

Récolte et conditionnement du pollen pour la pollinisation des champs semenciers de cocotiers

F. ROGNON (1) et M. de NUCÉ de LAMOTHE (2)

Résumé. — Une nouvelle méthode de séchage des fleurs mâles de cocotier pour en extraire le pollen, les méthodes de conditionnement et de stockage sont décrites. Le séchage a lieu dans une salle à humidité relative réduite et température proche de celle de l'air ambiant. Le rendement en poids de pollen/fleurs mâles fraîches atteint 2,5 p. 100 et la viabilité avoisine 40 p. 100 (germination sur milieu agar-sucre 1,2-11 p. 100). Les quantités de pollen produites peuvent être très élevées. La récolte des fleurs mâles doit être faite en deux fois 6 à 8 jours et 12 à 14 jours après ouverture de la spathe. Après un complément de déshydratation sur silicagel, le pollen à 5 p. 100 d'humidité peut être conservé sous vide au moins deux mois à température ambiante et plus de six mois au congélateur. L'utilisation du pollen ainsi préparé donne un taux de nouaison voisin de celui observé en fécondation naturelle.

I. — INTRODUCTION

Un précédent article [1] a montré les avantages de la pollinisation assistée pour la production des semences hybrides de cocotier. Depuis, la plupart des champs semenciers sont conçus pour utiliser cette technique. Le pollen (environ 1 kg/ha/an) est apporté en poudrage sur les inflorescences de la population maternelle isolée et régulièrement émasculée.

En raison du faible pouvoir de multiplication du cocotier, 50 à 60 descendants par an (3), la création de plantations importantes nécessite l'exploitation de surfaces semencières étendues. Les besoins en pollen sont alors considérables. Ainsi pour les Philippines, vers 1980, une tonne de pollen sera nécessaire chaque année, ce qui correspond au traitement de 40 t de fleurs mâles fraîches.

Les premières méthodes de récolte du pollen ne devant satisfaire qu'aux seuls besoins des programmes de recherches, l'accent était mis sur la nécessité d'éviter les contaminations plus que sur celle d'obtenir de grandes quantités de pollen. En 1928, Maréchal décrivait aux Fidji une technique, légèrement modifiée par la suite à Ceylan [Liyanage, 1949-2] et au Bénin, ex-Dahomey [Briolle, 1964-3]. Des épillets ou portions d'épillets étaient prélevés sur les inflorescences. L'extrémité inférieure était trempée dans l'eau et la partie supérieure, inclinée au-dessus d'une surface lisse, libérait lentement son pollen. Celui-ci était collecté à l'aide d'une brosse fine. La quantité de pollen récoltée était d'environ un gramme par inflorescence. Dès 1962, à la Jamaïque, Whitehead [4], séchant les fleurs mâles à l'étuve à 40 °C pendant 48 h, obtenait jusqu'à 14 g de pollen d'une inflorescence. En 1967 des essais réalisés à Port-Bouet permettaient de réduire à 24 h la durée du séchage.

L'apparition en 1972 de la pollinisation assistée pour la production de semences hybrides a créé des besoins en pollen bien supérieurs à ceux des programmes de recherche. Harries à la Jamaïque proposait alors l'utilisation d'un appareil de séchage à flux d'air chaud (« fluid bed dryer », Palmer Research Laboratories Ltd), dont la capacité est de 60 g de pollen en 4 h. En 1974 Port-Bouet mettait au point

une technique de dessiccation en salle à humidité relative réduite et température proche de la température ambiante.

Mais l'obtention de pollen viable à partir des fleurs mâles doit s'intégrer dans un processus plus complet qui comprend en amont la récolte de ces fleurs au stade optimal de maturité et en aval le conditionnement et la conservation du pollen.

Les techniques exposées ici constituent un ensemble adapté à la production de semences.

II. — FLORAISON MALE. ÉPOQUE DE RÉCOLTE DES FLEURS

La récolte a lieu sur des géniteurs choisis d'après des caractères très héréditaires (coprah/noix par exemple) ou à la suite de tests de descendance. Contrairement à ce qui se passe pour les fécondations artificielles, les inflorescences ne sont pas isolées.

L'inflorescence porte de très nombreuses fleurs mâles (quelques centaines à plusieurs milliers). L'anthèse débute avec l'ouverture de la fleur et n'exécède pas 24 h. La figure 1 montre que la fleur se détache le lendemain de son ouverture. La maturation de l'inflorescence est centripète, elle évolue très progressivement des épillets du haut vers ceux du bas et de

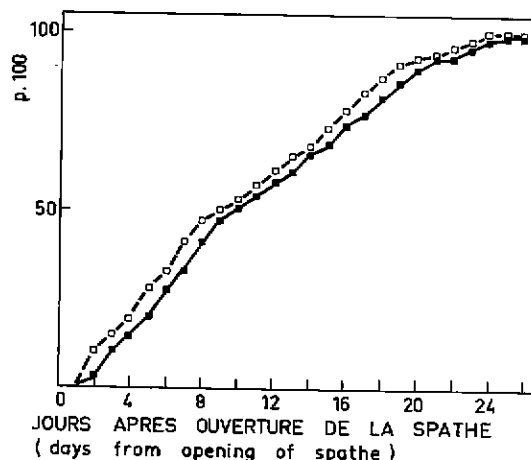


FIG. 1. — Durée de vie de la fleur mâle, de l'ouverture à la chute. Moyenne de 3 inflorescences GOA — 300 fleurs observées/inflorescence (Length of life of male flower from opening to fall. Mean of 3 WAT inflorescences — 300 flowers observed per inflorescence).

