

Premiers examens des accidents de fertilité chez l'hybride interspécifique de palmier à huile

Elaeis melanococca × *E. guineensis*

J. SCHWENDIMAN (1), P. PALLARES (1) et P. AMBLARD (2)

Résumé. — L'hybride F_1 de ce croisement interspécifique présente, pour l'amélioration du palmier à huile, un grand intérêt mais une stérilité partielle lui confère un rendement parfois défectueux, avec d'importantes fluctuations selon les combinaisons parentales. L'analyse de la méiose des cellules-mères des grains de pollen, généralement difficile, n'a permis jusqu'à présent d'examiner qu'un nombre d'arbres restreint. On constate que l'appariement est régulier, avec quelques rares univalents et multivalents sans incidence notable au niveau de la formation des tétrades. La germination défectueuse du pollen de l'hybride n'est pas due à une stérilité d'ordre chromosomique. Les coupes dans les ovaires le jour de l'anthèse montrent une différence significative du taux de sacs embryonnaires normaux entre *E. guineensis* (93,6 p. 100) et *E. melanococca* (70,4 p. 100), mais toutes les fleurs sont néanmoins fécondables. Par contre, l'hybride F_1 *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis* n'a que 43,2 p. 100 de sacs normaux (81,5 p. 100 de fleurs fécondables) et celui obtenu avec *E. melanococca*, originaire de Colombie, 21,4 p. 100 de sacs normaux (49,7 p. 100 de fleurs fécondables). Dix jours après l'anthèse, la présence de noyaux endospermiques sert de critère de fécondation et de prédéveloppement des sacs embryonnaires. Chez l'hybride *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis*, 15,3 p. 100 des sacs ont commencé leur développement (donnant 42,9 p. 100 de fleurs nouées), tandis qu'avec l'origine colombienne, seuls 9,2 p. 100 des sacs ont entamé une croissance normale (soit 23,5 p. 100 de fleurs nouées). Divers phénomènes : échecs de fécondation, absence de divisions du noyau secondaire fécondé, concurrence entre les sacs, expliquent ces résultats. D'autres prélèvements sur des fleurs plus âgées permettront d'analyser la stérilité post-zygotique.

L'hybridation entre le palmier à huile *Elaeis guineensis* et l'espèce d'origine américaine *E. melanococca* apparaît susceptible d'offrir un vaste champ d'application dans le domaine de l'amélioration. La croissance lente du stipe de l'hybride de première génération permet d'envisager une augmentation de la durée d'exploitation tout en réduisant le coût de récolte des régimes [Meunier et Boutin, 1975]. On retrouve chez cet hybride certaines caractéristiques du parent américain, notamment des résistances à la pourriture de la flèche ou à celle de la base du stipe, ainsi que diverses tolérances vis-à-vis d'insectes et de champignons parasites [Meunier *et al.*, 1976]. Mais l'un des facteurs remarquables concerne la qualité de l'huile, plus riche en acides gras insaturés que celle fournie par le parent africain, avec un abaissement de son point de fusion qui en facilite la manutention.

La réalisation du croisement interspécifique est aisée, mais des facteurs de stérilité, présents dans la génération F_1 , se manifestent par une diminution du pourcentage de fruits sur les régimes. Néanmoins, des fluctuations très importantes de rendement s'observent selon les combinaisons étudiées ici, entre des parents *E. melanococca* provenant de la Colombie, du Brésil ou du Surinam et des *E. guineensis* de La Mé (Côte-d'Ivoire), Yangambi (Zaire) ou Déli (Extrême-Orient). Le programme, conduit actuellement par l'I.R.H.O., comporte des tests d'aptitude générale et spécifique à la combinaison qui doivent permettre de déterminer les meilleurs croisements et d'adopter la stratégie appropriée d'amélioration. Conjointement

à ces travaux, menés sur le terrain d'expérimentation de la station de La Mé (Côte-d'Ivoire), le laboratoire de Cytogénétique du GERDAT tente actuellement de préciser, par comparaison avec les comportements parentaux, les facteurs qui entrent en jeu dans les phénomènes de stérilité des hybrides F_1 . Les observations qui sont rapportées ici concerneront la méiose dans les cellules-mères des grains de pollen et l'examen de la conformité des sacs embryonnaires le jour de l'anthèse, puis dix jours environ après celle-ci.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les prélèvements de fleurs mâles se font durant la matinée du jour de la méiose, ce stade étant déterminé grâce à une modification de couleur des épines des épillets qui, de blanc crémeux virent à l'orangé, puis au rose clair, avant de devenir bruns lorsque la méiose est achevée. L'observation cytologique confirme globalement la validité de ce critère morphologique. Des prélèvements effectués simultanément sur des épillets situés à la base ou au sommet d'un régime montrent que la méiose se déroule d'une manière synchrone, dans l'ensemble.

Les fleurs mâles sont fixées durant 48 heures, à froid, dans le Carnoy (6 volumes d'alcool 100°, 3 de chloroforme, 1 d'acide acétique glacial) avec addition d'un mordant (perchlorure de fer) et d'un éclaircissant du cytoplasme (hydrate de chloral à 2 %). Elles sont ensuite transférées et expédiées dans l'alcool 70°. L'écrasement des anthères se fait dans le carmin acéto-ferrique.

Les fleurs femelles sont fixées durant 24 heures minimum dans le Crafi qui est un mélange, lors de l'emploi et à proportion égale, entre une solution A (0,4 g d'acide

(1) Laboratoire de Cytogénétique du GERDAT B.P. 5035 - 34032 Montpellier Cédex (France)

(2) Service Sélection, Station de Recherches I.R.H.O. à La Mé, B.P. 13, Bingerville (Côte-d'Ivoire)

chromique, 1,5 ml d'acide acétique glacial, 98,5 ml d'eau distillée) et une solution B (formol à 10 %). Après lavage à l'eau courante durant 6 heures, les fleurs sont incluses selon le processus classique dans la paraffine, coupées au microtome à 10 μ d'épaisseur, séchées à l'étuve à 40°, puis déparaffinées. Les coupes sont colorées à l'hématoxyline de Régaud : mordantage dans l'alun de fer à 5 % durant 1 heure au moins, lavage à l'eau 10 minutes, coloration à l'hématoxyline durant 12 heures, différenciation de 15 minutes à l'alun de fer à 3 %, lavage 2 heures à l'eau courante, déshydratation pendant 1-2 minutes à l'alcool 100° et montage à l'Euparal.

RÉSULTATS

1. — Analyse de la méiose.

En dehors d'une taille réduite des chromosomes, des problèmes sont rencontrés lors de l'analyse méiotique chez le palmier : la métaphase I, stade le plus favorable aux observations, est très fugace ; sur un fragment d'épillet

d'environ 1 cm, les cellules-mères des fleurs de base peuvent être déjà en tétrades, tandis que celles du sommet sont en prophase, ce qui diminue le nombre de fleurs observables ; d'autre part, malgré l'apport d'hydrate de chloral, un cytoplasme souvent sombre rend les observations délicates. Enfin, lors de l'écrasement, une résistance à l'étalement des chromosomes, qui restent fréquemment agglomérés, réduit considérablement le nombre des plaques métaphasiques analysables.

Ceci explique que pour certains arbres, il n'a pas été jusqu'ici possible d'obtenir une quantité appréciable de cellules-mères. Les appariements méiotiques sont portés sur le tableau I.

Chez le parent *E. guineensis*, l'appariement moyen par cellule est de 0,31 I 15,516 II 0,234 IV, avec 29,86 chiasmata (I) par cellule et une valeur moyenne de 1,867 chiasmata par bivalent (ce chiffre est légèrement inférieur à la valeur 2 théorique obtenue lorsque tous les

(1) Désigne les points de contact entre chromatides homologues où peut s'effectuer un échange entre elles.

