcelles réceptrice et donatrice.

Pour pallier les limites empiriques de cette approche, des noyaux de dispersion « quasi-mécanistes » ont été proposés, leurs paramètres pouvant être reliés à des paramètres physiques de la dispersion aérienne de pollen (Tufto *et al.*, 1997). Dans ce cas, le noyau est dérivé des équations d'un mouvement Brownien en trois dimensions qui décrit les trajectoires individuelles des grains de pollen dans l'atmosphère. L'équation du noyau est établie en faisant une hypothèse sur la loi de probabilité du temps d'arrêt du pollen ou temps de fécondation, i.e., le temps nécessaire pour arriver à la hauteur de l'épi femelle. En fonction des différentes hypothèses du temps de fécondation, différents noyaux existent dont les paramètres sont reliés avec la vitesse et la direction du vent, la différence de hauteur entre les panicules et les épis ainsi que les paramètres statistiques de la turbulence (écarts-types de la vitesse du vent). Klein *et al.* (2003) comparent plusieurs noyaux de dispersion et estiment qu'une loi NIG (« Normal Inverse Gaussian ») à 5 paramètres est la plus adaptée aux données expérimentales. Cependant, les paramètres estimés par déconvolution et ceux estimés en

utilisant les paramètres physiques moyens sur la période montrent certaines divergences. Les auteurs supposent qu'un déficit de connaissance sur les paramètres statistiques de la turbulence peut être à l'origine de ces divergences.

Dans le but de mieux prendre en compte les facteurs biophysiques de la fécondation croisée, Angevin *et al.* (2008) proposent le modèle MAPOD dérivé du noyau de dispersion développé par Klein *et al.* (2003). Premièrement, le noyau est étendu à d'autres vitesses et directions de vent ainsi qu'à d'autres différences de hauteur entre panicules et épis que celle rencontrées dans l'étude de Klein *et al.* (2003) en utilisant des relations de proportionnalité. Deuxièmement, les taux de fécondation croisée sont simulés sur un pas de temps journalier en utilisant un modèle d'émission. Ce dernier est basé sur une courbe d'émission de pollen moyenne prédisant le taux de pollen par jour relativement à la quantité totale. Le modèle présente l'avantage de pouvoir prendre en compte un décalage de floraison ainsi qu'un déséquilibre entre les productions totales de pollen des parcelles donatrice et réceptrice en plus des paramètres physiques que sont la vitesse et la direction du vent. Cependant, Beckie *et al.* (2008) soulignent la nécessité d'approfondir la validation du modèle avec un jeu de données plus robuste.

Depuis les noyaux de dispersion statistiques estimés à l'échelle de la saison d'émission jusqu'au modèle MAPOD fonctionnant sur un pas de temps journalier et prenant en considération des variables biophysiques, l'approche des flux de gènes tend à concilier l'approche intégrée initiale avec une description plus mécaniste du phénomène. Cette approche a été bien utilisée pour les études de coexistence car elle permet d'estimer directement les taux de fécondation croisée. De plus, bénéficiant de travaux antérieurs sur la dispersion de graines à l'échelle du paysage et requérant un type de données limité, cette approche a été la plus immédiate à mettre en œuvre. Elle a été utilisée pour étudier les risques d'introduction de parcelles OGM au sein de paysage agricole pour différents scénarios d'agencement de parcelles (Viaud *et al.*, 2008) ou de stratégies d'isolement spatial et temporel selon différents scénarios météorologiques (Angevin *et al.*, 2008). Cependant, cette approche garde un certain degré d'intégration d'un point de vue temporel, e.g., les dynamiques horaires des processus impliqués ne sont pas prises en compte, et biologique, e.g., les noyaux sont ajustés sur des mesures de fécondation croisée à la fin de la saison, intégrant les variations de la viabilité du pollen ou de la réceptivité des soies. De ce fait, cette approche intégrée n'est pas adaptée pour prendre en compte les caractéristiques locales de l'interface agroécosystème-atmosphère et est préférentiellement utilisée à l'échelle régionale pour estimer des risques globaux.

## I.2.2. L'approche biophysique : une approche mécaniste pour prédire la pollinisation inter-parcellaire sur un pas de temps court

### ***a) Généralité sur les modèles atmosphériques de dispersion***

L'approche physique de la dispersion consiste à estimer le devenir des quantités de pollen après leur libération sous l'action de la gravité et de l'entraînement dans l'écoulement turbulent. En entrée ces modèles nécessitent un certain nombre de paramètres physiques liés à l'écoulement aérien comme la vitesse du vent à une altitude donnée, la vitesse de frottement ou encore des paramètres de stabilité atmosphérique, en fonction de la complexité du modèle. Ils nécessitent également des informations sur la source comme sa hauteur et sa force. En général, l'écoulement turbulent est supposé stationnaire, i.e., les caractéristiques moyennes ne varient pas avec le temps. Pour être utilisé tout au long de la saison de pollinisation, les modèles physiques doivent être utilisés itérativement sur un pas de temps fin (~10-30 min) durant lequel les conditions sont supposées stationnaires. A chaque pas de temps, les caractéristiques de l'écoulement et de la source doivent être renseignées en entrée. La prise en compte de la dynamique temporelle de ces entrées est une des limites actuelles pour reproduire correctement la dispersion du pollen tout au long de la saison d'émission.

Deux grandes familles de modèles atmosphériques existent pour décrire l'évolution dans le temps et l'espace des grains de pollen ; ce sont l'approche eulérienne utilisant un repère fixé par l'observateur et l'approche lagrangienne utilisant la particule comme repère. Les modèles eulériens sont basés sur l'équation d'advection-diffusion dérivée de l'équation de conservation de masse. Dans cette équation, la dispersion turbulente est supposée proportionnelle à la différence de concentration entre deux parcelles d'air adjacentes (théorie du gradient-diffusion). Quant aux modèles lagrangiens, ils déduisent les concentrations aériennes et le dépôt de pollen dans un repère eulérien à partir d'un grand nombre de simulations de trajectoires individuelles de pollen. Ce sont des modèles basés sur la théorie des chaînes de Markov, qui suppose que la position future de la particule ne dépend que de son état présent. A chaque pas de temps, la position future de la particule peut être calculée par des équations de mouvement (Jarosz *et al.*, 2003). Les pas de temps varient en fonction de l'inertie de la particule et donc de sa vitesse.

Pour mettre en œuvre ces approches il est nécessaire soit de leur trouver une solution analytique, soit de réaliser une résolution numérique. Si la résolution numérique permet de décrire de manière plus précise les mécanismes de dispersion, elle est cependant plus coûteuse en temps de calcul et de développement. Au contraire, les solutions analytiques sont faciles à

mettre en œuvre et peu gourmandes en temps de calcul, ce qui les rend adaptées à une démarche opérationnelle. Cependant, elles sont construites sur un certain nombre de simplifications, ce qui suppose une validation préalable.

***b) Une solution analytique simple de la diffusion atmosphérique: la distribution gaussienne***

Plusieurs solutions analytiques ont été proposées pour modéliser la dispersion de pollen ou de spores et présentent divers degrés de complexité. Elles supposent un paysage homogène, ce qui permet d’avoir un champ turbulent ne variant par horizontalement ; dans ce cas, toutes les sources, quelques soient leurs positions, sont associées à la même fonction de dispersion. Pour simuler la dispersion d’une parcelle source, les fonctions de dispersion doivent être intégrées dans l’espace. Dans notre cas, on notera que ce cadre n’est respecté que lorsque les parcelles réceptrice et émettrice sont contiguës. Lorsque les parcelles sont séparées par une distance d’isolement les solutions analytiques sont hors de leur domaine de validité et leur utilisation dans ces conditions nécessite une validation.

Les modèles les plus simples décrivent la dispersion de particules dans un champ turbulent uniforme, i.e., la vitesse et la direction du vent ainsi que la turbulence sont constantes dans tout le domaine. Dans ce cadre, la diffusion du pollen peut être approximée par une distribution gaussienne. Pour appliquer ces modèles dans la CLA alors qu’un fort gradient vertical de vitesse existe les conditions de vent et de turbulence sont moyennées sur la hauteur du nuage de pollen ou estimées à la hauteur de la source.

Pour estimer la pollinisation croisée dans une parcelle de maïs, Loss *et al.* (2003) utilisent un modèle de bouffées gaussiennes décrivant la diffusion du nuage de pollen émis par une source ponctuelle et instantanée.

$$C(x,y,z,t) = \frac{S}{2\sqrt{2(\pi t)^2 K_x K_y K_z}} \times \exp\left(-\frac{(x-ut)^2}{4K_x t} - \frac{y^2}{4K_y t} - \frac{z^2}{4K_z t}\right) \quad (2)$$

où  $C$  est la concentration de pollen,  $S$  est la force de la source (nombre de grains),  $u$  la vitesse du vent ( $\text{m s}^{-1}$ ),  $x$ ,  $y$ ,  $z$  et  $t$  les coordonnées dans l’espace et le temps, et  $K_{x,y,z}$  la diffusivité turbulente dans les trois directions. Les auteurs estiment l’ensemble des paramètres directement sur des mesures de taux de fécondation croisée par une méthode de minimisation de l’erreur. Leur approche est uniquement descriptive et les paramètres estimés sont difficilement utilisables dans d’autres conditions environnementales.

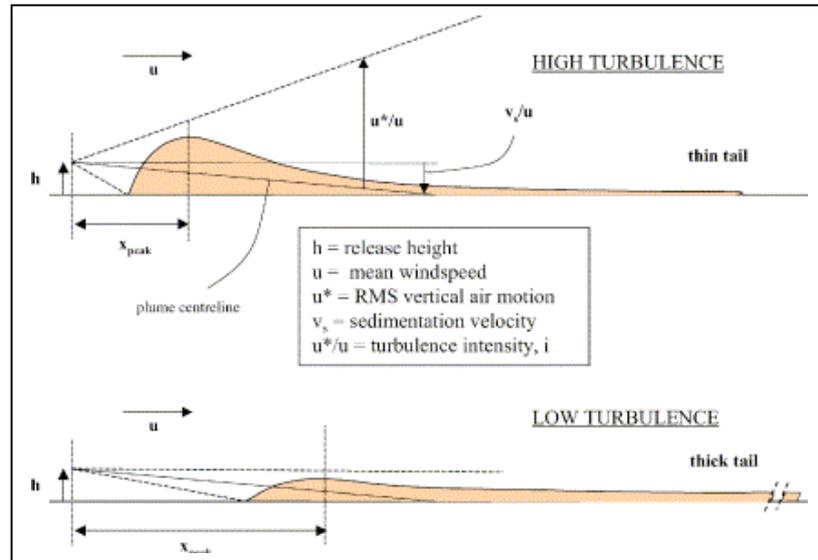
Des modèles prédictifs ont été proposés pour étudier la dispersion de particules pesantes non biotiques. Parmi eux, le modèle GDS a été développé pour prédire la dispersion de gouttelettes provenant de la pulvérisation de produit phytosanitaire (Craig, 2004). Le modèle prédit les dépôts au sol perpendiculairement à une source linéaire, infinie (Eq. (3)). Cette fonction prend en compte les principaux paramètres physiques que sont la puissance et la hauteur de la source, la vitesse de sédimentation, la vitesse du vent ainsi que la turbulence pour différentes conditions de stabilité.

$$d = \frac{qH}{\sqrt{2\pi}ix^2} \exp\left(\frac{-(H - v_s x/u)^2}{2(ix)^2}\right) \quad (3)$$

où  $d$  est le dépôt au sol (grains  $m^{-2}$ ),  $H$  et  $q$  sont la hauteur (m) et la force (grains  $m^{-1}$ ) de la source respectivement,  $x$  la distance depuis la source,  $v_s$  la vitesse de sédimentation ( $m s^{-1}$ ),  $u$  la vitesse du vent ( $m s^{-1}$ ) et  $i$  l'intensité de la turbulence (égale à l'écart-type de la vitesse verticale divisé par la vitesse du vent). L'intensité de turbulence détermine la vitesse à laquelle le nuage de particules diffuse et ainsi l'éparpillement du dépôt de pollen au sol. La Figure I-11 montre les courbes de dépôts résultant de conditions de stabilité contrastées mais pour une vitesse de vent identique.

Les modèles gaussiens prédictifs ont l'avantage d'être simples, nécessitant en entrée des paramètres météorologiques mesurés en routine (Spijkerboer *et al.*, 2001). D'ailleurs, pour estimer en conditions opérationnelles les risques d'infection du mildiou de pomme de terre, Skelsey *et al.* (2008) utilisent comme indicateur les quantités de spores dispersées prédites à partir d'un modèle quasi-gaussien. Le modèle de dispersion est couplé avec un modèle d'émission de spores et de perte de viabilité avec la distance. A notre connaissance, une telle approche opérationnelle n'a jamais été mise en œuvre pour estimer les risques de fécondation croisée via l'estimation de la pollinisation inter-parcellaire chez le maïs.

On peut noter que d'autres solutions analytiques existent, prenant en compte le gradient vertical de vitesse ainsi qu'une augmentation de la diffusivité avec la hauteur. Par exemple, Bouvet et Wilson (2005) proposent une solution analytique du dépôt au sol de particules pesantes prenant en compte le croisement des trajectoires. Cependant, cette solution très physique nécessite certains paramètres qui restent encore insuffisamment caractérisés, la solution gaussienne restant la mieux adaptée aux conditions opérationnelles.



**Fig. I-11.** Estimation du dépôt au sol par le modèle GDS dans un cas de forte et de faible turbulence pour la même vitesse de vent (d'après Craig, 2004)

### c) La résolution numérique de la dispersion

Les modèles numériques nécessitent d'être couplés avec un modèle d'écoulement, qu'il soit empirique ou physique, décrivant les profils de vitesses du vent et la turbulence dans une grille eulérienne fixe. L'écoulement dans tout le domaine est prédit à partir de mesures ponctuelles de paramètres physiques. Le modèle d'écoulement permet de prendre en compte les perturbations de l'écoulement au niveau de zones de transition, comme une haie ou les bordures des parcelles par exemple, ou plus généralement les perturbations résultant d'une discontinuité à l'échelle du couvert ou du paysage. Cette description précise de l'écoulement permet d'étudier la dispersion dans des paysages non homogènes.

Dans le cas d'un modèle eulérien, la grille de l'écoulement turbulent est la même que celle dans laquelle est résolue l'équation d'advection-diffusion. Pour un modèle lagrangien, les caractéristiques de l'écoulement doivent être interpolées à chaque position successive des particules.

Dupont *et al.* (2006) comparent des modèles lagrangien et eulérien avec des mesures expérimentales de dispersion en deux dimensions dans le sens du vent. Le modèle eulérien est composé d'un modèle d'écoulement, Aquilon, dans lequel est intégré une équation de conservation d'advection-diffusion alors que le modèle lagrangien stochastique, SMOP-2D, utilise un modèle empirique d'écoulement. Les mesures sont collectées sur des périodes de temps d'environ 2 h au cours desquelles les conditions de vent sont supposées stationnaires (Jarosz *et al.*, 2003). Les deux modèles ont une précision similaire en terme de profil de vitesse de vent, de dépôt et de concentration de pollen. Cependant, ils sous-estiment fortement

les dépôts à proximité du bord aval de la parcelle source. Les auteurs suggèrent une mauvaise prise en compte de la turbulence créée par la bordure de la parcelle. Cette comparaison montre l'utilité des modèles physiques pour étudier la dispersion de pollen au sein d'un paysage non homogène. Néanmoins, cette étude se limite à la validation des modèles sur des périodes de temps d'environ 2h et ne propose pas une prédiction à l'échelle de la saison de pollinisation.

Dans une autre étude, Arritt *et al.* (2007) proposent de modéliser la dispersion de pollen sur un pas de temps horaire et tout au long d'une journée. Ils utilisent un modèle lagrangien en trois dimensions et valident l'approche sur des mesures journalières de dépôt au sol. Pour une journée, ils calculent le dépôt sur un pas de temps horaire en utilisant des mesures de vent moyennes sur le même pas de temps. Ensuite, ils intègrent dans le temps les dépôts estimés en les pondérant avec une dynamique d'émission idéalisée. Les résultats montrent une bonne estimation en aval de la source mais une sous-estimation du dépôt à plus longue distance. Si l'utilisation d'un pas de temps court pour prédire la dispersion à l'échelle d'une journée est un point fort de l'étude, les auteurs soulignent que la caractérisation du terme source peut être à l'origine des écarts entre le modèle et les mesures. En effet, ils utilisent la même dynamique horaire d'émission et la même quantité totale journalière pour l'ensemble des journées de simulation. Actuellement, ils cherchent à mieux caractériser le terme source en s'appuyant notamment sur les travaux de Viner *et al.* (2010) qui proposent un modèle mécaniste prédisant la dynamique d'émission diurne en fonction des conditions météorologiques.

Dans une étude plus récente Astini *et al.* (2009) vont jusqu'à prédire les taux effectifs de fécondation croisée à la fin de la saison de pollinisation en utilisant le modèle lagrangien de Arritt *et al.* (2007) couplé avec le modèle de fécondation de Lizaso *et al.* (2003). Ce modèle de fécondation prédit les dynamiques d'émission de pollen et de soies sur un pas de temps journalier puis en déduit le nombre de grains formé chaque jour. Cette étude montre la faisabilité d'utiliser un modèle physique pour prédire les taux effectifs de fécondation croisée. Cependant, le modèle d'émission n'est pas prédictif nécessitant en entrée les pourcentages de plantes émettrices de pollen et de soies mesurés tout au long de la période d'émission. De plus, le pas de temps journalier utilisé ne permet pas d'exploiter pleinement l'approche physique de la dispersion qui peut être utilisée sur un pas de temps horaire et ainsi prendre en compte les dynamiques temporelles des processus et celles des conditions météorologiques, notamment le vent.

## **I.3. Positionnement du sujet et axes de recherche**

### I.3.1. Principaux éléments du contexte scientifique

Dans le premier chapitre nous avons commencé par décrire les mécanismes importants impliqués dans la fécondation croisée que sont: l'émission et la viabilité du pollen, la dispersion aérienne du pollen ainsi que l'émission et la réceptivité des soies. Il en ressort une grande variabilité dans la réalisation de ces mécanismes en relation avec les conditions météorologiques. En ce qui concerne la dynamique d'émission du pollen et des soies nous avons vu que les dynamiques temporelles variaient en fonction de la température, du pouvoir évaporant de l'air ou du stress hydrique. L'importance du champ turbulent et plus particulièrement de la vitesse du vent et de la stabilité de l'atmosphère sur la dispersion aérienne a aussi été présentée. Nous avons également vu dans les parties I.1.3 et I.1.4 l'effet desséchant de l'air sur la teneur en eau du pollen et en conséquence la diminution de la vitesse de sédimentation et de la viabilité. Cette déshydratation a été observée aussi bien à l'émission que durant le vol du pollen.

Dans une deuxième partie, nous avons présenté les deux grandes approches existantes pour appréhender les flux de gènes: l'approche écologique des flux de gènes et l'approche biophysique de la dispersion aérienne. Sur le plan expérimental et méthodologique, les deux approches diffèrent fortement par les échelles de temps (saison de pollinisation pour l'une, échelle de la journée ou de l'heure pour l'autre), même si elles sont complémentaires. En France, ces différentes approches ont été principalement développées dans le cadre de projets nationaux (ACI Impact des OGM dans les agrosystèmes, AAP Impact des biotechnologies dans les agroécosystèmes, programme ANR-OGM) et européens (notamment projets Sigma et plus récemment CoExtra). L'approche des flux de gènes a été beaucoup utilisée en raison de son caractère intégré qui permet de simuler les taux effectifs de fécondation croisée. Cette approche est adaptée pour estimer des risques globaux à l'échelle régionale et pluriannuelle. Elle a été utilisée pour développer des outils de simulation prenant en compte divers agencements réalistes de parcelles. Cependant, les efforts pour prendre en compte des conditions environnementales variables ne sont pas encore bien validés ce qui rend cette approche encore peu adaptée et sans doute peu précise à l'échelle locale.

Quant à l'approche biophysique, elle permet d'étudier de manière plus mécaniste les flux de gènes en estimant notamment les flux polliniques inter-parcellaires à partir du couplage de plusieurs modèles prédisant l'émission, la viabilité et la dispersion du pollen. L'approche

biophysique permet également de travailler sur un pas de temps court, ce qui semble *a priori* important étant donné la variabilité horaire des processus et celle des variables météorologiques impliquées. Cette approche permet de mieux prendre en compte les caractéristiques locales de l'interface agroécosystème-atmosphère. Jusqu'à aujourd'hui, le processus le plus étudié est la dispersion aérienne sur une courte période de temps qui s'appuie sur une diversité de modèles ayant montré leur efficacité pour une grande variété d'aérosols. Parmi eux, les solutions analytiques offrent un compromis intéressant entre la réalité physique de la dispersion et le caractère opérationnel qui requière un nombre limité de paramètres accessibles. Au contraire, les modèles numériques peuvent demander des temps de calcul importants atteignant facilement une semaine. L'utilisation de ces modèles pour estimer la dispersion de pollen tout au long de la saison d'émission d'une parcelle de maïs est clairement limitée par le manque de connaissances sur les variations temporelles de la source de pollen.

### I.3.2. Objectifs et plan de travail

Pour répondre aux interrogations de l'interprofession semencière (Fédération Nationale de la Production de Semences de maïs et de Sorgho) et d'Arvalis – Institut du Végétal sur les risques de fécondation croisée à l'échelle inter-parcellaire nous nous sommes orientés vers le développement d'un modèle opérationnel simple basé sur l'approche biophysique de la dispersion pollinique. L'opérationnalité requise suppose de prendre en compte un nombre limité de variables accessibles et de développer un modèle analytique économe en temps de calcul. Quant à la simplicité recherchée, elle suppose de valoriser au mieux les acquis antérieurs sur les processus physiques et biophysiques impliqués dans la pollinisation inter-parcellaire, à savoir l'émission en termes de quantité, la viabilité du pollen ainsi que la dispersion de pollen. De manière plus précise, le contexte scientifique milite pour le développement d'une méthode de prévision de dépôt de pollen viable. Ciblé sur la pollinisation inter-parcellaire, notre choix permet de mettre l'accent sur les processus d'émission et dispersion de pollen viable, ce qui signifie en pratique que notre démarche commence à partir de la maturité des panicules et s'achève au seuil de la réceptivité des soies.

Nous avons identifié une solution analytique de la dispersion, le modèle GDS, permettant de prendre en compte les principaux paramètres physiques déterminant la dispersion, à savoir : la puissance de la source, la vitesse de sédimentation du pollen, la vitesse du vent et la stabilité atmosphérique. Cette fonction en une dimension limite l'étude de la pollinisation

inter-parcellaire au cas où deux parcelles sont parallèles et infiniment longues et où la direction du vent est perpendiculaire aux parcelles. Nous nous intéressons donc seulement à la pollinisation inter-parcellaire maximale lorsque le vent souffle continuellement depuis la parcelle donatrice vers la parcelle réceptrice. La mise en application du modèle pour estimer la dispersion de pollen viable tout au long de la période d'émission sur un pas de temps court nécessite de modéliser l'émission de pollen. Pour cela une étude sur les relations entre les conditions météorologiques et la dynamique temporelle d'émission du pollen est nécessaire. De plus, c'est moins la quantité totale de pollen à l'émission qui nous intéresse que la quantité de pollen viable. Par comparaison avec d'autres études traitant de la perte de viabilité au cours du vol du pollen nous supposons qu'à l'échelle inter-parcellaire à laquelle nous nous situons cette perte est négligeable devant la perte de viabilité dans l'anthere avant l'émission du pollen. A la suite du chapitre I relatif à l'état de l'art, ce travail s'articule autour de trois chapitres traitant de la modélisation des processus qui nous intéressent et d'un quatrième chapitre de discussion générale :

Dans le chapitre II, nous présentons un modèle d'émission de pollen de maïs opérationnel qui prédit le flux d'émission sur un pas de temps horaire et tout au long de la période d'émission à partir des conditions météorologiques. Ce modèle a été construit à partir d'une analyse statistique d'un vaste jeu de données collecté en grande partie durant la thèse.

Le chapitre III présente des résultats expérimentaux collectés durant la thèse sur les caractéristiques biophysiques du pollen au moment de l'émission. A partir d'une analyse de données et de modèles de la littérature, nous proposons un modèle simple pour prédire la viabilité du pollen à l'émission à partir de sa teneur en eau. Une estimation de la distribution des vitesses de sédimentation du pollen viable à l'émission est également proposée.

Dans le chapitre IV, nous présentons et validons la solution analytique de la dispersion GDS. Puis nous couplons les trois modèles prédisant (i) les quantités de pollen émises, (ii) le taux de viabilité et la vitesse de sédimentation du pollen viable ainsi que (iii) la dispersion en fonction de la distance à la source. Une application dans le cadre de la production de semences sera également présentée ; elle consiste à prédire les taux de pollen exogène pour différentes configurations d'isolement et scénarios météorologiques.

## References

- Antenne de Formation à Distance (AFD). Maïs (*Zea mays*): la sexualité chez les plantes - Fleur mâle. URL: [www.afd.be/~plant-ch/mais/sexualit/FMSmais.htm](http://www.afd.be/~plant-ch/mais/sexualit/FMSmais.htm).
- Angevin, F., Klein, E.K., Choimet, C., Gauffreteau, A., Lavigne, C., Messean, A., Meynard, J.M., 2008. Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: The MAPOD model. *European Journal of Agronomy*, 28(3): 471-484.
- Arritt, R.W., Clark, C.A., Goggi, A.S., Sanchez, H.L., Westgate, M.E., Riese, J.M., 2007. Lagrangian numerical simulations of canopy air flow effects on maize pollen dispersal. *Field Crops Research*, 102(2): 151-162.
- Astini, J.P., Fonseca, J.P., Clark, C., Lizaso, J., Grass, L., Westgate, M., Arritt, R., 2009. Predicting outcrossing in maize hybrid seed production. *Agronomy Journal*, 101(2): 373-380.
- Aylor, D.E., 2002. Settling speed of corn (*Zea mays*) pollen. *Journal of Aerosol Science*, 33(11): 1601-1607.
- Aylor, D.E., 2003. Rate of dehydration of corn (*Zea mays* L.) pollen in the air. *Journal of Experimental Botany*, 54(391): 2307-2312.
- Aylor, D.E., 2004. Survival of maize (*Zea mays*) pollen exposed in the atmosphere. *Agricultural and Forest Meteorology*, 123(3-4): 125-133.
- Aylor, D.E., 2005. Quantifying maize pollen movement in a maize canopy. *Agricultural and Forest Meteorology*, 131(3-4): 247-256.
- Aylor, D.E., Boehm, M.T. and Shields, E.J., 2006. Quantifying aerial concentrations of maize pollen in the atmospheric surface layer using remote-piloted airplanes and Lagrangian stochastic modeling. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 45(7): 1003-1015.
- Aylor, D.E., Schultes, N.P. and Shields, E.J., 2003. An aerobiological framework for assessing cross-pollination in maize. *Agricultural and Forest Meteorology*, 119(3-4): 111-129.
- Baltazar, B.M., Sanchez-Gonzalez, J.D., de la Cruz-Larios, L. and Schoper, J.B., 2005. Pollination between maize and teosinte: an important determinant of gene flow in Mexico. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(3): 519-526.
- Barnabas, B. and Fridvalszky, L., 1984. Adhesion and Germination of Differently Treated Maize Pollen Grains on the Stigma. *Acta Botanica Hungarica*, 30(3-4): 329-332.
- Bassetti, P. and Westgate, M.E., 1993. Water deficit affects receptivity of maize silks. *Crop Science*, 33(2): 279-282.
- Bassetti, P. and Westgate, M.E., 1994. Floral asynchrony and kernel set in maize Quantified by Image-Analysis. *Agronomy Journal*, 86(4): 699-703.
- Bechoux, N., Bernier, G., Lejeune, P., 2000. Environmental effects on the early stages of tassel morphogenesis in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell and Environment*, 23(1): 91-98.
- Beckie, H.J. and Hall, L.M., 2008. Simple to complex: Modelling crop pollen-mediated gene flow. *Plant Science*, 175(5): 615-628.
- Boehm, M.T., Aylor, D.E., Shields, E.J., 2008. Maize pollen dispersal under convective conditions. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 47(1): 291-307.
- Bolanos, J. and Edmeades, G.O., 1993. 8 Cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize .1. Responses in grain-yield, biomass, and radiation utilization. *Field Crops Research*, 31(3-4): 233-252.
- Bouvet, T. and Wilson, J.D., 2006. An approximate analytical solution for the deposition of heavy particles released from an elevated line source. *Boundary-Layer Meteorology*, 119(1): 1-18.
- Brunet, Y., 2008. Mesoscale Modelling of maize pollen dispersal, 28th Conference on Agricultural and Forest Meteorology.

- Chassaing, 2000. Turbulence en mécanique des fluides : Analyse du phénomène en vue de sa modélisation à l'usage de l'ingénieur
- Craig, I.P., 2004. The GDS model - a rapid computational technique for the calculation of aircraft spray drift buffer distances. *Computers and Electronics in Agriculture*, 43(3): 235-250.
- Delage, S., Brunet, Y., Dupont, S., Tulet, P., Pinty, J.P., Lac, C., Escobar, J., 2007. Atmospheric dispersal of maize pollen over the Aquitaine region. *GMCC07: Third International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based Agricultural Supply Chains*: 302-303.
- Della Porta, G., Ederle, D., Bucchini, L., Prandi, M., Verderio, A., Pozzi, C., 2008. Maize pollen mediated gene flow in the Po valley (Italy): Source-recipient distance and effect of flowering time. *European Journal of Agronomy*, 28(3): 255-265.
- Delmas, R., Mégie, G., Peuch, V.H., 2005. *Physique et chimie de l'atmosphère*.
- Di-Giovanni, F., Kevan, P.G., Nasr, M.E., 1995. The variability in settling velocities of some pollen and spores. *Grana*, 34(1): 39-44.
- Dupont, S., Brunet, Y., Jarosz, N., 2006. Eulerian modelling of pollen dispersal over heterogeneous vegetation canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 141(2/4): 82-104.
- Fonseca, A.E., Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Grass, L. and Dornbos, D.L., 2004. Simulating potential kernel production in maize hybrid seed fields. *Crop Science*, 44(5): 1696-1709.
- Fonseca, A.E. and Westgate, M.E., 2005. Relationship between desiccation and viability of maize pollen. *Field Crops Research*, 94(2-3): 114-125.
- Fonseca, A.E., Westgate, M.E., Grass, L., Dornbos, D.L., 2003. Tassel morphology as an indicator of potential production in maize. Online. *Crop Management* doi:10.1094/CM-2003-0804-01-RS.
- Foudhil, H., 2002. Développement d'un modèle numérique de dispersion atmosphérique de particules à l'échelle d'un paysage hétérogène, Université Bordeaux I.
- Foueillassar, X., 2001. Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur la sexualité du maïs. *AGPM-TECHNIQUE*.
- Freeling and Walbot, 1996. *The Maize Handbook*.
- Galinat, W.C., 1992. Evolution of Corn. *Advances in Agronomy*, 47: 203-231.
- Gate, P., 2007. Dossier changements climatiques - Évolution du climat et production du blé : des contrastes régionaux marqués Perspectives agricoles, 336.
- Gay, J.P., 1980. Les mauvaises fécondations en production de semences de maïs.
- Gay, J.P., 1984. *FABULEUX MAÏS: histoire et avenir d'une plante*. AGPM.
- Girardin, P., 1998. *écophysiologie du maïs*.
- Goggi, A.S., Lopez-Sanchez, H., Caragea, P., Westgate, M., Arritt, R., Craig, A., 2007. Gene flow in maize fields with different local pollen densities. *International Journal of Biometeorology*, 51(6): 493-503.
- Guyot, G., 1997. *Climatologie de l'environnement. De la plante aux écosystèmes*. Masson, 505 pp.
- Hall, A.J., Vilella, F., Trapani, N., Chimenti, C., 1982. The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen-shedding and silking in maize. *Field Crops Research*, 5(4): 349-363.
- Herrero, M.P. and Johnson, R.R., 1981. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop Science*, 21(1): 105-110.
- Ireland, D.S., Wilson, D.O., Westgate, M.E., Burriss, J.S., Lauer, M.J., 2006. Managing reproductive isolation in hybrid seed corn production. *Crop Science*, 46(4): 1445-1455.
- Jarosz, N., 2003. *Etude de la dispersion atmosphérique du pollen de maïs: Contribution à la maîtrise des risques de pollinisation croisée*, Paris, 128 pp.

- Jaros, N., Loubet, B., Durand, B., McCartney, A., Foueillassar, X., Huber, L., 2003. Field measurements of airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Agricultural and Forest Meteorology*, 119(1/2): 37-51.
- Kerhoas, C., Gay, G., Dumas, C., 1987. A Multidisciplinary approach to the study of the plasma-membrane of *Zea mays* pollen during controlled dehydration. *Planta*, 171(1): 1-10.
- Klein, E.K., Lavigne, C., Foueillassar, X., Gouyon, P.H., Laredo, C., 2003. Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecological Monographs*, 73(1): 131-150.
- Klein, E.K., Lavigne, C., Picault, H., Renard, M., Gouyon, P.H., 2006. Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology*, 43(1): 141-151.
- Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Batchelor, W.D., Fonseca, A., 2003. Predicting potential kernel set in maize from simple flowering characteristics. *Crop Science*, 43(3): 892-903.
- Loos, C., Seppelt, R., Meier-Bethke, S., Schiemann, J., Richter, O., 2003. Spatially explicit modelling of transgenic maize pollen dispersal and cross-pollination. *Journal of Theoretical Biology*, 225(2): 241-255.
- Loubet, B., 2000. Modélisation du dépôt sec d'ammoniac atmosphérique à proximité des sources, université Paul Sabatier, Toulouse.
- Loubet, B., Jarosz, N., Saint-Jean, S., Huber, L., 2007. A method for measuring the settling velocity distribution of large biotic particles. *Aerobiologia*, 23(3): 159-169.
- Malardel, S., 2005. Fondamentaux de météorologie: A l'école du temps.
- Mascarenhas, J.P., 1993. Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. *The Plant Cell*, 5:1303-1314.
- Mazet, M., 2008. L'impact du climat sur la viabilité du pollen de maïs à sa libération. Rapport de fin d'étude.
- McCartney, H.A., 1994. Dispersal of spores and pollen from crops. *Grana*, 33(2): 76-80.
- McCartney, H.A. and Aylor, D.E., 1987. Relative contributions of sedimentation and impaction to deposition of particles in a crop canopy. *Agricultural and Forest Meteorology*, 40(4): 343-358.
- Ogden, E.C., Hayes, J.V., Raynor, G.S., 1969. Diurnal patterns of pollen emission in *Ambrosia*, *Phleum*, *Zea*, and *Ricinus*. *American Journal of Botany*, 56: 16-21.
- Paw, K.T. and Braaten, D.A., 1992. Experimental-evidence of the importance of rebound in net deposition of particles. *Aerosol Science and Technology*, 17(4): 278-288.
- Pla, M., La Paz, J.L., Penas, G., Garcia, N., Palauelmas, M., Esteve, T., Messeguer, J., Mele, E., 2006. Assessment of real-time PCR based methods for quantification of pollen-mediated gene flow from GM to conventional maize in a field study. *Transgenic Research*, 15(2): 219-228.
- poehlman, J.M., 1959. *Breeding field crops.*, holt, New York, USA.
- Roeckel-drevet, P., Digonnet, C., Matthysrochon, E., Champiat, D., Dumas, C., 1995. Fertility of *Zea mays* pollen during dehydration - Physiological steps Outlined by Nucleotide Measurements. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33(3): 289-294.
- Skelsey, P., Holtslag, A.A.M., van der Werf, W., 2008. Development and validation of a quasi-Gaussian plume model for the transport of botanical spores. *Agricultural and Forest Meteorology*, 148(8-9): 1383-1394.
- Skibbe, D.S., Wang, X., Borsuk, L.A., Ashlock, D.A., Nettleton, D., Schnable, P., 2008. Floret-specific differences in gene expression and support for the hypothesis that tapetal degeneration of *Zea mays* L. occurs via programmed cell death. *Journal of Genetics and Genomics*, 35(10): 603-616.
- Spijkerboer, H.P., Beniers, J.E., Jaspers, D., Schouten, H.J., Goudriaan, J., Rabbinge, R., van der Werf, W., 2002. Ability of the Gaussian plume model to predict and describe spore dispersal over a potato crop. *Ecological Modelling*, 155(1): 1-18.

