

RECHERCHES SUR LA CULTURE « IN VITRO » DES EMBRYONS DE PALMIER A HUILE

(*ELAEIS GUINEENSIS* JACQ.)

I. EFFETS DE L'ACIDE β INDOLYL-ACÉTIQUE (*)

H. RABÉCHAULT

Chargé de Recherches à l'O.R.S.T.O.M.

Lorsqu'un végétal donne des graines à germination rapide permettant ainsi d'obtenir des plantules saines dans des délais très courts, on possède un moyen commode de tests biologiques physiologiques ou phytopathologiques. En ce qui concerne le palmier à huile cette possibilité n'est pas offerte à cause de la difficulté de la germination de ses graines. Celle-ci est très lente ; à 25° C elle est défectueuse et peut s'échelonner sur plus d'une année.

Divers auteurs ont tenté de l'accélérer en étudiant les divers facteurs qui la limitent ou la favorisent. Depuis une cinquantaine d'années on savait que la germination des graines de palmier à huile exigeait des températures élevées relativement à celles des plantes des régions tempérées HUSSEY [4,5] en a déterminé l'optimum : 38 à 40° C.

Mais cette condition réalisée ne suffit pas pour assurer la germination du maximum de graines dans le minimum de temps. Ainsi on augmente encore considérablement la vitesse et le taux de germination selon cet auteur en provoquant dans la graine une réaction « oxydative » à l'aide d'oxygène pur ; REES [15, 16, 18] a repris récemment les expériences de HUSSEY et précisé les effets d'un troisième facteur : l'humidité des graines, dont l'optimum a été fixé à 21 %.

Ainsi selon REES [15] il y aurait trois facteurs essentiels pour assurer une bonne germination, chacun agissant pour assurer une réaction déterminée au sein de la graine :

1° — une température relativement élevée 39°,5 C pendant 70 à 80 jours. [HUSSEY 4, REES 15, 16] ;

2° — une oxygénation à l'aide d'oxygène pur [HUSSEY *loc. cit.*], qui peut être remplacée par un prétraitement des graines par une température élevée (50° C pendant 2 à 24 heures) [REES 15] ;

(*) Cette recherche a été réalisée en collaboration étroite entre l'O. R. S. T. O. M. et l'I. R. H. O., dans le Laboratoire de Croissance et de Développement de la Division IV à l'I. D. E. R. T. de Bondy. Nous avons plaisir à remercier M. le Dr PÉVOR, Directeur des Recherches Agronomiques de l'I. R. H. O. et Chef de la Division des Sciences de base des Productions végétales de l'O. R. S. T. O. M. pour l'intérêt qu'il n'a cessé de porter à nos recherches, ainsi que pour ses précieux conseils.

Notre gratitude va également à notre collaboratrice M^{lle} J. BOUVINET à laquelle nous sommes redevable de la réalisation des expériences qui font l'objet de la présente publication.

3° — une humidité optimum des graines (21 %) [REES 15, 18] ; il faut ajouter à cela :

4° — qu'un abaissement de température de 12° C pendant 24 h., répété tous les 15 jours, stimule la germination [HENRY 3] ;

5° — que l'arrosage des graines en germe à l'aide d'acide indolyl-acétique aux concentrations de 10⁻⁵ et 10⁻⁶ provoque une augmentation de 30 % du taux de germination [HENRY 3].

Les effets de ces divers facteurs et en particulier du prétraitement par la chaleur correspondant, d'après A. R. REES [18], à la stratification à basse température des graines de plantes tempérées.

C'est l'albumen oléagineux et dur qui limite, semble-t-il, l'action des facteurs du milieu, HUSSEY [4] a pu accélérer le développement de l'embryon en dégageant celui-ci de l'albumen.

On peut donc penser obtenir des plantules rapidement en isolant les embryons et en les élevant sur un milieu nutritif synthétique, à l'air libre. Cependant, lorsque l'embryon est ainsi séparé de l'albumen, il ne dispose plus des réserves en éléments macro et micro-trophiques nécessaires à un développement et une croissance convenables.

L'objet de cette étude sera donc de chercher à réaliser une méthode de culture à l'aide d'un milieu nutritif dont la composition soit telle que le développement de l'embryon se rapproche le plus possible de celui observé au cours de la germination des graines ; ceci afin d'obtenir le plus rapidement possible de jeunes plantules sur lesquelles pourraient ultérieurement être effectués des tests biologiques.

GAUTHERET [2] pense que l'albumen des graines de palmier à huile est riche en éléments micro-trophiques, car les extraits de graines ont des propriétés qui rappellent celles du lait de coco. En effet, KOVOOR [7,8] ayant expérimenté des extraits de fruits et de graines de diverses espèces végétales (oranges, raisins, fruits d'*Allanblackia*, graines d'*Artocarpus*, de *Borassus* et d'*Elaeis*) sur divers tests biologiques a pu montrer qu'ils renfermaient des substances de croissance.

Chez l'*Elaeis*, parmi ces substances, certaines seraient



ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 29.687 exp 1

Cote : B

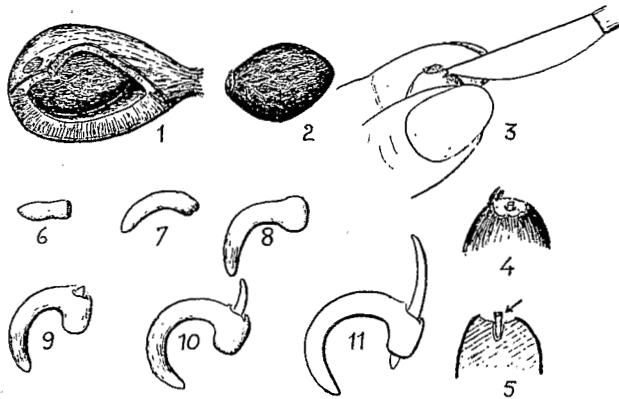
de type auxinique (action sur l'élongation — *test Avena*), d'autres seraient analogues à celles du lait de coco (principes excitant : la cambio-genèse du radis, la prolifération des cellules normales — *test topinambour* et la prolifération des cellules tumorales — *test Crown-gall du scorsonère*).

