

# Étude comparative du développement de l'ovule chez deux espèces de *Phaseolus* : *P. polyanthus* et *P. vulgaris*

Béatrice Lecomte (1), Béatrice Longly (2), Jacques Crabbé (1), Jean-Pierre Baudoin (1)

(1) Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux, Passage des Déportés, 2. B-5030 Gembloux (Belgique).

(2) Rue Fond Bondry, 74. B-1342 Limelette - Ottignies (Belgique).

Reçu le 1<sup>er</sup> septembre 1997, accepté le 13 octobre 1997.

L'embryon de l'espèce *Phaseolus polyanthus* se développe moins rapidement que l'embryon de l'espèce *Phaseolus vulgaris*. Dans nos conditions expérimentales, il faut attendre quatre jours supplémentaires chez *P. polyanthus* pour avoir un embryon de stade équivalent à celui de *P. vulgaris*. Les cellules basales du suspenseur chez *P. polyanthus* sont nettement plus imposantes que celles du suspenseur de *P. vulgaris*. Pour un même stade de développement, le capuchon nucellaire et le tissu de transfusion subsistent chez *P. vulgaris* mais disparaissent chez *P. polyanthus*. En accord avec Yeung et Meinke (1993), nous suggérons une sollicitation nutritive plus poussée chez *P. polyanthus* que chez *P. vulgaris*. Cette discordance dans le rythme d'absorption des éléments nutritifs par les embryons des espèces parentales pourrait induire des troubles dans la coordination des processus de sécrétion et de dégradation pour la nutrition de l'embryon lors du développement des embryons hybrides *P. polyanthus* ♀ × *P. vulgaris*.

**Mots-clés.** *Phaseolus*, ovule, embryon végétal, microscopie.

**Comparative study on ovule development in two *Phaseolus* species: *P. polyanthus* and *P. vulgaris*.** The embryo of *Phaseolus polyanthus* species develops more slowly than that of *Phaseolus vulgaris*. In our experimental conditions, four additional days are required for the former to reach a same developmental stage as the latter. The suspensor basal cells in *P. polyanthus* are larger than those of *P. vulgaris*. At a same developmental stage, the nucellar cap and the transfusion tissue are still present in *P. vulgaris* but are disappearing in *P. polyanthus*. In accordance with Yeung and Meinke (1993), we suggest that the nutrient demand for embryonic development would be higher in *P. polyanthus* than in *P. vulgaris*. The discordance in the nutrient absorption rate of the parental embryos could be responsible for the disturbed coordination of secretion and cellular degradation during the development of hybrid embryos *P. polyanthus* ♀ × *P. vulgaris*.

**Keywords.** *Phaseolus*, ovule, plan embryo, microscopy.

## INTRODUCTION

Le genre *Phaseolus* appartient à la sous-tribu des *Phaseolinae*, tribu des *Phaseoleae*, famille des Papilionaceae et à l'ordre des Léguminosales. La tribu des *Phaseoleae* est divisée en trois sous-tribus : les *Glycininae*, les *Cajaninae* et les *Phaseolinae*. La sous-tribu *Phaseolinae* est divisée en deux groupes : le groupe des *Phaseolastreae* avec les deux genres très importants *Vigna* et *Phaseolus*, et le groupe des *Dolichastreae* (Baudet, Maréchal, 1976 ; Baudet, 1977). Le genre *Phaseolus* L., qui fait toujours l'objet d'une révision taxonomique, est subdivisé par Maréchal *et al.* (1978) en trois sections : *Alepidocalix*, *Minkelersia* et *Phaseolus*. La section *Phaseolus* est la plus importante et regroupe notamment les cinq espèces cultivées : *Phaseolus vulgaris* L., *P. polyanthus* Greenman, *P. coccineus* Lam., *P. lunatus* L. et *P. acutifolius* A. Gray. Elles possèdent des formes cultivées, sauvages, sauvageoïdes et échappées.

Des cinq espèces cultivées, *P. vulgaris* est économiquement la plus importante car elle représente plus de 90 % de la production mondiale de haricot (Singh, 1992). Parmi les facteurs limitant les rendements, les problèmes phytosanitaires occupent une place importante. L'évaluation du pool génétique secondaire de *P. vulgaris* a révélé l'existence de caractères agronomiques intéressants, absents ou mal représentés dans le réservoir primaire du haricot commun. Ainsi, chez *P. coccineus* et *P. polyanthus*, on a relevé toute une série de caractéristiques de résistance qu'il serait économiquement avantageux d'introgresser chez *P. vulgaris* : résistance aux virus (mosaïque commune, jaune, dorée), résistance aux bactérioses (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burk.) Young *et al.*, *Xanthomonas phaseoli* (E.F.S.M.) Daws), résistance à divers agents fongiques (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, *Pythium* sp., *Fusarium solani* (Mart.) Appel et

Wollenw f.sp. *phaseoli* (Burk.) Snyder et Hansen, *Rhizoctonia* sp., *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger var. *appendiculatus*, *Phoma exigua* var. *diversispora* (Bubak.) Boerema, résistance à divers insectes (*Epilachnia varivestis* Muls, *Empoasca kraemeri* Ross et Moore) (Obando *et al.*, 1990 ; Gerlagh, Kornegay, 1992 ; Schmit, Baudoin, 1992).

