

LES « FÈVES PLATES » :

UNE NOUVELLE SOURCE D'HAPLOÏDIE CHEZ LE CACAOYER (*Theobroma cacao*)

P. DUBLIN

Directeur de recherches ORSTOM
Chef de la Division de biologie cellulaire de l'IFCC
en Côte d'Ivoire

Introduction

Les techniques d'induction de l'haploïdie ainsi que l'intérêt de celle-ci dans l'amélioration et l'étude génétique de l'espèce *Theobroma cacao* ont été examinés lors d'une publication récente (16).

La dissociation des polyembryons a déjà permis de découvrir les premiers haploïdes connus chez le cacaoyer (16). Malheureusement, l'emploi de cette méthode exige la manipulation de quantités considérables de graines. Le taux de monoploïdie de ce procédé étant $4,1 \cdot 10^{-5}$, l'isolement de chaque haploïde nécessite en moyenne cinq cents à six cents cabosses, correspondant à 25-30 kg de cacao marchand. En outre, les niveaux de production d'un cacaoyer adulte (2.000 graines/an) limitent l'usage pratique de cette méthode pour la recherche, par exemple, de monoploïdes chez un génotype donné représenté par un seul individu.

Abstraction faite des techniques d'induction d'haploïdes par pollinisation différée ou par pollinisation avec un pollen d'espèces éloignées, les autres procédés, tels la culture d'anthers ou l'emploi de pollen irradié, exigent des équipements de base relativement importants.

Les haploïdes gynogénétiques, de graines monoembryonnées, proviennent du développement parthénogénétique de l'oosphère ou d'une cellule réduite analogue, parallèlement à une dégradation accidentelle ou provoquée du gamète mâle. C'est à ce type de mécanisme qu'il faut rattacher l'ha-

ploïdie induite par pollinisation avec un pollen altéré ou avec un pollen aberrant, incapable de gamétogenèse...

Dans les cas beaucoup plus rares d'haploïdes androgénétiques de graines monoembryonnées, c'est au contraire le gamète femelle qui est détruit, tandis que le gamète mâle se développe parthénogénétiquement au milieu d'un cytoplasme femelle devenu libre.

Des développements parthénogénétiques, conséquence de stimuli hormonaux, provoqués par la fécondation de sacs embryonnaires voisins, peuvent également être à l'origine d'haploïdes gynogénétiques.

L'embryon haploïde est, comparativement à son homologue diploïde, souvent de dimensions plus réduites et la poursuite de son développement en plantules exige quelquefois l'emploi de techniques élaborées telles que la culture *in vitro* (1) et (28). L'idée qu'une relation pouvait exister entre les caractéristiques mesurables (dimensions, poids...) de la graine et la nature de l'embryon qu'elle contenait a été émise pour la première fois par EINSSET en 1942 (cité par CHASE).

CHASE et SEANEY (1955) furent probablement les premiers à tenter des recherches d'haploïdes sur des graines de *Zea mays* préalablement triées en fonction de leurs dimensions et de leur poids (11). Cette hypothèse a été également reprise peu après par AALDERS sur le concombre (1). Après un

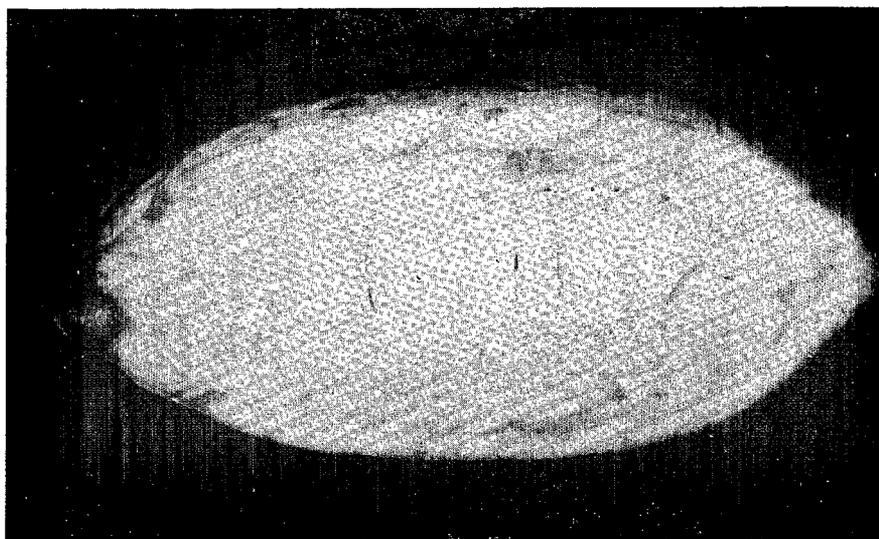
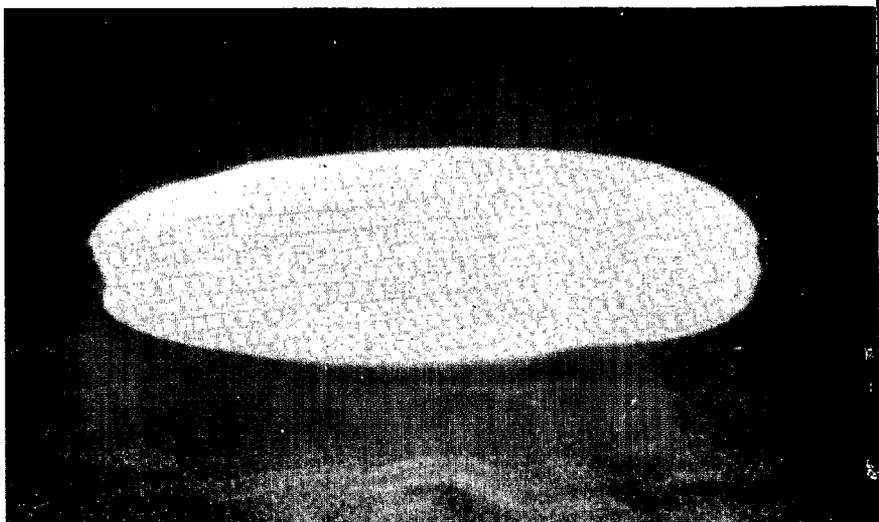
trriage par immersion des graines de concombre et culture *in vitro* des embryons provenant des graines légères, AALDERS devait constater que le taux d'haploïdie de celles-ci était beaucoup plus élevé que celui des graines lourdes : 7 % dans le premier cas contre 0 % dans le second. En outre, parmi les embryons de ces graines légères, seule une certaine catégorie, repérable à ses dimensions, fournissait des plantules haploïdes.

Chez le cacaoyer, il existe également des fèves légères, aplaties, qualifiées couramment de « fèves plates » ; elles sont disséminées dans la cabosse au milieu des fèves normales, exactement comme les graines légères de concombre sont disséminées parmi les graines lourdes.

Les recherches qui suivent ont été, en grande partie, inspirées des travaux de AALDERS sur le concombre, mais aussi des observations faites par KASHA sur l'orge (28).

L'analogie particulièrement frappante qui existe dans la répartition des deux catégories de graines, chez le concombre d'une part, et chez le cacaoyer d'autre part, pouvait en effet laisser augurer d'une certaine identité de comportement des embryons correspondants (fig. 1 et 2).