Pour l'instant, retenons les propriétés histogènes et rhizogènes qui rappellent celles de l'acide β indolyl-acétique (A. I. A.). HUSSEY (*loc. cit.*) a bien tenté d'élever des embryons sur du papier filtre humidifié à l'aide de solutions aqueuses d'acide β indolyl-acétique (1, 10 et 100 ppm), mais il déclare n'avoir obtenu aucun résultat.

Nous avons repris ici cette étude ébauchée par HUSSEY en utilisant la méthode des cultures d'organes sur milieu aseptique GAUTHERET [2], RAPPAPORT [14].

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les embryons utilisés provenaient de graines d'*Elaeis Guineensis* JACQ. var. *Dura* issues de fécondation libre, que nous a fort aimablement adressées la Station du palmier à huile de l'Institut de Recherches sur les Huiles et Oléagineux (I. R. H. O.) de Pobé (République du Dahomey).



PL. 1, FIG 1 à 11. — Mode d'isolement des embryons de palmiers à huile et stades de développement des embryons (explications dans le texte).

L'isolement aseptique des embryons a été effectué dans une cellule spécialement aménagée à cet effet, de la manière suivante : (Planche I fig. 1 à 5). Les graines sont mises à tremper pendant 3 minutes dans l'eau de javel à 12° chlorimétriques, puis saisies entre le pouce et l'index (Planche I fig. 3), l'embryon à la partie supérieure (extrémité arrondie de la graine). L'emplacement de ce dernier est facile à repérer grâce à un petit opercule proéminent qui le recouvre. (Planche I fig. 2). Cet opercule est éliminé par grattage à l'aide d'un scalpel stérile, on découvre ainsi le sommet de l'embryon qui est fiché dans l'albumen perpendiculairement à la surface, telle une petite cheville. On dégage ensuite le sommet de l'embryon, en prenant garde à ne pas le blesser, par une série d'incisions effectuées dans l'albumen à l'aide de la pointe du scal-

pel (Planche I fig. 3, 4 et 5). Il est facile alors d'extraire l'embryon de son logement à l'aide d'une aiguille à ensemencer et de le transporter sur un milieu gélosé stérile dans un tube de culture.

Milieux de culture.

Le milieu nutritif utilisé avait la composition suivante :

Gélose	8 g
Saccharose	30 —
Acide glutamique	0,030
Thiamine.....	0,050
Pentothénate de calcium	0,005
Solution nutritive de WHITE.....	(1)
Solution d'oligo-éléments de NITSCH...	(2)
Solution d'EDTate de Fer.....	(3)
Solution d'acide β indolyl-acétique (A. I. A.)	(4)
Eau Q. S. pour faire.....	1.000 g
pH ajusté à 5,6	

Les milieux étaient coulés dans des tubes 24 x 160 mm recouverts de capsules métalliques « Morton Stainless Steel », à raison de 15 cm³ environ par tube. La stérilisation était effectuée en portant les tubes à l'autoclave à 110° C pendant 20 minutes.

L'obturation des tubes par des capsules métalliques (très coûteuses) ne permettait pas un éclairage suffisant et normal des embryons. Aussi, dans une seconde série d'essais, nous avons avantageusement remplacé celles-ci par des capsules en verre à fond plat (26 x 50 mm) qui nous ont donné toute satisfaction.

Dispositif expérimental.

La lumière étant susceptible d'intervenir dans la biosynthèse de l'acide β indolyl-acétique (A. I. A.) par les embryons mêmes, nous avons installé une expérience sous des lampes Philips « Blanc soleil de luxe » de 40 W permettant d'obtenir au niveau des embryons un éclairage de 1.000 lux. Une expérience identique a été installée à l'obscurité. Dans l'un et l'autre cas, la température a été maintenue à 30° C ($\pm 1^\circ$ C) (pour éviter les contaminations par les échanges d'air « respiration des tubes de culture », et l'hygrométrie à 70 % (± 2 %) (afin de limiter la déshydratation des milieux qui risque de produire leur concentration progressive). De même, pour éviter l'appauvrissement des milieux en éléments nutritifs, les embryons ont été repiqués sur des milieux nouveaux tous les 15 jours. Enfin, après ensemencement, les tubes de chaque expérience n'étaient pas groupés par concentrations mais « ran-

(1) Les solutions mères des sels minéraux étaient ajoutées de manière à obtenir dans la solution définitive les proportions suivantes correspondant à la formule de WHITE [20] SO₄ Mg 360 mg ; (NO₃)₂ Ca 200 mg ; SO₄ Na₂ 200 mg ; NO₃ K 80 mg ; KCl 65 mg ; PO₄ H₂ 16,5 mg.

(2) 1 cm³ de la solution d'oligo-éléments de Nitsch [10] renfermant : H₂O dist. 1000 cc ; SO₄ H₂ (d = 1,83) 0,5 cm³ ; SO₄ Mn H₂O 4500 mg ; BO₃ H₂ 2000 mg ; SO₄ Zn 7 H₂O 2000 mg ; Mo O₄ Na₂ 2 H₂O 25 mg ; Cl₂ Co₂ H₂O 40 mg ; Cl₂ Cu₂ H₂O 15 mg ; IK 500 mg.

(3) Sol. EDTATE de Fer Q.S.P.F. 10 ppm de Fer.

(4) Sol. d'AlA ajoutée en dernier lieu en Q.S. pour obtenir des concentrations variant entre 10⁻⁸ et 10⁻⁴ selon les traitements.

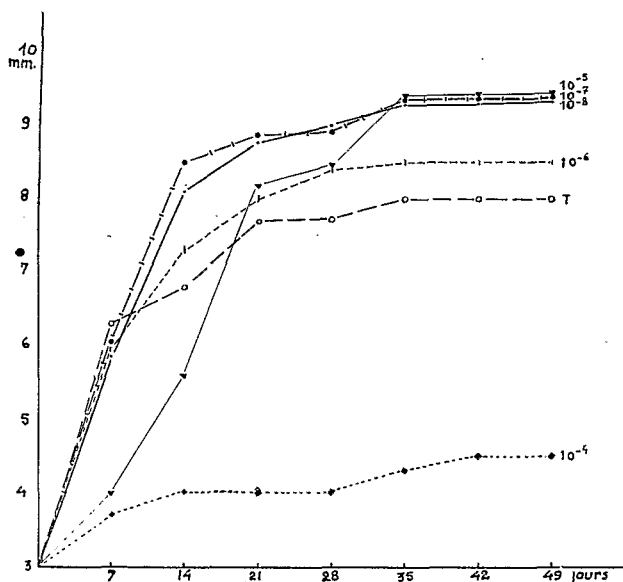
domisés » ce qui a permis d'éviter l'effet dû à l'hétérogénéité du milieu ambiant surtout en ce qui concerne l'éclairage toujours plus important pour les tubes placés en bordure. Chaque traitement comprenait 10 répétitions.