Les hybridations réalisées au sein du complexe *P. vulgaris* – *P. polyanthus* – *P. coccineus* par Baudoin *et al.* (1992), ont permis de mieux appréhender les problèmes liés à l'introggression de caractères intéressants chez *P. vulgaris*. On constate que si les croisements utilisant *P. vulgaris* comme parent femelle sont relativement faciles à réaliser, ceux-ci se soldent dans les générations ultérieures, par une perte progressive des caractères du parent mâle. Ce n'est pas le cas dans les croisements réciproques. Quand on emploie le cytoplasme de *P. coccineus* ou de *P. polyanthus*, la transmission et le maintien des caractères des parents donneurs sont meilleurs mais un avortement des embryons hybrides se manifeste de manière systématique, plus ou moins rapidement selon les génotypes parentaux utilisés.

La cause la plus probable de l'avortement des hybrides interspécifiques dans le genre *Phaseolus* est attribuée à un développement incohérent de l'albumen par rapport à celui de l'embryon (Brink, Cooper, 1947 ; Braak, Kooistra, 1975 ; Rabakoarihanta *et al.*, 1979 ; Belivanis, Doré, 1986 ; Leonard *et al.*, 1987 ; Andrade, Jackson, 1988 ; Cabral, Crocomo, 1989 ; Barone, Ng, 1990 ; Kuboyama *et al.*, 1991 ; Barone *et al.*, 1992). L'étude comparative du développement de l'ovule des espèces parentales est une étape préalable pour la compréhension du processus d'avortement de l'embryon hybride. Nous rapportons ici les modifications intervenant au niveau des ovules des deux espèces utilisées en hybridation interspécifique (*P. polyanthus* et *P. vulgaris*) et ce, juste après l'autopollinisation.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Le matériel végétal

Les introductions NI 637 de l'espèce *P. vulgaris* (variété *Bico de Ouro*) et X 1059 de l'espèce *P. polyanthus*, provenant de la banque de *Phaseolineae* de la FUSAGx (Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux), ont été cultivées en chambre de culture conditionnée. Les paramètres climatiques appliqués étaient les suivants : une température jour/nuit de 24 °C/20 °C, une intensité lumineuse de 570  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  (mesure effectuée à 60 cm de la vitre séparant les plantes des lampes à vapeur de mercure), une photopériode de 11 h 30 min et une

humidité relative de 60 à 70 %. Selon leurs tailles, des gousses et des ovules ont été prélevés 3 et 7 jours après la pollinisation. Le nombre d'échantillons prélevés par catégorie d'âge était égal à 10 pour chacune des deux espèces.

### Technique microscopique

Les gousses et les ovules préalablement incisés, sont immédiatement fixés à froid durant 24 heures dans une solution de glutaraldéhyde 1,2 % et de caféine 1 %, dans un tampon phosphate 0,3 M à pH 7. Après un passage sous vide d'une demi-heure, les échantillons sont lavés trois fois dans le tampon phosphate. Les échantillons sont ensuite déshydratés par la série classique des alcools (50 %–70 %–70 %–4 %–94 %) jusqu'à l'alcool absolu (Hilde Schoff, communication personnelle<sup>1</sup>). L'enrobage se réalise ultérieurement dans une résine du type méthacrylate (2-Hydroxyéthyl Methacrylate, <sup>TM</sup>Technovit 7100, Gma, Kulzer). Des coupes semi-fines d'une épaisseur de 3  $\mu\text{m}$  ont été obtenues sur un microtome Reichert-Jung 2040 et colorées à l'acide periodique–réactif de Schiff (PAS) et au bleu de toluidine (Feder, O'Brien, 1968). Les coupes ont été examinées et photographiées avec un microscope du type Polyvar (Reichert-Jung, Vienne) muni d'un objectif planapochromats (Reichert-Jung). Les films sont de la qualité Kodak Ektachrome couleur inversible EPY 135, 64 T.