Fig. 1 et 2. — Coupes longitudinales. Analogie entre la répartition des graines légères et lourdes du concombre (1) et celle des « fèves plates » et normales de la cabosse de cacaoyer (2)



Les « fèves plates » de *Theobroma cacao*

Les « fèves plates » de *T. cacao* (« flat beans », « shrivelled beans ») sont facilement reconnaissables. Plus petites que les fèves normales, elles sont, en outre, aplaties et donnent, au toucher, une impression de vide au travers de leur enveloppe mucilagineuse.

Certaines de ces fèves sont, en effet, réellement vides, remplies d'une matière translucide, mucilagineuse ; d'autres contiennent de petites masses solides, blanchâtres, informes et sans radicules ; d'autres enfin contiennent un embryon complet

avec cotylédons et radicule. Ces embryons sont le plus souvent logés à l'extrémité placentaire, large de la fève plate.

Le pourcentage des « fèves plates » réellement vides est de l'ordre de 46 % chez les différents groupes génétiques représentés en Côte d'Ivoire : Amelonado, Trinitario et Haut-Amazoniens. Dans les cabosses issues d'hybridations interspécifiques ou intergénériques, ces taux de « fèves plates » sans embryon peuvent atteindre jusqu'à 90 % (tableau I).

Contrairement à une opinion généralement

TABLEAU I

« Fèves plates » de *T. cacao* avec et sans embryons

Origine des cabosses	Nombre de fèves plates examinées	Nombre de fèves plates embryonnées	Nombre de fèves plates sans embryon	% de fèves plates embryonnées	Taux réel de fèves plates embryonnées *
<i>T. cacao</i> (Forastero Amelonado)	144	71	73	49,3	0,42.10 ⁻²
<i>T. cacao</i> (Trinitario)	182	106	76	58,2	0,89.10 ⁻²
<i>T. cacao</i> (Haut-Amazoniens)	282	129	153	45,7	1,11.10 ⁻²
<i>T. cacao</i> (hybrides amazoniens)	525	187	318	35,61	0,85.10 ⁻²
<i>T. cacao</i> × <i>T. grandiflorum</i>	374	160	214	42,8	22,12.10 ⁻²
<i>T. cacao</i> × <i>Herrania</i>	1.669	22	1.647	1,31	1,30.10 ⁻²

(*) Par rapport à l'ensemble des fèves normales et plates.

TABLEAU II

Répartition des fèves plates dans les différents niveaux de la cabosse.
Origine : *T. cacao* (hybride amazonien)

Niveaux de prélèvements des fèves	Nombre de cabosses examinées	Nombre de fèves normales	Nombre de fèves plates	Nombre total de fèves	Taux de fèves plates pour 1.000
Tiers supérieur (côté pédoncule).....	108	1.374	36	1.410	25,53
Tiers médian	108	1.942	54	1.996	27,05
Tiers inférieur (côté style)	108	885	32	917	34,89
Total	108	4.201	122	4.323	28,22

répandue, ces « fèves plates » ou avortées sont disséminées au hasard parmi les fèves normales à tous les niveaux de la cabosse. Un comptage effectué sur une centaine de cabosses, et dont les résultats sont portés dans le tableau II, montre que ces fèves avortées se rencontrent aussi bien aux extrémités que dans la partie médiane de la cabosse avec cependant une légère tendance à être plus nombreuses à l'extrémité inférieure (opposée au pédoncule) de la cabosse.

Ces « fèves plates », dont le déterminisme est encore inconnu, peuvent résulter soit d'une fécondation retardée, soit de combinaisons génétiques

défavorables, qui entraînent un ralentissement dans la croissance de l'embryon, soit de phénomènes de stérilité partielle, liés à une déficience de fécondation ou à une faillite de mégasporogenèse, soit enfin de développements parthénogénétiques consécutifs à un stimulus normal d'origine quelconque.

La teneur en « fèves plates », chez un même cultivar, varie d'une cabosse ou d'un lot de cabosses à un autre. On constate également que ce « caractère » varie d'une origine génétique à une autre, les taux les plus élevés étant fournis par les cabosses issues d'hybridations interspécifiques et intergénétiques (tableaux III, p. 27 et IV, p. 30).

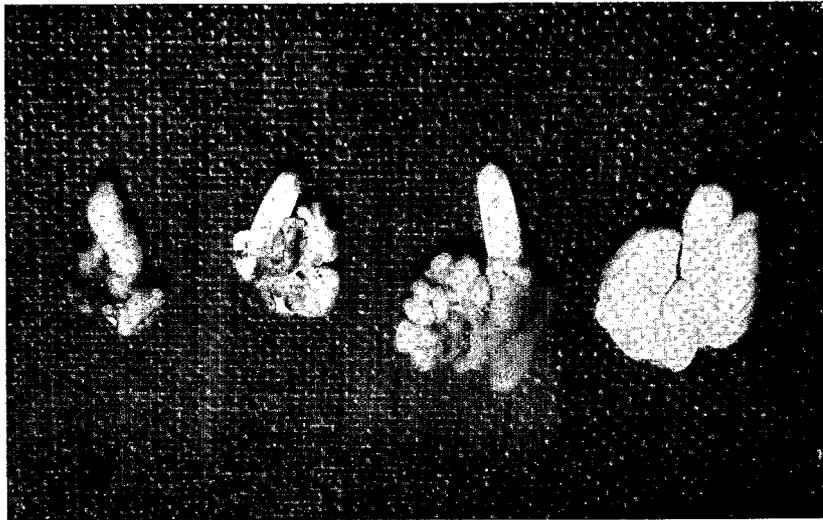
TABLEAU III

Répartition des « fèves plates » par cabosse

Origine	Nombre de cabosses à ... fèves plates (f. p.)										Total cabosses	Total fèves plates	Moyenne fèves plates par cabosse	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9				10 et plus
<i>T. cacao</i> (Amelonado)	107	36	6	1	—	—	—	—	—	—	—	151	55	0,36
<i>T. cacao</i> (Trinitario)	52	17	4	4	0	1	—	—	—	—	—	78	41	0,52
<i>T. cacao</i> (Haut-Amazoniens) ..	73	52	19	5	2	1	1	1	—	—	1	155	141	0,90
<i>T. cacao</i> (hybrides amazoniens)	80	40	8	12	1	4	1	—	—	—	—	146	124	0,84



3



4

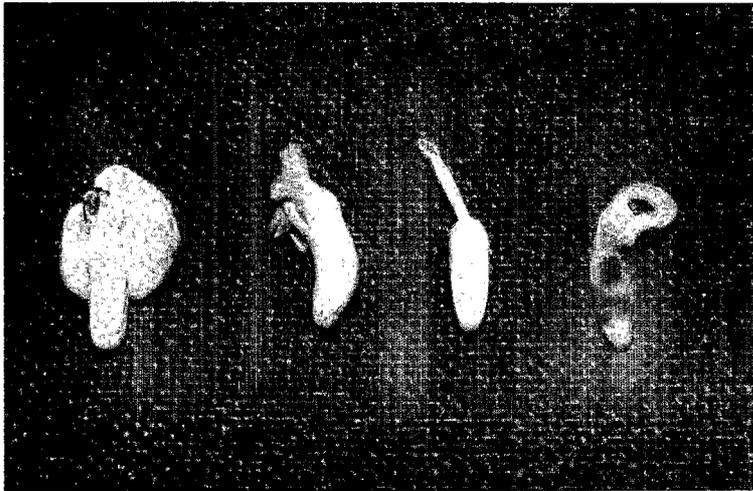


Fig. 3, 4 et 5. — *T. cacao*. Dimensions et morphologie comparées de « fèves plates » par rapport à une fève normale (3). « Fèves plates » embryonnées sans enveloppe (4-5).