— — — p. 100 fleurs ouvertes (open flowers)
— — — p. 100 fleurs tombées (fallen flowers).

(1) Service Sélection de P.I.R.H.O., Station de Port-Bouet (Côte-d'Ivoire).

(2) Département Sélection de P.I.R.H.O., Station de Port-Bouet (Côte-d'Ivoire).

(3) Compte tenu des éliminations en pépinière.

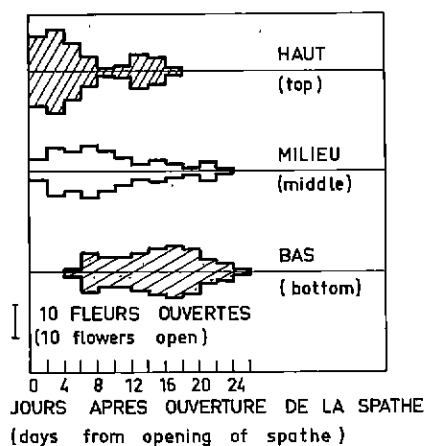


FIG. 2. — Evolution de la floraison mâle sur l'inflorescence. Moyenne de 5 inflorescences GOA — 100 fleurs observées par niveau sur chaque inflorescence (*Evolution of male flowering on the inflorescence. Mean of 5 WAT inflorescences — 100 flowers observed per level on each inflorescence.*).

haut en bas sur chaque épillet (Fig. 2). La durée de la phase mâle (de l'ouverture de la première fleur à la chute de la dernière) est de 20,6 jours chez le Grand Ouest Africain [6]. Elle varie légèrement en fonction des conditions climatiques (18,5 à 26) et du type de cocotier (19,5 chez le Nain Rouge Cameroun à 22,8 chez le Nain Vert Equatorial). La durée de l'émission du pollen est donc d'environ trois semaines mais, à un instant donné, seule une faible partie des fleurs est en anthèse.

L'obtention de grandes quantités de pollen viable nécessite donc le traitement de fleurs non encore parvenues à l'anthèse et dont une partie contient pourtant du pollen mûr.

Des observations ont été faites à Port-Bouet pour déterminer la période optimale de récolte des fleurs mâles (Tabl. I [*] & Fig. 3). On a considéré 3 parties sur l'inflorescence : haut, milieu et bas. Le pollen a été extrait selon la méthode décrite ci-après. A partir de l'ouverture de l'inflorescence les quantités maximales de pollen viable sont obtenues entre 2 et 4 jours sur les épillets du haut, entre 6 et 8 jours sur les épillets médians et entre 10 et 14 jours sur les épillets du bas.

[*] *Remerciements* : Les auteurs remercient Monsieur Pokou Adou Etudiant à l'École Nationale Supérieure d'Agronomie d'Abidjan (E. N. S. A. A.) qui a réalisé l'essai du tableau I pendant un stage à Port-Bouet.

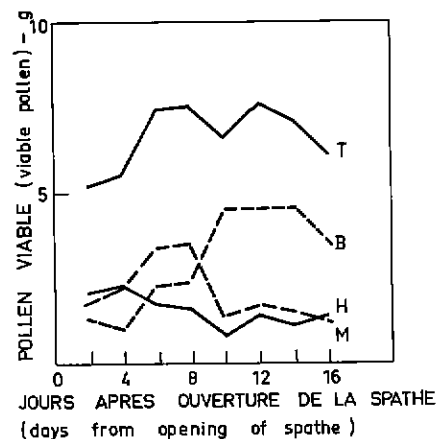
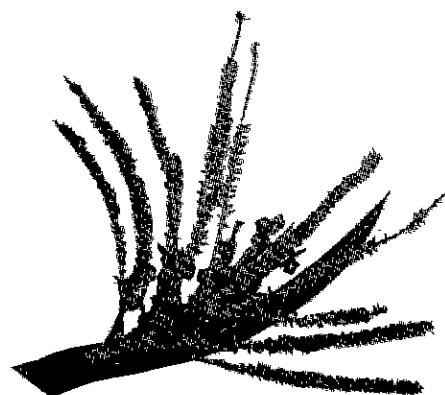


FIG. 3. — Poids sec de pollen viable pour une inflorescence qui donnerait 1 kg de fleurs mâles. Moyenne sur 2 inflorescences GOA par jour d'observation, soit 16 inflorescences ouvertes le même jour (*Dry weight of viable pollen for one inflorescence giving 1 kg of male flowers. Mean of 2 WAT inflorescences per day of observation, i. e. 16 inflorescences opened the same day.*).