RÉSULTATS

Morphologie des principaux stades de développement des embryons observés en culture « in vitro ».

La noix de palme, cassée, libère une amande ovoïde constituée par un albumen dur, blanc, translucide, oléagineux recouvert par une fine enveloppe brune de téguments séminaux. A l'extrémité la plus arrondie, on remarque une petite élévation de couleur plus claire, lorsque celle-ci est enlevée au scalpel, on découvre un canalicule cylindrique qui s'enfonce dans l'épaisseur de l'albumen, perpendiculairement à la surface. Dans ce canalicule, on remarque l'extrémité circulaire jaune à jaune verdâtre d'un petit élément qui, une fois extrait de son logement, se révèle être un petit embryon cylindrique. L'extrémité opposée à celle vue sous les téguments, et qui est par conséquent dirigée vers le fond du canal ménagé dans l'épaisseur de l'albumen, est conique obtuse ce qui fait ressembler l'embryon à une petite cheville que l'on aurait fichée dans les tissus de l'amande.

En réalité, cette petite cheville [HENRY 3] n'est pas



GRAPH. I. — Croissance des haustoriums à la lumière.

un embryon comme on a coutume d'en voir chez les Graminées ou les familles de Dicotylédones car la partie qui donnera naissance à la plantule, se trouve juste à l'extrémité jaune verdâtre aperçue en premier sous la surface de l'amande.

Ainsi la majeure partie du volume cylindroconique est constituée par l'haustorium qui n'est qu'un suçoir riche en diastases et qui au cours de la germination, restant prisonnier du canal ménagé dans l'albumen,

digère ce dernier et apporte ainsi les éléments nutritifs indispensables à la croissance et au développement de la plantule.

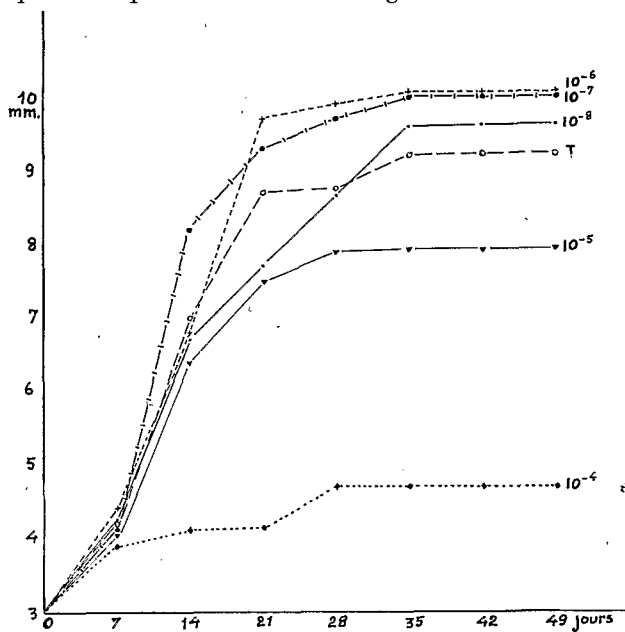
Stades de développement des embryons cultivés « in vitro ».

HENRY [3], REES [18] et TOMLISON [19] ont décrit les stades du développement des plantules au cours de la germination, mais lorsque le germe a soulevé l'opercule de l'amande et a traversé l'un des pores de la noix, l'embryon est souvent passé déjà par un certain nombre de stades. Ces stades au contraire sont très faciles à observer lorsque les embryons se développent après isolement.

Au cours de nos expériences, nous avons distingué 5 stades de développement (Planche I).

Stade I — Stade de « gonflement » ou de « turgescence » (Fig. 6). Il apparaît dès que l'embryon est déposé à la surface du milieu gélosé et dure pendant 48 à 72 heures. Au cours de stade l'embryon s'hydrate, augmente de volume et devient turgescent.

Stade II — Stade de « courbure géotropique » (Fig. 7). Lorsqu'il est turgescent, l'haustorium de l'embryon commence sa croissance et ceci d'une façon inégale. Du 5^e au 6^e jour, il se courbe. On observe le même phénomène d'ailleurs au cours de la germination normale lorsque l'embryon sort de la graine. Le géotropisme est positif comme dans la germination.



GRAPH. II. — Croissance des haustoriums à l'obscurité.

Nous ne sommes pas parvenus à empêcher cette courbure en élevant des embryons en milieu liquide dans des tubes placés sur un Clinostat.

Stade III — Stade dit « claviforme » (Fig. 8). Du 12^e au 15^e jour l'extrémité plate (non conique) et colorée, se décolore et augmente rapidement de diamètre en devenant subsphérique. L'embryon a ainsi la forme générale d'un clou de girofle légèrement re-

courbé. La tête renflée de l'embryon est assimilée au cotylédon [HENRY 3, TOMLISON 19].

Stade IV — Stade « gemmulaire » (Fig. 9). Entre le 15^e et le 18^e jour sur le côté de la « tête » sphérique de l'embryon et perpendiculairement au grand axe de ce dernier, la paroi (coléoptile) se déchire et il apparaît une petite « pointe », la « gemmule », qui donnera naissance à la partie aérienne et foliacée de la plantule. La gemmule reste ainsi très petite, à peine visible, puis elle verdit vers le 25^e jour. Au 30^e jour, elle commence à s'allonger (Fig. 10).

Stade V — Stade « radicaire » (Fig. 11). Ce n'est que vers la fin du stade IV du 24^e au 28^e jour que sur la partie sphérique de l'embryon, dans une région diamétralement opposée à la gemmule, apparaît de même une autre petite pointe blanche qui n'est autre que la racine. On peut considérer alors que la plantule est formée.

Au 30^e jour, la première feuille commence à s'individualiser et devient macroscopiquement visible. Au 42^e jour, les plantules ont ainsi 2 petites feuilles.