5

Graphique 1.2 — Embryons (sans enveloppe) de « fèves plates » de *T. cacao*. Répartition des poids en mg

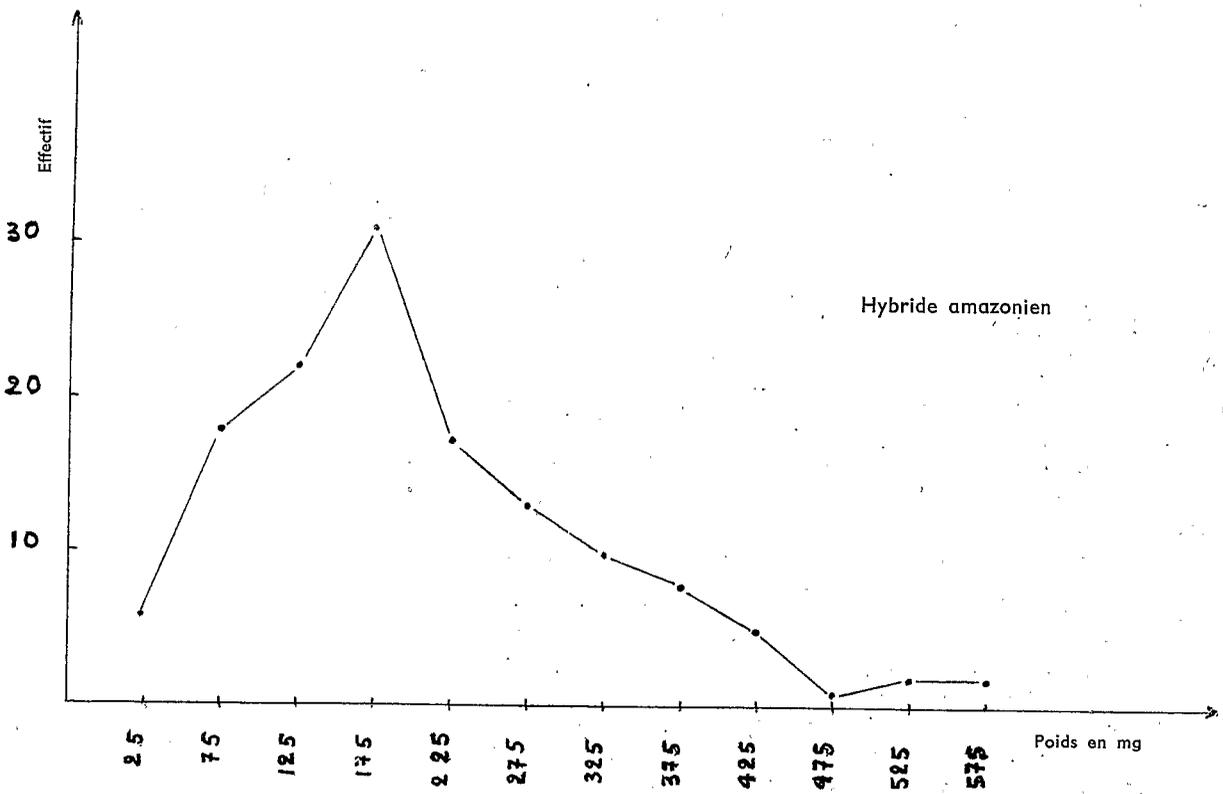
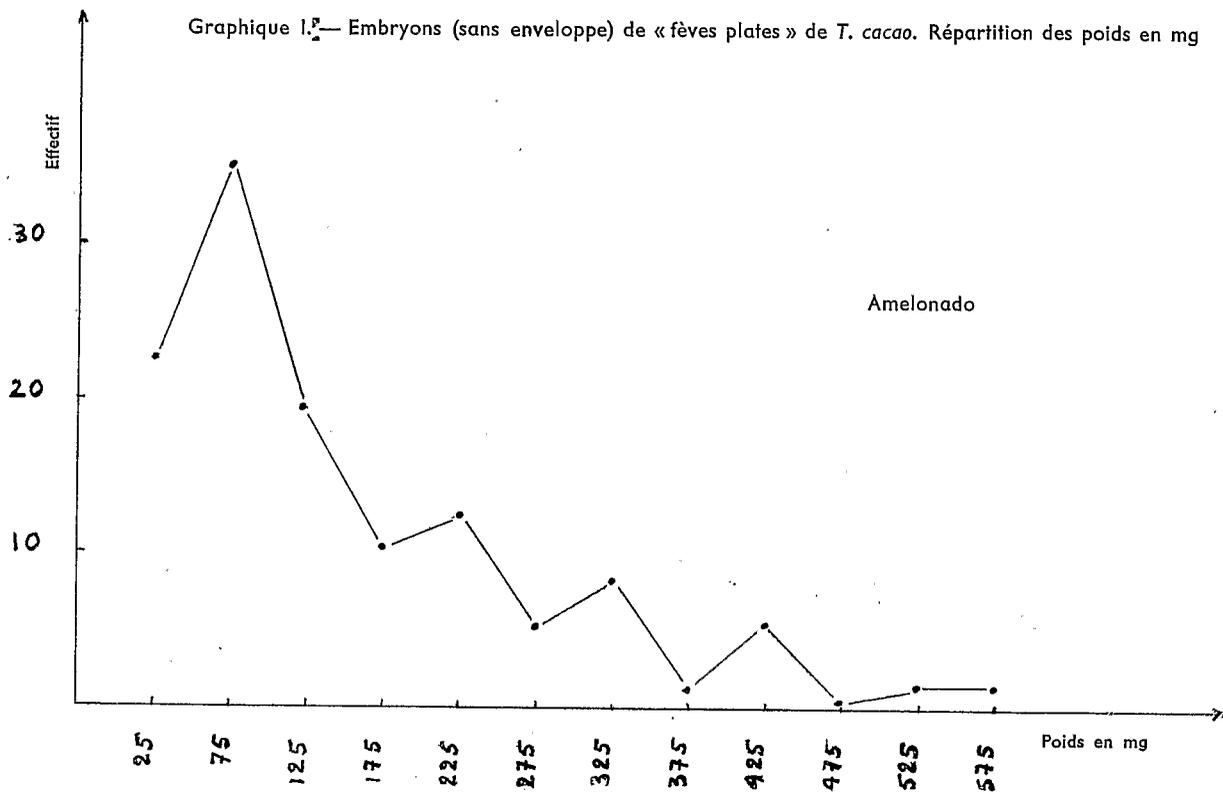


