

Cultures *in vitro* d'étamines d'arachide (*Arachis hypogaea* L.)

I. — Stades du développement des boutons floraux et microsporogénèse

J.-P. MARTIN, S. CAS et H. RABÉCHAULT (1)

La génétique fait de plus en plus appel à la technique des cultures de tissus pour l'amélioration des plantes cultivées. Les recherches ont été orientées dans deux directions : la culture des tissus en vue de la **production de plantes polyploïdes** [Malnassy et Ellison 1970, Murashige et Nakano 1966, Shrivastava 1971] et la culture d'anthères [Burgin et Nitsch 1967, Guha et Maheswari 1964, Nakata et Tanaka 1968, etc.] ou d'ovules [Kochba et Spiegel 1972, Martin 1970, Uchimiya *et al.* 1971] pour l'**obtention de plantes haploïdes et de lignées pures**.

La culture des étamines, qui comportent à la fois des cellules haploïdes et diploïdes, permet d'aboutir à ces deux objectifs. Cependant les résultats obtenus dépendent de nombreux facteurs et, en particulier, de l'espèce à laquelle on s'adresse et du stade de développement des anthères et du pollen au moment de l'ensemencement [Burgin et Nitsch *loc. cit.*, Bernard 1971, Sunderland 1971...]. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes attachés tout d'abord à étudier l'évolution des fleurs dans les conditions de l'expérience et à définir les stades morphologiques du développement des boutons floraux correspondant à ceux, invisibles extérieurement, des anthères et du pollen (microsporogénèse).

LA FLORAISON DE L'ARACHIDE

La floraison et la fructification de l'arachide ont été souvent décrites [Badami 1935, Bolhuis 1958, 1959, Bouffil 1947, Gillier et Silvestre 1969 ; Gregory *et al.* 1951, Martin et Bilquez 1960, Niclaes et Demol 1958, Seshadri 1959, 1962, Smith 1946, 1950, 1956, Tardieu 1954]. Les études de biologie florale de Banerji (1938) et de Smith (*loc. cit.*), qui font une large part à la macrosporogénèse, mises à part les observations rapportées dans la littérature, ont trait surtout à la floraison au sens large du terme (nombre de fleurs produites dans l'unité de temps en fonction des variations des facteurs du climat : chutes de pluie, température, lumière, etc ; rendement de la formation des gynophores et des graines...) mais non à la vitesse d'évolution de l'organogénèse de chaque fleur en relation avec sa microsporogénèse.

La floraison est très sensible à la température [de Beer 1963 ; Bolhuis et de Groot 1959 ; Hassan et Shrivastava 1966 ; Wood 1968] et à l'intensité et à la composition de la lumière [Fortanier 1957 ; Bolhuis 1958, 1959]. Une seule journée d'obscurité, selon Niclaes et Demol (1958) peut annuler la floraison au bout de trois jours.

Le phénomène de la floraison chez l'arachide serait simple à contrôler s'il ne dépendait que des facteurs

physiques et chimiques (température, lumière, périodisme, nutrition, etc.) mais il est réglé aussi par des facteurs physiologiques intrinsèques peu ou mal connus tels que la sensibilité au milieu et la faculté de production des fleurs propre à chaque variété [Bolhuis 1958, 1959 ; Niclaes et Demol 1958 ; Tardieu 1954, etc.], l'influence d'une période de forte floraison sur la floraison suivante [Bouffil 1947 ; Martin et Bilquez 1960, 1962] — le nombre de fleurs épanouies dépend dans une certaine mesure du nombre de boutons épanouis la veille, — le mode de ramification [Bunting 1955-1958 ; Seshadri *et al.* 1959] etc.

En serre, la floraison et l'organogénèse ne sont pas aussi intenses et complètes qu'en plein champ dans les pays de production. Le nombre des étamines stériles est plus important et certaines variétés ont la faculté de produire davantage de fleurs aberrantes [Maeda 1964 ; Rabéchault 1957].