TABLEAU I. — Appariement chromosomique en métaphase I des cellules-mères des grains de pollen
(Chromosome pairing in metaphase I of the pollen grain mother-cells)

| Origine (origin) | N° arbres (trees) | Formule caryologique (Caryological formula) | | | Nombre de cellules- mères (No. of mother-cells) | | |
|--|-------------------------|---|---|-------------------|---|-----------------------|---|
| | | Total | bivalents (II) | univalents (I) | | quadrivalents (IV) | |
| | | | Nombre de chiasmata (No. of chiasmata) | | | | |
| <i>E. guineensis</i> | E74.24.17 | 16 | 31 | | 3 | | |
| | | 16 | 30 | | 20 | | |
| | 124. 6.12 | 16 | 31 | | 3 | | |
| | | 16 | 30 | | 20 | | |
| | | 16 | 28 | | 4 | | |
| | | 15 | 29 | 2 | 1 | | |
| | | 14 | 26 | | 1 | | |
| | | 14 | 25 | | 10 | | |
| | | 14 | 24 | | 1 | | |
| | | 14 | 24 | | 1 | | |
| 10 | 18 | | 1 | | | | |
| <i>E. melanococca</i> (Colombie-Colombia) | 165.26.1 | 16 | 32 | | 4 | | |
| | | 16 | 31 | | 7 | | |
| | | 16 | 30 | | 5 | | |
| | | 16 | 29 | | 2 | | |
| | | 16 | 28 | | 1 | | |
| | | 15 | 29 | 2 | 2 | | |
| | | 14 | 28 | | 1 | | |
| | | 12 | 24 | | 2 | | |
| | | 16 | 31 | | 1 | | |
| | | 16 | 32 | | 2 | | |
| | 165.16.3 | 16 | 31 | | 1 | | |
| | | 16 | 32 | | 3 | | |
| | | 16 | 31 | | 7 | | |
| | | 16 | 30 | | 2 | | |
| | | 15 | 29 | 2 | 1 | | |
| 165.18.8 | 16 | 31 | | 1 | | | |
| | 16 | 30 | | 3 | | | |
| | 16 | 30 | | 7 | | | |
| | 14 | 25 | | 2 | | | |
| <i>E. melanococca</i> (Brésil-Brazil) | 124. 1.7 | 16 | 32 | | 1 | | |
| | | 16 | 31 | | 1 | | |
| | | 16 | 30 | | 5 | | |
| | | 16 | 31 | | 4 | | |
| | | 16 | 30 | | 5 | | |
| | 124.24.5 | 16 | 31 | | 4 | | |
| | | 16 | 30 | | 5 | | |
| | | 14 | 27 | | 1 | | |
| | | <i>E. guineensis</i> | 124.20.12 | 16 | 30 | | 1 |
| | | | | 14 | 27 | | 1 |
| F42.27.12 | 6 | | 30 | | 3 | | |
| | 16 | | 29 | | 2 | | |
| | 14 | | 27 | | 2 | | |
| <i>E. melanococca</i> (Surinam) | F42.27.12 | 6 | 30 | | 3 | | |
| | | 16 | 29 | | 2 | | |
| <i>E. guineensis</i> | F42.27.12 | 6 | 30 | | 3 | | |
| | | 16 | 29 | | 2 | | |
| <i>E. guineensis</i> | F42.27.12 | 6 | 30 | | 3 | | |
| | | 16 | 29 | | 2 | | |
| <i>E. guineensis</i> | F42.27.12 | 6 | 30 | | 3 | | |
| | | 16 | 29 | | 2 | | |

bras chromosomiques sont impliqués dans l'appariement).

Chez l'autre parent *E. melanococca*, l'appariement moyen par cellule est 0,146 I 15,683 II 0,122 IV, avec 30,44 chiasmata par cellule et en moyenne 1,91 chiasmata par bivalent.

Pour l'un et l'autre parent, l'analyse de l'appariement méiotique montre qu'il est proche de la normalité et qu'il doit conduire à une répartition équilibrée des chromosomes dans les gamètes. Il est par contre curieux d'observer l'existence de quadrivalents, que l'on peut tenter d'interpréter comme l'indice de translocations réciproques entre chromosomes, c'est-à-dire de remaniements intragénomiques, à moins que ces deux espèces ne soient pas de véritables diploïdes, mais des allopolyploïdes segmentaires.

Chez l'hybride F1, bien qu'un faible nombre de cellules-mères ait été examiné jusqu'à présent, l'appariement est très proche de la normalité avec 15,714 II 0,143 IV. On constate 29,095 chiasmata par cellule et en moyenne 1,815 chiasmata par bivalent. La répartition des chromosomes dans les gamètes est très équilibrée et, à la fin de la méiose, il y a formation régulière de tétrades ; jusqu'ici, aucun micronoyau n'a été rencontré. Nos résultats sont très analogues à ceux de Hardon et Tan [1969] ; ils n'en diffèrent que légèrement avec la présence de rares multivalents. Néanmoins, la régularité de la méiose n'implique pas systématiquement que le développement ultérieur des grains de pollen se fasse normalement. De fait, Arnaud [1980] a constaté que les taux de germination *in vitro* du pollen sont de 20 % pour l'hybride *E. melanococca* Colombie × *E. guineensis*, et de 44 % sur *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis*, alors qu'ils sont supérieurs à 70 % chez les parents. Certains grains de pollen dégèrent donc entre la méiose et l'anthèse, ou sont inaptes à germer.

2. — Analyse des sacs embryonnaires le jour de l'anthèse.

Par analogie avec les travaux réalisés par Gascon [1953] sur le comportement des sacs embryonnaires chez des palmiers stériles de type *pisifera*, il a été supposé que des phénomènes similaires pouvaient entrer en jeu chez l'hybride F1. Les coupes effectuées dans les fleurs femelles prélevées le jour de l'anthèse ont permis de déterminer les proportions respectives de sacs embryonnaires normaux et de sacs dits indifférenciés (cette catégorie incluant ceux, peu nombreux, dont la configuration montre qu'ils sont très retardés dans leur évolution). Tous les résultats sont portés sur le tableau II.

Le parent *E. guineensis* possède 93,6 % de sacs embryonnaires normaux (SEN). Etant admis qu'il suffit d'un sac normal sur les trois généralement présents pour qu'une telle fleur soit apte à nouer, on arrive à 100 % de fleurs fécondables.

Le taux (70,4 %) de sacs normaux chez *E. melanococca* est significativement inférieur ($X^2 = 17,54$ pour 1 d.l.). Les données ne sont pas suffisantes pour autoriser une comparaison valable entre les deux origines Brésil et Colombie. Néanmoins, le pourcentage de fleurs fécondables chez cette espèce avoisine lui aussi les 100 %.

Mais chez les hybrides de première génération, on observe une chute considérable du taux de SEN, qui tombe à 43,2 % lorsque l'origine d'*E. melanococca* est brésilienne et à 21,4 % lorsque ce parent vient de la Colombie. Il apparaît clairement, et les observations faites sur les plantations le confirment, que le comportement des hybrides subit d'importantes fluctuations selon le lieu d'origine d'*E. melanococca*. En conséquence, 81,5 % de fleurs chez l'hybride Brésil sont fécondables contre

TABLEAU II. — Analyse des fleurs femelles le jour de l'anthèse

(Analysis of female flowers on day of anthesis)

| | | Nombre moyen de (Mean No. of) : | | | | | | | | | | |
|--|---------|----------------------------------|-----------------|-------|-------------|--|-----|-----|-----|-------|---|------|
| | | Sacs embryonnaires (embryo sacs) | | | | Fleurs à 0, 1, 2, 3 ovaires normaux (flowers with 0, 1, 2, 3 normal ovaries) | | | | | Fleurs fécondables (fertilizable flowers) | |
| | | Normaux (Normal) | Indif. (Undif.) | Total | % SEN (NES) | 0 | 1 | 2 | 3 | Total | Total | % |
| <i>E. guineensis</i> | (n = 6) | 14,5 | 1 | 15,5 | 93,6 | 0 | 0 | 1 | 4,2 | 5,2 | 5,2 | 100 |
| <i>E. melanococca</i> Brésil (Brazil) | (n = 5) | 11,2 | 4,4 | 15,6 | 71,8 | 0,2 | 1,0 | 1,8 | 2,2 | 5,2 | 5,0 | 96,2 |
| <i>E. melanococca</i> Colombie (Colombia) | (n = 2) | 10,0 | 5,0 | 15,0 | 66,7 | 0 | 2 | 2,5 | 1 | 5,5 | 5,5 | 100 |