- Struik, P.C., Doorgeest, M., Boonman, J.G., 1986. Environmental-effects on flowering characteristics and kernel set of maize (*Zea mays* L). *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 34(4): 469-484.
- Tranel, D., Perdomo, A., Knapp, A., 2008. Tassel development events leading to pollen production: a timeline. *Maydica*, 53(3-4): 207-216.
- Treu, R. and Emberlin, J., 2000. Pollen dispersal in the crops maize (*Zea mays*), oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*), potatoes (*Solanum tuberosum*), sugar beet (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) and wheat (*Triticum aestivum*). In A report for the Soil Association from the National Pollen Research Unit (Worcester, University College Worcester), pp. 54p.
- Tufto, J., Engen, S., Hindar, K., 1997. Stochastic dispersal processes in plant populations. *Theoretical Population Biology*, 52(1): 16-26.
- Uribe-larrea, M., Carcova, J., Otegui, M.E., Westgate, M.E., 2002. Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Science*, 42(6): 1910-1918.
- Urzay, J., Smith, S.G.L., Thompson, E., Glover, B.J., 2009. Wind gusts and plant aeroelasticity effects on the aerodynamics of pollen shedding: A hypothetical turbulence-initiated wind-pollination mechanism. *Journal of Theoretical Biology*, 259(4): 785-792.
- van Hout, R., Chamecki, M., Brush, G., Katz, J., Parlange, M.B., 2008. The influence of local meteorological conditions on the circadian rhythm of corn (*Zea mays* L.) pollen emission. *Agricultural and Forest Meteorology*, 148(6-7): 1078-1092.
- Viaud, V., Monod, H., Lavigne, C., Angevin, F., Adamczyk, K., 2008. Spatial sensitivity of maize gene-flow to landscape pattern: a simulation approach. *Landscape Ecology*, 23(9): 1067-1079.
- Viner, B.J. and Arritt, R., 2007. predicting dispersion and viability of maize pollen using a fluid dynamic model of atmospheric turbulence. *Third International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based Agricultural Supply Chains*.
- Viner, B.J., Westgate, M.E., Arritt, R.W., 2010. A model to predict diurnal pollen shed in maize. *Crop Science*, 50(1): 235-245.
- Vogler, A., Wettstein-Battig, M., Aulinger-Leipner, I., Stamp, P., 2009. The airborne pollen flow of maize (*Zea mays* L.) in a multi-crop designed field plot. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149(10): 1776-1780.
- Westgate, M.E. and Boyer, J.S., 1986. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Science*, 26(5): 951-956.
- Westgate, M.E., Lizaso, J., Batchelor, W., 2003. Quantitative relationships between pollen shed density and grain yield in maize. *Crop Science*, 43(3): 934-942.

# Chapitre II

## Modelling diurnal and seasonal patterns of maize pollen emission in relation to meteorological factors

*(published in Agricultural and Forest Meteorology in 2011)*

MARCEAU Alexis<sup>a, b</sup>, LOUBET Benjamin<sup>a</sup>, ANDRIEU Bruno<sup>a</sup>, DURAND  
Brigitte<sup>a</sup>, FOUEILLASSAR Xavier<sup>b</sup> and HUBER Laurent<sup>a</sup>

<sup>a</sup> INRA UMR 1091 Environnement et Grandes Cultures, 78850 Thiverval-Grignon  
FRANCE

<sup>b</sup> Arvalis - institut du végétal, 21 chemin de Pau, 64121 Montardon FRANCE

## **Abstract**

Modelling the risk of cross-pollination between maize crops can help to define efficient isolation methods to reduce the risk of gene flow between these crops. However, the use of such models over the pollen emission season is limited by poor estimations of pollen emission. In this study, we present a model that predicts hourly pollen emission fluxes over the pollen season and that accounts for effects of both meteorological conditions and crop variety. It consists of two sub-models that predicts: (i) the seasonal pattern on a daily basis and (ii) the normalized diurnal pattern on an hourly basis.

To assess the variability of pollen emission, ten field experiments were carried out in July and August over four years using three crop varieties. The model was built from (i) a parameterisation of the measured diurnal and seasonal patterns of pollen emission followed by (ii) a quantification of the relationships between parameter values and meteorological conditions. Total production of pollen was fairly constant for a given variety over years and sowing dates, while temporal patterns of emission varied with meteorological conditions. The pollen emission season was longer when temperature was low and humidity was high. In most cases, the diurnal pattern was unimodal: the onset and the peak of emission were delayed when relative humidity was high or wind speed was low. In some cases, a second peak of emission occurred during the afternoon. This was observed more frequently when temperatures were high.

## **Research highlights**

- The pollen emission season was longer when temperature was low and humidity was high
- In a day, the emission peak was delayed when high humidity or low wind speed occurred
- A second peak of emission was observed during the afternoon when temperature was high
- Total pollen production was mainly determined by the variety

## **Keywords**

*Zea mays*, pollen emission, anthesis, cross-pollination, tree-based model, development model

## **I.1. Introduction**

When conventional maize crops are grown near either genetically modified crops (GM) or crops dedicated to hybrid seed production, undesired cross-pollination may occur. To reduce this risk, isolation distances (25-800 m in Europe, GMO Safety Website) or different flowering periods are used. To test the efficiency of these methods, models that simulate the risk of cross-pollination as a function of environmental factors are needed.

Two approaches have been mainly used: ecological, based on gene flows (Klein *et al.* 2003) and physical, based on atmospheric dispersal (Aylor *et al.*, 2003; Jarosz *et al.*, 2004; Bouvet and Wilson, 2006; Dupont *et al.*, 2006 and Arritt *et al.*, 2007). The first predicts daily rates of cross-pollination and the second predicts pollen dispersed downwind a crop. However, to be integrated over the pollen season, these models require, as inputs, estimates of daily or hourly pollen emission fluxes over the whole season.

The seasonal pattern of pollen emission fluxes have been approximated by Angevin *et al.* (2008) using a combination of an empirical seasonal pattern per plant and the distribution of dates of emission onset for individual plants. Alternatively, agronomists have successfully used Gaussian functions (Uribelarrea *et al.*, 2002 and Lisazo *et al.*, 2003). In an other study, Westgate *et al.* (2003) predicted seasonal pattern from measurements of tassel development stage over the pollen season and of total pollen production at the end of the pollen season. Pollen emission fluxes on an hourly basis have only been described over a day (i.e., diurnal pattern) rather than over the pollen season. For example, Arritt *et al.* (2007) used an idealized diurnal pattern and Delage *et al.* (2007) used a Gaussian curve with fixed parameters. In the above studies, models of pollen emission fluxes either were not predictive due to measurement requirement or did not account for the variability observed by many authors due to the use of a fixed distribution.

The variability in total pollen production was first observed between varieties. Fonseca *et al.* (2004) measured total pollen production varying from 0.5 to 2 millions grains per tassel for seven inbred lines. For hybrids, total production has been reported to vary between 2.25 and 14 millions grains per tassel (Fonseca *et al.*, 2002 and Jarosz *et al.*, 2003). Uribelarrea *et al.* (2002) reported that older hybrids produced higher quantities of pollen (40-96 millions grains). Fonseca *et al.* (2003) suggested that the variety effect on total production was related to morphological tassel traits, such as the length and diameter of branches and main stem. Uribelarrea *et al.* (2002) also observed that the higher the sowing density, the lower the total pollen production per plant.

The seasonal pattern of pollen emission also varies. Seasonal pattern per unit area has been observed to be between 10 and 14 days (Westgate *et al.*, 2003; Jarosz *et al.*, 2005 and Uribe-larrea *et al.*, 2002) while seasonal pattern per tassel lasts between 5 to 10 days (Westgate *et al.*, 2003; Struik *et al.*, 1986). On the contrary, Westgate *et al.* (2003) observed a steady delay of 2-3 days between the day when the flux of pollen emission was highest and the day when 50 % of plants had begun to release pollen. Finally, variability has been observed in the diurnal pattern of pollen emission. Diurnal patterns measured by Jarosz *et al.* (2003) were characterized by a first peak between 08:00 and 10:00 UT. Vogler *et al.* (2009) reported that the start of emission varied between sunrise and 3 h after sunrise. Sometimes, a second peak has been observed in the afternoon (Flottum *et al.*, 1984 and Jarosz *et al.*, 2003).

Other studies have examined the role of meteorological conditions on pollen emission. Total production has been found to decrease when temperatures are high during growth or when water stress occurs before tasselling (Hall *et al.*, 1982 and Struik *et al.*, 1986). The duration of pollen season has been found to be longer when temperatures decrease or when water stress occurred (Hall *et al.*, 1982 and Struik *et al.*, 1986). Dew may delay the start of pollen emission during the day (Jarosz *et al.*, 2005). Vogler *et al.* (2009) reported that cool and cloudy weather delayed the start by 1-2 h. According to Van Hout *et al.* (2008) the start of pollen release was also delayed when there was no wind. They suggested that the absence of wind prevented tassels from being shaken so that no pollen was released.

Only very recent studies were aimed to quantify and model meteorological effects on pollen emission dynamics (Viner *et al.* 2010). However, no estimates of emission fluxes over the pollen season on an hourly basis have been made. Our study aims to developing a model of hourly pollen emission over the pollen season at the field scale in relation to meteorological factors. It is designed so as to be operational (predicting effective pollen fluxes from accessible meteorological variables); the priority was not to describe biophysical processes involved.

First, we collected a data set of pollen emission over four years to assess the variability of total production as well as the variability of both diurnal and seasonal patterns. Two measurements, aerial concentration and ground deposition, on an hourly basis were recorded to ensure that pollen emission fluxes were well characterized. Second, we developed two sub-models to predict: (i) the seasonal pattern on a daily basis and (ii) the normalized diurnal pattern on an hourly basis. The product of these two sub-models provides an estimation of the emission flux for varying meteorological conditions. Each sub-model was built by adjusting

functions on the observed patterns and then parameter values were related to meteorological conditions using a statistical approach.

## **I.2. Material and methods**

### I.2.1. Experimental data

#### ***a) Experimental design and crop growth conditions***

Meteorological conditions and maize pollen emission were monitored over the pollen season in ten field experiments carried out between 2004 and 2008 at Grignon (France, 48°51'N, 1°55'E, 101 m) and described in Table II-1. Three early-flowering hybrids were used, which are, in a decreasing order of precocity, Meribel, Menuet and DK315. They were sown at different dates varying between 26 April and 9 June. Different combinations of hybrids and sowing dates were used each year, in order to get shifted pollen seasons with potentially contrasting meteorological conditions. Throughout the paper, we name each experiment by the year and the order of sowing; for example, 2004-2 refers to the second field sown in 2004. Plot areas were between 0.2 and 0.5 ha, row spacing was 80 cm and plant density was 9.5 plants per square meter. In each experiment, wind speed and global radiation were recorded at five meters above the canopy while relative humidity, rainfall, water vapour pressure, water vapour pressure deficit, presence of wetness and temperature were recorded at plant height (see Table II-1 for a comprehensive description of meteorological measurements and field conditions). Each meteorological variable was averaged over successive 15 minutes intervals.

#### ***b) Measurements related to pollen emission: fraction of plants emitting pollen, ground deposition and aerial concentration***

In each plot, three variables linked to pollen emission were measured: fraction of plants emitting pollen (i.e., emitting fraction), pollen concentration in the air above the canopy, and pollen deposition on the ground within the crop. The emitting fraction was calculated each day at 09:00 UT as the fraction of plants shedding pollen in a sample of 60 plants. Plants were slightly shaken over a black board to observe pollen emission. The start and the end of emission were defined as the first day when 10% of plants released pollen and the first day when 75% of plants had stopped shedding pollen, respectively. A higher threshold for the emitting fraction was chosen to define the end of the pollen season because the quantities of

Year	Sowing dates	Hybrid name	Degree-days from sowing to pollen emission	Sowing density (plants m <sup>-2</sup> )	Crop size (m <sup>2</sup> )	Total pollen production (million grains m <sup>-2</sup> )	Duration of pollen emission period (days)	Climatic variables over the pollen emission period				
								Cumulated rainfall (mm)	Averaged temperature (°C)	Averaged HR (%)	Averaged VPD (Pa)	Averaged wind speed (m s <sup>-1</sup> )
2004	26 April	Menuet	855-875	9.5	49 × 52	31.9 ± 1.3	10	1.4	20.1	65.5	1172	2.8
2004	18 May	Menuet	855-875	9.5	49 × 52	35.9 ± 0.7	10	1.2	21.6	62	1763	2.2
2004	09 June	Menuet	855-875	9.5	49 × 52	25.8 ± 3.3	9	9.8	20.6	66.4	1229	3.7
2005	01 May	Meribel	830-850	9.5	74 × 52	57.9 ± 0.2	9	0	21.9	63.3	1634	3.2
2005	16 May	DK315	905-930	9.5	74 × 52	37.8 ± 0.2	11	10.2	17.4	67.8	935	2.9
2006	27 April	Meribel	830-850	9.5	30 × 60	50.9 ± 0.2	8	0	23.2	55.3	2482	3.8
2006	12 May	DK315	905-930	9.5	30 × 60	41.3 ± 0.6	9	11.8	24.8	60.4	2531	4.8
2008	25 April	Meribel	830-850	9.5	70 × 62	58.7 ± 0.1	11	7.4	16.8	65.6	1055	4.6
2008	13 May	Meribel	830-850	9.5	70 × 64	56.1 ± 2.9	10	0	19.2	61.8	1452	3.2
2008	05 June	Meribel	830-850	9.5	42 × 120	51.18 ± 3.3	8	3.8	21	64.9	1611	4.1

**Tab. II-1.** Experimental design, pollen measurements and meteorological variables.

pollen released per plant were very low at this stage.

The aerial pollen concentration above the canopy (grains  $\text{m}^{-3}$ ) was estimated using a Burkard trap (Burkard Manufacturing Co., Rickmansworth, UK) set up in the centre of the maize plot so that the inlet was about 40 cm above the tassels. The Burkard trap sampled 10 l of air per minute and caught pollen grains on a sticky band (33.6 cm-length) attached to a slowly rotating drum. This sampler has the advantage that it measures hourly pollen concentrations continuously over 7 days and has a low handling cost. The pollen-collecting strip was changed every 7 days. Although the collection efficiency of Burkard trap for pollen is variable and depending on meteorological conditions, such as wind speed, it has been evaluated as an appropriate sampler to measure the progress of anthesis for anemophilous species (Latorre *et al.* 2008). The number of pollen grains caught was counted under an optical microscope on successive segments of about 0.5 mm wide (i.e., ~15 mn of recording). The pollen concentration was calculated for each band segment from: (i) the number of grains counted, (ii) duration of segment exposition to the air, and (iii) the volume of air taken in per minute. The pollen concentration was characterized by a time series of averaged concentrations over successive 15 minutes intervals, as for the meteorological measurements.

Pollen deposition on the ground (grains  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) was measured using automatic traps placed 50 cm above the ground at the centre of two square-shaped canopy gaps. The automatic traps were placed near the ground to ensure that pollen settling was not modified by atmospheric turbulence. These gaps were about 10 m from the Burkard trap and made by uprooting two 2.4 m-long rows of maize. These canopy gaps avoided pollen retention by plant surfaces. The automatic traps contained seven containers (surface area 21  $\text{cm}^2$ ) filled with Isoton (Coulter Isoton, Beckman, USA) which were consecutively exposed to the air for 2 hours from 06:00 to 18:00 UT for the first six containers and 12 hours from 18:00 until 06:00 UT the next day for the seventh container. The number of pollen grains in each container was estimated using an automatic counting apparatus which measured the concentration of pollen in the collecting fluid (Coulter Multisizer III, Beckman, USA).

### I.1.2. Modelling pollen emission for two time steps

We studied the pollen emission pattern on a daily time step, i.e., seasonal pattern, and the pollen emission pattern on an hourly time step, i.e., diurnal pattern, separately. We made the simplifying assumption that diurnal and seasonal patterns of pollen emission did not depend on variety in contrast to total pollen production. Diurnal and seasonal patterns measured for

the three hybrids were only related to meteorological conditions. The meteorological variables used and the parameters for each model are summarized in Table II-2.

Symbol	Meaning	Units
<b>Model of seasonal pattern of pollen emission</b>		
$a_1, a_2, a_3, b_1, b_2, b_3, c_1$	Parameters of the development model of pollen season	
$D_s$	Duration of the main pollen season	Days
$D(t)$	Daily development rate	dimensionless
$M_s, W_s$	Mean and standard deviation of the Gaussian curve used to approximate seasonal pattern	days
$Q(t,s)$	Daily flux of pollen emission	grains m <sup>-2</sup> day <sup>-1</sup>
$Q_s$	Total pollen production	grains m <sup>-2</sup> season <sup>-1</sup>
S	Index of pollen season	
$S_s$	First day of pollen season	Days
<i>Meteorological variables</i>		
RH	Relative humidity	%
T	Temperature	°C
$T_{base}$	Base temperature	10 °C
VP	Vapour pressure	Pa
VPD	Vapour pressure deficit	Pa
<b>Model of diurnal pattern of pollen emission</b>		
D	Index of the day	
$F_d$	Area under the Lognormal curve	dimensionless
$\mu_{1,d}, \sigma_{1,d}$	Parameters of the Lognormal curve used to approximate pollen emission during the first part of the day	min
$\mu_{2,d}, \sigma_{2,d}$	Parameters of the Gaussian curve used to approximate pollen emission during the second part of the day	min
$R(t,d)$	Rate of pollen emission per minute	min <sup>-1</sup>
<i>Meteorological variables</i>		
Wind	Mean wind speed between 4 and 8h after sunrise	m s <sup>-1</sup>
Hum1	Mean relative humidity between -2 and 5h after sunrise	%
Hum2	Mean relative humidity between 4 and 7h after sunrise	%
Temp	Mean temperature between 3 and 7h after sunrise	°C

**Tab. II-2.** List of notation.

**a) The seasonal pattern of pollen emission**

For a given experiment, the seasonal pattern was obtained by calculating the cumulative ground deposit per square meter for each day. To approximate the seasonal pattern a Gaussian function (Eq. (1)) was used following Lizaso *et al.* (2003). The parameters for Eq. (1) were estimated for each of the ten measured seasonal patterns, using the least squares method:

$$Q(t,s) = \frac{Q_s}{W_s \times \sqrt{2\pi}} \times \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{t - M_s}{W_s}\right)^2\right) \quad (1)$$

where  $Q(t,s)$  is the daily flux of pollen emission ( $\text{grains m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ ),  $t$  is the time (Julian day) and  $s$  the index of seasonal pattern considered.  $Q_s$ ,  $W_s$  and  $M_s$  are optimized parameters representing the total pollen production ( $\text{grains m}^{-2} \text{ season}^{-1}$ ), the standard deviation (days) and the mode (days) of the Gaussian curve. The start and the end of the seasonal patterns ( $S_s$  and  $E_s$ ), were estimated by the day nearest the 5% and 95% quantiles of the Gaussian function. With this definition,  $M_s$  and duration of seasonal pattern ( $D_s$ ) could be express as a function of  $S_s$  and  $W_s$ :

$$M_s = 1.64W_s + S_s \quad (2)$$

$$D_s = 2 \times 1.64W_s + 1 \quad (3)$$

where 1.64 is the value of the 95% quantile of a standard Normal distribution.

The modelling of parameters  $Q_s$  and  $D_s$  was sufficient to provide an estimate of the entire seasonal pattern. Parameter  $Q_s$  was assumed to be only variety dependent while parameter  $D_s$  was expressed as a function of meteorological variables averaged between  $S_s$  and  $E_s$ . Graphical representations of averaged meteorological variables versus  $D_s$  showed the effects of temperature combined with vapour pressure as well as relative humidity and vapour pressure deficit. Parameter  $D_s$  was modelled using the development rate concept (Hadley *et al.*, 1984). The daily development, or daily progression, of the emission process was expressed as a function of daily averaged meteorological variables. Three additive models were proposed based on the relationships that were observed.

$$D(t) = a_1 \max\{T(t) - T_{\text{base}}, 0\} + b_1 \max\{c_1 - \text{VP}(t), 0\} \quad (4)$$

$$D(t) = a_2 + b_2 \text{RH}(t) \quad (5)$$

$$D(t) = a_3 + b_3 \text{VPD}(t) \quad (6)$$

where  $D(t)$  is the daily development rate of the emission process ( $\text{day}^{-1}$ ) and  $t$  is the time (day). Eq. (4) assumes that the development rate is proportional to daily average of both

temperature ( $T(t)$  in °C) and vapour pressure ( $VP(t)$  in Pa). Eqs. (5) and (6) assume that the daily development rate is modified by relative humidity ( $RH(t)$  in %) or vapour pressure deficit ( $VPD(t)$  in Pa). The daily average was calculated using the 96 successive 15 min periods over which meteorological variables were recorded. Parameters were estimated by least squares method.

To predict the seasonal pattern, we first estimated  $D_s$  by calculating the cumulative daily development over time since  $S_s$ . The last day of emission was calculated as the day when cumulative development rate was closest to one. Second, parameters  $W_s$  and  $M_s$  were calculated by Eqs. (2) and (3) using estimated  $D_s$ . Third, the seasonal pattern was calculated by Eq. (1) using average  $Q_s$  of the variety considered as well as previously estimated  $W_s$  and  $M_s$ .

### ***b) The normalized diurnal pattern of pollen emission***

For a given day, the normalized diurnal pattern was obtained by dividing the number of grains caught by the Burkard trap per minute by the daily amount of pollen caught. The normalized diurnal pattern was approximated by a sum of two distributions (Eq. (7)) to account for whether a bimodal or unimodal pattern was observed. Time was expressed in number of minutes after sunrise and a Lognormal distribution was chosen to represent emission during the first part of the day. For the second part of the day, a Normal distribution was chosen because of the parameters needed were easy to interpret. The parameters for Eq. (7) were estimated for each normalized diurnal pattern (68 days) using the least squares method.

$$R(t,d) = \frac{F_d}{\sigma_{1,d} \times \sqrt{2\pi} \times t} \times \exp\left(-\left(\frac{\log(t) - \mu_{1,d}}{2\sigma_{1,d}}\right)^2\right) + \frac{(1 - F_d)}{\sigma_{2,d} \times \sqrt{\pi/2}} \times \exp\left(-2\left(\frac{t - \mu_{2,d}}{\sigma_{2,d}}\right)^2\right) \quad (7)$$

where  $R(t,d)$  is the rate of pollen emission per minute ( $\text{min}^{-1}$ ),  $t$  is the time (minutes after sunrise) and  $d$  the index of the day considered. Parameters  $\mu_{1,d}$  (min),  $\sigma_{1,d}$  (min) characterized the emission pattern during the first part of the day (Lognormal distribution). Parameter  $F_d$  is the fraction of the daily pollen quantity emitted during the first part of the day and  $1-F_d$  the fraction emitted during the second part of the day. Parameters  $\mu_{2,d}$  (min),  $\sigma_{2,d}$  (min) are the time of mode and the duration of emission pattern during the second part of the day (Normal distribution).

To estimate the effects of meteorological conditions on normalized diurnal patterns, we explored relationships between estimated parameters and several meteorological variables

averaged on several periods. We investigated which meteorological variables occurring during which periods had the main effect on normalized diurnal patterns. Nine meteorological variables were taken into account: wind speed, temperature, global radiation, vapour pressure, vapour pressure deficit, relative humidity, rainfall, wetness presence and the hour wetness ended. Variables (except the hour wetness ended) were averaged for 136 periods within the day. These periods corresponds to all periods with duration equal to a multiple of 1 h starting and ending between -2 h and 14 h after sunrise. Thus, 1225 predictors were taken into account.

Relationships between parameters and predictors were studied for three groups of parameters:  $\{\mu_{1,d}$  and  $\sigma_{1,d}\}$ ,  $\{\mu_{2,d}$  and  $\sigma_{2,d}\}$  and  $F_d$ . For each group, a bi or uni-variate regression tree model (Breiman, 2001) against the 1225 predictors was constructed. Regression tree models were built by applying a learning algorithm to the data. It identified clusters of days associated with similar meteorological conditions and similar parameter values. The algorithm starts by creating two clusters of days using a threshold value of a meteorological variable: one cluster of days has higher values and the other lower values. All threshold values of all meteorological variables are used and the threshold value leading to the two most homogenous clusters is kept. Then, the process was reiterated for each cluster. When the maximal number of clusters is reached the process is stopped. The maximal number of clusters is equal to the square of the depth of the tree which is given *a priori*. The depth of the trees, were set to 2, 1 and 1 for the couple  $\{\mu_{1,d}$  and  $\sigma_{1,d}\}$ ,  $\{\mu_{2,d}$  and  $\sigma_{2,d}\}$  and the parameter  $F_d$ , respectively.

For each cluster of days, the parameter values are averaged providing estimator for prediction. This data mining algorithm has the advantage that it can find relationships between parameter values and a large number of correlated predictors without *a priori* hypothesis. For bi-variate regression tree the parameters were normalized to give the same importance to each parameter.

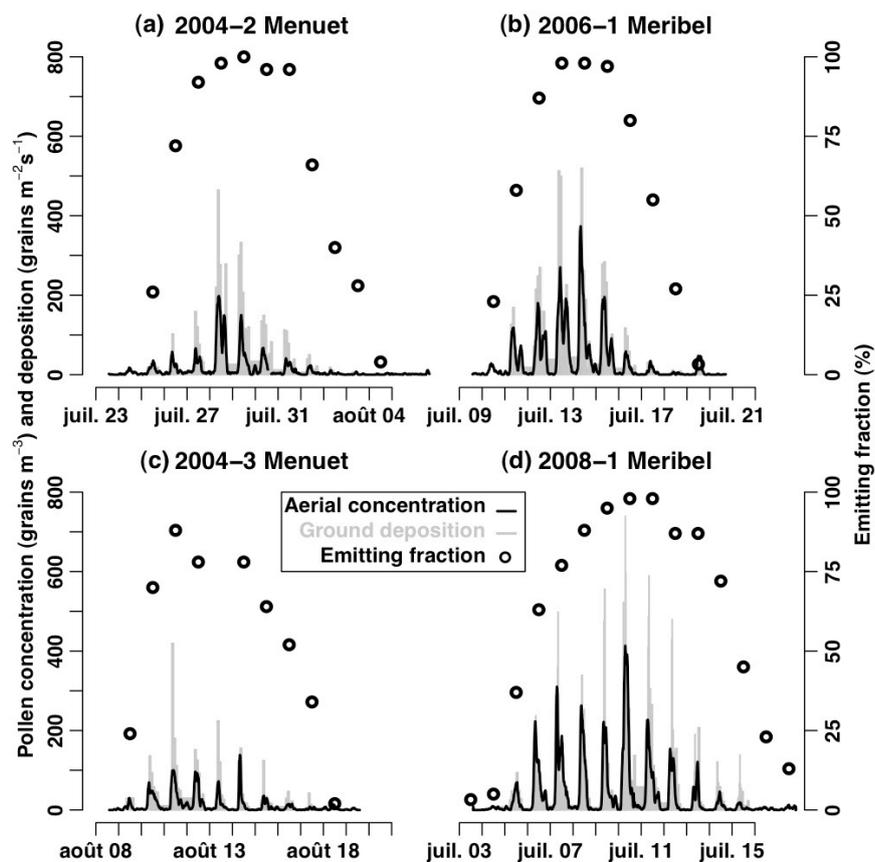
### ***c) Computations using R software***

Minimisation by the least squares method was performed with unconstrained and constrained optimization using PORT routines. Regression trees were built using the Classification And Regression Tree algorithm (CART). Model accuracies were given by the square of correlation between predicted and measured variables. All computations were done with the base packages plus the mvpart package of the R software (R Development Core Team, 2009).

## II.3. Results

### II.3.1. Measured variability and similarity of temporal patterns and total pollen production

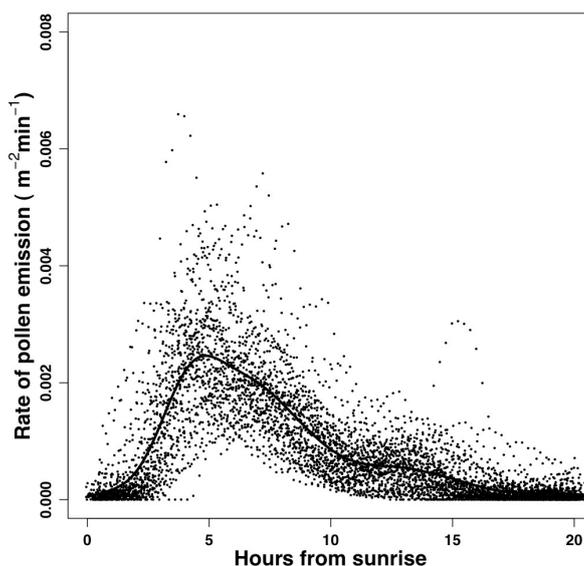
Pollen emission was assessed on an hourly basis over ten periods of pollen emission. Fig. II-1 shows pollen concentration above the canopy, pollen ground deposition and the emitting fraction for experiments 2004-2, 2004-3, 2006-1 and 2008-1. Similarities in pollen emission measurements were observed between the experiments. First, the seasonal pattern, i.e., the emission flux over the pollen season on a daily basis, was “humped”: it increased to a maximum and then decreased, more or less symmetrically around the maximum. Second, the diurnal pattern, i.e, the emission flux within a single day on an hourly basis, had an emission peak in the morning. Sometimes, deposits or airborne concentrations were found during the night. However, such measurements were recorded infrequently (less than ten percent of days) and quantities involved were small (around 10 % of diurnal quantity at maximum).



**Fig. II-1.** Pollen emission for 4 pollen seasons: emitting fraction (black circles), ground deposition (grey rectangles) and aerial concentration above the canopy (black lines). The emitting fraction was the fraction of plants emitting pollen at 09:00 UTC each day. The variety sown were (a and c) Menuet in 2004 and (b and d) Meribel in 2006 and 2008.

Differences in pollen emission measurements were also observed. Total pollen released varied from 25.8 to 58.7 million grains per square meter or 2.7 to 6.2 million grains per plant (Tab. II-1). It varied greatly between cultivated varieties but, for a given variety, the variation between years and sowing dates was smaller. The duration of the pollen season, based on the emitting fraction measurements, ranged between 8 and 11 days (Tab. II-1). Within the day, the start of emission varied between 0.75 h and 4 h (median at 2.5 h) after sunrise and the first peak of emission occurred between 2 and 8 h (median at 4.5 h; Fig. II-2). The delay between the start of emission and the first peak was between 1 h and 5 h (median at 1.75 h). Pollen emission during the afternoon was not always observed; when it was, it either decreased over time or was “humped” with a lower peak than that occurring in the morning. The fraction of pollen release after 8 h after sunrise varied between 2 and 30 % (median at 18 %). One exception was observed for the day 2006-07-26 (2006-2) during which this fraction was equal to 52 % and the second peak was twice higher than the first. That afternoon was characterized by strong winds ( $10 \text{ m s}^{-1}$  maximum). The observation of a second peak did not depend on variety or year (Fig. II-1). Emission stopped between 8 h and 17 h (median at 13 h) after sunrise and the daily duration of pollen emission varied between 5 h and 15 h (median at 10.75 h), depending on the emission pattern observed in the afternoon.

Periods of pollen emissions were characterized by contrasting meteorological conditions (Tab. II-1). The warmest and driest conditions were found during experiments 2006-1 and 2006-2, while the coldest conditions were found during 2008-1 and the wettest during 2005-2 and 2004-3.



**Fig. II-2.** Fifteen-minute average pollen emission rates versus time after sunrise. The pollen emission rates were obtained by dividing the number of grains recorded over successive 15 minutes intervals by the daily amount of pollen recorded. Emission rates measured over 68 days are represented (points). The black line represents the average normalized diurnal pattern of pollen emission.

## II.3.2 Modelling diurnal and seasonal patterns of pollen emission in relation to meteorological factors and variety

*a) The duration of pollen season was determined by temperature and/or humidity whereas total production was determined by variety*

The estimated total production ( $Q_s$ ) varied from 26 to 59 millions grains  $m^{-2}$ . The average  $Q_s$  for each variety was  $56 \pm 2.9$ ,  $37.4 \pm 3.1$  and  $30.7 \pm 1$  millions grains  $m^{-2}$  for Meribel, DK315 and Menuet, respectively.

