

No : 20 200

Date : B.

# RECHERCHES SUR LA CULTURE « IN VITRO » DES EMBRYONS DE PALMIER A HUILE (*ELAEIS GUINEENSIS* JACQ.)

## III. — EFFETS DE LA GROSSEUR ET DE L'AGE DES GRAINES

H. RABÉCHAULT et J. AHÉE

Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer  
S. C. C., 80, route d'Aulnay, 93 - Bondy

Dans un article précédent [2] nous avons signalé que les embryons de palmier à huile en culture *in vitro* présentaient, dans certains cas, un développement hétérogène ce qui rendait difficile l'appréciation de l'effet des traitements. L'acide  $\beta$  indolyl-acétique améliore la rhizogénèse [8] et l'acide gibbérellique [2] augmente la vitesse de différenciation de la partie aérienne mais ni l'un ni l'autre ne permet un développement simultané et uniforme des embryons.

Cette hétérogénéité, il convient de le rappeler ici, se traduit (Fig. 1) par : une évolution rapide de certains embryons qui développent un haustorium important, des feuilles et des racines, tandis que d'autres ne produisent jamais de racines, d'autres seulement une racine mais pas de partie aérienne, d'autres ni racine ni partie aérienne (seul l'haustorium s'allonge) et d'autres enfin ne dépassent pas le premier stade de gonflement à la suite de l'absorption de l'eau du milieu de culture.

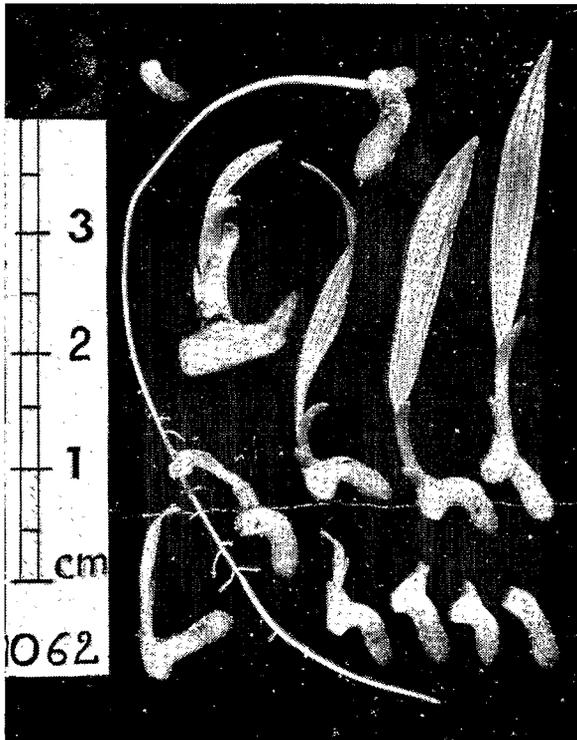


Fig. 1 — Embryons de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) var. Dura Becc. après trois mois de culture *in vitro*. (Remarquer l'hétérogénéité du développement)

Il existe une hétérogénéité identique chez les embryons d'autres végétaux (*Capsella*, *Datura*) qui est attribuée habituellement à une différence de maturité des graines. Les recherches sur l'organogénèse de ces embryons se sont très bien accomodées, semble-t-il, de cette variabilité [13]. Mais pour des recherches plus précises (métabolisme, tests phytopathologiques), il est nécessaire que tous les embryons aient une même sensibilité à un traitement. Dans ce but, VEEN [14] a fait un premier pas en ne prélevant les embryons de *Capsella* que sur une seule plante.

On aurait pu penser que l'hétérogénéité du développement des embryons était très atténuée chez les plantes cultivées. Le palmier à huile présentait à cet égard plusieurs garanties : il fait l'objet d'une sélection suivie et très efficace depuis de nombreuses années et ses graines, grâce à un traitement approprié, peuvent germer dans une proportion de 90 à 100 p. 100 [1, 6, 7, 9, 10, 11] quelle que soit leur taille même après 12 mois de stockage. Ainsi REES [12, tableau 2], récemment encore, a signalé que des noix de palme conservées à 34° C et dont la teneur en eau était descendue à 8,5 p. 100 ont germé à 92 p. 100. Dans des conditions plus favorables le même auteur a obtenu 100 p. 100 de germination chez des graines conservées à 22° C (optimum) et dont la teneur en eau était descendue à 10,9 p. 100 pendant le stockage [12, tableau 4].