Analyse des fleurs femelles 10 jours après l'anthèse (Analysis of female flowers — 10 days after anthesis)

| | | | | | | | | | | | | |
|---|----------|-----|------|------|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|
| <i>E. melanococca</i> Brésil × <i>E. guineensis</i> La Mé | (n = 26) | 6,7 | 8,8 | 15,6 | 43,2 | 1,0 | 2,1 | 1,6 | 0,5 | 5,2 | 4,2 | 81,5 |
| <i>E. melanococca</i> Colombie (San Alberto) × <i>E. guineensis</i> indéterminé (indeterminate) | (n = 28) | 3,4 | 13,3 | 15,7 | 21,4 | 2,6 | 2,0 | 0,5 | 0,07 | 5,2 | 2,6 | 49,7 |

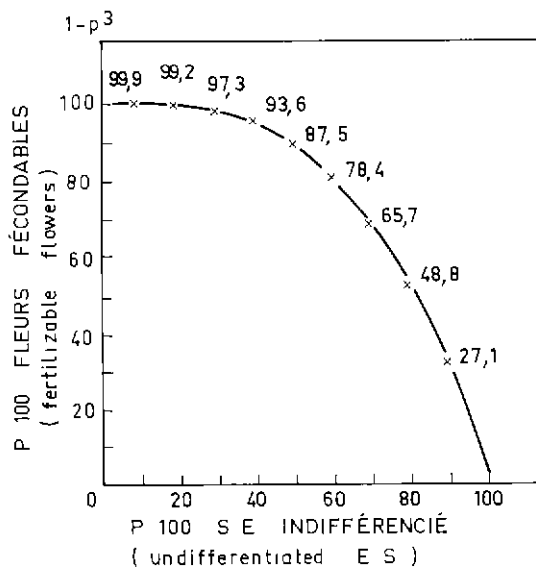
n = nombre d'arbres observés (number of trees observed)

49,7 % seulement avec l'hybride Colombie, donc 1/5 ou 1/2 des fleurs du régime sont totalement inaptes à poursuivre leur développement, sauf éventuellement par la voie parthénocarpique.

Toutes ces observations ont permis le test de l'indépendance, chez une fleur, de la répartition des sacs embryonnaires normaux ou indifférenciés. Les valeurs théoriques des classes avec 0, 1, 2 ou 3 SEN s'obtiennent par le développement du binôme $(p + q)^3$, où p est égal au taux de sacs indifférenciés et q (complément à 1) celui de SEN, soit respectivement p^3 , $3 p^2q$, $3 pq^2$, q^3 . Les valeurs du X^2 sont (avec regroupements parfois nécessaires de certaines classes) :

- *E. guineensis* : $X^2 =$ non calculable par manque de classes,
- *E. melanococca* : $X^2 = 0,93$ pour 1 degré de liberté, non significatif,
- F1 *E. melanococca* Brésil \times *E. guineensis* : $X^2 = 3,50$ pour 2 d. l., N.S.,
- F1 *E. melanococca* Colombie \times *E. guineensis* : $X^2 = 0,39$ pour 1 d. l., N.S.

On démontre ainsi qu'à l'intérieur d'une fleur, l'existence d'un sac embryonnaire indifférencié est sans influence sur l'état des deux autres sacs généralement présents. Ceci permet d'établir la courbe prévisionnelle du pourcentage de fleurs fécondables en fonction du taux de sacs embryonnaires indifférenciés (porté en abscisse sur la figure ci-dessous).



Les résultats observés concernant les pourcentages de fleurs fécondables (Ff) sont remarquablement proches des résultats théoriques déduits de l'équation $Ff = 1 - p^3$.

| Parents | Pourcentage de fleurs fécondables observé / théorique | |
|--|---|-------|
| — <i>E. guineensis</i> | 100 | 99,97 |
| — <i>E. melanococca</i> | 97,3 | 97,4 |
| — F1 <i>E. m.</i> Brésil \times <i>E. guineensis</i> | 81,5 | 81,7 |
| — F1 <i>E. m.</i> Colombie \times <i>E. guineensis</i> | 49,7 | 51,5 |

3. — Examen des sacs embryonnaires dix jours après l'anthèse.

Par les observations faites le jour de l'anthèse, on constate que certains sacs embryonnaires sont indifférenciés, plus rarement en voie de différenciation. En conséquence, un pourcentage variable selon les croisements de fleurs de l'hybride F1 est absolument stérile ; comme la réceptivité des stigmates est limitée dans le temps, les sacs en voie de différenciation ne pourront, de même, être utilisés.

Que deviennent en revanche les sacs embryonnaires normaux, sachant que les régimes hybrides analysés ici subissent tous dans cette expérimentation une pollinisation assistée, par l'apport de pollen récolté sur le parent *E. guineensis* ? Pour répondre à cette question, des ovaires prélevés 10 jours environ après l'anthèse ont été coupés et colorés après inclusion à la paraffine. A ce stade, l'examen de l'oosphère ne peut constituer un critère de fécondation et de développement parce qu'elle n'est pas systématiquement observable compte tenu de sa fragilité et que, de plus, elle n'a généralement pas commencé les divisions à l'origine du futur embryon. Mais il est admis que le noyau secondaire fécondé se divise rapidement pour constituer les noyaux endospermiques à l'origine de l'albumen.

Pour constituer la colonne des sacs embryonnaires normaux et fécondés du tableau III nous n'avons retenu que la seule présence de noyaux endospermiques ; elle implique que la fécondation a été effectuée, et qu'un début de développement du sac est en cours mais on ne peut, à ce stade, préjuger de l'évolution du zygote.

La catégorie, dite N (normaux), regroupe différents cas : il s'agit toujours de sacs qui étaient normaux le jour de l'anthèse mais dont le développement a échoué pour diverses causes :

— échec à la fécondation. Comme nous l'avons dit, les fleurs sont en pollinisation assistée avec du pollen d'*E. guineensis*, les régimes analysés sont choisis en prenant comme critère une simultanéité de réceptivité des stigmates. Dans de telles conditions, la fécondation devrait être parfaitement assurée, sauf s'il existe des barrages dans le stigmate ou le style qui s'opposent à la pénétration du tube pollinique. Ce point demandera ultérieurement à être élucidé ;

— l'absence de division du noyau secondaire, bien que certaines observations montrent que l'oosphère contient un noyau dont le volume, nettement plus important que le jour de l'anthèse, porte à croire qu'un tube pollinique a effectivement pénétré dans le sac. Sur la figure 4 de la planche III, on voit même un jeune embryon avec 4 noyaux mais dont le sac embryonnaire contient un noyau secondaire non divisé ;

— la concurrence entre les sacs ; chez certaines fleurs pourvues de 2, ou même 3 sacs normaux, l'un d'eux a déjà pris un développement (et donc un volume) considérable, écrasant alors le ou les autres sacs potentiellement fertiles. Cette situation apparaît particulièrement chez l'hybride *E. melanococca* Brésil \times *E. guineensis* où un sac fécondé, riche en noyaux endospermiques, a déjà doublé ou triplé de volume au détriment des autres sacs en voie d'aplatissement. En revanche, chez les parents ou l'hybride avec *E. melanococca* de Colombie, cette situation n'apparaît pas encore clairement.

