

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

VI. — EFFETS DE LA DÉSHYDRATATION NATURELLE ET D'UNE RÉHYDRATATION DE NOIX DORMANTES ET NON DORMANTES

H. RABÉCHAULT, G. GUÉNIN et J. AHÉE

Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (ORSTOM)

Nous avons signalé à plusieurs reprises [1, 2, 7] les variations du comportement des embryons du palmier à huile en culture *in vitro* et nous nous sommes attachés ces dernières années à en déterminer les causes : la grosseur et l'âge des graines [8], leur teneur en eau [7], leur temps de stockage après réhydratation [9]. Cependant, même en tenant compte de ces facteurs, il nous est arrivé encore d'avoir la surprise d'un mauvais développement des embryons, particulièrement de ceux des noix fraîches utilisées moins de deux mois après leur récolte.

Précisément, c'est semble-t-il pendant cette période que la dormance des graines est la plus prononcée [12], et nous avons pensé qu'alors elle pouvait affecter aussi l'embryon.

HUSSEY [3] n'a pu mettre ce phénomène en évidence chez la variété *Tenera*. Cet auteur a en effet observé la croissance d'embryons de cette variété sur un papier buvard humidifié par une solution de saccharose ou sur un milieu gélosé sucré. Mais il n'a observé, semble-t-il, qu'un petit nombre d'individus sans s'inquiéter de leur origine génétique.

Or, récemment, dans cette Revue [12], nous avons montré que la dormance des noix de palme était différente d'un palmier à un autre. A l'aide d'une levée de dormance partielle (traitement des graines pendant 40 j à 40° C), nous avons constaté que les graines du palmier H (I 41. 1. 18 D, lignée DA 221) (1) étaient moins dormantes : 90 p. 100 de germination à 27° C, que celles du palmier E (I 41. 24. 19 D, lignée SOC 6346) (1) : 66 p. 100 de germination.

En réduisant encore le temps de traitement (20 j à 40° C), nous avons obtenu des différences de germination encore plus grandes, et ceci pour les graines récoltées sur les mêmes arbres à 14 mois d'intervalle (Tableau I).

(1) N° de sélection de la Station de Recherches sur le palmier à huile de La Mé (Côte-d'Ivoire) où ces graines ont été récoltées.

TABLEAU I
Pourcentage de germination à 27° C
des graines de deux palmiers à huile
d'origine génétique différente
après des traitements de levée de dormance partielle

Dates de récolte	Age des graines au moment du traitement	Palmier H à graines peu dormantes DA 221 I-41.1-n° 18 D		Palmier E à graines dormantes SOC 6346 I-41.24-n° 19 D	
		Temps de traitement à 40° C		Temps de traitement à 40° C	
		20 j	40 j	20 j	40 j
9 décembre 1964	45 j	34 %	90 % (1)	0 %	66 % (1)
10 décembre 1966	27 j	38 %	72 %	0 %	2 %

(1) La levée de dormance a été effectuée plus facilement pour le traitement 40 j pour les graines de la première récolte probablement parce qu'elles étaient plus âgées (45 j) quand elles ont été utilisées donc moins dormantes que celles de la deuxième récolte.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé les graines des deux palmiers cités plus haut.

a) Déshydratation.

A leur arrivée au laboratoire, 19 jours après leur récolte, la teneur en eau des graines ainsi que celle de leurs embryons a été déterminée, par rapport à la matière sèche. Puis 24 graines de chaque sorte (dormantes et non dormantes) ont été prélevées et leurs embryons ont été cultivés *in vitro*.

Les méthodes d'extraction et de culture aseptique des embryons ont été décrites précédemment [1, 2, 6]. Cependant, au milieu gélosé ou liquide habituel, nous avons ajouté 1 mg/kg d'acide β -indolyl acétique [6].

23 MAI 1968 O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 20203

Date : B

11 MAI 1968

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 66

Les milieux liquides ont été aérés en plaçant les tubes de culture sur des clinostats tournant à 20 t/mn sous un éclairage de 6 000 lux dispensé pendant 9 h par jour.

Le reste des graines a été stocké à l'obscurité dans une chambre climatisée à 22° C et 40 p. 100 d'hygrométrie. Au cours de cette déshydratation naturelle, nous avons effectué 4 autres prélèvements dont les embryons ont été cultivés *in vitro* de la même manière que ceux du premier prélèvement (Témoin).

b) Réhydratation.