Nous avons tenu compte de ces diverses caractéristiques biologiques et écologiques afin que les plantes destinées aux expériences se développent dans des conditions optimales.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des arachides (*Arachis hypogaea* L.), cv. 28-204 (Type Spanish) et 61-52 (Type Virginia) originaires de la Station I. R. A. T. de Bambey (Sénégal) ont été cultivées en serres entre 19 et 33 °C de manière à satisfaire aux conditions optimales de la floraison. Ainsi par exemple pour pallier un défaut éventuel de lumière, les plantes ont été cultivées pendant la belle saison sans aucun éclairage d'appoint, aucune lampe n'ayant fourni de résultats satisfaisants et l'apport de lumière artificielle perturbant plutôt qu'il n'améliorait la floraison. Des semis échelonnés, effectués depuis le début d'avril jusqu'au mois d'août, ont permis d'obtenir à tout moment une quantité suffisante de fleurs à tous les stades de développement.

Les boutons floraux ont été mesurés plusieurs fois chaque jour jusqu'à l'épanouissement des fleurs.

Après avoir défini les divers stades de développement basés sur des caractères assez nets pour être susceptibles d'être facilement distingués, des boutons correspondants ont été prélevés en vue d'une étude morphologique et cytologique des pièces de l'androcée et du pollen. Les observations morphologiques et les dessins ont été effectués à l'aide d'un stéréomicroscope Zeiss muni d'une chambre claire OPL et d'un microscope oculaire.

Des boutons floraux aux divers stades de développement ont été fixés à l'alcool acétique et l'état de développement du pollen a été examiné au microscope après écrasement des anthères entre lame et lamelle dans du carmin acétique ou dans un mélange d'hématoxyline propionique selon Henderson et Liu (1968):

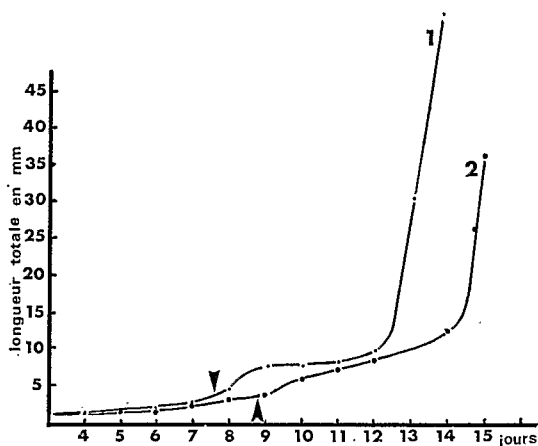
(1) Laboratoire de Physiologie Végétale des Services Scientifiques Centraux de l'O. R. S. T. O. M., 70, route d'Aulnay, 93140 Bondy.

O. R. S. T. O. M. - 9 MAI 1974
EX1
Collection de Référence
Bio & Fuel.
n° 22219
B

Des difficultés ont été rencontrées pour la coloration du pollen mûr : les fixateurs ont pénétré très lentement à cause de l'épaississement de l'exine et de la présence dans les anthères d'une huile jaune vif abondante. Le mélange fixateur de Carnoy qui renferme du chloroforme nous a été d'un grand secours et nous avons obtenu également de bons résultats en fixant les boutons floraux et les anthères dans le mélange de Navachine pendant plusieurs jours à + 5 °C.

RÉSULTATS

L'éclairement, qui pouvait atteindre 80 à 100 000 lux au cours des journées ensoleillées, tombait à 24 000 lux par temps couvert et même à 16 000 lux par temps de pluie. Dans ce dernier cas, conformément aux observations faites par d'autres auteurs et rapportées ci-dessus, le développement des fleurs était ralenti, voire annulé, pour plusieurs jours. Le développement était retardé de 24 à 48 h (Graphique I) lorsque l'éclairement tombait au voisinage de 25 000 lux. On évitait alors de prélever des boutons floraux pour leur mise en culture. Le ralentissement était d'autant plus prolongé que le bouton était à un stade plus jeune. Nous avons ainsi observé l'inhibition complète du développement de boutons parvenus aux stades I et II (décrits plus loin) pendant plus de 15 jours à la suite d'une ou deux journées de très faible ensoleillement.



GRAPHIQUE I. — Croissance des boutons floraux lorsque l'éclairement variait entre 25 000 et 80 000 lux : courbe 1, et entre 15 000 et 25 000 lux (temps couvert) : courbe 2.