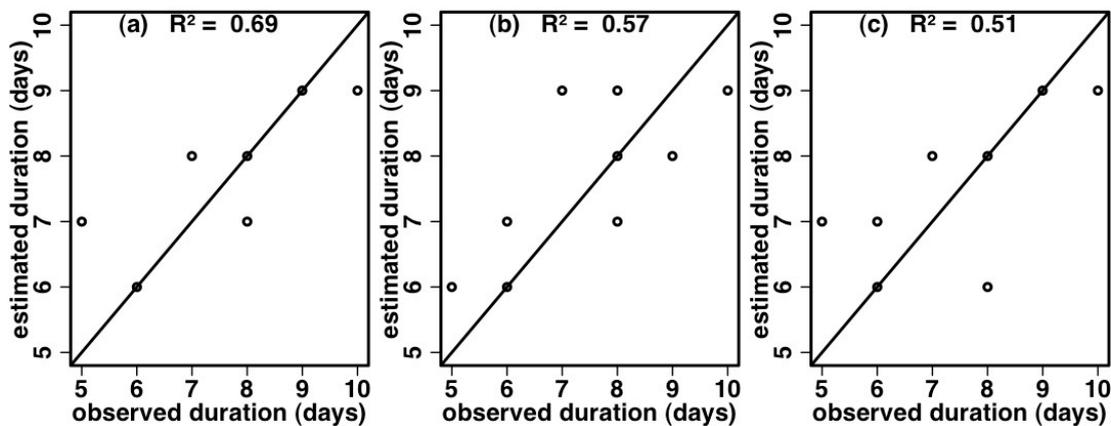
The seasonal patterns were well approximated by Gaussian curves (mean  $R^2$  equal to 0.89). However, the Gaussian curve often underestimated the highest emissions. The estimated mode ( $M_s$ ) varied from Julian day 192 to 224 (July 11<sup>th</sup> to August 12<sup>th</sup>). The estimated duration of the seasonal pattern ( $D_s$ ) varied between 5 and 10 days. Parameter estimation for each of the three alternative models predicting daily development rate of pollen emission process resulted in the following equations:

$$D(t) = 1.166 \times 10^{-2} \times \max\{T(t) - 10, 0\} + 1.939 \times 10^{-4} \times \max\{500 - VP(t), 0\} \quad (4)$$

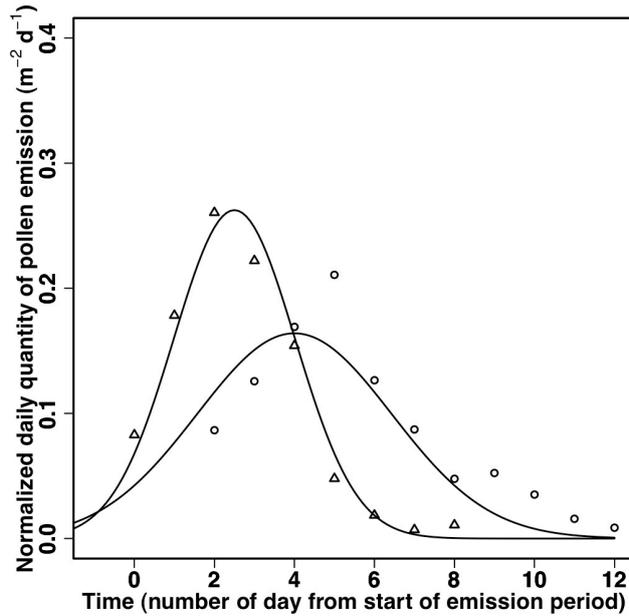
$$D(t) = 0.3783 - 3.531 \times 10^{-3} \times RH(t) \quad (5)$$

$$D(t) = 0.0628 + 8.103 \times 10^{-5} \times VPD(t) \quad (6)$$

Parameter signs showed that the pollen season was shortened when temperature or vapour pressure deficit increased and was lengthened when vapour pressure or relative humidity increased. For the 3 models, measured versus predicted durations are shown in Fig. II-3. The resulting estimations of seasonal patterns for the 10 experiments had  $R^2$  of 0.84, 0.84 and 0.79 for Eqs. (4)-(6), respectively. Using the model defined by Eq. (4), predicted and measured seasonal patterns for two contrasted meteorological conditions are presented in Fig. II-4.



**Fig. II-3.** Predicted versus measured durations of pollen release season using (a) temperatures and vapour pressure, (b) relative humidity and (c) vapour pressure deficit as predictors.



**Fig. II-4.** Predictions (lines) and measurements (circles and triangles) of normalized daily amounts of pollen emitted versus time after start of emission for two contrasted experiments 2004-2 (triangles) and 2004-1 (circles). Daily amounts of pollen were normalized using the total pollen production over the season. Seasonal patterns were predicted from Eq. (4) using temperature and vapour pressure as predictors. 2004-1 was characterized by low humidity while 2004-2 was characterized by high humidity.

**b) The diurnal pattern varied as a function of relative humidity, temperature and wind speed**

Normalized diurnal patterns were well approximated by a sum of Lognormal and Normal distributions (mean  $R^2$  equal to 0.83). Tab. II-3 summarizes the variability of estimated parameters  $\mu_{1,d}$ ,  $\sigma_{1,d}$ ,  $F_d$ ,  $\mu_{2,d}$  and  $\sigma_{2,d}$ . These estimated parameters were related to meteorological variables using regression trees.

Parameter	Minimum value	Maximum value	Average
$\mu_{1,d}$	5.37	6.29	5.87
$\sigma_{1,d}$	0.12	0.79	0.39
$F_d$	0.58	1	0.91
$\mu_{2,d}$	653	953	793.4
$\sigma_{2,d}$	18	107	64.98

**Tab. II-3.** Estimated parameters of the Lognormal ( $\mu_{1,d}$  and  $\sigma_{1,d}$ ) and the Normal distributions ( $\mu_{2,d}$  and  $\sigma_{2,d}$ ) used to predict the diurnal pattern of pollen emission.  $F_d$  is the area under the Lognormal distribution, it represents the fraction of the daily quantity of pollen that was released during the first part of the day.

Fig. II-5 represents the regression tree constructed to predict  $F_d$ . It identifies two cases as a function of temperature: when the mean temperature between 3 and 7 h (Temp) was higher than 21.58 °C the fraction of the daily quantity released during the afternoon was higher ( $1-F_d = 0.207$  average) than during colder days ( $1-F_d = 0.05$  average).

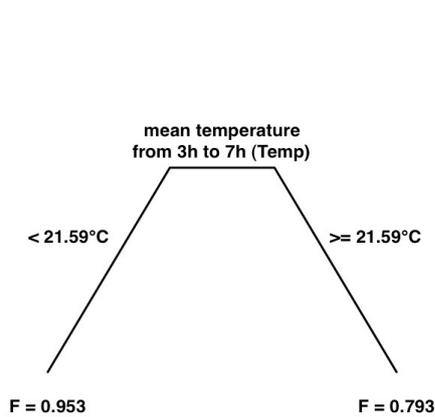
Fig. II-6 represents the regression tree built to predict the couple  $\mu_{1,d}$  and  $\sigma_{1,d}$ . The algorithm found that these parameters were mainly correlated with wind speed and relative humidity. Four combinations of wind and humidity conditions for which emission patterns over the first part of the day were different were identified (Fig. II-7). The four cases and their corresponding estimated hours of start and peak were:

- (i) low wind speed between 4 and 8 h ( $\text{Wind} < 3.5 \text{ m s}^{-1}$ ) and low relative humidity between 4 and 7 h ( $\text{Hum2} < 79.3 \%$ ); estimated start and peak times: 3.4 h and 5.4 h, respectively.
- (ii) low wind speed between 4 and 8 h ( $\text{Wind} < 3.5 \text{ m s}^{-1}$ ) and high relative humidity between 4 and 7 h ( $\text{Hum2} \geq 79.3 \%$ ); estimated start and peak times: 5.2 h and 6.9 h, respectively.
- (iii) high wind speed between 4 and 8 h ( $\text{Wind} \geq 3.5 \text{ m s}^{-1}$ ) and high relative humidity between -2 and 5 h ( $\text{Hum1} \geq 85.3 \%$ ); estimated start and peak times: 3 h and 4.8 h respectively.
- (iv) high wind speed between 4 and 8 h ( $\text{Wind} \geq 3.5 \text{ m s}^{-1}$ ) and low relative humidity between -2 and 5 h ( $\text{Hum1} < 85.3 \%$ ); estimated start and peak times: 2.1 and 3.8 h, respectively.

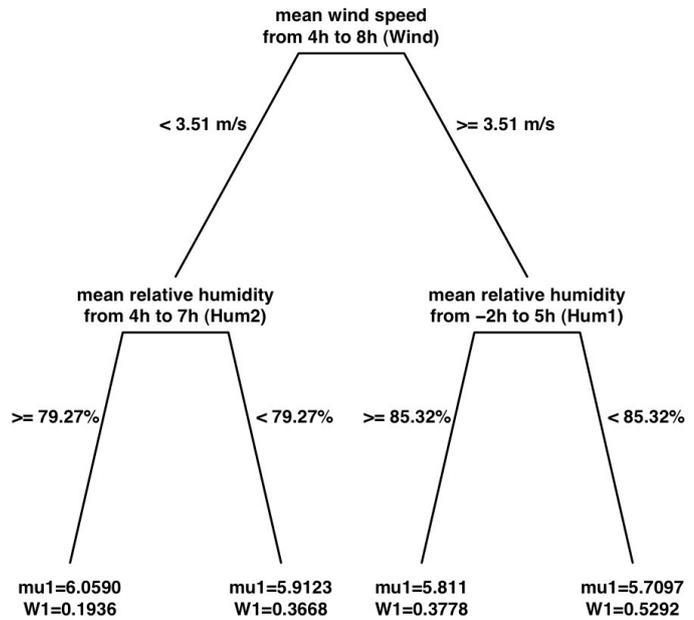
To summarize, when wind speed was high during the morning, the start and the peak occurred early; when relative humidity was high, the start and the peak of emission were delayed. The most delayed emission occurred when wind speed was low and relative humidity high.

The regression tree predicting the parameters  $\mu_{2,d}$  and  $\sigma_{2,d}$  did not increase the accuracy of predicted normalized diurnal patterns and it was decided to use their averaged values equal to 793 min and 65 min, respectively.

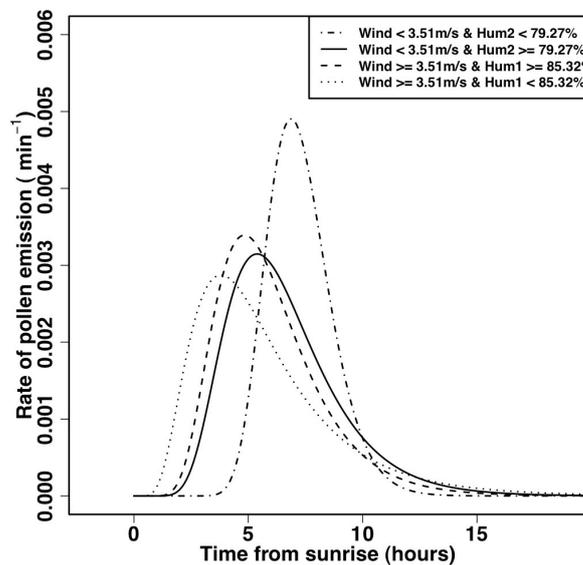
Estimation of  $\mu_{1,d}$ ,  $\sigma_{1,d}$  and  $F_d$  as well as averaged  $\mu_{2,d}$  and  $\sigma_{2,d}$  provided eight possible diurnal patterns resulting from different combinations of wind, relative humidity and temperature. For each case, predicted and observed normalized diurnal patterns are shown in Fig. II-8. Predicted versus observed patterns compared well ( $R^2$  equal to 0.73).



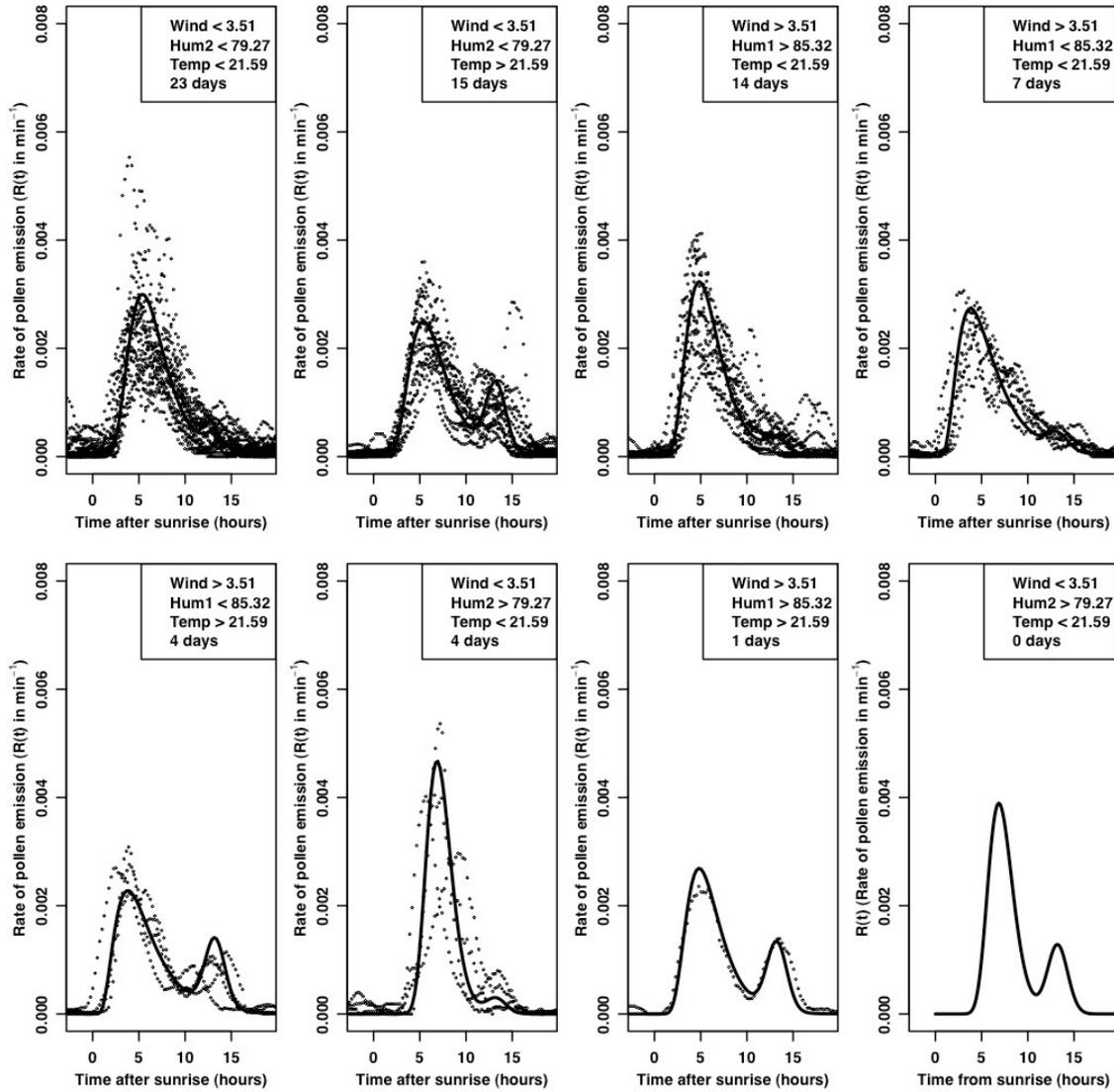
**Fig. II-5.** Regression tree model to predict the parameter  $F_d$  that represents the fraction of daily pollen quantity released during the first part of the day. When  $F_d$  is close to 1 the majority of the daily pollen quantity is released during the first part of the day otherwise a second peak of emission occurred during the afternoon.



**Fig. II-6.** Regression tree model to predict the two parameters of the Lognormal distribution ( $\mu_{1,d}$  and  $\sigma_{1,d}$ ) which represents the pollen emission pattern during the first part of the day.



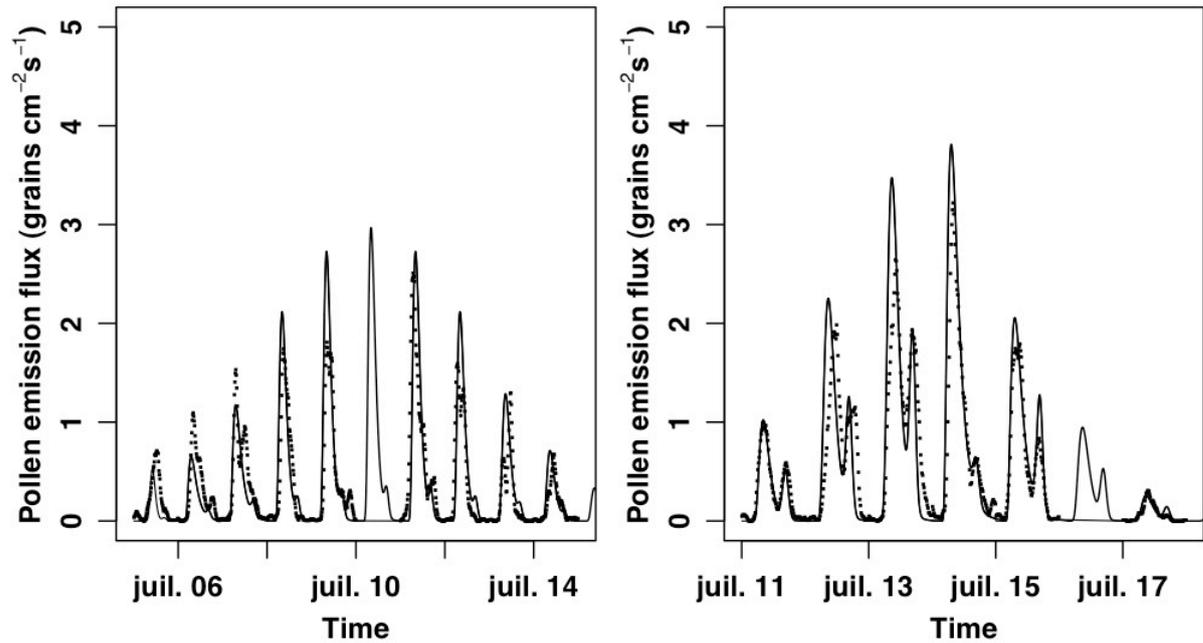
**Fig. II-7.** Estimated rate of hourly pollen emission during the first part of the day versus time after sunrise for four meteorological conditions (detailed in legend). The rate of pollen emission is expressed relative to the daily quantity emitted. In legend, “Wind” corresponds to the mean wind speed between 4 and 8h, “Hum2” corresponds to the mean relative humidity between 4 and 7 h, and “Hum1” to the mean relative humidity between -2 and 5 h.



**Fig. II-8.** Predicted (lines) and measured (points) normalized diurnal patterns versus time after sunrise. Each graph corresponds to specific meteorological conditions given in the graph legend and determined by regression trees (Figs. II-5 and II-6). The day number represents how many times the diurnal pattern was predicted by the meteorological condition considered. “Temp” corresponds to the mean temperature between 3 and 7 h. Meanings of “Wind”, “Hum2”, and “Hum1” are detailed in Tab. II-2.

***c) Hourly emission fluxes were estimated over the pollen season***

Hourly emission flux over each pollen season was estimated by the product of  $Q(t,s)$  and  $R(t,d)$ . Fig. II-9 shows predicted and observed fluxes of pollen emission for two experiments. Predictions of emission fluxes compared relatively well with observations ( $R^2$  equal to 0.7).



**Fig. II-9.** Predicted (lines) and measured (points) pollen emission fluxes through time over two pollen seasons: 2008-1 (a) and 2006-1 (b).

## **II.4. Discussion**

In this work, we explored and quantified the effects of both meteorological variables and variety on maize pollen emission. It was assumed that diurnal and seasonal patterns were only dependent on meteorological conditions and not on variety. The results illustrated the variability of pollen emission dynamics over the day and the season. Data analysis revealed the effects of temperature and humidity on both diurnal and seasonal patterns of emission. The rate of pollen emission was higher when temperatures were high and lower when humidity was high. In addition, within the day, the pollen emission rate was higher when wind speed was high.

The operational model proposed here requires three inputs: first day of pollen season, total pollen production of the variety considered and meteorological variables over the pollen season on an hourly basis. Meteorological variables used were temperature, wind speed and one variable linked to humidity, either relative humidity, vapour pressure or vapour pressure deficit. Indeed, using temperature and one variable linked to humidity, the other variable can be calculated.

#### II.4.1. Measurements accuracy and definition of the main pollen season

We monitored pollen aerial concentrations at 40 cm above the canopy on an hourly basis and used these measurements to estimate diurnal patterns of pollen emission. By doing this we assumed a constant ratio between the emission fluxes and the measured concentrations. However, it is known that this proportion varies with vertical fluctuations of wind speeds or with rainfall (pollen washout). This would explain an observation we made during a thunderstorm on July 26<sup>th</sup> 2006, when pollen concentration during the afternoon was higher than the peak during the morning. Estimates of these variations are difficult to assess and would need to be investigated using physically based models of pollen dispersal. In spite of these potential biases, our measurements of start and peak times within the day as well as bimodal or unimodal daily patterns are consistent with literature (Flottum *et al.*, 1984; Jarosz *et al.*, 2003 and Van Hout *et al.*, 2008).

The duration of the pollen seasons estimated from measurements of the emitting fraction of plants were lower than those reported in the literature. We found duration of 8-11 days while other authors found durations of 10-13 days (Westgate *et al.*, 2003; Jarosz *et al.*, 2005 and Astini *et al.*, 2009). It is likely that our definition of the last day of pollen season (first day when 75% of plants had stopped shedding pollen) may be an explanation. The estimation of the last day of emission is subjected to uncertainty because the end of pollen season is characterized by low quantity of pollen emitted over several days. The arbitrary estimation of the last day of emission by authors results in different estimations of pollen season duration. By estimating the duration of pollen season from Gaussian curve adjustments, lower durations than those estimated from emitting fraction were obtained (5-10 days). Adjustment of Gaussian curve provided an estimation of the pollen season during which around 90% of total pollen production was emitted. This last method is able to unify the definition of the main pollen season (Ribeiro *et al.*, 2007).

#### II.4.2. Modelling the effects of meteorological variables on pollen emission

##### ***a) The rate of pollen emission was higher when temperatures were high***

We estimated the duration of the seasonal pattern as a function of temperature and vapour pressure in Eq. (4) where the duration of the seasonal pattern decreased linearly with temperature. The two other models (Eqs. (5) and (6)) also indirectly took account of the effect of temperature, since the maximal water content of air increases with temperatures. Higher

temperatures cause higher VPD and lower RH, and thus result in a shorter duration of emission as predicted by Eqs. (5) and (6). This is consistent with observations of Struik *et al.* (1986) and Staudt (1999) for maize and grapevines, respectively. More generally, the dependency on temperature expressed in Eq. (4) is fully consistent with the use of thermal time to express the duration of other plant development stages (Warrington and Kanemasu, 1983).

The analysis of diurnal patterns revealed that bimodal patterns occurred more frequently when temperatures were high. Bimodal patterns have been previously reported for maize (van Hout *et al.*, 2008), creeping bent grass (Pfender *et al.*, 2007) and grapevine (Staudt, 1999). In addition, parallel experiments during which we collected pollen by shaking tassels from plants in a field during the day confirmed a second wave of pollen emission after a lull of emission during mid-day. However, to our knowledge, no relationship with temperature has been reported.

We found that the number of days with bimodal patterns of pollen emission was negatively correlated ( $r = -0.7$ ) with the duration of the pollen season: the more frequent the bimodal patterns were, the shortest the pollen season was. This suggests that higher daily quantities were emitted on days with bimodal patterns thus resulting in shorter pollen seasons.

#### ***b) Humidity slowed down pollen emission***

The three models predicting pollen season duration used different variables linked to air humidity as predictor. The models are based on the observation that pollen season was longer when vapour pressure or relative humidity increased (Eqs. (4) and (5)) or when vapour pressure deficit decreased (Eq. (6)).

The modelling of diurnal pattern showed that the times of start and first peak of emission were delayed when relative humidity was high during the morning, in accordance with previous studies (Jarosz *et al.*, 2005). In a recent work, Viner *et al.* (2010) revealed that the higher the vapour pressure deficit and temperatures were, the earlier the start of emission was.

We observed a major effect of moisture in pollen emission process, as well recognized in literature (Jarosz *et al.*, 2005; van Hout *et al.*, 2008 and Vogler *et al.*, 2009). We characterized air humidity by different variables: relative humidity, vapour pressure, and vapour pressure deficit. Correlations between these variables in field conditions make difficult to determine which variable has a role in biophysical mechanisms of pollen emission and thus is the most suitable to describe it. Using experiments in controlled conditions, Viner *et al.* (2010) related the rate of anther recruitment within the day as a function of pressure deficit, temperature and

radiations. We thought that further experimental studies in controlled conditions are required to identify the role of each variable related to air humidity in pollen emission mechanisms.

A doubt exists on the mechanism affected by humidity between anther dehiscence (i.e., apparition of a pore at the anther tips) and anthesis (i.e., opening of the flower). Anther dehiscence has been observed to depend on relative humidity for many species as apricot, peach, almond, castor bean (Bianchini and Pacini 1996 and Gradziel *et al.*, 1999). Moreover, Viner *et al.* (2010) observed that maize anthers were unable to dehisce when atmosphere is saturated of water vapour. Nevertheless, personal observation (Unpublished) suggested that when humidity was high during early morning anthesis was delayed rather than dehiscence.

### ***c) Wind enhanced the extraction of pollen from anthers***

The modelling of diurnal patterns showed that when wind speed during the morning was low, the start and the peak of emission were delayed. This result is consistent with observations of van Hout *et al.* (2008). Aylor and Parlange (1975) suggested that the absence of wind prevented tassels from being shaken and pollen from being extracted from anthers. Indeed, when anthers are open, pollen adhesion to anther wall requires an external force to extract pollen grains. In the absence of pollinator, the wind by shaking tassels provides this force (Urzay *et al.* 2009).

## II.4.3. The main effect of variety on total pollen production

For the three varieties used in our study, the variations of total pollen production between years and between sowing dates for a given variety were low in comparison to differences between varieties. The effect of variety on total pollen production reported here is consistent with the literature (Fonseca *et al.* 2004). For a given variety, the variations over years and sowing dates may be explained by variations in crop management or meteorological conditions during tassel development. Due to lack of measurements of tassel development we are unable to clarify these effects. However, these variations were low ( $\pm 5\%$ ) and for future use of our model of pollen emission, which needs total pollen production as input, these effects could be neglected compared to varietal differences. In our study, we quantified total pollen production for three hybrids; this quantification should be extended to many hybrids and inbreds.

Bechoux *et al.* (2000) found that chilling during tassel initiation reduced tassel size and total pollen production. It is therefore probable that total pollen production could be

exceptionally drastically reduced when meteorological conditions are unfavourable or plant population density is low.

## **II.5. Conclusions**

We present an operational model of pollen emission based on an analysis of a large database of field observations. The model estimates pollen emission fluxes, on an hourly basis, over the pollen season as a function of meteorological conditions. In a recent study, Viner *et al.* (2010) proposed a more flexible model to predict the diurnal pattern of pollen emission than our model due to the use of a classification method. These two studies are complementary. Viner *et al.* (2010) proposed a more mechanistic description of pollen emission within the day while our study provides an operational tool to predict pollen dynamics over the day and the season.

Our model could be used to estimate temporal isolation periods between maize fields in different locations using typical meteorological conditions for each location. Using Eq. (4), the main pollen season duration was 86 and 62 cumulated degree day for humid (1500 Pa) and dry conditions (100 Pa). These thermal times could be used to estimate cumulative degree-days between sowing dates of two adjacent crops needed to prevent cross-pollination. By coupling the present model of pollen emission with pollen dispersal models, the effectiveness of isolation distances between maize crops could be investigated for different meteorological conditions. For example, in warm countries, because high temperatures induce second peak of emission during the afternoon when wind speed is generally the highest, longer isolation distance may be required than for cool countries.

The model estimates total pollen quantities emitted while quantities of viable pollen are more relevant for cross-pollination study. An investigation of relationships between pollen viability at emission and meteorological conditions could improve the estimation of the effect of meteorological factors on the efficiency of isolation methods.

## **Acknowledgments**

This present work was funded by Arvalis - Institut du Végétal. Brigitte Durand provided excellent technical assistance and we are indebted for her personal involvement in this work. We also thank EGC-Readers for reviewing the manuscript especially Jessica Bertheloot, Valérie Pot, Sébastien Saint-Jean and Marie-Odile Bancal. Finally, we thank Alastair McCartney for English editing.

## References

- GMO Safety, 2008 Coexistence in the countries of the EU. URL : <http://www.gmo-safety.eu/en/coexistence/513.docu.html>.
- Angevin, F., Klein, E.K., Choimet, C., Gauffreteau, A., Lavigne, C., Messean, A., Meynard, J.M., 2008. Modelling impacts of cropping systems and climate on maize cross-pollination in agricultural landscapes: the MAPOD model. *European Journal of Agronomy*, 28(3): 471-484.
- Arritt, R.W., Clark, C.A., Goggi, A.S., Sanchez, H.L., Westgate, M.E., Riese, J.M., 2007. Lagrangian numerical simulations of canopy air flow effects on maize pollen dispersal. *Field Crops Research*, 102(2): 151-162.
- Astini, J.P., Fonseca, J.P., Clark, C., Lizaso, J., Grass, L., Westgate, M., Arritt, R., 2009. Predicting outcrossing in maize hybrid seed production. *Agronomy Journal*, 101(2): 373-380.
- Aylor, D.E. and Parlange, J.Y., 1975. Ventilation required to entrain small particles from leaves. *Plant Physiology*, 56(1): 97-99.
- Aylor, D.E., Schultes, N.P. and Shields, E.J., 2003. An aerobiological framework for assessing cross-pollination in maize. *Agricultural and Forest Meteorology*, 119(3-4): 111-129.
- Aylor, D.E. and Sutton, T.B., 1992. Release of *Venturia-Inaequalis* Ascospores During Unsteady Rain - Relationship to Spore Transport and Deposition. *Phytopathology*, 82(5): 532-540.
- Bechoux, N., Bernier, G. and Lejeune, P., 2000. Environmental effects on the early stages of tassel morphogenesis in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell and Environment*, 23(1): 91-98.
- Bianchini, M. and Pacini, E., 1996. Explosive anther dehiscence in *Ricinus communis* L involves cell wall modifications and relative humidity. *International Journal of Plant Sciences*, 157(6): 739-745.
- Bouvet, T. and Wilson, J.D., 2006. An approximate analytical solution for the deposition of heavy particles released from an elevated line source. *Boundary-Layer Meteorology*, 119(1): 1-18.
- Breiman, L., 2001. Statistical modeling: The two cultures. *Statistical Science*, 16(3): 199-215.
- Delage, S., Brunet, Y., Dupont, S., Tulet, P., Pinty, J.P., Lac, C., Escobar, J., 2007. Atmospheric dispersal of maize pollen over the Aquitaine region. GMCC07: Third International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based Agricultural Supply Chains: 302-303.
- Dupont, S., Brunet, Y. and Jarosz, N., 2006. Eulerian modelling of pollen dispersal over heterogeneous vegetation canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 141(2/4): 82-104.
- Eisikowitch, D., 1981. Some aspects of pollination of oil-seed rape (*Brassica-Napus* L). *Journal of Agricultural Science*, 96(APR): 321-326.
- Flottum, P.K., Robacker, D.C. and Erickson, E.H., 1984. A quantitative sampling method for airborne sweet corn pollen under field conditions. *Crop Science*, 24(2): 375-377.
- Fonseca, A.E., Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Grass, L. and Dornbos, D.L., 2004. Simulating potential kernel production in maize hybrid seed fields. *Crop Science*, 44(5): 1696-1709.
- Fonseca, A.E., Westgate, M.E. and Doyle, R.T., 2002. Application of fluorescence microscopy and image analysis for quantifying dynamics of maize pollen shed. *Crop Science*, 42(6): 2201-2206.
- Fonseca, A.E., Westgate, M.E., Grass, L. and Dornbos, D.L., 2003. Tassel morphology as an indicator of potential production in maize. Online. *Crop Management*, doi:10.1094/CM-2003-0804-01-RS.
- Gradziel, T.M. and Weinbaum, S.A., 1999. High relative humidity reduces anther dehiscence in apricot, peach, and almond. *Hortscience*, 34(2): 322-325.

- Hadley, P., Roberts, E.H., Summerfield, R.J., Minchin, F.R., 1984. Effects of temperature and photoperiod on flowering in soya bean [*glycine-max (L) Merrill*] - a quantitative model. *Annals of Botany* 53 (5), 669-681.
- Hall, A.J., Vilella, F., Trapani, N. and Chimenti, C., 1982. The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen-shedding and silking in maize. *Field Crops Research*, 5(4): 349-363.
- Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., Foueillassar, X. and Hubert, L., 2005. Variations in maize pollen emission and deposition in relation to microclimate. *Environmental Science & Technology*, 39(12): 4377-4384.
- Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., McCartney, A., Foueillassar, X., Huber, L., 2003. Field measurements of airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Agricultural and Forest Meteorology*, 119(1/2): 37-51.
- Jarosz, N., Loubet, B. and Huber, L., 2004. Modelling airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Atmospheric Environment*, 38(33): 5555-5566.
- Klein, E.K., Lavigne, C., Foueillassar, X., Gouyon, P.H. and Laredo, C., 2003. Corn pollen dispersal: Quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecological Monographs*, 73(1): 131-150.
- Latorre, F., Romero, E.J. and Mancini, M.V., 2008. Comparative study of different methods for capturing airborne pollen, and effects of vegetation and meteorological variables. *Aerobiologia*, 24(2): 107-120.
- Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Batchelor, W.D. and Fonseca, A., 2003. Predicting potential kernel set in maize from simple flowering characteristics. *Crop Science*, 43(3): 892-903.
- Pfender, W., Graw, K., Bradley, W., Carney, M. and Maxwell, L., 2007. Emission rates, survival, and modeled dispersal of viable pollen of creeping bentgrass. *Crop Science*, 47(6): 2529-2539.
- R Development Core Team, 2009. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, V. Austria, ISBN 3-900051-07-0, URL: <http://www.R-project.org>.
- Ribeiro, H., Cunha, M. and Abreu, I., 2007. Definition of main pollen season using a logistic model. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14(2): 259-264.
- Staudt, G., 1999. Opening of flowers and time of anthesis in grapevines, *Vitis vinifera* L. *Vitis*, 38(1): 15-20.
- Struik, P.C., Doorgeest, M. and Boonman, J.G., 1986. Environmental-effects on flowering characteristics and kernel set of maize (*Zea Mays* L). *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 34(4): 469-484.
- Uribealarea, M., Carcova, J., Otegui, M.E. and Westgate, M.E., 2002. Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Science*, 42(6): 1910-1918.
- Urzay, J., Smith, S.G.L., Thompson, E. and Glover, B.J., 2009. Wind gusts and plant aeroelasticity effects on the aerodynamics of pollen shedding: A hypothetical turbulence-initiated wind-pollination mechanism. *Journal of Theoretical Biology*, 259(4): 785-792.
- van Hout, R., Chamecki, M., Brush, G., Katz, J. and Parlange, M.B., 2008. The influence of local meteorological conditions on the circadian rhythm of corn (*Zea mays* L.) pollen emission. *Agricultural and Forest Meteorology*, 148(6-7): 1078-1092.
- Viner, B.J., Westgate, M.E. and Arritt, R.W., 2010. A Model to predict diurnal pollen shed in maize. *Crop Science*, 50(1): 235-245.
- Vogler, A., Wettstein-Battig, M., Aulinger-Leipner, I. and Stamp, P., 2009. The airborne pollen flow of maize (*Zea mays* L.) in a multi-crop designed field plot. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149(10): 1776-1780.
- Warrington, I.J. and Kanemasu, E.T., 1983. Corn growth-response to temperature and photoperiod .1. Seedling emergence, tassel initiation, and anthesis. *Agronomy Journal*, 75(5): 749-754.