TABLEAU IV

Taux de « fèves plates » en fonction de l'origine génétique

Origine	Nombre de cabosses examinées	Nombre de fèves normales	Nombre de fèves plates	Nombre total de fèves	Moyenne fèves par cabosse	Taux de fèves plates pour 1.000
<i>T. cacao</i> (Forastero Amelonado)	151	6.269	55	6.324	41,88	8,69
<i>T. cacao</i> (Trinitario)	78	2.613	41	2.654	34,02	15,44
<i>T. cacao</i> (Haut-Amazoniens)	155	5.645	141	5.786	37,32	24,36
<i>T. cacao</i> (hybrides amazoniens)	146	5.021	124	5.145	35,23	24,10
<i>T. cacao</i> × <i>T. grandiflorum</i>	30	349	374	723	14,10	517,0
<i>T. cacao</i> × <i>Herrania</i>	44	20	1.669	1.689	38,3	988,0

C'est, par contre, chez les Amelonado africains, qui constituent un groupe homogène et pratiquement homozygote, que l'on enregistre les taux de « fèves plates » les plus faibles. Ces Amelonado africains résultent en effet de brassages génétiques entre individus issus d'un même matériel initialement très réduit, brassages qui ont été poursuivis pendant près d'un siècle entre les descendance des cacaoyers de ce groupe.

La teneur en « fèves plates » apparaît donc comme la conséquence d'un certain déterminisme génétique. Il est probable que des facteurs externes, tels que les aléas climatiques, conditions

culturelles, état sanitaire, etc... ont aussi une influence sur ce « caractère ».

Les « fèves plates » embryonnées, débarrassées de leur enveloppe, se présentent comme une petite masse informe, extrêmement variable, et dont le poids peut varier de quelques milligrammes à plusieurs dizaines de milligrammes (graphique I, p. 29). Ces « fèves plates » monoembryonnées comportent le plus souvent une radicule énorme, libre, surmontée de deux cotylédons aplatis, de forme et de coloration variables. Ces feuilles cotylédonnaires sont quelquefois réduites à l'état de vestiges totalement dépourvus de réserve nutritive (fig. 3-5, p. 28).

Développement et comptage chromosomique des plantules issues des « fèves plates » de *T. cacao*

Dans les conditions ordinaires de semis, les « fèves plates » de *T. cacao* pourrissent rapidement et leur germination est toujours pratiquement nulle.

Débarrassées de leur enveloppe, placées dans des conditions d'humidité constamment élevée, ces fèves monoembryonnées peuvent germer, dans des proportions variables, sur un substrat ordinaire constitué par exemple par du terreau de forêt. Elles donnent alors naissance à des plantules de développement divers qui est fonction du génotype et des réserves cotylédonnaires de la graine d'origine.

Lors de notre expérimentation, des « fèves plates » sans enveloppe ont été semées dans des petits pots en alkathène, remplis d'un substrat constitué au début par un mélange de sciure de bois décomposée et de terreau de forêt. Ces pots furent ensuite placés sous châssis, de façon à les

maintenir dans une ambiance humide, à degré hygrométrique élevé et constant.

En dépit de ces précautions, les levées ont été très échelonnées (quelques jours à plusieurs semaines). Les premières émissions foliaires, qui, elles aussi, suivent le rythme des levées, ont été toujours réduites (une à deux feuilles). Quelquefois, la fève soulevée de terre reste indéfiniment au stade étalement des cotylédons, puis meurt sans émission foliaire.

Le pourcentage de levée et survie des plantules, variable d'un lot à un autre, reste cependant toujours faible, dépassant rarement 50 %, dans les conditions actuelles de notre expérimentation. Les mortalités, toujours importantes, interviennent dans les premières semaines qui suivent le semis ; elles sont dues à des attaques de champignons ou de nématodes... auxquelles ces plantules, peu

robustes, sont particulièrement sensibles. Ce taux de mortalité a été quelque peu réduit par semis sur perlite arrosée d'une solution nutritive. Il reste encore cependant trop élevé et un grand nombre de plantules sont ainsi éliminées avant tout contrôle cytologique. Le plus souvent, les attaques précoces de champignons entraînent une pourriture de la fève bien avant la germination de celle-ci.

Le développement des plantules issues de « fèves plates » est très variable. Certaines plantules ont une croissance normale, émettant successivement plusieurs poussées foliaires, d'autres restent chétives, émettant quelques rares petites feuilles. Les premières feuilles de plantules issues de « fèves plates » ont souvent un contour irrégulier, conséquence apparente d'anomalies du méristème végétatif. Peu à peu, ce contour devient plus régulier au fur et à mesure des nouvelles émissions.

La taille de ces plantules est très variable, elle est fonction des réserves cotylédonnaires d'origine, mais aussi de la constitution génétique de l'embryon. En règle générale, le développement de ces plantules est médiocre.

Les comptages des chromosomes des plantules issues de « fèves plates » de *T. cacao* ont été effectués sur jeunes feuilles, suivant une technique déjà utilisée lors du repérage des haploïdes issus des graines polyembryonnées chez ce même végétal (16) : les fragments de très jeunes feuilles, après traitement à l' α -bromonaphtalène, fixation au Carnoy, ont été colorés à la pararosaniline. Le comptage des chromosomes a été ensuite fait en contraste de phase à l'aide d'un microscope Wild M. 20.

Cent soixante et une plantules issues d'un semis beaucoup plus important de « fèves plates » ont été ainsi examinées ; cinq d'entre elles étaient haploïdes avec dix chromosomes, soit un taux de monoploïdie de 3,1 %. En réalité, compte tenu de l'importante mortalité (50 %) qui affecte en particulier les embryons de petites dimensions, les données qui précèdent sont nettement insuffisantes

et incomplètes pour l'établissement du taux d'haploïdie chez les plantules issues de « fèves plates » de *T. cacao*.

Le développement des plantules haploïdes issues de « fèves plates » est très variable puisqu'il est fonction des réserves cotylédonnaires d'origine ; ce développement est dans quelques cas supérieur à celui des plantules diploïdes des mêmes fèves, mais dont les réserves initiales étaient moindres.

Les caractéristiques des plantules haploïdes issues de « fèves plates » sont évidemment identiques à celles des haploïdes qui proviennent des graines normales polyembryonnées (16). La caractéristique essentielle de la plantule haploïde est l'aspect particulier des feuilles, dont les limbes, de contour irrégulier, présentent toujours un gaufrage spécifique, constitué par une série d'invaginations plus ou moins accentuées, localisées le long des nervures principale et secondaires de la feuille, quelquefois sur les bords et qui sont nettement visibles chez la feuille encore jeune (fig. 6-8). La coloration des feuilles de l'haploïde, moins verte que chez le diploïde, présente, par endroit, comme de minuscules zones décolorées. La pilosité des jeunes feuilles est, par rapport au diploïde, moins accentuée.

L'observation des cellules de l'haploïde lors des comptages de chromosomes montre que les dimensions de celles-ci sont plus réduites que chez le diploïde. Le système racinaire de la plantule haploïde est, comme chez le diploïde, constitué par un pivot garni de radicelles, celles-ci étant comparativement toujours plus courtes que chez le diploïde.