Il semble donc que l'embryon isolé soit plus sensible aux conditions de stockage que celui qui, protégé par la graine, participe à la germination normale.

La maturité, la taille, le temps de stockage (vieillesse) et l'origine génétique sont autant de facteurs qui peuvent agir sur la viabilité des embryons isolés. Nous examinerons ici l'influence de la grosseur et du temps de stockage des graines.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel utilisé et la méthode d'isolement et de culture des embryons ainsi que les cinq stades du développement *in vitro* des embryons ont déjà fait l'objet d'une description détaillée dans un article précédent [8]. Précisons cependant que, pour toutes les expériences, nous avons adopté ici un milieu de base gélosé (8 p. 1 000 de Bacto Agar Difco) à pH 5,5 constitué : par la solution minérale de White, les oligo-éléments selon Nitsch, 30 p. 1 000 de saccharose, de l'acide pantothénique, de l'acide glutamique, de la vitamine B<sub>1</sub> et 10<sup>-6</sup> d'acide  $\beta$  indolylacétique. Les tubes de culture ont chacun 14 cm<sup>3</sup> de milieu ont été stérilisés à l'autoclave à 110° C

1986 JAN 1987

O. R. S. T. O. M.  
Collection de Référence

n<sup>o</sup> 66

pendant 20 minutes. Après ensemencement, les tubes furent disposés dans une salle climatisée [voir note précédente 8] selon un dispositif entièrement randomisé afin d'éviter les effets possibles d'une hétérogénéité d'éclairage.

Toutes les expériences ont été effectuées à l'aide de noix de palme de la variété Dura Deli lignée Dum 5 illégitime, en provenance de la station I. R. H. O. de Pobé (République du Dahomey).

Le dispositif expérimental sera indiqué pour chacune des deux séries d'expériences (Grosueur — Age des graines). L'interprétation statistique des résultats a été effectuée à l'aide de l'analyse de la variance (test F) et, dans le cas particulier de la comparaison de moyennes deux à deux, nous avons appliqué le test de COCHRAN ou des seuils adaptés [4].

## A. — INFLUENCE DE LA GROSSEUR DES GRAINES

### 1) Dispositif expérimental.

Nous avons effectué deux expériences : l'une le 11 mars à l'aide de graines stockées pendant 3 mois (récolte du 5 décembre 1964), l'autre le 28 mai 1965 à l'aide de graines conservées pendant 7 mois (récolte le 9 octobre 1964) ; leur teneur en eau a été maintenue à 14-15 p. 100. Les graines de la première expérience ont pu être divisées en 4 classes selon leur poids et leur volume (Tableau I).

TABLEAU I

Classes poids d'une graine en mg	Poids moyen de 100 graines en g	Volume moyen de 100 graines en cm <sup>3</sup>
500 à 1.000 mg	74,40	80
1.000 à 1.500 mg	121,60	122
1.500 à 2.000 mg	183,00	184
2.000 à 2.500 mg	218,90	193

Pour la deuxième expérience le lot de graines, plus homogène, n'a pu être subdivisé qu'en trois classes 500 à 1.000 mg — 1.000 à 1.500 mg et 1.500 à 2.000 mg. Dans la première expérience, il a été extrait pour chaque classe, à partir de graines prises au hasard, 48 embryons qui ont été cultivés *in vitro* et ont été ensuite observés et mesurés au bout de 15 jours. Tandis que pour la deuxième expérience, 24 embryons ont été isolés et cultivés de la même manière : 12 ont servi à des pesées hebdomadaires et 12 ont été réservés, comme dans la première expérience, aux mesures et aux observations.