Westgate, M.E., Lizaso, J. and Batchelor, W., 2003. Quantitative relationships between pollen shed density and grain yield in maize. *Crop Science*, 43(3): 934-942.

# Chapitre III

## Biophysical characteristics of maize pollen: variability during emission and consequences on cross-pollination risks

*(submitted to Field Crops Research)*

MARCEAU Alexis<sup>1,2</sup>, SAINT-JEAN Sébastien<sup>1</sup>, LOUBET Benjamin<sup>1</sup>,  
FOUEILLASSAR Xavier<sup>2</sup> and HUBER Laurent<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA - AgroParisTech UMR 1091 Environnement et Grandes Cultures, France

<sup>2</sup> Arvalis - institut du végétal, France

## Summary

Modelling of cross-pollination risks using physical-based model of pollen dispersal requires estimations of pollen viability rate as well as settling velocity distribution of viable pollen grains at emission. These two biophysical characteristics are mainly determined by pollen water content. Two years of experiments were carried out to measure biophysical characteristics of pollen at different times of emission within the day. In a first part, we proposed a simple model to predict pollen water content at emission as a function of air vapour pressure deficit. We found that by setting a constant duration of pollen dehydration in the anthers the model predicts accurately pollen water content variations at emission. In a second part, we related pollen water content and settling velocity distribution of viable and non-viable pollen grains. We used with success settling velocity distribution as a proxy to estimate fraction of spheroid pollen, water content distribution of spheroid pollen and pollen viability rate. In a third part, based on above models, we estimated the effects of air humidity on cross-pollination risks.

## Research highlights

- Pollen water content at emission decreases over a day due to increasing air humidity
- Pollen dehydration induces a decrease of viability rate and settling velocity
- Bimodal distribution of settling velocity results from spherical or prismatic shapes
- Settling velocity threshold of  $23.54 \text{ cm s}^{-1}$  segregates viable and non-viable pollen
- Settling velocity could be used as a proxy to estimate viability rate

## Keyword

*Zea mays*, pollen, emission, settling velocity, viability, water content, diameter, dehydration

### **III.1. Introduction**

Reducing both cross-pollination in hybrid seed production and out-crossing from genetically modified fields is an economic concern as well as a regulatory matter of how to ensure coexistence. For maize, physical processes of aerial pollen dispersal have been modelled (Aylor *et al.*, 2003; Jarosz *et al.*, 2005; Dupont *et al.*, 2006; Arritt *et al.*, 2007). Models could be used to predict quantities of maize pollen dispersed in a neighbouring maize field downwind from an emitting field to evaluate the potential for cross-pollination (Beckie *et al.*, 2009). For inputs, these models require the quantity of pollen emitted, at a given time, as well as its settling velocity distribution. In order to quantify potential cross-pollination over the pollen emission period, current models need their inputs to be estimated over this same time period. To this end, models of total pollen quantities released over the emission period, on an hourly basis, have been recently proposed by Marceau *et al.* (2011) and Viner *et al.* (2010). Total quantity implies both dead and viable pollen, the latter being the fraction of pollen able to develop a tube dedicated to ovule fecundation. In the case of cross-pollination studies, the quantity of viable pollen alone would be a more relevant input than total quantity; however, to date, models do not account for the fraction of viable pollen. Moreover, no one has attempted to model settling velocity distribution of viable pollen at the emission time over the emission period

Pollen water content determines many of the biophysical characteristics of pollen such as viability rate and settling velocity. From a morphological point of view, fully hydrated pollen is prolate spheroid whereas fully dehydrated pollen is prismatic (Luna *et al.*, 2001). For eleven maize varieties, Fonseca and Westgate (2005) observed that the percentage of viable pollen decreases linearly with pollen water content and that the linear relationships were fairly similar between varieties. On average, a maximum percentage of 79% of viable pollen was measured, corresponding to water content of 60%. Null viability was reached when water content dropped to around 30%. On the contrary, for a given hybrid, Aylor (2003) found that the percentage of viable pollen does not decrease linearly with pollen water content. The percentage of viable pollen was maximal (65%) for water content higher than 30% and null for water content below 5%. Mean settling velocity was found to vary from 17 to 32 cm s<sup>-1</sup> for totally dehydrated and fully hydrated pollen, respectively (Aylor, 2002; Loubet *et al.*, 2007).

For several samples of pollen collected in the field, Loubet *et al.* (2007) found a bimodal distribution of pollen suggesting a mixture of pollen with two different aerodynamic

properties most likely representative of high or low water content. Indeed, pollen water content affects pollen mass, diameter, and density. These properties in turn determine pollen settling velocity as formulated by Di-Giovanni *et al.* (1995). Pollen mass was found to range from 0.2 to 0.7  $\mu\text{g}$  per grain whose diameter was found to range from 76-80  $\mu\text{m}$  to 103-106  $\mu\text{m}$  for fully dehydrated and fully hydrated pollen grains, respectively (Aylor, 2002; Jarosz, 2003). Pollen density therefore ranged from 1.45 to 1.25  $\text{g cm}^3$  for dry and hydrated grains, respectively (Aylor, 2002). However, van Hout *et al.* (2004) measured lower density values of 1.14 and 1.11  $\text{g cm}^3$  for dry and hydrated pollen grains respectively. They explained this discrepancy by the pycnometer measurements used by Aylor (2002) which measure the density of the solid portion of pollen without its gas pockets. They estimated that air represents about 24% of the dry volume.

Variability of pollen water content as a function of emission time was studied by Fonseca and Westgate (2005) who reported that pollen water content at emission was fairly stationary, around 57%, during the initial hours of pollen emission within the day. Westgate and Boyer (1986) reported that the water potential of pollen at emission decreased depending on the time of emission during the day: the decrease was small for an emission between 0800 to 1500 UTC and stronger for an emission between 1500 to 1800 UTC. They suggested that there is a time gap between anther dehiscence (air entrance into the anther) and pollen release but did not quantify it. This could explain pollen grain dehydration throughout the day by the increase in vapour pressure deficit that also occurs throughout the day. Dehydration in the anther is possible: Keijzer *et al.* (1996) have observed that the helix layout of pollen in anthers leaving an empty space over the central axis allowing water exchange between air and all pollen grains after anther dehiscence.

Pollen dehydration has been well studied during pollen travel in the atmosphere after emission (Aylor *et al.*, 2004; Shivanna and Heslop-Harrison, 1980). Exposed to air, pollen grains constantly dehydrate until total dehydration or landing on a stigma where they rehydrate (Nepi *et al.*, 2001). Aylor *et al.* (2003) revealed that pollen grains were generally totally dehydrated in 1-4 hours after their release depending on climatic conditions. In cool and moist environments, such as at elevated altitudes, pollen was seen to be preserved much longer from dehydration (Viner and Arritt, 2007). A model describing the relationship between pollen dehydration and vapour pressure deficit has been proposed by Fonseca and Westgate (2005). Through an exponential decay, it empirically relates pollen water content and cumulated vapour pressure deficit per minute from the beginning of dehydration. This equation has proved to be valid for several inbred lines and hybrids.

In this paper, we investigate and model pollen water content at emission time and consequences on settling velocity and viability rate of pollen. Our hypothesis is that vapour pressure deficit of the air not only governs the dehydration of pollen while travelling in the air but also when it is in the anther, from the time of anther dehiscence until the pollen is emitted. This dehydration is supposed to decrease settling velocity and viability rate of pollen.

To this end, field measurements provided, for a single maize hybrid over four emission periods, the hourly time courses of some pollen characteristics, i.e., mean water content, the distributions of settling velocity, diameter, and shape of pollen grains. Viability rate was calculated using relationships with water content found in the literature. In a first part, a model is proposed to predict the mean water content of pollen at emission time. Pollen dehydration rate is modelled using a relationship from the literature between vapour pressure deficit of the air and pollen water content. Our work was dedicated to estimate duration of dehydration in the anther using inverse modelling estimations. In a second part, we estimate empirical relationships between mean water content and settling velocity distribution. Then, we relate bimodal distributions of settling velocity to a set of pollen with different water content, shape, and viability rate. In a third part, we study the effects of vapour pressure deficit conditions on cross-pollination risks, simulations were run using a physically-based model of pollen dispersal. Finally, we discuss the role of vapour pressure deficit on pollen water content at emission and the consequences on settling velocity and shape distribution, viability rate as well as cross-pollination risks.

## **III.2. Material and Methods**

### III.2.1. Experimental data

#### *a) Experimental design*

Climatic data and biophysical pollen characteristics were recorded over four pollen emission periods in maize fields grown in Thiverval-Grignon (France, 48°51'N, 1°55'E, 101 m) in 2008 and 2009. Each year, the hybrid variety Meribel was sown in two plots at dates spaced three weeks apart (25 April and 13 May in 2008 and 24 April and 19 May in 2009). This ensured lagged flowering periods under different climatic conditions. The area of the plots was around 0.5 ha. Rows were spaced 80 cm apart. The density was 95,000 plants per hectare. Plots were located near the laboratory to reduce the delay between pollen collection and pollen measurements.

For each pollen emission period the following meteorological data were measured: relative humidity, rainfall, water vapour pressure, surface wetness index, wind speed and direction, temperature, and global radiation. These measurements were taken every 5 s and averaged over successive 15 min intervals.

***b) Measurements of pollen characteristics at different times of emission during the day: settling velocity, diameter, shape, and water content***

For each emission period, pollen characteristics were measured when the quantities of pollen emitted were maximal. Measurements began when more than 50% of the plants were emitting pollen and were taken for the following 5 to 6 days. Every two hours between 08:00 and 16:00 UTC a sample of pollen was collected by gently shaking 10-20 tassels located in a given row. Different rows were randomly chosen at each collection. These pollen grains were emitted from opened anthers and were supposed to be representative of pollen emitted at this time at the field scale. Pollen was placed on a sheet of aluminium foil and then enclosed in a plastic container to prevent dehydration.

Within the 10 minutes following collection, four biophysical characteristics of each sample were assessed using a distribution or a mean value: settling velocity (distribution), shape and diameter (distribution), and water content (mean). In a few cases, the quantity of pollen was not sufficient to measure all characteristics (often at 12:00 and 14:00 UTC) for which only diameter and shape distributions were measured.

In addition to these pollen samples collected at emission, to assess the four biophysical characteristics for highly dehydrated pollen, an extra sample of pollen was naturally dried in the laboratory for a day. This sample is referred throughout the paper as the pollen sample dried in the laboratory.

The distribution of settling velocity was assessed using a “settling tower” developed by Loubet *et al.* (2007). Briefly, at the top of a 1 m high tube, pollen grains were released continuously for at least one minute, falling down through still air due to gravity. At about 20 cm from the bottom of the tube, falling pollen was photographed with a digital camera (15 pictures per second). Then, to estimate individual settling velocities, individual pollen grains were tracked by image analysis along the sequence of pictures, providing time and distance travelled. The number of pollen grains tracked ranged from one hundred to six thousand. Measurements with a number of pollen lower than two hundred pollen grains were not taken into account.

The distributions of shape and diameter were estimated from microscopic pictures and image analysis. A microscope slide was powdered with pollen and placed under an optical microscope. Pollen was illuminated (with a fixed luminosity) and ten pictures were taken from the left to the right side (resolution of 1.25  $\mu\text{m}$  per pixel). This represents a total number of  $200 \pm 60$  pollen grains. For each individual pollen grain on each picture, the projected area and perimeter were estimated by image analysis, with ImageJ software (Saint-Jean *et al.*, 2005). The analysis entails splitting the red channel of the picture (where pollens grains contrasted the most with background) into pollen and background using IsoData algorithm (Rasband, 1997-2009). This algorithm automatically estimated a threshold of grey intensity around which pixels are attributed to pollen or background. Then, individual pollen grains were located and their projected areas were estimated. Based on these estimations, equivalent circular diameters ( $D_p$ ) were calculated as the diameters of the circles that have areas equivalent to individual pollen grains (Eq. (1)).

$$D_p = 2 \times \sqrt{\frac{\text{area}_p}{\pi}} \quad (1)$$

We also calculated the kurtosis of grey intensity distribution within individual pollen,  $K_p$ , which has been observed to effectively discriminate spheroid and prismatic pollen. Spheroid pollen has a homogenous colour contrasting with background. On the contrary, prismatic pollen is bicoloured: one colour corresponds to the pollen and the other to the background. Indeed, prismatic pollen has depressions on its surface through which the background is visible by transparency. Thus, the grey intensity distribution is flat for prismatic pollen while it is more peaked for spheroid pollen.

Relative water content was expressed as the percentage of water mass relative to fresh pollen mass (*i.e.*, water mass plus dry mass). Masses were obtained using a micro balance (Sartorius AG, Göttingen, Germany, resolution  $10^{-6}$  g). Total pollen mass was measured from a pollen sample of around 10-50 mg. Dry mass was obtained by drying the pollen sample in a drying oven set at 80°C for 15 minutes. Water mass was assumed to be the difference between total and dry mass. For each pollen collection, three repetitions were used and the mean value was calculated.

In addition to these measurements, the mean dry mass of individual pollen grain ( $m_{\text{dry}}$ ) was estimated for the five samples of pollen collected over the day (2009-07-29). First, pollen samples were dried and the total dry mass was measured. Second, the number of pollen grains

in each sample was estimated using an automatic counter apparatus based on volumetric detection (Coulter Multisizer III, Beckman, USA).

### III.2.2. Modelling of pollen water content at emission time

We assume that pollen grains dehydrate in the anther on contact with air from the time of anther dehiscence, *i.e.*, when air enters the anther, until the time of actual pollen emission. This time interval is referred throughout the paper as the duration of dehydration. It is well established that pollen dehydration rate is a function of vapour pressure deficit of the air (Aylor, 2003; Fonseca and Westgate, 2005). Knowing the vapour pressure deficit in the anther and the duration of dehydration, pollen water content at emission ( $W_p$  in %) could be calculated using the simple model of Fonseca and Westgate (2005):

$$W_p(\tau) = 63.2 \exp(-0.0012 \sum_{t=1}^{\tau} VPD_t) \quad (2)$$

where  $VPD_t$  is the vapour pressure deficit in the anther (mmHg) at the time  $t$  since the beginning of dehydration (min),  $\tau$ , the duration of dehydration (min) and  $W_p$  the pollen water content at emission (%). In this equation, the initial pollen water content (at the beginning of dehydrating period, *i.e.*, the anther dehiscence) was 63.2 %.

To use this model, the variable  $\tau$  remains to investigate as well as the  $VPD$  in the anther. First, we assumed the same conditions of  $VPD$  in the anther as in the air at the tassel height. Second, for each pollen collection, we estimated the duration of dehydration  $\tau$ , leading to the measured mean water content by using the inverse function of Eq. (2) and the measured air vapour pressure deficit. For each measurement of mean water content, inverse function of Eq. (2) provided the corresponding cumulated vapour pressure per minute required. By cumulating the vapour pressure deficit measured before the pollen collection we estimated the duration of dehydration associated to the measured mean water content. Then, we explored relationships between  $\tau$  and mean climatic conditions over  $\tau$ .

### III.2.3. Pollen dehydration consequences on settling velocity distribution and viability rate

#### *a) Relationship between water content and settling velocity distribution*

Pollen water content determines its diameter, mass and shape and in turn its settling velocity. Using experimental data, empirical relationships between mean water content and settling velocity distribution were estimated. To ensure that measured settling velocity distributions corresponded to a sufficient pollen sample size we defined classes of water content and pooled together the measured settling velocities corresponding to the same class. Sixty classes of water content were defined between 0% and 60% by step of 1%. For each class of water content, associated settling velocity distribution,  $f_{v_s}(v_s)$ , was approximated by a sum of two Gaussian distributions (Loubet *et al.*, 2007).

$$f_{v_s}(v_s) = \frac{(1 - A_2)}{\sqrt{2\pi}\sigma_1} \exp\left(-\frac{(v_s - \mu_1)^2}{2\sigma_1^2}\right) + \frac{A_2}{\sqrt{2\pi}\sigma_2} \exp\left(-\frac{(v_s - \mu_2)^2}{2\sigma_2^2}\right) \quad (3)$$

where  $v_s$  is the settling velocity ( $\text{m s}^{-1}$ ) and  $\mu_1$ ,  $\mu_2$  and  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  are the mean and standard deviations ( $\text{m s}^{-1}$ ) of the two Gaussian distributions.  $A_2$  is the area under the second Gaussian distribution curve assuming a total area equal to 1. Parameters were estimated by minimizing errors with the empirical density using the least square method. Then, empirical relationships between the five parameters and mean water content were estimated using weighted least square methods. A linear relationship was chosen for  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  and  $A_1$  while a sigmoid function was chosen for  $\mu_1$ ,  $\mu_2$ . Weights were equal to the pollen sample size associated to each distribution of settling velocity. From the estimated bi-Gaussian distribution, we calculated the threshold of settling velocity around which the two Gaussian distributions are split. It was calculated as the average between 95 % quantile of the Gaussian associated to the highest settling velocity and 5 % quantile of Gaussian associated to the lowest settling velocity.

To understand if the bimodal settling velocity distribution resulted from a mixture of either contrasted diameters or spheroid and prismatic shapes, we explored the corresponding distributions of diameter and kurtosis of grey intensity,  $K_p$ . First we plotted diameter and  $K_p$  distributions as a function of water content and observed if they have a bimodal distribution. For  $K_p$ , we estimated a threshold value around which pollen grains could be considered as spheroid or prismatic. Two series of pictures were chosen with only spheroid pollen or only prismatic pollen. Then, a  $K_p$  threshold around which pollen is prismatic or spheroid was deduced. Using this threshold proportion of spheroid and prismatic pollen was estimated and compared to proportion of each Gaussian distribution of settling velocity.

For a spherical particle falling in still air, the settling velocity ( $v_s$ ) is given by (Aylor *et al.*, 2002):

$$v_s^2 = \frac{4g}{3\rho_a} \times \frac{\rho_p D_p}{c_d(v_s, D_p)} \quad (3)$$

where the constants are the gravity ( $g = 981 \text{ cm s}^{-2}$ ) and the air density ( $\rho_a = 0.00127 \text{ g cm}^{-3}$ ). The variables are the pollen density ( $\rho_p$  in  $\text{g cm}^{-3}$ ), the pollen diameter ( $D_p$  in  $\text{cm}$ ) and the drag coefficient ( $c_d$ ) depending on  $v_s$  ( $\text{cm s}^{-1}$ ).

We estimated an empirical density, i.e., mass divided by volume, using the measurements of diameter and of water content. Pollen volumes ( $V_p$ ) were calculated from diameter assuming a spherical shape of pollen. Mass of pollen grains ( $m_p$  in  $\text{g}$ ) was estimated from measured water content as:

$$m_p = \frac{m_{\text{dry}}}{\left(1 - \frac{W_p}{100}\right)} \quad (4)$$

where  $m_{\text{dry}}$  is the dry mass of pollen ( $\text{g}$ ), supposed to be constant and measured during the experiments and  $W_p$  the pollen water content (%).

To express settling velocity as a function of either (i) water content or (ii) diameter, we replaced variables in the Eq. (3). First, theoretical relationship between settling velocity and water content was formulated by expressing density and diameter as functions of water content. We proposed a theoretical density using pollen mass estimated by Eq. (4) and using pollen volume estimated by Eq. (5). Pollen volume was calculated relatively to standard turgescent pollen with a reference diameter ( $D_{\text{ref}}$ ) and a reference water content ( $W_{\text{ref}}$ ). It was calculated as reference volume calculated using  $D_{\text{ref}}$  and assuming spherical shape (first term of Eq. (5)) minus the volume of water evaporated (second term of Eq. (5)). The volume of water evaporated was calculated as the difference between reference mass and actual pollen mass calculated using Eq. (4).

$$V_p = \frac{\pi D_{\text{ref}}^3}{6} - \frac{m_{\text{dry}}}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}} \times \left( \frac{1}{1 - W_{\text{ref}}/100} - \frac{1}{1 - W_p/100} \right) \quad (5)$$

where  $D_{\text{ref}}$  and  $W_{\text{ref}}$  are the reference diameter ( $\text{cm}$ ) and reference water content (%) of standard turgescent pollen.  $D_{\text{ref}}$  and  $W_{\text{ref}}$  were provided by experimental measurements.  $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$  is the water density ( $1 \text{ g cm}^{-3}$ ) and  $m_{\text{dry}}$  the pollen dry mass ( $\text{g}$ ). This expression provided

volume used for density calculation and also for diameter calculation. Diameter was calculated as an equivalent diameter of a spherical particle with a volume  $V_p$ .

Second, theoretical relationship between settling velocity and diameter was given Aylor (2002) by using the following theoretical density in Eq. (3):

$$\rho_p = \rho_{H_2O} \left[ 1 - (D_{dry}/D_p)^3 \right] + \rho_{dry} (D_{dry}/D_p)^3 \quad (6)$$

where  $D_{dry}$  and  $\rho_{dry}$  are the diameter (given by measurements) and density of a fully dehydrated pollen grain. Two values of  $\rho_{dry}$  founded in the literature, 1.14 g cm<sup>3</sup> (Van Hout *et al.*, 2004) and 1.45 (Aylor, 2002), were tested against empirical density.

The settling velocities were calculated by numerically solving the equation of motion with Runge-Kutta fourth order technique (Saint-Jean *et al.*, 2004).

#### ***b) Settling velocity distribution of viable and non-viable pollen***

Because water content determines both viability and settling velocity, settling velocity of viable pollen and non-viable pollen are different. We relate corresponding fraction of viable and non-viable pollen to two settling velocity distributions. To this end, we assumed that a given water content correspond to a given settling velocity and a given viability rate without taken into account other variability. Thus, the bimodal settling velocity distribution was supposed to be the result of water content variability. Water content variability was assessed by developing a theoretical relationship between settling velocity and water content for spheroid pollen. This was based on the well know formulation of settling velocity for spherical particle falling in still air (Aylor *et al.* 2002):

$$v_s^2 = \frac{4g}{3\rho_a} \times \frac{\rho_p D_p}{c_d(v_s, D_p)} \quad (4)$$

where the constants are the gravity ( $g = 981 \text{ cm s}^{-2}$ ) and the air density ( $\rho_a = 0.00127 \text{ g cm}^{-3}$ ). The variables are the pollen density ( $\rho_p$  in  $\text{g cm}^{-3}$ ), the pollen diameter ( $D_p$  in cm) and the drag coefficient ( $c_d$ ) depending on  $v_s$  ( $\text{cm s}^{-1}$ ).

To express settling velocity as a function of water content we expressed density and diameter as functions of water content in the Eq. (4). We proposed a theoretical density using pollen mass estimated by Eq. (5) and using pollen volume estimated by Eq. (6). Mass of pollen grains ( $m_p$  in g) was estimated from measured water content as:

$$m_p = \frac{m_{\text{dry}}}{(1 - W_p/100)} \quad (5)$$

where  $m_{\text{dry}}$  is the dry mass of pollen (g), supposed to be constant and measured during the experiments and  $W_p$  the pollen water content (%).

Pollen volume ( $V_p$  in  $\text{cm}^3$ ) was calculated by defining a standard turgescent pollen characterized by a reference diameter ( $D_{\text{ref}}$ ) and a reference water content ( $W_{\text{ref}}$ , Eq. (6)) which could be estimated from measurements.  $V_p$  is calculated as the volume of standard turgescent pollen, calculated using  $D_{\text{ref}}$  and assuming spherical shape (first term of Eq. (6)), minus the volume of water evaporated (second term of Eq. (6)). The volume of water evaporated was calculated using its mass given by the difference between reference mass and actual pollen mass calculated using Eq. (5).

$$V_p = \frac{\pi D_{\text{ref}}^3}{6} - \frac{m_{\text{dry}}}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}} \times \left( \frac{1}{1 - W_{\text{ref}}/100} - \frac{1}{1 - W_p/100} \right) \quad (6)$$

where  $D_{\text{ref}}$  and  $W_{\text{ref}}$  are the reference diameter (cm) and reference water content (%) of standard turgescent pollen.  $D_{\text{ref}}$  and  $W_{\text{ref}}$  were provided by experimental measurements.  $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$  is the water density ( $1 \text{ g cm}^{-3}$ ). This expression provided volume used for density calculation and also for diameter calculation. Diameter was calculated as an equivalent diameter of a spherical particle with a volume  $V_p$ .

The settling velocities were calculated by numerically solving the equation of motion with Runge-Kutta fourth order technique (Saint-Jean *et al.* 2004).

To validate the theoretical relationship, we compared it with experimental data and previously published theoretical relationship. Aylor (2002) proposed a theoretical relationship between settling velocity and diameter by expressing pollen density in Eq. (4) by:

$$\rho_p = \rho_{\text{H}_2\text{O}} \left[ 1 - (D_{\text{dry}}/D_p)^3 \right] + \rho_{\text{dry}} (D_{\text{dry}}/D_p)^3 \quad (7)$$

where  $D_{\text{dry}}$  and  $\rho_{\text{dry}}$  are the diameter (given by measurements) and density of a fully dehydrated pollen grain. Two values of  $\rho_{\text{dry}}$  founded in the literature,  $1.14 \text{ g cm}^{-3}$  (van Hout *et al.* 2004) and  $1.45$  (Aylor 2002), were tested against empirical density. Empirical density was estimated by dividing mass by volume calculated using the measurements of diameter and of

water content. Pollen volumes ( $V_p$ ) were calculated from diameter assuming a spherical shape of pollen.

To estimate the distribution of settling velocity of viable and non-viable pollen, we calculated the water content distribution of spheroid pollen grains,  $f_{W_p}(W_p)$ , from their settling velocity distribution,  $f_{v_s}(v_s)$ , by a change of variable using Eq. (8).

$$f_{W_p}(W_p) = \left| \frac{1}{I'(I^{-1}(W_p))} \right| f_{v_s}(I^{-1}(W_p)) \quad (8)$$

where  $I(v_s)$  and  $I^{-1}(W_p)$  represent the inverse relationship and the relationship between settling velocity and water content, respectively.  $I'(v_s)$  is the derived function of  $I(v_s)$ .  $I(v_s)$  was estimated by adjusting an empirical function between water content and estimated theoretical settling velocity from Eq. (4), (5) and (6). An empirical function was used rather than the theoretical relationship to obtain analytic solutions of  $I^{-1}(W_p)$  and  $I'(v_s)$ .

Assuming that pollen is irreversibly unable to germinate when its water content decreases below a threshold,  $W_{dead}$ , distributions of settling velocity of viable and non-viable pollen were estimated by the settling velocity distributions around the settling velocity value corresponding to  $W_{dead}$ .

$W_{dead}$  was calculated using Eq. (9) previously obtained from the measurements made by Fonseca and Westgate (2005) with a good accuracy ( $R^2=0.86$ ).

$$R_p = -78 + 2.6W_p \quad (9)$$

where  $R_p$  is the viability rate (%) and  $W_p$  the mean water content (%).

We also calculated the mean water content associated to the mean threshold of settling velocity between the two Gaussian distributions.

When the settling velocity value corresponding to  $W_{dead}$  was know, the viability rate could be calculated by multiplying (i) the fraction of spheroid pollen, (ii) the fraction of potentially viable spheroid pollen, calculated as the fraction of pollen associated with water content higher than  $W_{dead}$  and (iii) initial fraction of defective pollen. Initial fraction of defective pollen was calculated using Eq. (9) for  $W_p$  for which only spheroid pollen grains were observed.

### III.2.4. Air humidity effects on cross-pollination risks

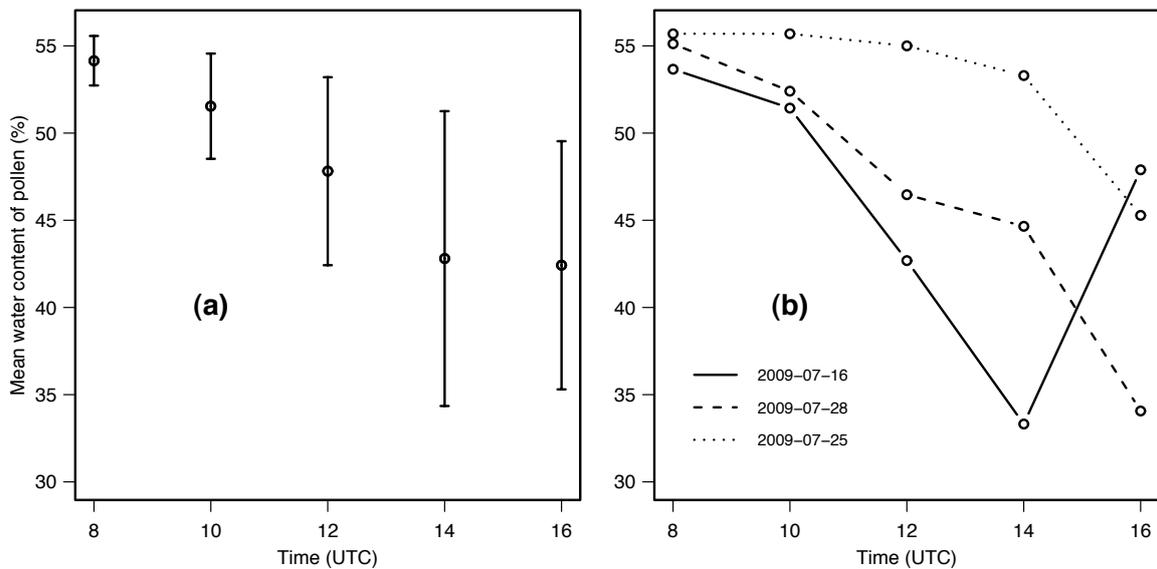
To better understand the effects of  $VPD$  on cross-pollination risks, we estimated mean settling velocity of viable pollen and viability rate for various  $VPD$ . They were calculated using model predicting pollen water content and empirical relationships between water content and bi-Gaussian parameters of settling velocity. We also validated predictions of settling velocity distribution of viable pollen by comparing it with measurements. At each time of pollen collection, we compared measured and predicted mean settling velocity of viable pollen, *i.e.*, mean settling velocity for settling velocity of pollen associated with water content higher than  $W_{dead}$ .

To estimate the effect of variation of water content at emission on cross-pollination risks, we simulated viable and non-viable pollen dispersal downwind from a 100 m-long emitting field using a physical-based lagrangian model (Jarosz *et al.*, 2004). Three conditions of vapour pressure, 1100, 2200 and 3300 Pa, and two conditions of wind speed, 1 and 5 m s<sup>-1</sup>, were studied. We predicted mean water content at emission using Eq. (2) for the three conditions of vapour pressure deficit. Then, using the predicted mean water content, we calculated the settling velocity distribution of viable and non-viable pollen from the empirical relationships estimated previously. Dispersal simulations were run for providing the fraction of viable pollen at various distances downwind from the field.

## **III.3. Results**

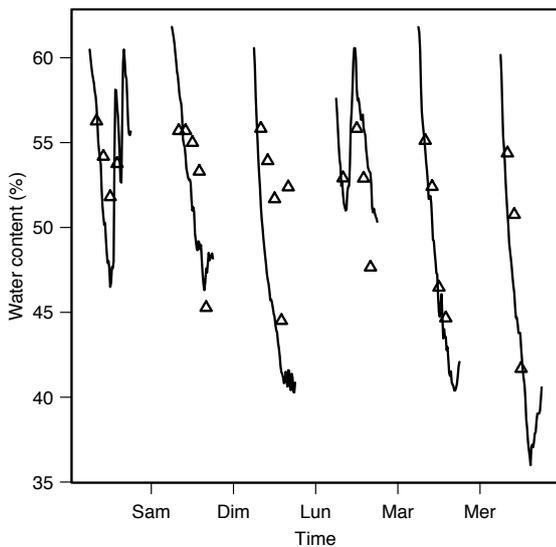
### III.3.1. Modelling of pollen water content at emission time

The water content at the time of emission ranged from 26.5 to 56.2 %. Fig. III-1 represents the mean water content as a function of time of emission over the day. Over the 21 days of experimentations we observed that the latest the emission occurred after sunrise the lowest the mean of pollen water content was (Fig. III-1 (a)). At 08:00 UTC, the measured mean water contents were the highest and were fairly constant, around 54.1 %. On the contrary, at 14:00 and 16:00 UTC, measured mean water contents were the lowest and the most variable between days. This variability between days was illustrated, for three days, in Fig. III-1 (b). The pollen dehydration over the time of emission within the day was more or less important. Sometimes, water content increased after 14:00 UTC. This variation over the day suggested that pollen dehydrates in the anther before being released.



**Fig. III-1.** Measured mean pollen water content at emission versus time within the day. The figure (a) represents the hourly means and standard deviations over the whole data set (for 21 days) and the figure (b) represents three contrasted days.

Assuming that pollen dehydration in the anther is the result of its exposition to the air when anther opens, we estimated duration of dehydration,  $\tau$ , for each water content measurement using the inverse function of Eq. (2) and assuming that  $VPD_t$  in the anther was equal to  $VPD_t$  measured at the top of the canopy. The estimated durations of dehydration were fairly stationary over the day although a high variability was observed. The median and standard deviation were  $20 \pm 9$  min. No relationship between  $\tau$  and mean climatic conditions was observed. We assumed that  $\tau$  did not depend on climate or time of emission and fixed it at 20 min.