Sur ces bases, lorsque le parent *E. melanococca* est originaire du Brésil, on constate (Tabl. III) que 15,3 p. 100 de sacs embryonnaires ont commencé leur développement,

TABLEAU III. — Examen des sacs embryonnaires dix jours environ après l'anthèse
(Examination of embryo sacs about 10 days after anthesis)

| | Nombre de sacs embryonnaires (No. of embryo sacs) | | | | Nombre de fleurs à 1, 2, 3 sacs fécondés (No. of flowers with 1, 2, 3 sacs fertilized) | | | | Fleurs fécondées (fertilized flowers) |
|--|--|----|-----|-------|---|----|---|---|--|
| | NF | N | I | Total | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| | 45 | 85 | 164 | 294 | 56 | 40 | 1 | 1 | 42/98 |
| Hybride F1 <i>E.m.</i> Brésil (<i>Brazil</i>) × <i>E. guineensis</i> (n = 20) | Soit 15,3 % de NF et 44,2 % de NF + N | | | | | | | | Soit 42,9 % de fleurs fécondées (fertilized flowers) |
| | 24 | 43 | 194 | 261 | 65 | 16 | 4 | 0 | 20/85 |
| Hybride F1 <i>E.m.</i> Colombie × <i>E. guineensis</i> (n = 17) | Soit 9,2 % de NF et 25,7 % de NF + N | | | | | | | | Soit 23,5 % de fleurs fécondées (fertilized flowers) |

n = nombre d'arbres observés (number of trees observed).

alors que 43,2 p. 100 en étaient potentiellement capables. Dix jours après l'anthèse, on retrouve 44,2 p. 100 de sacs normaux (développés ou non), valeur très proche de celle obtenue le jour de la floraison. Le pourcentage de fleurs nouées descend à 42,9 p. 100, alors que celui de fleurs fécondables était de 81,2 p. 100.

Si le parent *E. melanococca* est colombien, on voit que 9,2 p. 100 seulement des sacs ont entamé un processus de développement, alors que 21,4 p. 100 étaient susceptibles de le faire (25,7 p. 100 de sacs normaux, développés ou non, sont retrouvés dix jours après l'anthèse). A ce stade, 23,5 p. 100 de fleurs ont commencé leur nouaison, alors que 49,7 p. 100 en paraissent capables.

CONCLUSIONS

L'examen caryologique de la méiose sur les cellules-mères des grains de pollen permet de constater que l'appariement en métaphase I, tant chez les parents que chez l'hybride F1, est proche de la normalité. On observe surtout des figures avec 16 bivalents, et il s'ensuit une répartition équilibrée des chromosomes dans les gamètes, avec des tétrades régulières sans formation de micronoyaux. Bien qu'ultérieurement on sache qu'un pourcentage important du pollen récolté sur les hybrides F1 se montre incapable de germer, la cause n'est pas due à une stérilité d'ordre chromosomique, du moins pour les arbres examinés jusqu'à présent. Il est néanmoins possible qu'une évolution anormale du pollen ait lieu entre la méiose et l'anthèse.

Sur les fleurs femelles des hybrides F1, prélevées le jour de la floraison, l'analyse de la conformité des sacs embryonnaires est nettement en faveur du croisement réalisé avec un parent *E. melanococca* d'origine brésilienne. Cet avantage se maintient 10 jours après l'anthèse puisque 15,3 p. 100 de sacs commencent à se développer, contre 9,2 p. 100 lorsque le parent provient de la Colombie. Au niveau des fleurs, la différence est plus marquée, avec 42,9 p. 100 de fleurs nouées contre 23,5 p. 100. Ces résultats impliquent que la probabilité pour un sac de nouer effectivement est proche dans les deux cas de $p = 0,35$

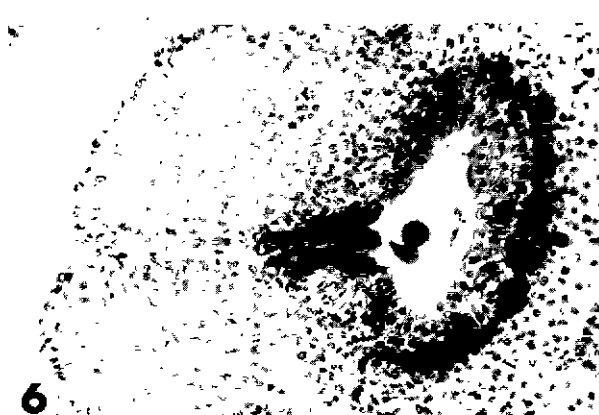
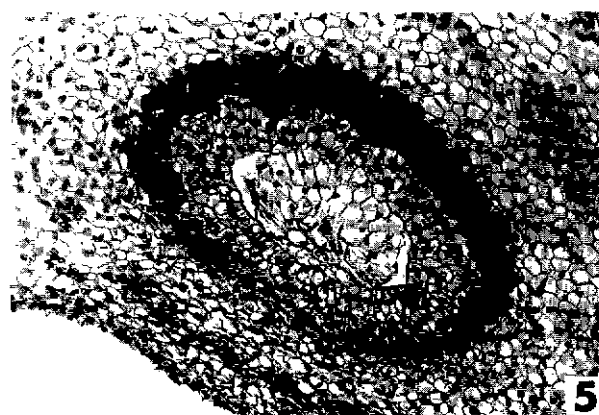
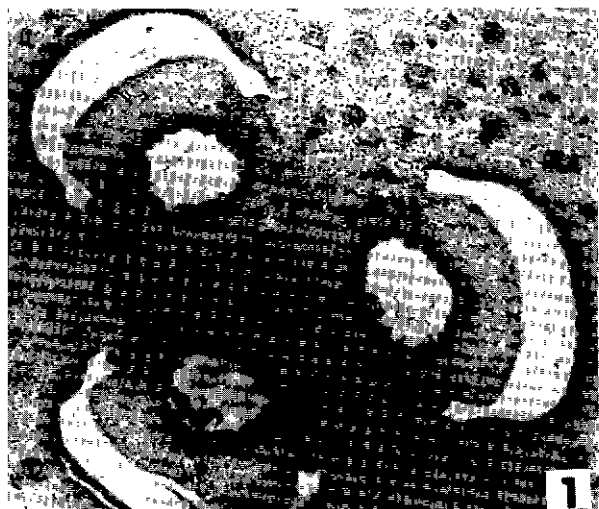
(soit $15,3/44,2 = 0,346$ et $9,2/25,7 = 0,358$) ; l'absence de nouaison d'un sac peut résulter d'un échec à la fécondation, d'une incompatibilité entre le noyau secondaire et l'un des noyaux reproducteurs du pollen empêchant la formation de l'albumen, de la concurrence qui peut s'exercer entre deux sacs normaux, sans que nous soyons en mesure actuellement de faire la part respective de ces phénomènes. Sur les régimes parvenus à maturité (soit 6 mois environ après la floraison), il est pratiquement certain que le taux de nouaison, exprimé par rapport au nombre total de fleurs, sera inférieur à celui constaté 10 jours après l'anthèse. D'autres causes, comme l'incompatibilité embryon-albumen, des malformations ou des arrêts du développement de l'embryon, vont certainement intervenir. L'analyse des accidents post-zygotiques est actuellement en cours, grâce à des prélèvements effectués durant l'évolution des régimes.

NDLR. — La présente communication traite de l'état des sacs embryonnaires au début du développement du fruit. Elle précise le taux des fleurs susceptibles de devenir des fruits normaux, mais non celui des fleurs évoluant en fruits parthenocarpiques rouges huileux qui constituent l'une des composantes du taux d'extraction d'huile de palme sur régime des hybrides *E. melanococca* × *E. guineensis*.