Épillets (*spikelets*) du haut (*top*) = H
 du milieu (*middle*) = M
 du bas (*bottom*) = B
 total inflorescence = T



Inflorescence au stade-récolte, 12 jours
 (*Inflorescence at the 12th-day harvesting stage.*)

Pour des raisons pratiques et pour obtenir la meilleure quantité de pollen viable, la récolte peut être faite en deux fois : entre le 6^e et le 8^e jour, prélèvement des épillets du haut et de la partie mûre des épillets médians, entre le 12^e et le 14^e jour, prélèvement des épillets du bas. Les parties d'épillets portant des fleurs trop mûres ou trop vertes sont éliminées.

TABLEAU I

Poids sec (1) de pollen viable pour une inflorescence qui donnerait 1 kg de fleurs mâles, viabilité, production de pollen frais

(*Dry weight (1) of viable pollen for an inflorescence giving 1 kg of male flowers, Viability, Yield of fresh pollen*)

Jours après ouverture de la spathe (<i>Days from opening of spathe</i>)	2	4	6	8	10	12	14	16
Épillets du haut (<i>top spikelets</i>)	2,1	2,3	1,7	1,6	0,7	1,4	1,1	1,4
Épillets médians (<i>middle spikelets</i>)	1,8	2,2	3,4	3,5	1,4	1,7	1,5	1,2
Épillets du bas (<i>bottom spikelets</i>)	1,3	1,0	2,3	2,4	4,5	4,5	4,5	3,5
Total inflorescence	5,2	5,5	7,4	7,5	6,6	7,6	7,1	6,1
Viabilité pondérée (<i>weighted viability</i>) (2) ..	31	30	37	35	27	32	35	28
Pollen frais (<i>fresh pollen</i>) (3)	18,7	19,8	22,0	23,1	26,4	26,4	22,0	24,0

(1) Les poids de pollen viable sont exprimés en poids sec, en grammes (*The weight of viable pollen is the weight in grams.*).

(2) La viabilité est exprimée en pourcentage de germination du pollen. Elle est sous-évaluée par rapport à une récolte normale car on n'élimine ni les fleurs trop mûres ni les fleurs vertes (*Viability is expressed in the percentage of pollen germinated. It is underestimated by comparison to a normal harvest, as neither the overripe nor green flowers are eliminated.*).

(3) A 10 p. 100 d'humidité, en grammes. Moyenne sur 2 inflorescences GOA par jour d'observation, cf. figure 3 (*At 10 p. 100 humidity, in grams. Mean of two WAT inflorescences per day of observation, see figure 3.*).

Les épillets sont coupés avec un sécateur ; les fleurs mâles sont immédiatement détachées pour être transportées au laboratoire.

Une inflorescence de Grand Ouest Africain produit entre 0,6 et 1,1 kg de fleurs mâles fraîches.

III. — TRAITEMENT DES FLEURS MALES POUR L'OBTENTION DU POLLEN

Le pollen est obtenu à partir des fleurs mâles par écrasement et tamisage. Cette dernière opération n'est possible qu'après dessiccation des fleurs pour que les grains de pollen ne restent pas agglomérés et adhérents aux pièces florales.

1. — L'écrasement.

L'écrasement des fleurs intervient préalablement à la dessiccation dont il améliore le rendement. Divers appareils ont été proposés [Arnold, 1976-7] mais l'écrasement manuel sur un plateau alvéolé à l'aide d'un simple rouleau donne d'excellents résultats pour un prix de revient faible (0,75 homme/jour/kg de pollen récolté). La pression exercée sur les fleurs doit être suffisante pour provoquer l'ouverture des pétales sans léser les étamines, ce qui entraînerait des réactions d'oxydation préjudiciables à la survie du pollen.

2. — Le séchage.

a) Local et matériel (Fig. 4).

Le séchage a lieu dans une salle rectangulaire de 3 m × 8 m et d'environ 3,20 m de haut. Il est obtenu par action directe sur l'humidité relative de l'atmosphère. La régulation de la température ne joue qu'un rôle secondaire. A l'intérieur de la salle un groupe frigorifique travaillant en circuit fermé assure la déshydratation de l'atmosphère (45 à 50 p. 100 d'humidité relative) ainsi qu'une faible élévation de la température. Une partie du toit, en plastique translucide, participe à cette élévation pendant la journée. Enfin, un climatiseur en relation avec l'extérieur contribue à la déshydratation tout en limitant la température aux heures les plus chaudes de la journée. Celle-ci reste ainsi comprise entre 23 et 35 °C.

Une pièce ordinaire équipée d'un climatiseur peut



Salle de séchage (Drying room).

être aisément transformée en salle de séchage en plaçant à l'intérieur un second climatiseur qui fonctionne en circuit fermé et assure la déshydratation et le réchauffement.

L'aménagement de la salle comprend de part et d'autre d'une allée centrale deux bâtis métalliques supportant 156 plateaux amovibles en aluminium de 0,6 m² de surface unitaire.

Le sol est muni d'un écoulement qui facilite le lavage de la salle. Celle-ci est désinfectée chaque semaine par pulvérisation d'une solution diluée d'hypochlorite de sodium.

b) Fonctionnement.

Les fleurs mâles écrasées sont disposées en couche mince (400 g par plateau). Après 22 h de séchage, les fleurs sont rassemblées dans un récipient avec la fraction du pollen déposée sur les plateaux et qui est récupérée à l'aide de pinceaux.