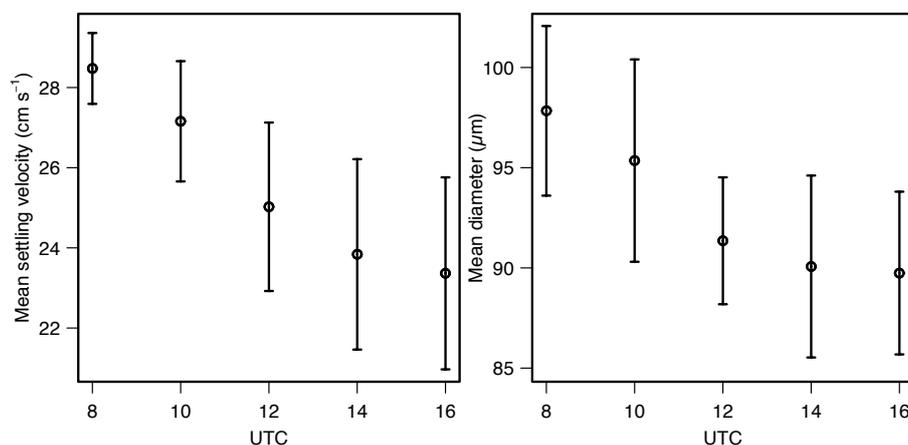
**Fig. III-2.** Measured (triangle) and predicted (line) pollen water content as a function of time of pollen emission over a pollen emission period in 2009. Hourly variations of water content results from vapour pressure deficit variations.

By setting  $\tau = 20$  min in Eq. (2) we predicted the mean water content at emission. Fig. III-2 shows the estimated mean water content as a function of emission time over six days of a single pollen emission period in 2009. The pollen water content followed the variation of vapour pressure deficit: the highest the increase of vapour pressure deficit over the day was, the highest the decrease of water content over the day was. Over the whole dataset, the estimations of pollen water content varied between 36 and 60 % and the mean absolute error was 4%.

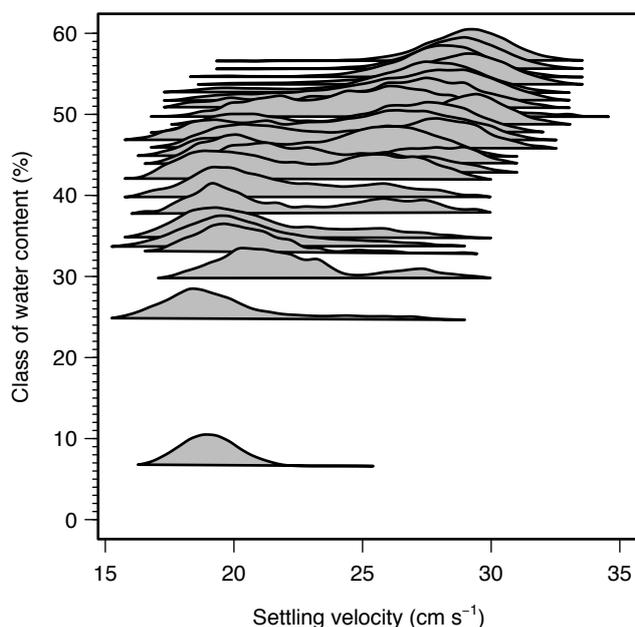
### III.3.2. Pollen dehydration consequences on settling velocity distribution and viability rate

#### *a) Relationships between water content and settling velocity distribution*

In consequences to pollen dehydration over the day, we observed a decrease of pollen diameter and settling velocity over the day (Fig. III-3). The effects of pollen dehydration on settling velocity distribution are clearly shown on Fig. III-4. Its shows the measured settling velocity distributions for several classes of water content. The settling velocity distribution associated with the lowest class of water content corresponds to the pollen sample dried in the laboratory. For this sample, the mean settling velocity, mean water content and mean diameter were  $19.2 \text{ cm s}^{-1}$ ,  $87 \mu\text{m}$  and  $6\%$ .

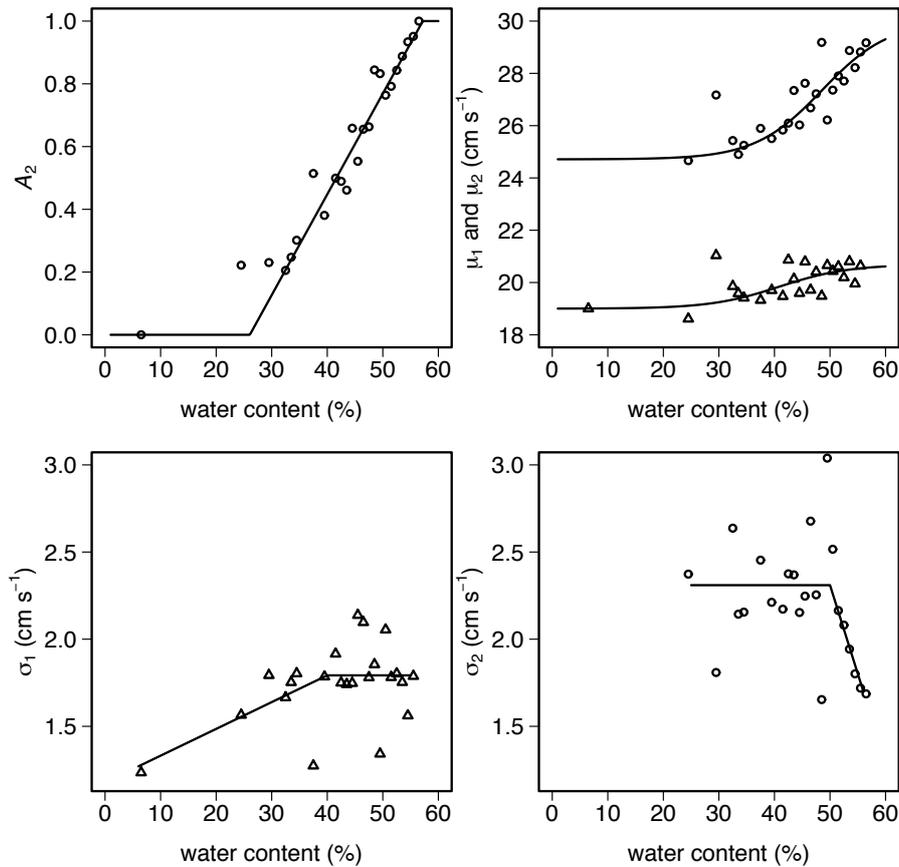


**Fig. III-3.** Measured mean pollen diameter (a) and mean settling velocity (b) versus time within the day (for 23 days). Points and bars represent hourly means and standard deviations.



**Fig. III-4.** Empirical settling velocity distributions versus classes of water content of pollen grains. Settling velocity distributions are normalized by their maximal value to ensure that all distributions are visible, thus areas under the distributions are not comparable.

Unimodal distributions were observed for water content higher than 54 % or lower than 24 %. In other cases, bimodal distributions were observed. For each class of water content, the associated distribution of settling velocity was adjusted by a sum of two Gaussian distributions (Eq. (3); mean  $R^2 = 0.99$ ). Over all these adjusted distributions, the minimal 5 % quantile was  $16 \text{ cm s}^{-1}$  and the maximal 95 % quantile was  $32 \text{ cm s}^{-1}$ . For bimodal distribution, the mean threshold of settling velocity around which the two Gaussian distributions are split was  $23 \text{ cm s}^{-1}$ . The Gaussian distribution with a lower mean than  $23 \text{ cm s}^{-1}$  was referred as G1 and the other as G2. Estimated parameters of each Gaussian distribution are represented in Fig. III-5.



**Fig. III-5:** Estimated parameters of the pollen settling velocity distributions versus classes of pollen water content. The distribution is a mixture of two Normal distributions. Parameters  $\mu_1$  and  $\sigma_1$  are the parameters of the first Normal distribution with a mean lower than  $23 \text{ cm s}^{-1}$  (triangle) while  $\mu_2$  and  $\sigma_2$  are the parameters of the second Normal distribution with a mean higher than  $23 \text{ cm s}^{-1}$  (circle). Parameter  $A_2$  is the area under the second Normal distribution and  $1-A_2$  the area under the first Normal distribution.

The proportion of G2 ( $A_2$ ) decreased linearly with mean water content ( $W_p$  in %) (Eq. (10); RMSE = 0.04). It was equal to 1, 0.5 and 0 for water content of 57.2, 41.6 and 26.1 %, respectively (Fig. III-5 (a)).

$$A_2 = 0.0321W_p - 0.837 \quad (10)$$

Fig. III-5 (b) shows that the mode of G2 ( $\mu_2$  in  $\text{cm s}^{-1}$ ) decreased with water content (Eq. (11); RMSE =  $0.5 \text{ cm s}^{-1}$ ) while the mode of G1 ( $\mu_1$  in  $\text{cm s}^{-1}$ ) was more constant (Eq. (12); RMSE =  $0.4 \text{ cm s}^{-1}$ ). Fig. III-5 (c) shows the regressions between water content and standard deviations of G1 and G2 ( $\sigma_1$  and  $\sigma_2$  in  $\text{cm s}^{-1}$ ) given by Eq. (13) and (14).

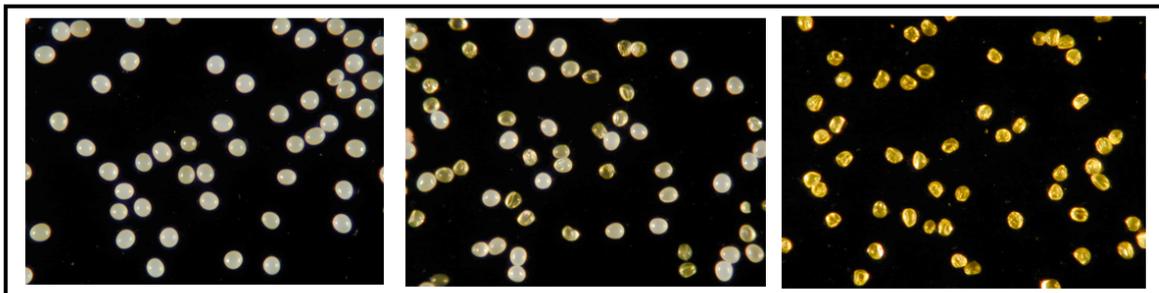
$$\mu_1 = 19 + \frac{20.7 - 19}{1 + \exp(-0.161(W_p - 40.93))} \quad (11)$$

$$\mu_2 = 24.7 + \frac{30 - 24.7}{1 + \exp(-0.165(W_p - 48.57))} \quad (12)$$

$$\sigma_1 = \min(1.178 + 0.015W_p, 1.79) \quad (13)$$

$$\sigma_2 = \min(7.39 - 0.102W_p, 2.31) \quad (14)$$

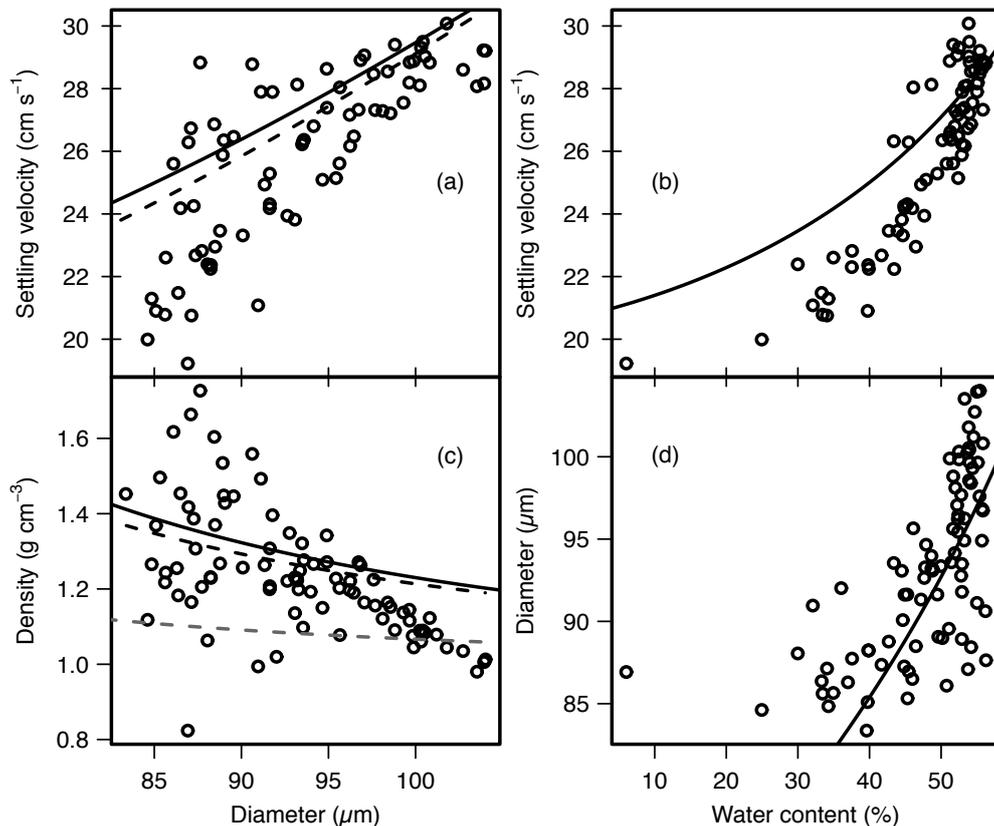
To understand bimodal distributions of settling velocity, we investigated distributions of pollen diameter and shape. Pictures of pollen with different diameter and shape associated to contrasted water content are shown in Fig. III-6. Highly hydrated pollen grains were large and spheroid (Fig. III-6 (a)) while highly dehydrated pollen grains were small and prismatic (Fig. III-6 (c)). For intermediate water content (Fig. III-6 (b)), pollen sample was composed of spheroid and prismatic. Nevertheless, we did not observed bimodal distribution of diameter which could explain alone bimodal distribution of settling velocity. On the contrary, distributions of kurtosis of grey intensity of individual pollen,  $K_p$ , were bimodal. Threshold of  $K_p$  around which pollen were either spheroid or prismatic was fixed at 0.75. The proportion of pollen with  $K_p$  higher than the threshold was highly correlated with the proportion of G2 ( $r = 0.8$ ) suggesting that G2 was the settling velocity of spheroid pollen while G1 was the distribution associated to prismatic pollen. Therefore, bimodal distribution might be mainly explained with a change of shape (which also modify aerodynamics properties of the pollen) rather than a change of diameter.



**Fig. III-6.** Microscope photography of pollen with different shapes and mean water contents. From left to right, mean water content are equal to 55, 43 and 30 %. Pollen grains on the left photography are spheroid while pollen grains on the right photography are prismatic. On the central photography (intermediate water content) pollen grains are either spheroid or prismatic.

**b) Relationships between water content and settling velocity distribution**

To relate settling velocity and viability by the use of water content, we proposed a theoretical relationship between settling velocity and water content for spheroid pollen grains. In Fig. III-7 are represented the relationship between the mean value of settling velocity, density diameter, water content measured at each pollen collection as well as three theoretical relationships between these variables. Theoretical settling velocity proposed here (Eq. (4), (5) and (6)) was calculated by setting  $D_{\text{ref}} = 97.3 \mu\text{m}$  and  $W_{\text{ref}} = 55.6 \%$ . These parameters were calculated as the mean values of pollen samples supposed to be spheroid defined by mean water content higher than 55%. In addition, the mean dry mass,  $m_{\text{dry}}$ , estimated from the pollen sample dried in the laboratory was  $0.266 \pm 0.008 \mu\text{g}$ . Theoretical densities proposed by Aylor (Eq. (4) and (7)) was calculated using two parameter settings:  $D_{\text{dry}} = 78 \mu\text{m}$  and  $\rho_{\text{dry}} = 1.14$  or  $1.45 \text{ g cm}^{-3}$ .



**Fig. III-7.** Relationships between settling velocity, diameter, density and water content of pollen grains. Points represent measured mean values from pollen samples collected in the field. Empirical density was calculated from measured mean diameter and mean water content (Eq. (5)). Two parameter setting of theoretical settling velocity proposed by Aylor (2002, Eq. (4) and (7)) are shown:  $D_{\text{dry}} = 78 \mu\text{m}$  and  $\rho_{\text{dry}} = 1.14$  (grey dotted line) or  $\rho_{\text{dry}} = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$  (black dotted line). Black line represents the theoretical relationship that we proposed (Eq. (4), (5) and (6)); parameters  $m_{\text{dry}}$ ,  $D_{\text{ref}}$  and  $W_{\text{ref}}$  were set at  $0.266 \mu\text{g}$ ,  $97 \mu\text{m}$  and  $55 \%$ .

In Fig. III-7 (a) and (c) are shown settling velocity and pollen density as a function of diameter. When diameter increases, settling velocity decreases and density increases. The theoretical density proposed by Aylor (2002) with  $\rho_{\text{dry}} = 1.45 \text{ g cm}^{-3}$  and the theoretical density proposed here were similar and were the more consistent with empirical density than theoretical density proposed by Aylor with  $\rho_{\text{dry}} = 1.14 \text{ g cm}^{-3}$ . The similarity between these two theoretical relationships is also observed between settling velocities and diameter. Theoretical settling velocity was consistent with measurements for higher diameter than 95  $\mu\text{m}$  while, for lower diameter, they overestimated measurements.

The relationship between mean diameter and mean water content is shown in Fig. III-7 (d). Theoretical diameters proposed here (Eq. (6)) were consistent with measurements for water content higher than 40 %. All diameters higher than 95 and 100  $\mu\text{m}$  were associated with water content higher than 51 and 53 %, respectively. For lower diameter, water content become highly variable between 6 and 55 %. Relationships between diameter and the three others variables are highly variable for diameter lower than 95  $\mu\text{m}$ . Probably, the increasing fraction of prismatic pollen when pollen dehydrates makes the projected diameter unrelated to these variables.

Theoretical settling velocity as a function of water content proposed here (Fig. III-7 (b)) was consistent with measurements for maximal water content but overestimated measurements in most cases. However, the non-linear relationship between settling velocity and water content leads to a different relationship between the mean values of dependent distributions. In addition, the theoretical settling velocity is defined for spheroid pollen while pollen become more and more prismatic when it dehydrates.

To estimate settling velocity distributions of viable and non-viable pollen, we calculated water content distribution associated to settling velocity distribution of spheroid pollen. First, from theoretical settling velocity calculated from water content (Eq. (4), (5) and (6)), we approximated the inverse relationship between settling velocity and water content by Eq. (15) ( $R^2 = 0.99$ ).

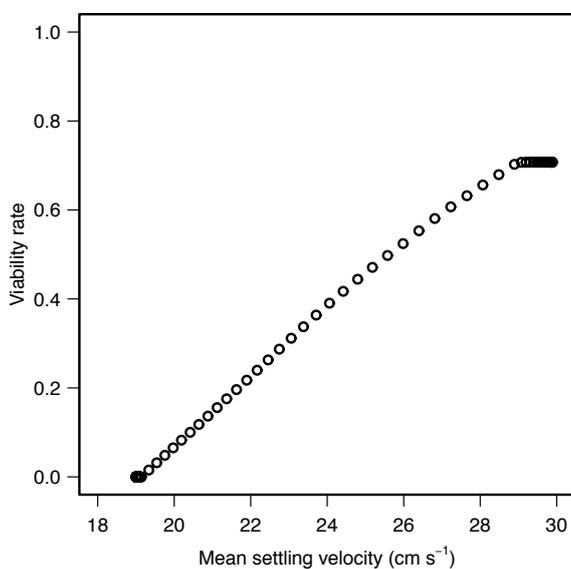
$$W_p = I(v_s) = 88.52 - \frac{977300}{v_s^{3.078}} \quad (15)$$

Second, assuming that G2 was the settling velocity distribution of spheroid pollen, we calculated water content distribution of spheroid pollen from settling velocity distribution G2 by a change of variable as formulated in Eq. (8). The water content distributions of spheroid

pollen were skewed on the left. The mean varied between 35.3 and 56.7 % and the quantiles 5 and 95 % varied between 5–46 % and 56–65 %. The critical pollen water content that marks the change from spheroid to prismatic pollen shape was 25.6 %. It was calculated from Eq. (15) and the settling velocity threshold between G1 and G2 equal to  $23 \text{ cm s}^{-1}$ . According to Eq. (9), the water content threshold under which pollen are dead one,  $W_{\text{dead}}$ , was 30 %, suggesting that prismatic pollen are non-viable. According to Eq. (15),  $W_{\text{dead}}$  corresponded to a settling velocity equal to  $23.54 \text{ cm s}^{-1}$ . Thus, proportion of potentially viable spheroid pollen corresponded to proportion of G2 higher than  $23.54 \text{ cm s}^{-1}$ .

For a given settling velocity distribution, the associated pollen viability rate was calculated as the fraction of spheroid pollen times the fraction of potentially viable spheroid pollen times an

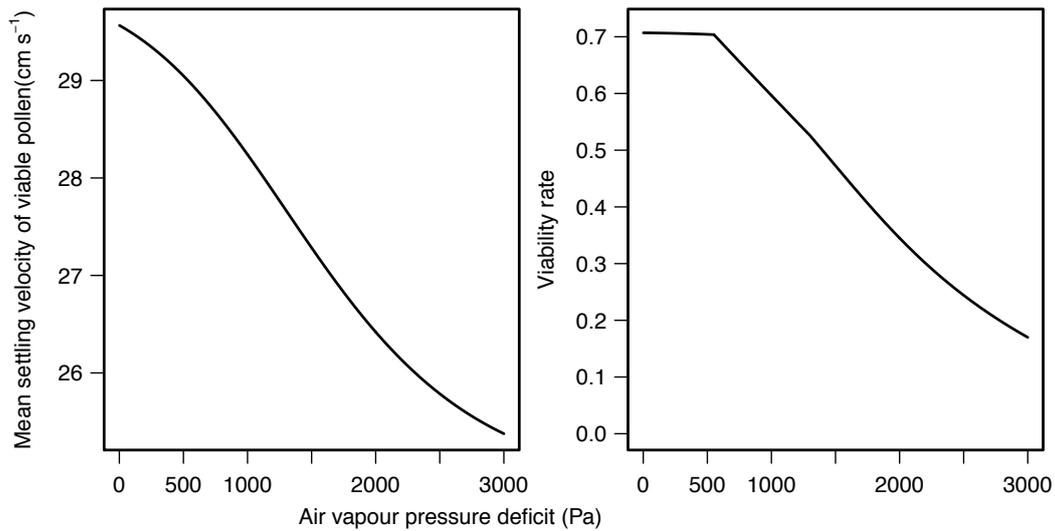
initial fraction of defective pollen. The proportion of potentially viable spheroid pollen was defined as the proportion of pollen with settling velocity higher than  $23.54 \text{ cm s}^{-1}$ . It varied between 0.68 and 1 over all measured settling velocity distributions. We estimated the initial rate of defective spheroid pollen to 0.71. It was estimated using Eq. (9) for water content of 57.2%, i.e., water content for which all pollen grains were spheroids. The viability rate calculated using settling velocity distribution was well correlated (0.97) with Eq. (9). Fig. III-8 shows the relationship between viability rate of pollen and the mean value of bimodal distributions of settling velocity.



**Fig. III-8.** Estimated viability rate versus mean settling velocity of pollen grains.

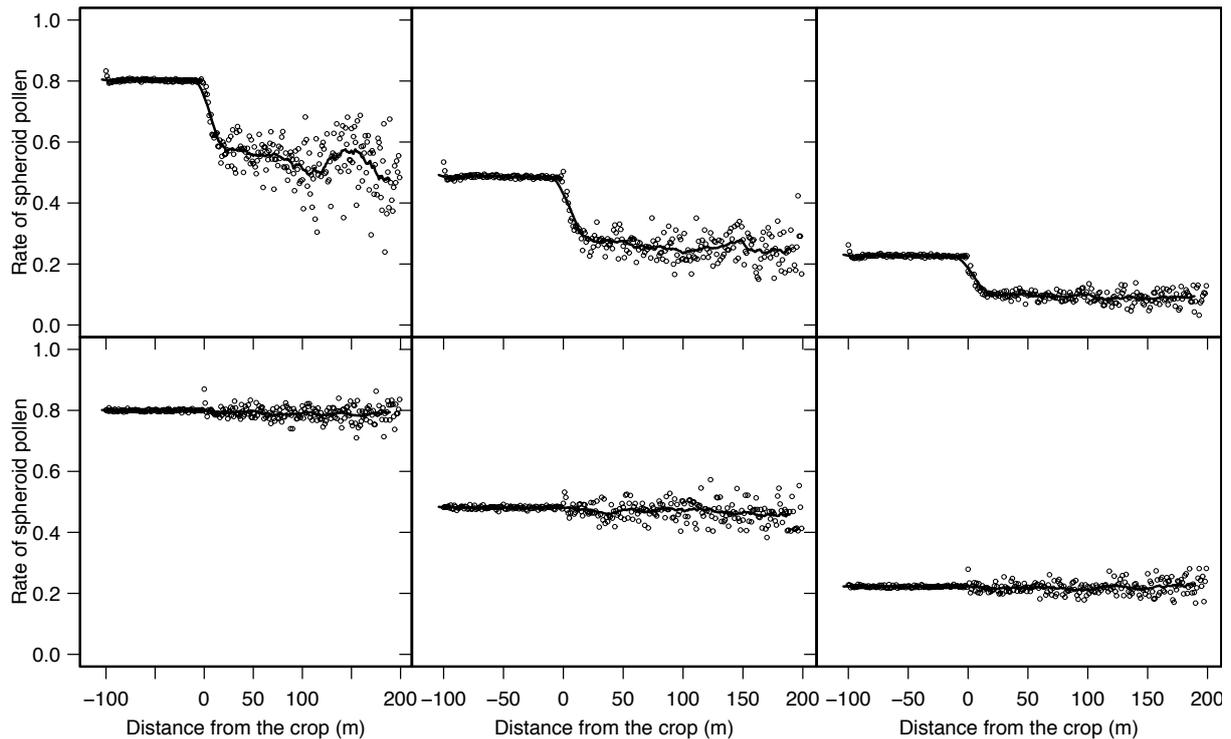
### III.3.3. Air humidity effects on cross-pollination risks

Consequently to pollen dehydration in anthers as a function of  $VPD$  of the air, settling velocity and viability rate decrease. In Fig. III-9 is shown the predictions of viability rate and the mean settling velocity of viable pollen at emission time as a function of  $VPD$  conditions. For high  $VPD$ , the viability rate could be drastically reduced at emission time until 0.2 while the mean settling velocity of viable pollen decreased from 30 to  $25 \text{ cm s}^{-1}$ . The mean settling velocity of viable pollen was well predicted (mean absolute error =  $0.76 \text{ cm s}^{-1}$ ) although some variability remains unexplained.



**Fig. III-9.** Mean settling velocity of viable pollen and viability rate as a function of vapour pressure deficit of the air.

To study the effect of vapour pressure deficit on pollen dispersal, we calculated pollen water content and associated settling velocity distribution of dead pollen, i.e., prismatic, and partially viable pollen, i.e., spheroid for contrasted vapour pressure deficit. These settling velocity distributions were used, as input, to simulate pollen dispersal for two conditions of wind speed. For vapour pressure deficits of 1100, 2200 and 3300 Pa, we estimated mean water content at emission of 51, 41 and 33%. The associated parameters of the sum of bi-Gaussian distribution (Eq. (3)) were equal to  $\{\mu_1 = 20.4 \pm 1.75 \text{ cm s}^{-1}, A_2 = 0.79, \mu_2 = 27.8 \pm 1.70 \text{ cm s}^{-1}\}$ ,  $\{\mu_1 = 19.8 \pm 1.75 \text{ cm s}^{-1}, A_2 = 0.47, \mu_2 = 25.9 \pm 2.25 \text{ cm s}^{-1}\}$  and  $\{\mu_1 = 19.4 \pm 1.75 \text{ cm s}^{-1}, A_2 = 0.22, \mu_2 = 25.1 \pm 2.25 \text{ cm s}^{-1}\}$ . Fig. III-10 represents the proportion of partially viable spheroid pollen relatively to total pollen as a function of distance from the crop for two wind speeds and three vapour pressure deficits. For wind speed of  $5 \text{ m s}^{-1}$ , the rate of spheroid pollen dispersed at various distance from the crop was similar to the rate at emission. On the contrary, for wind speed of  $1 \text{ m s}^{-1}$ , the rate of spheroid pollen dispersed varied as a function of distance from the crop. In the crop, rate of spheroid pollen were slightly higher than emission rate. Downwind from the crop, simulations revealed a decrease of spheroid pollen rate. This decrease was observed during the ten first meters until equilibrium was reached. Due to higher settling velocity, partially viable spheroid pollen travelled lower distance than non-viable prismatic pollen.



**Fig. III-10.** Proportion of partially viable spheroid pollen versus distance from the maize field. Points are the simulations while lines are a moving average. The three graphs on the first row represent simulations for wind speed equal to  $1 \text{ m s}^{-1}$  and those on the second row represent simulations for wind speed equal to  $5 \text{ m s}^{-1}$ . For each column, the two graphs represent simulations for the same vapour pressure deficit conditions which are, from left to right, 1100, 2200 and 3300 Pa.

### III.4. Discussion

#### *a) Comparison of experimental measurements with published literature data*

Pollen water content measured at emission time varied from 25 to 56 %, which was consistent with measurements made by Aylor (2002) who found a range of 40–56 %. The maximal water content was 56 %, which is close to the lower boundary of the range observed in the literature: 55 to 60% (Kerhoas and Dumas, 1987; Roeckel-Drevet *et al.*, 1995; Fonseca and Westgate, 2005). This could be explained by the fact that this value corresponded to a pollen sample collected at 08:00 UTC while emission could have started as early as 06:00 UTC (around 2 hours after sunrise (Marceau *et al.*, 2011); pollen collected at 08:00 UTC therefore had most likely begun to dehydrate and water content at this time was not maximal. The lowest water content was 6 %, measured for the pollen sample dried in the laboratory. Aylor *et al.* (2003) suggested that pollen water content reaches an equilibrium state with air as a function of relative humidity conditions and thus reaches values close to 0% only when air is highly dry.

Highest mean diameter measured here was 104  $\mu\text{m}$ , which is consistent with measurements made by Aylor (2002) but higher than those of van Hout *et al.* (2004) who found 93  $\mu\text{m}$ . However, for the highest hydrated pollen samples collected here, mean water content was 55.6 % and mean diameter was 97  $\mu\text{m}$  notably lower than 104  $\mu\text{m}$ . Using the density given by Aylor (2002) for highly hydrated grains, 1.2  $\text{g cm}^{-3}$ , and Eq. (5) to calculate pollen mass using water content, we obtained a volume-equivalent diameter of 98, 99 and 102  $\mu\text{m}$  for water content of 55, 56 and 60 %, respectively. Knowing that we did not measure water contents higher than 56%, we assume that the measured diameter of 104  $\mu\text{m}$  is an extreme value, probably due to the sampling: it is not fully representative of the pollen grains diameter. In addition, we observed that diameters were highly variable for high water contents. The lowest mean diameter measured here was 83  $\mu\text{m}$ , slightly higher than measurements of Aylor (2002) and van Hout *et al.* (2004) who found  $\sim 78 \mu\text{m}$ . For pollen sample dried in the laboratory, mean diameter was 87  $\mu\text{m}$ . Because dried pollen grains are not spheroid but are multi-faced prisms, the measured projected diameter largely depends on which face the pollen is disposed on the microscopic slide inducing a large variability. Due to high variability observed for prismatic and spheroid pollen grains, we recommend the use of a sufficient number of pollen grains probably higher than 300 grains.

Density has been observed to increase when diameter decreases. This is the result of pollen dehydration due to water density lower than dry density. We tested the ability of dry pollen density proposed by Aylor (2002) and van Hout *et al.* (2004), as a parameter of Eq. (7), to accurately estimate density and settling velocity and found that the first one is most consistent with our data. In addition, the theoretical settling velocity proposed by Aylor (2002), with  $\rho_{\text{dry}}$  equal to 1.45  $\text{g cm}^{-3}$ , and the calculation based on our formulation, provided similar results also consistent with the measurements.

#### ***b) A contribution to the understanding of pollen dehydration in the anther***

We proposed a simple way to estimate mean water content of pollen at emission assuming that pollen grains dehydrate in the dehiscent anther. The water content was calculated as a function of air vapour pressure deficit using the model of Fonseca and Westgate (2005) and setting a constant duration of dehydration of 20 min estimated from our measurements. This assumes that the variations of pollen water content result from diurnal changes of air vapour pressure deficit.

However, our estimations of pollen water content at emission had a low accuracy ( $R^2 = 0.49$ ). Most likely, the vapour pressure deficit conditions in the anther are different than those

in the air due to, for example, radiations intercepted by anthers and humidity saturation within the anther. Further investigation on pollen dehydration within anthers should consider factors affecting microclimatic conditions within anthers. In addition, the initial water content in the model of dehydration of Fonseca and Westgate (2005) was equal to 63 %, which appears to be high in comparison to the literature (between 55 to 60%; Kerhoas and Dumas, 1987; Roeckel-Drevet *et al.*, 1995; Fonseca and Westgate, 2005). Our measurements did not provide information on initial pollen water content, just after anther dehiscence, enabling to determine which value is the more relevant. An investigation of initial water content and more generally of initial biophysical characteristics of pollen should be helpful to study pollen dehydration in the anthers.

We used the model of Fonseca and Westgate (2005) to estimate duration of pollen dehydration in the anther. Because of the uncertainty in initial water content and the use of air vapour pressure deficit in the air rather than in the anther, the duration of dehydration was most likely roughly estimated. Duration of dehydration represents the duration between anther dehiscence and effective pollen release including the time needed for anther to enlarge its pore enough for pollen extraction. In our study we do not found any relation between meteorological conditions and duration of dehydration while Keijzer *et al.* (1996) suggested that the rate of pore enlarging increases with vapour pressure deficit. Moreover, wind speed enhances the extraction of pollen by shaking anthers and tassels (Urzay *et al.*, 2009), which theoretically leads to reduce the duration of dehydration. In our opinion, the roughly estimations of duration of dehydration do not allow to observe these effects. By taking into account for anthers moisture conditions and using an accurate initial water content, we suppose that the inverse modelling method proposed here could highlight meteorological effects on duration of dehydration.