Ces cinq stades constituent les stades de la « germination » au cours desquels le développement reste sous l'influence de l'haustorium. Lorsque la plantule est formée, l'haustorium devient inutile car la racine a son tour prend le relais et permet la nutrition. Les stades « plantule » sont donc tous différents et doivent être distingués des premiers stades de développement de l'embryon.

Effets de l'acide β indolyl-acétique (A.I.A) à la lumière et à l'obscurité sur les stades de « Germination ».

1) — Croissance de l'haustorium.

Lorsque les haustoriums présentaient une courbe importante, nous avons dû les mesurer en deux ou parfois trois parties.

Les graphiques I et II montrent que la croissance de cet organe est plus rapide au cours des deux premières semaines. Elle garde sa vitesse jusqu'à l'apparition du stade III au cours duquel l'extrémité de l'haustorium (embryon) augmente brusquement de diamètre.

A la lumière, la première période de croissance, surtout au cours de la première semaine, est plus accélérée qu'à l'obscurité (*) où l'haustorium croît lentement jusqu'au 10^e et 14^e jour puis, plus rapidement ensuite, jusqu'au 18^e jour.

La deuxième période, marquée par une croissance ralentie, apparaît chez les embryons à la lumière dans les 14 premiers jours, tandis que cette étape n'est atteinte à l'obscurité que vers le 21^e jour ; les haustoriums des embryons à l'obscurité ayant rattrapé en allongement le retard pris sur les embryons à la lumière, au cours de la première semaine, et prolongé d'une

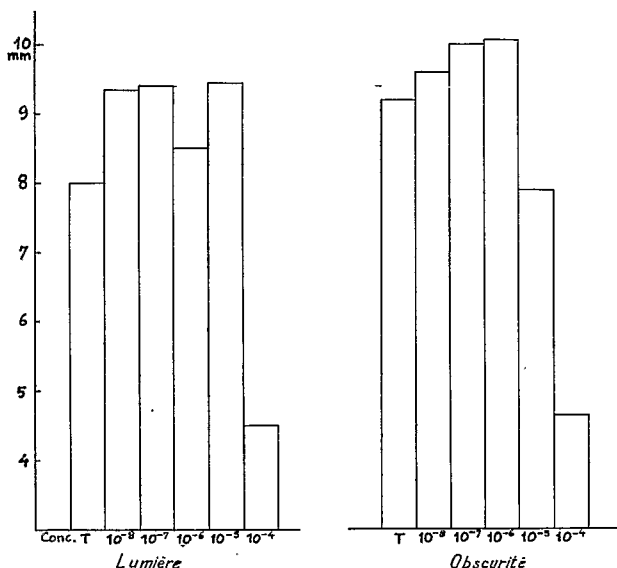
semaine leur croissance accélérée sont en définitif plus longs que ceux développés à la lumière.

Dans l'un et l'autre cas, on peut estimer que la croissance de l'haustorium est terminée pour toutes les concentrations en A. I. A. au bout de 30 à 35 jours.

En l'absence d'A. I. A., l'haustorium présente fréquemment au stade II (vers le 6^e et 8^e jour) des abscissions transversales qui tendent à le sectionner en 2 éléments ou plus. Nous étudierons ultérieurement et de façon plus approfondie ce phénomène qui avait déjà été remarqué par HUSSEY (*loc. cit.*) La section, si cette dernière n'est pas complète, s'ouvre en forme de V dont les deux côtés s'écartent de plus en plus de sorte que les deux parties de l'haustorium situées de part et d'autre arrivent à former un angle droit. Tandis que les segments poursuivent leur croissance, de nouvelles abscissions apparaissent, l'haustorium se tord en tous sens, ce qui le fait ressembler à un vermisseau.

En ce qui concerne les effets de l'A. I. A., on remarquera, grâce aux graphiques I et II et III, que la croissance de l'haustorium est optimale aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité pour les concentrations variant entre 10^{-7} et 10^{-6} et devient de plus en plus faible au fur et à mesure qu'augmente la concentration au-dessus de $5 \cdot 10^{-6}$. Pour les fortes concentrations 10^{-5} et 10^{-4} il se produit non seulement une inhibition de la croissance mais une augmentation du volume de l'haustorium qui, tuméfié, devient arrondi et de couleur brune.

La lumière perturbe la croissance des haustoriums (Graphique I) et donne ainsi un allongement définitif, plus hétérogène qu'à l'obscurité où la distribution des allongements moyens suit une courbe régulière correspondant à l'augmentation de la concentration (Graphique III).



GRAPH. III. — Taille moyenne des haustoriums au 30^e jour à la lumière et à l'obscurité.

(*) Dans les conditions réalisées ici, car dans d'autres expériences, où l'énergie lumineuse était plus importante, nous avons eu au contraire un développement moins important qu'à l'obscurité.

TABLEAU I

Evolution du pourcentage d'embryons ayant atteint le stade IV (apparition de la gemmule).

Traitement	Temps	Témoin	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Lumière	15 jours	33 %	22 %	42,8 %	11 %	11 %	0
	25 »	65 %	22 %	100 %	45 %	22 %	0 %
	35 »	77 %	44 %	100 %	78 %	67 %	11 %
Obscurité	15 jours	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
	25 »	55 %	11 %	66 %	55 %	0 %	20 %
	35 »	78 %	55 %	100 %	77 %	60 %	30 %

2) — Effets sur le Stade IV « gemmulaire ».

Il n'est pas possible de rapporter ici toutes les observations recueillies au cours de plusieurs mois mais nous avons réuni à titre comparatif les délais de l'apparition de la gemmule pour chaque concentration après 15, 25 et 35 jours, dans le tableau I.

L'apparition de la gemmule est plus tardive à l'obscurité qu'à la lumière. Dans l'un et l'autre cas, 10⁻⁷ semble être la concentration optima. Les concentrations supérieures empêchent l'apparition de la gemmule. Au-dessous de l'optimum, la concentration 10⁻⁸ montre un effet dépressif inexplicable comme dans le cas de la croissance de l'haustorium.

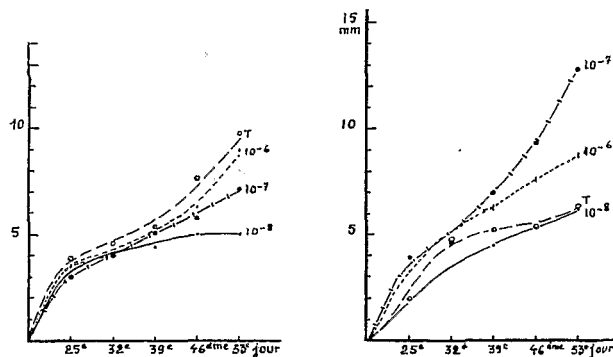
3) — Effets sur l'apparition du Stade V « radicaire ».