3. — Le tamisage.

Le pollen est alors séparé des fleurs mâles et débris divers par tamisage dans la salle de conditionnement. Les tamis sont garnis de toile bronze de 100 mailles par pouce métrique (= 1,09 pouce anglais), vide de maille 0,200 mm. Le tamisage est manuel. Cette opération est assez longue et fastidieuse et l'on envisage d'utiliser un séparateur continu.

IV. — RENDEMENT EN POLLEN ET VIABILITÉ

L'installation ci-dessus décrite permet la production de grandes quantités de pollen (1,5 kg/jour par salle de séchage) avec des rendements en poids de pollen extrait/poids de fleurs mâles fraîches plus élevés que les autres techniques. Harries signale un rendement de 2,02 p. 100 dans les conditions optimales de fonctionnement du « fluid bed dryer » (6 g/297 g) et Arnold traitant 3 kg avec le même appareil obtient environ 50 g de pollen (1,67 p. 100), alors qu'à Port-Bouet le rendement atteint couramment 2,5 p. 100. Cet accroissement de 25 p. 100 de la quantité de pollen est particulièrement intéressant dans la mesure où il permet de récolter sur un nombre plus réduit d'arbres et donc d'effectuer un meilleur choix de géniteurs. En

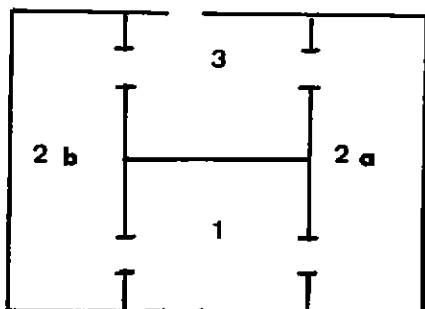


FIG. 4. — Plan du laboratoire de traitement des pollens de Port-Bouet. Les 2 salles de séchage peuvent traiter des pollens différents : écrasement et tamisage se font alors dans la même pièce : 1 pour 2b et 3 pour 2a (Plan of pollen treatment laboratory at Port-Bouet. The 2 drying rooms can be used for different pollens : crushing and sieving are then done in the same room : 1 for 2b and 3 for 2a).

1 : écrasement, préparation des fleurs mâles (crushing and preparation of male flowers),

2a, 2b : séchage (drying),

3 : tamisage et conditionnement du pollen (sieving and packing of pollen).

TABLEAU II

Comparaison salle de séchage-étuve à 40 °C, 24 heures (Comparison between drying room and oven at 40 °C, 24 hours)

	Poids de fleurs mâles fraîches (Weight of fresh male flowers) g	Poids de pollen (Weight of pollen) g	Rendement en pollen (Pollen yield) p. 100	Taux de germination (Rate of germination) p. 100	Rendement en pollen viable (Yield of viable pollen) p. 100
Etuve (Oven)	3 000	60,0	2,0	36	0,71
Salle de séchage (Drying room)	3 000	74,3	2,5	37	0,91

Moyenne 8 répétitions, soit 24 kg de fleurs mâles par objet (Mean of 8 replications i. e. 24 kg of male flowers per treatment).

1977, 225 kg de pollen ont été récoltés par cette technique à Port-Bouet et il est prévu d'atteindre 350 kg en 1978 et 500 en 1979.

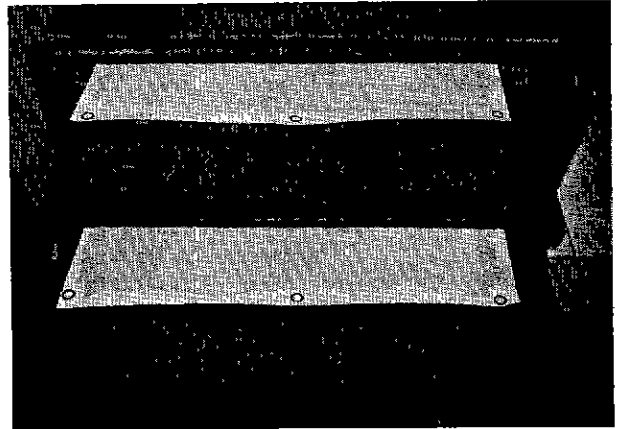
La viabilité du pollen est testée *in vitro* sur un milieu agar-sucre (1,2-11 p. 100). Elle se situe aux environs de 40 p. 100 (moyenne annuelle 1977). Des chiffres de viabilité bien supérieurs sont cités dans la littérature mais les milieux de germinations et les conditions d'observations n'ont jamais été suffisamment standardisés pour que les résultats puissent être valablement comparés d'un centre de recherche à l'autre. Sur des pollens récoltés selon la technique de Whitehead, on observe 35 à 50 p. 100 de viabilité à Port-Bouet, contre 50 à 80 p. 100 à la Jamaïque. Les différences pourraient être d'ordre génétique mais cela est peu vraisemblable car aucun pollen de la collection de Port-Bouet ne dépasse régulièrement 50 p. 100. Il est certain que la viabilité des pollens séchés en salle à humidité réduite est au moins égale à celle des pollens obtenus par toutes les autres techniques testées à Port-Bouet. Ceci paraît normal puisque la température de séchage est proche de la température ambiante. D'ailleurs si l'on porte à dix jours la durée de séchage des fleurs mâles en chambre climatisée, la viabilité du pollen reste inchangée, ce qui prouve l'innocuité du traitement.