BIBLIOGRAPHIE

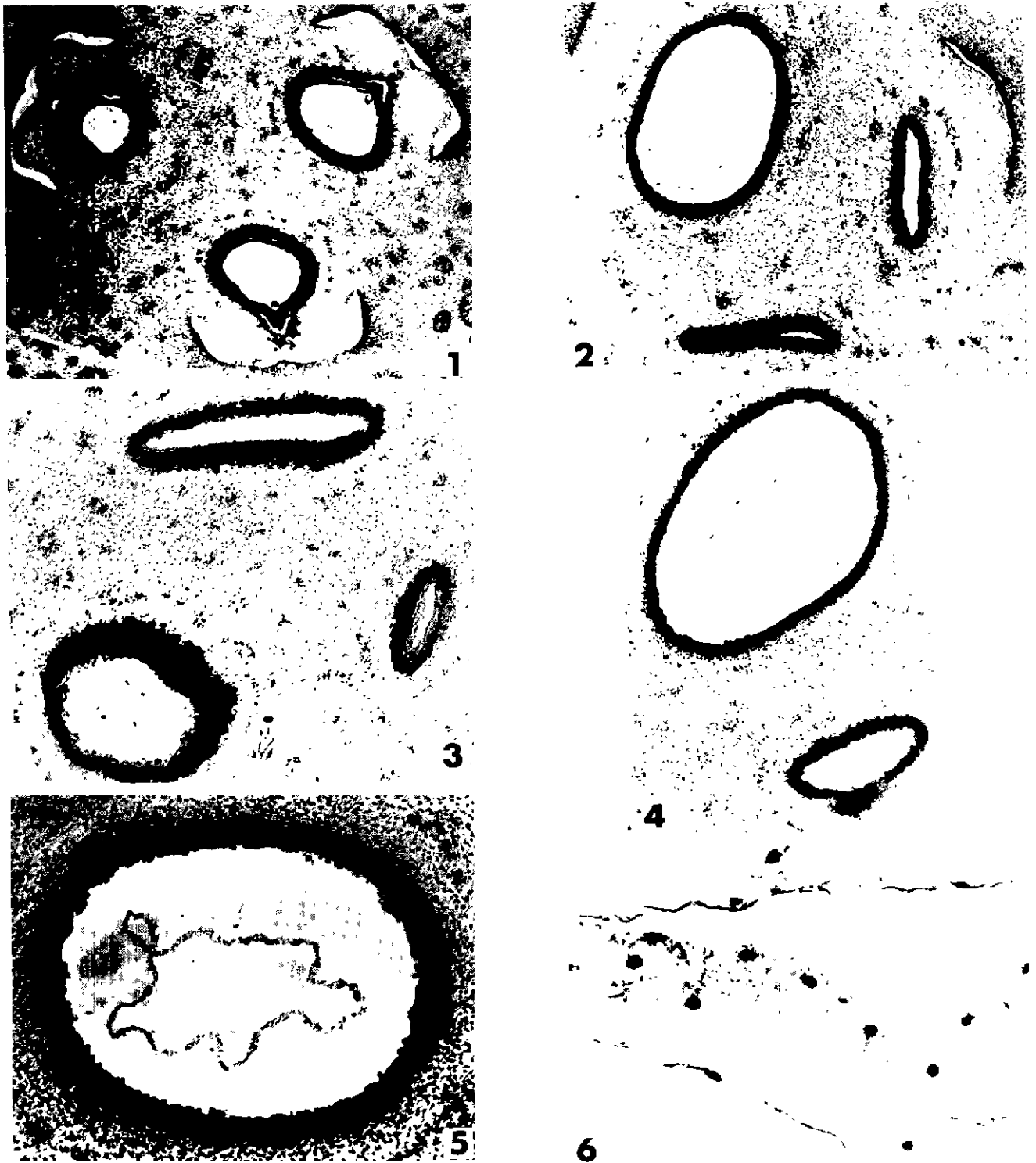
- ARNAUD F. (1980) — Fertilité pollinique de l'hybride *Elaeis melanococca* × *E. guineensis* et des espèces parentales (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 35, N° 3, p. 121-129.
- GASCON J. P. (1953). — Contribution à l'étude de la stérilité chez le palmier à huile. *Rapport de stage* effectué à l'ORSTOM Adiopodoumé.
- HARDON J. J. et TAN G. Y. (1969). — Interspecific hybrids in the genus *Elaeis* I. Crossability, cytogenetics and fertility of the F1 hybrids of *E. guineensis* × *E. oleifera* *Euphytica*, 18, p. 372-379.
- MEUNIER J. et BOUTIN D. (1975). — L'*Elaeis melanococca* et l'hybride *Elaeis melanococca* × *Elaeis guineensis*. Premières données *Oléagineux*, 30, N° 1, p. 5-8.
- MEUNIER J., VALLEJO G. et BOUTIN D. (1976). — L'hybride *E. melanococca* × *E. guineensis* et son amélioration. Un nouvel avenir pour le palmier à huile (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 31, N° 12, p. 519-528.

PLANCHE I. — COUPES TRANSVERSALES DANS LES FLEURS LE JOUR DE L'ANTHÈSE
(TRANSVERSAL SECTIONS OF FLOWERS ON THE DAY OF ANTHESIS)



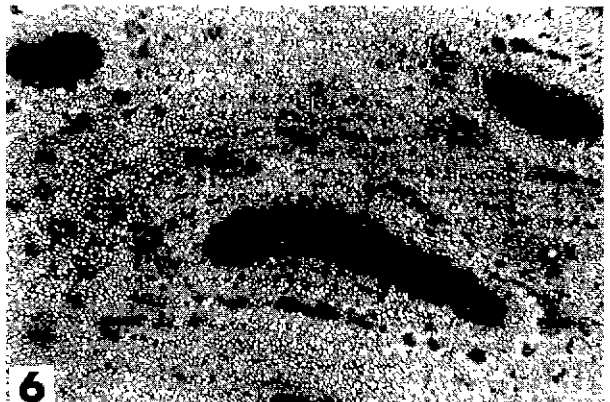
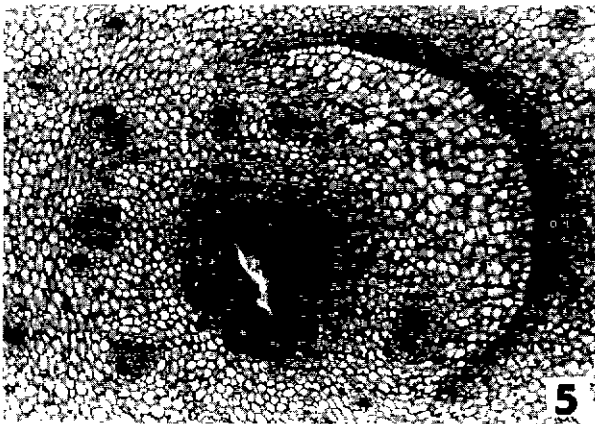
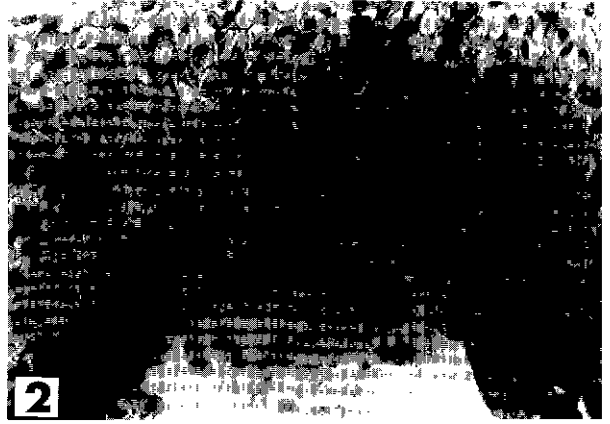
- FIG. 1. — *Elaeis guineensis* (arbre L 12-18-11). Trois sacs embryonnaires normaux (*Elaeis guineensis* [tree L 12-18-11]. Three normal embryo sacs) ($\times 46$).
- FIG. 2. — *Elaeis guineensis* (arbre L 12-18-11). Les deux synergides et l'oosphère dont on distingue nettement le noyau (E.g. [tree L 12-18-11] The two synergids and the oosphere, of which the nucleus is clearly visible) ($\times 290$).
- FIG. 3. — *Elaeis melanococca* (arbre I 65-8-10). Un sac embryonnaire normal, avec deux synergides bien visibles (E.m. [tree I 65-8-10]. A normal embryo sac, with two clearly visible synergids) ($\times 100$).
- FIG. 4. — Hybride F1 *E. melanococca* Colombie \times *E. guineensis* (arbre I 65-18-8). Trois sacs embryonnaires indifférenciés, avec pour l'un le canal du micropyle (F1 hybrid, E.m. Colombie \times E.g. [tree I 65-18-8]. Three undifferentiated embryo sacs, with the micropyle canal for one) ($\times 65$).
- FIG. 5. — Hybride F1 *E. melanococca* Colombie \times *E. guineensis* (arbre I 65-14-3). Aspect d'un sac embryonnaire indifférencié, entouré de cellules tanniques et rempli par les cellules du nucelle (F1 hybrid, E.m. Colombie \times E.g. [tree I 65-14-3]. Appearance of an undifferentiated embryo sac, surrounded by tannin cells and filled by the nucellus cells) ($\times 150$).
- FIG. 6. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil \times *E. guineensis* (arbre I 24-28-23). Sac embryonnaire en voie de différenciation (l'aspect des synergides correspond ici à celui qu'elles ont normalement 10-15 jours avant l'anthèse) (F1 hybrid, E.m. Brazil \times E.g. [tree I 24-28-23]. Embryo sac in course of differentiation — here the appearance of the synergids is like that they normally have 10-15 days before anthesis) ($\times 150$).

