

PUBLICATIONS DE L'INSTITUT NATIONAL
POUR L'ÉTUDE AGRONOMIQUE DU CONGO
(I.N.É.A.C.)

Recherches cytologiques
sur la fructification et l'incompatibilité
chez *Theobroma cacao* L.

PAR

J. BOUHARMONT

Ingénieur agronome Lv.

Licencié en Sciences botaniques Lv.

Assistant à la Division de Génétique de l'I.N.É.A.C.

SÉRIE SCIENTIFIQUE N° 89

1960

PRIX : 150 F

RECHERCHES CYTOLOGIQUES
SUR LA FRUCTIFICATION ET L'INCOMPATIBILITÉ
CHEZ *THEOBROMA CACAO* L.

PUBLICATIONS DE L'INSTITUT NATIONAL
POUR L'ÉTUDE AGRONOMIQUE DU CONGO
(I.N.É.A.C.)

Recherches cytologiques
sur la fructification et l'incompatibilité
chez *Theobroma cacao* L.

PAR

J. BOUHARMONT

Ingénieur agronome Lv.

Licencié en Sciences botaniques Lv.

Assistant à la Division de Génétique de l'I.N.É.A.C.

SÉRIE SCIENTIFIQUE N° 89

1960

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	9
CHAPITRE PREMIER — <i>ÉTAT DE LA QUESTION</i>	11
§ 1. Observation des phénomènes d'incompatibilité	11
§ 2. Explication de la stérilité	14
CHAPITRE II — <i>DÉVELOPPEMENT NORMAL DE LA GRAINE ET DU FRUIT</i>	18
§ 1. La fleur avant fécondation	18
§ 2. La fécondation	23
§ 3. Formation de la graine et du fruit	27
CHAPITRE III — <i>ÉTUDE MICROSCOPIQUE DE L'INCOMPATIBILITÉ</i>	40
§ 1. Germination du pollen et croissance du tube pollinique.	40
§ 2. Fécondation et développement des ovules	44
1. Clones autofertiles	44
2. Clones autostériles	48
3. Croisements entre clones autofertiles et autostériles	63
4. Synthèse.	69
§ 3. Comportement des deux noyaux mâles dans les fleurs autostériles	73
§ 4. Légitimité des graines obtenues après l'autopollinisation de clones autostériles	76
§ 5. Manifestation cytologique de l'incompatibilité	79
CHAPITRE IV — <i>IDENTIFICATION DES CLONES AUTO-INCOMPATIBLES</i>	85
§ 1. Méthode suivie	85
§ 2. Résultat des observations	90
§ 3. Classification des clones et commentaires	98
§ 4. Croisements entre clones autostériles	101
CHAPITRE V — <i>PLACE DU CACAOYER DANS LES TYPES D'INCOMPATIBILITÉ</i>	103
§ 1. Stérilité et incompatibilité	103
§ 2. Localisation des phénomènes d'incompatibilité	105
§ 3. Les systèmes d'incompatibilité	106
§ 4. Conclusions.	110
RÉSUMÉ	114
BIBLIOGRAPHIE	115
PHOTOGRAPHIES.	<i>in fine</i>

INTRODUCTION

De nombreux facteurs interviennent dans la production d'une plante cultivée. Ceux d'ordre génétique y jouent un rôle de premier plan : les uns tendent à accroître l'importance de la récolte, les autres la diminuent. Dans ce dernier groupe, prend place surtout l'autostérilité qui, chez de très nombreuses espèces végétales, interdit l'autogamie et limite le nombre des croisements possibles.

Bien que les phénomènes d'incompatibilité soient connus chez le cacaoyer depuis plusieurs décennies, les opinions restent partagées au sujet du mécanisme qui règle la stérilité et au sujet de la nature des réactions qu'il provoque. Par des observations nombreuses et détaillées, nous avons voulu connaître le processus responsable de la stérilité, principalement au niveau de l'ovule et du sac embryonnaire, et cela en comparant au développement normal de la graine, les anomalies qui accompagnent les pollinisations incompatibles.

Grâce à ces observations, il est possible, à la suite des analyses microscopiques, de différencier les arbres autostériles et autofertiles. Cela aurait peu d'intérêt pratique chez les plantes à multiplication générative. Chez le cacaoyer, l'établissement de champs polyclonaux par multiplication végétative de quelques plants rend indispensable l'identification des clones autostériles. La présence de nombreux individus autostériles et incompatibles entre eux risque de diminuer fortement la production de l'ensemble.

La plus grande part de ce travail a été réalisée en laboratoire; il ne comporte pas d'observations personnelles sur la biologie comparée des arbres autofertiles et autostériles, ni sur les méthodes de pollinisation manuelle et sur les rendements des divers types d'arbres en conditions naturelles ou artificielles.

Ces travaux auraient été impossibles sans la collaboration constante et efficace de MM. C. DE MEY, M. VAN HIMME et F. DIELTIENS, de la Division du Caféier et du Cacaoyer. Les nombreuses pollinisations manuelles nécessaires à l'étude de l'incompatibilité et à l'identification des clones autostériles ont été faites sous leur contrôle et ils ont récolté et fixé le matériel. Nous leur exprimons notre gratitude pour leur persévérance et la conscience dont ils ont fait preuve à tout moment.

Nous remercions aussi M. M. DEVREUX, de la Division de Génétique, qui ne nous a pas ménagé ses encouragements et ses conseils précieux pour la mise en route et la poursuite de ce travail.

CHAPITRE PREMIER

ÉTAT DE LA QUESTION

§ 1. *Observation des phénomènes d'incompatibilité.*

Les phénomènes d'incompatibilité ont été décrits pour la première fois chez le cacaoyer par POUND [1932 *b*].

Chez la plupart des plantes où des phénomènes d'autostérilité sont connus, tous les individus sont caractérisés par le fait qu'ils ne donnent pas de graines, ou qu'ils en produisent peu, après autopollinisation. Il n'en est pas ainsi chez le cacaoyer, où certains sujets seulement sont autoincompatibles et ne fructifient pas par autopollinisation. Les croisements entre ces arbres sont stériles, bien que, suivant COPE [1939 *c*], la fructification soit deux fois meilleure après pollinisation croisée qu'après autopollinisation. La nouaison est normale lorsque les arbres sont pollinisés par des fleurs autofertiles.

D'autres individus sont autocompatibles : les fleurs qu'ils portent peuvent être pollinisées efficacement par des fleurs de la même plante, d'autres plantes autocompatibles et de toute plante autoincompatible.

POUND signale, dès 1935, que des facteurs physiologiques sont capables de modifier l'autocompatibilité [POUND, 1935 *b*] : certains arbres, qui se sont d'abord montrés autoincompatibles, peuvent devenir autocompatibles. Bien que fondamentalement génétiques, ces phénomènes sont sous la dépendance de nombreux autres facteurs pour leur expression (autoincompatibilité conditionnelle). Suivant POUND, il n'y a peut-être pas de véritable autostérile, c'est-à-dire d'arbre génétiquement incapable de manifester de l'autofertilité; cependant, certains sont plus souvent autocompatibles que d'autres.

NAUNDORF [1959] suppose qu'il existe différents degrés de stérilité et observe des modifications saisonnières, beaucoup d'arbres autofertiles deviennent autostériles et inversement. Le même auteur signale avoir supprimé l'autostérilité chez 20 % des arbres en y greffant des morceaux d'écorce porteurs de coussinets floraux prélevés sur des sujets autocompatibles. Précédemment [NAUNDORF, 1955], il avait greffé des branches fleuries d'arbres autofertiles sur 53 autostériles; 10 de ceux-ci ont produit des graines par autofécondation.

Par contre, VOELCKER [1937, 1938 *c*] n'observe aucun changement de l'autocompatibilité et de l'autoincompatibilité, et les autres auteurs qui se sont intéressés à ces problèmes ne signalent pas de telles modifications. POSNETTE [1940] a cependant remarqué, dans deux cas, l'apparition d'un rejet autofertile sur un vieil arbre autostérile et il attribue ce fait, soit au plus jeune âge des rejets, soit à des mutations gemmaires. Les pourcentages de réussite des pollinisations varient suivant les arbres et sont influencés par des facteurs physiologiques susceptibles de fluctuations saisonnières. Ces modifications peuvent être à la base des conclusions de POUND et n'impliquent pas une modification de l'autocompatibilité [OSTENDORF, 1948].

On ne distingue généralement que deux catégories parmi les cacaoyers, les autofertiles et les autostériles, mais il existe probablement des nuances, et certains arbres occupent des positions intermédiaires : ils sont désignés, par les uns, comme faiblement compatibles, par d'autres, comme peu incompatibles.

On a trouvé des cacaoyers autostériles dont le pollen n'est pas fertile pour les fleurs de tous les arbres autocompatibles, mais seulement pour certains d'entre eux [POUND, 1935 *a*].

VOELCKER [1938 *a*] a observé que les fleurs autopollinisées persistent pendant un nombre variable de jours et que cette durée varie d'un clone autoincompatible à l'autre. D'autre part, POSNETTE [1940] a trouvé à Trinidad des arbres autostériles qui sont fertiles lorsqu'ils sont pollinisés par certains arbres autocompatibles seulement.

Chez les sujets autocompatibles, le succès des autopollinisations varie d'un arbre à l'autre, certains fructifient plus facilement que d'autres [COPE 1939 *b*]; il semble donc y avoir des stades dans l'autocompatibilité.

TOXOPEUS et TAMMES [1942] ont aussi observé en Indonésie une gradation dans la stérilité : outre des arbres autofertiles et des cacaoyers autostériles, ils distinguent des sujets faiblement autofertiles, qui ne produisent que quelques fruits par autofécondation et dont la fructification est bonne avec le pollen d'arbres fortement autofertiles.

Par contre, OSTENDORF [1948] distingue deux catégories bien distinctes; à son avis, l'état physiologique de l'arbre et les influences saisonnières font varier la fructification, mais on ne peut déduire de ces fluctuations l'existence d'une gradation de la stérilité.

Les individus autostériles se caractérisent souvent par une floraison abondante et continue; les fleurs sont très nombreuses et groupées sur des coussinets élevés. Cependant, les nouaisons sont toujours

moins nombreuses et la production finale en cabosses est inférieure à celle des sujets autofertiles [VOELCKER et COPE, 1938; COPE, 1939 a].

Il est donc important de connaître les arbres autostériles; la récolte totale peut être fortement diminuée si leur pourcentage au sein de l'ensemble de la population est élevé. Un autre facteur à considérer est l'environnement des arbres autostériles : s'ils sont répartis uniformément dans la plantation, leur production peut être assez bonne grâce à des pollinisateurs autofertiles voisins; elle est très faible, voire nulle, si la plantation est constituée d'un seul ou de plusieurs clones autostériles.

Les cacaoyers autostériles ne doivent pas nécessairement être éliminés; certains d'entre eux, sélectionnés à Trinidad, semblent être d'excellents producteurs, mais leur rendement ne peut s'estimer que dans certaines conditions d'environnement [CHEESMAN, 1937; 1938].

Alors que les cas d'autostérilité sont fréquents chez les cacaoyers du type « Trinitario », il ne semble pas y en avoir chez les Criollo, et les Amelonado d'Afrique occidentale sont autofertiles [ROSENQUIST, 1950].

Des cacaoyers introduits d'Amazonie supérieure par POUND [1938] et connus sous le nom de « Upper-Amazone », ont été testés : tous sont autostériles [POSNETTE, 1945]. Contrairement aux individus autostériles qui appartiennent au groupe hybride « Trinitario », ces cacaoyers ont une floraison moins abondante et un bon pourcentage de fructification naturelle. Des pollinisations croisées ont montré que beaucoup de ces arbres sont fertiles entre eux (et avec les « Trinitario » autoincompatibles); certains croisements sont cependant incompatibles, et il semble y avoir plus d'incompatibilité à l'intérieur d'une population qu'entre diverses populations [POSNETTE, *op. cit.*].

Les cacaoyers étudiés en Équateur par MÜNTZING [1947] sont peut-être du même type; les croisements entre les trois arbres autoincompatibles observés sont fertiles, sauf avec l'un d'eux. Un quatrième arbre était autofertile.

Ces phénomènes de stérilité sont signalés dans la plupart des régions où le cacaoyer est cultivé. Ils s'observent fréquemment dans les mélanges hybrides « Trinitario » de Trinidad et du Vénézuëla; 70 % des clones de Trinidad sont probablement autoincompatibles [POSNETTE, 1945]. En Indonésie, les cas d'autostérilité sont fréquents [TOXOPEUS et TAMMES, 1942]. Rappelons que sur quatre arbres examinés par MÜNTZING [1947] en Équateur, trois sont autostériles. Sur vingt arbres « Trinitario » testés en Malaisie, huit seulement sont autofertiles [ROSENQUIST, 1950]. Le grand nombre d'arbres autoincompatibles

est un des facteurs responsables de la faible production des cacaoyers en Colombie [NAUNDORF, 1952]. A Kunsadale (Ceylan), sur dix-neuf arbres testés, cinq seulement sont autofertiles [GNANARATNAM, 1954].

La transmission héréditaire du caractère d'incompatibilité est encore à peu près inconnue. TOXOPEUS et TAMMES [1942] trouvent, dans la descendance illégitime des arbres autofertiles, une majorité d'individus autofertiles, et dans la descendance des sujets autostériles, une majorité d'arbres autostériles; l'autofécondation d'un cacaoyer autofertile ne donne probablement que des descendants autofertiles.

A la suite d'un croisement entre un arbre fortement stérile et un cacaoyer fertile, ces auteurs pensent que l'autostérilité est un caractère dominant.

Chez les cacaoyers du type « Amazone », les gènes d'autostérilité sont vraisemblablement nombreux, et beaucoup de croisements entre arbres autoincompatibles sont fertiles [POSNETTE, 1945]. L'interstérilité du « Trinitario » serait due à la conservation d'un seul allèle, les autres ayant été perdus au cours des migrations naturelles et provoquées subies par ces cacaoyers.

Les plantes issues des croisements, réalisés par POSNETTE entre cacaoyers autoincompatibles du Haut-Amazone, ont été introduites et étudiées à Tafo. KNIGHT et ROGERS [1953] y ont trouvé cinq allèles responsables de la stérilité : la constitution génétique des parents détermine si le croisement est possible ou non. Ces plantes peuvent être classées en plusieurs groupes dans lesquels les croisements sont impossibles, mais les cacaoyers qui appartiennent à des groupes différents sont fertiles entre eux [KNIGHT et ROGERS, 1955].

COPE [1958], qui a étudié ce même matériel, suppose qu'il existe un allèle récessif supplémentaire, S_6 , et qu'un gène situé sur un autre locus, Pp, est responsable de la production d'un « précurseur d'incompatibilité ». P est nécessaire à l'apparition de l'incompatibilité, mais les allèles S lui confèrent sa spécificité.

§ 2. *Explication de la stérilité.*

La première étude microscopique de la stérilité chez le cacaoyer est due à POSNETTE [1938]. Il n'a pas observé de différences dans la structure du style et du stigmate, sur les fleurs qui proviennent d'arbres autocompatibles ou autoincompatibles. Les styles sont encore semblables, dans les deux types de fleurs, trois et six heures après l'auto-pollinisation. Les pollinisations incompatibles présentent distinctement

un certain nombre de tubes polliniques courts, fortement colorés, qui se terminent brusquement par un sommet renflé et qui croissent parfois de l'ovaire vers le style. On ne peut toutefois conclure à l'impossibilité, pour les tubes polliniques incompatibles, d'atteindre l'ovaire.

L'hypothèse suivant laquelle il y a présence d'un inhibiteur dans le style concorde assez bien avec les faits [POSNETTE, 1940]; les différents pollens sont affectés de façon variable par cet inhibiteur. Les tubes polliniques sont complètement inhibés avant d'atteindre l'ovaire; on peut s'attendre à obtenir des degrés divers de stérilité, suivant la susceptibilité des tubes polliniques vis-à-vis de l'inhibiteur.

A la même époque, COPE [1939 *d*] a constaté que les tubes polliniques se développent un peu plus rapidement dans le style des fleurs *autoincompatibles* que dans celui des fleurs autocompatibles, *quelle que soit l'origine du pollen*. Les autopollinisations stériles n'impliquent donc pas une moins bonne croissance des tubes polliniques.

COPE [1940] a ensuite étudié avec plus de précision le mécanisme de la stérilité en examinant, chez des hybrides « Trinitario », des fleurs autopollinisées d'un clone autocompatible et d'un autre autostérile. Chez les deux, les tubes polliniques atteignent les ovules et la fécondation a lieu; il n'y a aucune inhibition dans le style. Au début, on n'observe qu'une différence dans les taux des ovules fécondés après pollinisations fertile (80 %) et stérile (14 %). Quarante-huit heures après une pollinisation incompatible, les sacs embryonnaires sont très divers; certains sont dépourvus de noyaux, dans d'autres, les gamètes restent sans se fusionner et, occasionnellement, l'on observe des zygotes avec deux nucléoles. Dans la suite, le développement des ovules est beaucoup plus lent après pollinisation incompatible, le sac embryonnaire cesse de s'accroître, les divisions du noyau polaire débutent tardivement et sont lentes. COPE signale enfin que ces fleurs ne persistent pas plus de quatre jours, et pense que leur chute est en relation avec l'activité trop faible de l'ovaire et du sac embryonnaire.

En 1958, COPE observe que les fusions nucléaires entre le premier noyau mâle et l'œuf d'une part, le deuxième gamète mâle et les noyaux polaires d'autre part, ne s'effectuent pas dans un pourcentage variable d'ovules; l'inhibition se manifeste dans environ 25, 50 ou 100 % des sacs embryonnaires. Dans les autres ovules, les caryogamies sont normales comme dans les fleurs autofertiles.

Dans les ovules où les fusions n'ont pas lieu [BENNETT et COPE, 1959], l'oosphère et le noyau mâle sont toujours en contact et conservent leur forme sphérique. Le comportement du deuxième noyau mâle et des polaires est moins régulier; ceux-ci se séparent parfois,

et le gamète mâle se trouve ailleurs dans le sac embryonnaire ou au contact d'un des polaires.

En Gold-Coast, POSNETTE [1945] a examiné des ovaires chez les cacaoyers du type «Amazone» (descendant des introductions de POUND). Ici aussi, la fécondation a lieu, après une pollinisation incompatible. La stérilité peut donc être due à la non viabilité des noyaux zygote et endospermique, mais il semble plutôt que ce soit une réaction des tissus maternels aux gènes d'incompatibilité présents dans les tubes polliniques ou l'embryon.

La descendance des croisements réalisés par POSNETTE fut installée à Tafo et étudiée par KNIGHT et ROGERS [1955]. Ces auteurs ont observé que la croissance des tubes polliniques est semblable après une pollinisation compatible ou incompatible; la fécondation a lieu et le premier développement du sac embryonnaire est identique dans les deux cas. L'absence de développement du fruit incompatible doit être due à une manifestation tardive de l'incompatibilité; les substances actives qui en sont responsables seraient confinées dans le cytoplasme de l'ovule et du pollen.

Sur du matériel récolté en Équateur, HAKANSON [1947] a observé qu'après pollinisation compatible, la fécondation provoque un renouveau d'activité nucléaire dans les tissus somatiques de l'ovule; ce stimulus semble faible après fécondation incompatible; les ovules fécondés, après pollinisation incompatible, ne montrent pas de mitoses dans le nucelle et le tégument interne.

D'après les premières observations de POSNETTE, faites à Trinidad, l'incompatibilité est à attribuer à une inhibition du tube pollinique; mais bientôt, les chercheurs de Trinidad et de Tafo, ainsi que HAKANSON, sont arrivés à la conclusion que la stérilité de certaines pollinisations se manifeste postérieurement à la fécondation de l'ovule. Les études précises de COPE situent la manifestation de l'incompatibilité au moment de la fusion des noyaux mâles et femelles. Cependant, les expériences réalisées récemment en Colombie tendent de nouveau à prouver que l'incompatibilité se marque dès la germination du pollen.

L'incompatibilité serait provoquée, chez le cacaoyer, par une substance inhibitrice, présente dans le gynécée, qui retarde la germination du pollen incompatible et inhibe la croissance du tube pollinique [NAUNDORF, 1952]. Cette substance, résistante à la lumière et à la chaleur, est facilement détruite par H_2O_2 et $KMnO_4$. Sur un milieu nutritif glucose-agar qui contient un extrait de gynécée de fleurs autoincompatibles, le pollen de ces fleurs ne germe pas ou les tubes polliniques ne se développent pas, mais leur croissance est

normale si les extraits sont préalablement traités au KMnO_4 . D'autre part, les fleurs autostériles traitées au KMnO_4 donnent par autofécondation des fruits normaux.

PINEDA [1953] confirme en grande partie les conclusions de NAUNDORF; la substance inhibitrice présente dans le style des fleurs autoincompatibles n'empêche pas la germination du pollen, mais ralentit la croissance des tubes polliniques, qui ne parviennent pas aux ovules avant la chute de la fleur. Cette substance aurait un effet stimulant sur la croissance des tubes polliniques compatibles.

Les Colombiens attribuent un rôle accessoire à d'autres facteurs; l'autoincompatibilité s'explique partiellement par une déficience dans la production de substances actives (vitamines et phytohormones) nécessaires au renforcement de la zone d'abscission de la fleur, ou par l'inactivation des substances de croissance produites par le pollen ou le tube pollinique; la vitamine B_1 et les phytohormones rendent la nouaison possible après autopollinisation [NAUNDORF, 1952].

L'existence d'une « période autostérile », chez plusieurs arbres autofertiles, montre que l'incompatibilité ne peut être ramenée à un contrôle génétique, mais que d'autres facteurs sont en jeu; chez certains arbres, le pH du pistil rend difficile la germination du pollen; les fleurs tombent en raison de la croissance trop lente des tubes polliniques et de la nouaison tardive [NAUNDORF, 1959].

Pour PINEDA [1953], la substance inhibitrice produite par le style autoincompatible inactive peut-être l'action des substances capables de renforcer la zone d'abscission. Une déficience en certaines vitamines (spécialement B_1) est un facteur responsable de l'absence de fécondation dans les fleurs autoincompatibles après autopollinisation; des traitements combinés de vitamine et de phytohormones permettent en effet la fécondation des fleurs incompatibles. Cependant, si l'application des phytohormones prolonge la vie des fleurs, les fruits ne survivent que quelques jours.

Les variations saisonnières du pH stigmatique, qui sont, selon NAUNDORF *op. cit.*, responsables, dans certains cas, de la réduction de la compatibilité, n'ont qu'une importance réduite dans les phénomènes d'incompatibilité [PINEDA *op. cit.*].

Enfin, MILLER [1952] a établi qu'il y avait une activité plus importante de la catalase dans le gynécée des fleurs autoincompatibles que dans celui des fleurs compatibles; ce fait pourrait influencer le phénomène d'incompatibilité.

CHAPITRE II

DÉVELOPPEMENT NORMAL DE LA GRAINE ET DU FRUIT

§ 1. *La fleur avant la fécondation.*

1. **La fleur et le pédicelle.**

Le tronc et les branches du cacaoyer portent de nombreuses fleurs groupées sur des coussinets. La fleur possède cinq sépales légèrement rosés, réfléchis vers le pédicelle. Les pétales alternent avec eux; leur base est élargie et creusée en cuillère; le limbe, de teinte jaune, est réfléchi. Cinq staminodes étroits, pointus et raides, entourent l'ovaire; leurs bords sont colorés de pourpre. Les filets des étamines sont courts et courbés vers l'extérieur; ils passent entre les staminodes, et les anthères, composées de quatre loges hémisphériques, sont presque complètement enveloppées par la base des pétales.

L'ovaire, de forme ovoïde, est surmonté d'un style raide et cassant, long de 3 mm environ et découpé au sommet en cinq stigmates réunis en faisceau.

Les grains de pollen sont sphériques, d'un diamètre de 17 à 23 μ ; l'exine est assez épaisse; elle porte des dessins réticulés et est ornée de trois pores germinatifs.

La longueur du pédicelle floral varie entre 1 et 2 cm. A un millimètre environ de sa base, il est creusé d'un sillon circulaire; dans le tout jeune bouton, on n'observe qu'un faible renforcement; les assises de cellules se prolongent sur toute la longueur du pédicelle, mais les cellules périphériques sont plus petites à l'endroit de la constriction.

Tandis que le bouton floral se développe et que le pédicelle s'allonge, les cellules corticales grandissent et se vacuolisent, mais celles qui sont situées au niveau de la constriction restent petites et gardent un aspect méristématique; la constriction s'approfondit jusqu'à atteindre, tout autour du pédicelle, le tiers de l'épaisseur de celui-ci au moment de la floraison. Des deux côtés du sillon se forme un léger bourrelet. Le cylindre central ne présente aucun rétrécissement et reste identique sur toute la longueur du pédicelle (photo 1).

Suivant POUND [1932 a], la partie basale seule correspond réellement au pédoncule de la fleur; tout le reste est constitué par l'allon-

gement du réceptacle floral. Il faut cependant observer que les deux parties du pédicelle sont extérieurement semblables et portent des poils étoilés; la structure anatomique est identique des deux côtés du sillon et il existe des cellules et des lacunes sécrétrices sur toute la longueur.

Quand la fleur n'est pas pollinisée, elle tombe environ un jour après l'anthèse; la rupture du pédicelle a toujours lieu à hauteur de la zone d'abscission, qui constitue un endroit de moindre résistance. La chute de la fleur serait due à l'accumulation de réserves dans la base du pédicelle: l'augmentation de la pression osmotique dans les grandes cellules voisines de la constriction provoque la rupture de celle-ci [POUND, 1932 a].

Après la chute de la fleur, un phellogène de cicatrisation apparaît à la base du tronçon de pédicelle qui persiste sur le bourrelet florifère et isole ce tronçon qui se nécrose (photo 3).

2. L'ovaire.

Il est de forme ovoïde, long de 2 mm environ, large de 1,2 à 1,5 mm. La section transversale est pentagonale; les cinq côtés sont légèrement concaves et les angles arrondis.

La paroi ovarique a une épaisseur moyenne de 150 μ . L'épiderme est constitué d'une assise régulière de cellules qui se colorent fortement. Il porte des poils glandulaires formés d'un pied, de deux ou trois cellules superposées, et d'une tête allongée pluricellulaire, de couleur rouge pourpre (photo 4); ces poils existent aussi à la base du style, sur les sépales et le pédicelle.

Le parenchyme est composé de petites cellules vacuolisées; les cellules sécrétrices sont nombreuses, surtout dans la zone superficielle.

Les cavités carpellaires, au nombre de cinq, sont localisées sous les cinq arêtes externes de l'ovaire. Ces cavités ne sont pas complètement séparées; elles communiquent par une fente avec un étroit canal axial qui va de la base du style jusqu'à la moitié ou jusqu'au tiers inférieur de l'ovaire.

Les cavités ovariennes et les fentes qui les unissent sont tapissées d'une assise cellulaire semblable à l'épiderme externe de l'ovaire. Des études morphogénétiques chez *Datura* ont d'ailleurs établi que les deux assises épidermiques ont une origine commune [SATINA, 1945].

Le placenta est localisé, dans chaque carpelle, sur la partie médiane des deux bords de la fente; il ne se prolonge pas jusqu'au sommet, ni à la base de la cavité.

Le nombre total d'ovules par fleur varie entre 40 et 45. Il y en a rarement plus de dix par carpelle et ils sont insérés, dans chacun de ceux-ci, alternativement d'un côté et de l'autre de la fente médiane; chaque placenta en porte donc presque toujours quatre ou cinq.

Les ovules, qui sont anatropes, sont repliés vers la paroi latérale du carpelle; leur micropyle est alternativement orienté vers l'un ou l'autre des côtés de la cavité.

3. L'ovule.

Au moment où la fleur s'ouvre, l'ovule est globuleux, un peu allongé; son diamètre atteint 150 à 200 μ (photo 6).

Le funicule est presque entièrement soudé au tégument externe et la chalaze est située du côté opposé au placenta. Le funicule est représenté par un faisceau de cellules étroites et allongées, à fonction conductrice.

Le tégument externe comporte trois ou quatre assises de cellules vacuolisées qui ne se divisent plus lorsque le développement de l'ovule est complet.

Le tégument interne compte aussi trois ou quatre assises; les cellules sont petites, peu vacuolisées et de forme régulière; les divisions nucléaires et cellulaires y sont assez nombreuses; l'orientation des nouvelles cloisons est le plus souvent péricline. Ce tégument est plus développé du côté du funicule, où il rejoint la lèvre opposée du tégument externe.

Le nucelle comprend, tout autour du sac embryonnaire, cinq ou six assises mal définies de cellules, les externes assez petites, les internes plus grandes, moins régulières et très vacuolisées. Autour du sac embryonnaire, les cellules sont détruites à la suite de la croissance du sac embryonnaire. Les mitoses sont assez fréquentes dans le nucelle et l'orientation du fuseau n'est pas caractéristique. Le sommet du nucelle forme un bec long de six à huit cellules, qui s'allonge entre les lèvres du tégument interne et arrive très près du tégument externe. Les cellules de la chalaze, entre la base du nucelle et l'extrémité du tissu conducteur du funicule, sont légèrement allongées et orientées axialement.

4. Le sac embryonnaire.

Le sac embryonnaire est ovoïde et mesure environ 40 à 45 μ de longueur; il contient habituellement cinq noyaux et sa structure est normale (fig. 1).

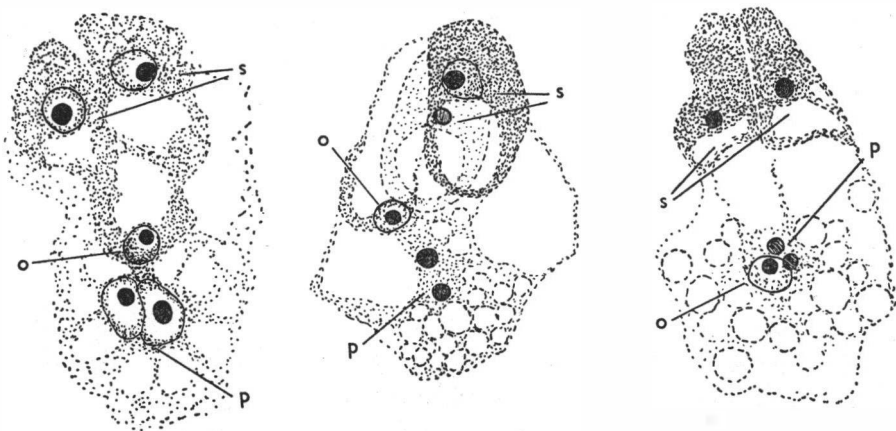


Fig. 1-2-3. — Le sac embryonnaire de *Theobroma cacao*. — s, synergide. — o, noyau de l'oosphère. — p, noyaux polaires ($\times 1.000$).

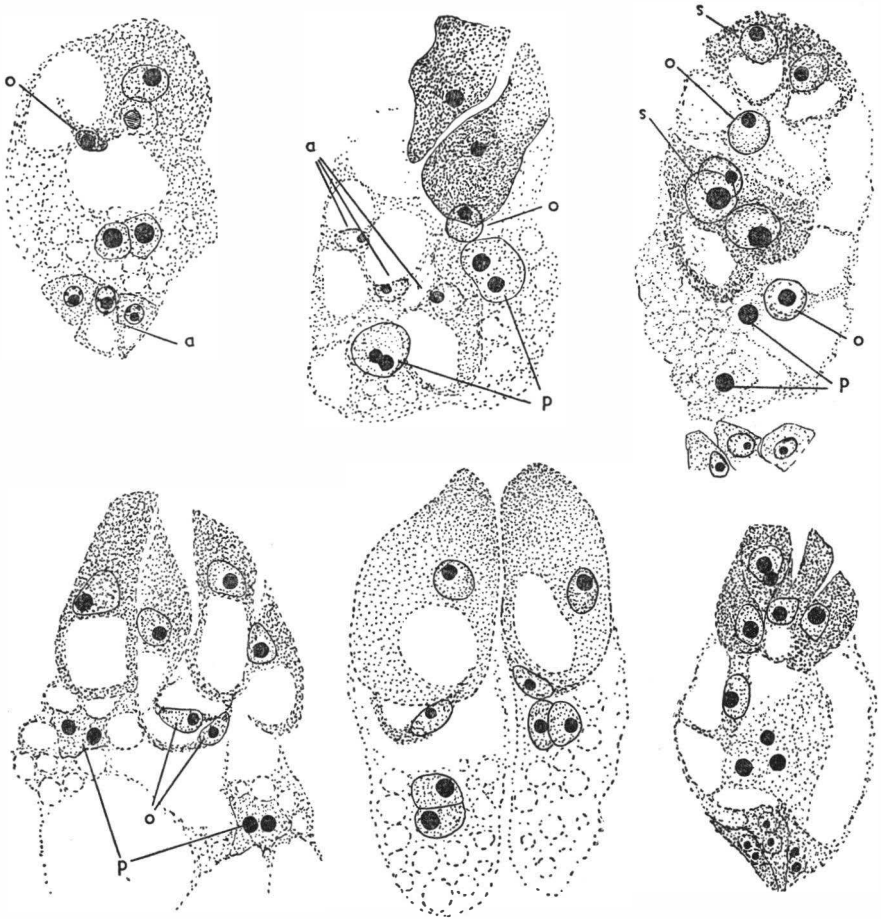
Au sommet, les deux synergides sont de grandes cellules allongées qui atteignent le milieu du sac embryonnaire; en forme de triangle étiré, elles sont aplaties l'une contre l'autre et sont nettement délimitées par une paroi mince. Le protoplasme est très dense, surtout au sommet. Le noyau, assez volumineux (5μ), se trouve à la partie médiane de la cellule, ou un peu plus bas, juste au-dessus d'une vacuole qui en occupe la base.

L'oosphère est une cellule moins bien délimitée, allongée aussi vers le sommet du sac embryonnaire (fig. 2); elle débute moins haut que les synergides et sa base est plus profonde. Une grande vacuole occupe presque toute la cellule. Le noyau (gamète femelle) se trouve dans la partie profonde, dans le protoplasme pariétal un peu plus épais en cet endroit; le noyau est ovoïde, légèrement plus petit que celui des synergides (4 à 5μ de diamètre); son nucléole est plus petit que celui des autres noyaux du sac embryonnaire.

Les deux noyaux polaires sont assez volumineux, situés un peu plus profondément que le noyau de l'oosphère, parfois au même niveau, rarement plus haut (fig. 3). Ces noyaux sont toujours accolés et semblent parfois partiellement soudés; leur limite est souvent imprécise ou ne se distingue pas. Ces noyaux sont entourés d'un peu de protoplasme et de nombreux grains d'amidon sphériques, de taille variable, certains assez volumineux.

Les cellules antipodiales ne se retrouvent pratiquement jamais dans les ovules normaux, par contre, elles persistent dans presque tous les sacs embryonnaires à structure aberrante. Quand elles existent

(fig. 4), ce sont trois petites cellules à membranes nettes, situées tout au fond du sac embryonnaire. Les noyaux sont très petits et possèdent, outre le nucléole, quelques granules chromatiques, périphériques. Ils sont souvent en voie de dégénérescence.



Ovules anormaux.

De gauche à droite et de haut en bas. - Fig. 4; sac embryonnaire complet, avec trois antipodes. — 5; noyaux polaires (partiellement fusionnés) en nombre double. — 6; ovule dont la partie antérieure (synergides et oosphère) est dédoublée. — 7; sac embryonnaire double. — 8; ovule contenant deux sacs embryonnaires distincts. — 9; sac embryonnaire complexe : synergides et antipodes multiples (s, synergides; a, antipodes; o, oosphère; p, noyaux polaires) ($\times 1.000$).

5. Ovules anormaux.

Les ovules à développement anormal sont rares et il ne semble pas y avoir, à ce point de vue, des différences suivant les clones.

Le cas le plus fréquent est celui des ovules incomplètement différenciés; on en trouve un ou deux dans beaucoup de fleurs. Nucelle et téguments sont normaux mais le sac embryonnaire ne s'est pas formé et son emplacement est occupé par une seule cellule à noyau volumineux. Le développement est parfois un peu plus important, le sac embryonnaire rudimentaire contient quelques noyaux non différenciés.

On rencontre aussi, mais beaucoup plus rarement, des ovules qui contiennent un ou plusieurs noyaux supplémentaires (fig. 5 à 9). Il est généralement possible d'y identifier des synergides, oosphères ou noyaux polaires en surnombre. Le cas le plus typique est celui où tous les constituants sont deux fois plus nombreux qu'à l'ordinaire. Il arrive aussi que la partie antérieure du sac embryonnaire soit seule dédoublée (synergides, oosphère) et il peut y avoir, en outre, des noyaux indifférenciés. Dans les ovules entièrement dédoublés, les sacs embryonnaires peuvent être bien distincts ou partiellement confondus (fig. 7 et 8).