L'apparition de la racine a lieu plus tardivement que celle de la gemmule chez les plantes témoins, et le retard est d'autant plus important que la concentration en auxine est plus élevée. La concentration la moins élevée 10⁻⁸ n'apporte pas d'augmentation sensible du pourcentage d'embryons ayant atteint le stade V par rapport au témoin. Au delà de 10⁻⁶ il y a bien une nette amélioration par rapport aux témoins, mais un retard pouvant atteindre 15 à 20 jours par rapport à la concentration optimum 10⁻⁷. Cette dernière est d'ailleurs moins bénéfique pour les racines

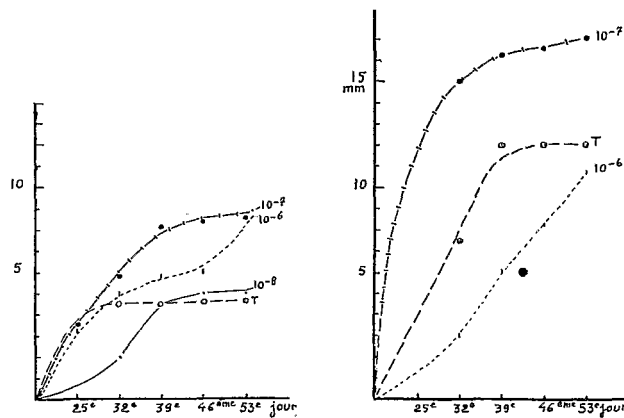
que pour les gemmules. Nous avons vu en effet que 100 % des embryons présentaient des gemmules à la concentration 10⁻⁷ à partir du 25^e jour à la lumière, et du 40^e jour à l'obscurité. En ce qui concerne les racines, le taux maximum atteint n'était que de 45 % pour les mêmes périodes.

Effets de l'acide β indolyl-acétique sur la croissance de la plantule à la lumière et à l'obscurité.

Nous avons représenté sur les graphiques IV et V l'allongement de la partie aérienne et de la racine



Lumière Obscurité
GRAPH. IV. — Croissance de la partie aérienne des plantules.



Lumière Obscurité
GRAPH. V. — Croissance de la racine des plantules.

TABLEAU II

Evolution du pourcentage d'embryons ayant atteint le stade V.

Traitements	témoin	Concentrations en AIA				
		10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Lumière :						
15 jours	0	0	0	0	0	0
25 »	11,1	11,1	42,8	22,2	11,1	0
35 »	11,1	11,1	42,8	22,2	11,1	0
Obscurité :						
15 jours	0	0	0	0	0	0
25 »	11 %	0	42,8	11,0	0	0
35 »	11 %	14,2	42,8	33,0	0	0

de plantules croissant à la lumière ou à l'obscurité sur des milieux nutritifs plus ou moins riches en auxine.

On remarquera tout d'abord que la lumière a peu d'action sur la croissance des plantules au cours des 40 premiers jours. Il semble cependant que la croissance de la partie aérienne soit un peu plus active à la lumière qu'à l'obscurité pendant les 25 premiers jours et que l'optimum corresponde dans les deux cas à une concentration en A. I. A. de 10^{-7} et 10^{-6} . Par la suite, c'est-à-dire au delà du 40^e jour, les témoins ont conservé cette différence en faveur de la lumière. Mais aux concentrations 10^{-8} et 10^{-7} la croissance était plus active à l'obscurité qu'à la lumière (conséquence sans doute de l'étiollement des plantules). Au 53^e jour les plantules de la concentration 10^{-6} étaient à peu près de même taille à la lumière et à l'obscurité. Pour les concentrations supérieures, même lorsque la gemmule apparaît, il y a peu ou pas de croissance. La partie aérienne ne continue à croître qu'à la lumière chez les témoins sans A. I. A., sans doute parce qu'ils ont synthétisé eux-mêmes de l'auxine.

En outre, la lumière a tendance à inhiber la croissance des racines surtout lorsque les milieux renferment peu ou pas d'auxine. Chez les plantules croissant à l'obscurité, les racines des témoins ralentissent leur développement au bout d'un mois environ, tandis que les plantules sur les milieux 10^{-7} et 10^{-6} continuent leur leur.

Au bout de 3 mois $\frac{1}{2}$, les plantules ont été de nouveau observées et mesurées (Tableau III). D'une manière générale, les résultats obtenus montrent une grande hétérogénéité chez les plantules développées à la lumière, la longueur finale des haustoriums en est le premier exemple.

La partie aérienne est dans l'ensemble mieux développée à la lumière qu'à l'obscurité (Planche II, a, b,

c) et surtout mieux différenciée. Ainsi à la lumière (Planche II, b) les limbes des feuilles vertes se déroulent normalement. Tandis qu'à l'obscurité les limbes jaunes pâles restent toujours enroulés et tubuliformes. Les concentrations optima sont 10^{-7} et 10^{-6} à la lumière, tandis qu'à l'obscurité seule la concentration 10^{-7} a donné un bon développement.

En ce qui concerne les racines, on obtient les meilleurs résultats également à 10^{-7} et 10^{-6} à la lumière et à l'obscurité et quand les racines les plus longues ont été conservées à la concentration 10^{-7} .

DISCUSSION DES RÉSULTATS

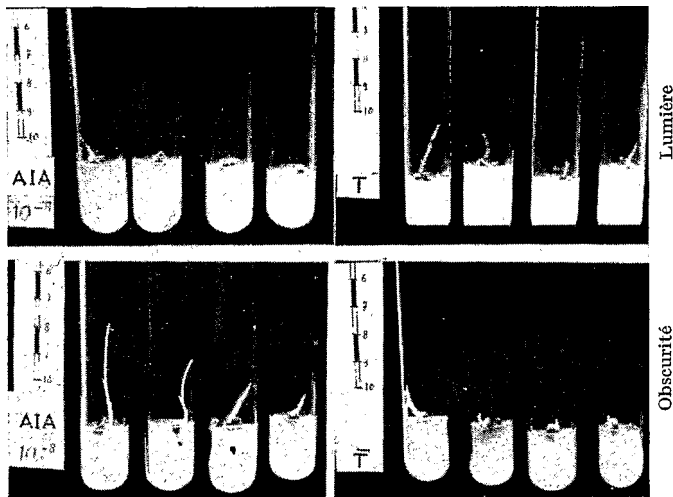
La transformation de l'embryon en plantule feuillée *in vitro* s'opère en deux périodes : une période dite « de germination » qui correspond à celle de la germination normale de la graine au cours de laquelle l'haustorium joue un rôle important et une période « de développement de la plantule » où la racine se substitue à l'haustorium pour l'absorption des éléments nutritifs.