Après le dernier prélèvement de l'expérience précédente, il restait la moitié environ de chacune des deux sortes de graines. Celles-ci sont encore restées dans la chambre climatisée jusqu'à 190 j après leur récolte. Puis elles ont été réhydratées par immersion dans l'eau distillée à 25° C à l'obscurité. L'augmentation de la teneur en eau des noix et de leurs embryons a été soigneusement contrôlée.

Un premier prélèvement d'embryons a été effectué sur les noix sèches et quatre autres au cours de la réhydratation. Les embryons furent cultivés comme dans l'expérience sur la déshydratation.

Pour les photographies comme pour les observations : longueur de l'haustorium, dénombrement des stades de développement, dénombrement et mesure de la longueur des feuilles et des racines, il a été évidemment tenu compte du décalage des mises en culture.

RÉSULTATS

Déshydratation

La planche I réunit les photographies des embryons de chaque prélèvement, prises 3 mois après leur mise en culture, et permet d'avoir une vue d'ensemble sur les effets de la déshydratation.

Sur la figure 1 nous avons indiqué les pourcentages d'eau respectifs des noix dormantes et non dormantes au moment de chaque prélèvement. On remarque que le pourcentage d'eau par rapport à la matière sèche des noix non dormantes est passé de 17,19 à 8,12 soit une différence de 9,07 p. 100 en 45 jours, tandis que celui des noix dormantes est passé de 16,64 à 7,98 p. 100 soit une différence presque identique de 8,66 p. 100 en 81 jours. Il a donc fallu presque deux fois plus de temps aux noix dormantes pour perdre la même quantité d'eau.

Dans un but de comparaison et pour éliminer l'influence du facteur hydratation, nous avons effectué les prélèvements pour des teneurs en eau à peu près équivalentes (fig. 1) de sorte que la figure 2 sur laquelle les prélèvements sont tracés en abscisses à équidistance, ne peut traduire cette différence de vitesse de déshydratation mais donne malgré tout une bonne image de l'évolution de la teneur en eau des embryons.

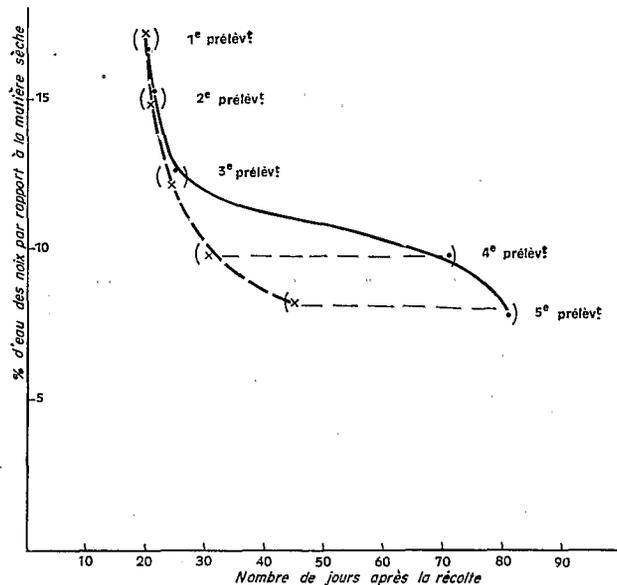


FIG. 1. — Evolution comparée de la déshydratation des noix dormantes et non dormantes.

La seule remarque est que la reprise d'eau des embryons en fin de déshydratation ne peut être expliquée. D'ailleurs en ce qui concerne les embryons dormants les différences constatées n'ont pas été significatives. La noix dormante comme son embryon perdent donc plus difficilement leur eau que les embryons et les noix non dormantes.

La figure 2 indique en outre le pourcentage d'embryons différenciés de chaque prélèvement, c'est-à-dire parvenus aux stades III (forme en clou par augmentation de volume de l'extrémité opposée à l'haustorium), IV (apparition de la gemmule) et V (apparition de la racine), indices d'une évolution certaine vers la formation d'une jeune plante.