Dans un de ces sacs embryonnaires partiellement dédoublés, on a observé deux oosphères fécondées (voir fig. 27). Le développement ultérieur d'un tel ovule pourrait donner naissance à une graine à deux embryons.

§ 2. La fécondation.

1. Germination du pollen et croissance du tube pollinique.

Le cytoplasme du grain de pollen est dense et contient un seul noyau de 2-3 μ , fusiforme ou ovoïde, souvent prolongé, aux deux extrémités, par des cordons colorables (fig. 10 c). Ce noyau possède plusieurs granules chromatiques et une structure réticulée-granuleuse. Dans le jeune grain de pollen, le noyau qui provient directement de la méiose est sphérique, assez volumineux (3-4 μ); il présente un nucléole et quelques chromocentres périphériques. La première division haploïde a lieu deux jours environ avant la floraison; elle donne un noyau végétatif semblable à celui de départ et un génératif, de diamètre deux fois moindre, sans nucléole, mais avec quelques granules chromatiques superficiels (fig. 10 b). Le noyau végétatif dégénère rapidement; la coloration des chromocentres s'atténue, la paroi nucléaire s'efface et le nucléole a généralement disparu au moment de la floraison. Le pollen de *Theobroma cacao* appartient donc au type binucléé, mais il évolue, peu avant son émission, vers le type uninucléé, par dégénérescence du noyau végétatif.

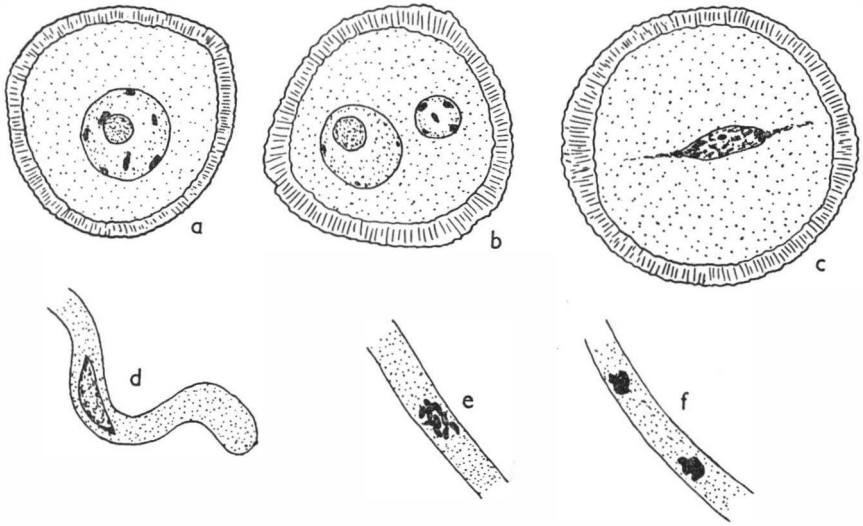


Fig. 10. — Grain de pollen et tube pollinique de *Theobroma cacao*. — a, stade uninucléé. — b, stade binucléé (noyaux végétatif et génératif). — c, grain de pollen mûr. — d, tube pollinique et noyau génératif. — e, mitose haploïde ($n = 10$) dans le tube pollinique; métaphase. — f, anaphase ($\times 1.500$).

Le grain de pollen, déposé sur le stigmate, germe rapidement; par l'un des pores germinatifs, il émet une protubérance épaisse et courte. En général, les tubes polliniques ne sont pas dirigés directement vers l'ovaire; leur orientation est variable, ils forment des coudes brusques, des boucles et des spirales, des renflements parfois aussi volumineux que le grain de pollen lui-même (photo 7), ils peuvent même croître vers le sommet du stigmate. Pendant ce premier développement, les tubes polliniques semblent rester à la surface des stigmates. Quand ils ont pénétré à l'intérieur du style, leur croissance est plus régulière et plus rapide (photo 8), la plupart sont rectilignes, mais ils peuvent former localement de légers nœuds et renflements. A la base du style et au sommet de l'ovaire, les tubes polliniques progressent à l'intérieur du canal styloïde et de la cavité ovarique, à la surface de l'épiderme (photo 9).

Au moment de l'émission du tube pollinique, le noyau génératif est unique; il se divise au cours du développement du tube dans le style (fig. 10). Pendant cette deuxième division haploïde, on distingue avec difficulté dix chromosomes étroitement rapprochés en une plaque métaphasique dense. Les deux noyaux qui résultent de cette mitose sont les gamètes mâles.

2. Fécondation de l'ovule.

CHEESMAN [1927] a observé le tube pollinique à proximité de l'ovule quatre heures environ après la pollinisation; cinq à six heures

après celle-ci, sa trace est visible au sommet du sac embryonnaire, et deux heures plus tard, son contenu s'y est déversé.

Le tube pollinique atteint le nucelle en passant par le micropyle. Pour arriver au sac embryonnaire, il pénètre dans le bec du nucelle et se faufile entre les cellules de ce dernier (photo 10).

Le tube pollinique aboutit dans une des deux synergides où il déverse son contenu; cette cellule devient complètement opaque. Ce stade initial de la fécondation se situe plus ou moins tôt suivant les fleurs, mais s'observe au plus tard 24 heures après la pollinisation.

Les tubes polliniques pénètrent à peu près simultanément dans tous les ovules de la fleur.

Les deux gamètes mâles ne peuvent s'observer dans la synergide. On ne les distingue qu'après leur émission en dehors de cette cellule, à proximité de l'oosphère et des noyaux polaires. Ce sont de petits noyaux (2 μ environ de diamètre), semblables au noyau génératif du grain de pollen, sphériques ou ovoïdes, sans nucléole central, mais avec deux à cinq granules chromatiques périphériques.

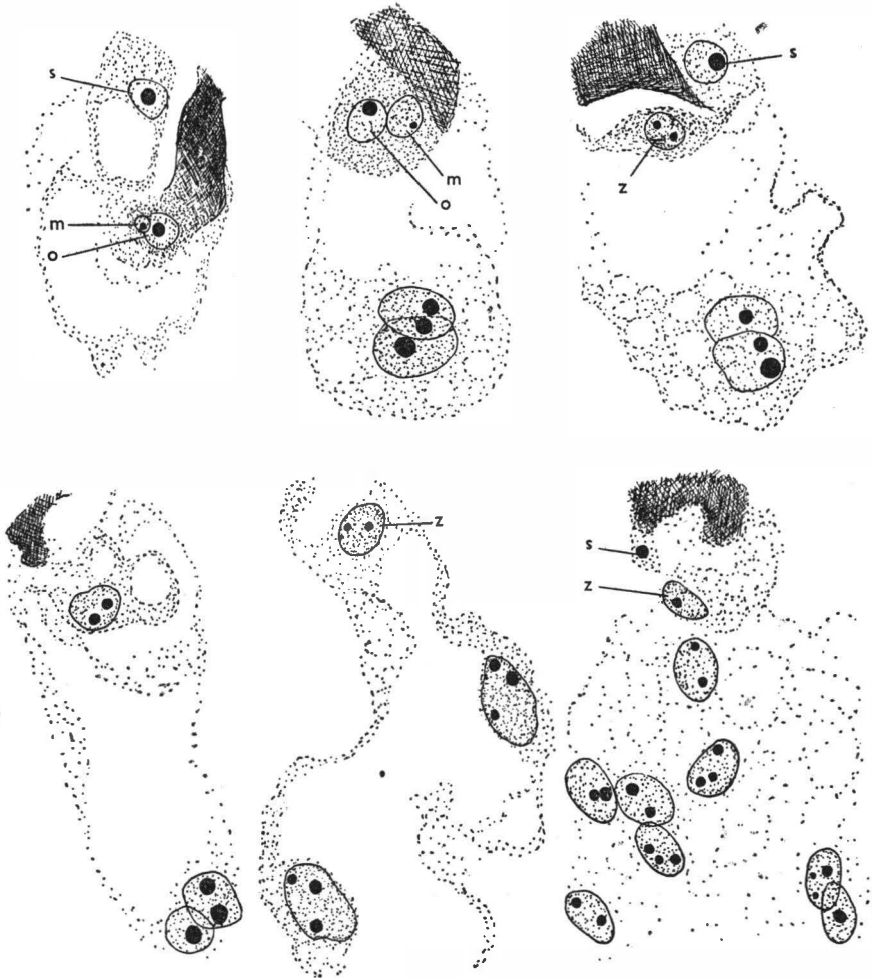
Le premier noyau mâle s'accole à celui de l'oosphère et gonfle jusqu'à atteindre le même volume que ce dernier. Un petit nucléole y apparaît latéralement, tandis que les granules périphériques disparaissent. Les deux gamètes se fusionnent et le noyau zygote se rapproche de l'extrémité micropylaire du sac embryonnaire. Le volume de ce noyau n'est pas sensiblement supérieur à celui de l'oosphère. Il s'en distingue par sa forme plus régulièrement sphérique et la présence fréquente de deux nucléoles. Ceux-ci sont d'abord de dimension inégale, puis semblable; tous deux sont petits. Ils sont souvent bien séparés, mais peuvent aussi se fusionner.

Ce stade de la fécondation, ou syngamie (1), a lieu peu de temps après l'arrivée du tube pollinique dans le sac embryonnaire. L'union se termine souvent le lendemain de la pollinisation, et le surlendemain, les gamètes non fusionnés ne s'observent plus qu'exceptionnellement.

Le second gamète mâle s'accole aux deux noyaux polaires et subit la même évolution que le premier et en même temps que lui : gonflement, apparition d'un nucléole et caryogamie. La limite des noyaux polaires, souvent imprécise avant la fécondation, devient beaucoup plus nette. Comme BENNETT et COPE [1959] le pensent, il semble que le noyau mâle se place toujours à la jonction des deux noyaux polaires, de manière à se trouver au contact de chacun d'eux; son contenu s'unit ensuite au nucléoplasme d'un des noyaux polaires.

Quarante-huit heures après la pollinisation, l'on trouve soit un noyau volumineux avec trois gros nucléoles égaux, soit deux noyaux

(1) Syngamie : fusion (ou caryogamie) du noyau gamète mâle avec le noyau de l'oosphère (œuf), donnant un zygote diploïde.



Divers stades de la fécondation.

De gauche à droite et de haut en bas — Fig. 11; émission d'un gamète mâle. — 12; gonflement des noyaux mâles. — 13-14; fusions nucléaires. — 15; sac embryonnaire avec un zygote et deux noyaux triploïdes (ovule de 3 jours). — 16; un zygote et huit noyaux endospermiques (ovule de 6 jours). — o, noyau de l'oosphère. — m, noyau mâle. — z, zygote. — s, synergide ($\times 1.000$).

accolés, l'un binucléé, l'autre avec un seul nucléole. Il semble qu'en général, le gamète mâle s'unit d'abord à l'un des noyaux polaires, et que ceux-ci se fusionnent ensuite pour donner le noyau triploïde. En effet, on le trouve généralement accolé à l'un des deux noyaux polaires et, avant fusion complète, le noyau binucléolé possède parfois deux nucléoles de taille différente, l'un qui provient vraisemblablement du noyau polaire, l'autre, plus petit, qui est celui du gamète mâle (fig. 12-13).

Trois jours après la pollinisation, la fusion complète est toujours réalisée. Dès que les noyaux polaires sont fécondés, ils se dirigent du côté opposé au noyau zygote, c'est-à-dire vers la chalaze.

L'ovule ne peut être considéré comme fécondé qu'après la fusion des gamètes mâle et femelle pour donner le noyau embryonnaire ou zygote; cette double fécondation n'est complète qu'après la formation, en outre, du noyau endospermique triploïde. On considère comme fécondés tous les sacs embryonnaires atteints par un tube pollinique. Il est, en effet, impossible dans beaucoup d'ovules de retrouver tous les noyaux et de déterminer la nature de leur état (haploïde, diploïde ou triploïde). Par contre, l'opacité d'une synergide atteinte par un tube pollinique est très caractéristique du stade initial de la fécondation et s'observe pendant plusieurs jours comme une tache sombre souvent allongée en croissant (photos 11 et 19).

§ 3. *Formation de la graine et du fruit.*

1. **Premier développement de l'ovule fécondé.**

a. *Ovule.*

Dès la fécondation, l'ovule grandit rapidement. Le tégument externe ne montre plus de mitoses; son accroissement est uniquement provoqué par l'augmentation du volume de ses cellules. Par contre, dans le tégument interne et le nucelle, les divisions nucléaires et cellulaires se poursuivent, mais ne sont pas accélérées par la fécondation comme on l'a signalé pour d'autres plantes. Ces divisions permettent aux tissus de s'accroître et au nucelle de conserver une épaisseur constante en dépit du développement du sac embryonnaire.

Quand la fleur n'est pas pollinisée, les ovules restent stationnaires jusqu'à la chute de la fleur et ce, sans accroissement.

Dans une fleur où quelques ovules seulement ne sont pas fécondés, ceux-ci présentent un début de développement, les mitoses persistent pendant deux ou trois jours et le sac embryonnaire s'accroît un peu. Le cytoplasme et les noyaux du sac embryonnaire se contractent ensuite et l'ensemble de l'ovule se dessèche.

b. *Sac embryonnaire.*

Dès la fécondation, le sac embryonnaire s'élargit, puis gonfle dans tous les sens. Sa forme, comme celle de l'ovule, varie suivant la place dont celui-ci dispose. Dans les ovules situés au centre des carpelles, le sac embryonnaire devient plus large que long, tandis que les ovules extrêmes se développent dans les extrémités plus étroites des cavités

carpellaires et que leur sac embryonnaire s'allonge dans un sens inverse de celui des premiers.

Deux jours après la pollinisation, le sac embryonnaire commence à former une petite poche en direction de la chalaze et du funicule, d'où lui parviennent l'eau et la nourriture nécessaires. Les cellules de la base du nucelle, entre cette poche et la chalaze, se vacuolisent, leurs noyaux dégénèrent et leur contenu vivant disparaît (photo 12).

Les grains d'amidon qui entourent les noyaux polaires persistent dans le sac embryonnaire pendant quelques jours; on en retrouve, autour des noyaux endospermiques, après la première et même la deuxième division triploïde.

Il est impossible de mesurer exactement le volume du sac embryonnaire à différents moments de son développement, car sa forme est variable et son accroissement diffère d'un ovule à l'autre et surtout suivant les ovaires. On peut toutefois estimer que son volume est environ cinq fois plus grand trois jours après la pollinisation que dans la fleur non fécondée, et qu'après huit jours, le volume initial est multiplié par quinze.

c. Contenu nucléaire.

Le noyau zygote reste inchangé très longtemps, près de la limite du sac embryonnaire, à son extrémité micropylaire.

Le noyau triploïde, par contre, se divise peu après sa formation. Deux jours après la pollinisation, aucune division n'a encore eu lieu; dans les fleurs récoltées trois jours après avoir été pollinisées, plus de 50% des ovules contiennent deux noyaux endospermiques. La deuxième division peut avoir lieu le quatrième jour; 20% des ovules possèdent à ce moment quatre noyaux triploïdes. Cinq jours après la pollinisation, les ovules à deux et à quatre noyaux sont à peu près en nombre égal, tandis que les noyaux triploïdes uniques sont rares. Le lendemain, certains sacs embryonnaires contiennent huit noyaux.

Pendant les huit premiers jours, les mitoses triploïdes sont toujours simultanées à l'intérieur d'un même sac embryonnaire. Les divisions ne se font pas en même temps dans les divers ovules d'une même fleur. Cependant, quand dans un ovaire on trouve un ovule dont les noyaux endospermiques se divisent, on en rencontre généralement quelques autres où les noyaux sont aussi à un stade quelconque de la mitose qui est probablement rapide, car dans la plupart des fleurs, elle ne s'observe pas.

Les premiers noyaux endospermiques sont volumineux, ovoïdes ou de forme un peu irrégulière; ils ont le plus souvent trois nucléoles. Après quelques mitoses, ils deviennent plus petits; ils sont fusiformes

et aplatis dans le protoplasme pariétal du sac embryonnaire. Le nombre des nucléoles varie de un à trois, et il peut y en avoir en outre un ou deux petits (fig. 15 et 16).

Les métaphases triploïdes sont souvent assez confuses; pourtant il est parfois possible d'y dénombrer 30 chromosomes (fig. 19 et photo 17). KUIJPER [1914] avait compté 8 chromosomes haploïdes à la méiose, lors de la mégasporogénèse et 16 chromosomes somatiques. De même, CHEESMAN [1927] a observé 16 chromosomes dans les divisions du nucelle et environ 22 dans l'endosperme; dans ce dernier tissu, HEYN [1930] a aussi montré qu'il y avait 24 chromosomes.

On a cependant établi ensuite que le nombre somatique est de 20 [DAVIS, 1932; SIMMONDS, 1954]; l'endosperme, triploïde, doit donc avoir 30 chromosomes.

2. Développement du fruit.

a. *Pédicelle.*

A mesure que le volume et le poids de la cabosse augmentent, le pédicelle s'épaissit grâce à l'activité d'un anneau méristématique qui fonctionne comme un cambium. La constriction observée à la base du pédicelle floral persiste assez longtemps; après vingt-cinq jours, elle est encore aussi profonde et marquée que lors de la floraison (photo 2). Dès le cinquantième jour, le pédicelle est fortement épaissi et lignifié; la zone corticale est presque entièrement détruite et la constriction ne s'observe plus en coupe. Cependant, le pédicelle porte une trace superficielle beaucoup plus longtemps, et même à maturité on voit encore à sa base un anneau assez net.

b. *Croissance de la cabosse.*

La vitesse et la durée du développement, ainsi que le volume maximum atteint par la cabosse varient notablement d'un arbre à l'autre, mais l'allure générale de la croissance reste comparable. Les valeurs, rapportées à la page 30, sont des moyennes obtenues en mesurant périodiquement la longueur et la largeur de trente-cinq cabosses; celles-ci résultent de pollinisations effectuées à des moments différents sur trois cacaoyers.

La courbe de croissance du fruit (fig. 17) indique un allongement rapide et régulier dès la fécondation. L'allongement est surtout rapide entre le cinquantième et le centième jours; il ralentit ensuite et devient presque nul peu avant la maturité.

Age (Jours)	Longueur (mm)	Diamètre (mm)
0	2,0	1,4
10	8,5	2,8
20	18,8	5,5
30	34,0	9,5
40	45,0	12,0
50	56,0	16,0
60	74,0	21,0
70	94,0	26,0
80	118,0	35,0
90	151,0	46,0
100	176,0	57,0
110	186,0	69,0
120	194,0	72,0
130	198,0	75,0
140	202,0	77,0
150	208,0	77,0
160	209,0	74,0

L'accroissement du diamètre de la cabosse est aussi régulier. Comparés à l'allongement, l'accélération et le ralentissement ultérieur de l'épaississement sont un peu retardés.

La plus grande partie du péricarpe forme un tissu épais et dur, tandis que la partie centrale se transforme en une masse spongieuse blanche qui adhère de plus en plus aux graines. Les cellules qui la composent sont allongées et vides; leurs parois sont très minces. Dans le fruit mûr, ce tissu spongieux se dissocie complètement et devient visqueux et gluant; les graines sont libres à l'intérieur de la cabosse.

Le temps nécessaire à la maturation du fruit varie suivant la variété et le clone; sur un même arbre, il existe aussi des différences entre cabosses individuelles. Dans le matériel étudié, la maturité est atteinte après cinq à six mois.

c. *Tissus conducteurs.*

Dans l'axe du fruit, cinq faisceaux importants alternent avec les cavités carpellaires; au départ de chacun d'eux, des ramifications se dirigent vers les ovules, alternativement dans l'une et dans l'autre

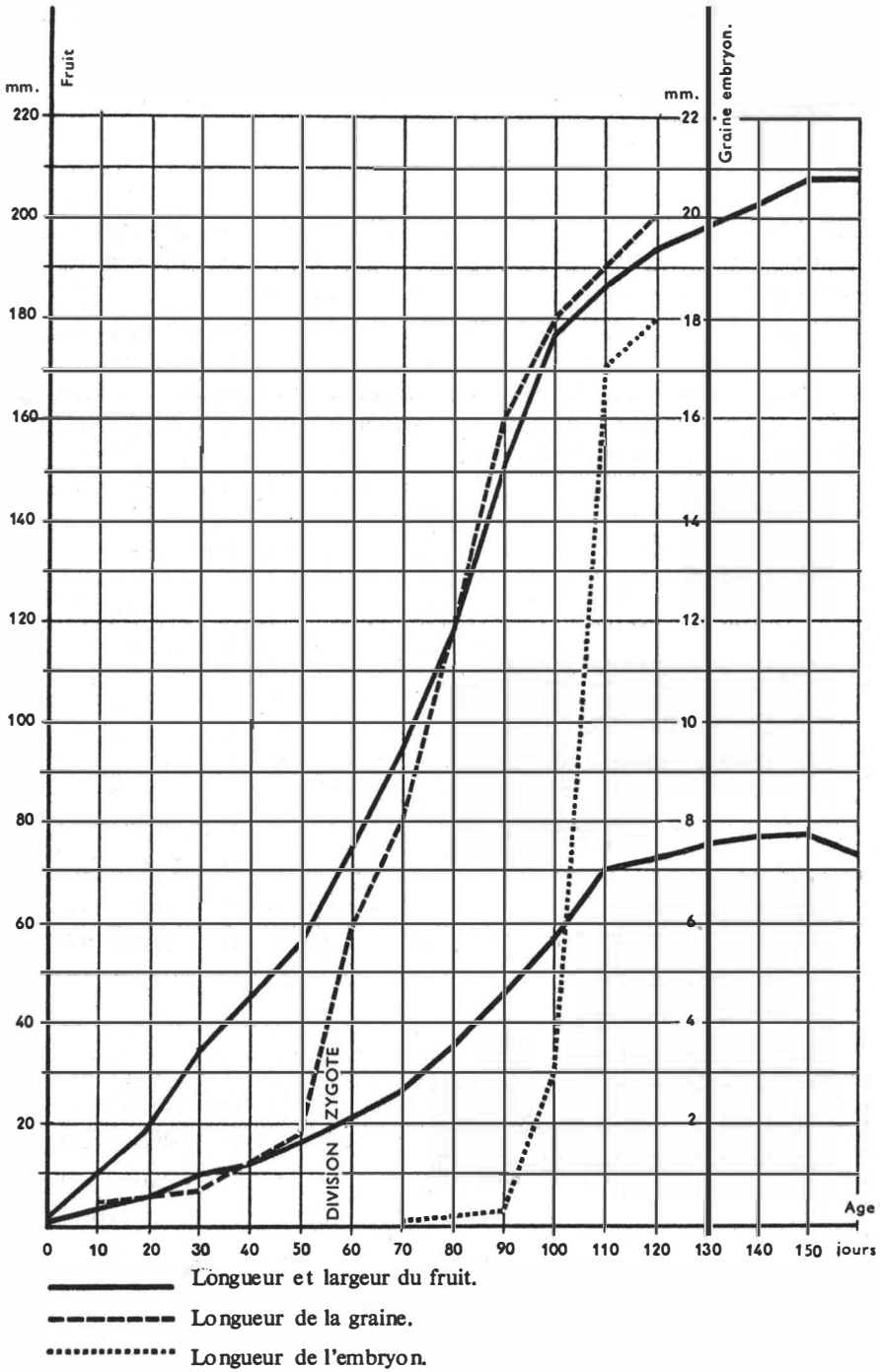


Fig. 17. — Courbes de croissance du fruit, de la graine et de l'embryon.

des cavités adjacentes. Outre ces faisceaux, de nombreux cordons vasculaires ramifiés sillonnent les tissus du péricarpe.

3. Évolution de la graine.

a. Croissance de l'ovule.

Au moment de la floraison, les ovules mesurent 150 à 200 μ ; leur accroissement est au début beaucoup plus lent que celui du fruit, et ils n'occupent dans celui-ci qu'une place minime. Leur forme reste globuleuse ou ovoïde pendant plusieurs semaines.

Plus tard, les ovules s'accroissent surtout longitudinalement (sens micropyle-chalaze), et à partir du deuxième mois, la longueur de la graine égale environ le double de sa largeur. La croissance est surtout rapide entre le cinquantième et le centième jours; elle cesse ensuite presque complètement (tableau I).

TABLEAU I.
Croissance de l'ovule et de ses différentes parties.

Age du fruit (jour)	Dimensions de la graine (mm)	Épaisseur du tégument externe (μ)	Épaisseur du tégument interne (μ)	Épaisseur du péricarpe (μ)
5	0,20— 0,30	25	20 — 25	30
10	0,25— 0,35	35	25 — 30	50 — 60
15	0,30— 0,40	35 — 40	25 — 30	50 — 80
20	0,50— 0,60	50 — 60	20 — 30	100 — 120
25	0,55— 0,65	55 — 60	25 — 30	100 — 125
30	0,60— 0,80	60 — 75	25 — 30	120 — 150
40	1,10— 1,20	90 — 100	25 — 30	250 — 300
50	1,60— 1,80	150 — 200	40 — 50	400
60	3,00 × 6,00	350	60 — 65	800
70	4,00 × 8,00	300 — 400	60 — 100	400 — 500
80	6,00 × 12,00	300 — 450	120 — 140	240 — 300
90	8,00 × 16,00	375 — 500	150 — 200	180
100	10,00 × 18,00	1.000	200	60
110	12,00 × 19,00	1.200 — 1.400	160 — 200	—
120	12,00 × 20,00	1.200 — 1.400	160 — 200	—

b. *Tégument externe.*

L'épaisseur du tégument externe augmente régulièrement avec le temps, mais son accroissement est surtout rapide au cours du deuxième mois. L'épaississement du tégument se fait principalement par étirement et augmentation du volume des cellules, secondairement par multiplication de celles-ci; les mitoses y sont assez rares et le nombre d'assises cellulaires n'augmente que lentement. Des cordons vasculaires se différencient dans l'épaisseur du tissu après deux ou trois semaines; plus tard, de nombreuses cellules tannifères apparaissent dans les trois ou quatre assises internes.

Vers le septantième jour, beaucoup de cellules sous-épidermiques, du côté externe de l'ovule, commencent à s'allonger fortement dans le sens radial; leur contenu vivant disparaît et il est remplacé par du mucilage. Les parois disparaissent ensuite, et les cellules confluent en de grandes lacunes mucilagineuses.

Après 110 jours environ, l'épaisseur du tégument atteint son maximum, les cellules sont partiellement vides et leurs parois assez épaisses. Immédiatement avant la maturité, l'épaisseur n'atteint plus que 250 à 500 μ par suite de l'écrasement des cellules; l'assise mucilagineuse sous-épidermique persiste dans la graine mûre et forme des épaississements à la surface du spermoderme qui provient du tégument externe sans différenciation particulière des cellules (photo 31).

c. *Tégument interne.*

Contrairement à la plupart des organes de l'ovule, le tégument interne garde longtemps une importance à peu près constante. Des divisions cellulaires assez fréquentes lui conservent son aspect méristématique et il continue d'envelopper le nucelle d'une couverture d'épaisseur constante de 25 à 30 μ . Ce n'est que cinquante jours après la floraison, qu'on observe un épaississement du tégument, provoqué surtout par la vacuolisation de ses cellules. Celles-ci perdent leur contenu vivant un peu plus tôt que celles du tégument externe; elles s'affaissent et ne forment plus, dans la graine mûre, qu'une couche de 40 à 50 μ .

d. *Nucelle et périsperme.*

Au cours des deux premiers mois, le nucelle est la partie de l'ovule qui subit le développement le plus important. Ses cellules, d'abord méristématiques, se vacuolisent ensuite rapidement. Le nucelle se transforme en un tissu nourricier, le périsperme; ses cellules polygonales, à parois minces, ont un petit noyau et très peu de cytoplasme. Des divisions assez nombreuses en provoquent l'accroissement dans tous les sens. L'épaisseur est la plus grande perpendiculairement à l'axe micropyle-chalaze.

Le développement du périsperme passe par un maximum après deux mois, puis il cesse brusquement; son épaisseur décroît ensuite rapidement au profit du sac embryonnaire et de l'endosperme. Ses cellules meurent et sont détruites, sauf quelques assises, au voisinage du micropyle et de la chalaze.

A la base du sac embryonnaire, entre celui-ci et la chalaze, où aboutissent les vaisseaux qui alimentent la jeune graine, les cellules sont mortes et décollées les unes des autres; elles forment un tissu spécial ou hypostase (photo 16) et se remplissent de substances colorées en brun qui, selon CHEESMAN [1927], sont des tannins. Le rôle de ce tissu, observé chez de nombreuses plantes, est de permettre l'entrée dans le sac embryonnaire et le périsperme des solutions amenées par le funicule, et d'empêcher l'écoulement du contenu du sac embryonnaire [LONAY, 1922]. A mesure que s'accroît la graine, l'hypostase se développe de plus en plus et forme un large plateau de cellules colorées.

e. *Endosperme.*

Six à huit jours après la pollinisation, le sac embryonnaire mesure 80 à 110 μ et contient le plus souvent huit noyaux triploïdes libres. Son volume s'accroît rapidement par destruction des assises internes du périsperme. Le sac embryonnaire se développe surtout dans le sens chalaze-micropyle; sa forme, d'abord sphérique ou ovoïde, devient finalement elliptique et cylindrique.

A la base, le sac embryonnaire atteint la chalaze. Si du côté du micropyle, l'épaisseur du nucelle reste faible et constante (deux ou trois assises cellulaires), elle augmente très fort latéralement.

Les chiffres suivants montrent l'accroissement du sac embryonnaire en longueur (chalaze-micropyle) et en largeur :

Époque (jour après la floraison)	Longueur (μ)	Largeur (μ)
—	40 — 45	40
5	80 — 110	80
10	110 — 120	75 — 90
15	130 — 150	100 — 125
20	175 — 200	120 — 140
25	250	150 — 175
30	350 — 400	200
40	700	200
50	1.000	300

L'accroissement du sac embryonnaire se poursuit ensuite rapidement et parallèlement à celui de la graine, dont il occupe bientôt la plus grande partie.

Pendant assez longtemps, les noyaux endospermiques ne semblent subir aucune mitose; 25 jours après la fécondation, on n'a pas trouvé plus de huit noyaux par ovule, mais ils sont difficiles à observer compte tenu de leur dispersion dans un sac embryonnaire de plus en plus grand. Les divisions reprennent vraisemblablement vers le quarantième jour; à ce moment, les noyaux sont un peu plus nombreux. Le cinquantième jour, on en a compté environ 64 par ovule, les noyaux triploïdes sont alors encore libres et dispersés dans un cytoplasme pariétal mince.

Après 60 jours, les noyaux sont beaucoup plus nombreux et forment une couche sur tout le pourtour du sac embryonnaire; ils sont volumineux ($10\ \mu$) et les mitoses sont partiellement synchroniques: tous les noyaux d'une même zone sont au même stade. La plus grande partie de l'endosperme ne possède aucune cloison; à l'extrémité micropylaire du sac embryonnaire seulement, des vacuoles découpent le cytoplasme pariétal en polygones et les premières parois cellulaires y apparaissent.

Le cloisonnement et l'accroissement de l'endosperme se poursuivent très rapidement dans la pointe que forme le sac embryonnaire en direction du micropyle; 80 jours après la floraison, il y forme un tissu lâche, épais de $800\ \mu$ (photo 27). Sur les côtés du sac embryonnaire, le cloisonnement se répand et donne une, puis deux couches de cellules, l'externe mince et partiellement détruite, l'interne plus épaisse et à noyaux sphériques.

L'endosperme ne se cloisonne pas à la base de la graine; les noyaux y subissent des fragmentations et surtout des fusions qui donnent, à côté de noyaux triploïdes de taille normale, des micronoyaux et des noyaux de taille très variable et diversement lobés (fig. 34) qui présentent bientôt des signes de dégénérescence; après trois mois, ils sont plus ou moins complètement détruits dans un cytoplasme aggloméré et granuleux (fig. 18).

Dans des graines âgées de 110 à 120 jours, l'endosperme, masse gélatineuse et translucide, remplit tous les espaces restés libres entre les lobes des cotylédons; sur le pourtour, c'est un tissu vivant, formé de grandes cellules vacuolisées à parois minces et à noyaux sphériques. Entre les lobes cotylédonaires, l'endosperme est écrasé et plus ou moins détruit. L'assise périphérique, contre le tégument interne, est mince, formée des petites cellules à cytoplasme dense.

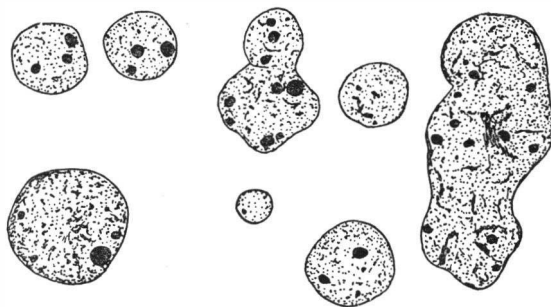


Fig. 18. — Noyaux endospermiques de taille diverse et plus ou moins dégénérés, observés près de la chalaze ($\times 1.000$).

La graine mûre n'a pratiquement plus d'endosperme; on en retrouve seulement quelques traces en forme de pellicule entre les lobes des cotylédons.

4. Développement de l'embryon.

L'oosphère fécondée persiste très longtemps à l'extrémité micropylaire du sac embryonnaire sans subir de modifications importantes. La cellule conserve sa taille, son cytoplasme est peu abondant et sa paroi reste peu visible, sa présence devient donc de plus en plus difficile à déceler dans un sac embryonnaire qui s'accroît fortement. Nous avons cependant pu l'observer dans quelques ovules à presque tous les stades (photos 19 à 22).

Le noyau zygote conserve son aspect primitif; il est sphérique, avec un ou deux petits nucléoles périphériques. Il est plus volumineux que les noyaux du périsperme et se distingue assez bien des noyaux endospermiques qui ont en général deux ou trois nucléoles et sont aplatis dans le cytoplasme pariétal (décollé du périsperme après fixation). Le noyau embryonnaire grossit ensuite, ses nucléoles se fusionnent et la paroi cellulaire devient plus apparente.

CHEESMAN [1927] estime que les premières divisions embryonnaires ont lieu dès le 40^e jour; en effet, dans un fruit âgé de 50 jours environ, il observait déjà plusieurs cellules. MAHESHWARI [1950] cite *Theobroma cacao* comme un exemple de plante où le noyau zygote subit une longue période de repos avant de se diviser et il situe cette première division vers le dixième ou le quinzième jour. Ces chiffres sont certainement erronés. WARDLAW [1954], qui a vraisemblablement emprunté chez MAHESHWARI ces chiffres de 10 à 15, jours mérite la même obser-

vation. L'exemple n'en reste pas moins bon puisque, en réalité, la période de repos du zygote est encore bien plus longue que ne le supposent ces auteurs.

La première division est encore un peu plus tardive dans le matériel que nous avons étudié. Dans les fruits examinés, le noyau est encore unique 50 jours après la fécondation, mais son aspect s'est nettement modifié; sa coloration est plus intense et le nucléole, unique, est beaucoup plus volumineux que précédemment (fig. 19 et photo 22).

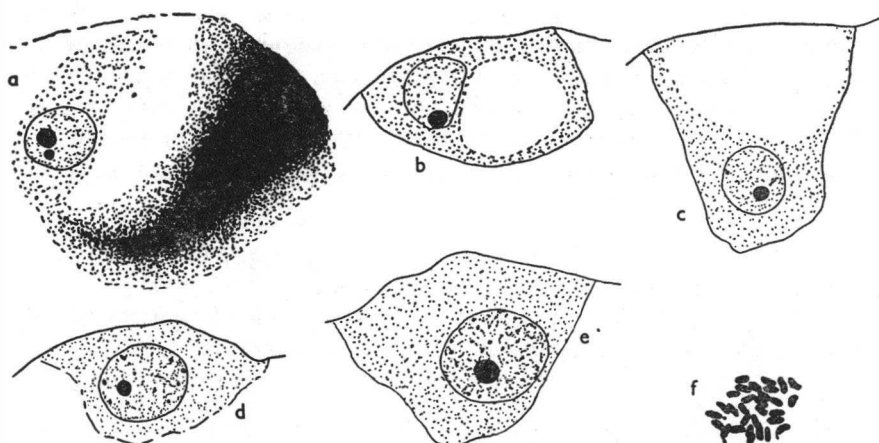


Fig. 19. — Évolution du noyau zygote. — a, 4 jours après la pollinisation. — b, 10 jours. — c, 20 jours. — d, 40 jours. — e, 50 jours. — f, mitose triploïde dans l'endosperme : 30 chromosomes, dont 3 satellitifères ($\times 1.500$).

Dans un fruit âgé de 55 jours, certains ovules ne possédaient encore qu'une cellule embryonnaire, tandis que dans d'autres, une première division avait eu lieu (photo 43); c'est donc à ce moment que l'œuf fécondé se divise pour la première fois, dans ce matériel.

