

4

# Note sur l'utilisation d'un marqueur génétique dans les recherches d'haploïdes chez le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.)

P. DUBLIN

Directeur de recherches ORSTOM

Chef de la division de biologie cellulaire  
de l'IFCC en Côte d'Ivoire

## INTRODUCTION

L'amélioration du cacaoyer est basée essentiellement sur l'exploitation de l'hétérosis qui apparaît chez tout hybride issu d'un croisement entre un Haut-amazonien et un géniteur appartenant à l'un quelconque des autres pools génétiques : Amelonado africain, Trinitario, etc...

Ces hybrides qui sont alors appelés « hybrides amazoniens » sont toujours doués d'une grande vigueur par rapport aux parents.

Ils présentent par contre l'inconvénient d'être relativement hétérogènes, hétérogénéité qui se manifeste au niveau de nombreux caractères utiles tels que : rendement individuel, taille des fruits et des graines, époque de fructification, etc...

Cette variabilité est due essentiellement à l'hétérozygotie obligatoire du parent auto-incompatible Haut-amazonien.

L'incompatibilité et la longueur du cycle chez le cacaoyer interdisent l'emploi des procédés classiques : autofécondation, croisements frères-sœurs pour l'obtention de géniteurs homozygotes indispensables à la création d'hybrides amazoniens homogènes.

Dans ces conditions, les haploïdes diploïdisés

constituent la meilleure voie probable pour la création, dans un délai acceptable, de géniteurs homozygotes qui permettront en même temps de mieux connaître la génétique de ce végétal.

Il existe différentes techniques d'obtention d'haploïdes qui sont applicables au cacaoyer, dont deux ont déjà donné des résultats positifs (DUBLIN, 1972 et 1973).

Les méthodes d'induction de l'haploïdie telles que la pollinisation différée, la pollinisation avec un pollen traité par des agents physiques ou chimiques exigent, pour être d'un usage pratique, la présence de marqueurs génétiques de manifestation précoce.

Le plus souvent, ces marqueurs génétiques sont constitués par des gènes de coloration qui déterminent la présence de taches colorées sur certaines régions de la jeune plantule, facilitant ainsi son repérage.

C'est l'utilisation d'un marqueur génétique de ce type qui a permis de découvrir, à la suite de pollinisations différées chez le cacaoyer, un nouveau cas d'haploïdie qui est rapporté dans les pages qui suivent. Ce cas illustre bien l'efficacité de ce marqueur et son usage possible dans les tentatives d'induction d'haploïdie à l'aide de pollen traité.

14 NOV. 1973

O. R. S. T. O. M. 205

Collection de Référence

ex2

m°

6418 Biol. Ind.

## MARQUEURS GÉNÉTIQUES ET RECHERCHE DE L'HAPLOÏDIE

Très généralement, l'haploïde se présente comme un modèle réduit du diploïde correspondant ; cette miniaturisation relative ne suffit pas cependant au repérage des plantules présumées haploïdes.

C'est la raison pour laquelle, dans les recherches sur l'haploïdie, la détection de marqueurs génétiques, de manifestation précoce et d'observation facile, constitue un objectif important.

Le principe de l'utilisation des marqueurs génétiques dans la recherche d'haploïdes est d'une grande simplicité : des géniteurs femelles homozygotes pour un marqueur récessif affectant le phénotype des plantules sont fécondés avec un pollen qui possède les allèles dominants correspondants.

Dans la descendance, les plantules qui montrent les caractères récessifs sont mises de côté, comme présumées haploïdes et étudiées par un examen cytologique complémentaire. Dans d'autres cas, c'est le géniteur femelle qui est porteur d'inhibiteurs des facteurs de coloration contenus dans le pollen du parent mâle : toutes les plantules qui possèdent le phénotype coloré paternel seront alors considérées comme haploïdes androgénétiques et mises à l'épreuve comme telles.

Ce sont surtout les travaux de CHASE (1947, 1949, 1952) sur maïs qui ont illustré les avantages pratiques que fournissent les marqueurs génétiques dans les recherches sur l'haploïdie.

Le maïs offre en effet une gamme importante de gènes marqueurs dont l'emploi et l'efficacité ont continuellement évolué.

Au début, CHASE a utilisé la coloration pourpre ou brune de la plantule, ce marqueur permettant une élimination précoce, entre le sixième et le dixième jour après semis.

Par la suite, CHASE ainsi que d'autres chercheurs : RANDOLPH, SEANEY, GERRISH, ALEXANDER..., utilisèrent divers marqueurs dont la coloration de l'endosperme, la coloration de l'aleurone, la coloration du scutellum...

CHASE et NANDA (1965), utilisant les gènes de coloration de l'embryon, ont pu faire un tri des embryons haploïdes avant semis, éliminant ainsi jusqu'à 98 % des graines avant germination.