En fait plus que la viabilité *in vitro*, c'est le pouvoir fécondant du pollen qui importe. D'après Harries, au-dessus de 20 p. 100 de viabilité, il n'est pas possible d'établir une corrélation entre celle-ci et la nouaison. Il faut signaler que sur les champs semenciers de Port-Bouet le nombre de fruits/régime dépasse 5,5 (1 870 000 noix récoltées en 1976 sur 335 000 régimes), chiffre tout à fait comparable à celui obtenu en fécondation naturelle.

V. — CONDITIONNEMENT

A la sortie du tamis, le pollen contient encore 10 à 12 p. 100 d'eau. Ce taux relativement élevé ne permet pas une conservation de longue durée. Placé au congélateur à -20 °C, le pollen conserve cependant sa viabilité plus de deux semaines ce qui suffit bien pour l'exploitation de champs semenciers proches.

Par contre les expéditions à longue distance ne peuvent se faire sans un séchage complémentaire. Le pollen est placé en couche mince dans une enceinte close en présence de silicagel. Après une nuit de séchage, l'humidité résiduelle est de 4,5 à 5,5 p. 100 et la viabilité n'est pas affectée (test systématique avant conditionnement).

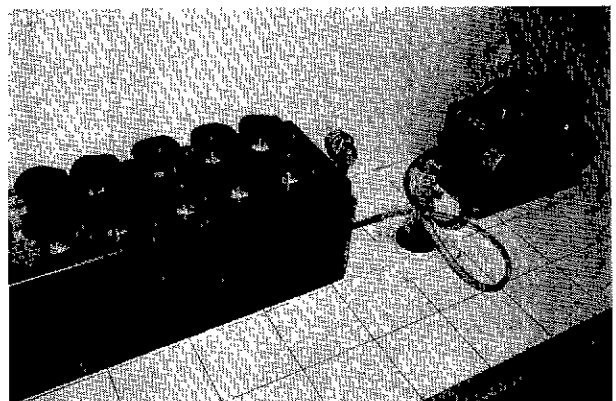


Séchage du pollen sur silicagel (Drying of pollen on silicagel).

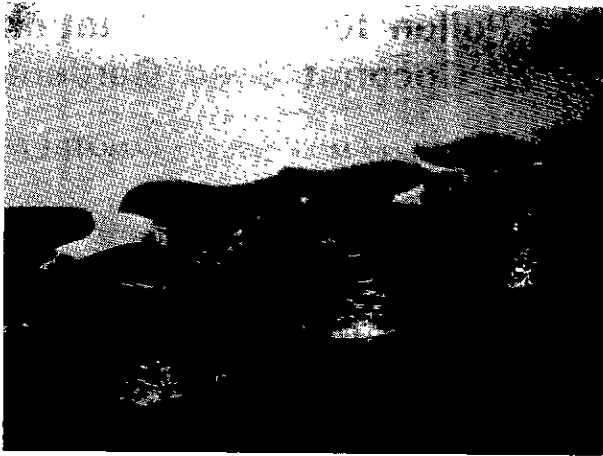
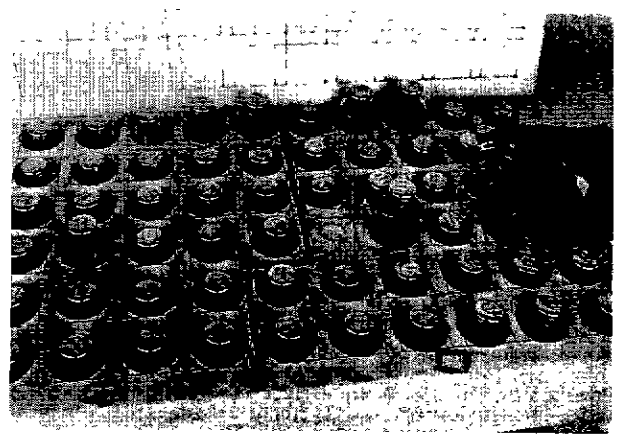
Le pollen est alors conditionné sous vide par unités de 18 g en flacons de 34 ml, type antibiotique, fermés avec un bouchon en caoutchouc cannelé et une capsule sertie en aluminium. Pour cela les flacons sont placés dans des tulipes de verre reliées à une pompe à vide. Le disque de caoutchouc qui ferme la partie supérieure de la tulipe permet d'enfoncer le bouchon lorsque le vide est suffisant (0,5 à 1 mm de mercure).

Les flacons sont placés dans un emballage en polystyrène expansé et le vide est contrôlé à l'aide d'un testeur à haute fréquence.

Ces flacons sont destinés à voyager à température ambiante pendant plusieurs semaines. Les observations sur lots témoins, gardés à Port-Bouet à température ambiante pendant deux mois, montrent une viabilité proche de celle de départ (90 p. 100 de la viabilité de départ).



Conditionnement sous vide (Vacuum packing).