Chez l'arachide la floraison commence aux nœuds situés à la base de la plante, près des cotylédons, et tend à gagner de proche en proche l'extrémité des rameaux sans jamais y parvenir. Dans cette zone basale, la floraison est très intense et se « dilue » progressivement vers des limites en dehors desquelles des boutons floraux peuvent exister à des stades très jeunes (I et II) sans évoluer.

Il est ainsi difficile de prévoir l'avenir d'un bouton floral des stades jeunes en dehors des limites de la zone de floraison active. Par contre, pour les stades les plus âgés, il est possible d'estimer le temps qui les sépare de leur épanouissement avec une assez bonne précision.

La microsporogénèse est très précoce chez la fleur d'arachide. De plus, elle est accélérée par la lumière, la température et les disponibilités en eau. Au cours de la première période de nos travaux, nous espérions reconnaître les diverses phases de la formation du pollen dans des boutons encore clos mesurant moins

de 10 à 15 mm de longueur. A ce stade hélas le pollen était déjà mûr et il l'était également chez des boutons moitié moins longs (7 mm). Lorsque les journées étaient ensoleillées, surtout lorsque par accident les plantes manquaient d'eau, nous avons trouvé des anthères jaunes et du pollen binucléé dans des boutons qui mesuraient moins de 5 mm de longueur. La taille des boutons floraux n'est donc pas un critère valable pour prévoir le stade de la formation du pollen. Par contre, une corrélation très nette existe entre la forme du bouton floral (stade de développement) et la microsporogénèse.

STADES DE DÉVELOPPEMENT DES FLEURS ET MICROSPOROGENÈSE

A l'aisselle d'une feuille, deux bractées recouvrent complètement le bourgeon axillaire végétatif à la base duquel on découvre, de part et d'autre, deux petites masses vertes arrondies à cylindriques et qui sont des boutons floraux au **Premier stade** de leur développement (Planche I, fig. 1). Seules les sépales sont formés ; ils entourent complètement les étamines. Les pétales et le tube calicinal, que nous appellerons plus loin « pédoncule » pour plus de commodité, sont à l'état d'ébauches. Le pistil, très court, est difficile à observer. L'intérieur du bouton est entièrement occupé par les étamines presque sessiles. Dans les anthères arrondies, les cellules mères des grains de pollen sont déjà en place mais ne peuvent encore être extraites mécaniquement.

L'ordre de développement des pièces florales ne suit donc pas celui dans lequel elles sont insérées dans la fleur : sépales, pétales, étamines et pistil, puisque ce sont les étamines, et on peut même dire les anthères seulement qui se développent en même temps que les sépales qui les recouvrent. Déjà se dessine l'accélération de la microsporogénèse. Le développement du pistil est légèrement en retard ainsi que la macrosporogénèse comme l'a déjà observé Smith (1956).

Les bractées foliaires s'écartent légèrement démasquant ensuite les boutons floraux parvenus au **deuxième stade de développement** (Planche I, Fig. 2 et 3). Le bouton s'est allongé ; il est vert, symétrique par rapport à son grand axe, et devient sub-cylindrique avec un étranglement caractéristique (pédoncule) à la base (pédoncule 0,3 mm ; bouton 1,4 mm environ).

Les bractées sont plus longues que le bouton. La corolle, à l'intérieur du bouton, est très rudimentaire. On observe une augmentation du volume des anthères alors que les filets des étamines restent très courts (Long. totale d'une étamine 0,6-1,0 mm ; anthère 0,5-0,8 × 0,3 × 0,45 mm). Les anthères commencent à blanchir et leurs loges dorsales sont plus développées (double de largeur) que leurs loges ventrales ce qui leur donne un aspect très caractéristique (Planche I, Fig. 5). Aucune trace de soudure n'est encore visible à la base des filets.

Par écrasement de l'anthère, chaque loge libère une masse allongée (Planche I, Fig. 6) arrondie aux extrémités et qui est constituée par des cellules mères polygonaux des grains de pollen (cellules mères : $32,20 \pm 2,32 \times 26,34 \pm 2,07 \mu$). A ce stade, les boutons les plus âgés (pédoncule 0,9-1,2 mm ; bouton 2,1 mm) ont des étamines blanchâtres dans lesquelles on trouve des cellules mères plus grosses ($47,74 \pm 1,90 \times 37,76 \pm 2,16 \mu$) qui tendent à se séparer les unes des autres par suite de la lyse des lamelles mitoyennes.