Soixante jours après la pollinisation, l'embryon est pluricellulaire; c'est une petite sphère non différenciée d'un diamètre de 50 à 55 μ , logée au sommet du sac embryonnaire, dans un endosperme en voie de cloisonnement. La croissance de l'embryon est très lente au début; le 70^e jour, la sphère méristématique mesure seulement 65 μ (photo 25). Dix jours plus tard, elle mesure 140 μ et devient légèrement cordiforme; quelques cellules s'allongent du côté du micropyle et forment un suspenseur très court, tandis que la face opposée s'aplatit.

Nonante jours après la pollinisation, la longueur de l'embryon atteint 300 μ ; on observe l'ébauche des deux cotylédons d'un côté et une racicule très large et courte du côté du micropyle; les cylindres cortical et central y sont déjà visibles, séparés par un manchon de cellules plus petites. Les divisions cellulaires sont très nombreuses dans toutes ses parties et son développement est plus ou moins avancé suivant les ovules et ce, dans un même ovaire.

A ce moment, la croissance de l'embryon s'accélère; dix jours plus tard, sa longueur a décuplé (photo 29), il est blanchâtre, et nettement visible à l'œil nu. La racicule est globuleuse, longue et large de 1,2 mm; les cellules du cylindre central commencent à se vacuoliser et la coiffe à se différencier. Les cotylédons sont à ce stade des organes foliacés triangulaires, longs de 1,7 mm, accolés l'un à l'autre; ils possèdent quelques nervures longitudinales. Le méristème terminal, logé à la base des deux cotylédons, est large et plat. Comme au cours de tous les autres stades, l'ensemble de l'embryon reste plongé entièrement dans l'endosperme, qui s'accroît rapidement dans la partie supérieure du sac embryonnaire.

Après 110 jours, l'embryon remplit déjà presque complètement la graine. Les cotylédons forment des lobes nombreux et épais, enchevêtrés dans tout le sac embryonnaire. La racicule, longue d'environ 5 mm, est enveloppée par les lobes des cotylédons. L'endosperme persiste seulement dans les espaces laissés libres entre ces lobes.

Les cotylédons sont formés d'un tissu épais, parsemé de petits amas de cellules sécrétrices et parcouru par de nombreux faisceaux conducteurs. Les cellules sont isodiamétrales, vacuolisées et vivantes; dans certaines régions, elles contiennent de petits globules sphériques qui se colorent intensément.

Les cotylédons grandissent encore légèrement et deviennent violet foncé, en surface et en profondeur. Ils sont formés d'un tissu très méatique. Les cellules sont remplies de granulations très nombreuses; elles contiennent aussi des gouttelettes huileuses et des grains d'amidon.

L'embryon mûr possède une racicule longue de 7 mm environ et large de 2,5 mm. Son sommet très obtus est protégé par une coiffe bien marquée; les cylindres central et cortical sont distincts. Dans tous les tissus, les cellules contiennent des globules sphériques de dimensions très diverses. La plumule est réduite à un méristème large, avec quelques ébauches foliaires peu marquées. On n'observe aucune division cellulaire dans l'embryon. L'épiderme produit, sur l'hypocotyle et la base des cotylédons, de nombreux poils sécréteurs semblables à ceux qui existent sur les fleurs.

5. Synthèse.

Les courbes de croissance linéaire du fruit, de la graine et de l'embryon ont des caractéristiques bien distinctes (fig. 17). L'allongement de la cabosse est progressif et se poursuit à une allure plus ou moins rapide pendant la plus grande partie de son existence. La graine grandit d'abord lentement pendant une cinquantaine de jours, puis s'accroît rapidement et atteint sa taille maximum en septante jours environ. Quant à l'embryon, son développement est tardif et démarre très lentement; quand la croissance de la graine est terminée, l'embryon grandit brusquement, 20 à 30 jours suffisent aux cotylédons pour remplir la graine, mais il faut encore plus d'un mois pour leur différenciation complète.

L'organe le plus apparent dans l'ovule fécondé est le nucelle, qui forme un tissu nourricier assez important. Plus tard, il est absorbé par la croissance du sac embryonnaire et de l'endosperme qui ne forme jamais un tissu volumineux et permanent; sauf une couche périphérique toujours assez mince, l'endosperme se réduit à un massif en développement à l'extrémité micropylaire du sac embryonnaire.

L'endosperme entoure toujours complètement l'embryon, ses cellules externes se multiplient pour remplir le sac embryonnaire et elles sont détruites au fur et à mesure par la croissance rapide de l'embryon (photo 29). L'endosperme ne constitue pas, chez le cacaoyer, un tissu de réserve, mais plutôt un intermédiaire nécessaire à l'alimentation de l'embryon en croissance; il fournit à celui-ci les substances nutritives provenant du périsperme, qu'il digère, et du funicule et ce, à l'intervention du tissu conducteur situé à la base du nucelle. Dans la graine mûre, les réserves sont exclusivement localisées dans l'embryon, principalement dans les cotylédons, accessoirement dans la radicule.

La graine mûre est donc constituée essentiellement d'un embryon formé de deux cotylédons, d'une radicule et d'une plumule rudimentaire. Le spermodermis coriace provient des deux téguments desséchés; le tégument externe forme la fraction la plus importante de son épaisseur, tandis que l'interne se limite à une pellicule mince, peu distincte (photo 31).

La paroi de l'ovaire se différencie en un exocarpe ligneux; l'endocarpe, qui entoure les cavités, se gélifie autour des graines.

CHAPITRE III

ÉTUDE MICROSCOPIQUE DE L'INCOMPATIBILITÉ

§ 1. *Germination du pollen et croissance du tube pollinique.*

1. **Germination en milieu artificiel.**

L'hypothèse émise par des auteurs colombiens suivant laquelle une substance inhibitrice qui existe dans le gynécée des fleurs auto-incompatibles empêche le développement normal des tubes polliniques est basée sur des essais de germination du pollen sur milieu gélosé sucré.

La concentration de sucrose le plus souvent préconisée à Trinidad pour la germination du pollen de cacaoyer est de 5% [CHEESMAN, 1927; 1932; POUND, 1935; POSNETTE, 1940]. POUND [1932a] signale cependant que les tubes polliniques se développent très rapidement sur une solution contenant 10% de sucrose et 1,5% d'agar; la croissance est plus faible pour des concentrations plus fortes et plus faibles. En Indonésie, Vos [1948] obtient de bonnes germinations (40 à 80%) sur une solution de glucose à 4% avec 1,5% d'agar.

Plusieurs essais de germination du pollen sur des solutions sucrées à 5% ne nous ont donné que des résultats irréguliers et des pourcentages de germination médiocres. Le grand nombre de grains éclatés matérialise une pression osmotique trop basse.

Un autre essai compare des solutions plus concentrées, contenant 10, 12, 14 et 16 g de sucre de canne pour 100 cm³ d'eau distillée, ces quantités correspondent, en poids, à des concentrations de 9,0, 10,5, 12,0 et 14,0%. Ces solutions, gélifiées par 1,5% d'agar, ont été coulées en plaques de Pétri. Pour chaque concentration, on aensemencé du pollen de quatre fleurs et observé, de trois à quatre heures après l'ensemencement, un nombre variable (200 à 400) de grains de pollen sur chaque milieu. Les numérations ont donné les résultats suivants :

Sucre (%)	Grains germés (%)
9,0	70
10,5	76
12,0	79
14,0	80

La germination est donc rapide et les pourcentages de grains germés satisfaisants.

Dans l'expérience suivante, nous avons adopté une solution de saccharose à 13 % environ (15 g de sucre pour 100 cm³ d'eau) additionnée de 2 % d'agar.

La préparation du milieu contenant l'extrait de gynécée auto-incompatible est rapportée par PINEDA [1953] : elle consiste à bien triturer dans un vase, avec une baguette de verre, 10 mg de pistils (environ 15 gynécées); la substance inhibitrice est extraite par 10 cm³ d'eau à froid et à chaud; les extraits sont ensuite filtrés et mélangés au glucose-agar.

Nous inspirant de cette méthode, nous avons préparé chaque extrait avec 15 à 20 fleurs; les portions de gynécée susceptibles d'intervenir dans le blocage des tubes polliniques (stigmates, styles et sommet des ovaires au-dessus des ovules) sont enlevées, broyées dans une capsule au moyen d'une baguette en verre et mélangées à 5 cm³ d'eau. Ce liquide, avec les fragments de tissus qu'il contient, est ajouté au milieu sucré encore chaud. La concentration finale en sucre du milieu est de 13 % et l'extrait de gynécée y intervient pour 20 % environ.

Quatre milieux de culture différents sont comparés : un témoin, où l'extrait est remplacé par de l'eau distillée, une solution avec un extrait de fleurs autocompatibles (Forastero) et deux autres avec des extraits autoincompatibles : ce sont le clone E. 3609 Y.2, considéré comme fortement stérile et le clone E.1504 Y.1, qui l'est nettement moins.

Dans chacun de ces milieux, on a déposé du pollen de fleurs de ces trois mêmes clones (pollen qui provient chaque fois de trois fleurs). Trois à quatre heures après l'ensemencement, on a observé 100 à 200 grains de pollen dans chacun des douze lots pour déterminer les taux de germination et la longueur maximum atteinte par les tubes polliniques.

Il n'y a pas de différences importantes entre ces valeurs; tous les taux de germination sont élevés et les tubes polliniques atteignent des longueurs qui diffèrent peu. Dans ces douze lots de pollen, huit sont dans des conditions favorables à la germination, tandis que les quatre autres (pollen et gynécée autoincompatibles) doivent se trouver en présence de la substance inhibitrice, si toutefois celle-ci existe. En réalité, les huit premiers ont un taux moyen de germination de 86% et la longueur maximum des tubes polliniques oscille autour de 140 μ . Les quatre autres germent à 84% et les tubes atteignent environ 150 μ . Ces pourcentages et longueurs sont très voisins.

Les résultats sont les suivants :

Milieu de culture	Pollen (origine)	Taux de germination (%)	Longueur des tubes polliniques (μ)
1 ^o Milieu sucré + eau (témoin) . . .	Forastero	88	125
	E.3609 Y.2	80	150
	E.1504 Y.1	88	140
2 ^o Milieu sucré + gynécée Forastero .	Forastero	85	150
	E.3609 Y.2	84	150
	E.1504 Y.1	90	150
3 ^o Milieu sucré + gynécée E.3609 Y.2	Forastero	87	125
	E.3609 Y.2	82	180
	E.1504 Y.1	86	140
4 ^o Milieu sucré + gynécée E.1504 Y.1	Forastero	88	150
	E.3609 Y.2	80	150
	E.1504 Y.1	87	140

Très souvent, des grains de pollen se sont trouvés à proximité immédiate de fragments de gynécées, les uns et les autres provenant de fleurs autoincompatibles. Même dans ces cas, la germination et la croissance du pollen n'ont pas subi l'influence d'une substance inhibitrice éventuellement présente dans ce gynécée. Les conclusions de cette expérience sont donc en opposition avec les conclusions de NAUNDORF et de PINEDA et ne prouvent pas qu'il y a présence dans le style d'une substance capable d'arrêter la germination des tubes polliniques.

2. Germination et croissance *in vivo*.

Les résultats négatifs obtenus *in vitro* ne prouvent pas que le pollen peut croître normalement jusqu'à l'ovaire. Dans certaines plantes, comme *Nicotiana*, l'incompatibilité est due à la croissance trop lente des tubes polliniques dans le style; cependant, sur un milieu de culture artificiel, le développement des tubes est semblable qu'ils soient en présence de fragments de gynécées compatibles ou

incompatibles; dans les deux cas, ils sont légèrement stimulés [EAST et PARK, 1918].

Pour étudier le comportement du pollen après les pollinisations compatibles et incompatibles, on a réalisé des autopollinisations manuelles chez deux clones Forastero, F.320 Y.1 et F.10 Y.2 (autofertiles) et chez deux clones hybrides : E.1504 Y.1 (faiblement auto-incompatible) et E.2914 Y.1 (fortement autoincompatible). Des fleurs ont été prélevées après deux et six heures, et fixées dans un mélange d'alcool à 94° (trois parties) et d'acide acétique (une partie). Lors de l'examen microscopique des styles, on a utilisé des frottis au lactophénol, les tubes polliniques ont été colorés par la fuchsine acide.

L'observation des stigmates, deux heures après la pollinisation, ne révèle aucune différence entre les fleurs autocompatibles et incompatibles. Il est impossible d'estimer dans chaque cas le taux de grains de pollen germés, mais il est toujours très élevé (photos 32 et 33). Il est donc certain que l'autoincompatibilité n'est pas due à une inhibition de la germination du pollen sur le stigmate. On ne remarque pas non plus de différence dans la croissance des tubes polliniques; à ce moment, certains mesurent déjà plusieurs centaines de microns et ce, dans les fleurs des différents clones.

Les premières observations de POSNETTE, en 1938, montrent, qu'après une pollinisation incompatible, des tubes polliniques courts, renflés au sommet, croissent parfois de l'ovaire vers le style. Ces anomalies apparentes ne sont pas caractéristiques de l'incompatibilité, puisque nous les avons observées après des pollinisations compatibles (p. 24). En fait, le comportement des tubes polliniques sur le stigmate est identique dans les divers types de pollinisation, ces formes inhabituelles des tubes, peu après leur émission, ne prouvent pas qu'il y a présence d'une substance qui empêche leur croissance; ces renflements et ces coudes sont probablement provoqués par les obstacles mécaniques que rencontrent les tubes dans leur croissance à la surface des stigmates et vers le style. Quand ils ont atteint le tissu conducteur, puis le canal styloïde, ils sont en général réguliers et minces.

Six heures après la pollinisation, on retrouve beaucoup de tubes polliniques dans le style; leur croissance est plus ou moins rapide dans les différents échantillons de même origine. Dans beaucoup de fleurs, quelques extrémités de tubes sont visibles à la base du style, aussi bien chez les deux clones autoincompatibles que chez leurs homologues autofertiles. Ces observations montrent que les tubes polliniques sont parfaitement capables d'atteindre la base du style après pollinisation incompatible.

Dans un style autoincompatible, on a observé un tube pollinique tout à fait régulier, long de 300 μ , qui se dirige vers les stigmates, contrairement aux tubes voisins. On n'a pas remarqué d'anomalie aussi évidente dans des fleurs autocompatibles, bien que quelques tubes polliniques courts croissent d'une façon aberrante; il ne faut donc pas considérer cette observation unique comme caractéristique des pollinisations incompatibles.

Le nombre des tubes polliniques qui atteignent l'ovaire est peut-être moindre dans les fleurs autoincompatibles, mais il est impossible de s'en rendre compte; l'étude des tubes polliniques qui croissent parmi les cellules allongées du style est difficile; les extrémités arrivées à cet endroit sont seules visibles, tandis que les tubes qui sont déjà parvenus à l'ovaire passent inaperçus.

§ 2. Fécondation et développement des ovules.

La comparaison des deux catégories de cacaoyers et l'étude des phénomènes cytologiques liés à l'incompatibilité sont réalisées par l'examen microscopique de fleurs fixées après pollinisation manuelle. Les clones utilisés dans ce but sont considérés a priori comme autofertiles ou autostériles suivant les taux de nouaison et de fructification obtenus à la suite des pollinisations artificielles déjà réalisées. Les clones choisis comme typiquement autofertiles sont des Forastero (F.320 Y.1, F.2828 Y.4 et F.2519 Y.2). Les deux clones autostériles sont E.2914 Y.1 (fortement) et E.1504 Y.1 (faiblement).

Les ovaires sont étudiés après coloration à l'hématoxyline de coupes microtomiques longitudinales. Les fleurs où aucun ovule n'est fécondé sont éliminées. Dans les autres, nous avons observé séparément tous les ovules normalement constitués et entièrement compris dans la préparation; les observations qui suivent ne tiennent donc pas compte des ovules dont le sac embryonnaire ne s'est pas différencié, ni de ceux qui ont été détruits lors des manipulations. Dans la mesure du possible, nous avons étudié, pour chaque combinaison, plusieurs fleurs prélevées un à six jours après la pollinisation. Pour certains croisements cependant, les échantillons sont moins nombreux que pour les autopollinisations et ils sont limités à quelques stades caractéristiques.

1. Clones autofertiles.

a. *Autopollinisation.*

UN JOUR.

Les deux fleurs prélevées 24 heures après le dépôt du pollen ont respectivement 34 et 45 ovules fécondés sur 40 et 48.

La fécondation est récente et n'est pas toujours complète. Souvent, le tube pollinique est entré dans la synergide, mais les noyaux mâles ne sont pas encore émis; ailleurs, les gamètes mâles sont visibles, ils sont proches des noyaux femelles, mais n'y sont pas fusionnés. La fusion, partielle ou totale, est réalisée dans d'autres ovules.

DEUX JOURS.

Dans les trois fleurs examinées, on compte :

39 ovules fécondés sur 39 viables;
29 sur 41; 38 sur 39.

Dans presque tous les ovules, la syngamie est complète; beaucoup plus rarement, la fusion de l'oosphère et du gamète mâle n'est que partielle. Dans un ou deux ovules par fleur seulement, les deux noyaux sont encore accolés. La caryogamie est un peu plus tardive pour les noyaux polaires, mais le second gamète mâle est presque toujours gonflé et partiellement soudé aux autres. Aucun sac embryonnaire ne contient plus d'un noyau triploïde.

TROIS JOURS.

Ovules fécondés : 38 sur 39; 38 sur 38; 38 sur 38.

La syngamie est complète dans tous les ovules; aucun gamète mâle n'est visible à proximité de l'oosphère ou des noyaux polaires. Le noyau endospermique s'est divisé une première fois dans beaucoup d'ovules; la seconde mitose triploïde est exceptionnelle à ce stade.

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique . .	9	14	17	40	35
2 noyaux endospermiques .	28	24	21	73	64
4 noyaux endospermiques .	1	—	—	1	1

Pour ces trois fleurs, le nombre moyen de noyaux endospermiques par ovule fécondé est de 1,67.

QUATRE JOURS.

Trois fleurs étudiées, avec 23, 40 et 42 ovules fécondés et aucun ovule non fécondé.

Le noyau endospermique s'est divisé une ou deux fois dans beaucoup d'ovules :

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique . .	5	10	18	33	31
2 noyaux endospermiques .	14	30	24	68	65
4 noyaux endospermiques .	4	—	—	4	4

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule fécondé : 1,76.

CINQ JOURS.

39 ovules fécondés sur 40; 20 sur 40; 38 sur 38.

On observe à ce stade un accroissement des ovules et une multiplication plus ou moins rapide du nombre des noyaux endospermiques; les ovules avec un seul noyau triploïde deviennent rares :

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique . .	6	—	—	6	6
2 noyaux endospermiques .	30	12	24	66	70
4 noyaux endospermiques .	1	8	14	23	24

Il y a en moyenne 2,41 noyaux triploïdes par ovule fécondé.

SIX JOURS.

38 ovules fécondés sur 40; 40 ovules fécondés sur 41.

Les ovules s'accroissent rapidement; les noyaux endospermiques ont généralement subi leur deuxième mitose et parfois même une troisième.

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	—	—	—	—
2 noyaux endospermiques	2	3	5	6
4 noyaux endospermiques	25	37	62	80
8 noyaux endospermiques	11	—	11	14

Le nombre moyen de noyaux triploïdes est de 4,44.

b. *Croisement.*

UN JOUR.

45 ovules fécondés sur 48.

Les fusions nucléaires sont complètes dans plus de la moitié des ovules; dans d'autres, les gamètes mâles n'ont pas encore été émis ou sont accolés aux noyaux femelles.

DEUX JOURS.

46 ovules fécondés sur 48.

La fusion est complète dans 44 ovules et dans les deux autres les noyaux sont accolés. Le noyau central triploïde est formé mais ne s'est pas divisé.

TROIS JOURS.

39 ovules fécondés sur 40;
44 sur 47.

Dans tous ces ovules, les deux fusions nucléaires sont terminées. Le noyau triploïde s'est souvent divisé une première fois.

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	10	14	24	29
2 noyaux endospermiques	29	30	59	71

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule : 1,71.

CINQ JOURS.

44 ovules fécondés sur 45;
45 sur 47.

Le noyau triploïde a le plus souvent subi une ou deux divisions.

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	1	10	11	11
2 noyaux endospermiques	19	21	40	41
4 noyaux endospermiques	24	14	38	38

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule : 2,46.

2. Clones autostériles.

a. Clone faiblement autostérile (E.1504 Y.1).

DEUX JOURS.

Nombres d'ovules fécondés par fleur :

44 sur 44; 38 sur 40; 48 sur 48.

Dans beaucoup d'ovules fécondés (atteints par le tube pollinique), il n'y a pas de trace des noyaux mâles; il est probable qu'assez souvent, ils n'ont pas été émis dans le sac embryonnaire. Dans d'autres ovules, la fécondation atteint un stade plus avancé et elle peut être complète.

Dans chaque fleur, le zygote est normalement formé dans un certain nombre d'ovules. Le plus souvent, il est accompagné d'un noyau endospermique; plus rarement, le deuxième gamète mâle reste visible et ne se fusionne pas avec les noyaux polaires; parfois aussi, il n'est pas possible d'identifier l'ensemble du contenu nucléaire de l'ovule.

Chez un grand nombre d'ovules, le petit noyau mâle reste accolé à celui de l'oosphère et ne présente aucune modification. Dans ces ovules, les noyaux polaires ne sont pas non plus fécondés.

Le noyau endospermique est parfois complètement formé; plus souvent, les noyaux qui le composent ne sont pas totalement confondus, bien que les trois nucléoles soient visibles et de taille comparable. Dans d'autres ovules, le deuxième gamète mâle est accolé aux deux noyaux polaires et conserve sa structure typique.

Voici, pour chaque fleur examinée, le nombre d'ovules de chacun de ces types :

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	Total
1. Zygote	4	7	5	16
— et noyau endospermique	3	3	4	10
— et noyaux polaires	—	1	1	2
2. Noyaux mâle et femelle	6	11	9	26
— et noyau endospermique	—	—	—	—
— et noyaux polaires	2	9	5	16
3. Un noyau endospermique	7	8	11	26
4. Noyaux polaires et gamète mâle .	10	11	7	28

TROIS JOURS.

Ovules fécondés : 27 sur 44; 9 sur 46; 4 sur 42.

Les fleurs sont assez semblables à celles de deux jours. Alors que chez le clone autofertile, les fusions nucléaires sont toujours complètes à ce stade, on retrouve ici un nombre important d'ovules où l'un ou les deux gamètes restent visibles dans le sac embryonnaire. Dans certains ovules, la seule trace de fécondation observée est l'obscurcissement d'une synergide par le tube pollinique. La fécondation peut donc être bloquée dès ce premier stade, et les gamètes mâles ne sont pas toujours émis dans le sac embryonnaire, trois jours après la pollinisation. Dans une fleur, on a observé un seul ovule où la syngamie n'a pas eu lieu, bien que le noyau endospermique soit normalement formé.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	Total
1. Zygote	2	—	2	4
— et noyau endospermique . . .	—	—	2	2
— et noyaux polaires	1	—	—	1
2. Noyaux mâle et femelle	16	4	2	22
— et noyau endospermique . . .	1	—	—	1
— et noyaux polaires	14	4	—	18
3. Un (ou 2) noyau endospermique . .	2	—	2	4
4. Noyaux polaires et gamète mâle . .	14	4	—	18

Dans la troisième fleur, le noyau triploïde s'est divisé une seule fois dans les deux ovules qui possèdent des noyaux triploïdes.

QUATRE JOURS.

Ovules fécondés : 47 sur 47; 42 sur 45; 44 sur 48;
39 sur 42; 2 sur 45.

Sauf dans la dernière fleur, la plupart des ovules sont atteints par un tube pollinique, mais chez beaucoup (22 chez la première fleur, 27 chez la deuxième), le développement est nul et l'on n'observe aucune autre trace de la fécondation. Il est probable que, dans la plupart de ces ovules, la fécondation reste bloquée à son stade initial; parfois peut-être, les gamètes mâles ont été émis, mais passent inaperçus.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	Total
1. Zygote	10	8	11	6	35
— et noyau endospermique	9	3	11	6	29
— et noyaux polaires . . .	1	4	—	—	5
2. Noyaux mâle et femelle . .	3	5	22	7	37
— et noyau endospermique	—	—	—	—	—
— et noyaux polaires . . .	3	5	18	2	28
3. Un (ou des) noyau endosp.	15	5	26	37	83
4. Noyaux polaires et gamète mâle	10	5	18	2	35

Le noyau endospermique s'est souvent divisé une et même deux fois :

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	14	5	1	4	24	29
2 noyaux endospermiques	1	—	25	30	56	67
4 noyaux endospermiques	—	—	—	3	3	4

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule complètement fécondé : 1,93.

CINQ JOURS.

Les quarante-trois ovules de la première fleur sont fécondés; dans l'un d'eux, la syngamie n'est pas faite, mais le noyau endospermique s'est formé et s'est divisé deux fois.

Dans la deuxième fleur, deux des quarante-trois ovules n'ont pas été atteints par un tube pollinique; quatre ovules fécondés sont dégénérés, deux possédaient déjà deux noyaux endospermiques et un autre, quatre. Dans deux ovules voisins, le sac embryonnaire contient un gamète mâle accolé à l'oosphère et quelques noyaux sphériques (respectivement cinq et six), avec un nucléole normal et souvent un autre plus petit; ces noyaux, moins volumineux et nettement distincts de ceux de l'endosperme, sont peut-être haploïdes ou diploïdes (fig. 29).

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	9	3	12
— et noyau endospermique	9	3	12
— et noyaux polaires	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	5	5	10
— et noyau endospermique	1	—	1
— et noyaux polaires.	2	3	5
3. Des noyaux endospermiques	32	35	67
4. Noyaux polaires et gamète mâle	4	3	7

Le développement du sac embryonnaire est généralement important :

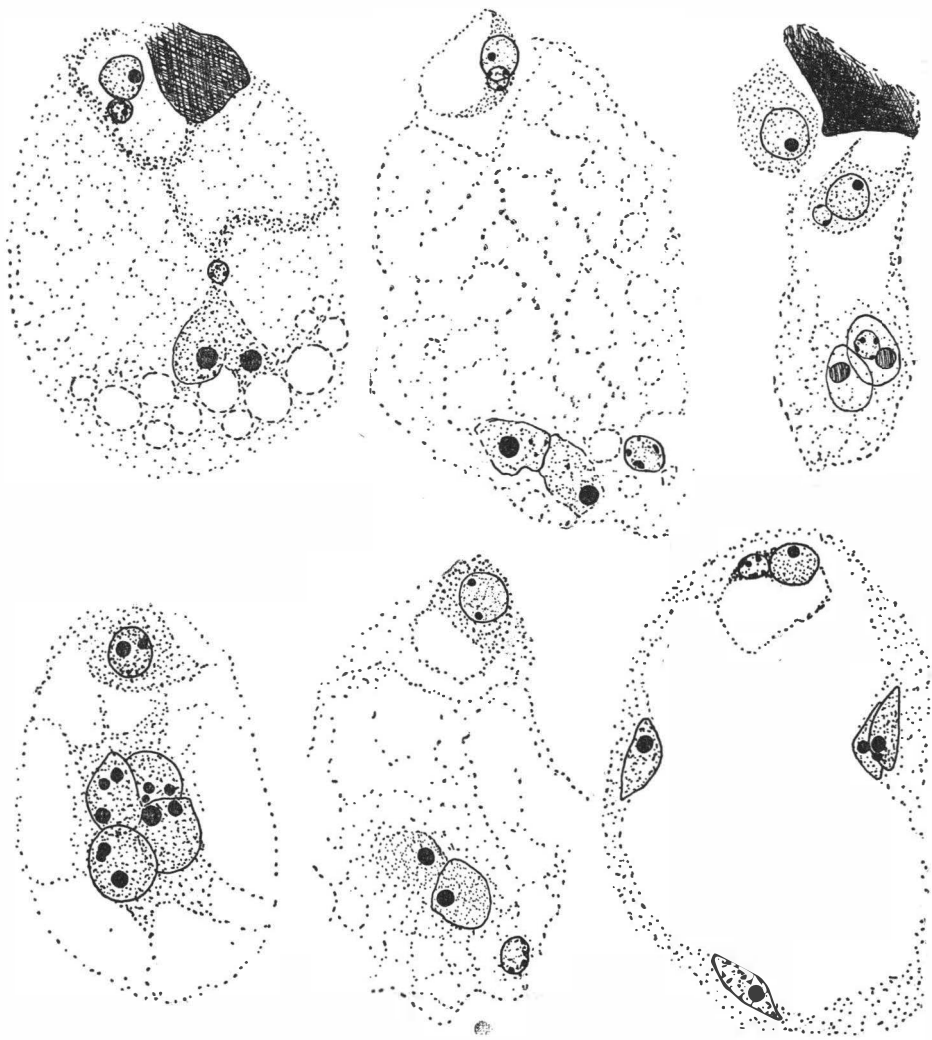
Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	1	—	1	2
2 noyaux endospermiques	9	4	13	19
4 noyaux endospermiques	22	26	48	72
8 noyaux endospermiques	—	5	5	7

Nombre moyen de noyaux triploïdes : 3,87.

SIX JOURS.

La première fleur examinée compte cinquante ovules; trente-quatre de ceux-ci sont complètement dégénérés; le contenu du sac embryonnaire a totalement disparu ou s'est réduit à très peu de chose. La plupart des ovules semblent n'avoir pas été fécondés; plusieurs cependant gardent la trace du tube pollinique et quelques noyaux spermatiques s'observent encore. Quatre autres ovules se sont notablement accrus, mais ils sont aussi plus ou moins dégénérés; leur sac embryonnaire est vide ou contient un ou deux noyaux mâles et des débris de noyaux femelles. Douze ovules seulement sont normaux et bien développés; dans dix d'entre eux, un zygote est visible.

Sur quarante-neuf ovules dénombrés dans une seconde fleur, quatorze sont détruits; dans au moins dix de ceux-ci, la fécondation a atteint un stade plus ou moins avancé car des noyaux mâles et femelles accolés s'observent dans trois ovules, et un quatrième possède deux noyaux endospermiques. Trente-cinq ovules restent vivants, et dans six d'entre eux, nous avons observé un zygote.



Manifestations cytotiques de l'incompatibilité dans le sac embryonnaire.

Fig. 20-21-22; absence de fusions nucléaires. — 23; agglomération des noyaux endospermiques. — 24; caryogamie limitée à l'oosphère. — 25; développement de l'endosperme en l'absence de syngamie ($\times 1.000$).

Dans les deux fleurs, la plupart des ovules normaux possèdent déjà quatre noyaux endospermiques :

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	1	1	2	5
2 noyaux endospermiques	2	9	11	23
4 noyaux endospermiques	9	25	34	72

Le nombre moyen de noyaux endospermiques par ovule atteint 3,36.

b. *Clone fortement autostérile* (E.2914 Y.1).

DEUX JOURS.

Dix ovules sont fécondés sur 44 présents dans la fleur. La fécondation est très peu avancée; dans la plupart des ovules, on n'observe pas de noyaux spermatiques, mais seulement le tube pollinique dans la synergide.

TROIS JOURS.

Peu d'ovules sont fécondés dans les fleurs étudiées :

4 sur 40; 3 sur 38; 3 sur 49;

1 sur 45; 37 sur 45.

Dans les quatre premières fleurs, la fécondation se limite à la pénétration du tube pollinique dans le sac embryonnaire. Dans la cinquième s'observent aussi quelques ovules où la fécondation est bloquée à ce premier stade, mais le développement du sac embryonnaire est généralement plus important. Dans cette fleur, on a observé :

Nombre d'ovules contenant	
1. Zygote	19
— et noyau endospermique	13
— et noyaux polaires	4
2. Noyaux mâle et femelle	5
— et noyau endospermique	—
— et noyaux polaires	4
3. Un (ou deux) noyau endospermique	24
4. Noyaux polaires et gamète mâle	8

La moitié des noyaux triploïdes se sont divisés une seule fois.

QUATRE JOURS.

Nombres d'ovules fécondés :

6 sur 39; 33 sur 35; 13 sur 47;

4 sur 44; 21 sur 39; 38 sur 43.

Dans tous les ovules fécondés de la première fleur et dans treize de la deuxième, la fécondation ne dépasse pas le premier stade et le sac embryonnaire n'extériorise aucune croissance. Beaucoup d'ovules ont un développement plus important dans les quatre autres fleurs. La fusion des trois noyaux haploïdes en un noyau endospermique est parfois incomplètement réalisée. Ce noyau est cependant formé dans un nombre variable de sacs embryonnaires et s'est souvent divisé au moins une fois :

Nombre d'ovules contenant	2 ^e fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	5 ^e fleur	6 ^e fleur	Total
1. Zygote	10	5	1	4	9	29
— et noyau endosperm.	7	4	1	4	9	25
— et noyaux polaires .	3	1	—	—	—	4
2. Noyaux mâle et femelle	5	1	—	2	9	17
— et noyau endosperm.	—	—	—	—	1	1
— et noyaux polaires .	4	—	—	2	6	12
3. Un (ou plusieurs) noyau endospermique . .	9	4	3	12	17	45
4. Noyaux polaires et gamète mâle	6	1	—	4	11	22

Nombre d'ovules contenant	2 ^e fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	5 ^e fleur	6 ^e fleur	Total	%
1 noyau endosp.	8	2	—	1	6	17	38
2 noyaux endosp.	1	2	2	10	11	26	58
4 noyaux endosp.	—	—	1	1	—	2	4

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule fécondé : 1,71.

CINQ JOURS.

Douze ovules sur 48 sont fécondés; ils ne sont pratiquement pas développés et plusieurs sont restés au premier stade. Quand les gamètes ne sont pas fusionnés, les noyaux mâles restent turgescents et conservent un aspect vivant, tandis que le contour des noyaux femelles (polaires et oosphère) devient irrégulier et peu distinct et que leur nucléole se colore faiblement. Dans un cas, la fécondation est bloquée après le gonflement des noyaux mâles, mais avant leur fusion totale. Les trois noyaux endospermiques ne se sont pas encore divisés.

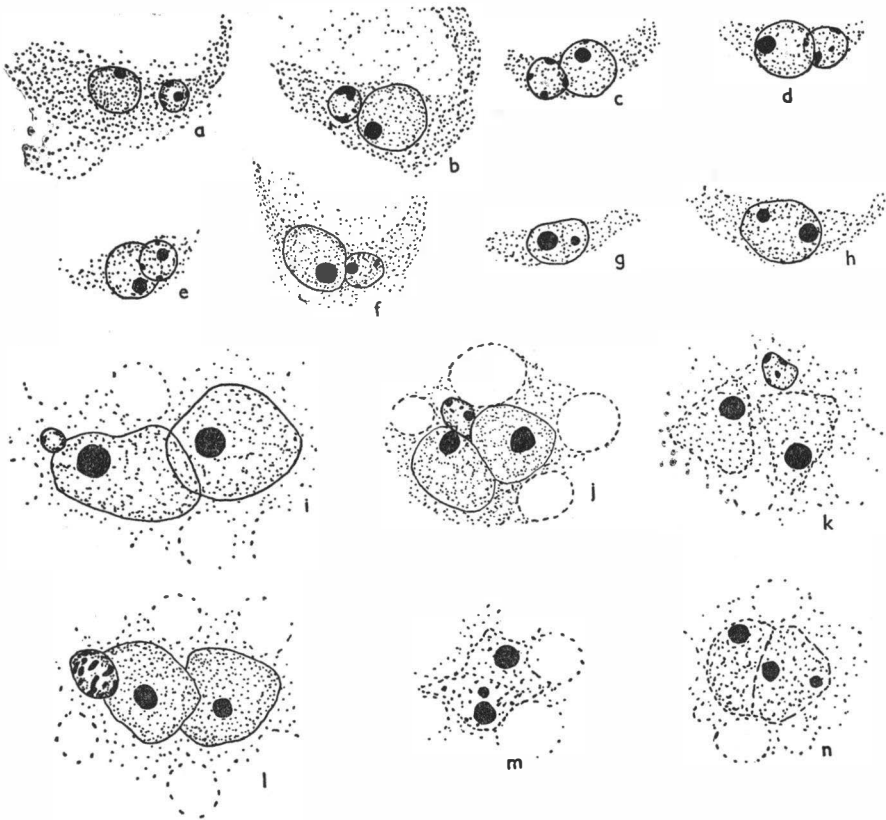


Fig. 26. — Évolution des noyaux après pollinisations incompatibles. — Noyau de l'oosphère et gamète mâle non modifiés (a, b). — Gonflement partiel du noyau mâle (c, d). — Apparition d'un nucléole dans le noyau mâle (e, f). — Syngamie presque complète (g). — Zygote normal (h). — Noyau mâle accolé aux noyaux polaires (i, j). — Dégénérescence des polaires (k). — Gamète mâle d'aspect particulier (l). — Noyau triploïde incomplètement formé (m, n) ($\times 1.500$).