Après 3 mois de culture *in vitro* les embryons des graines dormantes des 3 premiers prélèvements n'ont donné que 21 à 24 p. 100 d'embryons différenciés (fig. 2, part. gauche) mais ceux du 4^e prélèvement se sont tous développés bien que la teneur en eau des noix soit descendue à 9,93 p. 100 par rapport à la matière sèche. Puis, nous avons observé une nouvelle diminution de la proportion d'embryons différenciés chez ceux issus du 5^e prélèvement due vraisemblablement à ce que la teneur en eau des noix était tombée au-dessous d'un certain seuil critique.

Dans les mêmes conditions, les embryons des graines peu dormantes (appelées ici non dormantes) des deux premiers prélèvements ne se sont pas tous développés (91-94 p. 100) mais avec ceux des 3^e et 4^e prélèvements nous avons obtenu 100 p. 100 d'embryons différenciés. Enfin chez les embryons issus du 5^e prélèvement, nous avons observé, comme chez ceux des graines dormantes, une diminution de leur vitalité en culture *in vitro*.

On retrouve donc les mêmes variations (fig. 2,

Effets de la Déshydratation des Graines sur le Développement de leurs Embryons "In Vitro"

Age des noix (jours) **19**
% eau des noix 17,19
% eau des embryons 51,03

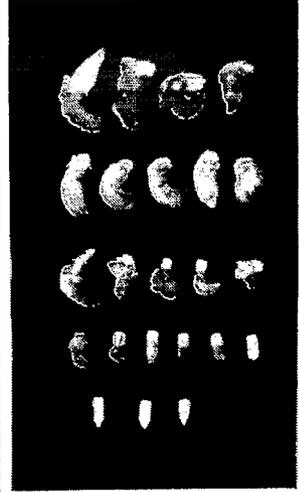
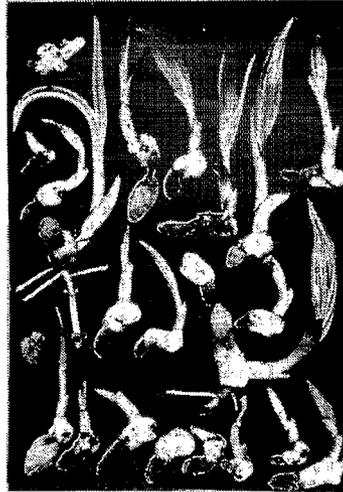
21
14,99
22,55

28
12,16
15,27

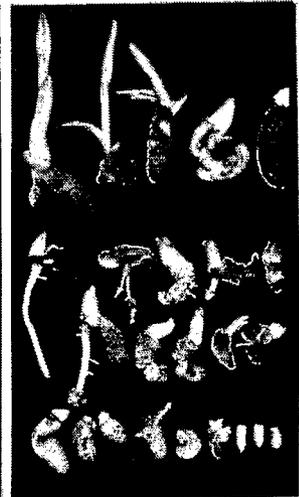
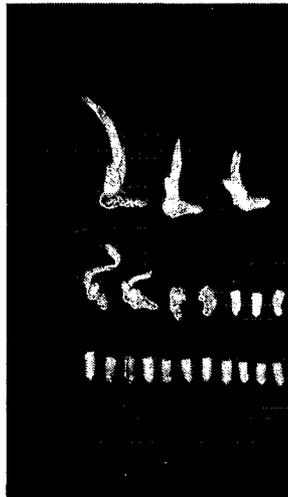
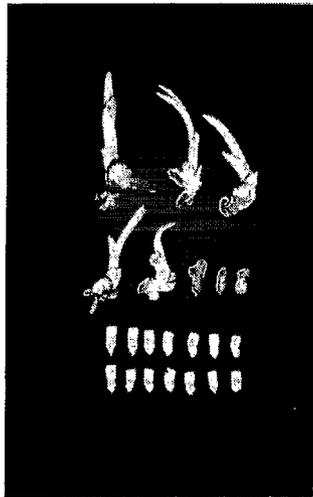
35
9,93
10,69