Les chloroplastes des cellules de garde ont été examinés après coloration au nitrate d'argent à 2 % de lambeaux d'épiderme de la face inférieure des feuilles. Chez le cacaoyer, le détachement de ces fragments d'épiderme est relativement difficile à cause de la fragilité des feuilles dont le limbe est très cassant. Les quelques résultats obtenus à la suite de l'examen comparé des stomates des diploïdes et haploïdes ont été portés dans le tableau V.

TABLEAU V

Dimensions et nombre de chloroplastes des cellules de garde des stomates de *T. cacao*

Origine	Longueur en μ des cellules de garde		Nombre de chloroplastes des cellules de garde	
	Nombre de stomates examinés	Longueur moyenne	Nombre de stomates examinés	Nombre moyen de chloroplastes
Diploïde 2n = 20	55	13,26	25	3,9
Haploïde n = 10	30	10,4	21	3,0

On constate que la longueur moyenne des cellules de garde des stomates des plantules haploïdes est nettement inférieure à celle des diploïdes. Par contre, il n'apparaît aucune différence réelle entre le nombre de chloroplastes des cellules de garde des stomates pour ces deux niveaux de ploïdie (tableau V, p. 31).

En définitive, aucun de ces deux caractères ne saurait être utilisé pour une discrimination précise des haploïdes chez *T. cacao*. Seul le comptage chromosomique, effectué de préférence sur feuilles ou bourgeons (11, 31), offre toutes les garanties requises.

Fig. 6. — *T. cacao*. Plantule haploïde ($n = 10$) ▶
issue d'une « fève plate »

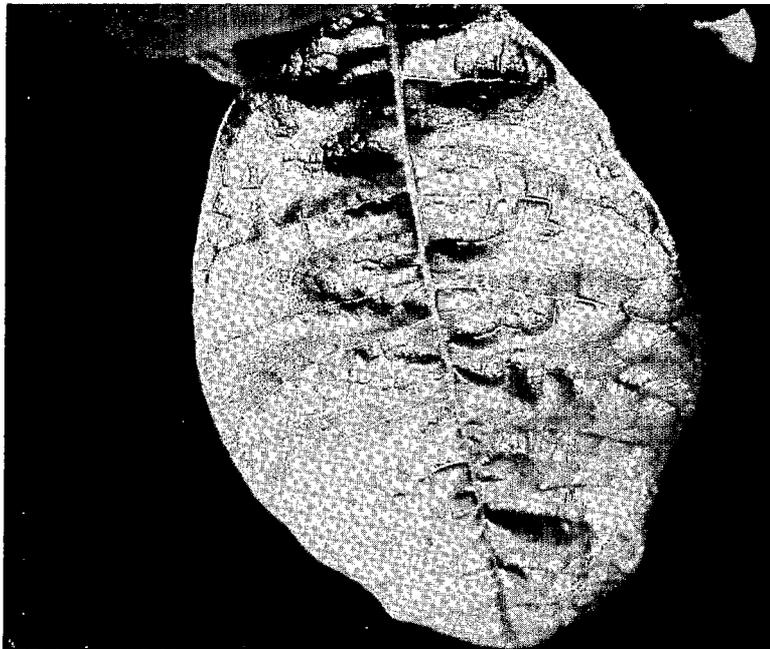
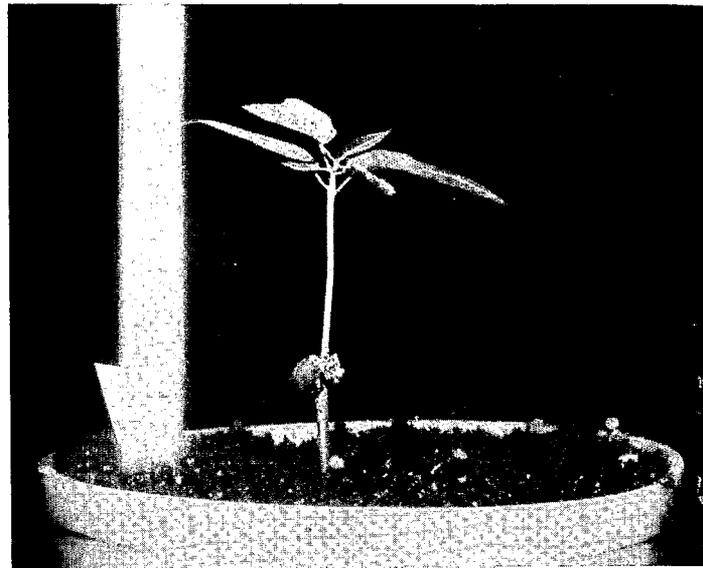


Fig. 7. — *T. cacao*. Feuille d'une plantule haploïde. Noter le gaufrage particulier constitué par une série d'invaginations localisées le long des nervures principale et secondaires du limbe

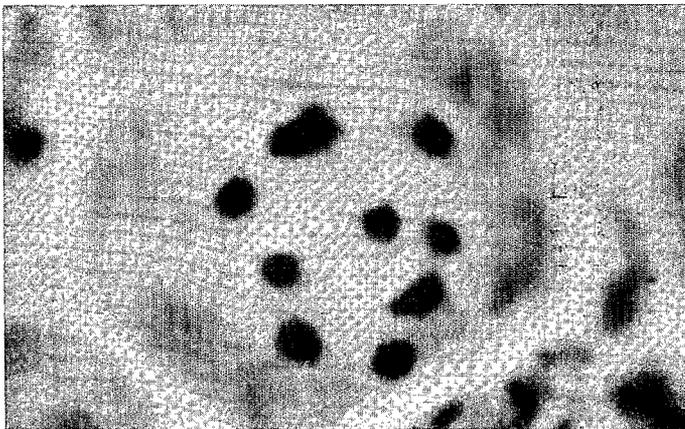


Fig. 8. — *T. cacao*. Métaphase de mitose chez une plantule haploïde ($n = 10$)

Fig. 9. — *T. cacao*. Plantule diploïde issue d'une « fève plate »

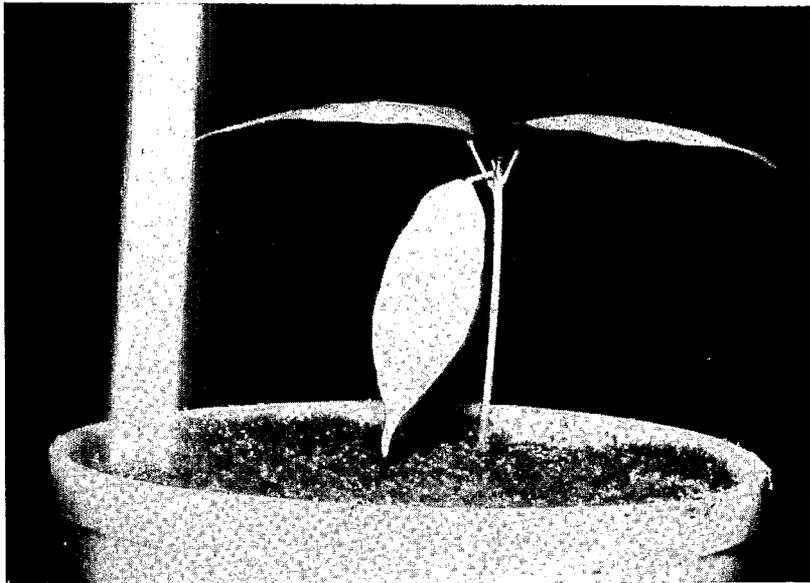
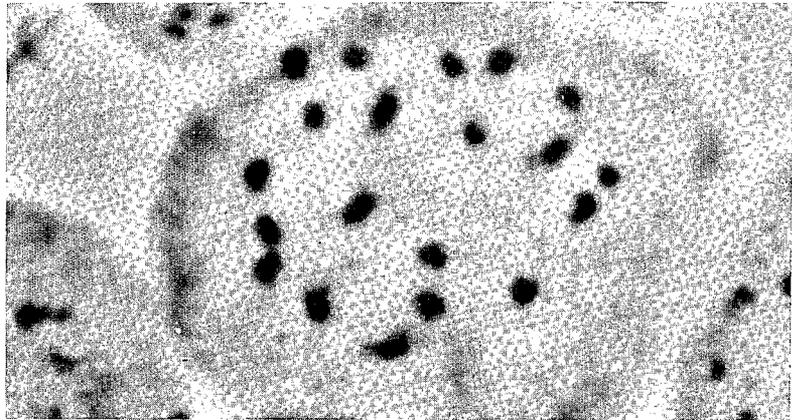