Nombre d'ovules contenant	
1. Zygote	5
— et noyau endospermique	3
— et noyaux polaires	1
2. Noyaux mâle et femelle	2
— et noyau endospermique	—
— et noyaux polaires	2
3. Un noyau endospermique	3
4. Noyaux polaires et gamète mâle	3

SIX JOURS.

Dans une première fleur, les 41 ovules sont morts; la fécondation n'a généralement pas eu lieu, bien que des traces de tubes polliniques s'observent dans quelques synergides. Deux noyaux endospermiques trinuéolé se sont formés et ne se sont pas divisés.

Dans une autre fleur, 21 des 41 ovules sont probablement fécondés, mais ils ne se sont pas développés; beaucoup sont partiellement détruits. Quelques mitoses s'observent cependant encore dans le nucelle et le tégument interne de quelques ovules, fécondés ou non.

Des quarante-deux ovules de la troisième fleur examinée, treize sont détruits : cinq au moins ont été fécondés et l'un d'eux compte déjà quatre noyaux triploïdes. Un autre ovule reste plus ou moins vivant, mais son sac embryonnaire est vide. Parmi les 28 derniers ovules, trois montrent un zygote et le noyau endospermique présent s'est divisé au moins une fois :

- 2 ovules ont un noyau triploïde;
- 7 ont deux noyaux triploïdes;
- 19 ont quatre noyaux triploïdes.

Nombre moyen de noyaux endospermiques par ovule fécondé et vivant : 3,29.

c. *Croisement entre clones faiblement et fortement autostériles*
(E.1504 Y.1 × E.2914 Y.1).

UN JOUR.

Quarante-quatre ovules fécondés sur 49. Suivant les ovules, les fusions nucléaires sont complètes ou les noyaux sont encore accolés; parfois, les gamètes mâles ne sont pas sortis du tube pollinique.

DEUX JOURS.

36 ovules fécondés sur 45; 39 sur 42.

Dans certains ovules, l'oosphère est accompagnée d'un gamète mâle; dans d'autres, la fusion est plus ou moins complète. Les noyaux polaires peuvent être accompagnés d'un deuxième gamète mâle; le noyau endospermique est parfois complètement formé, mais le plus souvent, la fusion des trois noyaux haploïdes est incomplète, bien que les trois nucléoles aient plus ou moins la même taille.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	5	5	10
— et noyau endospermique	3	2	5
— et noyaux polaires	1	1	2
2. Noyaux mâle et femelle	7	6	13
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	5	5	10
3. Un noyau endospermique	7	9	16
4. Noyaux polaires et gamète mâle . . .	7	7	14

QUATRE JOURS.

Ovules fécondés : 27 sur 31; 35 sur 45; 14 sur 42.

Dans deux fleurs, la fécondation ne dépasse généralement pas le stade de la pénétration du tube pollinique; on observe cependant quelques zygotes, certains possèdent un nucléole normal et un autre anormalement petit. Dans la troisième fleur, la syngamie est réalisée dans trois ovules au moins; trois noyaux endospermiques se sont formés et l'un d'eux s'est divisé une seule fois :

Nombre d'ovules contenant	
1. Zygote	3
— et noyau endospermique	2
— et noyaux polaires	1
2. Noyaux mâle et femelle	2
— et noyau endospermique	—
— et noyaux polaires	2
3. Un (ou deux) noyau endospermique	3
4. Noyaux polaires et gamète mâle	3

CINQ JOURS.

Ovules fécondés : 38 sur 40; 39 sur 44; 8 sur 26.

Quand la fécondation est complète, les ovules sont vivants et leur taille s'est accrue. Si les deux noyaux mâles ne sont pas fusionnés, l'ovule peut être bien développé, à peu près autant que les voisins lorsque ceux-ci sont entièrement fécondés. La fusion des noyaux triploïdes est parfois encore incomplète. Certains ovules fécondés commencent à dégénérer.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	1	3	4
— et noyau endospermique	1	3	4
— et noyaux polaires	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	2	5	7
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	2	2	4
3. Un (ou deux) noyau endospermique .	3	5	8
4. Noyaux polaires et gamète mâle . . .	2	2	4

Le noyau endospermique s'est divisé dans deux ovules de la première fleur.

SIX JOURS.

Le nombre d'ovules fécondés varie beaucoup parmi les neuf fleurs examinées :

30 sur 48;	34 sur 45;	41 sur 43;
7 sur 42;	10 sur 45;	44 sur 46;
36 sur 45;	9 sur 44;	36 sur 46.

Dans la deuxième et dans la cinquième fleur, les ovules fécondés ne s'accroissent pas. Le développement est meilleur, mais variable, dans les autres fleurs, où le noyau endospermique, quand il est formé, s'est souvent divisé une ou deux fois. Presque toujours, quelques ovules atteints par le tube pollinique ne se sont pourtant pas accrus, les noyaux spermatiques n'ont pas été émis ou ne se distinguent pas.

Ces ovules sont au nombre de neuf, sept et cinq, respectivement pour les trois dernières fleurs.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	5 ^e fleur	6 ^e fleur	7 ^e fleur	8 ^e fleur	9 ^e fleur	To- tal
1. Zygote	4	—	8	8	2	6	14	9	12	63
— et noyau endosp. .	4	—	8	8	1	6	13	8	9	57
— et noyaux polaires.	—	—	—	—	1	—	1	—	2	4
2. Noyaux libres	2	1	4	3	1	4	7	11	7	40
— et noyaux endosp. .	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1
— et noyaux polaires	2	1	2	3	1	4	6	9	6	34
3. Noyaux triploïdes . .	14	—	19	26	3	7	19	22	15	125
4. Noyaux polaires et mâle	2	1	2	3	2	4	7	11	8	40

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	6 ^e fleur	7 ^e fleur	8 ^e fleur	9 ^e fleur	To- tal	%
1 noyau endospermique . . .	4	3	4	—	12	14	10	47	38
2 noyaux endospermiques . .	8	17	17	1	7	8	5	63	51
4 noyaux endospermiques . .	2	—	5	6	—	—	—	13	11

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule complètement fécondé : 1,83.

A côté d'ovules normalement turgescents, d'autres, en nombre variable, sont partiellement dégénérés; bien que fécondés (ils possèdent un zygote et un sac embryonnaire gonflé qui contient souvent deux noyaux endospermiques), ils sont contractés, le nucelle et les téguments s'affaissent dans le sac embryonnaire. Certains ont une forme régulière, mais le cytoplasme du sac embryonnaire se contracte et son contenu nucléaire est peu coloré. D'autres ovules encore ont un développement presque identique et présentent des traces de fécondation; parfois, on voit encore des noyaux non fusionnés, bien colorés ou plus ou moins détruits. Ailleurs, le sac embryonnaire est vide, les ovules sont alors probablement imparfaitement fécondés et leurs noyaux ont disparu. Le nucelle et les téguments sont en général desséchés et contractés; parfois aussi, l'ovule semble extérieurement normal, bien qu'il contienne des noyaux non fusionnés ou que le contenu du sac embryonnaire soit détruit.

Un sac embryonnaire contient d'une part un gamète mâle accolé à l'œuf et, d'autre part, quatre noyaux endospermiques (fig. 25), trois de ceux-ci ont un seul nucléole volumineux, l'autre est binucléolé; tous sont aplatis dans le cytoplasme pariétal et leur vitalité semble réduite.

Enfin, nous avons observé un sac embryonnaire double, fécondé par un tube pollinique vraisemblablement unique (fig. 28). Le premier gamète mâle s'est uni à l'une des oosphères pour constituer un zygote binucléolé, tandis que le deuxième est resté accolé au noyau de l'autre oosphère. Quant aux deux paires de noyaux polaires, elles n'ont reçu aucun élément mâle.

d. *Croisement entre clones fortement et faiblement autostériles*
(E.2914 Y.1 × E.1504 Y.1).

UN JOUR.

Ovules fécondés : 26 sur 36; 43 sur 47; 8 sur 42.

Les noyaux mâles ne sont pas visibles, ou ils sont accolés aux noyaux femelles. Dans la deuxième fleur seulement, on observe quelques fusions nucléaires (zygote et endosperme).

DEUX JOURS.

Ovules fécondés : 17 sur 40; 40 sur 47.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	1	4	5
— et noyau endospermique	1	3	4
— et noyaux polaires	—	1	1
2. Noyaux mâle et femelle	7	5	12
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	2	3	5
3. Un noyau endospermique	3	5	8
4. Noyaux polaires et gamète mâle . . .	6	4	10

Les mitoses somatiques (nucelle et téguments) se poursuivent, non seulement dans les ovules où la fécondation est complète, mais aussi dans ceux où les noyaux restent accolés.

La fusion du noyau triploïde est généralement incomplète. Les oosphères fécondées ont parfois un nucléole normal et un autre très petit.

TROIS JOURS.

Quinze ovules fécondés sur 45.

Nombre d'ovules contenant	
1. Zygote	8
— et noyau endospermique.	8
— et noyaux polaires	—
2. Noyaux mâle et femelle	2
— et noyau endospermique.	—
— et noyaux polaires	2
3. Un (ou deux) noyau endospermique.	13
4. Noyaux polaires et gamète mâle	2

Le noyau endospermique s'est divisé une fois dans sept ovules.

Les ovules où les deux noyaux mâles sont accolés aux noyaux femelles sont pratiquement aussi développés que ceux dont la fécondation est complète.

QUATRE JOURS.

Ovules fécondés : 3 sur 49; 34 sur 43.

Dans la deuxième fleur, la fécondation est souvent complète, mais le noyau triploïde ne s'est pas divisé.

Nombre d'ovules contenant	
1. Zygote	8
— et noyau endospermique.	7
— et noyaux polaires	—
2. Noyaux mâle et femelle	5
— et noyau endospermique.	—
— et noyaux polaires	5
3. Un noyau endospermique	13
4. Noyaux polaires et gamète mâle	5

CINQ JOURS.

Ovules fécondés : 36 sur 41; 7 sur 43.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	2	—	2
— et noyau endospermique	2	—	2
— et noyaux polaires	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	7	1	8
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	6	1	7
3. Un noyau endospermique	5	2	7
4. Noyaux polaires et gamète mâle . . .	8	1	9

Le noyau triploïde ne s'est divisé dans aucun ovule.

SIX JOURS.

Ovules fécondés : 40 sur 44; 18 sur 44.

Les quelques ovules restés au premier stade de fécondation sont dégénérés. Quand les deux gamètes mâles sont visibles, l'ovule s'est accru comme après fusion nucléaire complète et multiplication de l'endosperme, et il ne présente pas plus de signe de dégénérescence (l'ensemble de l'ovaire et tous les ovules commencent à se dessécher).

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	31	6	37
— et noyau endospermique	30	6	36
— et noyaux polaires	1	—	1
2. Noyaux mâle et femelle	9	5	14
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	8	5	13
3. Un (ou deux) noyau endospermique	31	11	42
4. Noyaux polaires et gamète mâle . . .	9	5	14

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	2	—	2	5
2 noyaux endospermiques	15	3	18	44
4 noyaux endospermiques	13	8	21	51

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule entièrement fécondé : 2,98.

3. Croisements entre clones autofertiles et autostériles.

a. *Croisement* E.2519 Y.2 × E.2914 Y.1.

UN JOUR.

43 ovules fécondés sur 44; 38 sur 39.

La double fécondation est souvent réalisée.

DEUX JOURS.

44 ovules fécondés sur 47; 37 sur 42.

La fécondation est terminée : on n'observe aucun noyau mâle accolé à celui de l'oosphère.

TROIS JOURS.

Ovules fécondés : 45 sur 47; 40 sur 40; 29 sur 41;
35 sur 39; 37 sur 40; 17 sur 35; 39 sur 40.

La fécondation est complète et les fusions sont terminées dans tous les ovules.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	5 ^e fleur	6 ^e fleur	7 ^e fleur	Total
1. Zygote	13	14	17	14	20	8	24	110
— et noyau endospermique . .	13	14	16	11	16	7	22	99
— et noyaux polaires	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	—	—	—	—	—	—	—	—
— et noyau endospermique . .	—	—	—	—	—	—	—	—
— et noyaux polaires	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Un (ou des) noyau endosperm. .	45	40	28	32	28	8	37	218
4. Noyaux polaires et gamète mâle.	—	—	—	—	—	—	—	—

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	4 ^e fleur	5 ^e fleur	6 ^e fleur	7 ^e fleur	To- tal	%
1 noyau endospermique	44	12	13	14	26	8	37	154	71
2 noyaux endospermiques	1	28	15	18	2	—	—	64	29

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule : 1,30.

QUATRE JOURS.

26 ovules fécondés, 9 non fécondés;

36 ovules fécondés, 2 non fécondés.

Les fusions restent incomplètes dans plusieurs ovules.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote.	7	10	17
— et noyau endospermique	5	7	12
— et noyaux polaires	1	1	2
2. Noyaux mâle et femelle	6	9	15
— et noyaux endospermiques.	—	—	—
— et noyaux polaires	5	9	14
3. Noyau endospermique	12	14	26
4. Noyaux polaires et gamète mâle	8	13	21

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	11	13	24	93
2 noyaux endospermiques	1	1	2	7

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule fécondé : 1,08.

CINQ JOURS.

32 ovules fécondés sur 48;

39 ovules fécondés sur 40.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	10	9	19
— et noyau endospermique	10	9	19
— et noyaux polaires	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	3	—	3
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	3	—	3
3. Noyaux endospermiques	28	38	66
4. Noyaux polaires et gamète mâle . .	3	—	3

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	4	1	5	8
2 noyaux endospermiques	13	7	20	30
4 noyaux endospermiques	11	30	41	62

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule : 3,17.

SIX JOURS.

Parmi 31 ovules examinés, 30 sont fécondés; on n'observe pas de noyaux non fusionnés. Dans 19 ovules, le zygote est visible, et dans 27 on a trouvé au moins un noyau endospermique; celui-ci s'est divisé une fois dans 22 ovules, deux fois dans un seul. Il y a en moyenne 1,93 noyaux triploïdes par ovule.

b. *Croisement* F.320 Y.1 × E.2914 Y.1.

TROIS JOURS.

39 ovules fécondés sur 40; 36 sur 39.

Les fusions nucléaires sont complètes dans tous les ovules observés : aucun gamète mâle ne persiste. Les noyaux endospermiques ne se sont pas encore divisés.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	14	17	31
— et noyau endospermique	10	14	24
— et noyaux polaires	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	—	—	—
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	—	—	—
3. Un noyau endospermique	22	26	48
4. Noyaux polaires et gamète mâle . . .	—	—	—

c. *Croisement* F.320 Y.1 × E.1504 Y.1.

TROIS JOURS.

Les deux fleurs étudiées possèdent respectivement 38 et 41 ovules, qui sont tous fécondés. Les fusions nucléaires ne sont pas toujours complètes; le noyau endospermique est toujours unique.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	11	6	17
— et noyau endospermique	7	4	11
— et noyaux polaires	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	3	1	4
— et noyaux polaires	2	—	2
— et noyau endospermique	1	—	1
3. Un noyau endospermique	27	9	36
4. Noyaux polaires et gamète mâle . . .	2	2	4

d. *Croisement* E.1504 Y.1 × F.2519 Y.2.

TROIS JOURS.

Deux fleurs sont étudiées; elles comptent 43 et 41 ovules, qui sont tous fécondés.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	21	18	39
— et noyau endospermique	19	15	34
— et noyaux polaires	1	—	1
2. Noyau mâle et femelle	10	6	16
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	9	4	13
3. Un (ou deux) noyau endospermique .	28	23	51
4. Noyaux polaires et gamète mâle . .	11	8	19

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	13	22	35	69
2 noyaux endospermiques	15	1	16	31

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule fécondé : 1,31.

e. *Croisement* E.1504 Y.1 × F.320 Y.1.

UN JOUR.

46 ovules fécondés sur 50; la fécondation n'est pas terminée.

TROIS JOURS.

36 ovules fécondés sur 39; 37 sur 39.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	16	11	27
— et noyau endospermique	15	9	24
— et noyaux polaires	—	1	1
2. Noyaux mâle et femelle	9	10	19
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	8	9	17
3. Un (ou des) noyau endospermique .	25	22	47
4. Noyaux polaires et gamète mâle . .	9	11	20

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	16	9	25	53
2 noyaux endospermiques	9	13	22	47

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule : 1,47.

QUATRE JOURS.

39 ovules fécondés sur 43; 33 sur 34; 38 sur 42.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	Total
1. Zygote	4	5	7	16
— et noyau endospermique	4	5	4	13
— et noyaux polaires	—	—	—	—
2. Gamètes mâle et femelle	5	2	12	19
— et noyau endospermique	—	—	—	—
— et noyaux polaires	5	1	9	15
3. Noyaux endospermiques	28	29	26	83
4. Noyaux polaires et gamète mâle. .	11	1	9	21

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	3 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique .	7	2	3	12	15
2 noyaux endospermiques .	16	7	8	31	37
4 noyaux endospermiques .	5	20	15	40	48

Nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule fécondé : 2,82.

CINQ JOURS.

Dans une première fleur, 40 ovules sur 48 sont fécondés, sept sont dégénérés, quatre ont un sac embryonnaire vide, deux autres contiennent deux noyaux endospermiques et le dernier en possède quatre.

Les quarante-huit ovules de la deuxième fleur sont probablement fécondés; quatre sacs embryonnaires sont vides et un autre ovule, qui possède quatre noyaux triploïdes, est dégénéré.

Nombre d'ovules contenant	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total
1. Zygote	8	9	17
— et noyau endospermique	8	9	17
— et noyaux polaires	—	—	—
2. Noyaux mâle et femelle	2	7	9
— et noyau endospermique	—	—	—
— et noyaux polaires	2	5	7
3. Un (ou des) noyau endospermique .	32	32	64
4. Noyaux polaires et gamète mâle . .	4	7	11

Nombre d'ovules avec	1 ^{ère} fleur	2 ^e fleur	Total	%
1 noyau endospermique	1	—	1	2
2 noyaux endospermiques	9	11	20	31
4 noyaux endospermiques	22	21	43	67

Nombre moyen de noyaux triploïdes : 3,33.

4. Synthèse.

La comparaison des différents groupes de pollinisations permet de distinguer deux catégories bien distinctes, d'une part les pollinisations compatibles, comprenant l'autopollinisation des clones autofertiles et les croisements entre eux; d'autre part, les pollinisations incompatibles, autopollinisations et croisements où n'interviennent que des clones considérés comme autostériles. Dans le second groupe, les autopollinisations et croisements donnent lieu aux mêmes observations; les anomalies sont semblables, mais leur fréquence et leur importance peuvent différer.

Quant aux croisements entre clones autofertiles et autostériles, ils sont intermédiaires; certaines fleurs ne présentent aucune anomalie, et dans plusieurs, des gamètes non fusionnés s'observent comme dans la catégorie des pollinisations incompatibles.

Le premier caractère à considérer est le pourcentage des ovules atteints par un tube pollinique dans les différents types de pollinisation (tableau II).

TABLEAU II.
Pourcentages d'ovules fécondés.

Pollinisation	Nombre de fleurs	Nombre d'ovules		Taux de fécondation %
		Fécondés	Non fécondés	
Autopollinisation fertile	14	510	28	95
Croisement entre fertiles	6	263	12	96
Fertile × stérile	20	721	85	89
Stérile × fertile	9	353	26	93
Autopollinisation E.1504 Y.1	13	428	149	74
Autopollinisation E.2914 Y.1	13	185	371	33
Faiblement × fortement stérile	19	567	243	70
Fortement × faiblement stérile	12	287	234	55

Dans les pollinisations compatibles, la plupart des ovules sont généralement fécondés; en moyenne, 95 % des ovules viables sont atteints par les tubes polliniques.

Le pourcentage n'est pas beaucoup moindre dans les croisements réciproques entre clones fertiles et stériles : il atteint environ 90 %.

Les résultats sont beaucoup plus variables après les pollinisations incompatibles; la fécondation est complète dans certains ovules, presque nulle dans d'autres, et toutes les moyennes sont abaissées. L'autopollinisation du clone E.2914 Y.1 donne beaucoup moins de fécondations que celle du clone E.1504 Y.1, considéré comme moins typiquement autostérile. Il faut rappeler que pour toutes les pollinisations, quelques fleurs ne montrent aucune fécondation; elles sont plus nombreuses après pollinisation incompatible, surtout pour le clone E.2914 Y.1. Cette fréquence n'intervient pas dans le calcul des taux de fécondation, car une pollinisation inadéquate est certainement responsable de beaucoup de ces cas. Quant aux croisements entre ces deux clones, ils donnent des pourcentages intermédiaires entre ceux des autopollinisations; le sens du croisement n'est peut-être pas indifférent, mais la variabilité des observations rend imprécise la comparaison des deux valeurs.

Le nombre de noyaux endospermiques par ovule complètement fécondé donne une idée du développement du sac embryonnaire à un stade donné; il ne peut être déterminé que pour certains échantillons, où le nombre d'observations est suffisant; nous l'avons calculé quand le nombre de noyaux est connu pour 25 ovules au moins de l'échantillon (tableau III).

TABLEAU III.

Nombres moyens de noyaux endospermiques.

Pollinisation	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours
Autopollinisation fertile . .	1	1,67	1,76	2,41	4,44
Croisement entre fertiles . .	1	1,71	—	2,46	—
Fertile × stérile (F.2519 Y.2 × E.2914 Y.1)	1	1,30	1,08	3,17	1,93
Stérile × fertile (E.1504 Y.1 × F.320 Y.1)	—	1,47	2,82	3,33	—
Autopollinisation faiblement stérile	1	—	1,93	3,87	3,36
Autopollinisation fortement stérile	—	—	1,71	—	3,29
Faiblement × fortement stérile	1	—	—	—	1,83
Fortement × faiblement stérile	—	—	—	—	2,98

Deux jours après la pollinisation, le noyau triploïde est toujours unique. A la suite d'une autofécondation ou d'un croisement compatible, il se multiplie ensuite et le nombre de noyaux endospermiques augmente régulièrement.

Les pollinisations incompatibles apportent des résultats plus variables. Souvent, le nombre réduit d'ovules complètement fécondés ne permet pas le calcul. Quand celui-ci est possible, la valeur trouvée est parfois inférieure aux précédentes (surtout le sixième jour), mais elle peut atteindre et parfois même dépasser le niveau des pollinisations compatibles. La croissance des ovules fécondés n'est donc pas nécessairement plus lente chez les clones autostériles, du moins au début.

Quant aux croisements entre clones de deux catégories, ils donnent des résultats comparables.

Les ovules où la fécondation ne dépasse pas le stade de la pénétration du tube pollinique sont très rares à partir du second jour, dans les combinaisons compatibles, tandis que leur nombre peut être très important après les pollinisations incompatibles. Bien que ces nombres

ne soient pas établis pour toutes les fleurs, la différence est évidente. Il en est de même du nombre d'ovules fécondés et dégénérés ensuite; ces ovules ne s'observent que dans les pollinisations incompatibles, après cinq et six jours.

Les pollinisations incompatibles se caractérisent surtout par la présence, à tous les stades, de noyaux mâles non fusionnés. Dans les combinaisons compatibles, ceux-ci ne se rencontrent que rarement après deux jours, jamais à partir du troisième jour. Dans le tableau IV sont enregistrées les observations réalisées chez les deux clones auto-stériles, autofécondés et croisés entre eux.

TABLEAU IV.

Clones autostériles, autofécondés et croisés entre eux.

Nombre d'ovules avec	E.1504Y.1	E.2914Y.1	E.1504Y.1	E.2914Y.1	Total
	× E.1504Y.1	× E.2914Y.1	× E.2914Y.1	× E.1504Y.1	
1. Zygote	67	53	95	60	275
— et noyau endosp. .	53	41	75	57	226
— et noyaux polaires	8	9	7	2	26
2. Noyaux libres . . .	95	24	68	41	228
— et noyau endosp. .	2	1	1	—	4
— et noyaux polaires	67	18	54	32	171
3. Noyaux triploïdes . .	180	72	155	83	490
4. Noyaux polaires et mâle	88	33	68	40	229

Dans les fleurs du clone E.1504 Y.1 autopollinisé, on a observé plus souvent des noyaux gamètes non fusionnés que des zygotes, moins fréquemment pour les autres pollinisations; dans celles-ci, l'incompatibilité se manifeste plus précocement, par une diminution du nombre d'ovules fécondés et par l'arrêt du tube pollinique dans les synergides.

Dans tous les cas, les ovules qui possèdent un ou plusieurs noyaux endospermiques sont plus fréquents que les sacs embryonnaires où le deuxième noyau spermatique reste à côté des deux noyaux polaires.

Pour l'ensemble des observations, les noyaux mâles libres semblent moins fréquents dans les croisements entre clones autofertiles et auto-stériles. Cependant, cette différence est faible quand on ne considère que les fleurs où se manifeste de la stérilité (tableau V).

TABLEAU V.
Croisements entre clones autofertiles et autostériles.

Nombre d'ovules avec	F.2519Y.2	F.320 Y.1	E.1504Y.1	E.1504Y.1	To- tal
	× E.2914Y.1	× E.1504Y.1	× F.2519Y.2	× F.320 Y.1	
1. Zygote.	27	17	39	60	143
— et noyau endosp.	22	11	34	54	121
— et noyaux polaires	2	—	1	1	4
2. Noyaux libres . . .	18	4	16	47	85
— et noyau endosp.	—	2	—	—	2
— et noyaux polaires	17	1	13	39	70
3. Noyaux triploïdes .	54	36	51	174	315
4. Noyaux polaires et mâle	24	4	19	52	99

Les gamètes non fusionnés représentent un pourcentage un peu moindre dans ces fleurs (37 %) que dans les autopollinisations et croisements du tableau IV (45 %). Il en est de même pour les noyaux polaires non fécondés (24 et 32 %).

§ 3. *Comportement des deux noyaux mâles dans les fleurs autostériles.*

La syngamie ne va pas nécessairement de pair avec la formation du noyau endospermique triploïde. S'il arrive rarement que le deuxième gamète mâle s'unisse aux noyaux polaires quand l'oosphère n'est pas fécondée (fig. 25), il est beaucoup plus fréquent de rencontrer des ovules où le zygote s'est normalement constitué et dont les noyaux polaires restent séparés ou sont plus ou moins dégénérés (fig. 24 et photo 39). Le tableau IV, qui réunit les observations réalisées au départ des deux clones E.1504 Y.1 et E.2914 Y.1, montre que, pour ce matériel, le second cas est 6,5 fois plus fréquent que le premier.

Dans le but de déceler avec plus de précision une corrélation possible entre la fécondation de l'œuf et celle des noyaux polaires, nous avons examiné en détail le contenu nucléaire des sacs embryonnaires dans une ou deux fleurs, quatre jours après l'autopollinisation, chez 18 clones qui manifestent les caractères cytologiques de l'auto-

incompatibilité. L'observation s'est limitée aux ovules où la diploïdie du zygote est caractérisée par la présence de deux nucléoles et à ceux dont l'œuf, non fécondé, est accompagné d'un gamète mâle.

Les ovules observés sont partagés en deux groupes, suivant que la syngamie est réalisée ou non. Dans chacun de ces groupes, le reste du sac embryonnaire peut être vide, par suite de la dégénérescence des noyaux polaires non fécondés, qui peuvent aussi persister, accompagnés ou non d'un noyau mâle qui ne s'est pas fusionné. Le gamète mâle peut enfin s'être plus ou moins complètement uni aux noyaux polaires, et le noyau triploïde peut être unique ou avoir déjà subi une ou deux mitoses.

Le tableau VI rapporte ces observations en indiquant, pour les ovules où l'oosphère est fécondée et pour ceux où elle ne l'est pas, le nombre de sacs embryonnaires vides (0), qui contiennent deux noyaux polaires (n.p.), deux noyaux polaires et un gamète mâle (n.p. + σ), un, deux ou quatre noyaux endospermiques (1, 2, 4).

Au total, on a observé 155 ovules avec un zygote; parmi ceux-ci, 113 (73 %) ont aussi un noyau triploïde, soit unique, soit divisé une ou deux fois. Les 27 % qui restent sont surtout composés d'ovules où les noyaux polaires sont isolés, soit parce que le deuxième gamète mâle n'y est pas parvenu, soit parce qu'il passe inaperçu.

Dans le deuxième cas — noyaux mâle et femelle non fusionnés — un seul des 130 ovules observés a un noyau endospermique (une seule fois divisé); dans 60 % des cas, le deuxième gamète mâle est à proximité des noyaux polaires, mais il ne s'y est pas fusionné; dans beaucoup d'autres ovules, ce gamète n'a pas atteint les noyaux polaires ou ne s'observe pas et, dans quelques-uns, les noyaux polaires ont disparu.

La conclusion est que l'absence de fusion du premier gamète mâle entraîne presque automatiquement la non fusion du deuxième (dans plus de 99 % des cas observés ici), mais la fusion du premier n'entraîne pas nécessairement celle du deuxième (dans 73 % des cas seulement).

Les observations peuvent être considérées d'un autre point de vue : sur 171 ovules sans noyau endospermique, 129 (75 %) n'ont pas non plus de zygote. L'absence de fusion du deuxième gamète mâle est accompagnée de la fusion du premier dans un quart des ovules.

Il y a donc une corrélation très nette entre l'absence de syngamie et l'avortement du noyau endospermique, mais la corrélation inverse est beaucoup moins nette, et la présence d'une oosphère fécondée dans un ovule n'entraîne pas toujours la présence d'un noyau triploïde.

TABLEAU VI.

Contenu du sac embryonnaire chez les clones autostériles.

	Zygote					Gamètes mâles et femelles						
	0	n.p.	n.p. + ♂	1	2	4	0	n.p.	n.p. + ♂	1	2	4
E.194 Y.1	—	4	—	1	1	—	—	2	4	—	—	—
E.254 Y.2	—	2	1	1	6	—	—	1	3	—	—	—
E.367 Y.2	—	2	—	—	—	1	—	1	2	—	—	—
E.460 Y.1	—	—	—	—	4	—	1	6	5	—	—	—
	1	4	1	6	—	—	1	2	3	—	—	—
E.1844 Y.1	—	1	—	4	4	—	2	1	3	—	—	—
	—	—	—	—	4	1	1	2	2	—	—	—
E.3421 Y.1	1	—	1	1	2	—	—	2	3	—	—	—
E.3827 Y.3	—	1	—	4	2	—	1	1	3	—	—	—
Li.6 Y.4	—	1	—	—	2	—	1	1	1	—	—	—
Li.8 Y.1	—	—	—	—	6	4	—	2	5	—	—	—
Li.12 Y.2	1	—	—	1	5	—	—	—	2	—	—	—
	—	—	—	—	1	1	2	2	2	—	—	—
Li.24 Y.1	—	5	—	4	—	—	—	—	9	—	—	—
	—	1	—	—	2	1	—	1	3	—	—	—
Li.28 Y.1	1	—	1	—	3	—	1	2	4	—	—	—
	—	—	—	—	3	—	—	3	—	—	—	—
Li.29 Y.1	—	2	—	2	1	—	—	2	5	—	—	—
	—	—	1	—	7	—	—	2	2	—	—	—
Li.30 Y.2	—	5	1	—	—	—	—	—	2	—	—	—
	—	3	—	—	1	—	—	1	1	—	—	—
M.40 Y.414	—	—	—	1	1	2	—	—	4	—	—	—
M.41 Y.457	—	—	—	—	2	2	—	4	2	—	—	—
	—	—	—	—	2	3	—	2	—	—	—	—
M.43 Y.1541	—	—	—	—	2	—	—	—	4	—	1	—
	—	—	1	3	4	—	—	2	—	—	—	—
M.62 Y.250	—	—	—	—	4	1	—	—	3	—	—	—
Totaux . . .	4	31	7	28	69	16	10	42	77	—	1	—

Les données enregistrées dans le tableau VI suggèrent que dans le premier groupe d'ovules (zygote), 17% seulement des 41 noyaux polaires non fécondés sont accompagnés d'un gamète mâle, tandis que dans le deuxième groupe (gamètes non fusionnés), le deuxième noyau mâle est visible dans un plus grand nombre d'ovules (60%), et les noyaux polaires isolés ne représentent que 25% du total. Bien que le nombre d'observations soit assez limité, on peut supposer qu'après la formation du zygote, une proportion importante des

noyaux polaires sont avortés parce qu'ils n'ont pas été atteints par le deuxième noyau mâle. Si, par contre, les gamètes mâle et femelle ne s'unissent pas, c'est l'absence de fusion des noyaux en présence qui est responsable de la majorité des cas d'avortement de l'endosperme.

§ 4. *Légitimité des graines obtenues après l'autopollinisation de clones autostériles.*

L'autopollinisation des clones autostériles donne un certain taux de fructification. ROSENQUIST [1950] obtient 60 à 80 % de réussite quand l'arbre est autocompatible et moins de 1 % quand les deux parents (dans les croisements) sont autostériles; l'origine des fruits alors obtenus est discutable.

MARSHALL [1934] estime que les quelques nouaisons observées sont dues à des accidents, et que le pollen de ces arbres serait incapable d'assurer la fécondation des ovules de la même plante (ou du clone obtenu au départ de celle-ci). VOELCKER [1937] admet cependant que les arbres autoincompatibles fructifient parfois quand ils sont autopollinisés. La détermination du taux de croisement par l'étude de la transmission des caractères a montré que la pollinisation croisée est plus fréquente que chez les sujets autocompatibles, mais elle n'a pas prouvé l'origine croisée de tous les fruits obtenus [VOELCKER, 1938 b].

Il est important de savoir s'il est possible d'obtenir des fruits par autopollinisation de clones autostériles puisque, de la réponse à ce problème, dépend la légitimité des graines récoltées dans ces conditions. L'expérimentation directe suppose l'isolement de nombreuses fleurs et leur autopollinisation manuelle, ce qui se réalise difficilement avec une garantie certaine.

Une première façon de se rendre compte de la légitimité des fruits obtenus est de comparer le nombre de graines par cabosse, d'une part après l'autopollinisation d'un clone autostérile et, d'autre part, après la pollinisation de ce même clone par un homologue autofertile. Si les cabosses contiennent moins de graines après l'autopollinisation, c'est une indication de la légitimité de ces graines, ou du moins, de la plupart; après la pollinisation incompatible, en effet, le nombre moyen d'ovules fécondés est moindre et, parmi ceux-ci, beaucoup ne peuvent donner de graines parce que la fécondation n'a pas abouti ou que l'ovule fécondé dégénère.

On a établi, à la Division du Caféier et du Cacaoyer, le nombre de graines dans les fruits récoltés après autopollinisation. La comparaison des nombres de graines pour les clones autostériles d'une part et pour les autofertiles d'autre part est moins rigoureuse que la compa-

raison d'un même clone pollinisé par lui-même et par un autofertile, car le nombre d'ovules par fleur varie certainement suivant les clones. Cette cause d'erreur ne doit pourtant pas être importante si l'on compare l'ensemble des clones autostériles aux autofertiles de même origine.

Les observations faites à la Division du Caféier et du Cacaoyer montrent que pour 100 fruits qui proviennent de l'autopollinisation de divers clones hybrides autostériles, le nombre moyen de graines par cabosse est de 33,4; pour 64 cabosses produites par des clones hybrides autofertiles, il y a en moyenne 32,3 graines. Les fruits provenant de l'autofécondation de clones Forastero (autofertiles) ont en moyenne 37,9 graines.

Les clones autostériles n'ont donc pas produit moins de graines par cabosse que les sujets autofertiles de même origine, ce qui est un indice de l'illégitimité de la majorité de ces fruits. Sept cabosses qui proviennent du clone fortement autostérile E.2914 Y.1 contiennent l'une 18, les autres de 33 à 35 graines; seul le premier fruit proviendrait d'une autofécondation.

Une autre observation est en faveur de l'illégitimité des autopollinisations et prouve l'autostérilité stricte du clone E.2914 Y.1. Un champ complètement isolé a été établi avec ce clone; il a fleuri pendant plusieurs années sans produire aucun fruit. Cependant, l'introduction dans la parcelle d'individus autofertiles qui servent de pollinisateurs a permis la fructification des arbres stériles.

Pour préciser s'il est possible d'obtenir des fruits après une pollinisation incompatible, on a prélevé du matériel dix à quinze jours après l'autopollinisation de fleurs autostériles. On peut, en effet, supposer que si la fleur s'est maintenue jusqu'à ce stade, le jeune fruit est capable de poursuivre son développement; d'autre part, sa taille est encore assez réduite pour permettre l'étude microscopique des ovules et pour déceler la présence de ceux qui avortent par suite d'une fécondation incomplète ou de troubles ultérieurs.

Si la nouaison est possible après une pollinisation incompatible, elle est certainement rare, car de nombreuses fleurs doivent être pollinisées pour produire les quelques jeunes fruits nécessaires à cette étude.