PLANCHE II — COUPES TRANSVERSALES DANS DES FLEURS 10 JOURS ENVIRON APRÈS L'ANTHÈSE
(TRANSVERSAL SECTIONS OF FLOWERS 10 DAYS AFTER ANTHESIS)



- FIG. 1 — *E. guineensis* (arbre I 24-10-15). Trois sacs embryonnaires fécondés, avec développement des cellules tannitères et des téguments fermant la cavité ovulaire (E.g. [tree I 24-10-15]). Three fertilized embryo sacs, with development of the tannin cells and the teguments closing the ovule cavity) ($\times 30$)
- FIG. 2. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil \times *E. guineensis* (arbre I 24-23-20). Un sac embryonnaire fécondé en voie de nouaison, les deux autres sacs normaux sont aplatis (F1 hybrid, E.m. Brazil \times E.g. [tree I 24-23-20]). A fertilized embryo sac in course of setting, the other two normal sacs are flattened) ($\times 30$)
- FIG. 3. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil \times *E. guineensis* (arbre I 24-6-5). Un sac embryonnaire fécondé, noué (noyaux endospermiques présents), un sac normal aplati, un sac indéterminé (F1 hybrid E.m. Brazil \times E.g. [tree I 24-6-5]). One fertilized, set embryo sac (endospermic nuclei present), one normal, flattened sac, one undifferentiated sac) ($\times 50$)
- FIG. 4. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil \times *E. guineensis* (arbre I 24-18-23). Deux sacs embryonnaires fécondés et noués, mais l'un d'eux provoque déjà l'aplatissement de l'autre (F1 hybrid E.m. Brazil \times E.g. [tree I 24-18-23]). Two fertilized and set embryo sacs, but one is already flattening the other) ($\times 40$)
- FIG. 5. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil \times *E. guineensis* (arbre 24-6-5). Sac embryonnaire noué avec noyaux endospermiques (F1 hybrid E.m. Brazil \times E.g. [tree 24-6-5]). Set embryo sac with endospermic nuclei) ($\times 84$)
- FIG. 6. — Hybride F1 *E. melanococca* Surinam \times *E. guineensis* (arbre F 42-28-1). Aspect du coenocyte avec nombreux noyaux endospermiques (F1 hybrid, E.m. Surinam \times E.g. [tree F 42-28-1]). Appearance of the coenocytum with numerous endospermic nuclei) ($\times 150$).

PLANCHE III — COUPES TRANSVERSALES DANS DES FLEURS 10 JOURS ENVIRON APRÈS L'ANTHÈSE
(TRANSVERSAL SECTIONS OF FLOWERS 10 DAYS AFTER ANTHESIS)



• FIG. 1. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis* (arbre I 24-25-6). Deux sacs embryonnaires normaux sans amorce de nouaison, un sac indifférencié (F1 hybrid, Em. Brazil × E.g. [tree I 24-25-6] Two normal embryo sacs without initiation of setting, one undifferentiated sac) (× 40). • FIG. 2. — Hybride F1 *E. melanococca* Colombie × *E. guineensis* (arbre I 65-19-6). Une oosphère fécondée (remarquer la taille importante de son noyau) une synergide en voie de dégénérescence. Ce sac est néanmoins dépourvu de noyaux endospermiques (F1 hybrid, E.m. Colombia × E.g. [tree I 65-19-6]. A fertilized oosphere — note the large nucleus — a degenerating synergid. Nevertheless, this sac has no endospermic nuclei) (× 250). • FIG. 3. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis* (arbre I 24-18-23). Sac embryonnaire avec noyau secondaire (fécondé ?) mais non divisé (voir Fig. 4) (F1 hybrid, E.m. Brazil × E.g. [tree I 24-18-23]. Embryo sac with secondary nucleus — fertilized ? — but undivided) (see Fig. 4) (× 150). • FIG. 4. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis* (arbre I 24-18-23). Il s'agit du même sac que sur la figure 3. L'oosphère a déjà subi 2 divisions (deux noyaux sur les quatre présents sont visibles sur cette coupe). Ce sac sera ultérieurement dépourvu d'albumen (F1 hybrid, E.m. Brazil × E.g. [tree I 24-18-23]. Same sac as Fig. 3. The oosphere has already divided twice — two nuclei out of four present can be seen in this section — Later, this sac will be without albumen) (× 180). • FIG. 5. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis* (arbre F 52-28-30). Aspect d'un sac embryonnaire indifférencié (F1 hybrid, E.m. Brazil × E.g. [tree F 52-28-30]. Appearance of an undifferentiated embryo sac) (× 100). • FIG. 6. — Hybride F1 *E. melanococca* Brésil × *E. guineensis* (arbre F 52-30-30). Un sac embryonnaire normal qui n'a pas noué, deux sacs indifférenciés. Cette fleur pourra éventuellement donner un fruit parthenocarpique (F1 hybrid, E.m. Brazil × E.g. [tree F 52-30-30]. One normal but unset embryo sac, two undifferentiated ones. This flower could eventually give a parthenocarpic fruit) (× 40).

SUMMARY

First studies of fertility accidents in the interspecific oil palm hybrid, *Elaeis melanococca* × *E. guineensis*.

J. SCHWENDIMAN, P. PALLARES and P. AMBLARD, *Oléagineux*, 1982, 37, N° 7, p. 331-341.

The F_1 hybrid of this interspecific cross is of great interest to oil palm improvement, but because of partial sterility its yield is sometimes unsatisfactory, with wide fluctuations according to the parental combinations. The analysis of meiosis in the pollen grain mother-cells, usually difficult, has so far made it possible to examine only a limited number of trees. It is noted that pairing is regular, with rare univalents and multivalents without marked incidence on the formation of tetrads. The faulty germination of the hybrid pollen is not due to sterility of chromosome origin. Sections of the ovaries on the day of anthesis show a significant difference in the normal embryo sac rate between *E. guineensis* (93.6 p. 100) and *E. melanococca* (70.4 p. 100), but all the flowers are nonetheless fertilizable. On the other hand, the F_1 hybrid, *E. melanococca* Brazil × *E. guineensis*, has only 43.2 p. 100 normal sacs (81.5 p. 100 fertilizable flowers), and that with *E. melanococca* of Colombian origin has 21.4 p. 100 normal sacs (49.7 p. 100 fertilizable flowers). Ten days after anthesis, the presence of endospermic nuclei serves as a criterion of fertilization and of pre-development of the embryo sacs. In the hybrid *E. melanococca* Brazil × *E. guineensis*, 15.3 p. 100 of the sacs have started developing (giving 42.9 p. 100 set flowers), whereas with the Colombian origin, only 9.2 p. 100 of the sacs have started normal growth (or 23.5 p. 100 set flowers). Various phenomena: fertilization failures, absence of division of the fertilized secondary nucleus, competition between the sacs, explain these results. Other samples taken on older flowers will allow analysis of post-zygotic sterility.

RESUMEN

Primeros exámenes de los accidentes de fertilidad en el híbrido interespecífico de palma africana *Elaeis melanococca* × *E. guineensis*.