Conditionnement sous vide, détail (*Vacuum packing, detail*).Emballage pour expédition (*Packaging for despatch*)

CONCLUSION

La production locale de semences hybrides à l'aide de pollens importés représente pour beaucoup de pays le moyen le plus simple de réaliser leurs programmes de plantations. La station de Port-Bouet a mis au point et développé une technique de récolte et de conditionnement du pollen qui répond bien à ces objectifs.

Le séchage des fleurs mâles est fait dans une salle à humidité relative réduite et à température proche de celle de l'air ambiant. Cette méthode permet l'obtention de quantités très importantes de pollen avec un rendement de 2,5 p. 100 par rapport au poids de fleurs mâles fraîches au lieu de 2 p. 100 avec les autres tech-

niques. Les avantages de cette méthode sont nombreux :

- utilisation d'un matériel de type courant pour la déshydratation ;
- conditions de température voisines de celles dans lesquelles est cultivé le cocotier ce qui assure une excellente viabilité du pollen ;
- potentiel de production extrêmement élevé ;
- amélioration des choix de géniteurs grâce à l'augmentation du rendement en pollen.

Enfin, cette technique a été éprouvée, elle a été utilisée à grande échelle depuis 1975 pour la production de plusieurs millions de noix de semences hybrides avec des taux de nouaisons comparables à ceux obtenus en fécondation naturelle.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] de NUCÉ de LAMOTHE M. et ROGNON F. (1972). — La production de semences hybrides chez le cocotier par pollinisation assistée. *Oléagineux*, 27, p. 539-544.
- [2] LIYANAGE D. V. (1949). — Preliminary studies on the floral biology of the coconut palm. *Tropical Agriculturist (Ceylon)*, 55, p. 171-175.
- [3] BRIOLLE C. E. (1964). — Pratique de la fécondation dirigée du cocotier. *Oléagineux*, 19, p. 149-158.
- [4] WHITEHEAD R. A. (1962). — Room temperature storage of coconut pollen. *Nature*, p. 196-190.
- [5] HARRIES H. C. (1973). — Pollen collection from coconut flowers by means of a fluid bed dryer. *Euphytica*, 22, p. 164-171.
- [6] ROGNON F. (1976). — Biologie florale du cocotier. *Oléagineux*, 31, p. 13-18.
- [7] ARNOLD A. J. (1976). — New techniques for the pollination of coconuts. *Coconut Bulletin*.

SUMMARY

Harvesting and Conditioning of Pollen for the Pollination of Coconut Seed Gardens.

F. ROGNON and M. de NUCÉ de LAMOTHE, *Oléagineux*, 1978, 33, n° 1, p. 17-23.

A new method of drying male coconut flowers for pollen extraction and of conditioning and storage are described. Drying takes place in a room with reduced relative humidity and a temperature close to that of the surrounding air. The yield of fresh pollen is as much as 2.5 p. 100 of fresh male flowers, with a viability approaching 40 p. 100 (germination on an agar-sugar medium, 1.2-11 p. 100). The quantities of pollen produced can be considerable. Harvesting of male flowers should be done twice, 6-8 days and 12-14 days after opening of the spathe. After further drying on silicagel, the pollen at 5 p. 100 humidity can be stored vacuum-packed for at least two months at surrounding temperature and more than six months in a freezer. Pollen prepared in this way will give a fruit set rate very similar to that obtained with open pollination.

RESUMEN

Cosecha y acondicionamiento del polen para la polinización de los campos semilleros de cocoteros.

F. ROGNON y M. de NUCÉ de LAMOTHE, *Oléagineux*, 1978, 33, N° 1, p. 17-23.

Se describe un nuevo método de secamiento de las flores masculinas de cocotero para la extracción de polen, como también los métodos de acondicionamiento y almacenamiento. El secamiento se efectúa en una sala en humedad relativa reducida y en una temperatura próxima a la del aire ambiente. El rendimiento en peso de polen/flor masculina fresca llega a 2.5 % y la viabilidad es próxima a 40 % (germinación en un medio agar-azúcar 1,2-11 %). Esto permite producir cantidades de polen que pueden ser muy elevadas. La cosecha de las flores masculinas tiene que efectuarse en dos operaciones, 6 a 8 días y 12 a 14 días después de la apertura de la espata. Después de un complemento de deshidratación en silicagel, se puede conservar el polen 5 % de humedad en vacío durante dos meses por lo menos a la temperatura ambiente, y durante más de seis meses en el congelador. El uso del polen así preparado permite obtener un porcentaje de fructificación próximo al que se observó en la fecundación natural.

Harvesting and Conditioning of Pollen for the Pollination of Coconut Seed Gardens

F. ROGNON (1) and M. de NUCÉ de LAMOTHE (2)

I. — INTRODUCTION

A previous article [1] explained the advantages of assisted pollination for the production of hybrid coconut seed. Since then, most seed gardens are designed to use this method. The pollen is dusted at the rate of about 1 kg/ha on the inflorescences of the maternal population, isolated and regularly emasculated.

Because the coconut has a low multiplication power, giving only 50-60 offspring a year (3), it takes an extensive area of seed garden to provide for the creation of large plantations, and the pollen requirements are therefore considerable. Thus, by 1980 in the Philippines one ton of pollen will be needed each year, involving the processing of 40 tons of fresh male flowers.