### Résultats.

#### a) Croissance.

La longueur des embryons a doublé et parfois triplé par rapport à la longueur initiale (1,9 mm) au cours des premiers quinze jours de culture *in vitro*. Le tableau II indique que les graines les plus grosses ont donné les embryons qui s'allongeaient le plus pendant ce laps de temps. L'analyse de la variance (Test F) consignée dans ce même tableau a permis de conclure que les différences constatées entre les moyennes observées étaient significatives au seuil de probabilité  $P = 0,05$  mais non au seuil  $P = 0,01$ . En portant sur un graphique (non donné) les moyennes en fonction de leurs variances respectives (Tableau II), on peut remarquer qu'il existe une relation entre la longueur moyenne des embryons et le coefficient de variabilité (cv). En règle générale les embryons ont grandi d'autant moins et le cv était d'autant plus fort que les graines étaient plus petites.

TABLEAU II

**Longueur moyenne des embryons**  
(selon le poids initial des graines)  
après 15 jours de culture *in vitro*

Classe en mg	Longueur moyenne en mm	c. v.
500-1.000	4,315 ± 0,139	22
1.000-1.500	4,552 ± 0,133	20
1.500-2.000	4,861 ± 0,134	16
2.000-2.500	4,735 ± 0,140	17

Après classement des moyennes en ordre décroissant (1) 4,861 (2) 4,735 (3) 4,552 (4) 4,315, nous avons pu déterminer grâce à la méthode des seuils adaptés de COCHRAN [4] que seule la moyenne (4) — longueur des embryons issus des graines les plus petites — était significativement différente des autres et en particulier des moyennes (1) et (2). Les différences entre les moyennes (2)-(3) n'étaient pas significatives.

En conséquence, il semble dès à présent que les graines les plus petites fournissent les embryons qui se développent le moins et qu'elles peuvent, dans un lot d'embryons excisés, entraîner une hétérogénéité d'autant plus importante que leur proportion est plus élevée.

#### b) Stades de développement.

Le dénombrement des stades de développement des embryons a été effectué au bout de quinze jours de culture (Tableau III). Passé ce délai en effet les embryons qui n'ont pu atteindre la forme en clou de girofle qui caractérise le stade III n'ont en général pratiquement plus aucune chance d'y parvenir et de former une jeune plante. Par conséquent, c'est durant cette période critique que les embryons ont eu la possibilité d'exprimer habituellement leur tendance vers une évolution décisive.

Nous remarquons dans le tableau III le taux particulièrement élevé de stade I (gonflement par absorption de l'eau du milieu) 32 p. 100 chez les embryons issus des plus petites graines : 500-1.000 mg ; ces embryons ne poursuivront pas leur développement.

TABLEAU III

**Pourcentages des stades de développement des embryons**  
issus de noix de poids différents après  
15 jours de culture *in vitro*

Classes	Nombre total d'embryons	% Stade I	% Stade II	% Stade III
500-1.000 mg	46	30,43	2,17	67,39
1.000-1.500 mg	48	12,50	2,08	85,42
1.500-2.000 mg	36	17,14	2,86	80,00
2.000-2.500 mg	34	2,94	17,65	79,41

Par contre, la proportion de stades I est tombée à 17 p. 100 et même à 2,94 p. 100 pour les graines les plus grosses.

Le pourcentage de stades II (courbure géotropique) est faible pour les trois premières catégories (500-1.000, 1.000-1.500 et 1.500-2.000 mg) et, par conséquent, si ces embryons ont la possibilité de poursuivre leur évolution, on peut tenir comme certain que la proportion de stades III observée n'augmentera plus beaucoup et elle peut être considérée comme définitive.

