

Die Anwendung biosystematischer Untersuchungsmethoden bei *Theobroma cacao* L.

I. Cytologische Untersuchungen von Chromosomenzahlen

Von Mechtild Rommel und Matthias Zweigert^{o)}

1. Einleitung

Für Arbeiten auf dem Gebiet des Pflanzenbaues und der Pflanzenzüchtung ist es notwendig, Methoden zur Untersuchung von cytologischen, cytogenetischen, biochemischen und fortpflanzungsbiologischen Eigenschaften bei Kulturpflanzen in der Anwendung und Handhabung kennenzulernen. Gerade bei tropischen Nutzpflanzen, die im Gegensatz zu den Pflanzen der gemäßigten Zonen eine viel größere Mannigfaltigkeit biologisch-systematischer Eigenschaften zeigen, ist die Kenntnis solcher Untersuchungsmethoden zur Weiterentwicklung dieser Pflanzen in Anbau und Züchtung essentiell.

Das Pflanzenmaterial des Gewächshauses der Organisationseinheit Ausländische Landwirtschaft der Gesamthochschule Kassel in Witzenhausen bietet sich für die Einübung von biosystematischen Untersuchungsmethoden an. Da bei Kakao eine kleine Population größerer Bäume zur Verfügung steht, werden diese zuerst für eine Reihe von cytologischen, cytogenetischen und fortpflanzungsbiologischen Untersuchungen benutzt.

2. Material und Methode

Die Population besteht aus 10 Bäumen, die wiederum von den Samen eines einzigen Baumes abstammen. Sie gehört taxonomisch zu *Theobroma cacao* Typ Forastero, mit länglich-runden, gelben Früchten und meistens dunkel gefärbten Samen. Für die cytologischen Untersuchungen wurden die Samen in „Einweg“-Keimschalen zwischen Faltenfiltern eingeeimt. Sobald die Wurzel zwischen den Kotyledonen sichtbar wurde und etwa 1–1,5 cm lang war, wurde sie mit einer Schere abgeschnitten und eine Vorbehandlung zur Ansammlung von Mitosen und zur Chromosomenverkürzung vorgenommen. Hierzu wurden

^{o)} Dr. Mechtild Rommel, Diplomlandwirt, Hochschullehrer für Botanik, Genetik u. speziellen Pflanzenbau am Fachbereich Ausländische Landwirtschaft der Gesamthochschule Kassel in Witzenhausen.

Anschrift: 343 Witzenhausen, Steinstraße 19.

Matthias Zweigert, stud. ing. (grad.) agr. trop. am Fachbereich Ausländische Landwirtschaft der Gesamthochschule Kassel in Witzenhausen.

Anschrift: 343 Witzenhausen, Steinstraße 19.

die Wurzeln 4—4½ Stunden lang in eine 0.002 molare Lösung von 8-Hydroxyquinolin gelegt und dann in eine Fixierlösung (2 Teile Alkohol + 1 Teil Eisessig) überführt. Die Wurzeln blieben etwa 7—10 Tage in der Fixierlösung, um später recht klare und kontrastreiche mikroskopische Bilder zu bekommen. Die Mazeration und Färbung erfolgte nach der von Rommel (1963) beschriebenen Methode zur Untersuchung von Chromosomen bei Zuckerrüben. Die Wurzelspitzen wurden für 18—48 Stunden in ein Gemisch aus 2% Orcein in 45%iger Essigsäure und In-HCl gelegt. Die Mischung der Farblösung mit der 1 — normalen Salzsäure erfolgte im Verhältnis 10 : 2. Störend wirkte sich bei der Untersuchung aus, daß das Cytoplasma angefärbt und mit Stärkekörnern angereichert war. Durch kurzes Aufkochen der Wurzelspitzen in 30%iger Essigsäure und anschließendem Herstellen eines Quetschpräparates in 30%iger Essigsäure wurden außerordentlich deutliche und kontrastreiche Mitose-Abbildungen erzielt.