Le bouton à tétrades (Planche I, Fig. 7) constitue le **troisième stade de développement**. Il est diffi-

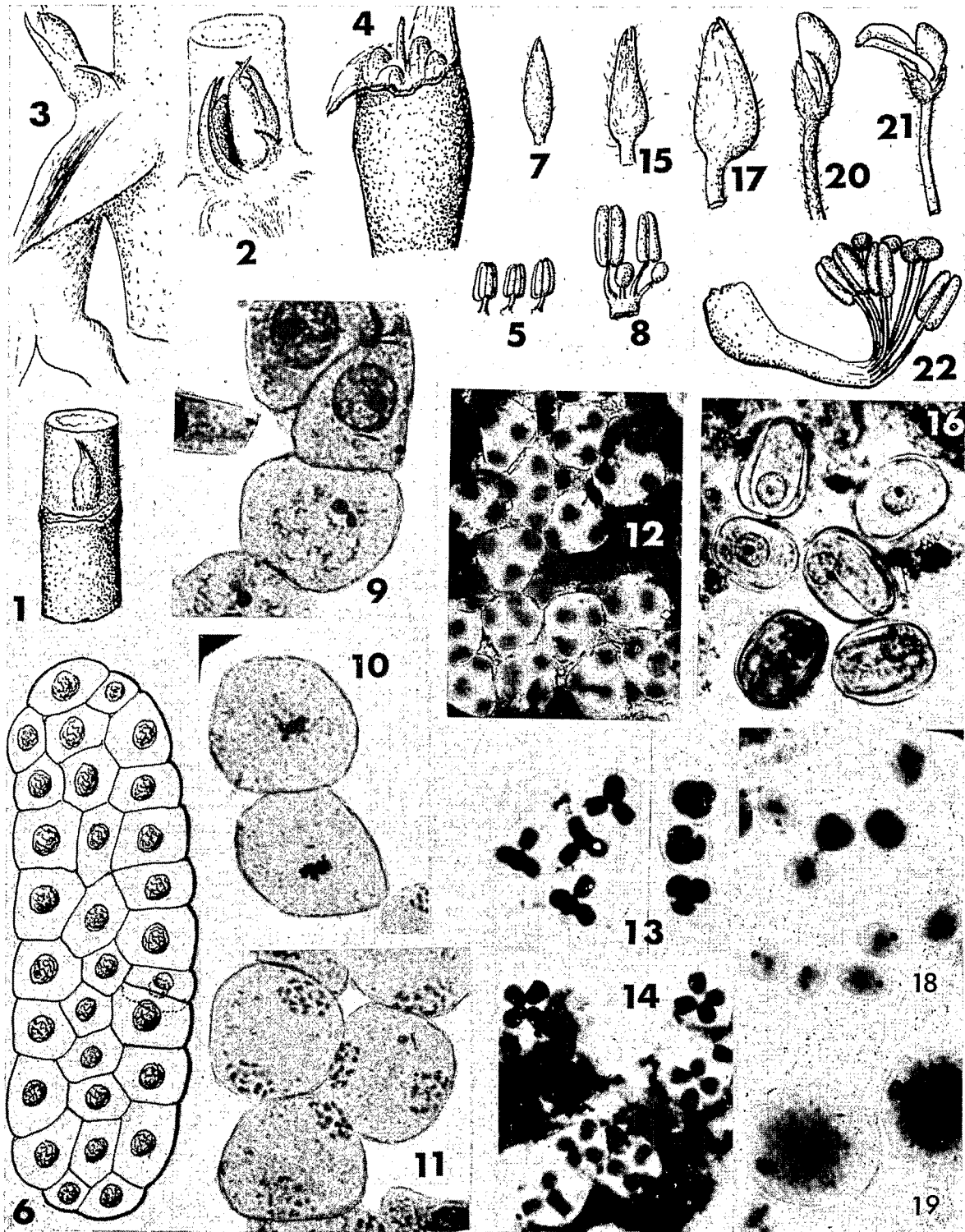
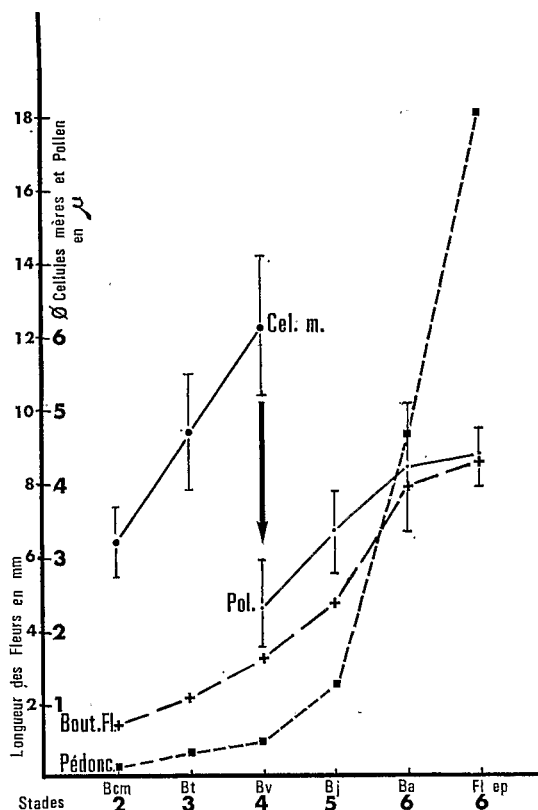