Plus récemment, toujours chez le maïs, COE et

SARKAR (1964) ont utilisé comme marqueur l'allèle C 1, inhibiteur de la coloration du scutellum, pour la recherche de monoploïdes chez les lignées à scutellum coloré.

L'emploi de marqueurs génétiques pour la recherche d'haploïdes a été utilisé chez de nombreux autres végétaux.

PELOQUIN et HOUGAN (1959) ont utilisé comme marqueurs, chez *Solanum tuberosum*, les gènes de pigmentation de la plantule ou encore ceux qui provoquent une coloration rouge ou bleue au niveau du nœud cotylédonaire.

Des gènes de coloration de plantules ont été également utilisés, lors de recherches d'haploïdes, chez *Capsicum*, *Asparagus*, *Petunia*.

TOMPSON (1956), sur choux moellier, a utilisé, comme marqueur, la première feuille non poilue, récessive par rapport à la première feuille poilue.

DE NETTANCOURT et STOCKES (1960) utilisèrent comme marqueur, sur tabac, le gène d'hypersensibilité au TMV (virus de la mosaïque du tabac) qui est porté par le parent mâle.

Ce sont néanmoins les gènes de coloration qui sont le plus fréquemment utilisés comme marqueurs génétiques pour le tri des haploïdes.

Chez le cacaoyer, il existe un caractère appelé « axil spot » qui se traduit par la présence, chez la plantule, dès l'âge de trois semaines, d'une tache violette à la base du pétiole, au point de jonction de celui-ci avec la tige.

Ce caractère, dont le déterminisme génétique a été étudié par HARLAND S. C. (1927), est régi par deux facteurs complémentaires A et B ; corrélatif de la coloration rouge des cabosses, il affecte également la coloration du calice.

Le croisement d'un géniteur femelle, en l'occurrence un Haut-amazonien récessif pour les facteurs de production du caractère « axil spot » avec un géniteur mâle homozygote pour les allèles dominants de ce caractère, détermine, chez toutes les plantules hybrides de ce croisement, la présence de la tache colorée à la base du pétiole.

Les plantules à base pétiolaire incolore, de phénotype maternel, pourront être considérées comme issues du développement parthénogénétique de cellules maternelles, probablement réduites.

## FÉCONDATION DIFFÉRÉE ET INDUCTION DE L'HAPLOÏDIE

La pollinisation différée a pu, dans quelques cas, augmenter la fréquence de l'apparition spontanée des haploïdes, dont le tri est grandement facilité par la présence d'un marqueur génétique.

KIHARA (1940) fut probablement le premier à utiliser la pollinisation différée comme technique d'induction de l'haploïdie, opérant sur *Triticum monococcum* ; il constata l'existence d'une corréla-

tion entre la fréquence de l'haploïdie et le délai de pollinisation ; les meilleurs résultats ayant été obtenus avec des pollinisations effectuées neuf jours après la castration des fleurs.

SMITH (1946) confirma les résultats de KIHARA et fit passer le taux de monoploïdie de *Triticum monococcum* de 0,1 % à 20 % par pollinisation différée jusqu'à douze jours après émasculature.

SEANEY (1955) chez *Zea mays* parvint également à augmenter la fréquence des monoploïdes dans des proportions de un à huit par pollinisations faites entre quatre et vingt jours après l'émission de soies.

Des tentatives d'induction d'haploïdes par pollinisation différée ont été faites, mais sans succès, chez plusieurs autres végétaux. Il semble que cette technique donne des résultats positifs surtout chez les graminées dont la durée de réceptivité du style peut être très prolongée.

Chez le cacaoyer, la durée de réceptivité du style est courte et dépasse rarement quarante-huit heures. A priori, l'emploi de la pollinisation différée, comme technique d'induction de l'haploïdie chez ce végétal, apparaît comme limité et peu prometteur. Des tentatives d'induction d'haploïdie par pollinisation différée ont néanmoins été faites au cours de la campagne 1972-73.

Des fleurs de Haut-amazoniens dépourvues de facteur de coloration d'anthocyane ont été isolées suivant la technique classique, puis fécondées avec un pollen prélevé sur le clone C 305 homozygote pour le caractère « axil spot ». Les pollinisations ont été faites soit sur boutons floraux, vingt-quatre heures avant épanouissement, soit sur fleurs, vingt-quatre heures après épanouissement.

Les graines provenant de ces fécondations ont été semées et les plantules obtenues ont été examinées un mois après semis. Les plantules présentant le caractère « axil spot » ont été éliminées, tandis que celles qui montraient le phénotype maternel ont été conservées et soumises à un contrôle cytologique.