En ce qui concerne les plus grosses graines, on ne dénombre presque plus de stades I mais une forte proportion de stades II. Ce qui indique que le taux de stades III déjà presque identique à celui des autres catégories est susceptible d'augmenter encore. On peut admettre ainsi que de 79,4 p. 100 la proportion de stades III aurait pu atteindre un maximum de 96 p. 100 si le dénombrement avait été effectué au bout de 21 jours au lieu de 15 jours. Chez les petites graines, cette possibilité dans le même temps ne permettrait d'atteindre dans les meilleures conditions que 2,3 p. 100 de stades III en plus, ce qui ne donnerait en définitive que 68,2 p. 100.

La deuxième expérience, bien qu'elle ne comportait que trois classes 500-1.000, 1.000-1.500 et 1.500-2.000 mg a donné des résultats identiques.

En résumé, les plus petites graines 500-1.000 mg donnent les embryons qui ont la croissance la plus faible et le développement le plus lent.

**B. — INFLUENCE DE L'AGE DES GRAINES**

**1) Dispositif particulier.**

Pour étudier l'influence de ce facteur, il nous fallait disposer d'une gamme aussi complète que possible de graines récoltées à des dates échelonnées avant le début de l'expérience et stockées dans des conditions optimales identiques. A cet effet, des graines ont été récoltées tous les deux mois environ à la Station I. R. H. O. de Pobé (Dahomey) et chaque lot nous était expédié par avion. Au fur et à mesure de leur arrivée au laboratoire, les lots de graines étaient placés dans des sacs en polyéthylène épais, soigneusement fermés et étiquetés de manière à éviter toute déshydratation et ces sacs étaient ensuite entreposés dans un local peu éclairé où la température était de 20° C ± 1° C.

Ainsi, lorsque la première expérience a été entreprise, la teneur en eau des graines était à peu près identique à celle qui avait été déterminée à l'arrivée (12 à 14 p. 100), exception faite pour le lot récolté le 27 février. La teneur en eau de celui-ci, sans doute à cause de la fermeture défectueuse du sac, avait diminué dans de fortes proportions (Tableau V).

Il a été effectué 3 expériences successives le 26 avril, le 28 mai et le 8 juin de sorte que nous avons pu suivre non seulement l'effet de l'âge des graines d'un lot à l'autre (date de récolte) mais aussi l'effet du vieillissement dans un même lot. Pour ces trois expériences, l'âge des graines calculé depuis la date de récolte à celle de la mise en culture des embryons, s'établissait selon le tableau IV. Douze embryons appartenant à chaque lot ont été pesés après 1, 2, 3, et 4 semaines de culture *in vitro* et tandis que, parallèlement et aux mêmes dates, diverses observations étaient effectuées : mesures, pourcentage des stades de développement, abscissions, coloration, etc.

TABLEAU IV

**Age des graines au moment de chaque expérience**

Lots (dates de récolte)	Expériences		
	A 26 avril 1965	B 28 mai 1965	C 8 juin 1965
8 juin 1964 . . . . .	328 jours	359 jours	401 jours
18 septembre 1964 . . . . .	221 jours	252 jours	294 jours
9 octobre 1964 . . . . .	200 jours	231 jours	273 jours
5 décembre 1964 . . . . .	143 jours	174 jours	216 jours
27 février 1965 . . . . .	59 jours	90 jours	132 jours
7 avril 1965 . . . . .	20 jours	51 jours	93 jours

**2) Résultats.**

*a) Croissance.*

Les embryons après 15 jours de culture *in vitro* se sont moins allongés lorsqu'ils étaient issus des trois lots les plus anciens mais l'analyse statistique (variance et test de COCHRAN) n'ayant révélé aucune différence significative nous n'avons pas pensé utile de donner ces résultats ici.

*b) Evolution du poids frais des embryons.*

Les poids frais de 12 embryons après 1, 2, 3 et 4 semaines de culture *in vitro* et pour les trois expériences A, B et C ont été consignés dans le tableau V. On remarque qu'en général le poids des embryons a augmenté graduellement avec le temps de culture pour une même expérience et pour chaque lot.