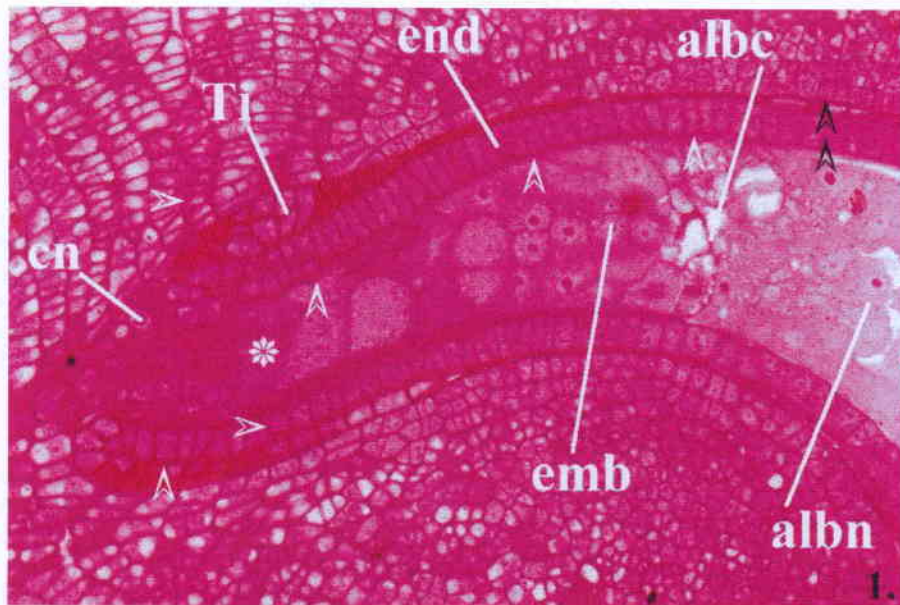
## RÉSULTATS

### Développement 3 jours après la pollinisation

***Phaseolus vulgaris***. Les embryons de l'espèce *P. vulgaris*, âgés de 3 jours, sont globulaires tardifs et possèdent un suspenseur bien développé (**Figure 1**). Les cellules basales du suspenseur sont turgescentes et possèdent un cytoplasme dense. Un capuchon nucellaire est toujours présent à la base du suspenseur. Entre le suspenseur et le capuchon nucellaire, on observe une zone densément colorée qui pourrait être le tissu de transfusion ou "wandlabyrinth" décrit par Chamberlin *et al.* (1994) chez *Glycine*.

L'embryon est séparé de l'albumen nucléaire (ou cœnocytaire) par une fine assise d'albumen cellulaire. Dans cette zone de contact embryon–albumen, aucun épaissement pouvant faire penser à des cellules de transfert n'est remarqué. Par contre, là où l'endothélium touche les assises externes du tégument interne,

<sup>1</sup> Hilde Schoff, Laboratorium voor Tropische Plantenteelt, Katholieke Universiteit Leuven (K.U.L.). B-3001 Heverlee (Belgique).



**Figure 1.** Coupe longitudinale d'un ovule de *P. vulgaris* contenant un embryon (**emb**) âgé de 3 jours. L'embryon est globulaire tardif. Les cellules basales du suspenseur (**\***) sont turgescentes et le capuchon nucellaire (**cn**) est visible. Des cellules de transfert (**>**) se développent entre d'une part, l'endothélium (**end**) et d'autre part, l'albumen cellulaire (**albc**), l'embryon et le suspenseur. De l'albumen nucléaire (**albn**) est visible dans la partie droite de la photographie. Des épaissements (**>**) sont visibles entre d'une part, le tégument interne (**Ti**) et d'autre part, le tégument externe et l'endothélium. L'assise du tégument interne en contact avec l'endothélium disparaît en direction de la chalaze (**>>**). Coloration au PAS.  $\times 245$  — Longitudinal section of *P. vulgaris* ovule showing a three-day old embryo (**emb**). The embryo is late globular-shaped. The suspensor basal cells (**\***) are swollen and the nucellar cap (**cn**) can be seen. Transfer cells (**>**) develop between the endothelium (**end**) and the cellular endosperm (**albc**), the embryo, and the suspensor. Nuclear endosperm (**albn**) can be seen on the right of the photograph. Wall ingrowths (**>**) are visible between the inner integument (**Ti**) and the outer integument and the endothelium. The inner integument layer on contact with endothelium is disappearing towards the chalaze (**>>**). Coloured with PAS.  $\times 245$ .

l'embryon, le suspenseur, le capuchon nucellaire et l'albumen, des cellules de transfert se développent.

Des épaissements sont également observables entre le tégument externe et le capuchon nucellaire et entre les cellules du tégument externe et celles du tégument interne dans la région micropylaire.

Des épaissements pariétaux sont présents au niveau de l'endothélium et des autres assises du tégument interne. Le tégument interne est écrasé dans la partie centrale du sac embryonnaire. De nombreux grains d'amidon sont présents dans le tégument interne, l'endothélium et au niveau de l'hypostase.

Les cellules de l'endothélium sont allongées et leurs noyaux fortement colorés. Les cellules du tégument externe sont en phase de division très active. À la terminaison chalazienne du sac embryonnaire, un chenal formé d'albumen nucléaire est bordé de nucelle non encore digéré.