J. SCHWENDIMAN, P. PALLARES y P. AMBLARD, *Oléagineux*, 1982, 37, N° 7, p. 331-341.

El híbrido F_1 de este cruzamiento específico ofrece mucho interés para la mejora de la palma africana, pero debido a una esterilidad parcial tiene a veces un rendimiento defectuoso, con importantes fluctuaciones según las combinaciones parentales. El análisis de la meiosis de las células madres de granos de polen, que es difícil por lo general, no ha permitido examinar hasta la fecha sino un número reducido de árboles. Se advierte que el apareamiento es regular, a veces con unos pocos univalentes y multivalentes, sin incidencia notable al nivel de la formación de tetradas. La germinación defectuosa del polen del híbrido no se debe a una esterilidad de orden cromosómico. Los cortes en los ovarios al día de la antesis muestran una diferencia significativa del porcentaje de sacos embrionarios normales entre *E. guineensis* (93,6 p. 100) y *E. melanococca* (70,4 p. 100), y sin embargo todas las flores son fecundables. En cambio, el híbrido F_1 *E. melanococca* Brasil × *E. guineensis* sólo tiene un 43,2 p. 100 de sacos normales (81,5 p. 100 de flores fecundables), y el que se obtiene con *E. melanococca* originario de Colombia tiene un 21,4 p. 100 de sacos normales (49,7 p. 100 de flores fecundables). A los diez días después de la antesis, la presencia de núcleos endospermicos nos sirve de criterio de fecundación y pre-desarrollo de los sacos embrionarios. En el híbrido *E. melanococca* Brasil × *E. guineensis*, un 15,3 p. 100 de los sacos ha empezado a desarrollarse (produciendo un 42,9 p. 100 de flores fructificadas) mientras que con el origen colombiano, sólo 9,2 p. 100 de los sacos han comenzado a crecer normalmente (o sea 23,5 p. 100 de flores fructificadas). Varios fenómenos, como fecundación fallada, falta de división del núcleo secundario fecundado, competencia entre las bolsas, explican estos resultados. Otras muestras sacadas en flores más viejas permitirán analizar la esterilidad post-zigótica.

First studies of fertility accidents in the interspecific oil palm hybrid, *Elaeis melanococca* × *E. guineensis*

J. SCHWENDIMAN (1), P. PALLARES (1) and P. AMBLARD (2)

The crossing of the oil palm, *Elaeis guineensis*, with the American species *E. melanococca* seems likely to offer very great scope for plant improvement. The slow vertical growth of the stem of the F_1 hybrid gives hope for an increase in the useful life of the tree accompanied by a reduction in the cost of bunch harvest [Meunier and Boutin, 1975]. Certain characteristics of the American parent come out in this hybrid, in particular resistance to spear or stem base rots and tolerances to parasite insects and fungi [Meunier *et al.*, 1976]. But one of its remarkable features is the quality of the oil, richer in unsaturated fatty acids than that of the African parent, with a lower melting point which makes it easier to handle.

It is easy to make the interspecific cross, but sterility factors in the F_1 generation manifest themselves in a reduced p. 100 of fruit on bunch. Nevertheless, we have found very large differences in yield between the combinations studied here, according to whether the *E. melanococca* parent came from Colombia, Brazil or Surinam and the *E. guineensis* one from La Me (Ivory Coast), Yangambi (Zaire) or Deli (Far East). The programme now being carried out by the I R H.O. includes general and specific combining ability tests, which should make it possible to single out the best crosses and adopt an appropriate improvement strategy. In conjunction with this work done in the experimental field at the La Me Station (Ivory Coast), the GERDAT Cytogenetic Laboratory is now trying, by comparison with the parental performances, to define the factors which play a part in the sterility of the F_1 hybrids. The observations reported here concern meiosis of the pollen grain mother-cells and the examination of the conformity of the embryo sacs on the day of anthesis, then about 10 days later

(1) GERDAT Cytogenetic Laboratory B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex (France).

(2) Plant Breeding Service, I.R.H.O., Research Station, La Mé, B.P. 13, Bingerville (Ivory Coast)

MATERIAL AND METHOD

Sampling of male flowers is done during the morning of the day of méiosis, this stage being determined by the change in the colour of the spines of the spikelets, which go from creamy white to orange, then light pink, before turning brown when meiosis is finished. Cytological examination in general confirms the validity of this morphological criterion. Samples taken simultaneously on spikelets at the base or the summit of the bunch show that on the whole meiosis is synchronous.

The male flowers are fixed for 48 hours, cold, in Carnoy (6 parts alcohol at 100°, 3 of chloroform, 1 of glacial acetic acid), with the addition of a mordant (iron perchloride) and a cytoplasm lightener (chloral hydrate at 2 p. 100). They are then transferred and sent in 70° alcohol. The anthers are squashed in aceto-ferrous carmine.

The female flowers are fixed for at least 24 hours in Craff I, which is a mixture, made at the moment of use and in equal proportions, of a solution A (0.4 g chromic acid, 1.5 ml glacial acetic acid, 98.5 ml distilled water) with a solution B (formol at 10 p. 100). After washing in running water for 6 hours, the flowers are included in paraffin by the standard method, cut by microtome into sections 10 μ thick, dried in the oven at 40 °C, then deparaffined. The sections are stained with Régaud hematoxylin : mordanting in iron alum at 5 p. 100 for 1 hour at least, washing for 10 minutes in water, staining with hematoxylin for 12 hours, differentiation for 15 minutes with iron alum at 3 p. 100, washing for 2 hours in running water, dehydration for 1-2 minutes with 100° alcohol and Euparal mounting.

RESULTS

1. — Analysis of meiosis.

Apart from the small size of the chromosomes, other problems are encountered in the analysis of meiosis in the oil palm : metaphase I, the most favourable stage for the observations, is very fleeting ; on a 1-cm fragment of spikelet, the mother-cells of the base flowers may already be in tetrads, whilst those at the summit are in prophase, which limits the number of observable flowers ; moreover, in spite of the use of chloral hydrate, an often dark cytoplasm makes observation difficult ; finally, on squashing there is resistance to the spreading out of the chromosomes, which frequently remain agglomerated, greatly reducing the number of analysable metaphasic plates.

This explains why it has not yet been possible, for certain trees, to obtain an appreciable quantity of mother-cells. The meiotic pairings are given in Table I.

In the *E. guineensis* parent, the average pairing per cell is 0.31 I 15.516 II 0.234 IV, with 29.86 chiasmata (1) per cell and a mean value of 1.867 chiasmata per bivalent (this figure is slightly less than the theoretical value of 2 obtained when all the chromosome arms are implicated in pairing).

In the other parent, *E. melanococca*, average pairing per cell is 0.146 I 15.683 II 0.122 IV, with 30.44 chiasmata per cell and a mean 1.91 chiasmata per bivalent.

For both parents, the analysis of meiotic pairing shows that it is close to normal, and must lead to a balanced distribution of the chromosomes in the gametes. On the other hand, it is curious to note the existence of quadrivalents, which it is tempting to interpret as an indication of reciprocal translocations between chromosomes, i.e. of intragenomic reshuffling, unless the two species are not true diploids but segmentary allopolyploids.

Although only a small number of mother-cells have been examined up to now, pairing in the F1 hybrid is very close to normal with 15.714 II 0.143 IV. There are 29.095 chiasmata per cell, and an average 1.815 chiasmata per bivalent. The chromosome distribution in the gametes is very well balanced, and at the end of meiosis there is regular formation of tetrads ; as yet, no micronucleus has been found. Our results are very similar to those of Hardon and Tan [1969], the one slight difference being the presence of rare multivalents. Nevertheless, the regularity of

meiosis does not imply systematically that later development of the pollen grains will be normal. In fact, Arnaud [1980] found that the germination rates of pollen *in vitro* were 20 p. 100 for the hybrid *E. melanococca* Colombia \times *E. guineensis*, and 44 p. 100 on *E. melanococca* Brazil \times *E. guineensis*, whereas they were over 70 p. 100 in the parents. Therefore, certain pollen grains degenerate between meiosis and anthesis, or are incapable of germinating.

2. — Analysis of embryo sacs on the day of anthesis.

By analogy with the work done by Gascon [1953] on the behaviour of embryo sacs in sterile palms of *pisifera* type, it was supposed that similar phenomena might come into play in the F1 hybrid. Sections made of female flowers taken on the day of anthesis made it possible to determine the respective proportions of normal sacs and those known as 'undifferentiated' ones (this category includes the few whose configuration shows that their development is very retarded). All the results are given in Table II.