Du clone E.460 Y.1, nous avons obtenu une fleur pollinisée depuis dix jours. Sur 51 ovules, 49 sont parfaitement développés; un n'est probablement pas fécondé et le dernier est dégénéré; la trace du tube pollinique est visible, le zygote possède un nucléole normal et un très petit, mais les noyaux polaires ne sont pas fécondés. Un tel ovaire semble capable de poursuivre son développement, mais la

présence d'un seul ovule fécondé puis dégénéré semble insuffisante pour prouver l'incompatibilité de la fécondation, elle fait plutôt penser à une pollinisation illégitime accidentelle.

Plusieurs fleurs ont été prélevées sur le clone "E. 254 Y.1 après l'autopollinisation manuelle. Dans l'une d'elles (âgée de dix jours), 37 ovules sont fécondés et bien développés, un autre n'a probablement pas été fécondé. Les dix derniers ovules de cette fleur ont une taille variable, sont plus pâles et plus ou moins dégénérés; dans chacun, on trouve des traces d'au moins un gamète mâle qui ne s'est pas fusionné. Deux autres fleurs de ce clone ont été récoltées douze jours après l'autopollinisation. A cause du développement important du gynécée, tous les ovules n'ont pu être observés. Dans ces deux jeunes fruits, la plupart des ovules sont en pleine croissance; cependant, un certain nombre (20% environ) sont détruits et pratiquement vides, leur taille est très variable, quelques-uns n'ont probablement pas été fécondés, les autres sont morts ultérieurement et des traces de noyaux non fusionnés restent visibles dans certains.

La présence d'ovules dégénérés dans ces trois dernières fleurs prouve qu'elles ont effectivement subi une pollinisation incompatible. D'autre part, la croissance très importante de la majorité des ovules est semblable à celle des fleurs autofertiles qui appartiennent au même stade; elle est régulière et aucun sac embryonnaire ne manifeste une dégénérescence tardive. Ces jeunes fruits semblent donc capables de poursuivre leur développement.

D'autres fleurs du même clone ont encore été examinées; presque tous les ovules sont fécondés et il n'y a pas d'anomalies nucléaires, la croissance des ovules est rapide, mais leur développement est peu important. Ces fleurs ne peuvent être âgées de plus de trois ou quatre jours; ce sont probablement des boutons floraux oubliés et pollinisés naturellement.

Enfin, trois fleurs de onze jours possèdent surtout des ovules normalement développés; sur 42, 37 et 36 ovules observés, quelques-uns seulement, respectivement 3, 3 et 4 sont détruits. Leur sac embryonnaire est pratiquement vide et il est difficile d'établir la légitimité de ces trois jeunes fruits.

En conclusion, on doit admettre que l'autostérilité du cacaoyer n'est pas totale. Quelques fleurs persistent pendant dix jours au moins et aucun indice ne permet de croire à leur dégénérescence ultérieure.

En pratique cependant, le taux de réussite des pollinisations doit être beaucoup plus faible que chez les clones autofertiles et la plupart des fruits récoltés après autopollinisation d'arbres autostériles sont illégitimes. Il y a probablement des différences clonales: les nouaisons

doivent être beaucoup plus rares chez des clones fortement autostériles tels que le E.2914 Y.1, où les fleurs autopollinisées tombent rapidement en grand nombre et où les ovules fécondés sont peu nombreux.

Pour qu'une autofécondation puisse réussir chez un clone autostérile, il faut qu'un nombre important d'ovules soient fécondés, par rapport au nombre des ovules où le tube pollinique n'est pas arrivé, où les gamètes mâles n'ont pas été émis ou ne se sont pas fusionnés et des ovules qui n'ont pas dégénéré peu après la fécondation. Si cette condition est remplie, il semble bien que les ovules qui restent sont hors de danger et que le fruit peut poursuivre sa croissance.

§ 5. *Manifestation cytologique de l'incompatibilité.*

La croissance des tubes polliniques sur un milieu nutritif en présence d'extraits de styles ne subit aucune inhibition par une substance qui serait présente dans les gynécées incompatibles. D'autre part, l'observation des tubes polliniques dans le style montre qu'ils sont capables d'atteindre l'ovaire après une pollinisation incompatible et que leur croissance est aussi rapide qu'après une pollinisation compatible.

Les différences entre les deux types de pollinisations ne s'observent donc que par comparaison du développement ultérieur de l'ovaire.

Un premier caractère est la différence entre les taux moyens d'ovules fécondés. A ce point de vue, il faut aussi remarquer une grande variabilité chez les clones autostériles; dans quelques fleurs, le pourcentage des ovules fécondés est très élevé, mais souvent, la plupart des ovules n'ont pas été atteints par un tube pollinique. Par contre, dans les pollinisations compatibles, le nombre des ovules non fécondés est très faible dans presque toutes les fleurs.

On peut en conclure que les tubes polliniques éprouvent plus de difficulté à parvenir au sac embryonnaire dans les fleurs autostériles. Une inhibition partielle existe donc, mais sa localisation précise n'est pas possible; elle peut se situer dans le style, à l'intérieur de l'ovaire ou même lors de la croissance du tube pollinique dans le micropyle et le nucelle. Cependant, quelques tubes polliniques au moins arrivent à l'intérieur de quelques ovules dans presque toutes les fleurs, et surtout pour le clone E.1504 Y.1, la fécondation est aussi importante, dans beaucoup de fleurs, que pour un clone autofertile.

Vingt-quatre heures après la pollinisation, les ovules fécondés sont semblables, quelle que soit la pollinisation; dans tous les cas,

on observe des ovules où le tube pollinique a simplement fait son entrée dans une synergide, et des sacs embryonnaires qui contiennent des gamètes mâles accolés aux noyaux femelles ou des zygotes et noyaux endospermiques partiellement ou même complètement fusionnés.

Le surlendemain de la fécondation, quelques différences apparaissent; la fusion du noyau de l'oosphère et du premier gamète mâle est presque toujours totale chez le clone autofertile (et dans les croisements entre sujets compatibles), et le noyau triploïde est partiellement formé. Chez les clones autostériles, l'obscurcissement d'une synergide indique la pénétration du tube pollinique, mais, dans un nombre parfois très important d'ovules, la fécondation n'a pas dépassé ce stade et les noyaux mâles n'ont pas été libérés dans le sac embryonnaire (photo 37). Dans d'autres ovules, les gamètes mâles sont accolés aux noyaux du sac embryonnaire, mais ils ne présentent pas de trace de gonflement ni de fusion; ailleurs encore, les fusions nucléaires sont partielles ou totales comme chez les fleurs autofertiles.

Du troisième au sixième jours, la distinction devient très nette entre les deux types de fleurs; chez les autofertiles, les fusions nucléaires sont toujours complètes, le noyau endospermique commence à se diviser et l'ovule se développe progressivement. Dans toutes les fleurs autostériles, on retrouve des ovules où la fécondation n'a pas dépassé le stade très précoce de la pénétration du tube pollinique et d'autres où les gamètes mâles restent visibles dans le sac embryonnaire. En général, ces deux noyaux ont gardé leur taille et leur aspect d'origine, mais il arrive aussi que l'un ou l'autre seulement se soit fusionné aux noyaux femelles. Parfois, mais beaucoup plus rarement, la fécondation s'est arrêtée à un stade ultérieur et l'on retrouve des noyaux partiellement fusionnés à un moment où ces caryogamies sont normalement terminées (fig. 26). Dans quelques cas, le noyau de l'oosphère est fécondé, mais le zygote a un aspect qui ne s'observe pas chez les fleurs autofertiles; au lieu de posséder deux nucléoles de dimension à peu près semblable, l'un d'eux est réduit à un granule très petit et, souvent, la largeur du noyau est moindre de ce côté (photo 38). Dans les ovules qui manifestent l'incompatibilité, l'oosphère et le noyau mâle ne restent donc pas toujours accolés et sphériques, comme le pensent BENNETT et COPE [1959]; la séparation ou la fusion partielle de ces noyaux sont cependant plus rares.

Dans beaucoup de fleurs, des ovules, en nombre variable, sont parfaitement fécondés : le zygote est normalement constitué, le noyau triploïde est formé et subit des mitoses parfois aussi fréquentes que chez le clone autofertile. A la différence de ce clone, où le développement des ovules est généralement semblable dans toutes les fleurs, la variabilité est beaucoup plus importante chez les individus auto-

stériles; dans certaines fleurs, le sac embryonnaire ne présente aucun accroissement et le noyau triploïde, s'il est formé, ne se divise pas; d'autres ovaires, par contre, se développent très bien et certains de leurs ovules ont une croissance semblable à celle des ovules compatibles. Ces fleurs se distinguent cependant toujours, non seulement par la présence dans certains sacs embryonnaires de noyaux non fusionnés, mais aussi par la dimension très variable des ovules dont certains, bien que fécondés, n'ont qu'un développement faible ou nul.

Le cinquième et le sixième jours, dans des fleurs où la fécondation est bonne et dont l'ovaire est bien développé, des ovules qui contiennent un zygote et plusieurs noyaux endospermiques, commencent à dégénérer. Parfois, l'ensemble de l'ovule semble se dessécher, le nucelle et les téguments s'affaissent dans le sac embryonnaire, dont le contenu nucléaire conserve pendant quelque temps un aspect normal. Plus fréquemment, l'ovule lui-même reste d'abord inchangé, mais le cytoplasme se contracte au centre du sac embryonnaire et les noyaux qu'il contient perdent leur chromaticité (photo 41); tout le contenu du sac embryonnaire disparaît ensuite et l'ovule entier dégénère. Une anomalie beaucoup plus rare est l'agglomération des noyaux endospermiques au centre du sac embryonnaire; l'ovule et son contenu restent d'ailleurs apparemment normaux (fig. 23).

Les mitoses s'observent dans les téguments et le nucelle des ovules fécondés et en développement, dans les fleurs compatibles et incompatibles. Chez celles-ci, les divisions somatiques s'observent également jusqu'à quatre ou cinq jours après la pollinisation dans les ovules fécondés où les fusions nucléaires n'ont pas eu lieu et l'on en retrouve même dans les ovules qui n'ont pas été atteints par un tube pollinique. La présence de mitoses dans les tissus somatiques de l'ovule n'est donc pas, comme l'écrit HAKANSON [1947], propre aux fleurs qui ont reçu du pollen compatible. La fréquence de ces mitoses est seulement en relation avec la vitesse de croissance de l'ovule.

L'incompatibilité se manifeste donc, chez *Theobroma cacao*, par un blocage de la fécondation et du développement et ce, à des stades très divers. Dès avant l'entrée du tube pollinique dans le sac embryonnaire, un pourcentage plus ou moins important des tubes est arrêté à un certain endroit. Beaucoup d'ovules sont atteints par le pollen, qui pénètre dans une synergide, mais les gamètes ne sont pas émis dans le sac embryonnaire. Très souvent aussi, les noyaux mâles se dirigent normalement vers leurs partenaires mais ils sont incapables de s'unir à eux. La fécondation peut aller jusqu'à la fusion plus ou moins complète des noyaux, mais la caryogamie ne se termine pas, ou le noyau endospermique ne se divise pas. Enfin, certains ovules complètement fécondés et bien développés dégénèrent ensuite.

Les ovules non fécondés, accompagnés d'ovules normaux, ne se développent pratiquement pas et meurent après trois à cinq jours; il en est de même de ceux où la fécondation se limite à l'entrée du tube pollinique. Quant aux ovules où les noyaux mâles et femelles sont accolés, ils ne présentent aucun accroissement sans la présence d'autres ovules où les fusions sont complètes et la croissance normale. Au voisinage d'ovules normaux, l'entrée des noyaux mâles dans le sac embryonnaire permet une croissance à peu près régulière du sac embryonnaire, bien que le contenu de celui-ci soit très peu important. Le noyau de l'oosphère et surtout les polaires dégénèrent rapidement, les nucléoles deviennent moins colorables et les membranes nucléaires s'atténuent. Quant aux noyaux mâles, ils conservent plus longtemps leur forme et leur chromaticité; on les retrouve aisément dans beaucoup d'ovules après cinq et même dix jours. Les cellules du nucelle et des téguments se divisent moins activement et leur cytoplasme est moins dense, plus vacuolisé. Finalement, tout le contenu du sac embryonnaire disparaît et l'ovule lui-même dégénère.

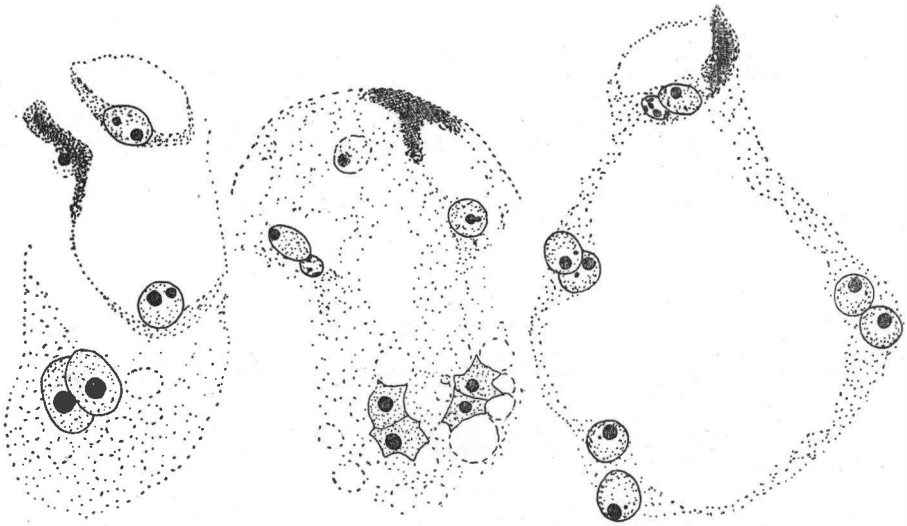
On considère en général comme fertiles les croisements entre clones autofertiles et autostériles. Nos observations donnent des résultats plus variés; dans les fleurs où le parent maternel est autostérile et dans quelques fleurs du croisement inverse, on observe des ovules où les gamètes mâles ne sont pas fusionnés. Le comportement de ces ovules est le même que chez les clones autostériles, les autres fleurs ne présentent aucun indice cytologique d'incompatibilité.

La chute des fleurs, après une pollinisation incompatible, doit être attribuée à une activité trop faible de l'ovaire [COPE, 1945], celui-ci demande peu de sève. L'accumulation de réserves dans la base du pédicelle provoque la rupture de celui-ci à l'endroit de la constriction [POUND, 1932 a).

La croissance des ovules est proportionnelle à la multiplication des noyaux endospermiques. L'activité nucléaire du sac embryonnaire et le nombre de noyaux qu'il contient sont en relation avec la quantité de substance nécessaire à son développement. Après la pollinisation compatible, le nombre moyen de noyaux endospermiques augmente régulièrement à partir du troisième jour et il varie relativement peu d'une fleur à l'autre. Après la pollinisation incompatible, beaucoup d'ovaires ont un développement très faible ou presque nul et l'on comprend que ces fleurs ne persistent pas beaucoup plus longtemps que celles qui n'ont pas été pollinisées. Certains de ces ovaires se développent cependant beaucoup mieux; quand on peut calculer pour ceux-ci le nombre moyen de noyaux triploïdes par ovule fécondé, on ne trouve pas toujours des valeurs plus faibles que pour les fleurs compatibles. Ceci montre que les ovules complètement fécondés

peuvent se développer aussi bien que dans les fleurs compatibles. Dans la majorité des fleurs, l'activité totale de l'ovaire incompatible reste toutefois inférieure, du fait du plus grand nombre d'ovules non fécondés, du blocage de la fécondation dès le premier stade et de la présence de sacs embryonnaires non développés contenant des noyaux accolés; tous ces ovules n'interviennent pas dans la consommation des réserves. Cette activité décroît ensuite fortement par rapport à celle des fleurs compatibles, par suite de la dégénérescence des ovules où les noyaux sont accolés ou même fusionnés et qui se sont d'abord développés normalement. Si malgré tout, un nombre suffisant d'ovules normalement constitués persiste dans l'ovaire, celui-ci peut se maintenir et poursuivre sa croissance comme dans les fleurs autofertiles.

Dans certains croisements entre clones autofertiles et autostériles, beaucoup de fleurs normalement pollinisées avortent certainement à cause de la présence d'ovules à fécondation incomplète. La stérilité doit cependant être moins marquée que si les deux parents étaient autostériles. En effet, en présence d'un parent autofertile, le taux d'ovules fécondés est plus élevé; en outre, on n'a pas observé d'ovules où la fécondation est bloquée au moment de l'entrée du tube pollinique dans la synergide, ni d'ovules dégénérés après un développement initial normal.



Ovules à comportement aberrant.

Fig. 27; ovule partiellement dédoublé, avec deux zygotes et des noyaux polaires non fécondés (clone autofertile). — 28; ovule double avec un zygote; le second gamète mâle est accolé à l'autre oosphère et les noyaux polaires ne sont pas fécondés (croisement incompatible). — 29; gamètes non fusionnés, avec 6 noyaux de nature inconnue. (× 1.000).

Des observations plus nombreuses, à partir d'un plus grand nombre de clones, seraient nécessaires pour la compréhension du comportement des ovules dans ces croisements. Actuellement, il n'y a pas d'explication valable aux différences observées. Le sens du croisement semble n'avoir aucune importance, puisque la pollinisation d'un clone autofertile peut être compatible ou incompatible. La nature du clone autofertile n'est vraisemblablement pas déterminante non plus, mais il est possible que la fertilité du croisement dépende de la nature du parent autostérile; tous les croisements où intervient le clone E.1504 Y.1 sont incompatibles, tandis que la plupart sont fertiles avec le E.2914 Y.1.

Un autre point encore inexpliqué est le comportement variable des fleurs du clone F.2519 Y.2 pollinisées par E.2914 Y.1. L'observation répétée de ces anomalies exclut une erreur à la pollinisation ou lors du prélèvement des échantillons. Il faudrait plutôt supposer, soit une confusion au moment de la plantation du clone autofertile F.2519 Y.2, soit l'apparition d'une mutation chez un individu de ce clone; un des sujets utilisés pour les croisements proviendrait donc d'un clone autostérile ou serait devenu autoincompatible par mutation.

CHAPITRE IV

IDENTIFICATION DES CLONES AUTOINCOMPATIBLES

§ 1. *Méthode suivie.*

1. Intérêt d'une méthode cytologique.

Pour identifier les arbres autoincompatibles, on a toujours considéré jusqu'ici le résultat des autopollinisations manuelles et l'on admet qu'un arbre est autocompatible quand des jeunes fruits, en nombre suffisant, persistent après quatorze jours; TOXOPEUS et TAMMES [1942], par exemple, ont réalisé 25 autopollinisations par arbre; si, quatorze jours plus tard, il y a plus de trois nouaisons, l'arbre n'est pas autostérile; d'autre part, s'il y a seulement un ou deux jeunes fruits, un nouveau test est entrepris.

De même, ROSENQUIST [1950] réalise dix autopollinisations manuelles; les arbres testés sont autofertiles ou autostériles suivant qu'il y a plus de trois ou aucune nouaison après quatorze jours.

OSTENDORF [1948] fait remarquer que les tests qui font intervenir uniquement des autopollinisations peuvent désigner comme autostériles des arbres qui ne le sont pas, à cause des fluctuations importantes, saisonnières et autres, observées dans les taux de nouaison. L'autopollinisation peut seulement servir dans un triage préliminaire, pour repérer un certain nombre de plants autofertiles. Pour tester les arbres où l'autopollinisation n'a donné suite à aucune nouaison, OSTENDORF préconise de déceler d'abord avec certitude, parmi eux, quelques individus typiquement autostériles en les croisant entre eux à diverses époques; ces sujets sont utilisés ensuite comme testeurs et sont pollinisés par les arbres présumés autostériles; le résultat de ces croisements définit la catégorie à laquelle appartiennent les arbres éprouvés.

Le pourcentage de fruits noués après une série peu importante d'autopollinisations ne suffit pas à indiquer avec certitude si un arbre est autocompatible ou non.

En comparant les taux de nouaison obtenus à Yangambi pour un même clone, au cours de plusieurs années, on observe parfois des différences très importantes. Elles sont telles que certains clones

considérés comme autoincompatibles à cause d'une faible nouaison, peuvent plus tard être pris pour des clones autofertiles quand on étudie les chiffres ultérieurs.

Des méthodes basées sur un petit nombre de pollinisations sont donc tout à fait insuffisantes; de nombreux facteurs indépendants de la nature même de l'arbre peuvent influencer celle-ci : erreurs possibles lors de la pollinisation, conditions climatiques et saison, état physiologique de la plante et interférence de maladies et d'attaques d'insectes. Pour caractériser les clones par ce moyen, de nombreuses autopollinisations sont nécessaires et elles doivent être réparties sur une assez longue période pour atténuer l'influence des facteurs autres que l'incompatibilité.

La méthode proposée par OSTENDORF semble plus sûre, puisqu'elle suppose des pollinisations nombreuses; mais elle repose sur un principe qui n'est peut-être pas général, la stérilité de tous les croisements entre plants autoincompatibles. Cette stérilité croisée a effectivement été observée dans un certain nombre de cas et les examens que nous avons réalisés de croisements entre clones autoincompatibles ont aussi manifesté les caractères cytologiques de l'incompatibilité. Cependant, l'interfertilité existe entre certains cacaoyers autoincompatibles de l'Équateur, ainsi que dans la descendance de plants introduits d'Amazonie [MÜNTZING, 1947; POSNETTE, 1945; KNIGHT et ROGERS, 1955]. Puisque le mécanisme de l'incompatibilité est le même chez les cacaoyers « Trinitario », il est possible que l'interfertilité s'y rencontre aussi, mais dans un nombre beaucoup plus faible de croisements.

Quoi qu'il en soit, la détection des clones autoincompatibles par comptage des jeunes fruits noués demande, pour être rigoureuse, beaucoup de temps et de travail. Même si les croisements avec un testeur autostérile sont valables et permettent de réduire un peu le nombre des pollinisations, les croisements sont plus difficiles à réaliser que les autopollinisations et les possibilités d'erreur sont plus grandes.

Dans le but de rendre plus facile et plus sûre la détection des clones autoincompatibles, nous avons expérimenté une méthode cytologique qui repose sur les observations microscopiques déjà effectuées chez quelques clones typiques.

L'intérêt d'une méthode basée sur des critères cytologiques réside en premier lieu dans le petit nombre de fleurs à examiner; la régularité des phénomènes étudiés permet de réduire l'observation à une ou deux fleurs convenablement pollinisées. Nous avons étudié pour chaque clone quatre à cinq fleurs, en moyenne, pour éliminer les erreurs

possibles lors de la pollinisation ou des manipulations ultérieures. Cela suffit à classer, en outre, la plupart des clones en plusieurs catégories suivant le degré d'intensité des manifestations cytologiques de l'incompatibilité.

Un autre avantage de cette méthode est sa sécurité. Il est évident, en effet, que les phénomènes cytologiques observés lors de la fécondation de l'ovule sont, beaucoup moins que la nouaison et la fructification, sous la dépendance des conditions extérieures et de l'état physiologique de la plante.

Récemment, COPE [1958] signale avoir utilisé l'examen microscopique des fleurs pollinisées comme critère de compatibilité et d'incompatibilité; les arbres autostériles se caractérisent par la présence d'un certain nombre d'ovules où les fusions nucléaires n'ont pas lieu.

2. Caractères observés et critères d'identification des clones.

En pratique, les fleurs ont été isolées et autopollinisées manuellement, puis fixées quatre jours plus tard. Comme pour l'étude de base des phénomènes de stérilité, l'examen des fleurs a été réalisé au moyen de coupes microtomiques longitudinales des ovaires.

Les critères qui permettent de caractériser les clones sont en principe les différences de comportement précédemment observées entre quelques clones autocompatibles et incompatibles. Cependant, il est impossible de faire pour plusieurs centaines de fleurs l'inventaire complet du contenu de chaque ovule en particulier. Pour que la méthode devienne pratiquement applicable, il a fallu se limiter à quelques caractères typiques et décelables par un examen rapide des préparations. Le caractère le plus régulier est la présence dans le sac embryonnaire des fleurs autoincompatibles de noyaux mâles libres; on a aussi observé le taux d'ovules fécondés, le stade atteint par la fécondation et le développement des ovules.

a. *Présence de gamètes mâles libres.*

Dans chaque fleur, nous avons dénombré d'une part les noyaux mâles et femelles restés accolés sans s'être fusionnés (quand il y en a); d'autre part, les noyaux zygotes, caractérisés par la présence de deux nucléoles (le noyau de l'oosphère, non fécondé, ne possède jamais deux nucléoles). Ces deux données sont insuffisants pour apprécier la proportion relative, dans chaque fleur, des œufs non fécondés et des zygotes, car la majorité des noyaux ne sont pas caractéristiques ou échappent à l'observation. Beaucoup de noyaux uninucléolés sont certainement des zygotes dont les deux nucléoles sont fusionnés, mais

ils peuvent se confondre avec des oosphères non fécondées ou même avec des synergides. Indépendamment de la confusion possible avec un autre noyau, une oosphère non fécondée n'est pas un critère suffisant d'incompatibilité sans la présence simultanée d'un gamète mâle, car l'absence de fécondation peut avoir été provoquée par d'autres causes, soit que le tube pollinique n'ait pas atteint l'ovule, soit qu'il n'y ait pas déversé son contenu.

Les clones autoincompatibles se caractérisent par la présence dans les ovules fécondés de noyaux mâles et femelles accolés. Il ne semble pas qu'en général le taux de ceux-ci, proportionnellement aux zygotes, varie nettement d'un clone à l'autre, et il ne permet pas de distinguer différents degrés de stérilité.

Les noyaux polaires non fusionnés avec le deuxième gamète mâle sont plus fréquents que les oosphères non fécondées, mais leur observation est plus délicate; ils sont plus souvent séparés par la lame du microtome ou dégénérés. Nous ne les avons pas dénombrés, mais nous avons uniquement noté leur présence éventuelle dans les fleurs, quel que soit le nombre d'ovules où le gamète mâle ne s'est pas uni aux noyaux polaires. Ce critère s'ajoute au précédent pour caractériser les clones autoincompatibles.

b. *Pourcentage d'ovules fécondés.*

Ce taux est plus faible après pollinisation incompatible et varie suivant les clones. Ce critère n'a cependant pas été utilisé car il nécessite l'examen séparé de chaque ovule; il est en outre sous la dépendance de l'efficacité de la pollinisation. Pour de nombreux clones, nous avons observé des fleurs où aucun ovule n'est fécondé; cette absence de fécondation est certainement due à une pollinisation inadéquate, car la proportion d'ovules fécondés est élevée dans d'autres fleurs de ces clones. Dans certaines fleurs, le nombre d'ovules fécondés est plus ou moins réduit, bien que d'autres critères et l'examen d'autres ovaires prouvent que ces clones peuvent être autocompatibles.

Toutes les fleurs où aucun ovule n'est fécondé ont été éliminées des tableaux qui synthétisent nos observations, de même que la plupart de celles où la proportion est faible; c'est ainsi qu'environ 40 % des fleurs examinées ont été éliminées. Des fleurs moyennement ou faiblement fécondées, nous n'avons conservé que celles qui semblent être utiles à l'étude d'un clone donné.

Nous ne signalons que les fleurs où une observation rapide montre de nombreux ovules non fécondés, ceci pour justifier éventuellement le petit nombre de noyaux observés dans ces fleurs et le développement

souvent plus faible des ovules fécondés, comparativement à ceux des autres fleurs plus efficacement pollinisées. Ce pourcentage des ovules fécondés est sans grand intérêt pratique pour distinguer les clones autostériles et pour établir une gradation dans l'incompatibilité.

c. *Stade de fécondation.*

En général, quatre jours après la pollinisation, les noyaux mâles ont été émis par le tube pollinique et sont accolés aux noyaux femelles, où la caryogamie est complète. Cependant, dans quelques fleurs provenant de clones autoincompatibles, les tubes polliniques ont pénétré dans le sac embryonnaire de tous les ovules ou d'un grand nombre d'entre eux, mais la fécondation n'a pas dépassé ce premier stade.

Ce critère n'est pas suffisant à lui seul pour conclure à l'auto-stérilité du clone, car l'arrêt général du développement de l'ovaire peut être dû à la mort prématurée de la fleur peu de temps après la pollinisation et il s'observe aussi, bien que plus rarement, chez les individus autocompatibles. Il peut s'ajouter aux autres caractéristiques de l'incompatibilité. Ces cas sont signalés surtout pour expliquer le nombre réduit de noyaux mâles trouvés dans ces fleurs ou leur absence.

d. *Développement des ovules.*

Chez les fleurs autocompatibles, le développement des ovules est presque toujours uniforme, tandis que chez les sujets incompatibles, il y a de très grandes différences entre les fleurs d'un même clone et entre les clones. Le faible accroissement des ovules dans toutes les fleurs d'un clone est un indice d'incompatibilité.

La distinction entre clones fortement, moyennement et faiblement autoincompatibles est basée sur le volume atteint par le sac embryonnaire dans les fleurs examinées.

Nous n'avons pas mesuré les sacs embryonnaires ni les ovules, mais uniquement qualifié leur développement de faible, moyen ou bon. Les limites ne sont pas précises entre ces catégories, mais elles correspondent approximativement à des stades bien définis de la croissance. Les ovules faiblement développés ont à peu près la même taille que dans les fleurs non pollinisées; la caryogamie n'a pas eu lieu, ou le noyau endospermique ne s'est pas divisé. Le développement moyen est celui des ovules normaux dont le noyau endospermique a subi une mitose. Quand la plupart des sacs embryonnaires de la fleur contiennent quatre noyaux endospermiques (dans le plus grand nombre des fleurs autocompatibles), le développement est considéré comme bon.

§ 2. *Résultat des observations.*

Sur la centaine de clones de cacaoyer en observation à la Division du Caféier et du Cacaoyer, à Yangambi, nous en avons étudié 56, présumés autoincompatibles ou douteux, parce qu'ils ont donné en général des pourcentages faibles de nouaison et de fructification. Ces clones dérivent des descendance illégitimes de Forastero et d'hybrides « Trinitario ». Les résultats des observations relatives à ces 56 clones sont repris dans les tableaux VII et VIII.

Ceux-ci comportent huit colonnes :

- (1) Numéro du clone;
- (2) Numéro de chacune des fleurs examinées pour chaque clone;
- (3) Estimation de la proportion d'ovules fécondés, qui est donnée uniquement lorsque ce pourcentage est moyen ou faible; les autres fleurs sont suffisamment fécondées;
- (4) Présence éventuelle dans la fleur (indiquée par une croix) d'un nombre important d'ovules où la fécondation est arrêtée au premier stade, l'entrée du tube pollinique dans le sac embryonnaire;
- (5) Nombre de zygotes (caractérisés par deux nucléoles) observés dans la fleur;
- (6) Nombre de noyaux femelles non fécondés, accompagnés d'un noyau mâle;
- (7) Présence éventuelle (indiquée par une croix), dans un ovule au moins de la fleur, d'un noyau mâle accompagnant les deux noyaux polaires;
- (8) Développement (faible, moyen ou bon) de la majorité des ovules de la fleur.

TABLEAU VII. — *Descendances Forastero.*

Clone	Fleur	Taux de fécondation	1 ^{er} stade de fécondation	ω	$\text{♀} + \text{♂}$	Noyaux polaires + ♂	Développement des ovules
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
F.10 Y.2	1	—	—	13	—	—	bon
	2	—	—	11	—	—	bon
	3	—	—	10	—	—	bon
	4	—	—	9	—	—	bon
	5	—	—	7	—	—	bon
	6	—	—	11	—	—	bon
	7	—	—	8	—	—	bon
F.10 Y.3	1	—	—	9	—	—	bon
	2	—	—	11	—	—	bon
	3	—	—	12	—	—	bon
	4	—	—	5	—	—	bon
	5	—	—	10	—	—	bon
	6	—	—	10	—	—	bon
F.996 Y.10	1	—	—	3	—	—	bon
	2	—	—	7	—	—	bon
	3	—	—	11	—	—	bon
	4	—	—	7	—	—	bon
	5	—	—	4	—	—	bon
	6	—	—	6	—	—	bon
F.2519 Y.3	1	—	—	5	—	—	bon
	2	—	—	5	—	—	bon
	3	—	—	6	—	—	bon
	4	—	—	5	—	—	bon
	5	—	—	2	—	—	bon
F.2519 Y.4	1	—	+	4	—	—	faible
	2	—	+	16	—	—	faible
	3	—	—	13	—	—	bon
	4	—	—	14	—	—	bon
F.2590 Y.3	1	—	—	12	—	—	bon
	2	—	—	9	—	—	bon
	3	—	—	19	—	—	faible
	4	—	+	11	—	—	faible
	5	—	—	1	—	—	faible
	6	—	—	10	—	—	moyen
F.2828 Y.5	1	—	—	12	—	—	bon
F.3236 Y.2	1	—	—	6	—	—	bon
	2	—	—	4	—	—	moyen
	3	—	—	10	—	—	bon
	4	—	—	8	—	—	moyen
	5	—	—	8	—	—	bon

TABLEAU VIII. — *Descendances hybrides.*

Clone	Fleur	Taux de fécondation	1 ^{er} stade de fécondation	ω	$\text{♀} + \text{♂}$	Noyaux polaires + ♂	Développement des ovules
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
M.40 Y.414	1	—	—	3	3	+	bon
	2	—	—	2	6	+	bon
	3	—	—	2	2	+	faible
M.41 Y.455	1	—	—	11	—	—	bon
	2	—	—	10	—	—	bon
	3	—	—	6	—	—	bon
	4	—	—	11	—	—	bon
	5	—	—	15	—	—	bon
	6	—	—	18	—	—	moyen
M.41 Y.457	1	—	—	5	7	+	bon
	2	—	—	1	2	+	bon
	3	—	—	4	2	+	moyen
	4	—	—	5	6	+	bon
	5	—	—	1	1	+	bon
M.43 Y.154	1	—	—	11	2	+	moyen
	2	—	—	2	5	+	moyen
	3	—	—	11	5	+	moyen
	4	—	—	5	4	—	bon
	5	—	—	13	7	+	bon
	6	—	—	13	13	+	bon
	7	—	—	4	7	+	bon
M.48 Y.1156	1	faible	—	3	—	—	faible
	2	—	+	5	—	—	faible
	3	—	+	3	2	+	faible
	4	—	—	3	5	+	moyen
M.48 Y.1160	1	—	—	3	—	—	bon
	2	—	—	3	—	—	bon
	3	—	—	7	—	—	moyen
	4	—	—	3	—	—	moyen
M.48 Y.1172	1	—	+	1	2	+	faible
	2	—	+	3	2	+	faible
	3	—	—	5	3	+	faible
M.48 Y.1224	1	—	+	1	4	+	moyen
	2	—	—	3	3	+	bon
	3	moyen	—	2	2	+	moyen

TABLEAU VIII. — *Descendances hybrides* (suite).

Clone	Fleur	Taux de fécondation	1 ^{er} stade de fécondation	ω	$\text{♀} + \text{♂}$	Noyaux polaires + ♂	Développement des ovules
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
M.62 Y.250	1	—	—	4	3	—	moyen
	2	—	—	1	1	+	bon
	3	—	—	—	2	+	bon
	4	—	—	9	7	+	moyen
M.62 Y.2475	1	—	—	16	1	—	bon
	2	—	—	12	2	+	faible
	3	—	—	13	1	—	bon
	4	—	—	2	2	—	bon
	5	—	+	12	—	—	faible
Li.2 Y.1	1	—	—	11	—	—	bon
	2	—	—	12	—	—	bon
	3	—	—	6	—	—	moyen
	4	—	—	5	—	—	moyen
Li.6 Y.2	1	—	—	7	—	—	bon
	2	moyen	+	11	—	—	faible
	3	—	—	18	—	—	bon
	4	moyen	—	12	—	—	bon
	5	moyen	+	11	—	—	faible
	6	—	—	14	—	—	bon
Li.6 Y.4	1	—	—	10	3	+	moyen
	2	—	—	8	7	+	moyen
Li.6 Y.5	1	—	—	15	11	+	faible
	2	—	—	10	1	—	moyen
	3	—	—	8	11	+	faible
	4	—	—	11	11	+	faible
	5	—	—	12	1	—	moyen
	6	—	—	9	9	+	faible
Li.8 Y.1	1	—	—	11	7	+	bon
	2	—	—	3	3	+	moyen
	3	faible	+	3	4	+	moyen
	4	faible	—	—	1	—	faible
	5	—	—	13	1	—	moyen
	6	—	—	11	6	+	moyen
Li.12 Y.2	1	—	—	6	5	+	moyen
	2	—	—	10	6	+	faible
	3	—	—	5	5	+	bon
	4	—	—	3	5	+	bon

TABLEAU VIII. — *Descendances hybrides* (suite).