46
8,12
11,90

Non Dormantes



Dormantes



Age des noix (jours) **20**
% eau des noix 16,64
% eau des embryons 30,94

22
15,15
17,92

26
12,70
23,92

67
9,91
25,03

73
7,98
27,59

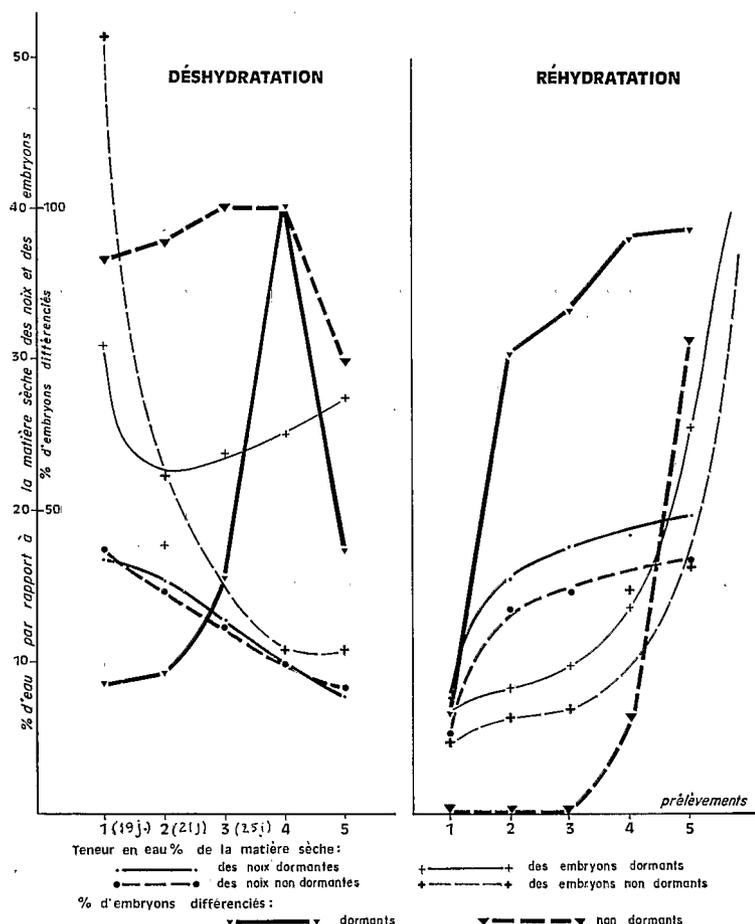


Fig. 2. — Teneur en eau des noix et de leurs embryons au moment de chaque prélèvement et pourcentages respectifs d'embryons différenciés obtenus *in vitro*.

part. gauche) chez les deux sortes d'embryons mais avec plus d'intensité chez les embryons dormants.

L'allongement de l'haustorium a varié de la même manière que le pourcentage des stades du développement *in vitro* (Tableau II). Cependant on peut remarquer sur les photographies de la planche I que les haustoriums des embryons non dormants se sont développés non seulement en longueur mais aussi

en volume, notamment ceux des premiers prélèvements ; ils étaient de couleur jaune à jaune verdâtre avec des stries longitudinales. Avec la déshydratation des noix, des nécroses sont apparues séparant parfois l'haustorium du reste de l'embryon ; un brunissement a gagné peu à peu toute la surface. Chez les embryons dormants le brunissement de l'haustorium est apparu dès les premiers prélèvements et s'est estompé au 4^e.

Le nombre de feuilles émises par embryon a suivi les mêmes variations que les pourcentages d'embryons différenciés. La partie aérienne présentait un maximum de longueur ($16,30 \pm 4,580$ mm) après 3 mois de culture chez les embryons non dormants issus du 2^e prélèvement ; la taille diminuait ensuite jusqu'à ceux du dernier prélèvement ($3,40 \pm 2,570$ mm). On remarque que, pour les deux exemples ci-dessus, les intervalles de confiance sont importants et ceci d'autant plus que la teneur en eau et la moyenne obtenue étaient plus faibles ; c'est l'indice d'une grande variabilité. Cette variation était encore plus accentuée en ce qui concerne la longueur des racines (pas de différences significatives). Dans les lots provenant des 4 premiers prélèvements, 18 à 25 p. 100 des embryons ont produit une racine (stade V) ;

TABLEAU II

Déshydratation :
longueur de l'haustorium après un mois de culture *in vitro*

Graines non dormantes			Graines dormantes		
Eau %		Longueur en mm	Eau %		Longueur en mm
Noix	Embryons		Noix	Embryons	
17,19	51,03	$8,46 \pm 0,292$	16,64	30,94	$4,47 \pm 0,338$
14,99	22,55	$9,64 \pm 1,104$	15,15	17,92	$4,54 \pm 0,305$
12,16	15,27	$9,48 \pm 1,023$	12,70	23,92	$4,50 \pm 0,159$
9,93	10,69	$8,87 \pm 0,825$	9,91	25,03	$8,63 \pm 0,728$
8,12	11,90	$5,99 \pm 0,701$	7,98	27,29	$7,09 \pm 1,011$

cette proportion est tombée à 8,69 p. 100 pour les embryons du dernier prélèvement.