Le vieillissement à l'intérieur d'un même lot se traduit par la diminution du poids obtenu après le même temps de culture au cours des expériences

TABLEAU V

**Poids frais en mg de 12 embryons après 1 à 4 semaines de culture *in vitro* pour trois expériences**

Lots	Teneur en eau %	1 semaine				2 semaines				3 semaines				4 semaines			
		Expériences				Expériences				Expériences				Expériences			
		A	B	C	$\bar{x}$	A	B	C	$\bar{x}$	A	B	C	$\bar{x}$	A	B	C	$\bar{x}$
8 juin 1964 . . . . .	12,04	50,0	51,5	51,0	50,8	110,0	77,5	60,0	82,5	130,0	94,0	68,0	97,3	140,0	96,0	70,5	102,1
18 septembre 1964 . . . . .	14,14	46,0	55,0	54,0	51,6	81,0	82,5	92,0	85,1	104,0	102,0	111,0	105,6	119,0	102,0	122,0	125,7
9 octobre 1964 . . . . .	13,70	52,0	49,1	56,5	52,5	120,0	72,2	72,0	88,0	140,0	105,0	72,0	105,6	149,0	105,0	79,0	111,0
5 décembre 1964 . . . . .	11,57	62,0	82,0	102,0	82,0	137,0	143,0	125,0	135,0	157,0	160,0	137,0	151,3	178,0	169,0	146,0	164,3
27 février 1965 . . . . .	8,31	58,0	64,0	74,0	65,0	118,0	70,0	120,0	102,6	142,0	94,0	146,0	127,0	161,0	94,0	153,0	136,0
7 avril 1965 . . . . .	12,90	63,5	80,7	53,0	65,7	190,0	120,0	79,0	129,6	202,0	140,0	87,0	143,0	212,0	140,0	101,0	151,0

répétées A, B et C. Parfois les résultats ont été similaires en B et C surtout après 3 et 4 semaines de culture. Il y a eu au contraire plus rarement un gain de poids de A en C. Dans plusieurs cas aussi, le poids obtenu avec l'expérience B a été inférieur à ceux obtenus au cours des expériences A et C. Mais en règle générale, les poids atteints par les embryons ont été de plus en plus faibles  $A > B > C$ . Le mode de vieillissement étant ainsi différent chez certains lots, par rapport à cette règle générale de décroissance, on peut se demander si l'origine génétique des graines et la saison de leur récolte ne sont pas en cause.

Si l'on considère à présent les moyennes générales de l'augmentation de poids pour les trois expériences après 1, 2, 3 et 4 semaines de culture *in vitro*, nous pouvons juger de l'effet du vieillissement (date de récolte) de l'ensemble des lots indépendamment de la saison de leur récolte et de leur constitution génotypique légèrement différente. Nous remarquons alors que les lots de graines peuvent se répartir en deux groupes.

Le premier est formé par les lots récoltés le 8 juin, le 18 septembre et le 9 octobre ; ce sont les plus vieux (âge 200 à 401 jours). Au cours des trois premières semaines de culture *in vitro*, l'augmentation du poids de leurs embryons a été pratiquement identique et non significativement différente.

Le deuxième groupe est constitué des trois autres lots, les plus récents, dont l'âge n'excède pas 6 mois (20 à 216 jours). L'augmentation du poids de leurs embryons a été supérieure à celle des embryons du groupe précédent. Elle est presque identique pour les lots récoltés le 5 décembre et le 7 avril. Cependant, les embryons du lot récolté le 27 février ont eu une augmentation de poids inférieure à ces derniers tout en restant significativement différente de celle des embryons des trois lots du premier groupe. Les différences constatées entre les deux groupes sont significatives.

Il est possible que la « défaillance » du lot du 27 février soit due à la déshydratation excessive des noix pendant leur stockage par suite sans doute de la fermeture défectueuse du sac en polyéthylène.

#### c) Stades de développement.

Le dénombrement des stades de développement des embryons au bout de 1, 2, 3 et 4 semaines de culture *in vitro* traduit exactement les mêmes variations que l'augmentation du poids frais. Nous avons résumé ces observations dans le tableau VI. Celui-ci n'indique pas les proportions atteintes la première semaine parce que les embryons n'ont pas dépassé à ce moment-là les stades I (gonflement) et II (courbure géotropique) et qu'il ne ressort pas alors de différences appréciables.