Clone	Fleur	Taux de fécondation	1 ^{er} stade de fécondation	ω	$\varphi + \sigma$	Noyaux polaires + σ	Développement des ovules
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Li.23 Y.1	1	—	—	18	1	—	bon
	2	—	—	22	—	—	bon
Li.24 Y.1	1	—	—	4	4	+	faible
	2	—	—	—	1	—	moyen
	3	—	—	—	3	+	bon
	4	—	—	7	1	—	bon
	5	—	—	4	—	+	moyen
	6	moyen	—	4	2	—	bon
	7	—	—	9	3	—	bon
	8	—	—	8	18	+	faible
	9	—	—	7	5	+	bon
Li.28 Y.1	1	—	+	3	1	+	faible
	2	—	—	4	8	+	moyen
	3	faible	+	1	2	+	faible
	4	—	—	10	4	+	bon
	5	—	—	4	7	+	bon
Li.28 Y.2	1	—	—	4	1	—	moyen
	2	—	—	4	1	—	moyen
Li.29 Y.1	1	—	—	4	9	+	moyen
	2	—	—	4	—	+	moyen
	3	—	—	16	5	+	moyen
Li.30 Y.1	1	—	—	2	9	+	faible
	2	—	—	8	3	+	moyen
	3	—	—	4	2	+	faible
Li.30 Y.2	1	—	—	2	3	+	faible
	2	—	—	6	5	+	faible
	3	—	—	6	3	+	moyen
	4	—	—	5	6	+	moyen
	5	—	—	4	2	+	moyen
	6	—	—	11	5	+	faible
	7	faible	+	2	3	+	faible
	8	—	—	7	6	+	moyen
	9	—	—	10	10	+	moyen
	10	—	—	12	4	+	moyen
	11	—	—	9	5	+	moyen

TABLEAU VIII. — *Descendances hybrides* (suite).

Clone	Fleur	Taux de fécondation	1 ^{er} stade de fécondation	ω	$\text{♀} + \text{♂}$	Noyaux polaires + ♂	Développement des ovules
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
E.85 Y.1	1	—	+	12	—	—	faible
	2	—	—	21	—	—	faible
	3	—	+	9	—	—	faible
	4	—	—	8	—	—	bon
	5	—	—	23	—	—	moyen
E.86 Y.1	1	—	—	6	—	—	moyen
	2	—	—	9	—	—	moyen
	3	—	+	17	—	—	faible
	4	—	—	4	—	—	moyen
	5	—	—	2	—	—	moyen
	6	—	—	15	—	—	faible
	7	—	—	12	—	—	faible
E.117 Y.1	1	—	+	4	2	—	faible
	2	—	+	7	2	—	faible
E.194 Y.1	1	—	+	4	4	+	faible
	2	—	—	6	7	+	moyen
E.247 Y.1	1	—	—	10	6	+	moyen
	2	—	—	9	2	+	moyen
	3	—	—	6	4	+	moyen
E.254 Y.1	1	—	—	6	1	—	bon
	2	—	—	5	1	+	bon
	3	—	—	6	7	+	moyen
	4	—	—	6	4	+	moyen
E.254 Y.2	1	—	—	11	8	+	moyen
	2	—	—	5	5	+	moyen
	3	—	—	5	5	+	faible
E.256 Y.1	1	—	—	4	2	—	bon
	2	—	—	2	5	+	moyen
E.303 Y.1	1	—	—	—	2	+	bon
	2	—	+	4	2	+	faible
	3	—	—	6	4	+	faible
E.367 Y.1	1	—	+	14	—	—	faible
	2	—	+	14	—	—	faible

TABLEAU VIII. — *Descendances hybrides* (suite).

Clone	Fleur	Taux de fécondation	1 ^{er} stade de fécondation	ω	$\varphi + \sigma$	Noyaux polaires + σ	Développement des ovules
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
E.367 Y.2	1	—	—	3	4	+	moyen
	2	—	+	2	3	+	faible
	3	—	—	3	2	+	moyen
	4	—	—	1	1	+	moyen
E.460 Y.1	1	faible	—	3	17	+	moyen
	2	—	—	5	3	+	moyen
	3	—	—	10	2	+	bon
	4	—	—	4	2	+	moyen
	5	—	—	5	4	+	moyen
	6	—	—	11	6	+	faible
	7	—	+	11	2	+	faible
	8	—	—	13	1	+	faible
E.460 Y.2	1	faible	+	2	4	+	faible
	2	—	—	8	2	+	moyen
	3	—	+	12	5	+	faible
	4	—	+	10	5	+	faible
	5	—	+	5	1	+	faible
E.1504 Y.1	1	—	—	7	6	+	bon
	2	—	—	3	2	+	bon
	3	—	—	4	4	+	bon
E.1553 Y.1	1	—	—	5	3	+	bon
	2	faible	—	3	1	+	bon
	3	—	—	—	4	+	bon
E.1884 Y.1	1	—	—	5	4	—	moyen
	2	—	—	8	6	+	bon
	3	—	—	8	7	+	moyen
	4	—	—	12	3	+	moyen
E.2616 Y.2	1	—	—	7	—	—	bon
	2	—	—	3	—	—	bon
	3	—	—	7	—	—	bon
	4	—	—	6	—	—	bon
	5	—	—	20	—	—	bon
E.2914 Y.1	1	faible	—	2	1	+	faible
	2	—	+	2	3	+	faible
	3	faible	+	2	1	—	faible
	4	faible	+	—	1	—	faible

TABLEAU VIII. — *Descendances hybrides (suite).*

Clone	Fleur	Taux de fécondation	1 ^{er} stade de fécondation	ω	$\varphi + \sigma$	Noyaux polaires + σ	Développement des ovules
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
E.3386 Y.1	1	—	—	3	4	+	moyen
	2	—	—	1	5	+	moyen
	3	—	—	3	3	+	moyen
	4	—	—	6	5	+	moyen
	5	—	—	5	3	+	moyen
	6	—	—	4	3	+	moyen
E.3421 Y.1	1	—	—	2	4	+	faible
	2	—	—	8	6	+	faible
	3	—	+	2	1	+	faible
	4	faible	—	1	1	—	moyen
E.3578 Y.1	1	—	—	4	—	—	faible
	2	—	—	6	—	—	moyen
	3	—	—	8	—	—	moyen
	4	—	—	6	—	—	moyen
	5	—	—	10	—	—	bon
E.3584 Y.1	1	—	—	5	2	+	bon
	2	faible	+	1	1	—	faible
	3	—	—	5	4	+	bon
	4	—	—	5	2	+	faible
E.3609 Y.2	1	—	—	2	1	+	moyen
	2	—	—	6	7	+	faible
E.3827 Y.2	1	—	—	5	—	—	bon
	2	—	—	6	—	—	moyen
	3	—	—	10	—	—	bon
	4	—	—	7	—	—	bon
	5	—	—	11	—	—	bon
	6	—	—	3	—	—	moyen
	7	faible	—	5	—	—	moyen
E.3827 Y.3	1	—	—	3	4	+	bon
	2	—	—	2	3	+	bon
	3	—	—	5	6	+	moyen
	4	—	—	9	3	+	moyen

§ 3. *Classification des clones et commentaires.*

Parmi les cinquante-six clones analysés, une première distinction doit être faite entre les descendances Forastero et les clones qui proviennent d'hybrides Forastero × Criollo.

Des vingt-quatre clones Forastero en observation à la Division du Caféier et du Cacaoyer, nous en avons étudié huit. Dans toutes les fleurs, on trouve un zygote binucléolé dans un nombre variable d'ovules, mais jamais de gamète mâle accolé au noyau de l'oosphère ou rapproché des noyaux polaires. Le développement des ovules fécondés est presque toujours satisfaisant, le sac embryonnaire est gonflé et contient généralement quatre noyaux endospermiques. Chez certains clones, le développement des ovules est parfois moindre, mais quelques fleurs des mêmes individus atteignent un niveau aussi élevé que les autres. Il est certain que les huit clones étudiés sont autocompatibles, et il est peu probable que d'autres individus Forastero soient autostériles; les taux de réussite des autofécondations sont, en effet, au moins aussi élevés chez les clones non testés.

Nous avons d'autre part examiné des fleurs autopollinisées de 48 clones hybrides. Onze seulement sont autofertiles, les autres sont plus ou moins nettement autostériles (tableau IX).

En général, l'incompatibilité est bien caractérisée, toutes les fleurs d'un même clone ont des gamètes non fusionnés dans un pourcentage important de leurs ovules. Dans quelques clones cependant, cette caractéristique de l'incompatibilité est observée plus rarement (M.62 Y.1475, Li.28 Y.2); dans un autre clone (M.48 Y.1156), deux fleurs seulement sont typiquement incompatibles, deux autres n'ont pas de gamètes non fusionnés, mais le nombre des ovules complètement fécondés est faible et les sacs embryonnaires sont peu développés. Ce clone est donc autostérile, de même que les deux précédents.

Chez les hybrides autofertiles, comme chez les Forastero, les ovules sont en général très développés, bien que dans certains clones, les variations soient grandes. Peut-être existe-t-il des différences individuelles quant à la vitesse de développement des ovules et quant à l'importance de la fécondation (clones Li.6 Y.2 et E.85 Y.1); à côté d'arbres parfaitement autocompatibles, il peut en exister d'autres qui, sans manifester de l'autostérilité au niveau des gamètes, produisent avec une facilité plus ou moins grande, des fruits après autopollinisation et peuvent donc caractériser différents degrés d'autofertilité. D'autre part, nous rangeons parmi les clones autofertiles Li.23 Y.1, bien que dans une fleur nous ayons trouvé un noyau mâle

accolé à l'oosphère. Ce noyau est unique et probablement accidentel; dans le même ovule, le noyau endospermique est présent et subit la première mitose triploïde.

La variabilité est surtout importante parmi les clones autostériles, où la manifestation cytologique de l'incompatibilité atteint des niveaux très divers; dans E.1504 Y.1 et E.1553 Y.1, la plupart des ovules, dans toutes les fleurs étudiées, se développent aussi rapidement que chez les clones les plus typiquement autofertiles, mais, dans toutes ces fleurs, on trouve des gamètes non fusionnés. Chez E.2914 Y.1, il y a aussi des noyaux accolés, mais les ovules ne s'accroissent pas après quatre jours, et le taux d'ovules atteints par un tube pollinique est presque toujours faible; en outre, la fécondation est souvent limitée à l'entrée du tube pollinique dans une synergide et beaucoup de fleurs ne sont pas fécondées.

Entre ces cas extrêmes une série de cas intermédiaires existent, ils sont parfois difficiles à classer; plusieurs clones ont un développement moyen, la plupart des sacs embryonnaires contenant deux noyaux endospermiques, et semblable dans toutes les fleurs. Chez d'autres, la variabilité est beaucoup plus forte; certains ovaires n'ont aucun développement, d'autres sont fortement accrues.

L'observation du développement des ovules fécondés permet de grouper les clones en trois catégories : 14 sont faiblement, 16 moyennement et 7 fortement autostériles. Ces classes sont bien définies pour certains d'entre eux, mais pour beaucoup, elles sont très discutables et l'examen d'un plus grand nombre de fleurs apporterait certainement des modifications.

La distinction entre trois catégories résulte uniquement de l'observation cytologique du développement des ovules et ne signifie pas nécessairement qu'en pratique, l'autostérilité présente des niveaux différents. Dans l'ensemble cependant, il semble qu'il existe une certaine corrélation entre les deux phénomènes : les fleurs autopollinisées tombent plus rapidement, et parmi celles qui sont récoltées après quatre jours, un plus grand nombre ne sont pas fécondées chez un clone fortement autostérile comme E. 2914 Y.1 que chez des clones faiblement autoincompatibles.

Chez les clones hybrides, le nombre des autostériles est donc important; près de 80 % des clones observés sont autoincompatibles; ces 37 clones constituent la moitié de tous ceux qui sont pris en observation. Parmi ceux qui n'ont pas été étudiés cytologiquement, quelques autres sont sans doute aussi autostériles; au total donc, il est certain que plus de 50 % des clones hybrides retenus sont autoincompatibles.

TABLEAU IX. — *Classification des clones testés.*

Clone	Nombre de fleurs	Nombre de zygotes	Nombre ♀ + ♂	Compatibilité ou incompatibilité
F.10 Y.2	7	69	—	autofertile
F.10 Y.3	6	57	—	autofertile
F.996 Y.10	6	38	—	autofertile
F.2519 Y.3	5	23	—	autofertile
F.2519 Y.4	4	47	—	autofertile
F.2590 Y.3	6	62	—	autofertile
F.2828 Y.5	2	25	—	autofertile
F.3236 Y.2	5	36	—	autofertile
M.40 Y.414	3	7	11	faiblement autostérile
M.41 Y.455	6	71	—	autofertile
M.41 Y.457	5	16	18	faiblement autostérile
M.43 Y.1541	7	59	43	faiblement autostérile
M.48 Y.1156	4	14	7	fortement autostérile
M.48 Y.1160	4	16	—	autofertile
M.48 Y.1172	3	9	7	fortement autostérile
M.48 Y.1224	3	6	9	moyennement autostérile
M.62 Y.250	4	14	13	faiblement autostérile
M.62 Y.1475	5	55	6	faiblement autostérile
Li.2 Y.1	4	34	—	autofertile
Li.6 Y.2	6	73	—	autofertile
Li.6 Y.4	2	18	10	moyennement autostérile
Li.6 Y.5	6	65	44	fortement autostérile
Li.8 Y.1	6	41	22	moyennement autostérile
Li.12 Y.2	4	24	21	faiblement autostérile
Li.23 Y.1	2	40	1	autofertile
Li.24 Y.1	9	43	37	faiblement autostérile
Li.28 Y.1	5	22	22	faiblement autostérile
Li.28 Y.2	2	8	2	moyennement autostérile
Li.29 Y.1	3	24	14	moyennement autostérile
Li.30 Y.1	3	14	14	moyennement autostérile
Li.30 Y.2	11	74	52	moyennement autostérile
E.85 Y.1	5	73	—	autofertile
E.86 Y.1	7	65	—	autofertile
E.117 Y.1	2	11	4	fortement autostérile
E.194 Y.1	2	10	11	moyennement autostérile
E.247 Y.1	3	25	12	moyennement autostérile
E.254 Y.1	4	23	13	faiblement autostérile
E.254 Y.2	3	21	18	moyennement autostérile
E.256 Y.1	2	6	7	faiblement autostérile
E.303 Y.2	3	10	8	moyennement autostérile
E.367 Y.1	2	28	—	autofertile
E.367 Y.2	4	9	10	moyennement autostérile
E.460 Y.1	8	62	37	moyennement autostérile
E.460 Y.2	5	37	17	fortement autostérile
E.1504 Y.1	3	14	12	faiblement autostérile

TABLEAU IX. — *Classification des clones testés (suite).*

Clone	Nombre de fleurs	Nombre de zygotes	Nombre ♀ + ♂	Compatibilité ou incompatibilité
E.1553 Y.2	3	8	8	faiblement autostérile
E.1844 Y.1	4	33	20	moyennement autostérile
E.2616 Y.2	5	43	—	autofertile
E.2914 Y.1	4	6	6	fortement autostérile
E.3386 Y.1	6	22	23	moyennement autostérile
E.3421 Y.1	4	13	12	fortement autostérile
E.3578 Y.1	5	34	—	autofertile
E.3584 Y.1	4	16	9	faiblement autostérile
E.3609 Y.2	2	8	8	moyennement autostérile
E.3827 Y.2	7	47	—	autofertile
E.3827 Y.3	2	19	16	faiblement autostérile

Les sacs embryonnaires où l'on peut reconnaître des gamètes non fusionnés ou un zygote, ne constituent qu'un taux assez faible de l'ensemble des ovules de la fleur (qui sont 40 à 45 en moyenne) et même du nombre total d'ovules fécondés.

Chez les clones autofertiles, 94 fleurs ont été examinées; on a observé en moyenne 9,4 zygotes par ovaire; cette moyenne n'est guère différente chez les Forastero et chez les clones hybrides : 8,7 et 9,9.

Parmi les 153 fleurs autoincompatibles, on détecte, dans 9,6 ovules par fleur en moyenne, le zygote ou un noyau femelle accompagné d'un gamète mâle. Dans aucun de ces clones, l'absence de la fusion gamétique n'est totale; pour presque toutes les fleurs, la syngamie n'est réalisée que dans certains ovules. Chez certains clones, le nombre de noyaux fusionnés est très inférieur à celui des zygotes (M.62 Y.1475) et il ne le dépasse jamais notablement. Au total, nous avons reconnu la nature du noyau de l'oosphère dans 1.469 ovules; dans 41 % de ces ovules, les gamètes ne sont pas fusionnés, dans 59 %, on voit un zygote avec deux nucléoles. Le taux est à peu près le même pour chacune des catégories d'incompatibilité : faible (42 %), moyenne (41 %) et forte (39 %).

§ 4. *Croisements entre clones autostériles.*

Les croisements entre clones autostériles sont généralement considérés comme incompatibles. Rappelons que cette règle a des exceptions; des cacaoyers autostériles introduits d'Amazonie sont

souvent compatibles entre eux [POSNETTE, 1945]; il en est de même des arbres étudiés par MÜNTZING [1947].

Quelques croisements ont été faits à Yangambi entre des clones déterminés comme autostériles. De même que pour l'étude des autopollinisations, on a fixé les fleurs quatre jours après le dépôt du pollen et nous avons réalisé les mêmes observations (tableau X).

TABLEAU X.
Croisements entre clones autostériles.

Clone	Fleur	ω	$\text{♀} + \text{♂}$	Noyaux polaires + ♂	Développement des ovules
E.194 Y.1 × E.3384 Y.1	1	8	3	+	moyen
	2	10	2	—	moyen
	3	5	7	+	moyen
	4	5	6	+	bon
	5	5	5	+	moyen
Li.12 Y.2 × E.367 Y.2	1	3	6	+	moyen
	2	8	3	+	moyen
	3	3	4	+	moyen
	4	1	2	+	moyen
	5	6	6	+	moyen
E.254 Y.2 × Li.30 Y.2	1	13	7	+	moyen
Li.28 Y.1 × E.3827 Y.3	1	8	6	+	bon
	2	13	5	+	bon

Les observations effectuées pour ces quatre croisements confirment l'opinion générale : toutes les fleurs possèdent des critères très nets d'incompatibilité. Comme pour les autopollinisations, les zygotes s'observent plus fréquemment que les gamètes non fusionnés; ici aussi, les deux chiffres totalisent 59 et 41 % de l'ensemble.

Rappelons que les croisements réciproques entre les clones E.1504 Y.1 et E.2914 Y.1 sont également stériles.

CHAPITRE V

PLACE DU CACAOYER DANS LES TYPES D'INCOMPATIBILITÉ

§ 1. *Stérilité et incompatibilité.*

Une grande confusion existe dans l'emploi des mots autostérilité et incompatibilité et dans les définitions qu'en donnent généralement les auteurs. Les uns utilisent exclusivement le premier terme, d'autres appliquent le second aux mêmes plantes ou à des observations semblables; quelques-uns encore emploient indifféremment l'un ou l'autre. Avant de discuter le type d'autostérilité ou d'autoincompatibilité de *Theobroma cacao*, il est donc utile de donner une définition acceptable de ces termes.

Suivant BRIEGER [1930], on doit parler de stérilité quand un individu est incapable de se reproduire par voie sexuelle, et de parastérilité quand des croisements déterminés ou des autofécondations sont stériles pour des individus dont les cellules sexuelles sont parfaitement fonctionnelles.

Le terme autostérilité a été donné à l'origine à un système de fécondation, chez les plantes hermaphrodites, où tous les individus produisent des gamétophytes mâles et femelles normalement fonctionnels et ne donnent pas de zygotes par autofécondation; dans la suite cependant, on a préféré le terme incompatibilité (croisement compris) à cause de l'association du terme stérilité aux cas où l'un ou l'autre des deux gamétophytes est stérile ou inviable [LEWIS, 1954 a].

La stérilité désigne un ensemble de phénomène très divers; elle est liée à la production de gamètes non fonctionnels et de zygotes non viables [KNIGHT, 1948].

La définition de l'autoincompatibilité donnée par HAYES, IMMER et SMITH [1955] est simple : c'est un empêchement physiologique à l'autofécondation.

Selon EAST [1940], l'autoincompatibilité (autostérilité ou parastérilité) est prouvée si la fertilité moyenne, pour un groupe de plantes produites par voie sexuelle, est réduite de 75 % au moins quand une autopollinisation efficace est réalisée, la plante étant isolée. Il

faut, pour qu'il y ait autostérilité, que le pollen soit bon, qu'il soit mûr au moment où le stigmate est réceptif et que celui-ci reçoive assez de pollen.

STOUT [1938] attribue à l'autoincompatibilité un sens plus restreint; il n'applique ce terme qu'aux plantes dont les fleurs sont homomorphes, dotées d'organes reproducteurs fonctionnels et ne présentent pas d'obstacles à l'autopollinisation (1). De même, GAGNIEU [1950] n'utilise cette expression que pour les plantes autostériles homomorphes.

KNIGHT [1948] apporte une autre restriction en faisant intervenir la manière dont la stérilité se manifeste; l'incompatibilité est l'impossibilité pour le pollen de féconder parce que les tubes polliniques sont arrêtés dans le style et ne peuvent atteindre les ovules.

LEWIS [1949] considère aussi l'absence de fécondation des ovules comme l'un des principaux critères d'incompatibilité. Chez le cacaoyer, comme chez les autres plantes où la stérilité apparaît après la fécondation, il ne s'agit pas d'une véritable incompatibilité. Selon LEWIS, une autre raison de voir chez le cacaoyer une forme de stérilité, plutôt qu'une véritable incompatibilité, est l'existence de lignées autostériles et interstériles et de lignées autofertiles. Plus tard, le même auteur [1954 c] affirme cependant que la dégénérescence qui se manifeste après la fécondation, signalée pour le cacaoyer, est provoquée par un authentique système d'incompatibilité.

Malgré ces diverses restrictions, il semble que le terme incompatibilité doit être pris dans un sens assez large et s'applique à *Theobroma cacao*. La présence dans l'espèce d'individus autocompatibles ne change rien aux caractères des plantes autoincompatibles, si le comportement de celles-ci est identique à celui des individus d'autres espèces entièrement autoincompatibles.

Quant à l'endroit où se manifeste l'incompatibilité, sa variation peut refléter la précocité plus ou moins grande d'un phénomène de nature semblable. Il n'y a pas de distinction précise entre l'inhibition sur le stigmate, dans le style et dans l'ovaire, avant ou après la fécondation. Chez *Theobroma cacao* d'ailleurs, la stérilité se manifeste partiellement dès avant la fécondation de l'ovule, ce qui est un caractère typique de l'incompatibilité. Mais on observe, dans les mêmes fleurs, l'absence de fusion de noyaux maternels et paternels en présence; ceci constitue encore un caractère d'incompatibilité pour certains

(1) La structure de la fleur de *Theobroma* présente des obstacles à l'autofécondation naturelle [BATEMAN, 1954].

[LEWIS, 1949], mais pas pour d'autres [KNIGHT]. Dans certains ovules de la même plante et de la même fleur enfin, la dégénérescence apparaît après la formation complète du zygote et de l'endosperme.

Quant au terme stérilité, son sens est encore plus large et il englobe non seulement l'incompatibilité, mais aussi d'autres phénomènes. En pratique cependant, l'autostérilité correspond à l'autoincompatibilité. Parastérilité est généralement utilisé dans le même sens, mais son emploi est peu fréquent.

§ 2. Localisation des phénomènes d'incompatibilité.

Parmi les nombreuses plantes autostériles, les manifestations physiologiques de l'incompatibilité sont très variables. On les divise en général en trois catégories [DILLEMAN, 1948] :

- (a) inhibition de la germination du pollen sur le stigmate;
- (b) ralentissement de la croissance des tubes polliniques dans le style;
- (c) troubles postérieurs à la fécondation.

Dans le premier cas (a), la surface stigmatique est le seul obstacle à la fécondation : sa suppression permet la germination du pollen et la fécondation [GAGNIEU, 1950].

La localisation de l'inhibition dans le style (b) est la plus fréquente. Les tubes polliniques sont complètement bloqués, ou leur croissance est tellement ralentie qu'ils n'ont pas atteint l'ovaire quand la fleur tombe; leur extrémité peut se renfler ou présenter diverses malformations et même se rompre [LEWIS, 1944; DEVREUX, VALLEYS, POCHE et GILLES, 1959].

Dans le troisième cas (c), les ovules sont fécondés, mais dégèrent ensuite. La diversité des situations décrites incite à admettre que l'obstacle à la fertilité n'est pas seulement une inhibition du fonctionnement des gamètes, mais plus généralement une barrière au développement de certaines combinaisons de gamètes [GAGNIEU, 1950]. L'exemple le plus connu est celui de *Gasteria*, décrit par SEARS en 1937. D'autres plantes se classent probablement dans cette catégorie; leur comportement varie et plusieurs présentent avec *Theobroma cacao* l'un ou l'autre point de comparaison.

Chez les espèces autostériles de *Lilium*, les tubes polliniques atteignent normalement la base du style; la réaction d'incompatibilité apparaît donc très tard, peut-être après la fécondation [BROCK, 1954]. Dans ce genre, ainsi que chez *Freesia* et *Narcissus*, l'autostérilité ne s'accompagne pas d'un ralentissement détectable de la croissance des tubes polliniques [BATEMAN, 1954].

Les diverses formes de *Hemerocallis* appartiennent à plusieurs type d'autoincompatibilité [STOUT et CHANDLER, 1933]; ce sont l'arrêt des tubes polliniques au sommet du style, l'inhibition définitive ou temporaire à la partie supérieure de l'ovaire ou la pénétration directe dans celui-ci. Dans ce dernier cas, les réactions d'incompatibilité doivent être localisées à un stade tardif, soit avant, soit après la fécondation.

Les *Reseda* ne possèdent pas de style, mais des surfaces stigmatiques localisées au sommet, non soudé, des carpelles. La croissance des tubes polliniques est normale après l'autopollinisation; les facteurs responsables de la stérilité doivent donc être recherchés ailleurs [EIGSTI, 1937].

Le degré d'autostérilité est très variable chez *Beta vulgaris*, où certains types intermédiaires se comportent comme des individus autofertiles, mais ne produisent pas de graines viables, probablement par suite de l'avortement des embryons [OWEN, 1942]. Une étude réalisée par SAVITSKY [1950] établit que chez cette espèce, l'autostérilité a plusieurs origines : la lenteur des tubes polliniques en croissance, la destruction du zygote non divisé ou la dégénérescence du jeune embryon.

Chez *Medicago sativa*, l'autostérilité n'est que partielle; elle a été étudiée en détail par COOPER et BRINK [1940]. Le nombre des ovules fécondés est moindre après autopollinisation qu'après croisement et beaucoup d'ovules autofécondés dégèrent. Le développement embryonnaire est régulier, mais le tégument interne s'accroît anormalement, tandis que l'endosperme se divise trop lentement et dégère [BRINK et COOPER, 1939; 1940]. Ces auteurs désignent ces anomalies sous le nom de stérilité somatoplastique.

Bien que l'étude des phénomènes soit incomplète dans plusieurs cas, il n'est pas exceptionnel de rencontrer des plantes chez lesquelles il existe une incompatibilité, totale ou partielle, alors que les tubes polliniques sont capables d'atteindre l'ovaire et les ovules. Les faits observés chez *Theobroma cacao* rappellent l'absence de fusion nucléaire chez *Gasteria*. Le taux d'ovules fécondés est moindre après autopollinisation et certains ovules parfaitement fécondés dégèrent ensuite comme chez *Beta* et *Medicago*; chez cette dernière espèce toutefois, l'embryon est beaucoup plus précoce et les modifications subies par l'ovule sont plus complexes.

§ 3. *Les systèmes d'incompatibilité.*

L'autoincompatibilité et l'incompatibilité croisée sont connues chez beaucoup de plantes. Parmi celles-ci, deux catégories se distinguent nettement. Il y a incompatibilité hétéromorphique quand les plantes

d'une même espèce sont réparties entre deux ou plusieurs types morphologiques (hétérostylie), les croisements n'étant fertiles qu'entre des individus appartenant à des types différents. L'incompatibilité est homomorphique chez les espèces où n'existent pas ces différenciations.

Dans la plupart des cas, l'étude génétique explique l'incompatibilité par l'existence d'un gène de stérilité, désigné par « S », dont le nombre d'allèles est variable et souvent très élevé. La manière dont les allèles influencent la fécondation varie suivant l'espèce en cause; on distingue ainsi deux systèmes d'incompatibilité homomorphique. Dans le système gamétophytique, la réaction du pollen (et éventuellement du sac embryonnaire) dépend uniquement de l'allèle dont il est porteur; la fécondation est impossible chaque fois qu'un grain de pollen rencontre un tissu maternel qui possède le même allèle que le sien. Dans le système sporophytique, les deux allèles du sporophyte (diploïde) qui produit les spores, sont responsables du comportement de celles-ci. On suppose que les noyaux diploïdes ont agi sur le cytoplasme avant les divisions réductionnelles et que leur influence persiste de la même façon dans les gamétophytes porteurs de l'un ou de l'autre allèle. PANDEY [1958] précise que l'action des gènes de stérilité se situe plutôt après la méiose, mais les substances sont produites par les noyaux haploïdes avant leur isolement par des parois cellulaires et peuvent donc se mélanger dans le cytoplasme qui sera réparti entre les quatre microspores. Les phénomènes sont plus complexes que dans la première alternative; en effet, les allèles en cause sont susceptibles ou non de montrer de la dominance et leurs interactions diffèrent parfois dans le style et dans le pollen.

Le système d'incompatibilité du cacaoyer est homomorphique, puisqu'on ne connaît pas de différenciations florales entre des types autostériles et interfertiles. La seule étude génétique réalisée à ce jour est due à KNIGHT et ROGERS [1955]; ces auteurs, qui ont observé la descendance de cacaoyers introduit d'Amazonie, ont distingué trois groupes de plants autostériles. Les individus qui constituent chaque groupe sont stériles entre eux, mais certains croisements entre groupes sont fertiles. Les conclusions suivantes découlent des croisements et recroisements réalisés entre les groupes :

- Le succès ou l'échec d'un croisement dépend de la constitution diploïde des deux parents;
- Dans la population étudiée, cinq allèles, situés au même locus, sont en cause;
- Certains allèles sont dominants sur d'autres suivant l'ordre $S_1 > S_2 = S_3 > S_4 > S_5$, et la dominance est la même pour les organes mâles et femelles.

A la suite de ces expériences, les chercheurs attribuent l'incompatibilité de *Theobroma cacao* au type homomorphique sporophytique; les croisements sont fertiles ou stériles suivant les allèles « S » portés par les individus parentaux diploïdes (sporophytes).

Connaissant les observations cytologiques de COPE [1940 c] ainsi que celles de KNIGHT et de ROGERS, LEWIS [1954 a] suppose que seul un système sporophytique est possible quand l'incompatibilité est basée sur une inhibition de la fusion nucléaire au niveau des noyaux polaires. En effet, s'il s'agit d'un contrôle gamétophytique, la dissociation des allèles à la méiose donne des gamétophytes mâles et femelles capables de se fusionner; un grain de pollen S_1 est compatible avec un sac embryonnaire S_2 , de même qu'un grain S_2 avec un sac embryonnaire S_1 ; l'autopollinisation permettrait la fécondation efficace de la moitié des ovules [LEWIS, 1954 c].

CROWE [1954] estime qu'une inhibition tardive n'est possible qu'avec un contrôle sporophytique du comportement pollinique; l'incompatibilité est due à une réaction entre le cytoplasme des sacs embryonnaires et des tubes polliniques, réaction qui interdit le développement normal de l'embryon, ou de l'endosperme, ou des deux. Après une pollinisation incompatible, le sort des gamètes de génotype différent est semblable, puisque leur cytoplasme est identique.

Cependant, LEWIS [1956] confirme que, chez *Theobroma*, les gènes qui ont influencé le noyau mâle avant la méiose sont responsables de sa fusion éventuelle avec un noyau œuf particulier; c'est un système où, théoriquement, on pourrait trouver un contrôle sporophytique seulement pour le pollen ou pour les sacs embryonnaires.

BATEMAN [1954] fait siennes aussi les conclusions de KNIGHT et ROGERS concernant le contrôle pollinique sporophytique; à son avis, ce type d'incompatibilité retardée est théoriquement capable de fonctionner au niveau gamétophytique. On pourrait même concevoir une inhibition gamétophytique pour le sac embryonnaire et le pollen. Après autofécondation, les combinaisons homozygotes pour les allèles « S » seraient létales et seules les combinaisons hétérozygotes pourraient exister dans la graine.

On voit que les opinions et interprétations théoriques varient suivant les auteurs. A priori, une manifestation tardive de l'incompatibilité ne doit pas être liée nécessairement à un système sporophytique comme le pense CROWE. Chez le cacaoyer, en effet, on peut attribuer un rôle aussi important aux noyaux qu'au cytoplasme. Si le blocage du tube pollinique dans la synergide et l'absence d'émission de ses noyaux peut indiquer une réaction entre les cytoplasmes des cellules mâle et femelle, l'impossibilité pour des noyaux accolés de produire

des zygotes et des noyaux endospermiques peut être attribuée à la nature de ces noyaux. Cette deuxième possibilité s'explique le plus facilement par un contrôle gamétophytique; dans le premier cas, les deux systèmes sont également susceptibles d'intervenir, car les propriétés du cytoplasme peuvent avoir été induites aussi bien après qu'avant la réduction.

LEWIS [1954 *a*] estime que seul un système sporophytique est possible chez le cacaoyer; son raisonnement repose cependant sur des données inexactes. En effet, COPE n'a pas observé une absence totale de fusion nucléaire après les pollinisations incompatibles; certains gamètes ne se fusionnent pas, mais il y a des zygotes binucléolés; quant à l'endosperme, il se divise plus tard et plus lentement, mais il est donc parfois présent. De même, si KNIGHT et ROGERS n'ont pas observé la fusion de l'oosphère et du premier gamète mâle, ils ont vu la fusion du deuxième noyau spermatique avec les polaires.

Dans le matériel que nous avons étudié, nous avons observé, après chaque pollinisation incompatible, un mélange d'ovules où les fusions nucléaires sont complètes et d'autres où elles n'ont pas eu lieu et ce, dans presque toutes les fleurs et dans toutes les combinaisons incompatibles.

La présence de noyaux non fusionnés n'implique donc pas, comme le pense LEWIS, que le système d'incompatibilité est sporophytique. Au contraire, puisque, en plus de ces noyaux non fusionnés, on trouve dans les fleurs autopolinisées un nombre aussi important de zygotes, la situation s'explique par un système gamétophytique. La plante, hétérozygote pour les allèles d'incompatibilité, produit, lors de la réduction, un nombre égal de spores (et de gamètes), qui possèdent chacun des allèles. Après l'autofécondation, 50 % des ovules reçoivent des gamètes mâles dont l'allèle « S » est semblable à celui des noyaux du sac embryonnaire; les fusions nucléaires sont impossibles dans ces ovules. Par contre, les caryogamies doivent être normales quand les deux allèles en présence sont différents.

BREWBAKER [1957 *a* et *b*] remarque, chez les plantes où les différents processus sont connus, une relation nette entre le système d'incompatibilité, l'endroit où celle-ci se manifeste et le type du grain de pollen. Dans le système sporophytique, l'inhibition du pollen a lieu sur le stigmate et les grains de pollen sont binucléés; par contre, les plantes où l'incompatibilité est gamétophytique ont un pollen trinuécléé et l'inhibition est tardive (dans le style). L'incompatibilité sporophytique est provoquée par l'action précoce du gène « S », avant la méiose; elle s'accompagne d'une division précoce du noyau génératif et d'une inhibition de la germination du pollen.

PANDEY [1958] explique cette relation de la façon suivante. Dans le système sporophytique, les noyaux haploïdes produisent des substances spécifiques dans un cytoplasme commun, où se forment ensuite les parois des microspores; la réaction d'incompatibilité se manifeste dès la germination, au contact du pollen avec le stigmate. L'activité nucléaire étant précoce, le pollen est trinué. Dans le système gamétophytique, les substances sont produites à l'intérieur de la spore, après l'isolement de celle-ci; elles ne peuvent agir dès le dépôt du pollen sur le stigmate, mais seulement après un certain temps, par diffusion au travers de la paroi. L'activité nucléaire est tardive et le pollen est binué.

BREWBAKER [1957 b] signale que *Theobroma cacao* est la seule plante qui fait exception à la règle de l'inhibition stigmatique si cette espèce est considérée comme sporophytique. Rappelons que le pollen du cacaoyer est binué, le noyau génératif se divisant dans le tube pollinique; ceci concorde avec la manifestation tardive de l'incompatibilité, mais est en contradiction avec le système sporophytique.