PLANCHE I. — Figure 1, à l'aisselle d'une feuille, les bractées recouvrent le bourgeon axillaire et 2 boutons floraux arrondis verts ($\times 5$); Fig. 2, Stade II les bractées se sont écartées. On remarque l'un des boutons floraux sub-cylindrique avec son étranglement à la base ($\times 5$); Fig. 3, les bractées ont été arrachées, le bouton est vu de profil ($\times 5$); Fig. 4, le sommet du bouton a été coupé, on voit le sommet de 4 anthères et le pistil ($\times 25$); Fig. 5, étamines du bouton de la figure précédente ($\times 5$); Fig. 6, masse de cellules mères de grains de pollen que l'on peut faire sortir par pression d'une anthere ($\times 400$); Fig. 7, bouton au Stade III, bouton fusiforme à tétrades ($\times 5$); Fig. 8, étamines du bouton précédent ($\times 8$); Fig. 9, 10 et 11, cellules mères à divers stades de la méiose ($\times 900$); Fig. 9, 2 cellules mères en haut et 2 au stade leptotène, on remarque le nucléole en division; Fig. 10, métaphase; Fig. 11, télophase; Fig. 12, 13 et 14, tétrades dans les tissus de l'antère et phases de la libération du pollen ($\times 560$); Fig. 15, stade IV, bouton vert ($\times 5$); Fig. 16, pollen mononucléé du stade bouton vert ($\times 900$); Fig. 17, stade V bouton jaune ($\times 5$); Fig. 18 et 19, pollen binucléé du bouton jaune ($\times 560$ et 900); Fig. 20, épanouissement de la fleur, stade VI « bouton ailé » ($\times 2$); Fig. 21, fleur épanouie ($\times 1$); Fig. 22, étamines du bouton ailé ($\times 5$), remarquer les étamines à anthères rondes et celles à anthères longues qui ont fait l'objet des cultures *in vitro*.

cile à distinguer du précédent. Le bouton est devenu fusiforme (pédoncule 1,0-2,0 mm ; bouton 2-4 mm). Il est symétrique par rapport à son grand axe et de section arrondie. Les bractées foliaires sont encore plus longues que le bouton qui reste hermétiquement clos par ses sépales. Les filets des étamines se sont allongés et sont plus larges à la base qu'au sommet bien qu'ils ne présentent pas encore entre eux de zone de soudure. Les anthères blanchâtres sont deux fois plus longues que larges ; leurs loges ont atteint un développement à peu près identique (Planche I, Fig. 8). A l'intérieur, les cellules mères des grains de pollen ($61,80 \pm 2,94 \times 47,00 \pm 253$) parvenues à leur développement maximal (Graphique II), sont presque toutes séparées les unes des autres et tendent à devenir isodiamétriques. La méiose, dont tous les stades ont été reconnus (Planche I, Fig. 9, 10, 11), est déclenchée et aboutit très rapidement à la formation des tétrades. La membrane de chaque cellule mère, qui entoure alors les 4 grains de pollen disposés selon deux plans perpendiculaires, devient de plus en plus mince (Planche I, Fig. 12, 13, 14) et disparaît après une lyse complète. Les grains de pollen mononucléés (diam. $22,84 \pm 2,14 \times 20,88 \pm 2,16 \mu$) sont ainsi libérés mais ils restent encore accolés par un point commun pendant un certain temps (Planche I, Fig. 13 et 14).