Fig. 10. — *T. cacao*. Métaphase de mitose chez une plante diploïde ($2n = 20$)



Les clichés sont de P. Dublin

Discussion et conclusion

La dissociation des polyembryons, qui a permis la découverte des premiers haploïdes de *T. cacao*, exige la manipulation et la perte de quantités considérables de graines. Le faible taux de monoploïdie de cette méthode lui confère en outre un intérêt pratique quelquefois limité. En particulier, cette technique n'est guère utilisable pour la recherche d'haploïdes chez un géniteur de valeur représenté par un seul arbre.

Compte tenu des résultats de AALDERS sur concombre, il y avait tout lieu de penser que les « fèves plates » de *T. cacao* pouvaient constituer une source d'haploïdes chez ce végétal.

L'étude de la répartition du taux des « fèves plates » montre que son déterminisme est vraisemblablement d'origine génétique et que, par conséquent, il sera possible d'agir sur ce « caractère » grâce à un choix judicieux de géniteurs...

La mise en culture de « fèves plates » de *T. cacao* constitue un procédé de recherche d'haploïdes non négligeable chez ce végétal.

Les potentialités réelles de cette voie restent cependant, dans les conditions actuelles de notre expérimentation, nettement sous-exploitées.

Seule la culture *in vitro* de tous les embryons issus de « fèves plates » et dont la proportion pourra

être augmentée par hybridation permettra une exploitation complète des potentialités réelles de cette voie de recherche d'haploïdes de *T. cacao*.

Comparativement à la méthode de dissociation des polyembryons, l'emploi des embryons issus de « fèves plates » permet de laisser intact le pro-

duit marchand et d'éviter les importantes manipulations liées au tri des graines polyembryonnées.

Par ailleurs, la possibilité d'obtenir et de cultiver les embryons des « fèves plates », chez n'importe quel génotype de *T. cacao*, confère à ce procédé un intérêt pratique élargi, absolument indéniable.

BIBLIOGRAPHIE

1. AALDERS (L. E.). — Monoploidy in cucumbers. *J. Hered.*, 49, p. 41-44, 1958.
2. ADENIKINJU (S. A.). — Effects of pod maturity on bean development, viability, mucilage content and seedling vigour in cacao. *Exptl Agric.*, 8, p. 123-129, 1972.
3. ANUBHAVANARAIN, SINGH (P.). — Haploid meiosis and its bearing on the constitution of the castor oil plant. *J. Hered.*, 59, 5, p. 287-288, 1968.
4. ARCHIBALD (J. F.). — Culture *in vitro* of cambial tissue of cacao. *Nature*, n° 4399, p. 351-352, 20 fév. 1954.
5. BERNARD (S.). — Développement d'embryons haploïdes à partir d'anthers cultivées *in vitro*. Etude cytologique comparée chez le tabac et le pétunia. *Rev. Cyt. et Biol. vég.*, 34, p. 185-188, 1971.
6. BESSE (J.). — L'amélioration du cacaoyer en Côte d'Ivoire. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. 8, n° 4, p. 245-263, 1964.
7. BINGHAM (E. T.). — Isolation of haploids of tetraploid alfalfa. *Crop Sci.*, vol. II, p. 133-135, 1971.
8. BLANCHET (J. Y.). — Haploïdie et sélection des plantes. Conférence A. S. F., 49 p., 1966.
9. BOUHARMONT (J.). — Recherches cytologiques sur la fructification et l'incompatibilité chez *Theobroma cacao*. Publ. INEAC, série sci. n° 89, 1960.
10. BRAUDEAU (J.). — Le cacaoyer. Maisonneuve & Larose (Paris), 304 p., 1969.
11. CHASE (S. S.). — Monoploids and monoploid-derivatives of maize (*Zea mays* L.). *The botanical Review*, 35, p. 117-167, 1969.
12. CHEESMAN (E. E.). — Fertilization and embryogeny in *Theobroma cacao* L. *Annals of Botany*, vol. XLI, n° 161, p. 107-125, janv. 1927.
13. COPE (F. W.). — The mechanism of pollen incompatibility in *Theobroma cacao* L. *Heredity*, vol. 17, n° 2, p. 157-182, 1962.
14. DEVREUX (M.). — Plantes haploïdes et lignées isogéniques de *Nicotiana tabacum* obtenues par cultures d'anthers et de tiges *in vitro*. *Caryologia*, vol. 24, n° 1, p. 141-148, 1971.
15. DRYANOVSKA (O. A.). — Gynogenesis, induced by gamma rays in *Nicotiana tabacum* L. *Compte rendu de l'Académie bulgare des sciences*, tome 23, n° 2, p. 217-220, 1970.
16. DUBLIN (P.). — Sur la recherche et l'utilisation des haploïdes dans l'amélioration et l'étude génétique des plantes stimulantes en Côte d'Ivoire. Comité Technique de PIFCC, mai 1972, Côte d'Ivoire.
17. DUBLIN (P.). — Polyembryonie et haploïdie chez *T. cacao*. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVI, n° 4, p. 295-310, 1972.
18. DUMAS DE VAULX (R.). — Obtention de plantes haploïdes par des méthodes ne mettant pas en jeu des cultures *in vitro*. INRA, Séminaire « Jeunes Chercheurs », Avignon 5-7 oct. 1971.
19. ENDRIZZI (J. E.). — Use of haploids in *Gossypium barbadense* L. as a source of aneuploid. *Current Science*, vol. 35, n° 2, p. 34-36, 1966.
20. ENRIQUEZ (G.), SORIA (J.). — The variability of certain bean characteristics of cacao (*Theobroma cacao* L.). *Euphytica*, 17, p. 114-120, 1968.
21. GLENDINNING (D. R.). — The inheritance of bean size, pod size and number of beans per pod in cacao (*Theobroma cacao* L.), with a note on bean shape. *Euphytica*, 12, p. 311-322, 1963.
22. GLENDINNING (D. R.). — Selfing of self incompatible cacao. *Nature*, vol. 187, p. 170, 9 juil. 1960.
23. GUHA (S.), IYER (R.). — Totipotency of gametic cells and the production of haploids in rice. *Current Science*, vol. 39, n° 8, p. 174-176, 1970.
24. GUHA (S.), MAHESHWARI (S. C.). — Development of embryoids from pollen grains of *Datura*, *in vitro*. *Phytomorphology*, vol. 17, n° 1-4, p. 454-461, 1967.
25. HESSE (D. C.). — Monoploid peaches, *Prunus persica* B., description and meiotic analysis. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, 96, (3), p. 326-330, 1971.
26. HUNTER (J. R.). — Germination in *Theobroma cacao*. *Cacao*, Inter-American Cacao Center, Turrialba (Costa Rica), vol. 4, n° 4, 1959.
27. IBANEZ (M. L.). — The cultivation of cacao embryos in sterile culture. *Trop. Agric.* (Londres), vol. 41, p. 325-328, 1964.
28. KASHA (K. J.), KAO (K. N.). — High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Nature*, vol. 225, p. 874-875, 28 févr. 1970.
29. KATAYAMA (Y.). — Studies on the haploidy in relation to plant breeding. IV. Parthenogenetic development induced by alien pollen. *Seiken Zihô*, 21, 31-35, 1969.
30. KATAYAMA (Y.), TANAKA. — Studies on the haploidy in relation to plant breeding. Further proposal of haploid method in plant breeding. *Seiken Zihô*, 21, p. 37-49, 1969.
31. KIRILLOVA (G.). — The phenomenon of haploidy in angiosperms. *Genetika*, vol. 2, n° 2, p. 137-147, 1966.
32. KIMBER (G.), RILEY (R.). — Haploid angiosperms. *Bot. Review*, p. 480-531, oct.-déc. 1963.
33. KNIGHT (R.), ROGERS (H. H.). — Sterility in *Theobroma cacao* L. *Nature*, vol. 172, p. 164, 25 juil. 1953.
34. KNIGHT (R.), ROGERS (H. H.). — Incompatibility in *Theobroma cacao*. *Heredity*, vol. 9, p. 69-77, avril 1955.
35. MAGOON (M. L.), KHANNA (K. R.). — Haploids. *Caryologia*, vol. 16, n° 1, p. 191-235, 1963.
36. MAIZONNIER (D.). — Utilisation du froid comme agent préfixateur pour les comptages chromosomiques sur apex radiculaires de trèfle violet autotétraploïdes. *Ann. Amél. Plantes*, 18, (1), p. 81-84, 1968.
37. MARTINSON (V. A.). — Hybridization of cacao and *Theobroma grandiflora*. *J. Hered.*, 57, p. 134-136, 1966.
38. MASATOSHI NEI. — The efficiency of haploid method of plant breeding. *Heredity*, 18, p. 95-100, 1963.