### ***c) Changes in pollen shape and viability rate in response to pollen dehydration***

We can distinguish two phases during pollen dehydration: during the first phase, pollen deflates with keeping spheroid shape and the diameter remains proportional to its volume; during the second phase, depressions appear on pollen surface until it looks like a “deflated balloon”. This loss of spheroid shape, probably due to membrane rigidity, results in the fact that the volume is no longer proportional to the cubic power of equivalent diameter. In this study, the mean water content that marks the change from spheroid to prismatic pollen shape was estimated at 27 %. It was calculated from the bimodal settling velocity distributions as the water content corresponding to the settling velocity threshold between the two

distributions. Similar critical water contents have been reported by Fonseca and Westgate (2005) who observed that when water content dropped below 30% pollen was non-viable and by Kerhoas *et al.* (1987) who observed that when water content dropped below 28% irreversible alterations of membrane permeability and of pollen physiology happened. We are wondering whether these correlated effects are physiologically linked. Roeckel-Drevet *et al.* (1995) proposed two hypotheses for viability loss: (i) the difficulty of the pollen to rehydrate and become turgid or (ii) the difficulty of the dry pollen to resume its metabolism after rehydration. They gave several elements to support each of them and they concluded that the two hypothesis might be valid. Whatever the mechanism of viability loss, pollen grains are tolerant to dehydration until critical water content (Nepi *et al.*, 2010). We did not measure pollen viability *per se* in our study; obviously the critical water content for pollen viability loss, and potential dependency to variety, require more specific investigations.

Projected diameter has been suggested as a mean to investigate settling velocity (Aylor *et al.*, 2002). Given the change in shape observed here, projected diameter would not be a good indicator of prismatic pollen volume and in turn of water content and settling velocity. We observed that when diameter was lower than 95  $\mu\text{m}$ , its relationships with settling velocity, density and water content become highly variable (Fig. III-7). On the contrary, water content has been observed to be a good indicator of mean settling velocity (Fig. III-7) and settling velocity distributions (Fig. III-4).

***d) The higher settling velocity of partially viable relatively to non-viable pollen leads to reduce cross-pollination risks under low wind speeds***

In this study, simulations of pollen dispersal revealed that when wind speed is low, partially viable spheroid pollen drops on the ground faster than non-viable prismatic pollen due to higher settling velocity (Fig. III-10). When wind speeds are low, contribution of pollen settling velocity to dispersal is significant compared with convection by the turbulent field. This leads to a horizontal gradient of spheroid pollen downwind from the crop. On the contrary, when wind speed is high, there is no gradient. In this case, turbulent field most likely had higher effects on pollen trajectories than settling velocity. By using relationships between viability and settling velocity we simulated lower cross-pollination risks when wind speed is low than if we only use total pollen quantity. Based on the new knowledge on biophysical characteristics presented here and total emission previously proposed (Marceau *et al.*, 2011), simulations of cross-pollination risks using a physically based model of dispersal are now possible taking into account fluctuating meteorological conditions.

*e) Bimodal distribution of settling velocity as a proxy to estimate pollen characteristics*

In our study, the distribution of settling velocity was observed as a bimodal one due to spheroid and prismatic pollen shapes instead of large and small pollen sizes. We used the measurements of settling velocity distribution to estimate (i) the fraction of spheroid and prismatic pollen, (ii) the critical water content which marks the change between spheroid to prismatic pollen shape (iii) the distribution of water content of spheroid pollen as well as (iv) the pollen viability rate.

The settling velocities of spheroid pollen were higher than those of prismatic pollen. Settling velocities of spheroid pollen were sensitive to water content variations: when mean water content decreased mean settling velocity of spheroid pollen decreased. For spheroid pollen grains we proposed a theoretical relationship between settling velocities and water content. We used it to estimate water content distribution of spheroid pollen from their settling velocity distribution. We assumed that a given settling velocity was related to a unique water content. Nevertheless, the variability of dry mass, diameter or shape most likely involved variability in settling velocity unrelated to water content. This natural variability would have to be investigated further to improve estimation of water content distribution.

For prismatic pollen, we observed that their settling velocities distributions were the lowest and clearly distinct from settling velocities distribution of spheroid pollen. This distinction was most likely induced by their different aerodynamical properties. In addition, settling velocities of prismatic pollen were fairly stationary relative to settling velocities of spheroid pollen. Water content of prismatic pollen varied from 27 % (the estimated transition from spheroid to prismatic shapes) to 6 % (the lowest measured mean water content) corresponding to water mass varying from 0.29 to 0.36  $\mu\text{g}$ . These low variations of water mass (in comparison mass water of spheroid pollen ranged between 0.36 to 0.61  $\mu\text{g}$ ) probably explain the fairly stationary settling velocity. We did not estimate water content distribution of prismatic pollen from settling velocity distributions due to unknown relationship for prismatic pollen between settling velocity and water content.

We proposed a way to calculate viability rate from settling velocity distribution based on the critical water content of 30% found in the literature under which pollen becomes non-viable (Fonseca and Westgate, 2005). We found that the prismatic pollen was associated with lower water content than 27% suggesting that prismatic pollen was non-viable. On the contrary, spheroid pollen grains were partially viable depending on the fraction with water content higher than 30%. To easily estimate this fraction we calculated the settling velocity

associated to water content of 30% and found  $23.54 \text{ cm s}^{-1}$ . Thus the fraction of settling velocity of spheroid pollen higher than  $23.54 \text{ cm s}^{-1}$  provides the fraction of spheroid viable pollen. Moreover, we used an initial fraction of defective pollen according to authors who always observed a non-viable fraction of pollen (Fonseca and Westgate 2005, Roeckel-Drevet *et al.* 1995).

### **Acknowledgement**

The present work was funded by Arvalis - Institut du végétal. Brigitte Durand provided excellent technical assistance and we are indebted for her personal involvement in this work. We also thank Jessica Bertheloot, Bruno Andrieu for reviewing and helpful discussion as well as Martin Cellier for technical assistance. Lastly, we would like to thank Suzette Tanis-Plant for fruitful discussions in English.

## References

- Arritt, R.W., Clark, C.A., Goggi, A.S., Sanchez, H.L., Westgate, M.E., Riese, J.M., 2007. Lagrangian numerical simulations of canopy air flow effects on maize pollen dispersal. *Field Crops Research* 102(2), 151-162.
- Aylor, D.E., 2002. Settling speed of corn (*Zea mays*) pollen. *Journal of Aerosol Science* 33, 1601-1607.
- Aylor, D.E., 2003. Rate of dehydration of corn (*Zea mays* L.) pollen in the air. *Journal of Experimental Botany* 54, 2307-2312.
- Aylor, D.E., 2004. Survival of maize (*Zea mays*) pollen exposed in the atmosphere. *Agricultural and Forest Meteorology* 123, 125-133.
- Aylor, D.E., Schultes, N.P., Shields, E.J., 2003. An aerobiological framework for assessing cross-pollination in maize. *Agricultural and Forest Meteorology* 119, 111-129.
- Beckie, H.J. and Hall, L.M., 2008. Simple to complex: Modelling crop pollen-mediated gene flow. *Plant Science* 175, 615-628.
- Chamecki, M., Meneveau, C., Parlange, M.B., 2009. Large eddy simulation of pollen transport in the atmospheric boundary layer. *Journal of Aerosol Science* 40, 241-255.
- Di-Giovanni, F., Kevan, P.G., Nasr, M.E., 1995. The Variability in Settling Velocities of Some Pollen and Spores. *Grana* 34, 39-44.
- Dupont, S., Brunet, Y., Jarosz, N., 2006. Eulerian modelling of pollen dispersal over heterogeneous vegetation canopies. *Agricultural and Forest Meteorology* 141, 82-104.
- Fonseca, A.E., Westgate, M.E., 2005. Relationship between desiccation and viability of maize pollen. *Field Crops Research* 94, 114-125.
- van Hout, R. and Katz, J., 2004. A method for measuring the density of irregularly shaped biological aerosols such as pollen. *Journal of Aerosol Science* 35, 1369-1384.
- Jarosz, N., 2003. Etude de la dispersion atmosphérique du pollen de maïs: Contribution à la maîtrise des risques de pollinisation croisée, Paris.
- Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., Foueillassar, X., Hubert, L., 2005. Variations in maize pollen emission and deposition in relation to microclimate. *Environmental Science & Technology* 39, 4377-4384.
- Jarosz, N., Loubet, B., Huber, L., 2004. Modelling airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Atmospheric Environment* 38, 5555-5566.
- Keijzer, C.J., Leferink-ten Klooster, H.B., Reinders, M.C., 1996. The mechanics of the grass flower: Anther dehiscence and pollen shedding in maize. *Annals of Botany* 78, 15-21.
- Kerhoas, C., Gay, G., Dumas, C., 1987. A Multidisciplinary Approach to the Study of the Plasma-Membrane of *Zea-Mays* Pollen During Controlled Dehydration. *Planta* 171, 1-10.
- Loubet, B., Jarosz, N., Saint-Jean, S., Huber, L., 2007. A method for measuring the settling velocity distribution of large biotic particles. *Aerobiologia* 23, 159-169.
- Luna, S., Figueroa, J., Baltazar, B., Gomez, R., Townsend, R., Schoper, J.B., 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Science* 41, 1551-1557.
- Marceau, A., Loubet, B., Andrieu, B., Durand, D., Foueillassar, X., Huber, L., 2011. Modelling diurnal and seasonal patterns of maize pollen emission in relation to meteorological factors. *Agricultural and Forest Meteorology* 151, 11-21.
- Nepi, M., Cresti, L., Guarnieri, M., Pacini, E., 2010. Effect of relative humidity on water content, viability and carbohydrate profile of *Petunia hybrida* and *Cucurbita pepo* pollen. *Plant Systematics and Evolution* 284, 57-64.
- Nepi, M., Franchi, G.G., Pacini, E., 2001. Pollen hydration status at dispersal: cytophysiological features and strategies. *Protoplasma* 216, 171-180.

- Rasband, W.S., 1997-2009. ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. URL: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.
- Roeckel-Drevet, P., Digonnet, C., Matthys-Rochon, E., Champiat, D., Dumas, C., 1995. Fertility of Zea-Mays Pollen During Dehydration - Physiological Steps Outlined by Nucleotide Measurements. *Plant Physiology and Biochemistry* 33, 289-294.
- Saint-Jean, S., Chelle, M., Huber, L., 2004. Modelling water transfer by rain-splash in a 3D canopy using Monte Carlo integration. *Agricultural and Forest Meteorology* 121, 183-196.
- Saint-Jean, S., Testa, A., Kamoun, S., Madden, L.V., 2005. Use of a green fluorescent protein marker for studying splash dispersal of sporangia of *Phytophthora infestans*. *European Journal of Plant Pathology* 112, 391-394.
- Shivanna, K.R. and Heslop-Harrison, J., 1981. Membrane State and Pollen Viability. *Annals of Botany* 47, 759-770.
- Urzay, J., Smith, S.G.L., Thompson, E., Glover, B.J., 2009. Wind gusts and plant aeroelasticity effects on the aerodynamics of pollen shedding: A hypothetical turbulence-initiated wind-pollination mechanism. *Journal of Theoretical Biology* 259, 785-792.
- Viner, B.J. and Arritt, R., 2007. predicting dispersion and viability of maize pollen using a fluid dynamic model of atmospheric turbulence. *Third International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM based Agricultural Supply Chains*.
- Viner, B.J., Westgate, M.E., Arritt, R.W., 2010. A Model to Predict Diurnal Pollen Shed in Maize. *Crop Science* 50, 235-245.
- Westgate, M.E. and Boyer, J.S., 1986. Reproduction at Low Silk and Pollen Water Potentials in Maize. *Crop Science* 26, 951-956.

# **Chapitre IV**

Un modèle opérationnel pour évaluer la  
pollinisation inter-parcellaire



## **IV.1. Introduction**

La production de semences certifiées de maïs hybrides implique de maximiser la pureté des grains et donc de limiter la fécondation croisée résultant des flux polliniques en provenance des parcelles avoisinantes (pollinisation inter-parcellaire). Les parcelles dédiées à la production de semences (« parcelles semences ») sont particulièrement sensibles à la fécondation croisée du fait des faibles quantités de pollen qu'elles produisent. En effet, seul 1/3 des plantes produisent du pollen (lignée mâle), le reste des plantes étant castré (lignée femelle). A cela s'ajoute une production de pollen qui est 4 à 7 fois inférieures chez les lignées mâles que chez les hybrides (Fonseca *et al.*, 2004). Dans des régions à forte densité de parcelles de maïs comme en Aquitaine ou en Midi Pyrénées (cf. Journée technique semences, 2010), l'isolement des parcelles « semences » est indispensable pour maximiser la pureté de la production. Différentes méthodes d'isolement existent : l'isolement temporel par un décalage de floraison et l'isolement spatial par la mise en place de distances d'isolement et/ou de barrières polliniques (Devos *et al.*, 2009). L'isolement spatial est préféré à l'isolement temporel qui est difficile à mettre en oeuvre. Pour les parcelles « semences », l'isolement spatial est réglementé par des arrêtés ministériels (GNIS, 2008) : une distance d'isolement de 200 m est exigée entre une parcelle de maïs hybride et une parcelle « semences » pouvant être réduite à 100 m en utilisant comme barrière pollinique 20 m de lignées mâles sur le bord de la parcelle « semences »; entre deux parcelles « semences », la distance réglementaire minimale n'est que de 100 m car les quantités de pollen produites sont plus faibles. Si ces isolements ont montré leur efficacité en pratique, rien ne garantit qu'ils soient optimaux ou efficaces pour l'ensemble des conditions météorologiques. Pour mieux appréhender et préciser ces méthodes d'isolement, un modèle prédisant la pollinisation inter-parcellaire serait un outil efficace.

Plusieurs modèles physiques prédisant la dispersion aérienne de pollen en fonction des caractéristiques de d'écoulement ont été proposés (Dupont *et al.*, 2006 ; Jarosz *et al.*, 2004 ; Arritt *et al.*, 2007). Ces modèles numériques nécessitent d'être couplés avec un modèle d'écoulement, statistique ou physique, et permettent d'étudier la dispersion au dessus de paysages hétérogènes. Cependant, cette résolution numérique est exigeante en compétences disciplinaires et onéreuse en temps de développement et de calcul et se prête mal au développement d'un modèle opérationnel. En supposant un écoulement stationnaire, des solutions analytiques de la dispersion existent, rapides à mettre en œuvre, estimant le champ aérien de concentration ou le dépôt au sol (Pasquill, 1974; Bouvet et Wilson, 2005). Par exemple, le modèle GDS basé sur l'hypothèse d'une diffusion verticale gaussienne (Craig,

2004) estime le dépôt au sol dans le sens du vent de particules pesantes (des gouttelettes de produit phytosanitaire émises depuis un avion) en fonction de la distance à la source. Il prend en compte plusieurs paramètres: la puissance et la hauteur de la source, la vitesse de sédimentation des particules, la vitesse du vent et l'intensité de la turbulence.

Pour modéliser la dispersion de pollen tout au long de la saison d'émission de pollen, il est nécessaire de connaître la dynamique temporelle de l'émission de pollen ainsi que celle de l'écoulement turbulent. Si les caractéristiques de l'écoulement turbulent peuvent être obtenues à partir des mesures prises en routine par les stations météorologiques ce n'est pas le cas de l'émission de pollen qui nécessite d'être modélisée. Par exemple, Astini *et al.* (2009) utilisent un modèle d'émission de pollen sur un pas de temps journalier et le couple avec un modèle de dispersion lagrangien. Cependant, le modèle d'émission utilisé n'est pas prédictif, nécessitant des mesures tout au long de la période de floraison. De plus, le pas de temps journalier utilisé ne permet pas de simuler la dispersion au sein d'un écoulement aérien stationnaire. Récemment, un modèle d'émission prédictif sur un pas de temps horaire était proposé par Marceau *et al.* (2011). Ce modèle prédit le flux d'émission de pollen sur un pas de temps horaire tout au long de la saison d'émission du pollen en fonction de la température de l'air, la vitesse du vent, la pression de vapeur et l'humidité relative. Il prend également en entrée la date de début de la saison d'émission ainsi que la production totale de pollen sur toute la saison qui peut être connue à partir de la variété considérée et de la densité de plantes mâles (Uribelarrea *et al.* 2002, Westgate *et al.* 2003). Néanmoins, il ne permet pas de distinguer les fractions viables et non viables du pollen émit, c'est à dire capable ou non de féconder un ovule. Ainsi, pour l'étude des risques de fécondation croisée, un modèle prédisant la fraction de pollen viable au moment de l'émission de pollen est nécessaire (Chamecki *et al.* 2008). Un tel modèle a été proposé dans le chapitre III, prenant comme entrée les conditions de déficit de pression de vapeur de l'air. A notre connaissance, si certains auteurs ont pris en compte la perte de viabilité du pollen en vol sur les risques de fécondation croisée, aucun auteur n'a pris en compte un taux de viabilité variable à l'émission en fonction des conditions météorologiques (Astini *et al.*, 2009).

L'objectif de l'étude est de proposer un modèle opérationnel prédisant la dispersion de pollen viable sur un pas de temps horaire et tout au long de la saison d'émission. Dans un premier temps, considérant comme suffisamment robustes les modèles d'émission et de qualité du pollen dont nous disposons, nous avons éprouvé le modèle de dispersion GDS appliqué au pollen de maïs. Ce modèle est simple mais néanmoins basé sur une description physique de la dispersion. Nous avons comparé les prédictions du modèle GDS à la fois aux

simulations d'un modèle de dispersion lagrangien (Jarosz *et al.*, 2004) et à des données expérimentales que nous avons acquises en 2008. Dans un deuxième temps, nous avons couplé les modèles d'émission, de qualité et de dispersion sur un pas de temps horaire pour prédire la dispersion de pollen viable pour cinq isolements spatiaux sous quatre scénarios météorologiques contrastés. Pour ce faire, le critère de risque retenu est le pourcentage de pollen exogène déposé au sol dans une parcelle de production de semences.

## **IV.2. Matériel et méthodes**

### IV.2.1 Données expérimentales

#### ***a) Dispositif expérimental***

La dispersion de pollen de maïs a été étudiée durant la saison d'émission du pollen d'une parcelle de maïs cultivée à Grignon (France, 48°51'N, 1°55'E, 101 m) durant l'été 2008. La variété Meribel fut semée le 5 juin à une densité de 95000 grains ha<sup>-1</sup> avec un interrang de 80 cm. La parcelle avait une longueur de 120 m et une largeur de 42 m, soit une surface d'environ 0.5 ha. Elle était orientée à 275° par rapport au Nord. L'émission de pollen a commencé le 2 août et a fini le 11 août.

Durant la saison d'émission du pollen, les conditions météorologiques ont été mesurées par des capteurs placés au centre de la parcelle. L'humidité relative, la pluviométrie et les températures ont été mesurées à la hauteur des panicules. La vitesse et la direction du vent ainsi que le rayonnement global ont été mesurées à 5 m de haut. Pour chaque variable météorologique, nous disposons d'une série temporelle représentant les conditions moyennes sur des intervalles successifs de 15 minutes et ce sur toute la saison d'émission. En plus de ces capteurs un anémomètre sonique a été placé à 3.5 m de hauteur dans des chaumes de blé à 48 m en amont de la parcelle et en aval d'une autre parcelle de maïs situé à 60 m. L'anémomètre sonique renseigne sur les fluctuations de la vitesse du vent et permet d'accéder aux paramètres de la turbulence et de stabilité atmosphérique.

Date (2008)	Périodes (TU)	Emission de pollen ( $10^6$ grains $m^{-2}$ )	Ecart moyen de direction du vent (relativement aux lignes de dépôt) (°)	$u$ ( $m s^{-1}$ )	$u^*$ ( $m s^{-1}$ )	T (°C)	VPD (Pa)
5 Aout	07:30 - 17:30	11.4	$2 \pm 15$	$1.27 \pm 0.19$	0.33	26	1811
6 Aout	07:00 - 12:15	6	$-39 \pm 9$	$1.2 \pm 0.26$	0.29	26	1683
6 Aout	12:15 - 17:30	2.3	$-42 \pm 16$	$1.25 \pm 0.14$	0.33	31	2992
7 Aout	07:00 - 11:45	3	$58 \pm 22$	$1.26 \pm 0.29$	0.34	21	481
7 Aout	11:45 - 17:30	0.86	$6 \pm 12$	$1.66 \pm 0.2$	0.37	21	568

**Tab. IV-1.** Caractéristiques de chaque période de mesure : heure de début et de fin, quantité de pollen émise, conditions météorologiques moyennes : vitesse du vent au sommet du couvert ( $u$ ), vitesse de frottement ( $u^*$ ), température (T) et déficit de pression de vapeur (VPD)

### ***b) Mesures des quantités de pollen libérées et dispersées***

La dispersion de pollen a été étudiée expérimentalement au cours de 5 périodes : la journée du 5 août et les matins et après midis des 6 et 7 août (Tab. IV-1). Durant chaque période, nous mesurons les dépôts cumulés de pollen (i) dans la parcelle, à la base des panicules, ainsi que (ii) en aval de la parcelle, entre 30 et 40 cm au-dessus du sol. Ces derniers seront référencés, dans la suite de l'article, comme des dépôts au sol. En effet, à partir de simulations, Jarosz *et al.* (2004) ont montré que les flux de pollen à 30 cm du sol étaient équivalents à ceux estimés à la surface du sol. Les capteurs étaient de simples récipients cylindriques, d'une section de  $21 \text{ cm}^2$  remplis d'une quantité constante d'isoton et fixés sur des piquets. Pour chaque période, un total de 66 récipients était disposé à différentes distances le long de 6 lignes perpendiculaires à la parcelle. Les 6 lignes perpendiculaires à la parcelle étaient espacées de 20 m les unes des autres et la première et la dernière se trouvaient à 10 m des bords de la parcelle. Pour chaque ligne, 11 récipients étaient placés à des distances relatives au bord aval de la parcelle à -14, -2, -1 m (dans la parcelle) et 1, 2, 4, 8, 16, 32, 50 et 100 m (en aval de la parcelle). A la fin de chaque période, le nombre de grains de pollen dans chaque récipient était ensuite évalué par un compteur automatique (Coulter Multisizer III, Beckman, USA).

Pour chaque journée de mesures, les flux d'émission étaient évalués sur un pas de temps de 15 minutes. Cela consistait à multiplier les mesures de quantité journalière et celle des taux d'émission par quart d'heure (Jarosz *et al.*, 2003). La quantité journalière émise était estimée en ensachant 10 panicules entre 06:00 et 18:00 TU, les 10 plantes étant choisies aléatoirement chaque jour. Les sachets récupérés sont rincés à l'isoton et la majeure partie des grains de

pollen se retrouve en suspension dans un récipient. Le nombre de grains de pollen dans chaque récipient est ensuite estimé par le compteur automatique. Quant à eux, les taux d'émission étaient estimés à partir des mesures de concentration de pollen fournies par un Burkard placé à 40 cm au dessus du couvert (Burkard Manufacturing Co., Rickmansworth, UK). Les taux sont calculés en normalisant le nombre de grains captés par le Burkard sur des intervalles successifs de 15 minutes par le nombre total de grains impactés sur la journée.

#### IV.2.2. Couplage des modèles d'émission, de qualité et de dispersion du pollen

##### *a) Les modèles d'émission et de qualité du pollen*

Le modèle d'émission (Marceau *et al.*, 2011) estime les flux d'émission horaires après le lever du soleil tout au long la saison d'émission du pollen. Il se décompose en une fonction prédisant les quantités journalières et une fonction prédisant les dynamiques horaires. Il prend en entrée le premier jour de la saison d'émission ainsi que la quantité totale de pollen libérée. Il prend également comme entrée les séries temporelles des variables météorologiques suivantes: la température, l'humidité, la pression de vapeur et la vitesse du vent. Les séries doivent commencer le premier jour de la saison et finir au moins 12 jours plus tard, c'est-à-dire à la fin de la durée maximale de l'émission, et ce sur un pas de temps d'au moins une heure.

Le modèle de qualité du pollen (cf. chapitre III) estime le taux de viabilité du pollen ainsi que la distribution des vitesses de sédimentation du pollen viable au moment de son émission. Il suppose que le pollen se déshydrate dans l'anthère déhiscente, au contact de l'air, pendant une durée moyenne de 22 minutes. Il prend en entrée le déficit de pression de vapeur moyen durant les 22 minutes précédant l'émission. Il calcule ensuite la teneur en eau du pollen à sa libération en utilisant un modèle de déshydratation dans l'air. A partir de relations empiriques, les paramètres de la distribution bi-gaussienne des vitesses de sédimentation sont calculés. La courbe gaussienne associée aux vitesses de sédimentation les plus faibles correspond à du pollen prismatique et l'autre à du pollen sphéroïde. La distribution de pollen viable correspond à la distribution de pollen sphéroïde tronqué sur la gauche à partir de  $23.5 \text{ cm s}^{-1}$ . Ce seuil correspond à la teneur en eau critique en dessous de laquelle le pollen perd définitivement sa capacité à développer un tube pollinique. La proportion de pollen viable est calculée en multipliant la proportion de pollen sphérique ayant une vitesse de sédimentation supérieure à  $23.5 \text{ cm s}^{-1}$  par un taux de pollen défectueux de 70.7 %.

### ***b) Validation du modèle de dispersion GDS***

Le modèle GDS (Eq. (1)), proposé par Craig (2004), est une fonction analytique prenant en compte la puissance et la hauteur de la source, la vitesse de sédimentation de particules pesantes, la vitesse du vent et la stabilité atmosphérique. Il prédit le dépôt au sol de particules émises par une source linéaire perpendiculaire au sens du vent. Il est construit sur l'hypothèse d'un champ de vent uniforme, i.e., ne variant pas verticalement et horizontalement, permettant d'approximer la diffusion verticale par une fonction gaussienne. Les dépôts étaient simulés pour une séquence de vitesse de sédimentation ( $V_s$ ) (définie par la loi de distribution des vitesses de sédimentation) puis les estimations pondérées par la densité de la distribution et sommées. Etant donnée la distribution gaussienne des vitesses de sédimentation, nous définissons une séquence de 61 vitesses de sédimentation entre les quantiles 0.5% et 99.5%. Le modèle est étendu à une parcelle source, en sommant les dépôts pour l'ensemble des sources unitaires de  $1 \text{ m}^2$ . Pour une parcelle source donnée, chaque source unitaire est supposée identique et associée au même profil de dispersion.

$$D(x, f(V_s), Q, u, h, i) = \sum_{v_s} \frac{f(v_s) Q h}{\sqrt{2\pi i x^2}} \exp\left(\frac{-(h - v_s x / u)^2}{2(i x)^2}\right) \quad (1)$$

où  $D(x)$  est la quantité déposée ( $\text{grains m}^{-2}$ ) à la distance  $x$ .  $Q$  et  $f(v_s)$  représentent la quantité de pollen libérée ( $\text{grains m}^{-2}$ ) et la fonction de densité de la vitesse de sédimentation ( $\text{m s}^{-1}$ ) ;  $h$  est la hauteur de la source,  $u$  la vitesse du vent à la hauteur  $h$  ( $\text{m s}^{-1}$ ) et  $i$  l'intensité de la turbulence. Cette intensité est égale à l'écart-type de vitesse verticale divisé par  $u$ . Pour toute l'étude elle est fixée à 0.1 correspondant à des conditions de neutralité thermique.

Dans un premier temps, nous comparons les estimations de GDS avec les mesures expérimentales présentées dans la partie matériel et méthodes. Nous avons commencé par ajuster les profils de dépôt mesuré par une fonction de puissance (Eq. 2).

$$D(x) = ax^b \quad (2)$$

où  $D(x)$  est le dépôt au sol de pollen ( $\text{grains m}^{-2}$ ) à la distance  $x$  et  $a$  et  $b$  sont les paramètres de la fonction de puissance représentant la courbure et le dépôt à un mètre. A partir des ces estimations, nous avons testé statistiquement (anova) la différence des paramètres entre lignes et entre périodes pour connaître la variabilité de notre jeu de données. Ensuite, le dépôt était prédit sur chaque période de mesure, en intégrant dans le temps les

prédictions par quart d'heure. La variabilité temporelle du flux d'émission est donnée par les mesures expérimentales tandis que la variabilité temporelle de la distribution des vitesses de sédimentation est donnée par le modèle de qualité. Nous calculons finalement les erreurs moyennes dans la parcelle, entre le bord aval de la parcelle jusqu'à 50 m en aval et au-delà de 50 m. Cette validation expérimentale se limite aux conditions météorologiques rencontrées durant l'étude. Dans un deuxième temps, sachant que notre jeu de données est limité et pour compléter la validation du modèle, nous avons comparé le modèle GDS au modèle lagrangien SMOP-2D (Jarosz *et al.* 2004). Pour cela, nous utilisons les simulations de dépôt au sol pour différentes vitesses de vent et distributions de vitesse de sédimentation. Six vitesses de vent étaient étudiées entre 1 et 6 m s<sup>-1</sup> et sept distributions de vitesse de sédimentation dont la moyenne variait de 0.18 à 0.3 m s<sup>-1</sup> avec une variance égale à 10% de la moyenne. La parcelle source avait une profondeur de 100 m et les panicules étaient situées entre 2 et 2.3 m. Des conditions de neutralité thermique sont fixées (L=-1000), c'est-à-dire que la turbulence est seulement d'origine mécanique avec une intensité dépendante de la vitesse du vent. Nous avons comparé les profils de dépôt des deux modèles ainsi que les quantités échappées hors de la parcelle. Cette quantité était calculée comme la quantité totale émise moins la quantité déposée dans la parcelle.

### *c) Couplage des modèles*

Dans le but d'étudier la pollinisation inter-parcellaire tout au long de la saison d'émission, un modèle complet de dissémination de pollen viable a été développé en couplant les modèles d'émission, de qualité et de dispersion aérienne. Les modèles sont couplés sur un pas de temps de 15 minutes. Durant cet intervalle de temps les conditions météorologiques sont supposées stationnaires. Les séries temporelles des variables météorologiques sont des moyennes sur des intervalles successifs de 15 minutes. Dans Eq. (1), le flux d'émission  $Q$  est remplacé par le flux d'émission, prédit par le modèle d'émission, cumulé sur 15 minutes et multiplié par le taux de viabilité, prédit par le modèle de qualité. La distribution des vitesses de sédimentation du pollen viable,  $f(v_s)$ , est fournie par le modèle de qualité. La distribution est une fonction gaussienne tronquée à gauche à partir de la valeur 23.5 cm s<sup>-1</sup>. Pour prendre en compte cette distribution dans le modèle GDS, nous utilisons une séquence de 61 vitesses de sédimentation entre les bornes 23.5 cm s<sup>-1</sup> et le quantile 99.5 %. Les dépôts prédits pour cette séquence sont cumulés en les pondérant par la loi de probabilité gaussienne normalisée par la probabilité que la vitesse de sédimentation soit supérieure à 23.5 cm s<sup>-1</sup>.

### IV.2.3 Analyse de scénarios météorologiques et de configurations d'isolement sur les risques de fécondation croisée

Nous nous intéressons aux flux de pollen arrivant dans une parcelle « semences », dite parcelle réceptrice, située en aval, par rapport au sens du vent, d'une autre parcelle, dite donatrice. Les parcelles sont parallèles et infiniment longues et le sens du vent était constant, fixé dans le sens parcelle donatrice vers parcelle réceptrice. Cinq scénarios d'isolement sont retenus : trois distances d'isollements, (I) 200 m, (II) 150 m et (III) 100 m + 20 m de mâle d'isolement, lorsque la parcelle donatrice était une parcelle « hybrides » et deux distances d'isolement, (IV) 50 m et (V) 100 m, lorsque la parcelle donatrice était une parcelle « semences ». Les parcelles « semences » et « hybrides » varient par leur production totale de pollen. Pour la parcelle « hybrides » nous fixons la production totale à 60 millions de grains  $m^{-2}$  ce qui correspond à des résultats expérimentaux acquis antérieurement sur la variété Meribel cultivée à une densité de 9.5 plantes  $m^{-2}$  (chapitre II). Pour la parcelle « semences », nous fixons la production totale à 6 millions de grains  $m^{-2}$ , ce qui correspond à une lignée mâle émettant 1.9 millions de grains par plante (Fonseca *et al.* 2004) pour une densité de 3.16 plantes  $m^{-2}$ , i.e., 1/3 de plantes mâles et 2/3 de plantes femelles castrées sur une densité totale de 9.5 plantes  $m^{-2}$ . La production totale pour la zone d'isolement mâle était de 18 millions de grains  $m^{-2}$  correspondant à une densité de 9.5 plantes mâle  $m^{-2}$ , sans lignée femelle castrée.

Les saisons d'émission des parcelles donatrice et réceptrice sont supposées synchrones et le démarrage est fixé au 15 Juillet. Quatre scénarios météorologiques sont proposés à partir de mesures réalisées durant 13 saisons d'émission de pollen à Grignon (à proximité de Versailles (78) en France). Nous combinons (i) deux séries temporelles de vitesse de vent contrastées (à hauteur des panicules), « vent fort » et « vent faible », avec (ii) deux couples de séries temporelles corrélées de température et d'humidité, « chaud et sec » et « froid et humide ».

Les risques sont estimés en simulant la dispersion de pollen viable depuis les parcelles donatrice et réceptrice sur un pas de temps de 15 minutes. Ensuite, nous cumulons les dépôts de pollen viable par  $m^2$  sur toute la saison d'émission du pollen. A partir de ces dépôts cumulés nous estimons un pourcentage de pollen viable exogène dans la parcelle « semences » pour chaque mètre carré :

$$E(x) = \frac{D_d(x)}{D_d(x) + D_r(x)} \times 100 \quad (3)$$

où  $E(x)$  est le pourcentage de pollen exogène à la distance  $x$ ,  $D_d$  et  $D_r$  les dépôts de pollen viable cumulés sur la saison d'émission de pollen (grains viable  $\text{m}^{-2}$  saison $^{-1}$ ) provenant des parcelle donatrice et réceptrice, respectivement.

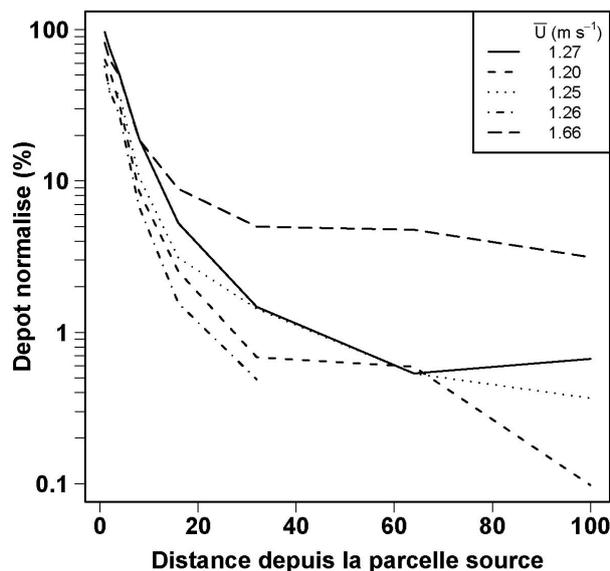
Nous calculons le pourcentage moyen de pollen exogène sur la parcelle « semences » pour estimer un risque global. Pour le scénario V le pourcentage de pollen exogène moyen est calculé après la barrière pollinique.