D'autre part, seul le pourcentage global des stades III (forme en clou dû au développement de l'embryon à l'extrémité opposée à l'haustorium) et IV

(sortie de la première feuille), constitue l'indice certain du démarrage de la différenciation et du développement de l'embryon susceptibles de le conduire à la formation d'une jeune plante. Le détail (non donné) des pour-

TABLEAU VI

#### Pourcentages d'embryons ayant atteint les stades de développement III et IV après 2 à 4 semaines de culture *in vitro*

(pourcentages moyens des trois expériences A, B et C).

Lots (dates de récolte)	Teneur en eau % (poids sec)	2 semai- nes	3 semai- nes	4 semai- nes
8 juin 1964 .....	12,04	52,7	72,2	74,1
18 septembre 1964 ....	14,14	61,1	69,4	72,2
9 octobre 1964 .....	13,70	58,3	75,0	75,0
5 décembre 1964 .....	11,57	83,2	91,6	94,4
27 février 1965 .....	8,31	64,7	74,9	77,7
7 avril 1965 .....	12,90	66,6	83,3	86,1

centages des divers stades pour les trois expériences n'aurait rien apporté à la démonstration car les variations constatées sont identiques à celles de l'augmentation de poids frais vu précédemment. L'examen du pourcentage global des stades III et IV, suffit à notre avis pour conclure à une similitude entre l'effet de l'âge sur le développement et sur l'augmentation de poids (Tableau V moyennes globales  $\bar{x}$  pour les 3 expériences).

Il se présente également deux groupes : les trois lots les plus anciens (200 à 401 jours) qui forment un ensemble homogène avec 69 à 75 p. 100 de stades III et IV au bout de 3 semaines de culture, et les trois lots les plus récents (20 à 216 jours), dont les embryons présentent 74 à 91 p. 100 de stades III et IV dans le même temps.

Ici encore, le deuxième groupe est moins homogène que le premier car il comprend le lot du 27 février qui présente un pourcentage de stades III et IV légèrement inférieur à ceux des deux autres tout en restant malgré tout supérieur aux pourcentages des trois lots du premier groupe.

#### d) Abscissions.

Nous avons désigné sous le nom d'« abscission » une nécrose qui se produit en général le long de l'haustorium et qui forme comme une craquelure puis une fente allant jusqu'à la séparation complète de l'embryon en deux parties. Morphologiquement, le phénomène ressemble à s'y méprendre à celui de l'abscission normale observée chez d'autres organes végétaux comme les feuilles et les fruits.

Sur le plan anatomique, la formation de cette fente transversale ne semble pas procéder comme l'abscission habituelle car dans notre laboratoire J. VALLADE et J. BUFFARD-MOREL (travail non publié) n'ont pas pu mettre en évidence en particulier le fonctionnement d'une « couche d'abscission ».

Le nombre des embryons avec « abscissions » relevé au cours des trois expériences (Tableau VII) ne semble pas être en relation avec la date de récolte. Par contre, en portant sur un graphique (non donné ici) les pourcentages d'eau en abscisses et les pourcentages d'abscissions en ordonnées, on obtient un groupe de points allongé qui indique l'existence possible d'une corrélation négative entre ces deux facteurs (plus le pourcentage d'eau des graines était faible, plus nous avons observé d'abscissions dans les embryons). L'analyse de cette corrélation nécessite un plus grand nombre de données et nous en rendrons compte dans une publication ultérieure.