39. MELCHERS (G.). — Haploid higher plants for plant breeding. *Pflanzenzüchtg.*, 67, p. 19-32, 1972.
40. NOZERAN (R.), BANCILHON (L.). — Les cultures *in vitro* en tant que techniques pour l'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes. Laboratoire de morphologie végétale expérimentale. Université Paris-Sud, Centre d'Orsay, 17 p., 1971.
41. OPEKE (L. K.), JACOB (V. J.). — Cytological irregularities in *Theobroma cacao* L. 2^e Conférence internationale sur les recherches cacaoyères, Bahia, Brésil, vol. 1, p. 9-11, 1967.
42. PELOQUIN (S. J.), HOUHAS (R. W.). — Inheritance of incompatibility in hybrids between *Solanum tuberosum* haploids and diploid species. *Euphytica*, 13, p. 173, 1964.
43. POCHARD (E.). — Haploïdie en amélioration des plantes. INRA, Séminaire « Jeunes Chercheurs », Avignon, 5-7 oct. 1971.
44. POUND (F. J.). — Studies of fruitfulness in cacao. V. Conditional self-compatibility and its implications. 4th Report on Cacao Research, Trinidad, p. 17-19, 1934.
45. RESTREPO HERNANDO (P.). — Frutos partenocarpicos en cacao. *Cacao en Colombia*, vol. II, p. 155-161, 1953.
46. SHARP (W. R.), RASKIN (R. S.). — The use of nurse culture in the development of haploid clones in tomato. *Planta* (Berlin), 104, p. 357-361, 1972.
47. SIMMONDS (N. W.). — Chromosome behaviour in some tropical plants. *Heredity*, 8, p. 139-146, 1954.
48. STETTLER (R. F.), BAWA (K. S.), LIVINGSTON (G. K.). — Haploidy, an approach to the development of high yield varieties. Second World Consultation on forest tree breeding, 5 p., août 1969.
49. SUNDERLAND (N.). — Anther culture : a progress report. *Sci. Prog. Oxf.*, 59, p. 527-549, 1971.
50. THEVENIN (L.). — Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. (1) — II. Haploïdie et amélioration. *Ann. Amél. Plantes*, 18, (4), p. 327-365, 1968.
51. VELLO (F.), NASCIMENTO (I. F.). — Influencia da origem do polen na produção do cacauero. *Revista Theobroma*, CEPEC, Itabuna, Brasil, 1, (1), p. 7-14, janv.-mars 1971.
52. YAKOLLEV (M. S.). — Polyembryony in higher plants and principles of its classification. *Phytomorphology*, 17, 5, p. 278-282, 1968.
53. ZAMORA (P. M.), ORLIDO (N. M.), CAPINPIN (J. M.). — Ontogenetic and embryological studies in *Theobroma cacao* Linn. *The Philippine Agriculturist*, n° 10, p. 613-636, mars 1960.

DUBLIN (P.). — Les « fèves plates » : une nouvelle source d'haploïdie chez le cacaoyer (*Theobroma cacao*). *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 1, janv.-mars 1973, p. 25-36, graph., tabl., photos, réf.

Comme chez le concombre, où il y a mélange de graines légères et de graines lourdes dans un même fruit, il existe des fèves légères aplaties, couramment appelées « fèves plates », disséminées au milieu des fèves normales dans la cabosse de cacaoyer.

L'auteur, ayant observé cette analogie de répartition des deux catégories de graines chez le concombre et le cacaoyer, recherche s'il existe une relation entre le taux d'haploïdie et le caractère « fève plate » comparable à celle notée pour les graines légères du concombre.

Le pourcentage des « fèves plates » chez un même cultivar varie d'une cabosse ou d'un lot de cabosses à un autre et varie d'une origine génétique à une autre (Amelonado, Trinitario, Haut-Amazoniens, hybrides amazoniens) ; les taux les plus élevés sont donnés par les cabosses issues d'hybridations interspécifiques (*T. cacao* × *T. grandiflorum*) ou intergénériques (*T. c.* × *Herrania*). Le déterminisme de ce caractère est donc vraisemblablement d'origine génétique.

Le semis de « fèves plates » sans enveloppe en pots en alkathène, remplis d'un mélange de sciure de bois décomposée et de terreau de forêt et placés sous châssis dans une ambiance à degré hygrométrique élevé et constant, permet d'obtenir des plantules à caractéristiques morphologiques particulières.