### **IV.3. Résultats**

#### IV.3.1. Validation du modèle de dispersion GDS

##### ***a) Validation expérimentale***

Nous avons mesuré les dépôts cumulés de pollen, dans la parcelle (à la base des panicules) et en aval de la parcelle (au sol), durant 5 périodes : 1 journée et 4 demi-journées (Tab. IV-1). La direction moyenne du vent était globalement parallèle aux lignes de dépôt, les écarts moyens de direction par rapport à l'orientation des lignes de dépôt variaient de 2 à 58°. Entre les périodes, les vitesses de vent étaient comparables, autour de 1.2  $\text{m s}^{-1}$ , sauf pour la dernière période durant laquelle le vent était le plus élevé (1.7  $\text{m s}^{-1}$ ). Les quantités émises varient fortement entre les périodes, de 0.9 à 11.4 millions de grains  $\text{m}^{-2}$ . Pour les demi-journées de mesure, les quantités émises sont plus fortes le matin que l'après-midi. Pour chaque période, les dépôts mesurés aux distances -1 et -4 m sont très variables entre les 6 lignes de mesures ( $\pm 40\%$  de la moyenne). Au contraire, à la distance -14 m, la variabilité est plus faible entre les 6 lignes ( $\pm 20\%$  de la moyenne). Néanmoins, les dépôts moyens ne sont pas significativement différents entre les 3 distances dans la parcelle ( $P = 0.93$ ). Le dépôt moyen à la base des panicules représente en moyenne 0.79 fois l'émission mesurée. En aval de la parcelle, les gradients de dépôt mesurés étaient bien ajustés par une fonction de puissance ( $R^2 = 0.86$ ). Les estimateurs du paramètre de courbure ne sont pas significativement différents entre les 6 lignes perpendiculaires à la parcelle d'une même période ( $P = 0.99$ ). Ainsi, pour chaque période, nous avons calculé les dépôts moyens à chaque distance pour obtenir un gradient moyen en aval de la parcelle.

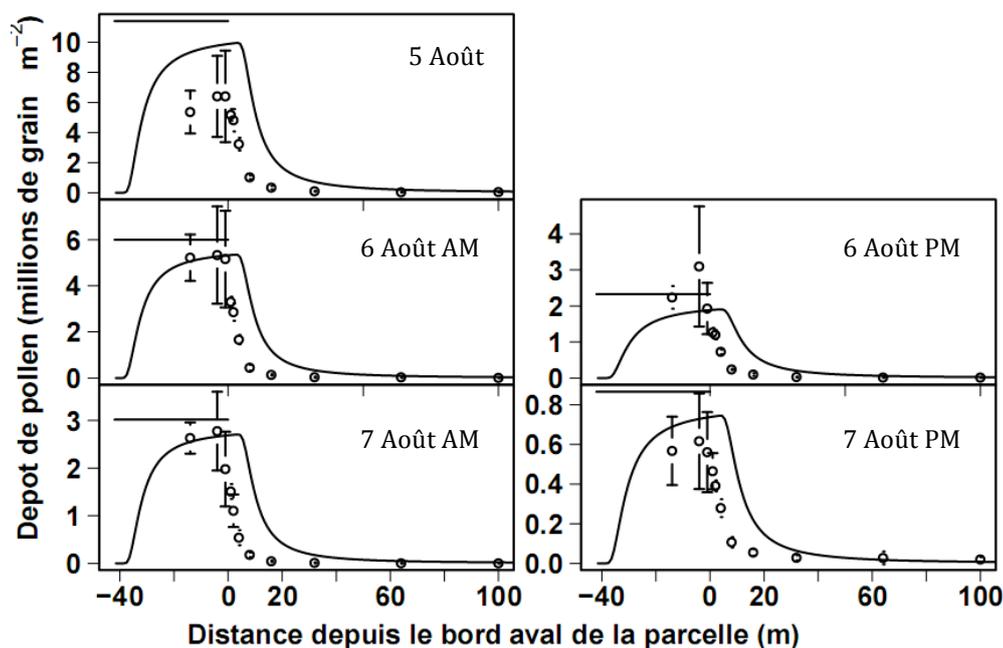


**Fig. IV-1.** Dépôt de pollen au sol en aval de la parcelle émettrice (normalisé par le dépôt moyen dans la parcelle à la base des panicules) en fonction de la distance depuis le bord de la parcelle source. La légende indique la vitesse de vent moyenne sur chaque période.

dans la gamme de variation des mesures de dépôt ( $\pm 0.9$  millions de grains  $m^{-2}$  par rapport aux mesures moyennes de dépôt).

La Figure IV-1 représente les gradients de dépôt moyens normalisés par le dépôt moyen dans la parcelle. A 1 m en aval du bord de la parcelle le dépôt normalisé est en moyenne de 70 %. Pour les quatre premières périodes, le dépôt normalisé est inférieur à 1% après 50 m. Pour la dernière période, durant laquelle le vent est le plus fort, les dépôts normalisés sont égaux à 4.8 et 3.1 % à 64 et 100 m respectivement.

La Figure IV-2 montre les gradients de dépôt mesurés et simulés par le modèle GDS ainsi que l'émission mesurée. Dans la parcelle, les dépôts au sol simulés sont



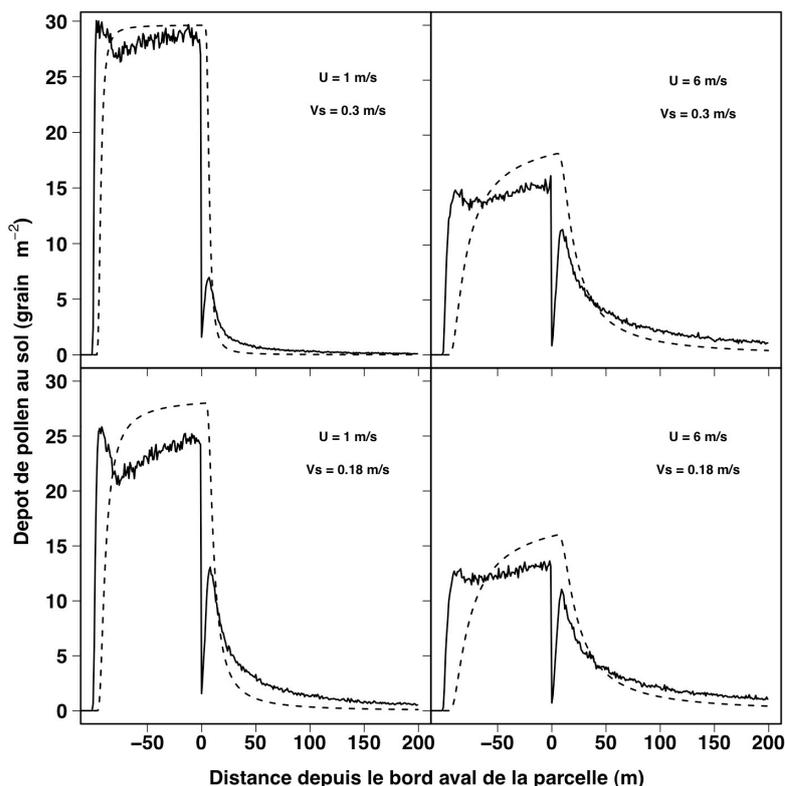
**Fig. IV-2.** Dépôt au sol de pollen en fonction de la distance depuis le bord de la parcelle émettrice au cours des 5 périodes de mesures. Les points et les barres d'erreurs représentent les moyennes et les écart types des dépôts mesurés. Les traits horizontaux représentent les quantités mesurées de pollen émises par  $m^2$ . Les lignes représentent les dépôts simulés par le modèle GDS. La parcelle est située entre -42 et 0 m.

En aval, pour les distances comprises entre 0 et 32 m, le modèle GDS surestime systématiquement les gradients moyens de 1.7 millions de grains  $m^{-2}$  en moyenne. Pour les

distances de 64 et 100m, le modèle surestime les mesures de 55 000 grains  $m^{-2}$  en moyenne pour les quatre premières périodes. Pour la cinquième période, la plus venteuse, le modèle sous-estime les mesures de 10 mille grains  $m^{-2}$  en moyenne.

### ***b) Comparaison avec un modèle lagrangien***

La Figure IV-3 représente les dépôts de pollen au sol simulés par les modèles SMOP-2D et GDS pour 2 conditions de vent et 2 distributions de vitesse de sédimentation contrastées. Des profils de dépôts spécifiques sont observés pour chaque modèle que nous allons décrire depuis le bord amont vers le bord aval de la parcelle.



**Fig. IV-3.** Simulations du dépôt au sol de pollen en fonction de la distance depuis le bord aval d'une parcelle émettrice de 100m de long pour 4 conditions de vitesses de vent et de vitesses de sédimentation du pollen contrastées. Les lignes pleines représentent les simulations du modèle lagrangien SMOP-2D et les lignes en pointillées celles du modèle analytique GDS.

Pour SMOP-2D, un pic de dépôt est estimé à proximité du bord amont de la parcelle. Le pic est situé entre 4.5 et 15.5 m du bord amont pour des vents de 1 et 6  $m s^{-1}$ , respectivement. Le pic est d'autant plus marqué que le vent et la vitesse de sédimentation sont faibles. Le dépôt minimal dans la parcelle est situé juste après ce pic à une distance stable de  $24.4 \pm 2.5$  m du bord amont. Ensuite, le dépôt augmente légèrement et continuellement jusqu'au bord aval. Pour des vents supérieurs à 1  $m s^{-1}$ , le pic de dépôt sur le bord aval est plus fort que celui sur le bord amont. Une rupture nette marque le bord aval de la parcelle. Elle est suivie d'un

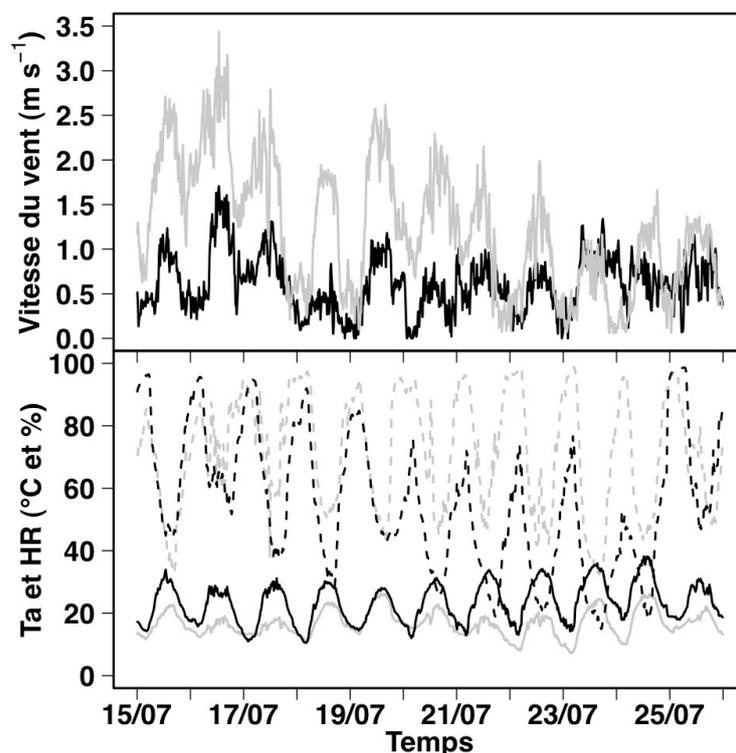
pic de dépôt puis d'une décroissance exponentielle. Ce pic en aval est situé à une distance d'environ 6.5 m pour des vent de  $1 \text{ m s}^{-1}$  et une distance stable de 8.5 m pour des vent supérieurs. Le dépôt estimé par GDS est très faible sur les premiers mètres en amont de la parcelle. Le dépôt est inférieur à 0.01 % de l'émission par mètre carré sur les 3 premiers mètres pour des vents de  $1 \text{ m s}^{-1}$  et sur les 5 premiers mètres pour des vent supérieurs à  $4 \text{ m s}^{-1}$ . Le dépôt augmente ensuite et devient stationnaire. Moins le vent est fort et plus le dépôt stationnaire est atteint à proximité du bord amont. Le dépôt commence à décroître à une distance de 2.5 à 5.5 m du bord aval suivant une fonction linéaire de la vitesse de vent. En aval de la parcelle, le dépôt diminue exponentiellement et plus rapidement que SMOP-2D.

La comparaison entre les deux modèles montre que les estimations de GDS sont inférieures à celle de SMOP-2D depuis le bord amont de la parcelle jusqu'à une distance d'inversion. Cette distance, notée  $x_1$ , est comprise entre 15.5 et 37.5 m du bord amont de la parcelle source. A partir de  $x_1$ , dans tout le reste de la parcelle, et jusqu'à une deuxième distance d'inversion,  $x_2$ , les estimations de GDS sont supérieures à celles de SMOP-2D. A partir de  $x_2$ , compris entre 9.5 et 37.5 m du le bord aval de la parcelle, les estimations de SMOP-2D sont supérieures à celles de GDS. Ces distances d'inversion augmentent surtout avec la vitesse de vent et diminuent, plus faiblement, lorsque la vitesse de sédimentation moyenne augmente. Les deux distances semblent se stabiliser à partir d'une vitesse de vent de  $5 \text{ m s}^{-1}$ . Les pourcentages de pollen dispersé en dehors de la parcelle, relativement à la quantité total émise, varient de 2 % à 18 % pour des vents faibles et forts, respectivement. Ces pourcentages sont très similaires entre les deux modèles (corrélation = 0.99).

#### IV.3.2. Pollinisation inter-parcellaire pour différentes configurations d'isollements et scénarios météorologiques

La figure IV-4 représente les séries temporelles (provenant de mesures expérimentales collectées durant le mois de Juillet à Thiverval-Grignon (78)) des variables météorologiques associées aux scénarios « vent fort », « vent faible », « chaud et sec » et « froid et humide ». Nous décrivons rapidement les séries temporelles en calculant les valeurs extrêmes et moyennes entre 06 :00 et 18 :00 TU. La série temporelle « vent fort » est comprise entre 0.2 et  $3.4 \text{ m s}^{-1}$  avec un vent moyen de  $1.61 \text{ m s}^{-1}$ . Elle atteint un maximum le 16 juillet puis diminue jusqu'à atteindre, à partir du 23 juillet, des vitesses équivalentes à la série temporelle « vent faible ». Cette dernière est relativement stationnaire avec des vents compris entre 0.05 et  $1.7 \text{ m s}^{-1}$  et une moyenne de  $0.8 \text{ m s}^{-1}$ . Les vents les plus forts sont observés le deuxième jour. Pour le scénario « chaud et sec », les séries temporelles de température et humidité

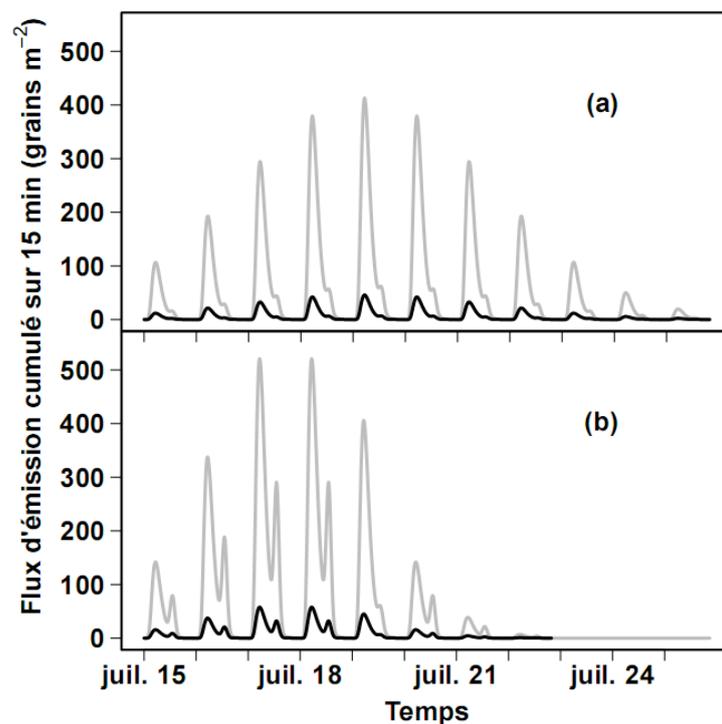
varient de 18 à 38 °C et de 15 à 98 %, respectivement. Les moyennes sont de 28.6 °C et 42.8 %. Pour le scénario « froid et humide », les conditions varient de 13 à 26 °C et de 32 à 92 % pour la température et l'humidité, respectivement. Les moyennes sont de 19.6 °C et 58.3 %.



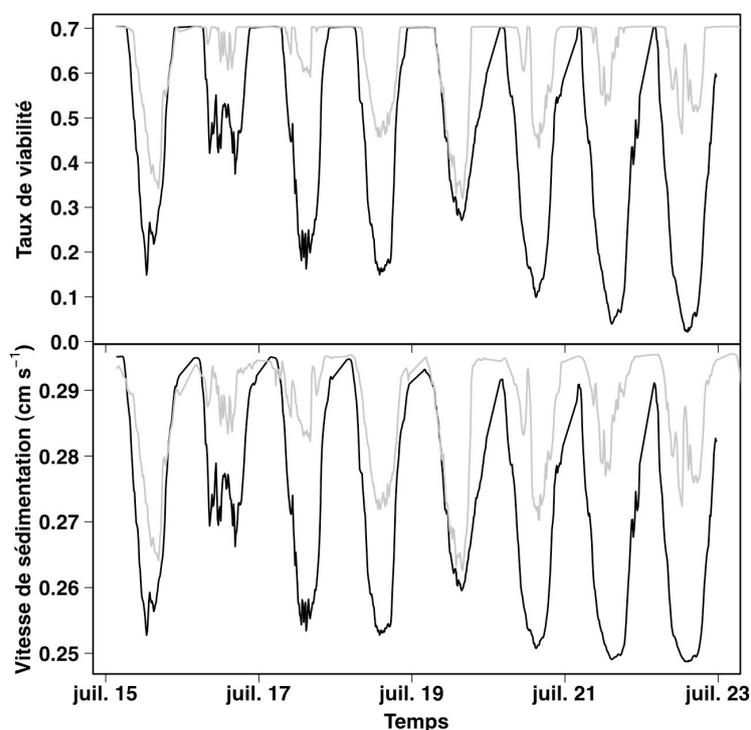
**Fig. IV-4.** Séries temporelles (en haut) du vent à hauteur des panicules, (en bas) de la température et de l'humidité relative. Dans le graphique du haut, les scénarios « vent fort » (trait gris) et « vent faible » (trait noir) sont représentés. Dans le graphique du bas, le scénario « chaud et sec » (pointillé noir) et le scénario « froid et humide » (pointillé gris) sont représentés.

A partir de ces scénarios nous avons estimé les entrées nécessaires au modèle de dispersion sur un pas de temps de 15 minutes. La figure IV-5 montre les estimations des flux d'émission cumulés sur 15 minutes pour plusieurs scénarios météorologiques. La parcelle donatrice, lorsqu'elle est « hybrides », émet 10 fois plus de pollen que la parcelle « semences ». Les dynamiques d'émission sont identiques entre les deux parcelles étant donné que les saisons d'émission commencent le même jour et que les conditions météorologiques sont identiques. On observe des durées d'émission de pollen entre 6 et 9 jours pour les scénarios « chaud et sec » et « froid et humide », respectivement. Pour la saison la plus chaude, les quantités journalières maximales sont plus fortes et un second pic d'émission l'après midi est plus fréquent. La figure IV-6 montre les estimations des taux de viabilité et des vitesses de sédimentation moyennes. Les taux de viabilité varient de 2 à 70.4 % et de 28 à 70.4 % avec une moyenne de 42.2 et 67.2 % pour le scénario « chaud et sec » combiné avec « froid et humide », respectivement. Les vitesses de sédimentation moyenne du pollen viable varient de 24.9 à 29.5 cm s<sup>-1</sup> et de 26 à 29.5 cm s<sup>-1</sup> avec une moyenne de 27.1 et 28.8 cm s<sup>-1</sup> pour le

scénario « chaud et sec » combiné avec « froid et humide », respectivement. Ainsi, pour le scénario « chaud et sec » le pollen est moins viable mais plus léger.

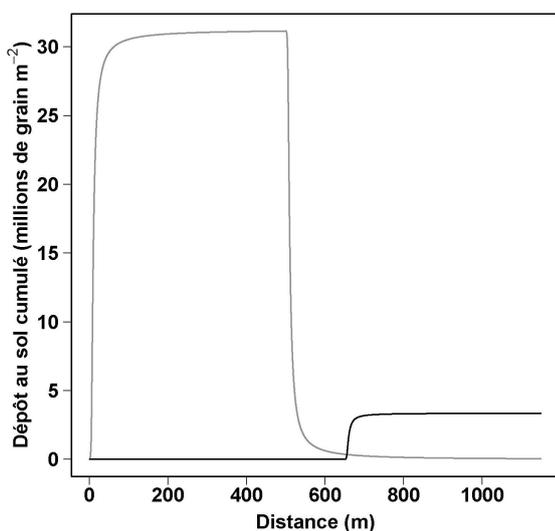


**Fig. IV-5.** Simulations du flux d'émission d'une parcelle « hybrides » (gris) et d'une parcelle « semences » (noir) pour les scénarios (a) « froid et humide » et (b) « chaud et sec ».

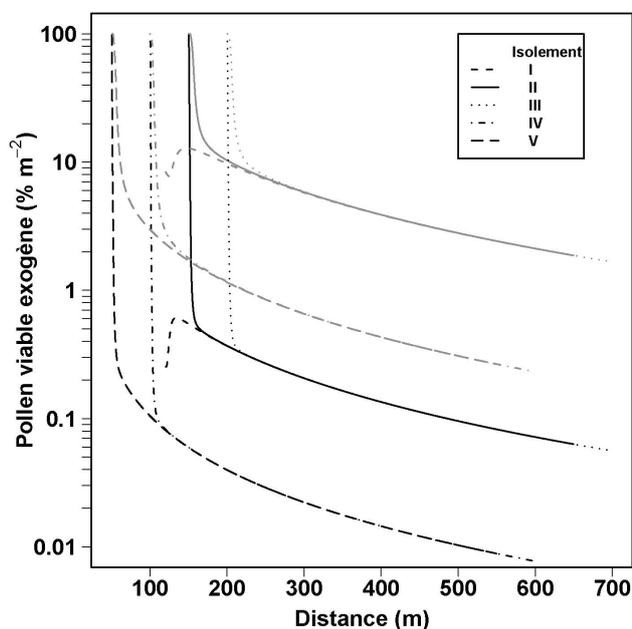


**Fig. IV-6.** Simulations des taux de viabilité (graphe supérieur) et vitesse de sédimentation moyenne (graphe inférieur) du pollen viable au moment de l'émission pour les scénarios « froid et humide » (traits gris) et « chaud et sec » (traits noirs).

Nous avons estimé la dispersion du pollen viable tout au long de la saison d'émission provenant d'une parcelle donatrice et de la parcelle réceptrice « semences ». Sur la Figure IV-7 sont représentés les dépôts cumulés sur toute la saison pour un isolement de 150 m entre une parcelle « hybrides » et une parcelle « semences » et pour le scénario « vent fort » combiné au scénario « chaud et sec ». Dans ce cas, la parcelle donatrice produit 10 fois plus de pollen que la parcelle réceptrice. A partir de ces dépôts cumulés dans le temps nous calculons les taux de grains de pollen exogènes par mètre carré pour estimer un risque potentiel de fécondation croisée. Sur la Figure IV-8 sont représentés les taux par mètre carré en fonction de la distance au bord aval de la parcelle donatrice pour les 5 scénarios d'isolement selon les 2 scénarios météorologiques les plus extrêmes (i) « vent fort » combiné avec « froid et humide » et (ii) « vent faible » combiné avec « chaud et sec ».



**Fig. IV-7.** Dépôt de pollen viable cumulé sur la période de floraison en fonction de la distance depuis le bord amont de la parcelle donatrice. Les deux parcelles ont une profondeur de 500 m et sont séparées de 150 m. Le pollen provenant de la parcelle donatrice est représenté en gris et celui provenant de la parcelle réceptrice, i.e., parcelle semences, en noir.



**Fig. IV-8.** Pourcentage de pollen viable exogène par mètre carré en fonction de la distance depuis le bord aval de la parcelle donatrice. Les traits gris représentent les estimations pour le scénario météorologique « vent fort » combiné à « froid/humide » et les traits noirs pour le scénario météorologique « vent faible » combiné à « chaud/sec ». Les cinq scénarios d'isolement sont: (I) 200 m, (II) 150 m et (III) 100 m + 20 m de mâle d'isolement pour une parcelle donatrice « hybrides », et, (IV) 50 m et (V) 100 m, pour une parcelle donatrice « semences ».

Nous observons pour tous les isolements, sauf le III, un taux de pollen viable exogène supérieur à 50 % sur le premier mètre pour des vents faibles et sur les 5-6 premiers mètres pour des vents forts. Pour l'isolement III, la barrière pollinique en amont de la parcelle

« semences », prévient de l'occurrence de ce taux maximum, d'autant plus que le vent est fort. Pour cet isolement, on observe un pic de risque entre 14 et 25 m du bord amont de la parcelle réceptrice pour des vents faibles et forts, respectivement. Pour un scénario météorologique et une parcelle donatrice donnée, les risques convergent après les premiers mètres du bord amont de la parcelle réceptrice et ne dépendent plus que les risques par mètre de la distance au bord aval de la parcelle donatrice. Les risques sont principalement augmentés pour le scénario « vent fort » et lorsque la parcelle donatrice produit dix fois plus de pollen que la parcelle réceptrice.

A partir de ces taux nous calculons un taux moyen de pollen exogène viable sur la parcelle « semences » (Tab. IV-2). Quelle que soit la configuration de l'isolement, le pourcentage moyen de pollen viable exogène est le plus faible pour le scénario « vent faible » combiné à « chaud et sec » et le plus fort pour le scénario « vent fort » combiné à « froid et humide ». En comparant les risques pour les différentes configurations d'isolement, il ressort que les risques les plus faibles sont estimés pour un isolement de 100 m avec une autre parcelle « semences ». Les risques les plus forts sont estimés pour un isolement de 150 m avec une parcelle « hybrides ». Nous simulons également que, lorsque la parcelle donatrice est une parcelle « hybrides » l'isolement de 100m + 20 m et l'isolement de 200 m ont des risques équivalents.

Scénarios		Isolement de la parcelle « semences » d'une parcelle :				
		« semences »		« hybrides »		
		(IV) 50m	(V) 100m	(I) 100m +20m mâle	(II) 150m	(III) 200 m
« vent faible »	« chaud et sec »	0.27 %	0.24 %	0.2 %	0.42 %	0.37 %
	« froid et humide »	0.35 %	0.28 %	0.42 %	0.67 %	0.57 %
« vent fort »	« chaud et sec »	1.75 %	1.3 %	3.78 %	4.56 %	3.79 %
	« froid et humide »	2.31 %	1.73 %	5.33 %	6.23 %	5.2 %

**Tab. IV-2.** Pourcentage moyen de pollen exogène viable dans la parcelle « semences »

## **IV.4. Discussion**

### ***a) Comparaison de nos mesures de dispersion avec la littérature***

Les dépôts mesurés à la base des panicules étaient plus variables en bordure de parcelle que plus profondément dans la parcelle. Probablement les tailles variables et l'hétérogénéité de floraison des plantes en bordure de parcelle sont impliqués. Pour une bonne estimation du dépôt dans la parcelle, les capteurs doivent être placés loin des bordures.

Les quantités émises et dispersées sont plus importantes le matin que l'après-midi comme l'a montré Jarosz (2003). Il n'est pas envisageable de comparer en valeur absolue les quantités dispersées en aval de la parcelle avec d'autres études étant donnée la forte dépendance aux conditions météorologiques, à la variété, et au jour dans la saison d'émission. Nous pouvons dans un premier temps les comparer de manière qualitative. Nous observons des gradients de dépôt en aval de la parcelle toujours décroissants comme l'ont observé beaucoup d'auteurs (Kawashima *et al.*, 2005 ; Arritt *et al.*, 2007 ; Chamecki *et al.*, 2008 ; Vogler *et al.*, 2009). Cependant, Jarosz *et al.* (2003) ont parfois observé un pic de dépôt à quelques mètres du bord d'une parcelle source qu'ils attribuaient à des périodes d'instabilité atmosphérique. Par modélisation, Dupont *et al.* (2006) simulent systématiquement un pic de dépôt à quelques mètres du bord de la parcelle. Si pour une source ponctuelle il est normal d'observer un pic de dépôt en aval, il serait intéressant de le valider expérimentalement dans le cas d'une parcelle source en raffinant les mesures de dépôts dans les premiers mètres en aval.

Dans un deuxième temps, nous comparons les paramètres de puissance des fonctions de puissances ajustés sur les gradients de dépôts mesurés ce qui nous renseigne sur l'intensité du gradient. Pour information, dans la limite de nos conditions météorologiques, les gradients de dépôt en aval étaient mieux ajustés par une fonction de puissance que par une fonction exponentielle. Les paramètres de puissance estimés varient entre -1.13 et -0.95 pour des vents autour de  $1.2 \text{ m s}^{-1}$  et -0.76 pour un vent moyen de  $1.7 \text{ m s}^{-1}$ . Plus la puissance est proche de zéro moins le gradient est prononcé et plus la dissémination est importante. Jarosz *et al.* (2005) estiment des puissances comprises entre -1.2 et -0.5 sans toutefois regarder les relations avec la vitesse du vent. Enfin, dans un troisième temps, nous comparons les dépôts mesurés avec deux études en les normalisant par le dépôt à 1m. A 32 m en aval de la source, Jarosz *et al.* (2005) trouvent des dépôts normalisés inférieurs à 10% et nos mesures montraient des dépôts normalisés de 0.6-2.1% et de 6% pour des vitesses moyennes de vent

de 1.2 et 1.7 m s<sup>-1</sup> respectivement. Après 60 m Raynor *et al.* (1972) trouvait des dépôts normalisés inférieurs à 1%, ce qui est le cas dans notre étude pour des vents moyens de 1.2 m s<sup>-1</sup>, mais pas pour des vents moyens de 1.7 m s<sup>-1</sup> pour lesquelles nous trouvions 6 %.

### ***b) Intérêts et limites de la solution analytique pour l'estimation de la pollinisation inter-parcellaire***

La solution analytique utilisée ici a pour intérêt principal sa simplicité ce qui en fait une solution rapide à mettre en œuvre et en temps de calcul : pour chaque scénario environ une minute de calcul était nécessaire. En comparaison, il faudrait plusieurs jours de calcul avec un modèle lagrangien pour simuler le même type de risques. De manière générale, les modèles gaussiens sont valides lorsque le champ turbulent est uniforme, c'est le cas par exemple à haute altitude. Pour s'assurer de la validité du modèle à proximité du sol, là où un fort gradient vertical de vitesse existe, et en présence de couverts discontinus, nous l'avons d'abord comparé avec des données expérimentales acquises pendant l'étude. Le modèle surestime fortement les dépôts mesurés à proximité de la source ce qui est cohérent avec Craig *et al.* (2004) qui affirment que les modèles gaussiens ne sont pas précis pour estimer la dispersion à des distances inférieures à 50 m. Ainsi le modèle est adapté pour étudier les risques de pollinisation entre parcelles distantes d'au moins 50 m ce qui est le cas des isolement spatiaux utilisé ici. Nous avons également comparé le modèle GDS avec un modèle lagrangien (SMOP). Les estimations de GDS sont légèrement inférieures à celle de SMOP au-delà de 10 à 40 m de la source en fonction de la vitesse du vent. Globalement, les deux modèles estiment des courbes de dépôt assez similaires.

Toutefois, nous validons le modèle dans le cas d'une parcelle source suivit d'une bande de sol nu alors que le modèle est utilisé dans le cas de deux parcelles séparées par une distance d'isolement, une validation dans cette configuration serait à considérer.

Le modèle GDS a été développé pour simuler la dispersion depuis des sources infiniment longues ce qui permet de considérer la dispersion latérale comme un processus stationnaire ne modifiant pas les dépôts. Dans le cas d'une parcelle de maïs, la dispersion latérale augmente avec la distance à la source ce qui entraîne une diminution des dépôts avec la distance. Dans ces conditions, Craig *et al.* (2004) conseillent d'utiliser le modèle pour prédire le dépôt jusqu'à une distance équivalente à la largeur du champ.

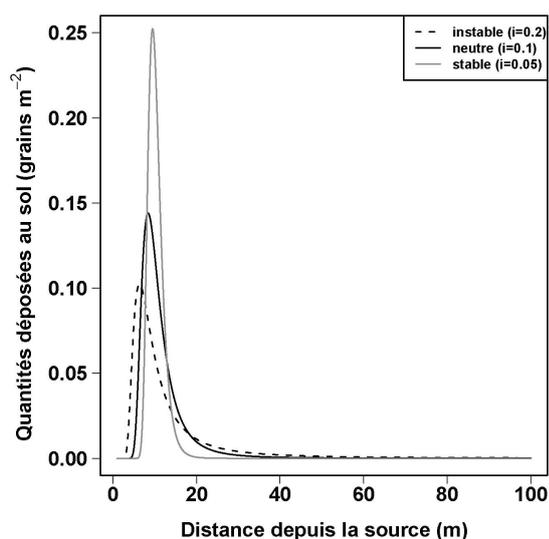
Le fait de ne pas estimer la dispersion latérale empêche de prendre en compte des agencements de parcelles autres que parallèles ainsi que des changements de direction du vent. Ainsi, la solution GDS permet d'estimer la pollinisation inter-parcellaire maximale,

c'est-à-dire avec un vent dans la direction la plus favorable au transfert de pollen vers la parcelle réceptrice. Pour étudier divers agencements de parcelles une estimation de la dispersion latérale doit être envisagée.

D'autre part, le modèle GDS ne prend pas en compte le dépôt du pollen sur la végétation. Ce dépôt peut avoir deux effets : la rétention du pollen dans la source et un rôle de barrière dans la parcelle réceptrice. En ce qui concerne la rétention dans la parcelle source, étant donné la hauteur du couvert, comprise entre 2 et 3 m de haut, il est vraisemblable que ce dépôt n'influence que la dispersion à très courte distance et non la dispersion inter-parcellaire à laquelle nous nous intéressons. Dans la parcelle réceptrice, le rôle de barrière physique du couvert n'est pas pris en compte; ainsi, les mâles d'isolement que nous utilisons constituent plutôt une barrière pollinique, c'est-à-dire une source additionnelle de pollen local qui va diluer le pollen exogène.