TABLEAU VII

Pourcentages d'embryons avec « abscissions »  
pour trois expériences

Lots (dates de récolte)	Teneur en % (poidssec)	Pourcentages d'abscissions au bout de			
		1 semai- ne	2 semai- nes	3 semai- nes	4 semai- nes
8 juin 1964 .....	12,04	0	5,5	8,3	8,3
18 septembre 1964	14,14	0	5,5	11,1	11,1
9 octobre 1964 ..	13,70	0	0	3,3	3,3
5 décembre 1964	11,57	0	5,5	5,5	22,2
27 février 1965 ...	8,31	8,3	27,7	30,5	30,5
7 avril 1965 .....	12,90	3,3	8,3	11,1	5,5

### C. — DISCUSSION

#### Taille des graines.

Les graines qui sont les plus lourdes et les plus volumineuses sont celles qui donnent les embryons dont la croissance est la plus importante et la vitesse de développement maximum après 15 jours de culture *in vitro*.

Les proportions de stades III relevées pour les grosses graines (79,4 p. 100) et les graines des deux classes moyennes (80 à 85 p. 100) sont susceptibles d'augmenter encore respectivement de 17,6 p. 100 et de 2,0 à 3,0 p. 100 grâce à l'évolution des embryons qui ont atteint le stade II.

Quant aux petites graines, 55 à 67 p. 100 de leurs embryons sont parvenus au stade III et cette proportion n'aurait eu la possibilité d'augmenter que de 2 p. 100 grâce à l'évolution problématique ultérieure des embryons au stade II, ce qui en définitive restera encore très inférieur aux pourcentages obtenus avec les graines des trois autres classes.

Le faible développement des embryons issus des petites graines tient peut-être à ce que la formation de ces dernières a été contrariée (fruits comprimés entre des fruits voisins plus vigoureux, fruits situés à l'extrémité du régime et dont le développement est plus faible). Il est possible aussi que les petites graines

proviennent de fruits dont le développement et la maturité n'étaient pas achevés au moment de la récolte.

Dans la pratique cependant, la germination des petites graines semble se dérouler de la même manière et à la même vitesse que celle des graines plus grosses. Sans doute l'embryon protégé par l'albumen est-il dans les meilleures conditions pour se développer que lorsqu'il est isolé. Nous aurons donc avantage à écarter les graines les plus petites pour assurer une meilleure homogénéité aux cultures d'embryons *in vitro*.

#### Age des graines.

Le tableau V montre qu'il existe un vieillissement à l'intérieur de chaque lot comparable à celui de lots différents car le poids atteint par les embryons en 15 jours diminue en général de l'expérience A à l'expérience C. Cependant cette règle n'a pas toujours été suivie, parfois il y a eu une stabilisation et les poids en B et C étaient identiques surtout à partir de la 3<sup>e</sup> semaine mais parfois aussi il y a eu un accroissement de A en C. Cette variabilité du vieillissement des divers lots est sans doute due à ce que leurs graines issues de fécondations libres ont une constitution génotypique différente. D'autre part, on peut admettre aussi qu'il y a eu un effet de la saison à laquelle la récolte a été effectuée, la maturité en particulier a pu se dérouler plus ou moins rapidement.

Nous avons remarqué qu'à humidité constante il s'est produit une perte de la viabilité des embryons après isolement (Tableau V et VI), lorsque la période de stockage des graines dépassait 6 mois. Dans ce cas, en 4 semaines, la proportion d'embryons susceptibles de donner des plantules (stades III et IV) ne dépassait pas 75 p. 100 ; beaucoup d'embryons au stade III (forme en clou due à un début de développement de l'embryon proprement dit à la partie opposée à l'haustorium) resteront à ce stade. Chez les lots les plus récents, la proportion a atteint 86 à 95 p. 100.

Un fait important est qu'à l'intérieur du groupe des trois lots récents, celui du 27 février a toujours donné des embryons qui avaient une augmentation de longueur et de poids inférieure aux deux autres bien que supérieure encore à celle des trois lots les plus âgés. Les embryons de ce lot ont également un développement plus lent, ce qui se traduit par un pourcentage faible de stades III et IV. Enfin, le lot du 27 février est remarquable aussi par le nombre d'embryons présentant des « abscissions » craquelures ou fentes transversales plus ou moins profondes de l'haustorium. On ne peut s'empêcher de faire un rapprochement entre ces caractères et la faible teneur en eau de ce lot. Plusieurs auteurs ont signalé l'influence de l'humidité des graines sur la germination, sur la perte de la faculté germinative pendant leur stockage et sur l'efficacité des traitements de levée de dormance [HUSSEY 6, REES 9 à 12].