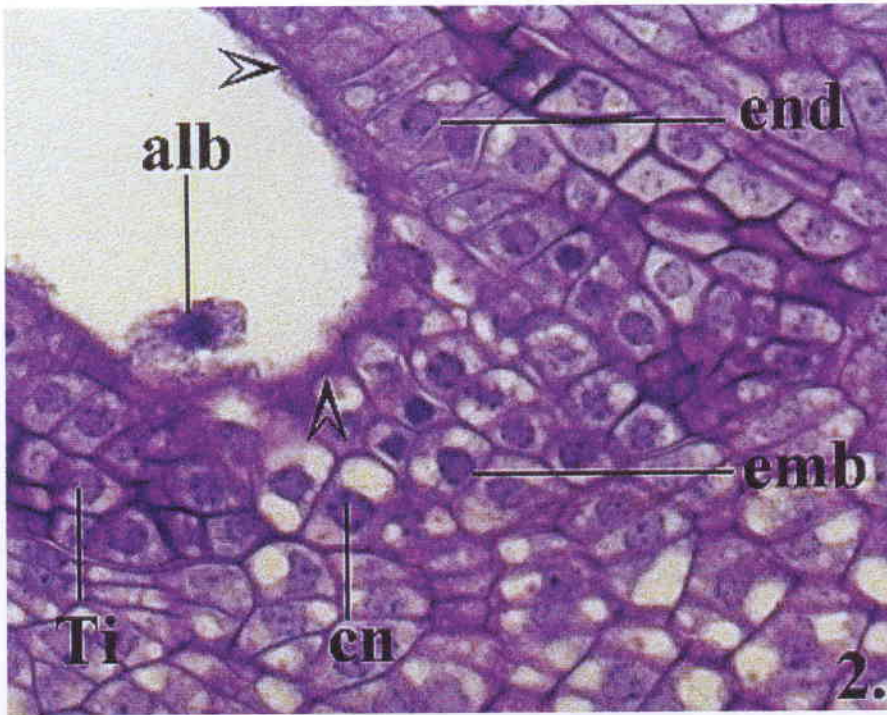
***Phaseolus polyanthus*.** Chez *P. polyanthus*, 3 jours après la pollinisation, le proembryon possède 6 cel-

lules et le capuchon nucellaire est toujours présent (**Figure 2**). Un albumen nucléaire est visible dans la zone proche de l'embryon et établit des contacts intimes avec ce dernier ainsi qu'avec l'endothélium.

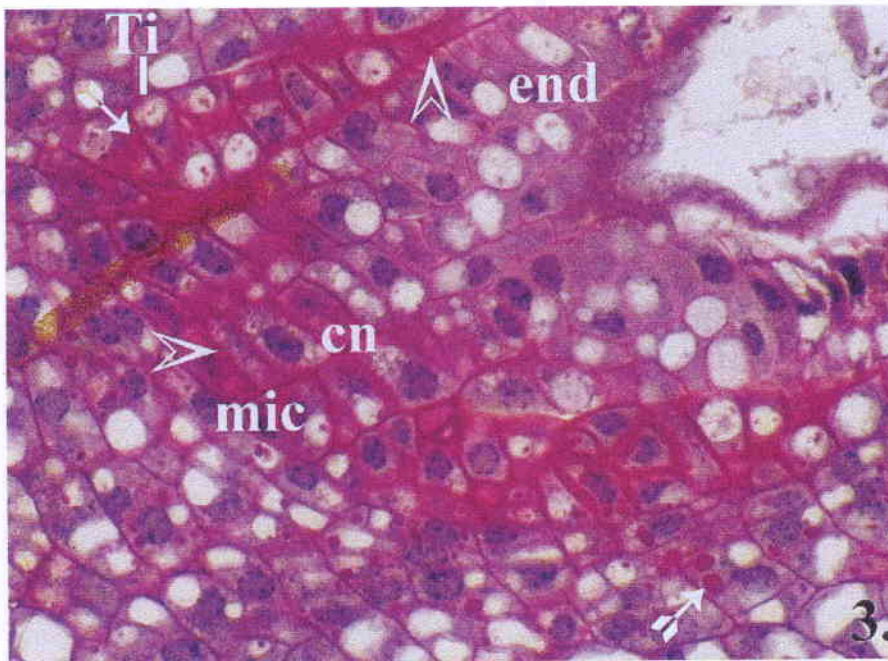
À la **figure 3**, on observe la présence de nombreux épaissements dans la zone micropylaire adjacente au capuchon nucellaire. Des épaissements sont également présents entre l'endothélium et les autres assises du tégument interne. Les cellules de l'endothélium sont allongées et leurs noyaux sont fortement colorés.

La partie médiane de l'ovule est occupée par les restes du nucelle, dans lequel s'insinue le sac embryonnaire (**Figure 4**). Un chenal d'albumen nucléaire traverse la partie centrale du nucelle.