Enfin, COPE [1958] estime inadéquate l'hypothèse de KNIGHT et de ROGERS, qui attribuent l'incompatibilité à une série d'allèles situés sur un même locus. Il suppose qu'il existe deux loci indépendants, l'un (Pp) qui intervient dans la production d'un « précurseur d'incompatibilité » et l'autre (S), qui confère la spécificité au précurseur. Le locus « Pp » est à dominance simple et agit avant la méiose; le locus « S » manifeste de l'allélomorphisme et agit après la méiose. Le système d'incompatibilité déterminé par les allèles « S » est donc effectivement gamétophytique, et non sporophytique comme on l'a admis précédemment.

Comparant la fusion ou l'absence de fusion des noyaux au comportement de gouttelettes d'huile dans une émulsion instable ou stable, BENNETT et COPE [1959] recherchent la cause fondamentale de l'incompatibilité chez le cacaoyer. Une substance, probablement de nature protéinique, serait adsorbée dans le cytoplasme du noyau mâle porteur d'un allèle dominant « S »; elle diffuserait vers les noyaux polaires et empêcherait la fusion, si ces noyaux sont porteurs du même allèle.

§ 4. Conclusions.

Les seuls faits génétiques qui plaident en faveur d'un système sporophytique chez *Theobroma cacao* sont les expériences de KNIGHT et de ROGERS. Les déductions et les opinions suscitées par ces observations sont discutables et n'étaient pas suffisamment cette hypothèse. Les caractères cytologiques semblent plutôt indiquer la présence d'un système gamétophytique; c'est la conclusion à laquelle est arrivé COPE en 1958.

Dans un système sporophytique, l'incompatibilité dépend des allèles présents dans les cellules somatiques de la plante. S'il existe un tel système où la stérilité se manifeste au moment de la fusion des gamètes, le comportement de tous les sacs embryonnaires et des grains de pollen d'un individu doit être uniforme. Au contraire, la réaction indépendante des divers ovules d'une fleur à l'égard du pollen produit par une même plante prouve sans ambiguïté possible le caractère gamétophytique de l'incompatibilité chez le cacaoyer. La réussite ou l'échec de la fécondation dépendent de la nature des noyaux haploïdes en présence.

Dans le matériel originaire du Haut-Amazone, KNIGHT et ROGERS signalent cinq allèles différents pour le même locus « S »; COPE en décèle un sixième. Chez les cacaoyers hybrides, du type « Trinitario », la plupart des exemples d'autostérilité que nous avons observés s'expliquent par la présence de deux allèles « S₁ » et « S₂ ». A la réduction, la plante produit 50 % de pollen « S₁ » et 50 % de pollen « S₂ »; il en va de même du côté du sac embryonnaire et de l'oosphère. A la fécondation, les trois combinaisons possibles: S₁ S₁, S₁ S₂, et S₂ S₂ sont produites avec les fréquences respectives de 25, 50 et 25 %. La rencontre de deux allèles semblables rend impossible la fusion des gamètes. Cette rencontre a lieu dans la moitié environ des ovules; dans les autres, le sac embryonnaire reçoit des noyaux mâles porteurs de l'allèle opposé et la fécondation peut être réalisée. Si le fruit parvient à maturité malgré l'avortement de nombreux ovules, toutes ses graines seront hétérozygotes pour le gène de stérilité. Elles donneront des plantes autostériles qui se comportent comme le clone de départ.

Si cette explication est exacte, les fusions nucléaires doivent se réaliser dans la moitié environ des ovules. Pour l'ensemble des fleurs observées, les oosphères incomplètement fécondées constituent 40 à 50 % du nombre des sacs embryonnaires où la distinction est possible; le taux est inférieur pour les noyaux polaires. Ces valeurs sont certainement inférieures à la réalité, car il est plus facile de déceler la présence des zygotes et surtout des noyaux endospermiques que de retrouver les minuscules gamètes accolés à des noyaux souvent partiellement détruits. Chez les clones E.1504 Y.1 et E.2914 Y.1, étudiés au chapitre III, les taux réels doivent être proches de 50 %. Il en va de même pour un grand nombre des clones considérés comme autostériles (chapitre IV). Dans aucun cas, l'inhibition de la fusion nucléaire n'affecte tous les ovules, ce qui se produit chez une plante qui a deux allèles « S » identiques.

Tous les croisements réalisés entre les clones autostériles sont stériles; les caractères observés rappellent les autopollinisations et la fréquence des noyaux non fusionnés est semblable. Ceci s'explique

par la similitude des gènes de stérilité chez tous ces clones car tous possèdent les mêmes allèles « $S_1 S_2$ » et il n'y a pas de différence entre les croisements et les autofécondations de ces clones.

L'existence d'un gène de stérilité avec deux allèles et le contrôle gamétophytique fournissent une explication satisfaisante à l'absence de fusion des noyaux. Deux autres faits restent à expliquer : la dégénérescence de certains ovules entièrement fécondés et le nombre plus ou moins réduit d'ovules atteints par un tube pollinique.

Les ovules fécondés puis dégénérés sont relativement rares. Ce sont peut-être des ovules inviabilés, à cause d'une fusion exceptionnelle entre les noyaux porteurs d'un même allèle : la présence de quelques zygotes imparfaits, où un nucléole reste très petit, pourrait expliquer la possibilité de cette fusion. La variabilité des cas de dégénérescence observés (agglomération des noyaux endospermiques, destruction du contenu nucléaire, affaissement du sac embryonnaire ou dessèchement des régions extérieures de l'ovule) peut indiquer d'autres causes, telles que le voisinage de nombreux ovules avortés et la mauvaise alimentation d'un ovaire dont l'activité est faible.

Les ovules qui ne sont pas atteints par un tube pollinique sont numériquement plus importants, surtout chez certains clones tel E. 2914 Y.l. Un facteur indépendant du gène « S » doit être responsable de l'arrêt de beaucoup de tubes polliniques dans l'ovaire, avant leur arrivée au sac embryonnaire. Ce facteur agit de façon différente suivant les clones et son effet varie aussi d'une fleur à l'autre. Le blocage fréquent du tube pollinique aussitôt après son entrée dans une synergide est probablement une manifestation de ce facteur plutôt que de la rencontre de gamètes porteurs du même allèle « S ».

La stérilité (au niveau du sac embryonnaire) de certains croisements entre clones autofertiles et autostériles pose un problème plus difficile. Si la nature du clone autostérile est effectivement déterminante, on peut supposer qu'un deuxième gène intervient, source d'une différenciation entre clones porteurs d'allèles de stérilité identiques. Dans le matériel étudié par COPE [1958], les croisements entre parents auto-compatibles et incompatibles donnent également des résultats variables ; l'auteur attribue ces différences au parent autofertile et fait intervenir un deuxième gène, « Pp ». Selon COPE, la présence de l'allèle dominant « P » est nécessaire à la manifestation du gène « S » et son absence entraîne l'autofertilité du plant ; « pp $S_1 S_2$ » est autofertile et le croisement de ce plant avec un autostérile (PP $S_1 S_2$ ou Pp $S_1 S_2$) peut être incompatible. Dans une autre catégorie d'arbres autofertiles, l'autocompatibilité est due, suivant COPE, à un allèle amorphe « Sf », homologue de « S_1 » et de « S_2 ». Les arbres « Sf Sf » sont donc compatibles avec tous les autres, autostériles et autofertiles, quel que soit l'état du gène précurseur.

La différence observée entre les croisements E.1504 Y.1 × F.2519 Y.2, E.1504 Y.1 × F.320 Y.1 et F.320 Y.1 × E.1504 Y.1 d'une part, les autofécondations et croisements de clones autostériles d'autre part, quant au taux d'ovules fécondés et à la présence de tubes polliniques arrêtés dans la synergide, est peut-être en relation avec la présence de ce deuxième gène. Les tubes polliniques sont arrêtés ou ralentis s'ils possèdent un allèle semblable à celui qui se trouve dans les cellules diploïdes de l'ovaire et de l'ovule.

Les observations sur l'incompatibilité apportent quelques conclusions théoriques, ce sont :

- 1° La stérilité est provoquée par un gène à contrôle gamétophytique qui agit sur les fusions nucléaires dans l'ovule.
- 2° Par suite du contrôle gamétophytique et de la localisation de son action, la stérilité se manifeste au niveau de l'ovule, et la stérilité qui se traduit par l'absence plus ou moins totale de fruits n'en est qu'une conséquence indirecte.
- 3° Il n'y a que deux allèles de stérilité dans la population étudiée.
- 4° Un autre facteur est responsable de la diminution du taux des ovules atteints par un tube pollinique.

La vérification des autres hypothèses et explications demande des observations et des travaux nombreux et difficilement réalisables.

De ce qui a été réalisé, on peut conclure que :

- 1° Il est théoriquement possible d'obtenir des semences qui proviennent de l'autofécondation de clones « autostériles »; ces graines donneront des plantes autostériles.
- 2° Les arbres autostériles ne peuvent produire par autopollinisation que des rendements nuls ou très faibles.
- 3° Les cacaoyers du type Forastero sont autofertiles; parmi les « Trinitario », la fréquence des individus autostériles est très élevée.
- 4° Les croisements entre les sujets autostériles du type « Trinitario » sont probablement tous stériles.
- 5° Les croisements entre les individus autofertiles et autostériles ne sont pas nécessairement compatibles.

RÉSUMÉ

1. On a étudié les divers stades de la fécondation et du développement de la graine chez *Theobroma cacao*. La double fécondation est terminée trois jours après la pollinisation; le noyau triploïde se divise presque aussitôt, tandis que le zygote subit sa première mitose vers le 55^e jour. Plus tard, l'embryon consomme tout l'endosperme au fur et à mesure de sa production.

2. L'autostérilité et l'incompatibilité croisée se matérialisent au niveau de l'ovule et du sac embryonnaire par plusieurs caractères :

- a) Diminution du taux d'ovules atteints par le pollen;
- b) Blocage du tube pollinique dans une synergide, qui empêche l'émission des noyaux mâles;
- c) Inhibition des fusions nucléaires entre les deux gamètes mâles et les noyaux du sac embryonnaire;
- d) Avortement d'ovules après une fécondation complète et un développement initial.

Les trois premiers phénomènes sont les plus fréquents et l'absence de fusion nucléaire est le caractère le plus régulier, mais elle ne s'observe que dans une certaine proportion des ovules, car d'autres sont normalement fécondés et développés.

3. Les clones autofertiles sont compatibles entre eux; les autostériles sont incompatibles; les croisements entre individus autofertiles et autostériles sont compatibles ou incompatibles.

4. Une méthode microscopique permet l'identification des clones autostériles; elle est basée sur la présence, chez ces plantes, de gamètes non fusionnés dans des fleurs prélevées quatre jours après leur autopollinisation.

Tous les clones Forastero examinés sont autofertiles, tandis que les autostériles sont très nombreux parmi les hybrides « Trinitario ».

5. L'inhibition des fusions nucléaires est réglée par la présence d'un gène de stérilité à contrôle gamétophytique. Ce gène est représenté par deux allèles dans les populations étudiées et chaque plante autostérile est hétérozygote pour ce gène.

BIBLIOGRAPHIE

1954. BATEMAN, A.J., The diversity of incompatibility in flowering plants. VIII^e Congr. Int. Bot., Paris, Sect. 9-10 p. 138-45.
1959. BENNETT, M.C. et COPE, F.W., Nuclear fusion and non-fusion in *Theobroma cacao* L., *Nature*, CLXXXIII, 4674, p. 1540.
1957. BREWBAKER, J.L., Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants, *Jl Heredity*, XLVIII, 6, p. 271-7.
1930. BRIEGER, F., Selbststerilität und Kreuzungssterilität in Pflanzenreich und Tierreich, J. Springer, Berlin, 395 pp., in *Physiol. der Pflanzen*, Bd 21.
1939. BRINK, R.A. et COOPER, D.C., Somatoplastic sterility in *Medicago sativa*, *Science*, XC, 2345, p. 545-6.
1940. BRINK, R.A. et COOPER, D.C., Double fertilization and development of the seed in Angiosperms, *Bot. Gaz.*, CII, 1, p. 1-25.
1954. BROCK, R.D., Fertility in *Lilium* hybrids, *Heredity*, VIII, 3, p. 409-20.
1927. CHEESMAN, E.E., Fertilization and embryogeny in *Theobroma cacao* L., *Ann. Bot.*, XLI, 161, p. 107-26.
1932. CHEESMAN, E.E., The economic botany of cacao, Suppl. to *Trop. Agric.*, Trinidad, juin, 16 pp.
1937. CHEESMAN, E.E., The botanical programme of 1936, 6th Ann. Rep. Cacao Res., p. 1.
1938. CHEESMAN, E.E., The botanical programme of 1937, 7th Ann. Rep. Cacao Res., p. 1-2.
1940. COOPER, D.C. et BRINK, R.A., Partial self-incompatibility and the collapse of fertile ovules as factors affecting seed formation in Alfalfa, *Jl Agric. Res.*, LX, 7, p. 453-72.
- 1939a. COPE, F.W., Some factors controlling the yield of young cacao — II, 8th Ann. Rep. Cacao Res., p. 4-15.
- 1939b. COPE, F.W., A note on the range of compatibility in cacao, 8th Ann. Rep. Cacao Res., p. 16-17.
- 1939c. COPE, F.W., Compatibility and fruit setting in cacao, 8th Ann. Rep. Cacao Res., p. 17-20.
- 1939d. COPE, F.W., Studies in the mechanism of self-incompatibility in cacao — I, 8th Ann. Rep. Cacao Res., p. 20-21.
1940. COPE, F.W., Studies in the mechanism of the self-incompatibility in cacao — II, 9th Ann. Rep. Cacao Res., p. 19-23.
1958. COPE, F.W., Incompatibility in *Theobroma cacao*, *Nature*, CLXXXI, 4604, p. 279.
1954. CROWE, L.K., The genetics and physiology of incompatibility in *Cosmos bipinnatus*, VIII^e Congr. Int. Bot., Paris, Sect. 9-10, p. 134-7.
1933. DAVIE, J.H., Cytological studies in the Malvaceae and certain related families, *Jl Genet.*, XXVIII, 1, p. 33-67.
1959. DEVREUX, M., VALLAEYS, G., POCHET, R. et GILLES, A., Recherches sur l'auto-stérilité du caféier Robusta (*Coffea canephora* PIERRE), Public. I.N.É.A.C., sér. scient., n^o 78, 44 pp.
1948. DILLEMANN, G., L'auto-incompatibilité chez les Phanérogames, *Rev. scient.*, 86, p. 303-14.
1940. EAST, E.M., The distribution of self sterility in the flowering plants, *Proc. amer. Phil. Soc.*, 82, p. 449-518.
1918. EAST, E.M. et PARK, J.B., Studies on self sterility II. Pollen-tube growth, *Genetics* III, 4, p. 353-66.
1937. EIGSTI, O.J., Pollen-tube behavior in self-fertile, self-sterile and interspecific pollinated Resedaceae, *American Naturalist*, LXXI, 735, p. 520-1.

1950. GAGNIEU, A., L'incompatibilité chez les plantes supérieures : problème de génétique végétale, *Année biol.*, XXVI, 3-4, p. 81-110.
1954. GNANARATNAM, J.K., Pollination mechanism of the cacao flower, *Trop. Agric., Ceylan*, CX, 2, p. 98-104.
1947. HAKANSSON, A., Some observations on the seed development in Ecuadorian cacao, *Hereditas*, XXXIII, 4, p. 526-38.
1930. HEYN, A.N.J., Die Befruchtung bei Theobroma cacao, *Proc. Koninkl. Akad. Wetensch.*, Amsterdam, XXXIII, 5, p. 533-41.
1953. KNIGHT, R. et ROGERS, H.H., Sterility in Theobroma cacao L., *Nature*, CLXXII, 4369, p. 164.
1955. KNIGHT, R. et ROGERS, H.H., Incompatibility in Theobroma cacao, *Heredity*, IX, 1, p. 69-77.
1948. KNIGHT, R.L., Dictionary of Genetics, Chronica botanica Co., Waltham, Mass., 183 pp.
1914. KUYPER, J., Die Entwicklung des weiblichen Geschlecht-Apparats bei Theobroma cacao, *Rec. trav. bot. néerl.*, XI, 1, p. 37-43.
1944. LEWIS, D., Incompatibility in plants. Its genetical and physiological synthesis, *Nature*, CLIII, 3889, p. 575-8.
1949. LEWIS, D., Incompatibility in flowering plants, *Biol. rev.*, XXIV, 4, p. 472-96.
- 1954a. LEWIS, D., Comparative incompatibility in Angiosperms and Fungi, *Adv. in Genet.*, VI, p. 235-85.
- 1954b. LEWIS, D., Incompatibility in relation to physiology, genetics and evolutionary taxonomy, VIII^e Congr. Int. Bot. Paris, sect. 9-10, p. 124-32.
- 1954c. LEWIS, D., Incompatibility, a summing up, VIII^e Congr. Int. Bot. Paris, C.R. séances, sect. 9-10, p. 81-5.
1956. LEWIS, D., Incompatibility and plant breeding, Genetics in Plant Breeding, Brookhaven Symposia Biology, n^o 8, p. 89-100.
1922. LONAY, H., Contribution à l'étude des relations entre la structure des différentes parties de l'ovule et la nutrition générale de celui-ci avant et après la fécondation, *Acad. Roy. Belg., Bull. Cl. Sci.*, V^e sér., VIII, 1, p. 24-45.
1950. MAHESHWARI, P., Introduction to embryology of angiosperms, Mc Graw Hill Book Co., New-York, 453 pp.
1934. MARSHALL, J., Fertility in cacao, 3rd Ann. Rep. Cacao Res., p. 34.
1952. MILLER, M.R., Contribucion al estudio de la catalasa en el gineceo de la flor de cacao, Cacao en Colombia, I, p. 89-99.
1947. MÜNTZING, A., Some observations on pollination and fruit setting in Ecuadorian cacao, *Hereditas*, XXXIII, 1-2, p. 397-404.
1952. NAUNDORF, G., Contribucion al estudio de la polinizacion, fecundacion y fructificacion en el cacao, Cacao en Colombia, I, p. 55-70.
1955. NAUNDORF, G., Nuevas contribuciones al estudio de la auto-incompatibilidad en cacao II, Cacao en Colombia, IV, p. 59-61.
1959. NAUNDORF, G., Contribution à l'étude de l'autostérilité chez Theobroma cacao L., Gordian,
1948. OSTENDORF, F.W., Fertility of cacao, *Chron. nat.*, CIV, 4, p. 101-5.
1942. OWEN, F.V., Inheritance of cross- and self-sterility and self-fertility in Beta vulgaris, *Jl Agric. Res.*, LXIV, 10, p. 679-98.
1958. PANDEY, K.K., Time of the S allele action, *Nature*, CLXXXI, 4617, p. 1220-1.
1953. PINEDA, M.S., Problemas de incompatibilidad en el cacao, *Acta agron.*, III, 1, p. 65-88.
1938. POSNETTE, A.F., Incompatibility and pollination in cacao, 7th Ann. Rep. Cacao Res., p. 19-20.
1940. POSNETTE, A.F., Self-incompatibility in cacao (Theobroma spp.), *Trop. Agric., Trinidad*, XVII, 4, p. 67-71.
1945. POSNETTE, A.F., Incompatibility in Amazon cacao, *Trop. Agric., Trinidad*, XXII, 10, p. 184-7.
- 1932a. POUND, F.J., Studies of fruitfulness in cacao. I. A note on the abscission of the flower, 1st Ann. Rep. Cacao Res., p. 24-5.
- 1932b. POUND, F.J., Studies of fruitfulness in cacao. II. Evidence for partial sterility, 1st Ann. Rep. Cacao Res., p. 26-8.
- 1935a. POUND, F.J., Certain barren types of cacao, 4th Ann. Rep. Cacao Res., p. 11-5.

- 1935b. POUND, F.J., Studies of fruitfulness in cacao. V. Conditional self-compatibility and its implication, 4th Ann. Rep. Cacao Res., p. 17-9.
1938. POUND, F.J., Cacao and witchbroom disease (*Marasmius perniciosus*) of South America. With notes on other species of *Theobroma*. Rep. of Trinidad Dept of Agric., 58 pp.
1950. ROSENQUIST, E.A., Cocoa selection and breeding in Malaya; *Malayan Agric. JI*, XXXIII, 4, p. 181-93.
1945. SATINA, S., Periclinal chimeras in *Datura* in relation to development and structure of the ovule, *Am. JI Bot.*, XXXII, 2, p. 72-81.
1950. SAVITSKY, H., A method of determining self-fertility and self-sterility in sugar beets, based upon the stage of ovule development shortly after flowering, Amer. Soc., Sugar Beet Technol., p. 198-201.
1937. SEARS, E.R., Cytological phenomena connected with self-sterility in flowering plants, *Genetics*, XXII, 1, p. 130-81.
1954. SIMMONDS, N.W., Chromosome behaviour in some tropical plants, *Heredity*, VIII, p. 139-46.
1938. STOUT, A.B., The genetics of incompatibilities in homomorphic flowering plants, *Bot. Rev.*, IV, 6, p. 275-369.
1933. STOUT, A.B. et CHANDLER, C., Pollen-tube behavior in *Hemerocallis* with special reference to incompatibilities, *Bull. Torrey bot. Club*, LX, 6, p. 397-416.
1942. TOXOPEUS, H.J. et TAMMES, P.M.L., Enkele gegevens over het voorkomen van zelfsteriliteit bij cacao en de beteekenis daarvan voor de cultuur, *Landbouw*, XVIII, 3, p. 73-85.
1937. VOELCKER, O.J., Self-incompatibility in cacao, 6th Ann. Rep. Cacao Res., p. 2-5.
- 1938a VOELCKER, O.J., A note on the behavior of cacao flowers after pollination and on the cherelle wilt, 7th Ann. Rep. Cacao Res., p. 5-8.
- 1938b VOELCKER, O.J., The incidence of cross-pollination in cacao, 7th Ann. Rep. Cacao Res., p. 9-14.
- 1938c VOELCKER, O.J., Self-incompatibility in cacao — II, 7th Ann. Rep. Cacao Res., p. 2-5.
1938. VOELCKER, O.J. et COPE, F.W., Some factors controlling the yield of young Cacao — I, 7th Ann. Rep. Cacao Res., p. 14-8.
1948. Vos, H.C.C.A.A., Germination of cacao pollen, *Chron. nat.*, CIV, 4, p. 99-101.
1955. WARDLAW, C.W., Embryogenesis in plants, Wiley and Sons, New-York, 381 pp.

PHOTOGRAPHIES

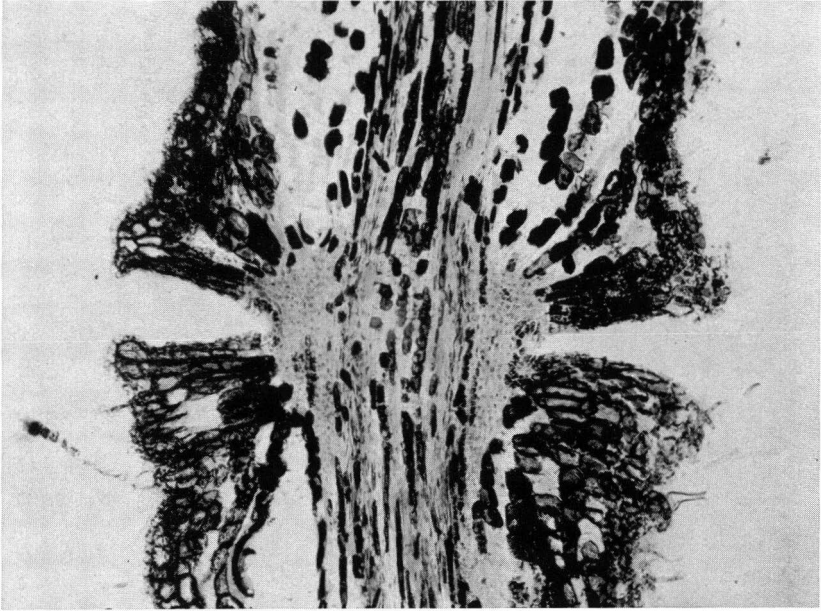


Photo 1. — Constriction à la base du pédicelle floral de *Theobroma cacao* ($\times 100$).



Photo 2. — Constriction à la base du pédicelle d'un jeune fruit de 25 jours ($\times 100$).

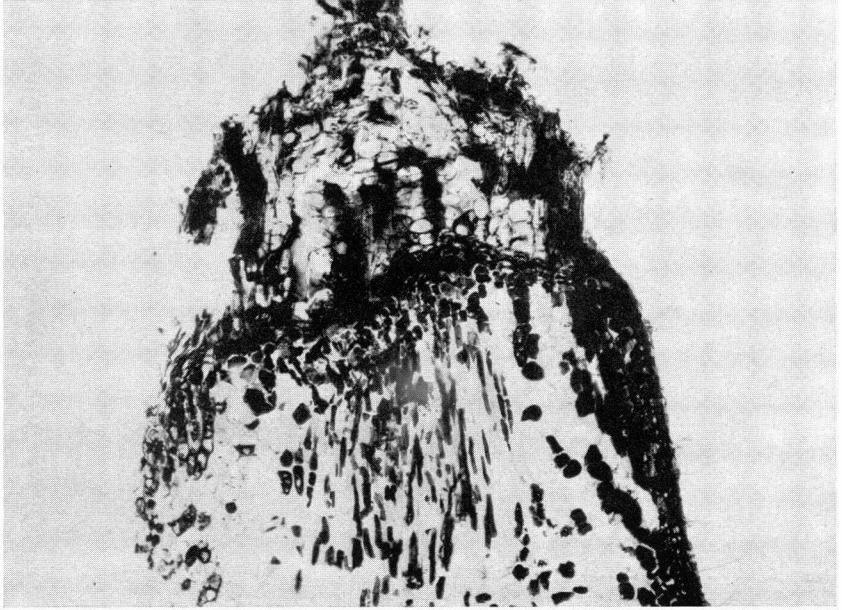


Photo 3. — Nécrose et élimination de la base du pédicelle après la chute de la fleur ($\times 100$).

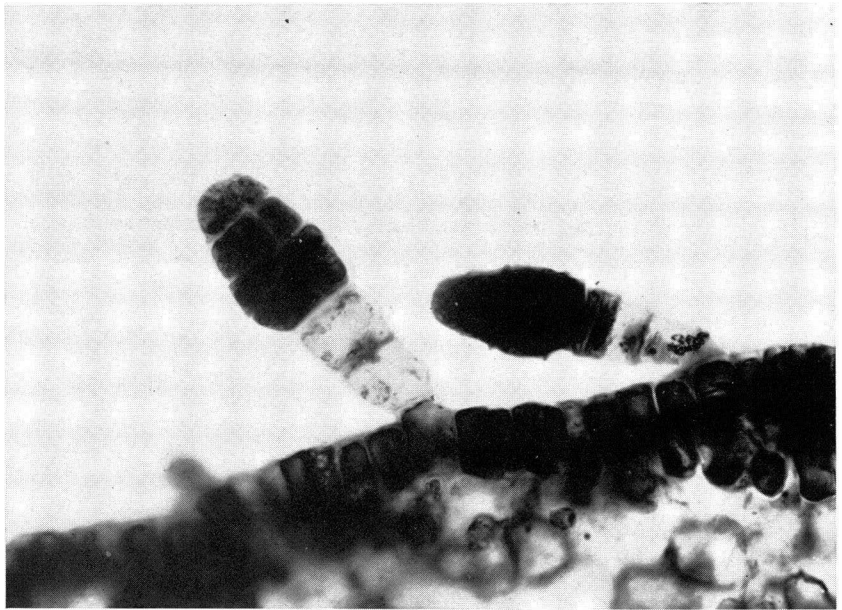


Photo 4. — Poils sécréteurs à la surface de l'ovaire ($\times 350$).

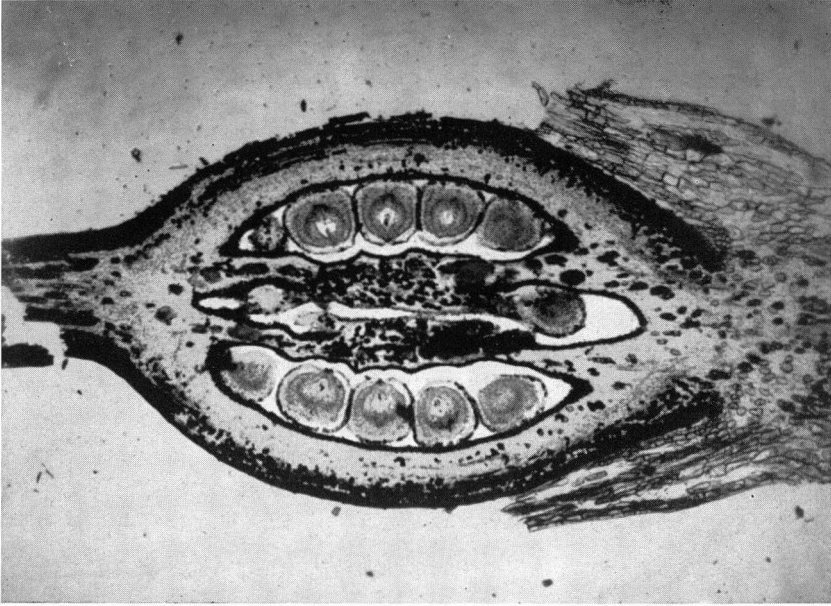


Photo 5. — Coupe longitudinale dans l'ovaire de *Theobroma cacao* ($\times 50$).

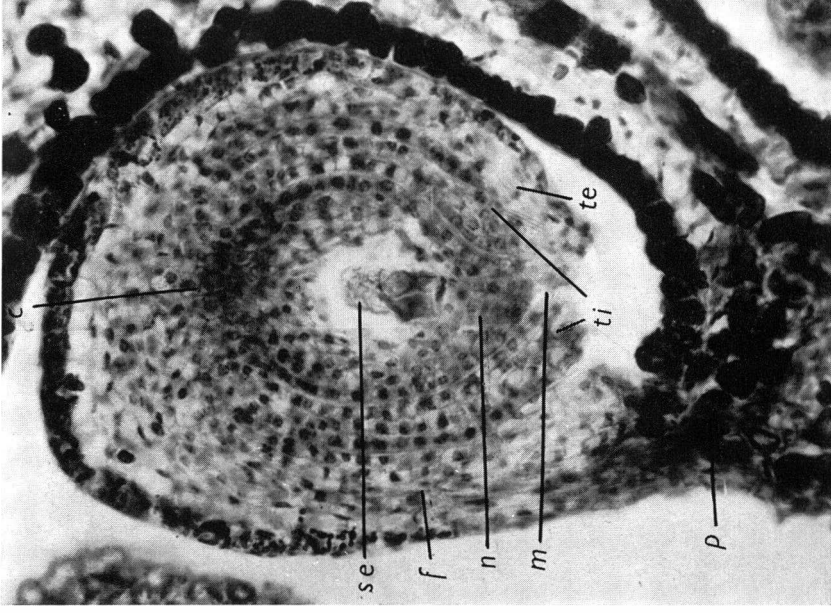


Photo 6. — Coupe dans un ovule. *p*, placenta. — *f*, funicule. — *c*, chalazae. — *te*, tégument externe. — *ti*, tégument interne. — *m*, micropyle. — *n*, nucelle. — *se*, sac embryonnaire ($\times 350$).



Photo 7. — Germination du pollen sur le stigmate ($\times 1.000$).



Photo 8. — Croissance du tube pollinique dans les tissus du style ($\times 700$).

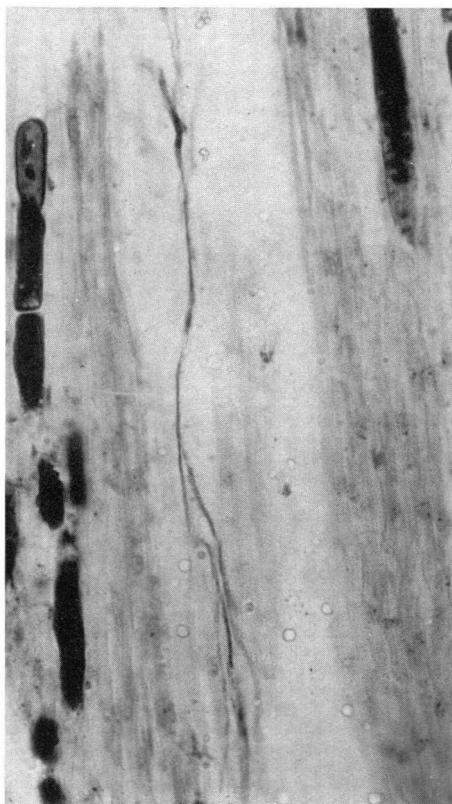


Photo 9. — Croissance des tubes polliniques dans le canal à la base du style ($\times 350$).

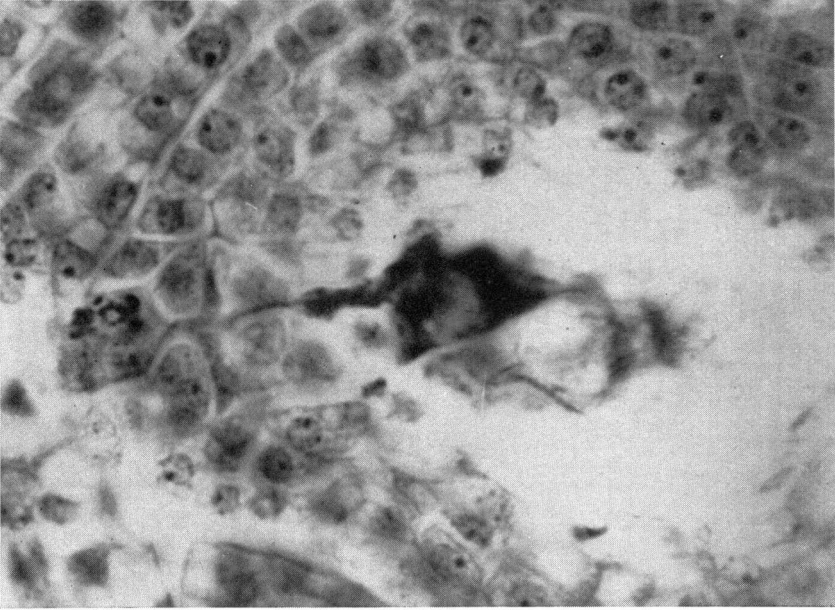


Photo 10. — Progression du tube pollinique entre les cellules du nucelle et pénétration dans une synergide ($\times 1.000$).

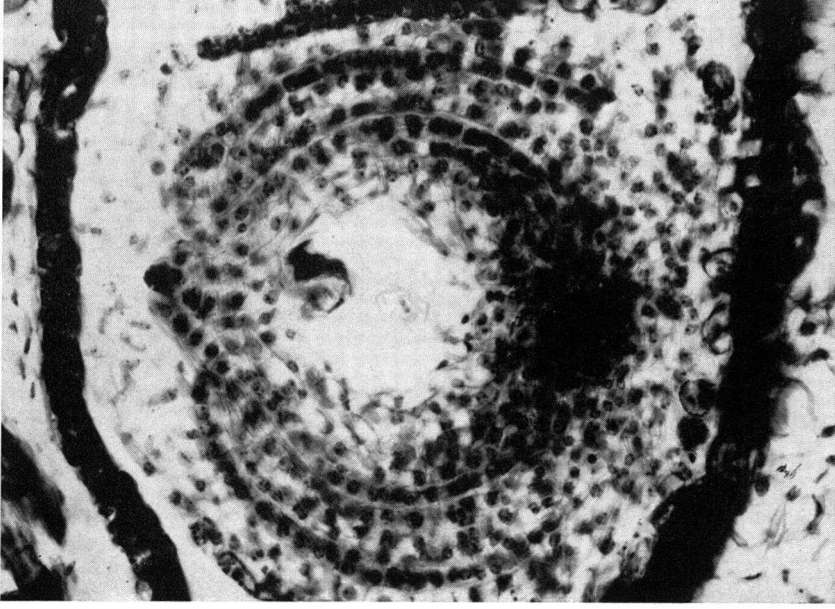


Photo 11. — Ovule récemment fécondé : synergide opaque ($\times 350$).