Les premiers stades de la période de « germination » ou « embryonnaire » ne peuvent être observés au cours de la germination normale parce qu'ils ont souvent lieu dans la noix de palme avant la sortie de l'embryon par l'un des trois pores. *In vitro*, cette période de « germination » s'échelonne sur 4 ou 5 semaines au cours desquelles 5 stades successifs peuvent être observés. Le stade V qui voit la racine se dégager, marque la fin de la période de « germination ». Cependant, l'un et l'autre de ces derniers stades peuvent être inhibés si les corrélations de croissance ne sont pas normales. Il est logique de penser que cette première période de « différenciation » est surtout régie par la présence de facteurs hormonaux dans l'albumen et dans l'embryon et le fait d'isoler

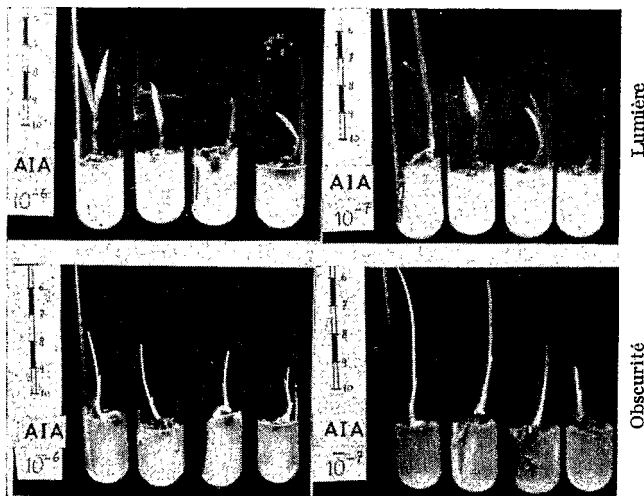
TABLEAU III
Plantules de 3 mois $\frac{1}{2}$.

Eclaircissement	Concentrations en A.I.A.	Haustoriums longueur moyenne en mm.	Partie aérienne			Racines	
			% Plantules feuillées	Hauteur moyenne en mm.	Nombre moyen de feuilles par plant	% Plantules racinées	Long. max. racines en mm
Lumière.....	Témoin	10,0	60	14,6	2,5	11,0	6
	10^{-8}	8,5	30	3,4	2,0	11,0	7
	10^{-7}	7,7	70	20,5	2,6	42,8	23
	10^{-6}	7,0	70	20,1	2,7	28,2	12
	10^{-5}	12,8	80	10,7	2,1	11,1	20
	10^{-4}	4,1	30	7,0	2,0	0	0
Obscurité.....	Témoin	14,5	20	5,5	1,5	88,5	14
	10^{-8}	14,5	50	9,8	2,2	85,7	35
	10^{-7}	13,2	50	27,0	2,6	85,7	48
	10^{-6}	15,7	70	9,5	2,2	100,0	45
	10^{-5}	7,0	0	4,5	3,0	60,0	19
	10^{-4}	11,0	20	3,4	2,0	66,6	15

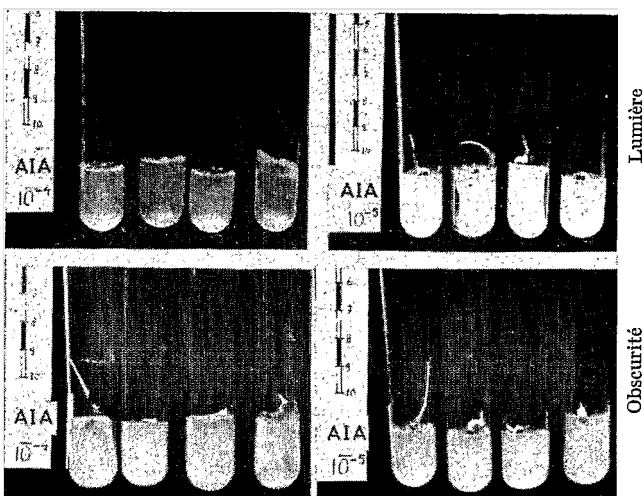
Pl. 2. — Plantules de palmier à huile de 3 mois 1/2 cultivées sur milieux gélosés avec ou sans auxine.



a



b



c

ce dernier revient à le priver des réserves en éléments macro-trophiques et micro-trophiques de l'albumen.

HUSSEY (*loc. cit.*) a observé que la croissance d'embryons élevés sur de la gélose sucrée ou du papier filtre humide ne différait pas de celle d'embryons dont la moitié de la surface restait en contact avec l'albumen pendant les 4 premiers jours. Ceci prouve simplement que l'embryon peut vivre pendant les premiers jours sur ses propres réserves. Au cours de ses expériences, la vitesse de croissance des embryons isolés et cultivés sur papier filtre diminuait graduellement après le quatrième jour et cessait après 6 à 8 jours. Sur la gélose sucrée, la croissance continuait encore après ce délai de 8 jours mais devenait progressivement plus lente.

Les glucides ne suffisent donc pas pour assurer une croissance normale; des éléments minéraux sont indispensables. Cependant, d'après les travaux de KOVOOR (*loc. cit.*), l'albumen renfermerait bien d'autres facteurs et l'auxine semble être l'un des principaux.

Les concentrations en A. I. A. qui assurent le meilleur développement de l'haustorium et l'évolution la plus rapide de l'embryon sont de 10^{-6} et 10^{-7} .

Les phénomènes d'abscission de l'haustorium chez les embryons cultivés sur des milieux pauvres en auxine sont largement influencés par l'intensité des phénomènes respiratoires. En effet, ils peuvent se produire avec plus de 90 % de chances lorsque les embryons sont cultivés immergés dans un milieu liquide. Sans vouloir prétendre assimiler l'abscission des haustoriums à celles bien connues des feuilles ou du pédoncule des fruits de nombreux végétaux, nous devons admettre cependant qu'elle présente, sur le plan physiologique, quelques points communs avec ces dernières (activité de l'auxine et de l'oxygène).