Chez les embryons dormants, la longueur de la partie aérienne obtenue après 3 mois de culture était aussi variable que chez les embryons non dormants. Quant à la formation des racines, elle a été nulle ou faible (0 à 8,69 p. 100) pour les embryons des 3 premiers prélèvements ; elle s'est élevée à 37,5 p. 100 pour les embryons des deux derniers prélèvements malgré la faible teneur en eau des graines.

Réhydratation.

Au moment du premier prélèvement des embryons de cette deuxième partie de l'expérience, les graines sèches étaient récoltées depuis 190 jours mais nous avons montré précédemment [8] que les embryons de graines de 6 mois étaient encore parfaitement viables, ce qui est confirmé ici.

La réhydratation des deux sortes de graines a été beaucoup plus rapide (quelques heures) que leur déshydratation et, comme les noix dormantes avaient au départ une teneur en eau supérieure à celle des noix non dormantes, cet écart s'est toujours maintenu par la suite (fig. 2, part. droite) et a même augmenté légèrement parce que les noix dormantes ont absorbé l'eau un peu plus vite. De ce fait, la vitalité des embryons dormants, plus hydratés, a toujours été meilleure. Aucun embryon non dormant des 3 premiers prélèvements n'a dépassé le stade II mais, ensuite, l'augmentation de la teneur en eau a permis une reviviscence presque générale de ceux du 5^e prélèvement. Au contraire les embryons du 2^e prélèvement des noix dormantes ont donné, après 3 mois de culture *in vitro*, une proportion d'embryons différenciés déjà importante et le maximum (95,64 p. 100) a été atteint avec ceux des 4^e et 5^e prélèvements (fig. 2, part. droite).

La longueur moyenne de l'haustorium au bout d'un mois de culture a augmenté de façon très régulière du premier au dernier prélèvement chez les embryons non dormants (Tableau III) ; les intervalles de confiance ont été faibles et les différences constatées hau-

tement significatives pour $P = 0,05$ (Test F de Snedecor). Il en a été de même chez les embryons des 3 premiers prélèvements des graines dormantes ; les différences n'ont pas été significatives entre les moyennes des 3 derniers prélèvements.

Les gemmules et les racines ne se sont nettement développées que chez les embryons non dormants des deux derniers prélèvements et avec une grande variabilité. Chez les embryons dormants, la longueur de la partie aérienne a augmenté régulièrement à partir du 2^e prélèvement avec de faibles intervalles de confiance au fur et à mesure de la réhydratation.

DISCUSSION

Pendant les deux premiers mois qui suivent la récolte, les embryons des graines à dormance prononcée se développent plus difficilement *in vitro* que ceux des graines peu dormantes (fig. 2, déshydratation) : les facteurs de dormance que l'on pensait localisés à l'albumen affectent donc aussi l'embryon, la perte de vitalité étant proportionnelle à l'intensité de la dormance.

Le pourcentage d'embryons susceptibles de former une jeune plante augmente progressivement à partir de 3 semaines après la récolte des graines ce qui traduit une disparition naturelle et progressive de la dormance des embryons. Ceci est en accord avec une étude précédente sur l'évolution de la dormance des graines pendant le stockage [12] dans laquelle nous avons indiqué que ce phénomène était le plus intense au cours des deux premiers mois suivant la récolte.

L'effet de la dormance serait indépendant de celui de la déshydratation des graines puisque 67 jours après la récolte tous les embryons des graines dormantes se développent alors que les graines ne renferment plus que 9,91 p. 100 d'eau (Planche 1).