Les plus grands boutons de cette catégorie (pédoncule 1 mm ; bouton 3 mm) s'épanouiront dans 3 ou 4 jours.

Le quatrième stade de développement (Planche I, Fig. 15) est ce que nous avons appelé la forme « Bou-



GRAPHIQUE II. — Diamètre des cellules mères du pollen (cel. m.) et du pollen (pol.) en fonction de la longueur du bouton floral (bout. fl.) et de son pédoncule aux divers stades de développement : cm B. (bouton à cellules mères) Bt. (bouton à tétrades) Bv. (bouton vert) Bj. (bouton jaune) Ba. (bouton ailé) Fl. ep. (fleur épanouie).

ton vert » dont l'épanouissement aura lieu dans les meilleures conditions dans les 36 à 48 h. Il devient **piriforme** grâce à l'apparition d'un léger renflement à la base tandis que l'extrémité est souvent marquée par de légères dépressions entre les sépales. Le bouton est **dissymétrique** par rapport à son grand axe (pédoncule 2-4 mm ; bouton 3-5,5 mm). L'augmentation du diamètre à la base est dû au développement des anthères dont les loges ($1,05-1,5 \times 0,5-0,6$ mm) commencent à jaunir par suite de la maturation du pollen et de la sécrétion de nombreuses gouttelettes d'une huile de couleur jaune vif (Planche I, Fig. 8). Les grains de pollen sont mononucléés, bien individualisés, et ont une forme en ballon de rugby (Planche I, Fig. 16).

Au cours du **cinquième stade de développement** (Planche I, Fig. 17) la couleur devient de plus en plus jaune par suite de l'achèvement de la maturation du pollen, de la sécrétion d'une importante quantité d'huile jaune dans les anthères et du jaunissement des sépales qui sont parvenus à leur longueur maximale. C'est le stade que nous avons appelé plus communément « **Bouton jaune ou Bouton de la veille** » : il précède en effet l'épanouissement de la fleur de 12 à 24 h. Le pédoncule (tube calicinal) s'est allongé ; il peut atteindre 10 à 15 mm. Le bouton est encore plus **dissymétrique** qu'au stade précédent par rapport à son grand axe ; il est **plus ou moins aplati latéralement** (section transversale ovale). L'augmentation du volume est due surtout à l'allongement du pistil, des filets des étamines et au développement des pièces de la corolle (pédoncule 4-6 mm ; bouton 5-8 mm).

Les filets des étamines sont soudés à la base sur une petite longueur (0,4-0,8 mm). La partie libre du filet avec l'anthère a une longueur de 2,2-3,0 mm sur laquelle l'anthère représente 1,1-1,5 mm.

Les sacs polliniques jaunes sont allongés et renferment du pollen binucléé individualisé, arrondi (diam. $42,00 \pm 2,08 \mu$) qui commence à épaissir ses parois. La coloration au carmin acétique devient plus difficile.

Pendant les derniers moments de la croissance de ce bouton, la partie soudée du filet des étamines ainsi que le pistil augmentent beaucoup de longueur ; il en est de même pour les pièces de la corolle qui prennent leur coloration jaune pâle.

L'épanouissement de la fleur s'opère en deux temps :

a) la sortie des ailes et de la carène qui protège les étamines et le pistil : c'est la forme que nous avons appelée « Bouton ailé » (Planche I, Fig. 20) ;

b) la mise en place de l'étendard (Planche I, Fig. 21).

Dans le bouton ailé, les pièces de l'androécée et du gynécée ont pris leurs dimensions, leurs formes et leurs places définitives. A ce stade, les anthères peuvent être déhiscents et l'on remarque d'ailleurs sur chaque loge le tracé de la fente qui livrera le passage au pollen.

L'anthèse a lieu très tôt, le matin entre 4 et 6 h.

Dans la fleur, on distingue nettement les 10 étamines : 4 grandes à anthères allongées oblongues, 4 un peu plus courtes à anthères arrondies et enfin 2 staminodes (étamines sans anthères).