The earliest pollen harvesting methods were only required to satisfy the needs of research programmes, so that the stress was on the necessity for avoiding contamination rather than on producing large quantities of pollen. In 1928, Marechal in the Fiji Islands described a technique which was slightly modified later in Sri Lanka [Liyanage, 1949-2] and in Benin (ex Dahomey) [Briolle, 1964-3]. Spikelets or portions thereof were removed from the inflorescences; the bottom end was dipped in water and the upper part, inclined over a smooth surface, slowly let fall its pollen which was collected with the aid of a fine brush. The quantity obtained was about 1 g per inflorescence. By 1962, in Jamaica, Whitehead [4], drying the male flowers in an oven at 40 °C for 48 hours, got up to 14 g from one inflorescence. Trials carried out at Port Bouet in 1967 enabled the drying time to be reduced to 24 hours.

The appearance in 1972 of assisted pollination for the production of hybrid seed created pollen requirements well in excess of those of research programmes. Harries in Jamaica then proposed the use of a fluid bed dryer (made by Palmer Research Laboratories Ltd.), which has an output of 60 g pollen in 4 hours. In 1974 Port-Bouet worked out a method of desiccation in a chamber with reduced relative humidity and a temperature close to surrounding temperature.

But the obtaining of viable pollen from male flowers should be integrated into a more complete process, with the harvesting of these flowers at the optimum stage upstream and the conditioning and storage of the pollen downstream.

The methods described herein form a whole adapted to seed production.

II. — MALE FLOWERING. TIME OF FLOWER HARVESTING

The flowers are collected from parents chosen on highly heritable characters, e. g. copra/nut, or as a result of progeny trials. The inflorescences are not isolated as they are for artificial pollination.

The inflorescence bears very numerous male flowers (a few hundred to several thousand). Anthesis starts with the opening of the flower and lasts no more than 24 h. Figure 1 shows that the flower falls the days after opening. Maturation of the inflorescence is centripetal, passing very progressively from the upper to the lower spikelets and from top to bottom on each spikelet (Fig. 2). The male phase (opening of the first flower to fall of the last) lasts 20.6 days in the West African Tall [6]; the duration varies slightly in function of the climatic conditions (18.5-26 days) and of the type of coconut (19.5 for the Cameroon Red Dwarf to 22.8 for the Equatorial Guinea Green Dwarf). Pollen emission therefore goes on for about 3 weeks but at any given moment only a small part of the flowers is in anthesis.

To obtain large quantities of viable pollen it is therefore necessary to treat flowers which have not yet reached anthesis but some of which already contain ripe pollen.

Observations were made at Port-Bouet to determine the optimum period for harvesting male flowers (Table I [*] and Fig. 3). Three portions of the inflorescences were considered: top, middle and bottom. The pollen was extracted by the method described hereunder. Starting with the opening of the inflorescence, the largest quantities of viable pollen are obtained between 2 and 4 days on the top spikelets, 6 and 8 days on the middle ones and 10 and 14 days on the lowest.

For practical reasons and to get the most viable pollen, it can be collected in two lots: 6th-8th day, removal of the top spikelets and the ripe part of the middle ones; 12th-14th day, removal of the bottom spikelets. Any parts on which the flowers are over-ripe or too green are discarded.

The spikelets are cut with a pruning shears and the male flowers detached immediately for transport to the laboratory. A West African Tall inflorescence produces between 0.6 and 1.1 kg of fresh male flowers.

III. — EXTRACTION OF POLLEN FROM MALE FLOWERS

The pollen is obtained by crushing and sieving, the latter operation being possible only after drying of the flowers so that the pollen grains do not cake and stick to the floral parts.

1. — Crushing.

This is done before drying, of which it improves the output. Various apparatuses have been proposed [Arnold, 1976-7], but crushing by hand on a honeycombed tray with a simple rolling-pin gives excellent results for a very modest cost (0.75 manday per gram of pollen collected). The pressure exerted on the flowers should be sufficient to open the petals without bruising the stamens, which would provoke an oxidation reaction prejudicial to pollen survival.

2. — Drying.

a) Premises and equipment (Fig. 4).

Drying is done in a rectangular room 3 m × 8 m and about 3.20 m high, and is achieved by direct action on the relative humidity of the atmosphere; temperature regulation has only a secondary role. Within the room, a refrigerating set in closed circuit dries the air (45-50 p. 100 relative humidity) and raises the temperature slightly. Part of the roof is in translucent plastic and contributes to raising the temperature during the daytime. Finally, an air-conditioner in an outside wall helps dehydration whilst lowering the temperature during the hottest hours of the day. In this way the temperature is kept between 23 and 35 °C.

An ordinary room equipped with air-conditioning can easily be transformed into a drying room by fitting it with a second air-conditioner working in closed circuit and assuring dehydration and reheating.

The drying room has a central alley running between two metal frameworks supporting 156 movable aluminium trays, each 0.6 m².

There is a drain in the floor so that the room can be washed out easily; the latter is disinfected once a week by spraying with a dilute solution of sodium hypochlorite.

b) Operation.