La tuméfaction des haustoriums pour les fortes concentrations en auxine ne surprend pas puisque l'on connaît de nombreux exemples d'actions similaires de l'auxine à ces fortes doses chez d'autres tissus. Par contre, dans les mêmes conditions, les racines également en contact avec la gélose ou bien étaient inhibées, ou bien semblaient normales. Il y a donc là une réaction de cet organe toute différente de ce que nous aurions pu supposer. Ce n'est pas que la racine soit moins sensible à la présence d'une forte dose d'A. I. A., c'est sans doute que lorsqu'elle se développe elle a la faculté de détruire une partie de l'auxine, grâce à ses enzymes. En tout cas, elle semble réfractaire à la tuméfaction sous l'influence de l'A.I.A.

La lumière ralentit la croissance des embryons et des plantules mais accélère leur différenciation. Ceci est dû sans doute à ce que, à la lumière, il se produit une biosynthèse de l'auxine qui vient perturber l'action de celle qui existe dans le milieu nutritif. D'autres facteurs qui tendent au contraire à détruire l'auxine du milieu nutritif, comme les auxines-oxydases viennent troubler l'absorption et l'utilisation de l'A.I.A. par les racines. On retrouve pour la croissance et le

développement des embryons et des plantules les mêmes concentrations optima que pour la croissance de l'haustorium (10^{-7} et 10^{-6}).

Les résultats étant plus hétérogènes à la lumière pour les phases du développement des embryons en plantules, surtout au cours du premier mois, il apparaît donc que, tout au moins au cours du déroulement de ces premiers stades, les cultures doivent être effectuées de préférence à l'obscurité. D'ailleurs les premiers stades du développement de l'embryon se déroulent dans les mêmes conditions au cours de la germination des graines dans les germoirs. Un éclaircissement de 800 à 1.000 lux suffit pour influencer la croissance et le développement de l'embryon et de la plantule.

Lorsque nous avons donné des intensités de 2.000 lux et plus, l'inhibition a été plus grande encore. Dans ce cas, la lumière a troublé fortement les corrélations de croissance.

RÉSUMÉ

Cinq stades de développement de l'embryon *in vitro* ont été décrits. Les premiers de ces stades ne sont pas visibles au cours de la germination parce que l'embryon est alors à l'intérieur de la noix de palme.

La lumière agit en général sur tous les stades de « germination ».

En absence d'auxine, l'haustorium présente des abscissions transversales fréquentes tandis que des concentrations égales ou supérieures à 5.10^{-6} provoquent sa tuméfaction. L'apparition du stade IV (apparition de la gemmule) est plus rapide à la lumière qu'à l'obscurité (concentration optima 10^{-7} d'A. I. A.) tandis que la lumière a peu d'influence sur la vitesse d'apparition du stade V (apparition de la radicule).

L'addition d'auxine tout en améliorant la rhizogénèse ne provoque l'apparition de la radicule que chez 43 % des embryons à la lumière ou à l'obscurité, concentration optimum (10^{-7}). Il est donc possible que les propriétés rhizogènes de l'albumen observées par Kovoov *loc. cit.* ne soient pas uniquement dues à l'auxine.

Les plantules élevées sur des milieux plus ou moins riches en auxine ont une partie aérienne moins grande avec plus de feuilles à la lumière (concentration optimum en auxine 10^{-7} et 10^{-6}). Les racines croissent également moins rapidement à la lumière qu'à l'obscurité. Dans ce dernier cas, les racines chez les plantes témoins ont ralenti leur croissance tandis que sur les milieux pourvus en auxine elles se sont allongées régulièrement.

La lumière ralentit donc la croissance mais active la différenciation et le développement. La lumière agirait en provoquant chez les embryons et les plantules la biosynthèse d'auxine ce qui interférerait avec les doses d'auxine du milieu nutritif.

Il paraît donc nécessaire, pour obtenir un déroulement normal de l'évolution des embryons, d'élever ces derniers pendant un certain temps à l'obscurité au moins, jusqu'à la fin du stade V qui marque le début de la période de croissance de la plantule.

Nos résultats confirment donc dans une certaine mesure ceux obtenus par HENRY (*loc. cit.*) qui avait observé une action stimulante de l'auxine sur la germination des semences de palmier à huile.

Laboratoire de Physiologie
de la Croissance et du développement.
Centre Scientifique et Technique
de l'ORSTOM, Bondy.