Ce sont les étamines à anthères allongées qui ont fait l'objet des observations et des mesures.

Finalement les pièces florales adultes chez la variété 28-204, dans les conditions de l'expérience, avaient les dimensions moyennes consignées dans le tableau I.

TABLEAU I

Dimensions des organes floraux chez la variété 28-204 (fleurs épanouies)

Organe	Dimensions	
Tube calicinal	longueur	: 18,03 ± 2,37 mm
Sépales soudés	longueur	: 5,02 ± 0,83 mm
Sépales libres	longueur	: 6,88 ± 0,48 mm
Etendard	longueur	: 11,07 ± 0,46 mm
—	largeur	: 16,17 ± 0,57 mm
Ailes	longueur	: 8,66 ± 0,47 mm
—	largeur	: 5,72 ± 0,39 mm
Carène	longueur	: 9,25 ± 0,69 mm
—	largeur	: 4,27 ± 0,29 mm
Étamines	longueur totale	: 9,35 ± 0,48 mm
— partie soudée	— —	: 4,30 ± 0,29 mm
— filet libre	— —	: 3,76 ± 0,34 mm
— anthère	longueur	: 1,20 ± 0,06 mm
Pollen	grand diamètre	: 43,40 ± 0,78 µ
—	petit diamètre	: 40,99 ± 0,75 µ

L'examen de ce tableau amène quelques commentaires. Les mesures ont été prises sur 20 fleurs prélevées au hasard entre 9 et 10 h du matin. La moyenne de la longueur du tube calicinal présente un intervalle de confiance assez important qui traduit une certaine hétérogénéité. Ceci est dû à ce que cette partie est très sensible à la lumière. De sorte que les fleurs prélevées à la base de la plante, plus ou moins abritées par une feuille ou une branche, avaient un tube calicinal (pédoncule) plus long que les autres. Une hétérogénéité encore plus grande est traduite par l'intervalle de confiance qui affecte aussi la longueur des étamines et de leur filet mais ici il s'agit d'une

hétérogénéité naturelle : les étamines à anthères allongées ont des filets qui n'ont pas tous la même longueur dans une même fleur.

CONCLUSIONS

La vitesse de développement des fleurs d'arachide est influencée par les facteurs du milieu, en particulier par la lumière naturelle, la température et un manque d'eau relatif. Pour avoir une évolution des fleurs toujours aussi rapide, les plantes ont été cultivées dans des conditions optimales : lumière naturelle estivale supérieure à 25 000 lux, température supérieure à 19 °C, arrosages optimaux, engrais liquides, etc.

Les prélèvements n'ont jamais été effectués lorsque l'un de ces facteurs tombait naturellement ou accidentellement au-dessous du seuil fixé.

Les sépales et les étamines se forment avant les autres organes de la fleur. La formation du pistil et la mégasporogénèse sont légèrement en retard sur celle des étamines et la microsporogénèse. Nos observations confirment sur ce point celles de Smith (1956).

Cinq stades de développement des boutons floraux en relation avec l'état d'évolution du pollen ont été décrits : I-ébauches arrondies ; II-bouton cylindrique avec étranglement à la base ; III-bouton à tétrades fusiforme symétrique ; IV-bouton vert dissymétrique piriforme à pollen mononucléé, V-bouton jaune dissymétrique aplati latéralement à pollen binucléé. Les tétrades se forment dans les boutons jeunes (III) 3 à 4 jours avant l'épanouissement. Le « bouton vert » s'épanouit au bout de 48 h et le « bouton jaune » au bout de 12 à 24 h.

Les boutons aux stades III, IV et V ont été prélevés pour la culture de leurs étamines *in vitro*.