Le comptage chromosomique de ces plantules effectué sur fragments de très jeunes feuilles, après traitement à l' α -bromonaphtalène, fixation au Carnoy et coloration à

DUBLIN (P.). — « Flat beans » : a new source of haploidy in the cacao tree (*Theobroma cacao*). *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 1, janv.-mars 1973, p. 25-36, graph., tabl., photos, réf.

As in the cucumber, in which a mixture of light and heavy seeds exists in the same fruit, light flat beans, commonly known as « flat beans », are scattered among normal beans in the cacao pod.

The author, having observed this analogy in the distribution of both categories of seeds in the cucumber and cacao tree, tried to determine whether or not there exists a relationship between the proportion of haploidy and the « flat bean » characteristic comparable to that noted in light cucumber seeds.

The percentage of flat beans in one and the same cultivar varies from one cacao pod or cacao pod lot to another and from one genetic origin to the next (Amelonado, Trinitario, Upper-Amazon, Amazon hybrids) ; the highest percentages are noted in cacao pods originating from interspecific (*T. cacao* × *T. grandiflorum*) or intergeneric (*T. c.* × *Herrania*) hybridizations. The determinism of this characteristic is therefore in all probability of genetic origin.

The sowing of flat beans without any envelope in alkathene pots filled with a mixture of decomposed sawdust and forest-mould and placed under a frame in an environment of high and constant relative humidity makes it possible to obtain plantlets with special morphological characteristics.

The chromosome count for these plantlets carried out on very young leaf fragments after treatment with alpha-bromo-

la pararosaniline, est fait en contraste de phase à l'aide d'un microscope Wild M. 20 ; le taux de monoploidie observé est de 3,1 %.

Ni la longueur moyenne des cellules de garde des stomates, ni le nombre de chloroplastes de celles-ci ne peuvent servir de caractères spécifiques de l'haploïdie chez *T. cacao* ; seul le comptage chromosomique sur feuilles ou bourgeons donne toutes les garanties requises pour l'étude du pourcentage d'haploïdie chez les plantules issues de semis de « fèves plates ».

DUBLIN (P.). — Die « flachen Bohnen », eine neue Quelle von Haploidie beim Kakaobaum (*Theobroma cacao*). *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 1, janv.-mars 1973, p. 25-36, graph., tabl., photos, réf.

Genau wie bei der Gurke, die in der selben Frucht leichte und schwere Samenkörner aufweist, gibt es auch leichte « abgeflachte » Bohnen, genannt « flache Bohnen », die inmitten der normalen Bohnen in der Schote verstreut sind.

Der Autor der diese Aehnlichkeit der Verteilung der zwei Kategorien von Samenkörnern in der Gurke und beim Kakaobaum beobachtet hat, bemüht sich festzustellen, ob es eine Beziehung gibt zwischen dem Grad an Haploidie und dem Merkmal « flache Bohnen » ähnlich derjenigen die für die leichten Samenkörner der Gurke verzeichnet wurde.

Der Prozentsatz an « flachen Bohnen » bei ein und demselben Kultivar variiert von einer Schote zur anderen oder von einem Los Schoten zum anderen und variiert von einem genetischen Ursprung zum anderen (Amelonado, Trinitario, Ober-Amazonien, Amazonien Hybriden) ; die höchsten Gehalte liefern die aus Artkreuzung (*T. cacao* × *T. grandiflorum*) oder Gattungskreuzung (*T. c.* × *Herrania*) hervorgegangenen Schoten. Der Determinismus dieses Merkmals ist daher wahrscheinlich genetischen Ursprungs.

Das Säen von « flachen Bohnen » ohne Haut in Töpfen aus Alkathen die mit einer Mischung von zersetzten Sägespänen und Waldhumus gefüllt und unter Beeffenster bei einer Umgebung mit hohem und konstantem hygrometrischem Grad gestellt wurden, erlaubt Setzlinge mit besonderen morphologischen Eigenschaften zu erhalten.

Die chromosomische Zählung dieser Setzlinge, die auf Fragmenten von sehr jungen Blättern nach Behandlung mit 1-Bromonaphthalen, Fixierung mit Carnoy und Färbung mit Pararosanilin vorgenommen wurde, erfolgte bei Phasenkontrast mittels eines Mikroskops Wild M. 20 ; der beobachtete Grad an Monoploidie beträgt 3,1 %.

Weder die durchschnittliche Länge der Schutzzellen der Stomata, noch die Zahl ihrer Chloroplaste können als spezifische Merkmale der Haploidie bei *T. cacao* dienen ; allein die chromosomische Zählung auf Blättern oder Knospen liefert die nötigen Garantien zur Untersuchung des Grads an Haploidie bei den aus den Sämlingen der « flachen Bohnen » hervorgegangenen Setzlingen.

naphthalene, Carnoy fixation and pararosaniline staining, was effected using a Wild M. 20 phase contrast microscope ; the proportion of monoploidy observed was 3.1 %.

Neither the average length of the stoma guard cells, nor the number of chloroplasts in the latter can be considered as specific characteristics of haploidy in *T. cacao* ; only the chromosome count on leaves or buds gives all the required guarantees for the study of the haploidy percentage in plantlets originating from « flat beans » sowings.

DUBLIN (P.). — Las « almendras chatas » : una nueva fuente de haploidía en el cacao (*Theobroma cacao*). *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 1, janv.-mars 1973, p. 25-36, graph., tabl., photos, réf.

Como en el cohombro donde hay una mezcla de granos ligeros y de granos pesados en el mismo fruto, existen en las mazorcas almendras ligeras achatadas que se llaman comunemente « almendras chatas » y que se hallan en medio de las almendras normales.

Habiendo observado esta analogía de repartición de las dos categorías de granos en el cohombro y en el cacao, el autor trató de determinar una relación entre el porcentaje de haploidía y el carácter « almendra chata » semejante a la que fue encontrada con los granos ligeros del cohombro.

El porcentaje de « almendras chatas » en un mismo cultivar varía entre las mazorcas y también entre lotes de mazorcas así como entre una origen genética y otra (Amelonado, Trinitario, Alto-Amazónicos, híbridos amazónicos) ; se encuentran los porcentajes más altos en las mazorcas procedentes de hibridaciones interespecíficas (*T. cacao* × *T. grandiflorum*) o intergenéricas (*T. c.* × *Herrania*). El determinismo de este carácter es pues verosímilmente de origen genético.

Con la sembradura de « almendras chatas » sin envoltura en macetas de alkateno llenas de una mezcla de aserrín descompuesto y de mantillo de selva y colocadas en una vidriera en un ambiente con un grado higrométrico alto y constante, se ha obtenido plantitas caracterizadas por una morfología particular.

Los cromosomas de las plantitas se cuentan en los fragmentos de hojas muy jóvenes después de tratamiento en el α -bromonaftaleno, fijación con el Carnoy y coloración con la pararosanilina, en contraste de fase y usándose un microscopio Wild M. 20 ; se observó una monoploidía de un 3,1 %.

Ni la longitud mediana de las células de protección de los estomas, ni el número de cloroplastos de los últimos no pueden considerarse como caracteres específicos de la haploidía en *T. cacao* ; contándose los cromosomas en las hojas y en las yemas se obtienen todas las garantías necesarias para el estudio del porcentaje de haploidía en las plantitas procedentes de « almendras chatas ».