Des grains d'amidon peuvent être présents en nombre limité dans l'endothélium mais sont plus nombreux dans les autres assises du tégument interne, côté micropyle, et dans celles du tégument externe. Des grains d'amidon sont également visibles en quantité importante au niveau de l'hypostase.



**Figure 2.** Coupe longitudinale dans la zone micropylaire d'un ovule de *P. polyanthus*, âgé de 3 jours. Vue rapprochée de l'embryon (**emb**) formé de six cellules. Dans la zone micropylaire, de l'albumen (**alb**) entre en contact avec l'embryon ( $\triangleright$ ). Le capuchon nucellaire (**cn**), le tégument interne (**Ti**) et l'endothélium (**end**) sont indiqués. Coloration au bleu de toluidine.  $\times 720$  — Longitudinal section through the micropylar region of a *P. polyanthus* ovule containing a three-day old embryo (**emb**) which is six-celled at this stage. In the micropylar region, the endosperm (**alb**) is in contact with the embryo ( $\triangleright$ ). The nucellar cap (**cn**), the inner integument (**Ti**) and the endothelium (**end**) are noted. Coloured with toluidin blue.  $\times 720$ .



**Figure 3.** Coupe longitudinale d'un ovule de *P. polyanthus* contenant un embryon âgé de 3 jours. Vue rapprochée de la zone embryonnaire. Des épaississements ( $\triangleright$ ) sont présents au niveau du capuchon nucellaire (**cn**) et du micropyle (**mic**) et entre le tégument interne (**Ti**) et l'endothélium (**end**). De l'amidon est visible dans les téguments externe et interne ( $\clubsuit$ ). PAS - Bleu de toluidine.  $\times 450$  — Longitudinal section of the embryonic region of a *P. polyanthus* ovule containing a three-day old embryo. Wall ingrowths ( $\triangleright$ ) can be seen at the level of the nucellar cap (**cn**), the micropyle (**mic**) and between the inner integument (**Ti**) and the endothelium (**end**). The outer and inner integuments accumulate starch ( $\clubsuit$ ). Coloured with PAS-toluidine blue.  $\times 450$ .



**Figure 4.** Coupe longitudinale d'un ovule de *P. polyanthus* contenant un embryon âgé de 3 jours. Vue générale du nucelle (**nu**) traversé par un chenal (**ca**) rempli d'albumen nucléaire (**albn**). Les cellules chalaziennes (**cha**) situées à l'hypostase contiennent de l'amidon. L'endothélium (**end**) est en contact avec le nucelle (↖). PAS – Bleu de toluidine.  $\times 190$  — Longitudinal section through a *P. polyanthus* ovule containing a three-day old embryo. The nucellus (**nu**) is encircling a channel (**ca**) that contains nuclear endosperm (**albn**). The chalazal cells (**cha**) at the hypostase contain starch. The endothelium (**end**) is in contact with the nucellus (↖). Coloured with PAS – Toluidine blue.  $\times 190$ .

### Développement 7 jours après la pollinisation

*Phaseolus vulgaris*. Sept jours après la fécondation, l'embryon de *P. vulgaris* est cordiforme tardif et a effectué une rotation de  $90^\circ$  à l'intérieur du sac. En coupe longitudinale, l'embryon peut paraître trompeusement globulaire tardif (**Figure 5**). Des dissections réalisées 7 jours après la pollinisation confirment cette observation.

Un albumen cellulaire entoure la totalité de l'embryon y compris son suspenseur.

L'embryon est nettement distinct de son suspenseur. Des vacuoles apparaissent dans les cellules basales du suspenseur alors que les autres cellules du suspenseur restent densément colorées. Les cellules de l'endothélium ne sont plus allongées mais isodiamétrales.

Des cellules de transfert relient la base du suspenseur à l'albumen et l'albumen à l'endothélium. Des épaissements sont également apparents entre l'embryon et le suspenseur.

Le tégument interne a disparu excepté au niveau du micropyle. Des globules colorés en vert par le bleu de toluidine sont révélés dans le tégument externe. Il pourrait s'agir des composés polyphénoliques observés également chez *Vicia* par Johansson et Walles (1993).

Des grains d'amidon s'accumulent à proximité de l'endothélium et dans les assises tégumentaires.

Le nucelle a complètement disparu de la zone médiane de l'ovule et le capuchon nucellaire a en grande partie été digéré. Par contre, l'albumen nucléaire initialement présent dans le chenal s'est développé.