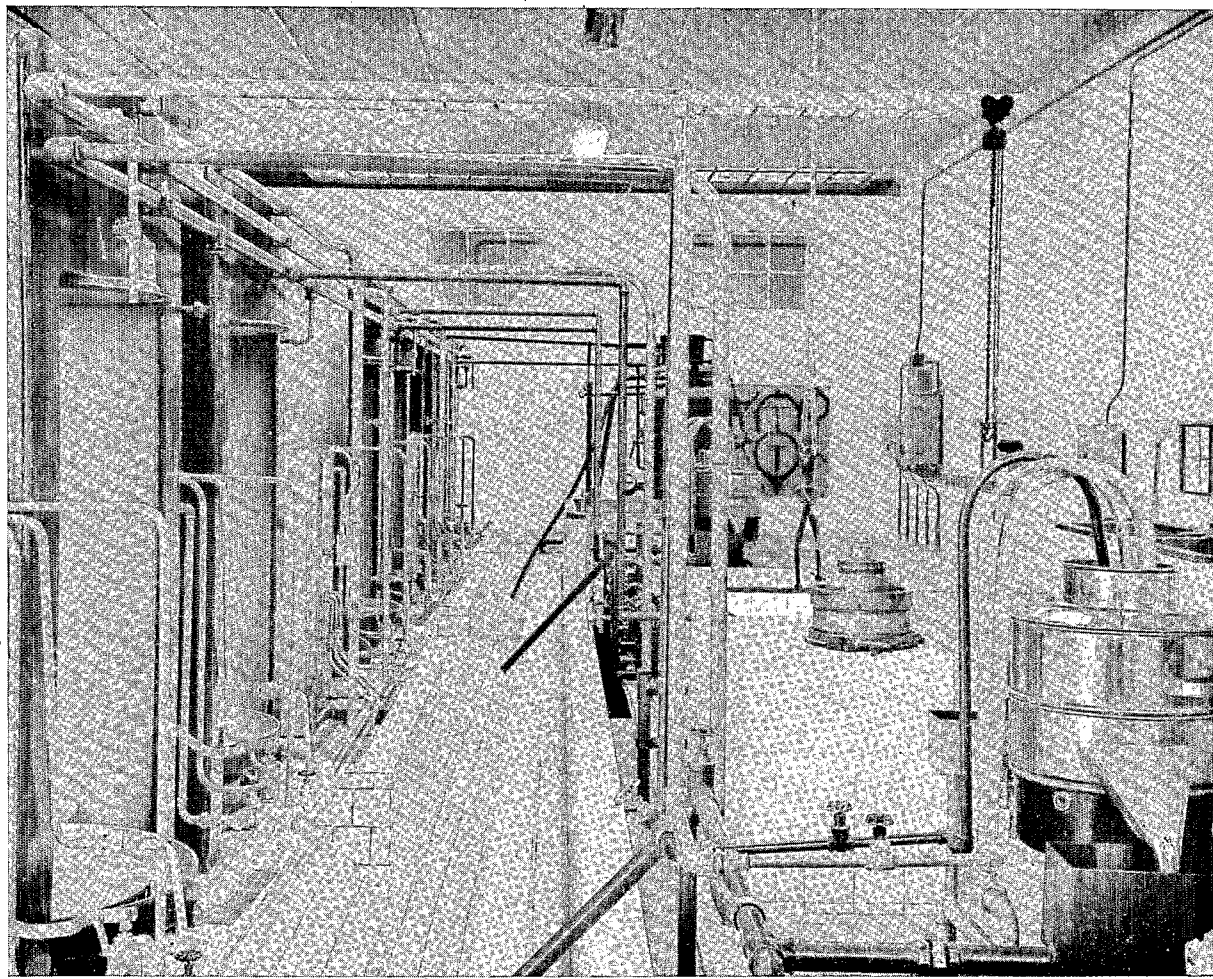
BIBLIOGRAPHIE

- [1] BARTON L. V. (1940) Some effects of treatment of non dormant seeds with certain growth substances — *Contr. Boyce Thompson Inst.*, 1940, 11, pp. 181-205.
- [2] GAUTHERET R. J. (1959). La culture des tissus végétaux — Techniques et réalisations — Masson et Cie Edit., 864 pp. Paris 1959.
- [3] HENRY P. (1959) Croissance et développement chez *Elaeis Guineensis* Jacq. de la germination à la première floraison — *Rev. Gen. Bot.*, 66, n° 779, pp.5-34, 1959.
- [4] HUSSEY G. (1958) An analysis of the factors controlling the germination of the seed of the oil palm, *Elaeis Guineensis* Jacq. — *Ann. Bot., G.B.*, 22, n° 86, pp. 259-84, 1958.
- [5] HUSSEY G. (1959) The germination of oil palm seed; experiments with *Tenera* nuts and kernels — *J. of the W. of Agric. Inst. for Oil Palm. Res.*, t. 2, n° 8, pp. 331-54, 1959.
- [6] KENT N., R. A. BRINK (1947) Growth « in vitro » of immature *Hordeum* embryos — *Science*, 106, pp. 547-8, 1947.
- [7] KOVOOR A. (1953) Action stimulante de quelques extraits de fruits et de graines sur le développement des tissus de *Crown-gall* de *Scorsonère* cultivés « in vitro » — *C. R. Acad. Sci.*, 237, pp. 271-2, 1953.
- [8] KOVOOR A. (1954) Action de quelques substances stimulantes d'origine naturelle sur le développement des tissus végétaux cultivés « in vitro » — *Année biol.*, 30, pp. 417-29, 1954.
- [9] NITSCH J. P. (1951) Growth and development « in vitro » of excised ovaries — *Amer. jour. Bot.*, 38, pp. 566-77, 1951.
- [10] NITSCH J. P. (1959) — Culture « in vitro » de tissus de fruits I. Mésocarpe de pomme — *Bull. Soc. bot. Fr.*, 106, n° 9, pp. 420-424, 1959.
- [11] NITSCH J. P. (1960) Présence d'une substance type « cinétine » dans le jus de tomate — *Bull. Soc. bot. Fr.*, 107, n° 7-8, pp. 263-7, 1960.
- [12] OVERBEEK J. Van, M. E. CONKLIN, A. F. BLAKESLEE (1941). Factors in coconut milk essential for growth and development of very young *Datura* embryos — *Science*, 94, pp. 350-1, 1941.
- [13] OVERBEEK J. van (1942) Hormonal control of embryo and seedling — *Cold Spring Harbor. Symp. quant. biol.*, 10, pp. 126-34, 1942.
- [14] RAPPAPORT J. (1954) « In vitro » culture of plant embryos and factors controlling their growth — *Bot. Rev.*, 20, n°4, pp. 201-25, 1954.
- [15] REES A. R. (1959) Germination of oil palm seed: large scale germination — *Journal of the W. Afric. Inst. for Oil Palm. Res.*, vol. III, n° 9, pp. 83-95, 1959.
- [16] REES A. R. (1959) The germination of Oil Palm seed: The cooling effect. — *J. W. Agric. Inst. for Oil Palm. Res.* 3, 9, 1959.
- [17] REES A. R. (1960) Early development of the Oil Palm seedling *J. Palm. Soc.* n° 4, pp. 184-50, 1960.
- [18] REES A. R. (1961) Effect of High Temperature pre-treatment on the germination of Oil Palm seed — *Nature, G. B.*, vol. 189, n° 4758, pp. 74-5, 1961.
- [19] TOMLISON P. B. (1960) Essays on the morphology of palms. I — Germination and seedling — *J. Palm. Soc.*, t. 4, n° 2, pp. 56-61, 1960.
- [20] WHITE Ph. R. (1943) A handbook of plant tissue culture — The J. Cattel Press. ed., Lancaster, 1943.

31 des P...
Paris

OLÉAGINEUX

Revue générale des corps gras et dérivés



17^{ME} ANNÉE N° 10
PUBLICATION MENSUELLE



OCTOBRE 1962

329687, ex 1