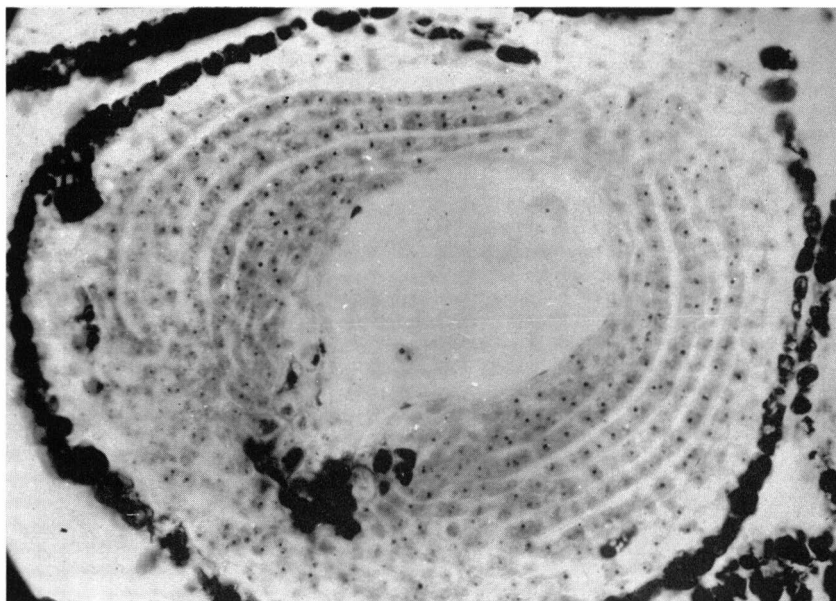


Photo 12. — Ovule de *Theobroma cacao*, 5 jours après la pollinisation ($\times 350$).

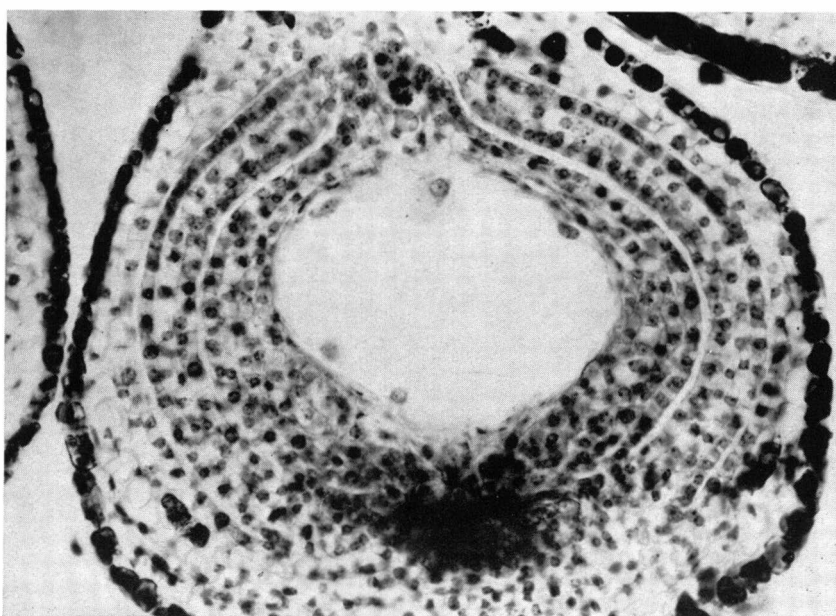
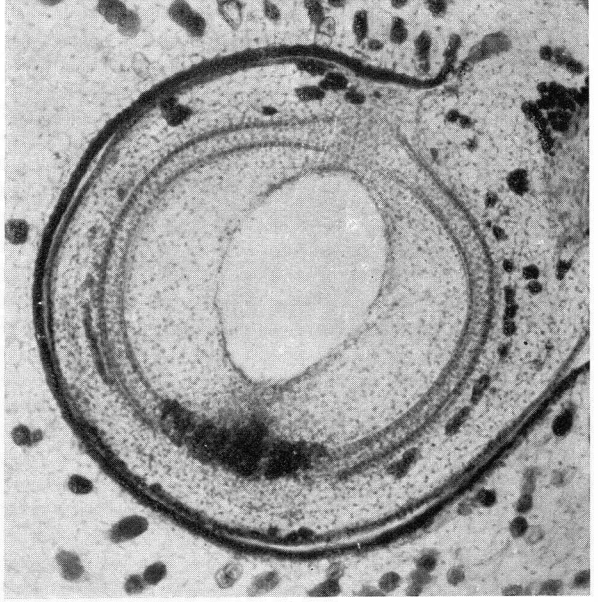
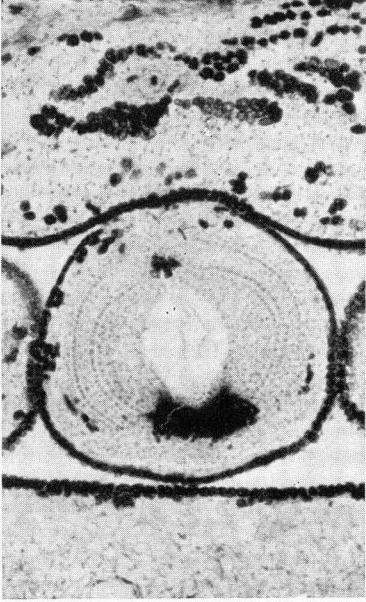


Photo 13. — Ovule de 8 jours; le zygote et quatre noyaux endospermiqes sont visibles. ($\times 350$).



Photos 14 et 15. — Ovules fécondés, âgés de 10 et 25 jours ($\times 120$).

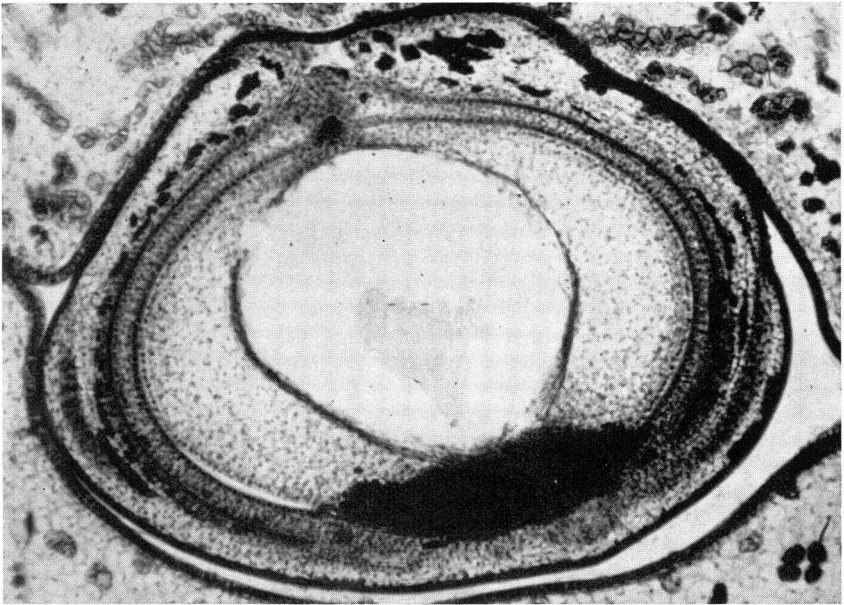


Photo 16. — Ovule de 30 jours ($\times 120$).

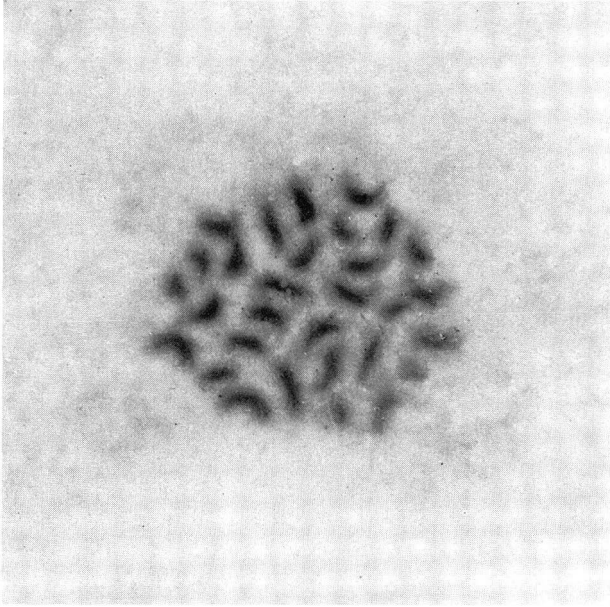


Photo 17. — Mitose triploïde ($3n = 30$) dans l'endosperme d'une graine de 100 jours ($\times 5.500$).

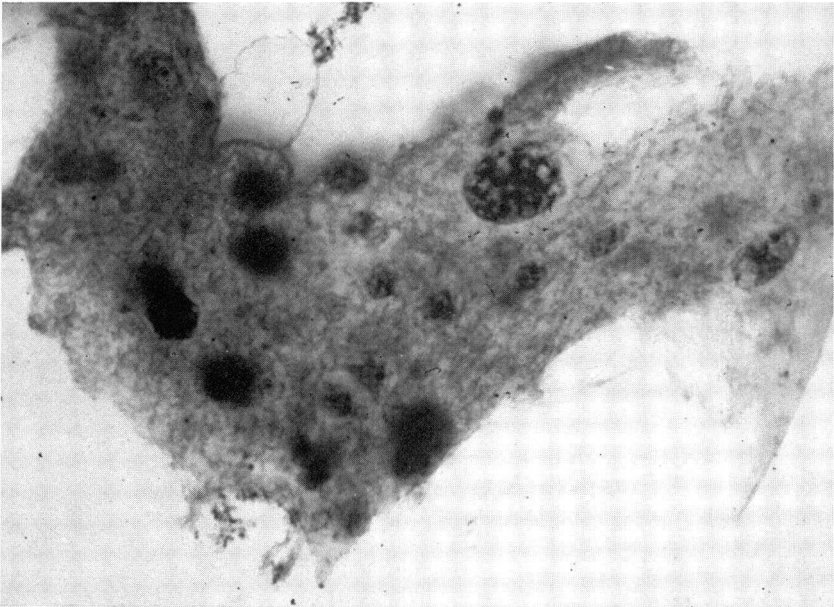
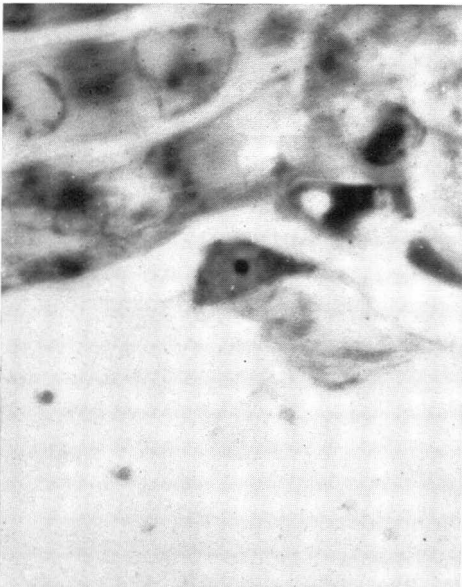
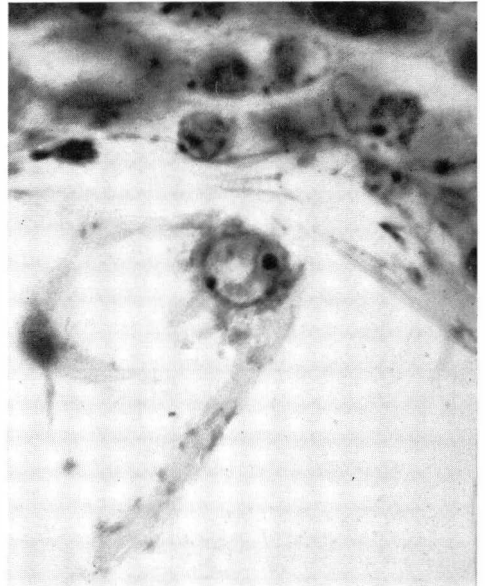
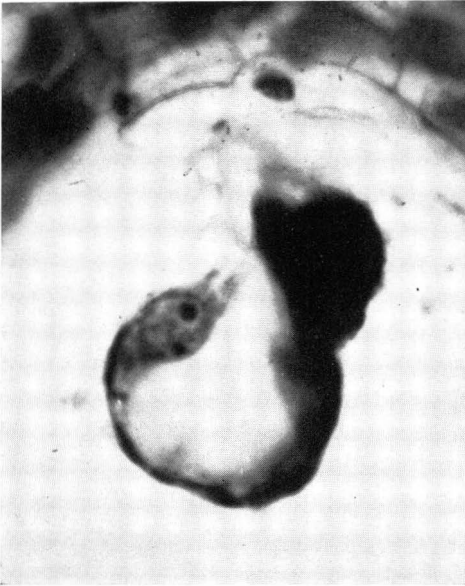
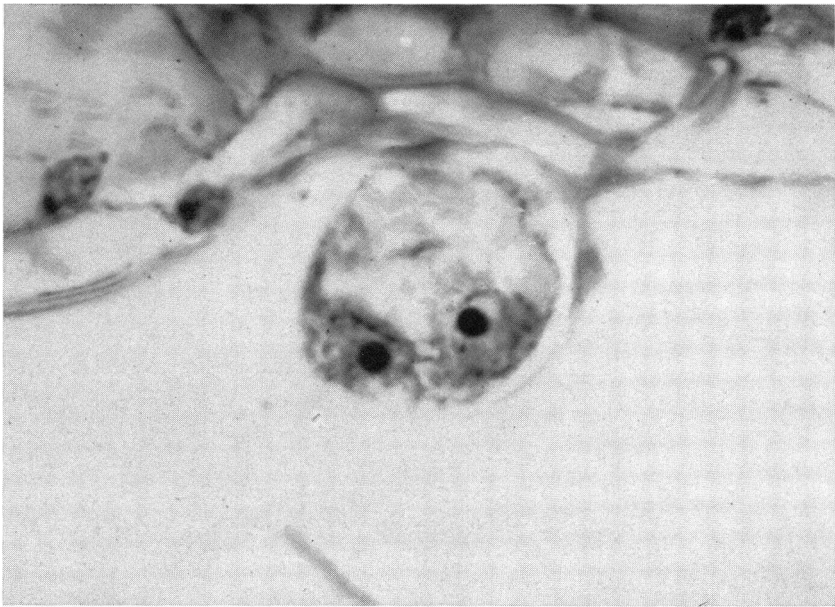
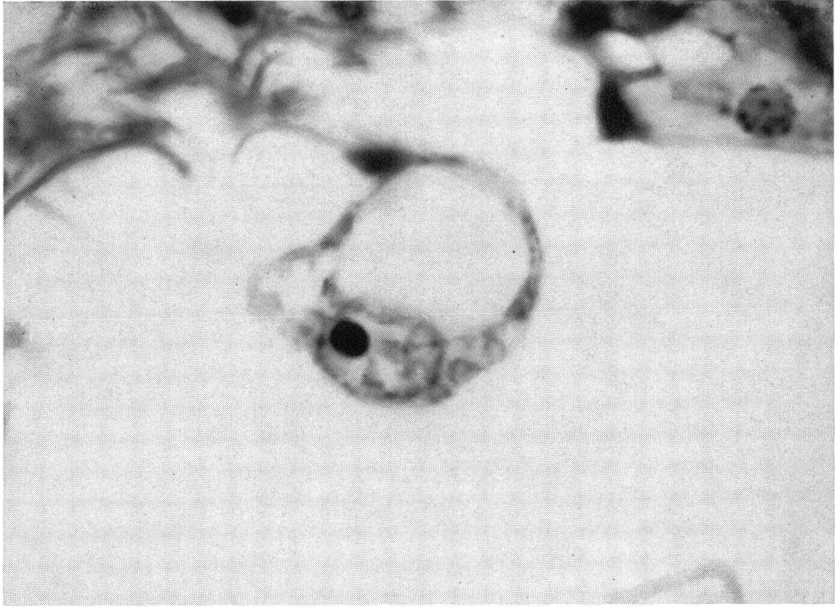


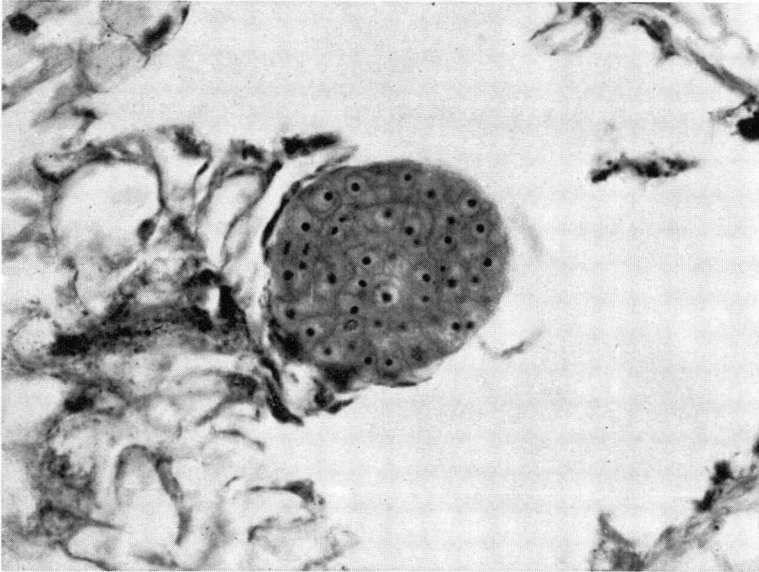
Photo 18. — Dégénérescence de l'endosperme près de la chalazé, 90 jours après la fécondation ($\times 700$).



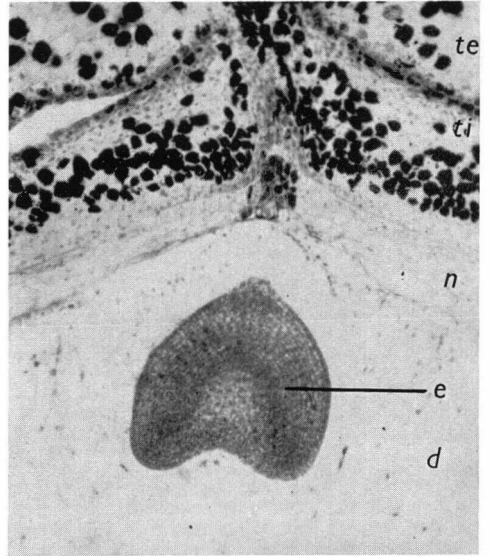
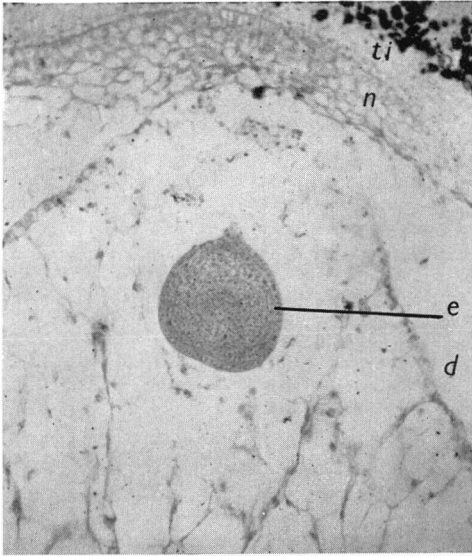
Photos 19-22. — Evolution du noyau zygote : 2 jours, 5 jours, 20 jours et 50 jours après la pollinisation ($\times 2.000$).



Photos 23 et 24. — Zygote non divisé et proembryon bicellulaire dans un jeune fruit de 55 jours ($\times 2.000$).



Photos 25 et 26. — Développement de l'embryon : 70 et 80 jours après la fécondation ($\times 500$).



Photos 27 et 28. — Développement de l'embryon : 80 et 90 jours après la fécondation. *e*, embryon. — *d*, endosperme. — *n*, nucelle ou périsperme. — *ti*, tégument interne. — *te*, tégument externe ($\times 120$).

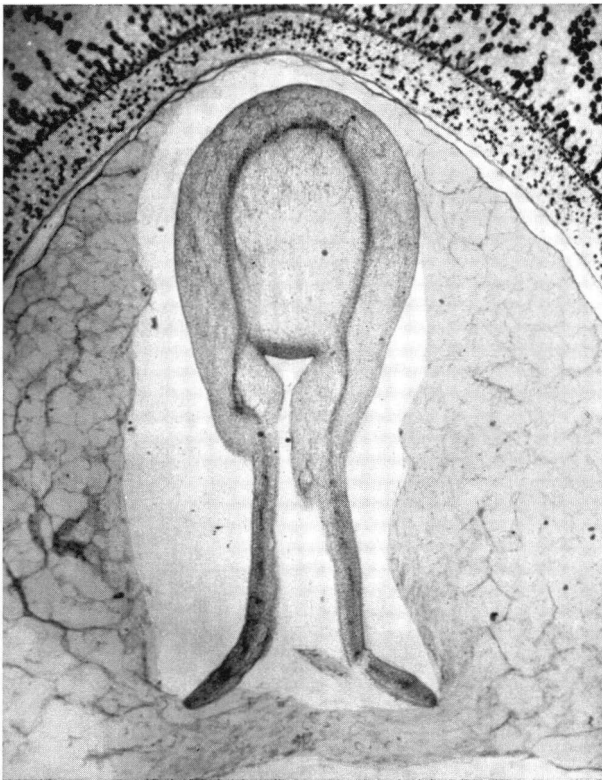


Photo 29. — Coupe dans un embryon, 100 jours après la fécondation ($\times 30$).

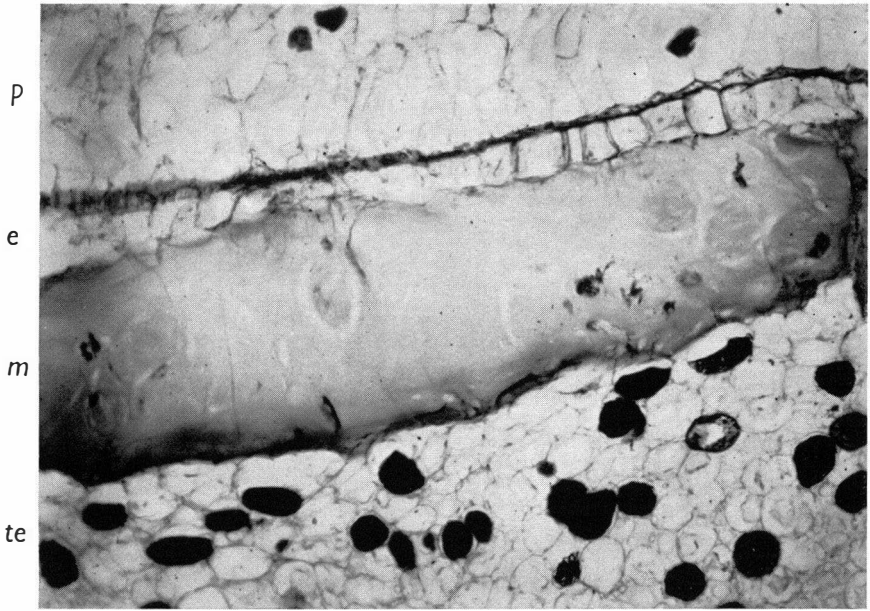


Photo 30. — Lacune à mucilage dans le tégument externe, 120 jours après la fécondation. *p*, péricarpe. — *e*, épiderme extérieur du tégument externe. — *m*, lacune à mucilage. — *te*, tégument externe ($\times 120$).

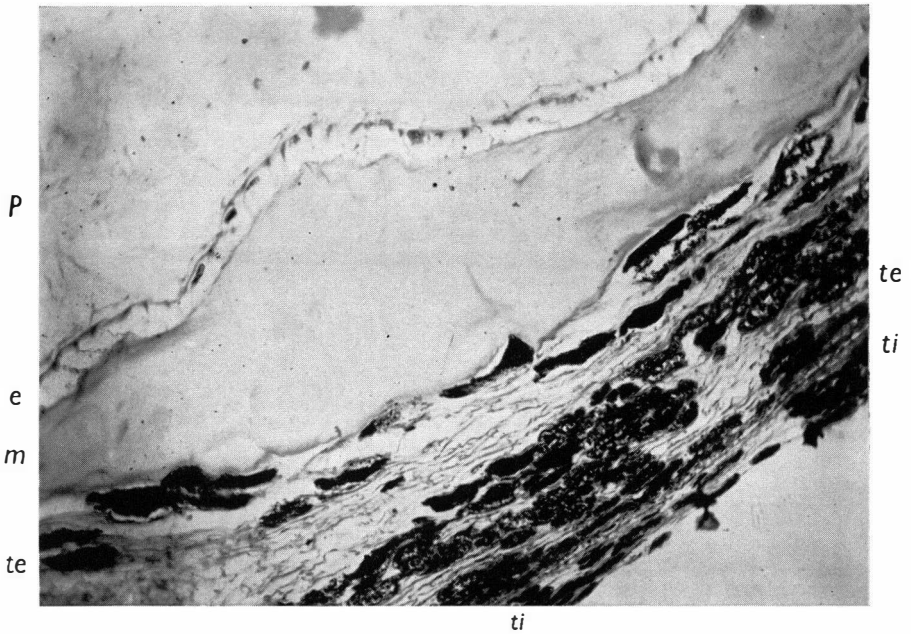


Photo 31. — Le spermodermis de la graine mûre. *p*, cellules spongieuses du péricarpe — *e*, épiderme du tégument externe — *m*, mucilage — *te*, tégument externe — *ti*, tégument interne ($\times 120$).

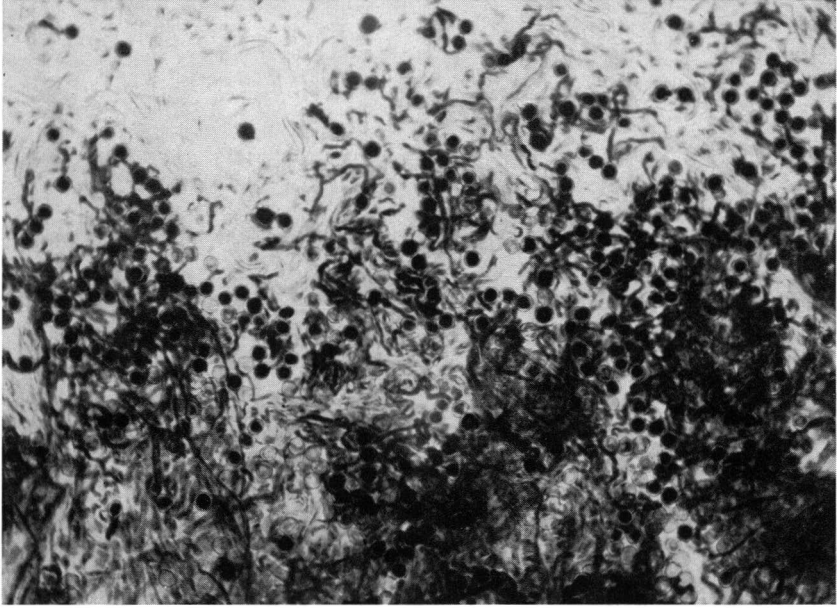


Photo 32. — Germination du pollen deux heures après l'autopollinisation d'une fleur autofertile ($\times 120$).

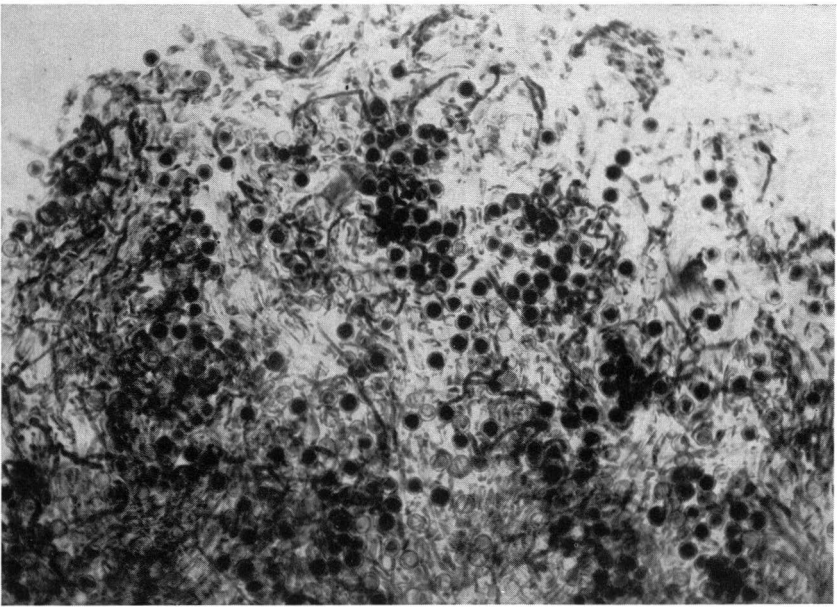


Photo 33. — Germination du pollen deux heures après l'autopollinisation d'une fleur autostérile ($\times 120$).

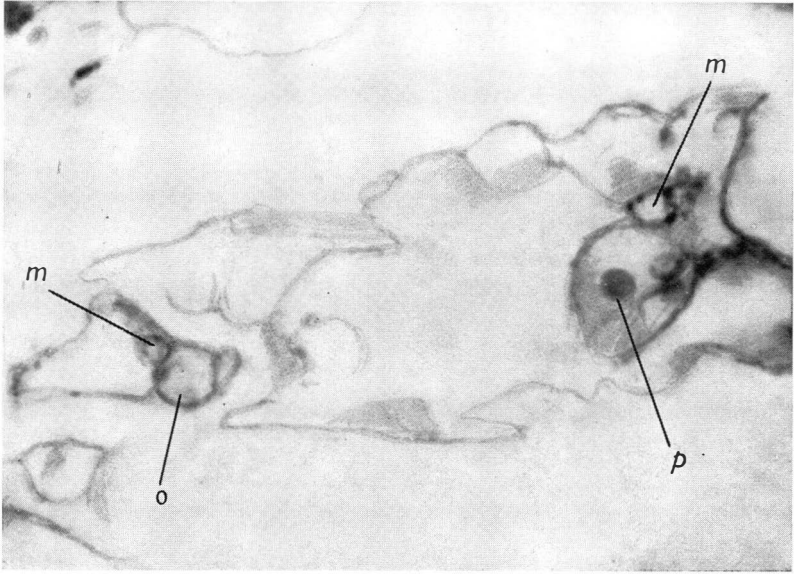


Photo 34. — Noyaux mâles (*m*) accolés au noyau de l'oosphère (*o*) et aux polaires (*p*); cytoplasme contracté et noyaux dégénérés ($\times 2.000$).

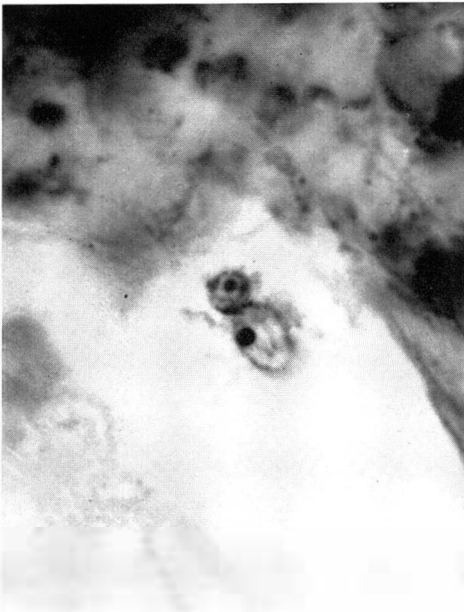


Photo 35. — Noyau mâle partiellement gonflé, accolé à l'oosphère ($\times 2.000$).



Photo 36. — Noyau mâle accolé aux deux noyaux polaires ($\times 2.000$).

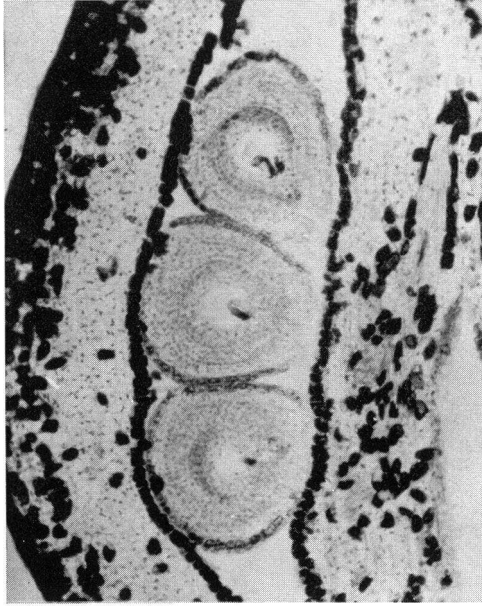


Photo 37. — Fécondation bloquée au stade de la pénétration du tube pollinique, 4 jours après la pollinisation ($\times 120$).



Photo 38. — Zygote possédant un nucléole normal et un très petit ($\times 1.000$).

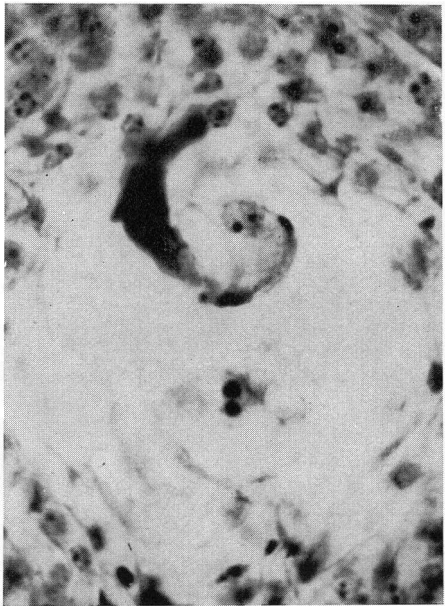


Photo 39. — Ovule contenant un zygote et deux noyaux polaires non fécondés ($\times 1.000$).

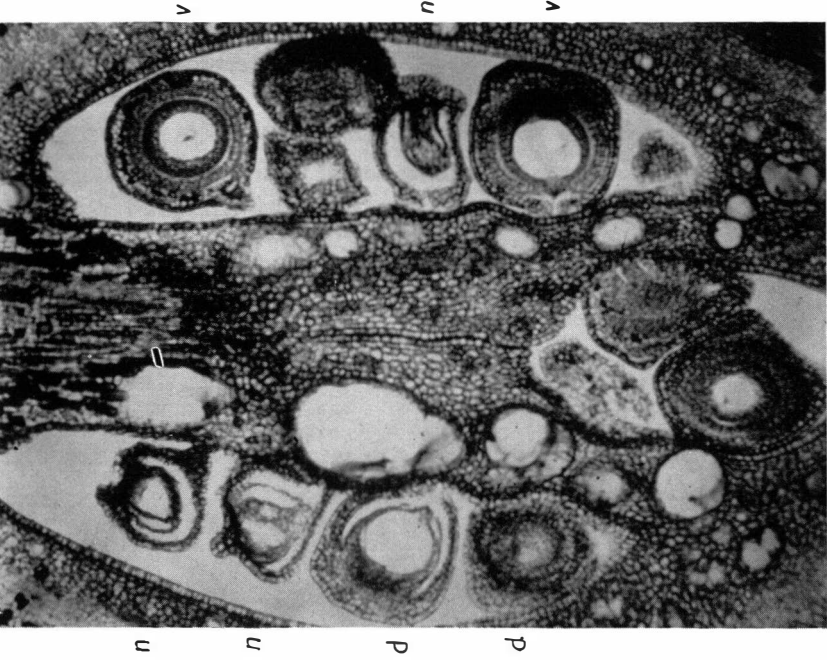


Photo 40. — Fleur pollinisée depuis 5 jours, montrant des ovules non fécondés (*n*), fécondés mais dégénérés (*d*), fécondés et vivants (*v*) ($\times 100$).

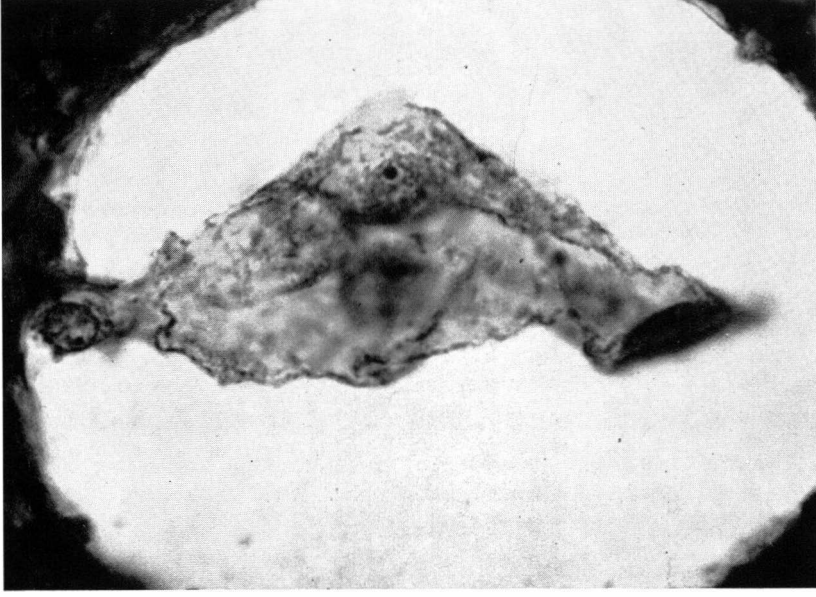


Photo 41. — Dégénérescence d'un sac embryonnaire normalement fécondé et développé (zygote et 4 noyaux endospermiques), 5 jours après la pollinisation ($\times 1.000$).

M. Weissenbruch S. A., Bruxelles