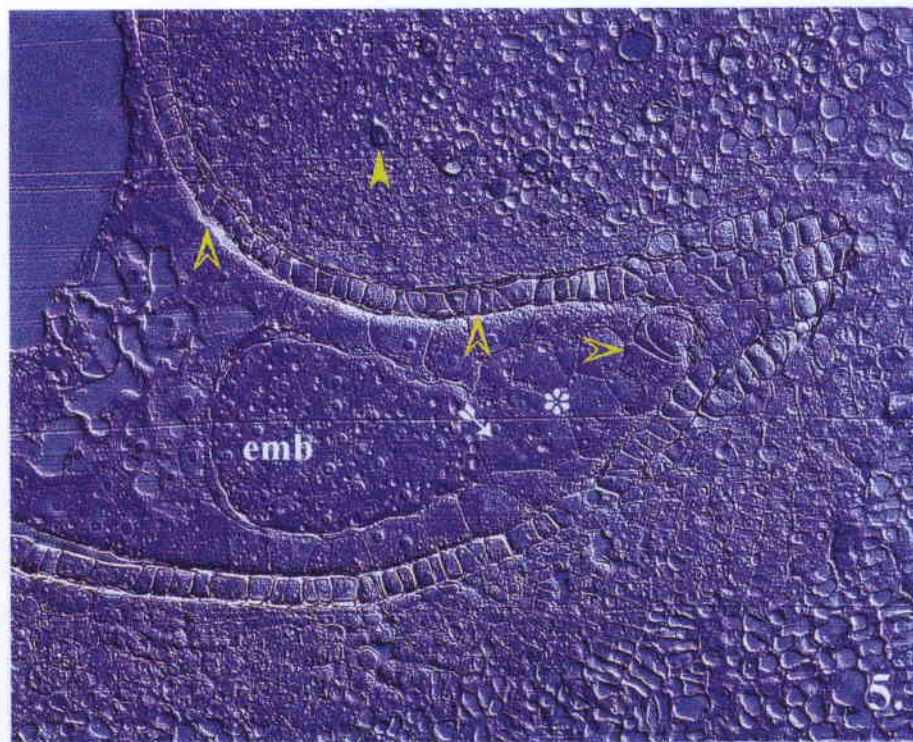
*Phaseolus polyanthus*. Sept jours après la fécondation, l'embryon de *P. polyanthus*, est globulaire (**Figure 6**). Des dissections réalisées sur le génotype X 1059 sept jours après la fécondation confirment cette observation.

Les cellules basales du suspenseur sont turgescentes et vacuolées. Le capuchon nucellaire a disparu de la zone micropylaire sous la pression du suspenseur. L'embryon est entouré par un albumen cellulaire bien développé.

Des cellules de transfert existent à plusieurs niveaux: entre le tégument externe et l'endothélium, entre l'endothélium et l'albumen, entre l'endothélium et les autres assises micropylaires du tégument interne, entre l'endothélium et le suspenseur, entre le tégument externe et le suspenseur et probablement entre l'embryon et l'albumen.

La partie non endothéliale du tégument interne disparaît dans la zone centrale du sac. Le tégument externe est en phase de division active.

Les cellules de l'endothélium aux noyaux densément colorés sont allongées et forment une assise continue de la zone micropylaire à la zone chalazienne.



**Figure 5.** Coupe longitudinale axiale dans un ovule de *P. vulgaris* contenant un embryon âgé de 7 jours. Photographie en contraste interférentiel de Nomarski. L'embryon (**emb**) est cordiforme tardif. Des cellules de transfert (➤) se développent à divers endroits. Des globules (➤) colorés en bleu foncé (polyphénols) sont visibles dans le tégument externe. La limite (♣) entre l'embryon et son suspenseur (\*) est bien marquée. Bleu de toluidine. × 290. — *Longitudinal section through a P. polyanthus ovule containing a seven-day old embryo, photographed in Nomarski interferencial contrast. The embryo (emb) is late heart-shaped. Transfer cells (➤) develop in various places. Some vesicles (➤) coloured in blue (polyphenolic components) are present in the outer integument. The boundary (♣) between the embryo and its suspensor (\*) is well marked. Coloured with toluidine blue. × 290.*



**Figure 6.** Coupe longitudinale dans un ovule de *P. polyanthus* contenant un embryon âgé de 7 jours. L'embryon (**emb**) est globulaire tardif et présente un imposant suspenseur (\*). Des cellules de transfert apparaissent à divers endroits (➤) et de l'amidon (♣) est observé au niveau du tégument interne (Ti) et externe, de l'endothélium (**end**) et de l'albumen (**alb**). PAS. × 215 — *Longitudinal section through a P. polyanthus ovule containing a seven-day old embryo. The embryo (emb) is late globular-shaped and has an important suspensor (\*). Transfer cells (➤) appear in different places and starch (♣) can be seen in the inner (Ti) and outer integument, in the endothelium (end), and in the endosperm (alb). Coloured with PAS. × 215.*

De l'amidon est présent au micropyle, dans le tégument externe, dans le tégument interne et, dans une moindre mesure, dans l'endothélium et l'albumen. Des grains d'amidon sont également visibles à la chalaze mais en faibles quantités.