## CONCLUSIONS

Deux facteurs ayant un effet sur l'hétérogénéité des réponses aux traitements des embryons de palmier à huile en culture *in vitro* ont été examinés : la taille et le vieillissement des graines. Bien que dans la pratique les petites graines germent aussi bien que les grosses, on a intérêt à les éliminer lorsqu'il s'agit d'utiliser les embryons pour des cultures *in vitro*. Car, sans doute à cause d'une maturité défectueuse, d'un développement tardif ou contraire, les embryons obtenus ont une croissance et un développement plus lents que ceux des autres graines.

De même, les embryons issus de graines récoltées il y a plus de 6 mois ont une croissance inférieure et un développement plus lent que ceux de lots récents.

Il semble que l'origine génétique se répercute également sur la rapidité et le mode de vieillissement car il n'a pas été identique à l'intérieur de chaque lot.

Enfin, la teneur en eau des graines aurait, semble-t-il,

une grande influence sur la croissance et le développement des embryons après isolement. Autrement dit, bien que l'embryon soit placé sur un milieu nutritif riche en eau, il ne semble pas pouvoir après réhydratation se développer comme s'il avait été réhumidifié dans la graine.

Ce problème est examiné en ce moment au laboratoire et fera l'objet de publications ultérieures.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à M. le professeur P. CHAMPAGNAT pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à notre travail et pour ses encouragements. Nous remercions MM. BACHY, DE BERCHOUX et BÉNARD de l'I. R. H. O. pour leurs conseils et le matériel qu'ils nous ont procurés si obligeamment. Enfin, nous ne saurions oublier notre collègue et ami, M. J. DEJARDIN, Chef du service de Biométrie de l'ORSTOM, qui nous a guidés et aidés dans l'analyse et l'interprétation statistique de nos résultats.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BEIRNAERT A. (1936). — Pub. INEAC, sér. techn., 4, pp. 3-39.
- [2] BOUVINET J., RABÉCHAULT H. (1965). — Oléagineux, 20<sup>e</sup> année, 2, pp. 79-87.
- [3] DEJARDIN J., N. N. Quoi (1964). — Quelques tests de comparaison deux à deux des moyennes de traitements, Docum. Multigraph, 18 p. + Tables, IRAT, Nogent-sur-Marne.
- [4] GOULDEN C. H. (1952). — Methods of Statistical analysis (Chapman and Hall Edit.), London 1952.
- [5] HENRY P. (1951-1952). — Rev. Int. Bot. Appl. et Agric. Trop., n<sup>os</sup> 349-50, pp. 565-92, 1951 et n<sup>os</sup> 351-52, pp. 66-78, 1952.
- [6] HUSSEY G. (1958). — Ann. Bot., N. S., 22, 86, pp. 259-84.
- [7] PREVOT P. (1962). — Cahiers ORSTOM. Physiologie des Plantes Tropicales cultivées, vol. 1, 39 p. Orstom, Bondy.
- [8] RABÉCHAULT H. (1962). — Oléagineux, 17<sup>e</sup> année, 10, pp. 757-64.
- [9] REES A. R. (1959). — J. W. Afric. Inst. for oil Palm Res., 3, pp. 477-89.
- [10] REES A. R. (1961). — J. W. Afric. Sci. Assoc., 6, pp. 55-62.
- [11] REES A. R. (1962). — J. W. Afric. Inst. for oil palm res., 3, pp. 329-38.
- [12] REES A. R. (1965). — Nigerian Inst. for Oil Palm Res., IV, 15, pp. 317-24.
- [13] RIJVEN A. H. G. (1952). — Acta Bot. Neerl., 2, pp. 157-200.
- [14] VEEN H. (1963). — Acta bot. neerl., 12, pp. 129-71.