Enfin nous avons expliqué la perte de vitalité des embryons des deux sortes de graines du dernier prélèvement en mettant en cause la chute de la teneur en eau au-dessous d'un certain seuil critique. La différence de teneur en eau des embryons des 4^e et 5^e prélèvements est faible et il faudrait admettre que la déshydratation des noix agit sur l'embryon par l'intermédiaire de l'albumen.

Ici la déshydratation a eu un effet postérieur à celui de la dormance alors que chez d'autres espèces comme le sorgho c'est la déshydratation qui provoque la dormance [Nutile 4, 5]. Chez le palmier à huile les deux facteurs sont séparés et contribuent parallèlement à assurer une meilleure résistance aux variations du climat.

CONCLUSIONS

Pendant leur déshydratation naturelle suivant la récolte, les variations dans le comportement *in vitro* des embryons extraits de graines non dormantes ou dormantes étaient les mêmes mais plus accentuées

TABLEAU III

Réhydratation :
longueur moyenne de l'haustorium
après un mois de culture

Graines non dormantes			Graines dormantes		
Eau %		Longueur en mm	Eau %		Longueur en mm
Noix	Embryons		Noix	Embryons	
5,77	4,98	4,02 ± 2,080	7,79	6,62	4,13 ± 0,428
11,39	6,12	4,11 ± 0,404	15,73	8,10	6,15 ± 0,626
13,54	6,21	4,24 ± 0,202	17,79	9,84	8,68 ± 0,638
14,91	6,84	4,36 ± 0,428	18,40	13,53	8,07 ± 0,590
—	14,94	6,27 ± 0,972	19,66	25,63	8,55 ± 0,673
16,78	16,29	7,34 ± 1,290			

chez ces dernières : la perte de vitalité des embryons pendant les deux premiers mois qui suivent la récolte est proportionnelle à l'intensité de la dormance.

On observe dans les deux cas une levée de dormance naturelle et les embryons du 4^e prélèvement chez les dormantes (67 j après la récolte) se développent à 100 p. 100 : les effets dus à la dormance et à la déshydratation semblent donc indépendants alors que chez d'autres espèces comme le sorgho [Nutile 4, 5] c'est la déshydratation qui provoque la dormance.

La diminution du nombre d'embryons du dernier prélèvement susceptibles de se différencier *in vitro*

serait due à ce que la teneur en eau des noix était descendue au-dessous d'un certain niveau critique.

Les graines dormantes ont mis deux fois plus de temps pour se déshydrater que les non-dormantes tandis que la réhydratation s'est effectuée en quelques heures après dessiccation. La vitesse avec laquelle les embryons retrouvent leur vitalité dépend de la faculté de réhydratation des graines.

Physiologie de la Croissance et du Développement des Plantes Tropicales,
ORSTOM
70-74, route d'Aulnay, 93-Bondy.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BOUVINET J., RABÉCHAULT H. — *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 260, p. 5336-5338, 1965.
- [2] BOUVINET J., RABÉCHAULT H. — *Oléagineux*, 20^e année, 2, p. 79-87, 1965.
- [3] HUSSEY G. — *Ann. of Bot.*, 22, 86, p. 259-284, 1958.
- [4] NUTILE G. E. — *Crop Sci.*, 4, p. 325-328, 1964.
- [5] NUTILE G. E., WOODSTOCK L. W. — *Physiol. Plantar.*, 20, p. 554-561, 1967.
- [6] RABÉCHAULT H. — *Oléagineux*, 17^e année, 10, p. 757-764, 1962.
- [7] RABÉCHAULT H. — *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 264, sér. D, p. 276-279, 1967.
- [8] RABÉCHAULT H., AHÉE J. — *Oléagineux*, 21^e année, 12, p. 729-734, 1966.
- [9] RABÉCHAULT H., AHÉE J., GUÉNIN G. — *Oléagineux*, 23^e année, 4, p. 233-237, 1968.
- [10] REES A. R. — *J. West Afric. Inst. for Oil Palm Res.*, 3, 9, p. 76-82, 1959.
- [11] REES A. R. — *Ann. of Bot.*, n. s., 26, 104, p. 569-581, 1962.
- [12] TROUSLOT M. F., GUÉNIN G., RABÉCHAULT H. — *Oléagineux*, 22^e année, 5, p. 295-296, 1967.



Extrait de *Oléagineux*, 24^e année, N^o 5, Mai 1969.