Le nucelle est de taille plus réduite et en voie de désintégration. Il semble se résorber au profit de l'albumen nucléaire qui occupe à présent une bonne partie du sac embryonnaire.

Des globules de couleur verte (composés poly-phénoliques) sont concentrés dans la zone micropylaire et dans une moindre mesure au niveau de la chalaze.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

L'embryon de l'espèce *Phaseolus polyanthus* se développe moins rapidement que celui de l'espèce *Phaseolus vulgaris*. Il faut en effet attendre quatre jours supplémentaires chez *P. polyanthus* pour avoir un embryon de stade équivalent à celui de *P. vulgaris*. Au septième jour, l'embryon de *P. vulgaris* atteint le stade cordiforme tardif alors que l'embryon de l'espèce *P. polyanthus* n'atteint que le stade globulaire.

En comparant les embryons globulaires des deux espèces parentales, on observe que les cellules basales du suspenseur de *P. polyanthus* sont nettement plus imposantes que celles du suspenseur de *P. vulgaris*. Chez *P. polyanthus*, elles sont turgescentes et possèdent de grandes vacuoles.

Contrairement à ce qui se passe chez *P. vulgaris*, où le capuchon nucellaire et le "wandlabyrinth" (ou tissu de transfusion) sont présents au niveau du micropyle au stade globulaire tardif, ces structures ont disparu chez *P. polyanthus*.

Chez *P. vulgaris*, des épaissements radiaux sont observés entre les cellules de l'endothélium. Ceci laisse supposer un transfert préférentiel des nutriments vers la zone micropylaire de l'ovule et, plus précisément vers le capuchon nucellaire. Chez *P. polyanthus*, ces épaissements radiaux sont absents. Ils semblent être remplacés par des épaissements tangentiels, situés dans la continuité de ceux présents dans les téguments. Le transfert des nutriments de l'endothélium vers l'albumen et l'embryon semble donc se réaliser plus directement chez *P. vulgaris*.

L'albumen cellulaire qui enveloppe l'embryon globulaire est comparativement plus important chez *P. polyanthus*. À l'interface embryon-albumen, une zone plus densément colorée peut être observée et permet de supposer que des transferts s'y effectuent de façon importante.

Le nucelle situé à la chalaze a une structure similaire chez les deux espèces. Le nucelle, progressivement absorbé, reste traversé d'un bout à l'autre par un chenal rempli d'albumen cœnocytaire. Cet albumen est relié à l'albumen cellulaire entourant l'embryon dans la région micropylaire.

De l'amidon est présent chez les deux espèces dans les assises du tégument externe et du tégument interne ainsi que dans l'endothélium.

L'embryon cordiforme tardif de *P. vulgaris* présente un suspenseur qui semble ne plus avoir évolué depuis le stade globulaire. Cela confirme donc les observations de Maheshwari (1950) selon qui les divisions du suspenseur s'interrompent dès que le stade globulaire est atteint.

Selon Yeung et Meinke (1993), une bonne corrélation existe entre la demande nutritive et la taille du suspenseur. Les grands suspenseurs prévalent dans les graines présentant une exigence nutritive élevée et un albumen réduit durant les phases précoces de l'embryogenèse. Par analogie, nous avons noté que les cellules basales du suspenseur, en contact direct avec les tissus maternels, étaient nettement plus importantes chez *P. polyanthus* que chez *P. vulgaris*. Conjointement, nous avons remarqué que le capuchon nucellaire disparaissait plus rapidement chez *P. polyanthus* que chez *P. vulgaris*, indiquant par là une sollicitation nutritive plus poussée de la part de l'embryon de *P. polyanthus*.

Comme cela a été suggéré pour *Medicago* (Sangduen *et al.*, 1983), on peut penser que cette discordance dans le rythme d'absorption des éléments nutritifs, par les embryons de *P. polyanthus* et *P. vulgaris*, peut induire des troubles dans la coordination des processus de sécrétion et de dégradation des réserves qui contribuent à la nutrition de l'embryon hybride *P. polyanthus* ♀ × *P. vulgaris*. Cette hypothèse devrait ultérieurement être vérifiée avec des techniques microscopiques plus fines.

## Remerciements

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre du projet TS3-CT92-0069 "Amélioration génétique des légumineuses alimentaires du genre *Phaseolus* pour les zones tropicales de basses et de hautes altitudes de Colombie et du Pérou", financé par la Commission des Communautés européennes. La réalisation des coupes microscopiques et les photographies ont été réalisées avec le concours de Monsieur Deom de la Faculté universitaire Notre-Dame de la Paix à Namur (Belgique) et de Monsieur le Professeur Waterkeyn de l'Université catholique de Louvain-la-Neuve (Belgique).