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Untersuchungen von somatischen Zellen an Wurzelspitzen

Nr. des Baumes	Nr. der Frucht	Zahl der untersuchten Samen	Anzahl der Pflanzen mit		
			Chromosomenzahlen 2n = 20 Chromosomen	21 Chromosomen	Zellen mit 18, 19, 20, 21 Chromosomen
1	3	10	9 (1) °)		
	4	10	7 (1) °)	1	
4	3	10	10 (1) °)		
	4	3	3		
	5	4	3		
6	2	5	4		1
	3	10	9		1
	4	10	4		
	5	5	3		
	6	6	4		
7	3	3	3		
	4	10	8		1
10	5	35	22 (3)		2
Insgesamt:					
5 Bäume	13 Früchte	121	89	1	5

°) Endomitosen

Von 121 Pflanzen, die untersucht wurden, konnten bei 95 Pflanzen mindestens 5 und mehr Zellen einwandfrei ausgezählt werden. Das nicht mehr Pflanzen von den 121 untersuchten bestimmt werden konnten, liegt daran, daß die Methodik der Untersuchung erst erarbeitet werden mußte. Alle Wurzelspitzen,

die untersucht wurden, zeigten fast nur Zellen im Teilungsstadium. Bei einer Pflanze wurden nur Zellen mit 21 Chromosomen gezählt, bei 5 Pflanzen zeigten sich Unregelmäßigkeiten von Zelle zu Zelle. Nicht immer scheint die Teilung der Chromosomen vollkommen synchron zu erfolgen. Mehrere Pflanzen zeigten Gewebestellen mit Endomitosen (Zellen mit verdoppeltem Chromosomensatz), wo keine Zellwandbildung nach der Teilung ausgebildet war.

4. Diskussion

Die Zahl der Chromosomen im somatischen Gewebe wurde von *Simmonds* (1954) mit $2n = 20$ bestimmt. Diese Zahl wurde bei der Mehrheit der von uns untersuchten Pflanzen auch beobachtet, aber es wurden auch Abweichungen gefunden. Nach den von *Opeke* und *Jacob* (1969) gemachten Beobachtungen der Meiosis kommen hierbei viele Unregelmäßigkeiten vor, die auch zu unregelmäßiger Chromosomenverteilung führen (*Opeke* 1972). Die mitgeteilten Ergebnisse zeigen, daß hierdurch auch keimungsfähige Samen ($2n = 21$) mit abweichender Chromosomenzahl entstehen können. Für eine Weiterverwendung zur Pflanzenzucht sind aber solche Pflanzen nicht geeignet, genausowenig wie Pflanzen mit einem Zell-Chromosomenmosaik (18—21).

Weitere Untersuchungen an Sproßvegetationspunkten müßten klären, ob Abweichungen von der Chromosomenzahl auch noch bei größeren Pflanzen vorhanden sind, oder ob solche Pflanzen frühzeitig absterben. Für den Aufbau von Populationen zur Saatguterzeugung ist diese Frage von Bedeutung, denn jede Unregelmäßigkeit in Mitose beeinträchtigt letztlich immer die Produktivität der Pflanze.

Bei der Erarbeitung der cytologischen Untersuchungsmethode zur Feststellung von Chromosomenzahlen im somatischen Gewebe von *Theobroma cacao* konnte nicht nur bestätigt werden, daß meiotische Unregelmäßigkeiten auch zu hyperploiden Pflanzennachkommen führen, sondern auch auf weitere Fragestellungen verwiesen werden.

5. Summary

The application of biosystematical research methods in *Theobroma cacao* L.

121 seeds from 13 different fruits of five different trees of a small population of *Theobroma cacao* type Forastero, were germinated between filter-paper. Root tips were cut when the rootlet reached a length of 1—1,5 cms. After pretreatment and fixation they were stained in 2% orcein in 45% acetic acid and in HCl (10 : 2 parts) for 18—48 hours, then heated to boiling and mounted in 30% acetic acid. Squash preparations showed very clearly, that 89 plants had the normal chromosome number of $2n = 20$, but one plant had 21 chromosomes and at least five plants had cells with chromosome numbers ranging from 18 to 21 chromosomes. Several plants where endomitosis took place, were encountered.

The findings confirm that meiosis irregularities as reported by *Opeke* and *Jacob* (1967) also lead to seeds with irregular chromosome number. Further investigations are necessary to find out if these seedlings grow into major plants, which would be unfavourable for seedling production populations.

Literaturverzeichnis

- O p e k e, L. K. und J a c o b, V. J., 1969: Cytological irregularities in *T. cacao* (L.). — Proc. 2nd. Int. Cacao Conf. Itabuna, Bahia, Brasil (1967) 114—115.
- O p e k e, L. K., 1972: Persönliche Mitteilung.
- J a c o b, V. J., A t a n d a, O. A. and O p e k e, L. K., 1971: Cacao Breeding in Nigeria. — In: Progress in Tree Crop Research in Nigeria, Capter 1, p. 9 bis 22. Cocoa Research Institute of Nigeria.
- R o m m e l, M., 1963: Some cytogenetic properties of autotetraploid varieties of sugar-beet. — Nature 198, 1327—1328.
- S i m m o n d s, (1954) zit. nach: Darlington, C. D. and Wylie, A. P., 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. — George Allen and Unwin, London.