The crushed male flowers are spread in a thin layer at the rate of 400 g per tray. After 22 hours drying they are placed in a receptacle together with any pollen which has been deposited on the tray and which is collected with a fine brush.

(1) Selection Service, I. R. H. O. Station, Port-Bouet (Ivory Coast).

(2) Coconut Breeding Department, I. R. H. O., Port-Bouet (Ivory Coast).

(3) Allowing for eliminations in the nursery.

[*] Acknowledgements. — The authors thank Mr Pokou Adou, student at the Ecole nationale supérieure d'Agronomie d'Abidjan (ENSAA) who carried out the test in table I during a training course at Port-Bouet.

3. — Sieving.

The pollen is separated from the male flowers and miscellaneous debris by sieving in the conditioning room. The sieves are equipped with bronze wire gauze, mesh 100 per 1.09 inches, mesh size 0.2 mm. Sieving is done by hand; the operation is long and tiresome, and the use of a continuous separator is contemplated.

IV. — POLLEN YIELD AND VIABILITY RATE

The installation described above will allow large quantities of pollen to be produced (1.5 kg/day per drying room), with a ratio of extracted pollen to the weight of fresh male flowers higher than with other techniques. Harries mentions a yield of 2.02 p. 100 (6 g/297 g) when the fluid bed dryer is operating in optimum conditions, and Arnold, processing 3 kg with the same apparatus, gets about 50 g pollen (1.67 p. 100), whereas at Port-Bouet the yield is commonly 2.5 p. 100. This 25 p. 100 increase in the quantity of pollen is particularly advantageous in that it reduces the number of trees from which pollen has to be collected and so improves the choice of parents. In 1977, 225 kg of pollen were collected in this way at Port-Bouet, and it is expected that the quantity will reach 350 kg in 1978 and 500 in 1979.

Viability is tested *in vitro* on an agar-sugar medium (1.2-11 p. 100); it is about 40 p. 100 (mean for 1977). Much higher figures are quoted in literature on the subject, but the germination media and conditions of observation have never been sufficiently standardized for a valid comparison of the results from one research centre to the next. For the pollens harvested according to Whitehead's method, 35-50 p. 100 viability is observed at Port Bouet, against 50-80 p. 100 in Jamaica. The difference could be due to some genetic cause, but this is unlikely, as no pollen from the Port Bouet collection regularly exceeds 50 p. 100. It is certain that the viability of pollens dried in a reduced-humidity chamber is at least equal to that of those obtained by all the other techniques tested at Port-Bouet. This would seem normal, since the drying temperature is close to surrounding temperature. Moreover, when the male flowers are dried for 10 days in an air-conditioned room, pollen viability is unchanged, which proves the harmlessness of the treatment.

In fact, it is the fertilizing power of the pollen which is important, more than its viability *in vitro*. According to Harries, below 20 p. 100 viability it is impossible to arrive at a correlation between it and fruit set. It must be mentioned that in the seed fields at Port-Bouet the number of fruit per bunch exceed 5.5 (1 870 000 nuts harvested in 1976 on 335 000 bunches), a figure altogether comparable to that of open pollination.

V. — CONDITIONING AND PACKING

When it comes out of the sieve the pollen still contains 10-12 p. 100 water. This relatively high rate does not allow long conservation. Nevertheless, placed in a freezer at -20°C the pollen keeps its viability for more than two weeks, which is quite long enough for use in nearby seed fields.

On the other hand, it cannot be sent over long distances without extra drying. It is placed in a thin layer in a sealed chamber in the presence of silicagel. After an all-night drying the residual humidity is 4.5-5.5 p. 100 and the viability is unaffected (systematic test before packing).

The pollen is then vacuum packed in 18 g units in 34 ml bottles of the type used for antibiotics, with a grooved rubber stopper and an aluminium sealing capsule. These bottles are placed in glass tulip flasks connected to a vacuum pump; the rubber disk covering the opening of the tulip flask enables the stopper to be driven in when the vacuum is sufficient (0.5-1 mm of mercury).

The bottles are placed in an expanded polystyrene packing, and the vacuum is checked with a high-frequency tester.

These bottles are intended to travel at surrounding temperature for several weeks. Checks of control lots kept at Port Bouet at surrounding temperature for two months show that viability is close (90 p. 100 to its initial level).

CONCLUSION

To many countries the local production of hybrid seed with the help of imported pollens is the simplest way of fulfilling their planting programmes. The Port Bouet Station has worked out and developed a pollen harvesting and conditioning technique which achieves its aims very well.

The male flowers are dried in a room at reduced relative humidity with a temperature close to that of the surrounding air. This method produces very large quantities of pollen, the return being 2.5 p. 100 of the weight of fresh male flowers against 2 p. 100 with the other methods. The advantages of this technique are many:

- ordinary standard equipment can be used for drying;
- the temperature conditions are similar to those in which the coconut is grown, and this ensures excellent pollen viability;
- the production potential is extremely high;
- because the pollen yield is greater the choice of male parents can be narrowed down and improved.

Finally, this technique has been tried and tested; it has been used on a large scale since 1975 for the production of several million hybrid seed nuts with fruit set rates comparable to those of open pollination.