**Bibliographie**

- Andrade JA, Jackson MT (1988). Attempts at interspecific hybridization between *Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus acutifolius* A. Gray using embryo rescue. *Plant Breed.* **101**, 173-180.
- Barone A, Del Giudice A, Ng NQ (1992). Barriers to interspecific hybridization between *Vigna unguiculata* and *Vigna vexillata*. *Sex. Plant Reprod.* **5**, 195-200.
- Barone A, Ng NQ (1990). Embryological study of crosses between *Vigna unguiculata* and *V. vexillata*. In "Cowpea genetic resources", pp. 151-160. IITA, Ibadan.
- Baudet JC (1977). Prodrôme d'une classification générique des *Papilionaceae* - *Phaseoleae*. *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* **48**, 183-220.
- Baudet JC, Maréchal R (1976). Signification taxonomique de la présence de poils uninucléés chez certains genres de *Phaseoleae* et d'*Hedysareae*. *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* **46**, 419-426.
- Baudoin JP, Camarena FM, Schmit V (1992). Contribution à une meilleure connaissance de la position phylétique de la légumineuse alimentaire *Phaseolus polyanthus* Greenm. *Bull. Rech. Agron. Gembloux.* **27** (2), 167-198.
- Belivanis T, Doré C (1986). Interspecific hybridization of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus angustissimus* A. Gray using *in vitro* culture. *Plant Cell Rep.* **5**, 329-331.
- Braak JP, Kooistra EK (1975). A successful cross between *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus ritensis* Jones with the aid of embryo culture. *Euphytica* **24**, 669-679.
- Brink RA, Cooper DC (1947). The endosperm in seed development. *Bot. Rev.* **XIII** (8), 423-465.
- Cabral B, Crocomo OJ (1989). Interspecific hybridization of *Phaseolus vulgaris*, *P. acutifolius* and *P. lunatus* using *in vitro* technique. *Turrialba* **39** (2), 243-246.
- Chamberlin MA, Horner HT, Palmer RG (1994). Early endosperm, embryo, and ovule development in *Glycine max* (L.) Merr. *Int. J. Plant. Sci.* **155** (4), 421-436.
- Feder N, O'Brien TP (1968). Plant microtechnique: Some principles and new methods. *Am. J. Bot.* **55**, 123-142.
- Gerlagh M, Kornegay L (1992). Ascochyta blight (*Phoma exigua* var. *diversispora*). Classification, distribution, prevalence, economic importance, survival, spread, prevention and cure. Pathogenic variation and sources of resistance for Africa. In "1. Africa Bean Pathology Workshop, Kigali, November 14-16, 1997" (J.B. Smithson, P. Trutmann, eds), pp. 22-30. CIAT African workshop series **20**.
- Johansson M, Walles B (1993). Functional anatomy of the ovule in broad bean (*Vicia faba* L.). I. Histogenesis prior to and after pollination. *Int. J. Plant Sci.* **154** (1), 80-89.
- Kuboyama T, Shintaku Y, Takeda G (1991). Hybrid plants of *Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus lunatus* L. obtained by means of embryo rescue and confirmed by restriction endonuclease analysis of rDNA. *Euphytica* **54**, 177-182.
- Leonard MF, Stephen LC, Summers WL (1987). Effect of maternal genotype on development of *Phaseolus vulgaris* L. × *P. lunatus* L. interspecific hybrid embryos. *Euphytica* **36**, 327-332.
- Maheshwari P (1950). "An introduction to the embryology of angiosperms." McGraw-Hill, New York, pp. 1-453.
- Maréchal R, Mascherpa JM, Stainier F (1978). Étude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* sur la base de données morphologiques et polliniques traitées par l'analyse informatique. *Boissiera* **28**, 1-273.
- Obando L, Baudoin JP, Dickburt C, Lepoivre P (1990). Identification de sources de résistance à l'ascochyte du haricot au sein du genre *Phaseolus*. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* **25** (4), 443-457.
- Rabakoarihanta A, Mok MC, Mok DWS (1979). Fertilisation and early embryo development in reciprocal interspecific crosses of *Phaseolus*. *Theor. Appl. Genet.* **54**, 55-59.
- Sangduen N, Kreitner L, Sorensen EL (1983). Light and electron microscopy of embryo development in an annual × perennial *Medicago* species cross. *Can. J. Bot.* **61**, 1241-1257.
- Schmit V, Baudoin JP (1992). Screening for resistance to Ascochyta blight in populations of *P. coccineus* L. and *P. polyanthus* Greenman. *Field Crops Res.* **30**, 155-165.
- Singh SP (1992). Common bean improvement in the tropics. *Plant Breed. Rev.* **10**, 199-269.
- Yeung EC, Meinke DW (1993). Embryogenesis in angiosperms: development of the suspensor. *Plant Cell* **5** (10), 1371-1381.

(24 réf.)