On notera également que le modèle GDS n'est pas conservatif : une proportion non négligeable de pollen est supposée rester dans l'atmosphère. Dans les conditions de neutralité thermique que nous avons imposée cette proportion est principalement déterminée par la vitesse du vent. Cette proportion peut être vue comme une source de pollen alimentant la dispersion à l'échelle régionale et ainsi les risques de pollinisation croisée à longue distance.

Dans le cas du scénario « vent faible » combiné avec le scénario « chaud et sec » il est vraisemblable que l'atmosphère soit le plus souvent instable alors que nous avons supposé une atmosphère neutre. Le modèle pourrait rendre compte de l'effet de l'instabilité sur la



**Fig. IV-9.** Dépôt de pollen au sol estimé par le modèle GDS en condition stable, neutre et instable

dispersion en fixant  $i = 0.2$  mais ne permet pas d'estimer les périodes durant lesquelles l'atmosphère est instable. Sur la Figure IV-9, qui présente les courbes de dépôt pour des conditions stable, neutre et instable, on voit que l'instabilité entraîne un pic de dépôt plus proche de la source et augmente la dispersion à plus longue distance. Cette instabilité augmente également la proportion de pollen qui reste dans l'atmosphère.

Pour prendre en compte l'effet des conditions de stabilité sur la dispersion, il est envisagé (dans le cadre d'une future publication inspirée de ce chapitre) d'utiliser la

classification de stabilité de Pasquill (1974) qui dépend essentiellement du rayonnement et de la vitesse du vent ainsi que de s'appuyer sur une validation à l'aide d'un modèle numérique décrivant la stabilité de manière plus réaliste (par exemple Dupont *et al.*, 2006).

### ***c) Hiérarchisation des méthodes d'isolement en termes d'efficacité***

Nous hiérarchisons les méthodes d'isolement à partir de l'estimation des flux de pollen exogène et de ceux de pollen autochtone. Nous simulons des taux de pollen viable exogène qui diminuent avec la distance à la parcelle donatrice. A part lorsque des mâles d'isolement sont utilisés, nos simulations montrent des taux parfois proche de 100 % sur le bord amont de la parcelle réceptrice et qui diminuent ensuite rapidement. Ces risques élevés sur le bord amont des parcelles réceptrices sont cohérents avec plusieurs études expérimentales au cours desquelles les taux de fécondation croisée étaient mesurés (Ireland *et al.*, 2006; Della Porta *et al.*, 2007).

La vitesse du vent augmente les risques à la fois en augmentant la quantité de pollen exogène arrivant sur la parcelle réceptrice et aussi en augmentant la quantité de pollen local qui s'échappe hors de celle-ci. Cependant, le modèle lagrangien simule un pic de dépôt sur le bord amont d'une parcelle-source ce qui, en principe, protège la parcelle réceptrice sur son bord le plus exposé.

Notre étude montre que la configuration d'isolement la moins à risque, toutes conditions météorologiques égales par ailleurs, est une distance de 100 m entre deux parcelles « semences ». Nos simulations montrent également que les risques pour une parcelle « semences » au voisinage d'une parcelle « hybrides » sont très similaires qu'elles soient séparées de 200m ou 100m + 20m de mâle d'isolement. Della Porta *et al.* (2007) montrent que l'isolement spatial est plus efficace en utilisant des mâles d'isolement par comparaison à une bande de sol nu. Il serait intéressant de regarder jusqu'à quel point on peut réduire les risques en augmentant l'isolement mâle. Toutefois l'isolement mâle ne peut être utilisé qu'entre une parcelle « hybrides » et une parcelle « semences » puisque entre deux parcelles « semences » il serait à la fois une barrière et une source de pollution.

## **IV.5. Conclusion**

Nous avons développé un modèle prédisant les risques de fécondation croisée à partir des taux de pollen viable exogène arrivant sur une parcelle. Nous avons utilisé ce modèle dans le cadre de la production de semence caractérisé par une faible production de pollen. Plusieurs

modèles de la littérature estiment les risques de fécondation croisée sur un pas de temps journalier (Angevin *et al.*, 2008 ; Astini *et al.*, 2009). L'originalité de notre modèle est d'utiliser un pas de temps beaucoup plus court (ici 15 minutes). Le modèle peut également être utilisé sur une base journalière en utilisant des conditions météorologiques moyennes. Il serait intéressant de comparer et valider les simulations pour différents pas de temps dans le but de trouver le meilleur rapport précision / temps de calcul.

Même si le modèle présente des lacunes d'un point de vue physique, notamment l'effet des discontinuités des couverts sur l'écoulement aérien, et biophysique, en raison de la mise en œuvre d'un modèle d'émission très statistique, le modèle peut être utilisé comme outil d'alerte pour identifier des conditions météorologiques ou de configuration d'isolement favorisant la pollinisation inter-parcellaire. Notre étude fournit également des éléments, pouvant être combinés avec d'autres approches, pour étudier les risques de fécondation croisée pour différents scénarios climatiques, un déséquilibre de la production totale de pollen et de la taille des parcelles donatrice et émettrice, un décalage de floraison, la présence de distance d'isolement ou encore d'une barrière pollinique.

Dans l'hypothèse d'étendre la démarche à un modèle mixte de pollinisation-fécondation croisée, il faudra coupler le modèle élaboré à un modèle de floraison femelle prédisant le nombre d'ovules disponible à la fécondation en fonction du temps dans la journée. Pour prédire le taux de fécondation croisée, Astini *et al.* (2009) utilisent un modèle de dispersion lagrangien et le modèle de fécondation journalier de Lizaso *et al.* (2003). Cependant, ce modèle de fécondation n'est pas prédictif, nécessitant des mesures tout au long de la floraison. Une étude sur la dynamique d'extraction des soies en relation avec la température ou encore sur l'effet du stress hydrique sur la réceptivité des soies est à envisager.

## **Remerciements**

Ce projet a été financé par le GNIS (groupement Interprofessionnel des semences), la Fédération nationale de la Production de semences de maïs et de sorgho, Arvalis-institut du végétal et l'association Nationale de la Recherche Technique. Nous remercions Sylvie Masson, Nadler Nahindy Simon, Otmane Souhar et tout particulièrement Brigitte Durand pour leur excellente assistance technique. Nous remercions également Jessica Bertheloot pour la relecture du manuscrit.

## Références

- Arritt, R.W., Clark, C.A., Goggi, A.S., Sanchez, H.L., Westgate, M.E., Riese, J.M., 2007. Lagrangian numerical simulations of canopy air flow effects on maize pollen dispersal. *Field Crops Research* 102(2), 151-162.
- Astini, J.P., Fonseca, J.P., Clark, C., Lizaso, J., Grass, L., Westgate, M., Arritt, R., 2009. Predicting outcrossing in maize hybrid seed production. *Agronomy Journal*, 101(2): 373-380.
- Bouvet, T. and Wilson, J.D., 2006. An approximate analytical solution for the deposition of heavy particles released from an elevated line source. *Boundary-Layer Meteorology*, 119(1): 1-18.
- Chamecki, M., Meneveau, C., Parlange, M.B., 2009. Large eddy simulation of pollen transport in the atmospheric boundary layer. *Journal of Aerosol Science*, 40(3): 241-255.
- Craig, I.P., 2004. The GDS model - a rapid computational technique for the calculation of aircraft spray drift buffer distances. *Computers and Electronics in Agriculture*, 43(3): 235-250.
- Della Porta, G., Ederle, D., Bucchini, L., Prandi, M., Verderio, A., Pozzi, C., 2008. Maize pollen mediated gene flow in the Po valley (Italy): Source-recipient distance and effect of flowering time. *European Journal of Agronomy*, 28(3): 255-265.
- Devos, Y., Demont, M., Dillen, K., Reheul, D., Kaiser, M., Sanvido, O., 2009. Coexistence of genetically modified (GM) and non-GM crops in the European Union: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1): 11-30.
- Dupont, S., Brunet, Y., Jarosz, N., 2006. Eulerian modelling of pollen dispersal over heterogeneous vegetation canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 141(2/4): 82-104.
- Fonseca, A.E., Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Grass, L., Dornbos, D.L., 2004. Simulating potential kernel production in maize hybrid seed fields. *Crop Science*, 44(5): 1696-1709.
- Ireland, D.S., Wilson, D.O., Westgate, M.E., Burris, J.S., Lauer, M.J., 2006. Managing reproductive isolation in hybrid seed corn production. *Crop Science*, 46(4): 1445-1455.
- Jarosz, N., 2003. Etude de la dispersion atmosphérique du pollen de maïs: Contribution à la maîtrise des risques de pollinisation croisée, Paris, 128 pp.
- Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., Foueillassar, X., Hubert, L., 2005. Variations in maize pollen emission and deposition in relation to microclimate. *Environmental Science & Technology*, 39(12): 4377-4384.
- Jarosz, N., Loubet, B., Huber, L., 2004. Modelling airborne concentration and deposition rate of maize pollen. *Atmospheric Environment*, 38(33): 5555-5566.
- Kawashima, S., Matsuo, K., Du, M., Takahashi, Y., Inoue, S., Yonemura, S., 2004. An algorithm for estimating potential deposition of corn pollen for environmental assessment. *Environmental Biosafety Research*, 3(4): 197-207.
- Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Batchelor, W.D., Fonseca, A., 2003. Predicting potential kernel set in maize from simple flowering characteristics. *Crop Science*, 43(3): 892-903.
- Marceau, A., Guerineau, L., Huber, L., Angevin, F., Monod, H., 2008. Modelling diurnal and seasonal pattern of pollen emission in relation to meteorological factors. *Aspects of Applied Biology* 89, *Applied Aspects of Aerobiology*: 17-22.
- Marceau, A., Loubet, B., Andrieu, B., Durand, D., Foueillassar, X., Huber, L., 2011. Modelling diurnal and seasonal patterns of maize pollen emission in relation to meteorological factors. *Agricultural and Forest Meteorology*, 151(1): 11-21.
- Pasquill, F., 1974. *Atmospheric diffusion*, 2nd ed., Wiley, New York.
- Raynor, G.S., Ogden, E.C., Hayes, J.V., 1972a. Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agronomy Journal*, 64: 420-427.

- Uribelarrea, M., Carcova, J., Otegui, M.E., Westgate, M.E., 2002. Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Science*, 42(6): 1910-1918.
- Vogler, A., Wettstein-Battig, M., Aulinger-Leipner, I., Stamp, P., 2009. The airborne pollen flow of maize (*Zea mays* L.) in a multi-crop designed field plot. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149(10): 1776-1780.
- Westgate, M.E., Lizaso, J. and Batchelor, W., 2003. Quantitative relationships between pollen shed density and grain yield in maize. *Crop Science*, 43(3): 934-942.



# **Chapitre V**

Discussion générale



### ***a) Rappel du contexte et de l'approche utilisée***

Le transfert inter-parcellaire de pollen de maïs est susceptible d'altérer la pureté variétale et la qualité de la production de grains dans la mesure où il est responsable de la fécondation par du matériel génétique exogène. Du point de vue des partenaires à l'origine de ce travail de thèse, ces flux de gènes ont un impact conséquent en production de semences. En outre, cette problématique concerne aussi le maintien des variétés rustiques et le cas échéant la coexistence de parcelles de maïs conventionnel et génétiquement modifié.

De manière générale, pour assurer la coexistence de parcelles potentiellement affectées par des flux de gènes, il est nécessaire de pouvoir identifier les parcelles concernées et de mettre au point des solutions d'isolement. Dans ce but, nous avons construit une démarche de modélisation biophysique qui simule les étapes de libération et de transport du pollen dans le milieu atmosphérique, étapes qui conditionnent la fécondation croisée. Cette approche permet d'étudier de manière réaliste la pollinisation inter-parcellaire en prenant en compte les interactions entre différents processus. Elle permet également de travailler sur un pas de temps court à l'échelle de la journée et ainsi d'appréhender les dynamiques temporelles de ces processus et celles des variables météorologiques.

Dans cette étude nous avons pris en compte trois processus à savoir (i) l'émission de pollen, (ii) la déshydratation du pollen dans les anthères réduisant sa viabilité et sa vitesse de sédimentation à l'émission et (iii) la dispersion atmosphérique du pollen. En couplant ces trois modèles nous avons estimé la dispersion de pollen viable tout au long de la saison d'émission du pollen. Puis, à partir de ces estimations, nous avons calculé un risque potentiel de fécondation croisée correspondant à des pourcentages de pollen exogène viable. En regard de la littérature, une spécificité de notre étude est de travailler sur un pas de temps court, au lieu d'utiliser des conditions moyennes journalières plus communément employées (Astini *et al.*, 2009). De plus, notre étude prend en compte la quantité de pollen viable à l'émission plus pertinente que la quantité totale généralement utilisée.

Le modèle ayant vocation à faire partie de l'ensemble des outils utilisables par Arvalis - Institut du Végétal, sa mise en œuvre nécessite que chaque processus soit modélisé de manière simple et peu coûteuse en temps de calcul en utilisant des variables météorologiques accessibles. Dans les chapitres II et III, nous avons proposé des modèles biophysiques d'émission de pollen en termes de quantité et de qualité développés à partir d'expérimentations conduites durant la thèse. Dans le chapitre IV et sur la base d'acquis explicités dans le chapitre I, nous avons identifié et adapté une solution analytique de la

dispersion de particules pesantes qui s'appuie sur un nombre limité de paramètres physiques ou biophysiques en principe aisément renseignés.

***b) Un modèle opérationnel d'émission de pollen à l'échelle parcellaire prenant en compte les conditions météorologiques***

Dans le chapitre II, à partir d'un vaste jeu pluriannuel de données expérimentales collectées en grande partie durant la thèse, nous avons analysé les relations entre les conditions météorologiques et les dynamiques d'émission à l'échelle du champ. Nous avons décomposé la dynamique d'émission en deux composantes multiplicatives: la dynamique saisonnière sur un pas de temps journalier, et la dynamique journalière sur un pas de temps horaire. Les dynamiques saisonnières et journalières de l'émission ont été ajustées par des fonctions descriptives et leurs paramètres reliés aux conditions météorologiques. Cela nous a permis d'identifier les principales variables météorologiques modifiant les dynamiques d'émission à savoir l'humidité, la température et la vitesse du vent. La durée de la saison d'émission est réduite lorsque les températures sont élevées ce qui est en accord avec d'autres études (Marceau *et al.*, 2008). Notre étude a également montré l'élongation de la saison d'émission avec l'humidité, ce qui, à notre connaissance, est nouveau.

Au sein d'une journée, nous avons identifié huit situations météorologiques donnant lieu à des dynamiques journalières contrastées. Récemment, Viner *et al.* (2010) ont proposé une approche plus mécaniste de la dynamique journalière permettant des estimations plus souples par rapport à notre classification. Si les deux approches mettent en évidence le retard du démarrage de l'émission lors des matinées humides, elles apportent chacune des éléments spécifiques. Viner *et al.* (2010) mettent en évidence l'accélération de l'anthèse en réponse à l'augmentation de la température, du déficit de pression de vapeur et du rayonnement. Notre étude montre que, sans l'agitation des anthères et des panicules par les mouvements turbulents de l'air, la dynamique d'émission peut être ralentie ; elle met aussi en évidence la présence d'un deuxième pic d'émission en relation avec des températures élevées. Ces deux approches complémentaires permettent d'alimenter la réflexion sur les mécanismes impliqués et le rôle des variables météorologiques dans la dynamique d'émission du pollen.

Le modèle développé permet d'estimer les quantités de pollen émises tout au long de la période d'émission sur un pas de temps horaire en fonction de variables météorologiques aisément accessibles. Le modèle construit à partir de résultats expérimentaux utilisant des

hybrides précoces produisant entre 3 et 6 millions de grains de pollen pourra être étendu à des variétés produisant des quantités significativement différentes.

La décomposition de l'émission sur deux pas de temps distincts a permis de développer un modèle analytique simple. En faisant cela, nous avons supposé que la quantité journalière de pollen n'affecte pas la dynamique journalière mais seulement son amplitude. Cependant, les résultats suggèrent des liens entre les deux pas de temps qui pourraient être considérés pour le développement d'un modèle plus mécaniste. Le raccourcissement de la saison d'émission s'explique à l'échelle journalière par une augmentation de la fréquence du deuxième pic d'émission puisque les deux événements sont corrélés avec une augmentation de la température.

### ***c) Un modèle opérationnel de viabilité du pollen à l'émission en relation avec les conditions asséchantes de l'air***

La plupart des études de modélisation sur les risques de fécondation croisée ne distinguent pas les pollens viable et non viable alors que seul le pollen viable a un impact sur les risques de fécondation croisée. Dans le chapitre III, nous avons entrepris de développer un modèle utilisable pour estimer, à l'émission, le taux de viabilité ainsi que les distributions des vitesses de sédimentation respectives des pollens viable et non viable puisqu'elles affectent la dispersion. Pour cela, nous avons mené deux années d'expérimentation pour accéder à la variabilité, à l'émission, de la qualité du pollen à savoir la teneur en eau moyenne, la distribution de vitesse de sédimentation, la distribution du diamètre et de forme (par une méthode d'analyse d'images développée durant la thèse) et le taux de viabilité. Une des originalités de l'étude est d'accéder à la distribution de certaines caractéristiques biophysiques au lieu des seules valeurs moyennes plus communément mesurées (Aylor, 2002). Cependant nous n'avons pas observé la relation admise entre le taux de viabilité et la teneur en eau moyenne ce qui a conduit à supposer une défaillance des milieux de germination et à rejeter les mesures de viabilité. L'alternative a été d'estimer la viabilité à partir de la teneur en eau moyenne en utilisant une relation donnée par Fonseca et Westgate (2005).

Notre hypothèse de modélisation est que la déshydratation du pollen dans l'anthere en réponse à l'augmentation du pouvoir asséchant de l'air au cours de la journée conduit à faire diminuer le taux de viabilité ainsi que la vitesse de sédimentation. Le modèle estime la teneur en eau moyenne du pollen à l'émission à partir du modèle de déshydratation dans l'air de Fonseca et Westgate (2005). Pour cela, nous utilisons comme entrée le déficit de pression

de vapeur de l'air à hauteur des panicules cumulé durant une période courte précédent l'émission. Cette durée de déshydratation a été estimée sur nos mesures de teneur en eau. Malgré l'imprécision relative de l'estimation de la teneur en eau sur nos données, le modèle reproduit la tendance générale en utilisant des données météorologiques accessibles ce qui conforte notre hypothèse initiale. Nous supposons que le biais des estimations provient de l'utilisation des conditions d'humidité de l'air à hauteur des panicules à la place des conditions qui prévalent à l'intérieur de l'anthere. L'étude du microclimat dans l'anthere en fonction des échanges radiatifs et convectifs permettrait vraisemblablement d'améliorer les estimations. Elle permettrait aussi d'investiguer l'effet de l'environnement physique sur la durée de déshydratation dans l'anthere.

La teneur en eau moyenne nous permet d'estimer, à partir d'une relation empirique observée sur nos données, la distribution de la vitesse de sédimentation du pollen. Cette distribution a été ensuite utilisée pour calculer le taux de viabilité. En effet, nous avons mis en évidence une distribution bimodale des vitesses de sédimentation liée à deux catégories de forme de pollen : l'une sphéroïde et l'autre prismatique (en réalité une forme de « ballon dégonflé »). Le pollen prismatique est supposé non viable et le pollen sphéroïde, le plus hydraté associé à des vitesses de sédimentation plus élevées, est supposé partiellement viable. Son taux de viabilité est calculé comme la proportion de pollen ayant une teneur en eau supérieure à 30 % multiplié par un taux initial de pollen défectueux d'environ 70 %. Basée sur la littérature, cette relation mériterait cependant une validation plus complète. En simulant la dispersion de pollen sphéroïde et prismatique avec un modèle lagrangien, nous avons montré que le pollen prismatique est dispersé le plus loin lorsque le vent est modéré. Des résultats expérimentaux d'Arvalis - Institut du Végétal révèlent un gradient de viabilité en aval d'une parcelle source. Ce travail montre pour la première fois que les vitesses de sédimentation différentielles entre les pollens viable et non viable conduisent à un gradient de viabilité en aval de la source. Ces résultats permettent d'améliorer la modélisation des risques de fécondation croisée.

#### ***d) Une solution analytique simple pour modéliser la dispersion 1D en aval de la parcelle source***

Dans le chapitre IV, nous validons la solution analytique GDS (Craig, 2004), initialement développée pour prévoir en temps réel l'étendue du dépôt de traitements phytosanitaires par voie aérienne, transposée au pollen de maïs pour prévoir le dépôt au sol dans la direction

perpendiculaire à la parcelle source. Pour cela, nous avons comparé les estimations de GDS à des données expérimentales ainsi qu'à des simulations générées par le modèle lagrangien SMOP (construit progressivement au sein du laboratoire depuis plusieurs années) en situation de neutralité thermique, c'est à dire en l'absence de gradient thermique vertical. Dans un futur proche, il est envisagé de valider le modèle dans des situations d'instabilité thermique (existence de cellules convectives en présence d'un rayonnement élevé et de vents faibles).

Le choix de la solution analytique GDS s'est imposé par la contrainte opérationnelle, requérant des modèles économes en temps de calcul, et par le fait qu'elle prend en compte les paramètres physiques pertinents et aussi qu'elle est valide pour des particules de taille équivalente à celle du pollen de maïs. Cependant, cette solution limite l'étude de la dispersion au cas où la direction du vent est perpendiculaire à une parcelle infiniment longue et suppose également que toutes les sources dans une parcelle ont la même fonction de dispersion.

Initialement notre choix s'était porté vers une solution analytique accordée sur des simulations de dépôt du modèle lagrangien SMOP. Les simulations lagrangiennes, en fournissant les matrices de dispersion pour l'ensemble des sources, auraient permis d'estimer des fonctions de dispersion uni- ou bidimensionnelle au niveau du sol variant en fonction de la position de la source. Cependant, les travaux effectués dans cette direction (stage de Master de G. Miminah en 2008) ont montré que le choix d'une fonction suffisamment souple permettant de décrire la distribution spatiale du dépôt pour l'ensemble des conditions de vent n'est pas immédiat ni d'ailleurs l'identification des relations entre les paramètres de la fonction descriptive et les paramètres physiques que sont la hauteur de la source, la vitesse de sédimentation du pollen, la vitesse du vent et la stabilité atmosphérique.

En se plaçant dans le cas simplifié du dépôt pollinique 1D, la solution analytique permet de proposer une démarche opérationnelle pour des travaux de recherche appliquée prenant en compte les principaux paramètres physiques. Par contre, l'extension à l'étude de l'impact de l'agencement et des surfaces des parcelles ainsi que des directions de vent non perpendiculaires nécessiterait de développer un modèle 2D opérationnel de dépôt au sol.

#### ***e) Le couplage des processus permet de calculer un risque potentiel de fécondation croisée***

La condition préalable à la fécondation croisée est la pollinisation inter-parcellaire (transfert de pollen viable depuis une parcelle donatrice vers une parcelle réceptrice) résultant des processus physiques ou biophysiques d'émission-viabilité-dispersion des plantes donatrices pendant lesquels la variabilité météorologie a un impact majeur. L'appréciation des

risques de fécondation croisée suppose de prendre en compte les processus biologiques ou biochimiques au sein des plantes donatrices mais également au sein des plantes réceptrices. La plante réceptrice étant en dehors de notre champ de recherche nous supposons que cette composante biologique n'est pas limitante et ainsi que la pollinisation inter-parcellaire correspond à un risque potentiel de fécondation croisée.

En couplant les modèles d'émission, de qualité du pollen et le modèle GDS, nous avons estimé les quantités de pollen viable dispersées perpendiculairement à une parcelle infiniment longue sur un pas de temps horaire et ce tout au long de la période d'émission du pollen. A défaut de voir validées les estimations du couplage, nous supposons que la validation individuelle de chaque modèle est suffisante pour que le couplage soit lui aussi valide.

A partir de ces quantités, nous avons estimé des risques potentiels de fécondation croisée pour deux parcelles parallèles et infiniment longues et un vent perpendiculaire aux parcelles soufflant depuis la parcelle donatrice vers la parcelle réceptrice. Ces risques potentiels correspondent aux pourcentages de pollen exogène viable par rapport au pollen total viable dans la parcelle réceptrice. Les pourcentages ont été calculés en fonction de la distance à la source en cumulant sur toute la saison d'émission les quantités de pollen viable dispersées. On notera que la configuration des parcelles donatrice et réceptrice ainsi que la direction perpendiculaire du vent sont imposées par le modèle GDS. D'autres modèles de dispersion ne présentant pas ces contraintes pourraient être couplés avec les modèles d'émission et de qualité développés dans cette thèse.

Pour deux parcelles de 500 m de large ayant des saisons synchrones d'émission de pollen et pour différentes méthodes d'isollements et scénarios météorologiques (en imposant cependant la neutralité thermique), nous avons calculé des risques potentiels moyennés à l'échelle de la parcelle variant de 0.2 à 6.23 %. Cela peut paraître élevé par comparaison avec des résultats expérimentaux sur les taux effectifs de fécondation croisée. Nous insistons sur le fait que ces pourcentages ne représentent pas les taux effectifs de fécondation croisée mais un pourcentage de pollen exogène viable cumulé dans le temps dans le cas où la direction du vent est la plus favorable à la pollinisation inter-parcellaire. Nos simulations montrent que les risques potentiels sont principalement déterminés par la vitesse du vent et secondairement par un déséquilibre entre les productions totales de pollen des parcelles voisines. En comparant les méthodes d'isolement entre elles, nous avons par exemple observé que, dans le cas d'une parcelle donatrice produisant 10x plus de pollen que la parcelle réceptrice, l'augmentation de la pollinisation inter-parcellaire liée à une réduction de l'isolement de 200 m à 100 m pouvait être compensé par l'utilisation d'une barrière pollinique de 20 m. Nous avons également mis

en évidence par simulation qu'un isolement de 50 m entre parcelles produisant la même quantité de pollen est associé à des risques potentiels moins élevés qu'un isolement de 200 m avec une parcelle produisant 10 fois plus de pollen.

***f) Un outil transférable pour compléter l'évaluation des conditions de coexistence***

Pour répondre aux interrogations liées à la coexistence entre parcelles de maïs et plus particulièrement aux interrogations de l'interprofession en production de semences nous avons développé un modèle estimant des risques potentiels de fécondation croisée à l'échelle inter-parcellaire. Etant donné que nous n'estimons pas le taux effectif de fécondation croisée, notre modèle ne permet pas d'identifier des solutions d'isollements optimales pour assurer un taux de fécondation croisée inférieure à un certains seuil. Pour cela, notre modèle nécessiterait au moins d'être couplé avec un modèle d'émission de soies.

En l'état, notre modèle peut être utilisé pour comparer et hiérarchiser diverses méthodes d'isollements incluant des distances d'isolement, des barrières polliniques (vue comme une source additionnelle de pollen localisée en amont de la parcelle réceptrice qui va diluer les quantités de pollen exogène) ou encore des isollements temporels (décalage de floraison plus ou moins marqué)

Le modèle pourra être utilisé après la saison d'émission de pollen pour identifier les périodes durant lesquelles les conditions météorologiques ont favorisé la dispersion du pollen viable. Cela permettra de hiérarchiser les vérifications de pureté des parcelles dont la période de floraison femelle coïncide avec l'une de ces périodes. Il s'agira de calculer les quantités de pollen viable dispersées pour l'ensemble des dates de démarrage de l'émission durant le mois de Juillet en utilisant les séries temporelles des variables météorologiques mesurées loin du site d'intérêt. Pour cette utilisation, il est envisagé de programmer une validation du modèle en utilisant les données météorologiques du réseau d'observation de Météo France. Nous pouvons également proposer que le modèle soit utilisé pour hiérarchiser différents territoires en termes de potentiel de dispersion de pollen viable à partir d'une étude statistique sur les conditions météorologiques typiques durant le mois de Juillet.

Sur la question de recherche relative aux flux de gènes, notre modèle biophysique apporte des éléments de réponse et non pas la réponse sur l'estimation des risques de pollinisation croisée. On se rappellera que cet outil de simulation présente le bénéfice de la simplicité et du nombre limité de paramètres et variables ; ceci dit, il s'agit d'un modèle parmi un ensemble de modèles dont la plupart sont complexes et de paramétrisation souvent malaisée. Les

modèles d'émission développés durant la thèse pourront être utilisés pour alimenter ce type de modèle plus réaliste pour étudier des situations de coexistence dans des paysages fortement hétérogènes, en présence de haies par exemple, ou pour étudier les transferts de pollen à l'échelle régionale.

### ***g) Vers un modèle réaliste et opérationnel de fécondation croisée***

Comme nous l'avons dit dans les paragraphes précédents, les risques potentiels que nous estimons ne représentent pas les taux effectifs de fécondation croisée. Nous utilisons les quantités de pollen viable cumulées sur toute la saison d'émission alors qu'il faudrait prendre en compte les quantités mises en jeu au moment où de nouvelles soies sont extraites et réceptives. Par exemple, si les soies sont essentiellement extraites le matin lorsque les vents sont faibles, les risques potentiels que nous estimons sont probablement beaucoup plus élevés que les taux effectifs de fécondation croisée. Pour cela il est nécessaire de disposer d'un modèle supplémentaire estimant la dynamique d'émission des soies sur un pas de temps court et tout au long de la période d'émission en fonction des conditions météorologiques. Si il existe des modèles descriptifs d'émission de soies sur un pas de temps journalier, à notre connaissance, aucun modèle prédictif sur un pas de temps horaire n'a été proposé. De manière générale on manque de connaissances sur la dynamique journalière de l'émission de soies; y a-t'il par exemple un pic d'émission l'après-midi en parallèle de celui de l'émission de pollen en lien avec des températures élevées ? Une étude expérimentale et le développement d'un modèle serait nécessaire et pourrait s'inspirer de l'approche que nous avons mis en œuvre pour développer le modèle d'émission de pollen.

Par ailleurs, pour estimer les taux effectifs de fécondation croisée, il sera également nécessaire d'étudier la compétition entre le pollen local et le pollen exogène déposé sur les soies via notamment la vigueur du pollen. En effet, nous avons catégorisé le pollen en pollen viable et non viable mais nous n'avons pas distingué la vigueur des grains de pollen viable entre eux qui les rendent plus ou moins apte à féconder l'ovule. Pour cela, il serait intéressant d'étudier la vitesse d'initiation et de croissance du tube pollinique en fonction de la teneur en eau du pollen. Si la vigueur du pollen est liée à la teneur en eau, on peut supposer que plus le pollen est vigoureux moins il se disperse loin, selon la même logique que la dispersion de pollen viable et non viable liée à la vitesse de sédimentation (chapitre III) avec pour corollaire la réduction des risques de fécondation croisée.

Si le modèle que nous proposons s'arrête à la pollinisation inter-parcellaire, il n'en reste pas moins que certains des développements proposés constituent des avancées de connaissance ou de modélisation clairement susceptibles d'être intégrées dans un modèle à caractère plus général de fécondation croisée.

## **Référence**

- Astini, J.P., Fonseca, J.P., Clark, C., Lizaso, J., Grass, L., Westgate, M., Arritt, R., 2009. Predicting outcrossing in maize hybrid seed production. *Agronomy Journal*, 101(2): 373-380.
- Aylor, D.E., 2002. Settling speed of corn (*Zea mays*) pollen. *Journal of Aerosol Science*, 33(11): 1601-1607.
- Fonseca, A.E. and Westgate, M.E., 2005. Relationship between desiccation and viability of maize pollen. *Field Crops Research*, 94(2-3): 114-125.
- Marceau, A., Guerineau, L., Huber, L., Angevin, F., Monod, H., 2008. Modelling maize pollen emission during the day and the flowering period. *Aspects of Applied Biology* 89, *Applied Aspects of Aerobiology*: 17-22.
- Viner, B.J., Westgate, M.E., Arritt, R.W., 2010. A Model to Predict Diurnal Pollen Shed in Maize. *Crop Science*, 50(1): 235-245.





## Résumé

La coexistence de parcelles de maïs implique des transferts de pollen inter-parcellaire, sous l'action du vent, qui peuvent altérer la pureté des productions en grains ou être le vecteur de dissémination de transgènes. Pour limiter ces transferts, différents isolements spatiaux sont préconisés (distances, barrières polliniques). Cependant, aucun outil n'est à disposition des professionnels pour estimer l'efficacité de ces isolements. Ma thèse, réalisée à l'INRA (UMR EGC, Grignon, 78) et financée par une bourse CIFRE en partenariat avec Arvalis – Institut du végétal, entreprend de compléter et d'intégrer les connaissances au sein d'un modèle opérationnel de pollinisation inter-parcellaire efficace. Son originalité est de prendre en compte l'effet des conditions météorologiques sur un pas de temps horaire tout au long de la saison d'émission du pollen.

Le modèle résulte du couplage de trois sous-modèles, formant les axes de mon projet, qui prédisent: l'émission en termes de quantité et de qualité ainsi que la dispersion atmosphérique. Chacun des sous-modèles est simple et opérationnel et s'appuie sur des expérimentations menées en grande partie durant la thèse.

(1) Une étude statistique sur un vaste jeu de données collecté sur cinq ans a permis de développer un modèle de dynamique d'émission ayant une composante saisonnière et une composante journalière. Les paramètres des dynamiques ont été reliés aux conditions météorologiques en utilisant un modèle de développement et des arbres de régression.

(2) La qualité du pollen correspond à sa viabilité et sa vitesse de sédimentation. Des relations empiriques ont été mises en évidence entre ces caractéristiques et la teneur en eau du pollen à partir de mesures expérimentales collectées sur 2 ans. Un modèle de qualité du pollen a été développé sur la base de ces relations et d'un modèle existant de déshydratation en fonction de l'humidité de l'air.

(3) La modélisation de la dispersion aérienne repose sur une solution analytique des équations d'advection-diffusion de la littérature. Elle a été validée sur des données expérimentales d'une année et sur les simulations d'un modèle mécaniste de type lagrangien.

Le modèle a été utilisé pour comparer l'efficacité de différents isolements pour des scénarios météorologiques contrastés en estimant des pourcentages moyens de pollen exogène viable arrivant sur une parcelle réceptrice. Il a permis de constater que l'augmentation de la pollinisation inter-parcellaire lorsque les distances d'isolement sont réduites peut être compensée par une barrière pollinique. Il a aussi révélé les rôles déterminant de la vitesse du vent et des productions totales de pollen des parcelles qui coexistent.

### **Mots clefs :**

*Zea mays*, coexistence, pollinisation croisée, pollen, dispersion, émission, viabilité