RÉFÉRENCES

- BADAMI V. K. (1935). — *J. Mysore Agric. and Exp. Union*, **14**, pp. 188-194 ; **15**, pp. 59-70.
- BANERJI I. (1938). — *J. Bombay Nat. Hist. Soc.*, **40**, pp. 539-543.
- BERNARD S. (1971). — *Rev. Cytol. Biol. vég.*, **34**, 165-188.
- BOLHUIS G. G. (1958 et 1959). — *Netherl. J. Agric. Sci.*, **6**, 1, p. 18 ; **2**, pp. 245-248 et **7**, **2**, pp. 138-140.
- BOLHUIS G. G., DE GROOT W. (1959). — *Netherl. J. Agric. Sci.*, **7**, **4** pp. 317-326.
- BOUFFIL F. (1947). — Biologie, Ecologie et Sélection de l'Arachide au Sénégal-Thèse, Sect. techn. Agric. trop., *Bull. sci.*, n° 1, 108 p.
- BUNTING A. H. (1955). — *Emp. J. Exp. Agric.*, **23**, 91-92, pp. 158-170.
- BUNTING A. H. (1958). — *Emp. J. Exp. Agric.*, **26**, 103, pp. 254-258.
- BURGIN J. P., NITSCH J. P. (1967). — *Ann. Physiol. vég.*, **9**, pp. 377-382.
- DE BEER J. F. (1963). — *Influences of temperature on Arachis hypogaea L. with special reference to its pollen viability*. Versl. Landbouwk. Onderz., n° 69.2, PUDOC, Wageningen, 81 p.
- FORTANIER E. J. (1957). — *Med. Landbouwhogeschool*, **57**, **2**, 116 p., Wageningen.
- GILLIER P., SILVESTRE P. (1969). — *L'arachide* (Collect. Techniques Agricoles et Productions tropicales), Maisonneuve et Larose Edit. Paris, 292 p.
- GUHA S., MAHESHWARI S. C. (1969). — *Nature*, **204**, p. 497.
- HASSAN M. A., SRIVASTAVA D. P. (1966). — *Indian Bot. Soc. J.*, **45**, 1-2, pp. 92-102.
- HECTOR J. M. (1936). — *Introduction to the botany of field crops*. Vol. II, *Non cereals* 1127 p. Johannesburg, South Africa.
- HENDERSON S. A., LIU B. C. (1968). — *Stain Technol.*, **43**, pp. 233-236.
- KOCHBA J., SPIEGEL-ROY P., SAFRAN H. (1972). — *Planta*, **106**, **3**, pp. 231-245.
- MAEDA K. (1964). — *Proc. Crop Sci. Soc. Japan*, **1**, **33**, pp. 94-104.
- MALNASSY P., ELLISON J. H. (1970). — *Hort. Sci.*, U. S. A., **5**, **5**, pp. 444-445.
- MARTIN J.-P. (1970). — *Oléagineux*, **25**, **3**, pp. 155-156.
- MARTIN J. P., BILQUEZ A. F. (1960). — *J. agric. trop. et Bot. Trop.*, **7**, **11**, pp. 530-538.
- MURASHIGE T., NAKANO T. (1966). — *J. Hered.*, **57**, p. 115-118.
- NAKATA K., TANAKA M. (1968). — *Jap. J. Genet.*, **43**, pp. 65-71.
- NICLAES J., DEMOL J. (1958). — *Bull. Agric. Congo Belge*, **49**, **6**, pp. 1501-1512.
- RABECHAU H. (1957). — *Agron. trop.*, **11**, **4**, pp. 483-489.
- REED E. L. (1924). — *Bot. Gaz.*, **78**, **3**, pp. 289-310.
- SCHRIVASTA P. S. — *Z. Pflanzenphysiol.*, **66**, **1**, pp. 93-96.
- SESHADRI C. R., BHAVANI SHANKAR RAO M., SRINIVASALU N. — *Indian J. Agric. Sci.*, **28**, **2**, pp. 175-180.
- SMITH B. W. (1950). — *Amer. J. Bot.*, **37**, pp. 802-815.
- SMITH B. W. (1956). — *Amer. J. Bot.*, **43**, **2**, pp. 81-89.
- SMITH B. W., RALEIGH N. C. (1946). — *Amer. J. Bot.*, **33**, **10**, p. 826.
- SUNDERLAND N. (1971). — *Sci. Prog.*, **59**, **236**, pp. 527-549.
- TARDIEU M. (1954). — *Ann. C. R. A. Bambey, Bull. Agron.* n° 13, pp. 113-117.
- UCHIMIYA H., KAMEYA T., TAKAHASHI N. (1971). — *Jap. J. Breeding*, **21**, **5**, pp. 247-250.
- WOOD I. M. W. (1968). — *J. Agric. Res.*, **19**, **2**, pp. 241-251.

