

## Etude de gènes impliqués dans l'embryogenèse de *Phaseolus*

Souleymane Silué<sup>(1)</sup>, Jean-Marie Jacquemin<sup>(2)</sup>, André Toussaint<sup>(1)</sup> & Jean-Pierre Baudoin<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux – Unité de Phytotechnie tropicale et Horticulture. Passage des Déportés 2, BE-5030 Gembloux (Belgique). [baudoin.jp@fsagx.ac.be](mailto:baudoin.jp@fsagx.ac.be)

<sup>(2)</sup>Centre de Recherches Agronomiques de Gembloux, Département de Biotechnologies, Chaussée de Charleroi, 234 B-5030 GEMBLoux.

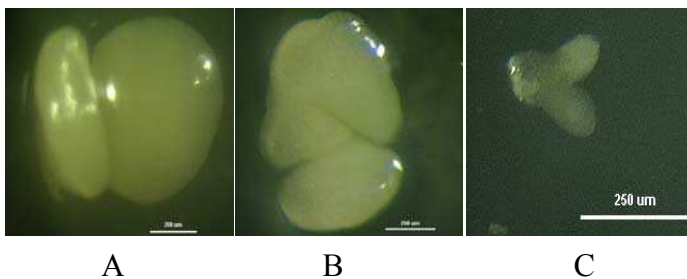
**Résumé.** Des hybridations interspécifiques entre *Phaseolus vulgaris* (mâle) et les deux espèces donneuses *P.coccineus* et *P.polyanthus* ont montré des niveaux de compatibilité différents entre les génotypes parentaux. Tandis que 2 combinaisons interspécifiques *P.coccineus* x *P.vulgaris* et *P.polyanthus* x *P.vulgaris* ont donné des embryons matures, d'autres hybrides montrent des malformations d'embryons à des stades de développement différents. L'amplification PCR sur l'ADNg de *Phaseolus* avec des amorces issues des séquences des gènes KNOX a révélé l'existence de cette famille de gènes chez le genre.

**Summary.** Interspecific hybridisations between *Phaseolus vulgaris* (male) and the two donor species *P.coccineus* and *P.polyanthus* have shown different levels of compatibility among the parental genotypes. While 2 interspecific combinations *P.coccineus* x *P.vulgaris* and *P.polyanthus* x *P.vulgaris* have given mature embryos, others hybrids show embryo abnormalities at different stages of development. PCR amplification on gDNA of *Phaseolus* with primers for KNOX genes revealed homologous sequences to these genes in the genus.

**Introduction.** Les hybridations interspécifiques entre *Phaseolus vulgaris*, le haricot commun, et deux espèces intéressantes, *P.coccineus* et *P.polyanthus*, se soldent généralement par l'avortement des embryons hybrides lorsque *P.vulgaris* est utilisé comme parent mâle (Baudoin *et al*, 1992). Cela résulte en partie des dysfonctionnements de certains gènes essentiels au développement normal de l'embryon. L'objectif de l'étude est de rechercher chez *Phaseolus* ces gènes déjà mis en évidence chez *Arabidopsis thaliana*, *Zea mays*, *Oryza sativa*, etc., et qui illustrent le phénomène de la conservation de la synténie (Barnes, 2002). Un tel travail passe au préalable par l'étude du développement des embryons hybrides et par la recherche chez *Phaseolus* d'un premier groupe de gènes candidats de l'embryogenèse.

**Matériels et méthodes.** Des hybridations interspécifiques ont été réalisées dans des serres entre plusieurs génotypes de *P.vulgaris*, *P.polyanthus* et *P.coccineus*, avec l'utilisation de *P.vulgaris* comme parent mâle. Les amorces microsatellites BM141 en provenance du CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) ont été utilisées pour confirmer les hybrides F1. Une amplification PCR avec des amorces dégénérées issues des séquences protéiques des gènes KNOX a été réalisée sur de l'ADNg afin de vérifier l'existence de cette famille de gènes chez *Phaseolus*.

**Résultats.** Les essais d'hybridations ont révélé l'existence de niveaux de compatibilité différents entre les parents. Ainsi, sur un total de 800 croisements, 2 combinaisons ont été réussies: *P.coccineus* (NI889) x *P.vulgaris* (G21245) et *P.polyanthus* (G35348) x *P.vulgaris* (G21245). La réussite des hybridations est confirmée par l'observation de caractères botaniques discriminants entre les espèces parentales et par l'utilisation des amorces microsattellites. Par contre, certaines combinaisons se traduisent par des malformations de l'embryon à divers stades, comme celui cotylédonaire (fig.1). On observe aussi des avortements d'embryons à des stades plus précoces (globulaire et cordiforme). L'amplification PCR de l'ADNg de *Phaseolus* avec des amorces dégénérées issues des séquences des gènes KNOX a révélé l'existence de cette famille de gènes chez le genre. Les amorces ont été définies après l'alignement des séquences protéiques de cinq gènes KNOX (fig.2).



**Fig.1.** Embryons du génotype NI16 de *P.coccineus* (x40). A: embryon issu d'une autofécondation 13 Jours Après Pollinisation (JAP). B et C: embryons hybrides 16 JAP par NI637 (*P.vulgaris*). B: embryon avec des cotylédons malformés. C: embryon présentant un retard de croissance (Photos : S. Silué).

	*	320	*	340	
OSH1_ORYSA :	KQELSKKKKGGKLPK	DARQ	LLN	WVWELHYKWPYPSESQRVALA	: 301
HKN1_MAIZE :	KQELSKKKKGGKLPK	DARQ	LLS	WVWDOHYKWPYPSETQRVALA	: 301
O80416 :	KQELSKKKKGGKLPK	DARQ	LLH	WVWELHYKWPYPSETKIALA	: 295
HKL1_ARATH :	KQELSKKKKGGKLPK	DARQ	LLH	WVWELHYKWPYPSESEKVALA	: 338
HMB1_SOYBN :	KQELFMKKKKGGKLPK	DARQ	LLH	WVWNRHYKWPYPSESOKLALA	: 320
	4QE	sKK4KKGGKLPK	eARQ	LL	WV
				HYKWPYPSE	S2KGALA
	*	360	*	380	
OSH1_ORYSA :	ESTGLDL	KQINNWF	INQRKRWK	PS	EDM
HKN1_MAIZE :	ESTGLDL	KQINNWF	INQRKRWK	PS	EDM
O80416 :	ESTGLD	KQINNWF	INQRKRWK	PS	EDM
HKL1_ARATH :	ESTGLD	KQINNWF	INQRKRWK	PS	EDM
HMB1_SOYBN :	ESTGLD	KQINNWF	INQRKRWK	PS	EDM
	ESTGLD	KQINNWF	INQRKRWK	ps	m
					m
					h

**Fig. 2.** Une portion des séquences protéiques de 5 gènes KNOX après leur alignement. Cette portion contient l'homéodomaine qui est une zone presque conservée chez plusieurs espèces.

**Conclusion.** Des génotypes parentaux ont été identifiés pour leur aptitude différente à la combinaison interspécifique. Ces génotypes sont utilisés pour des analyses comparatives de l'embryogenèse chez les parents autofécondés et des hybrides, grâce à des observations histologiques des ovules. Des amplifications RT-PCR et des hybridations *in situ* sont en cours pour déterminer les stades d'évolution des embryons et les lieux d'expression des gènes candidats révélés chez *Phaseolus*.

## Bibliographie

- Barnes S. (2002). Comparing *Arabidopsis* to other flowering plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* **5** (2): 128-134.
- Baudoin J.P., Camarena M.F., 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.