The *E. guineensis* parent has 93.6 p. 100 normal embryo sacs (NES). Taking it that it is sufficient to have one normal sac out of the three usually present for flower set to be possible, we arrive at 100 p. 100 fertilizable flowers.

The rate of normal sacs in *E. melanococca* (70.4 p. 100) is significantly lower ($X^2 = 17.54$ for 1 d.l.). There are insufficient data for a valid comparison between the Brazil and Colombia origins ; nonetheless, the percentage for fertilizable flowers in this species is also close to 100.

But in the first generation hybrids, we observe a considerable drop in the NES rate, which is down to 43.2 p. 100 when the origin of the *E. melanococca* is Brazil, and 21.4 p. 100 when it is Colombia. It is clear, and the observations made in the plantations confirm it, that the performance of the hybrids varies greatly according to the origin of the *E. melanococca*. Consequently, 81.5 p. 100 of the flowers are fertilizable in the hybrid with Brazil, against only 49.7 p. 100 in that with Colombia, thus 1/5th. to half the flowers on the bunch are totally incapable of pursuing their development, unless it be by parthenocarpic means.

All these observations have allowed the test in a flower of the distribution of normal or undifferentiated embryo sacs. The theoretical values of classes with 0, 1, 2 or 3 NES is obtained by development of the binome $(p + q)^3$, where p is the rate of undifferentiated sacs and q (complement to 1) that of NES, or respectively p^3 , $3 p^2 q$, $3 p q^2$, q^3 . The values of X^2 (with regrouping of certain classes sometimes necessary) are :

— *E. guineensis* : $X^2 =$ not calculable for lack of classes,

— *E. melanococca* : $X^2 = 0.93$ for 1 degree of liberty, not significant,

— F1 *E. melanococca* Brazil \times *E. guineensis* : $X^2 = 3.50$ for 2 d.l. NS,

— F1 *E. melanococca* Colombia \times *E. guineensis* : $X^2 = 0.39$ for 1 d.l. NS.

It is also shown that within one flower the existence of an undifferentiated embryo sac has no influence on the state of the other two usually present. This makes it possible to draw the estimated curve of the percentage of fertilizable flowers in function of the rate of undifferentiated sacs (in abscissa in Figure p. 334).

The observed percentages of fertilizable flowers (Ff) are remarkably close to the theoretical ones deduced from the equation $Ff = 1 - p^3$.

| Parents | P. 100 fertilizable flowers | |
|--|-----------------------------|-------------|
| | observed | theoretical |
| — <i>E. m.</i> Brazil | 100 | 99.97 |
| — <i>E. m.</i> Colombia | 97.3 | 97.4 |
| — F1 <i>E. m.</i> Brazil \times <i>E. guineensis</i> | 81.5 | 81.7 |
| — F1 <i>E. m.</i> Colombia \times <i>E. guineensis</i> | 49.7 | 51.5 |

(1) Points at which there is a change of partners or crossover in two of a group of four chromatids during the first meiotic prophase.

3. — Examination of the embryo sacs 10 days after anthesis.

By examination on the day of anthesis it can be seen that some embryo sacs are undifferentiated, more rarely in course of differentiation. Consequently, a percentage of flowers of the F1 hybrid, varying according to the cross, is absolutely sterile ; as the stigmata are only receptive for a short time, sacs in course of differentiation cannot be used either.

On the other hand, what becomes of the normal embryo sacs, bearing in mind that the hybrid bunches analysed here all benefited in this experiment from assisted pollination, by application of pollen taken from the *E. guineensis* parent ? To answer this question, ovaries removed about 10 days after anthesis were sectioned and stained after inclusion in paraffin. At this stage, examination of the oosphere does not offer a criterion of fertilization and development, as it cannot be observed systematically owing to its fragility and, moreover, it has not usually started the divisions at the origin of the future embryo. But it is accepted that the fertilized secondary nucleus divides rapidly to form the endospermic nuclei which will develop into the albumen.

To fill in the column for normal and fertilized embryo sacs in Table III, we have noted only the presence of endospermic nuclei ; this implies that fertilization has taken place and the sac is developing, although at this stage the evolution of the zygote cannot be judged beforehand.

The category 'N' (normal) covers different cases : it still concerns sacs which were normal on the day of anthesis, but which never developed for various reasons :

— failure of fertilization ; as we have said, the flowers are in assisted pollination with *E. guineensis* pollen, and the criterion on which the analysed bunches are chosen is the simultaneity of stigmata receptivity. In such conditions, fertilization should be 100 p. 100 assured, unless there are barriers in the stigma or the style opposing penetration by the pollen tube. This point should be cleared up later ;

— no division of the secondary nucleus, even though the oosphere can be seen to contain a nucleus of which the volume, much greater than on the day of anthesis, suggests that a pollen tube has effectively penetrated into the sac. On Figure 4 of Plate III, we can even see a young embryo with 4 nuclei, but with an embryo sac containing an undivided secondary nucleus ;

— competition between the sacs, in certain flowers with 2 or even 3 normal sacs, 1 has already taken on considerable development (and therefore volume), squashing one or both of the other potentially fertile sacs. This is particularly true of the hybrid *E. melanococca* Brazil \times *E. guineensis*, where a fertilized sac rich in endospermic nuclei has already doubled or tripled in volume to the detriment of the other sacs, which are being flattened. On the contrary, in the parents or the hybrid with *E. melanococca* Colombia, this situation still does not appear clearly.

On these bases, when the *E. melanococca* parent is of Brazilian origin, it is found that 15.3 p. 100 of the embryo sacs have started developing, whereas 43.2 p. 100 were potentially capable of doing so (Table III). Ten days after anthesis, 44.2 p. 100 normal sacs are found (developed or not), a very similar value to that obtained on the day of flowering. The percentage of set flowers drops to 42.9, whilst that of fertilizable ones was 81.2 p. 100.

If the *E. melanococca* parent is Colombian, we see that only 9.2 p. 100 of the sacs have started developing, whereas 21.4 p. 100 were capable of it (25.7 p. 100 normal sacs, developed or not, are found 10 days after anthesis). At this stage, 23.5 p. 100 of the flowers have started setting, against 49.7 p. 100 which were potentially able to do so.

CONCLUSIONS

The cytological examination of meiosis on pollen grain mother-cells shows that pairing in metaphase I, in both the parents and the F1 hybrid, is close to normal. We mainly find figures with 16 bivalents, hence there is a balanced distribution of chromosomes in the gametes, with regular tetrads and no formation of micronuclei. Although later it is apparent that a large proportion of the pollen harvested on F1 hybrids is incapable of germinating, this is not due to chromosomal sterility, at least in the trees examined up to now. Nevertheless, it is possible that the pollen evolves abnormally between meiosis and anthesis.

On female flowers of the F1 hybrids sampled on the day of flowering, the analysis of embryo sac conformity is distinctly in favour of the cross with an *E. melanococca* Brazil parent. This advantage is maintained 10 days after anthesis, since 15.3 p. 100 of the sacs start to develop against 9.2 p. 100 when the parent is Colombian. In the flowers, the difference is more marked, with 42.9 p. 100 set flowers against 23.5 p. 100. These results imply that in both cases the probability of a sac setting properly is close to $p = 0.35$ (i.e. $15.3/44.2 = 0.346$ and $9.2/25.7 = 0.358$) ; the sac may not set because of failed fertilization, an incompatibility between the secondary nucleus and one of the reproductive nuclei if the pollen preventing albumen formation and possible competition between two normal sacs, without it being possible to say at the moment what is the respective part of each of these phenomena. On bunches which have arrived at maturity (about 6 months after flowering), it is practically certain that the fruit set rate, expressed in relation to the total number of flowers, will be lower than that noted 10 days after anthesis. Other causes, such as embryo/albumen incompatibility, malformations or arrested development of the embryo, must certainly come into play. The analysis of post-zygotic accidents is now going on, using samples taken during the development of the bunches.

Editor's Note : This communication deals with the state of the embryo sacs at the start of development of the fruit. It specifies the percentage of flowers likely to give rise to normal fruit, but not those which will develop into oily, red parthenocarpic fruit, which are one of the components of the palm oil extraction rate for bunches of the hybrid *E. melanococca* \times *E. guineensis*.