Le comptage des chromosomes a été effectué sur jeunes feuilles, suivant une technique déjà énoncée ailleurs (DUBLIN, 1972).

Pour les pollinisations effectuées vingt-quatre heures après l'épanouissement, sur un total de 1.228 plantules examinées, 1.223 porteuses du caractère « axil spot » ont été éliminées. Les cinq autres plantules de phénotype maternel, soumises à un contrôle cytologique, devaient révéler la présence, parmi elles, d'une plantule haploïde avec  $n = 10$ .

Aucun cas d'haploïdie n'a été découvert parmi les plantules issues de pollinisations faites sur bouton floral vingt-quatre heures avant l'épanouissement ; le taux de nouaison a été en outre très faible, 1,2 % contre 8,5 % pour les pollinisations effectuées vingt-quatre heures après épanouissement.

Comparativement aux plantules haploïdes de cacaoyer isolées antérieurement soit à partir de

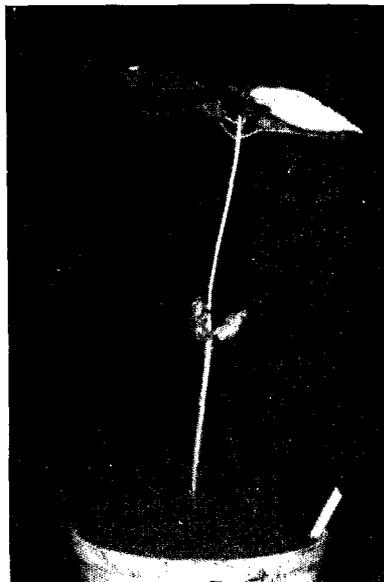


Fig. 1. — *T. Cacao*. Plantule haploïde ( $n = 10$ ) de vingt jours, issue de UPA 13  $\times$  C 305

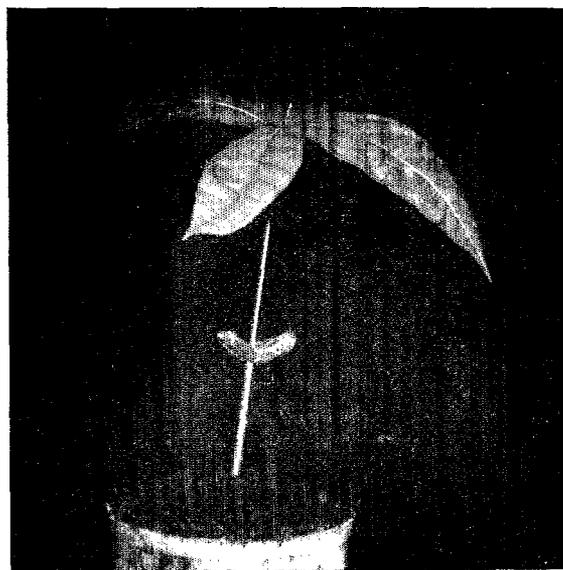


Fig. 2. — *T. Cacao*. Plantule diploïde ( $2n = 20$ ) âgée de trois semaines

polyembryons, soit à partir de fèves plates, la plantule trouvée ici avait un développement beaucoup plus important, toutes autres conditions étant par ailleurs égales.

Cette croissance plus rapide, pendant les premiers stades de développement en particulier, est due uniquement aux réserves cotylédonaire, beaucoup

plus importantes chez cet embryon développé sans concurrence, que chez les embryons issus de graines polyembryonnées ou de fèves plates (Fig. 1 et 2).

Les autres caractéristiques : dimensions des

feuilles, caractères somatiques, rythme des poussées foliaires, etc... sont celles déjà décrites chez les autres haploïdes isolés antérieurement (DUBLIN, 1972 et 1973).

## CONCLUSION ET DISCUSSION

L'emploi du caractère « axil spot » comme marqueur génétique a permis de repérer un cas d'haploïdie consécutive à des pollinisations différées pratiquées sur cacaoyer.

Ce résultat isolé ne saurait être pris en considération pour témoigner de l'efficacité de la pollinisation différée comme technique d'induction de l'haploïdie chez le cacaoyer, d'autant que la durée de réceptivité du style est très courte, ne dépassant que très rarement quarante-huit heures.

Ce cas d'haploïdie, dont le repérage a été rendu possible par l'emploi d'un pollen porteur d'un marqueur génétique, provient vraisemblablement d'un développement parthénogénétique spontané qui, dans toutes autres conditions, serait passé inaperçu.

Le caractère « axil spot » constitue donc un marqueur réellement efficace pour les recherches de l'haploïdie induite ou spontanée chez le cacaoyer.

L'emploi de ce marqueur permettra d'évaluer, chez le cacaoyer, l'efficacité des méthodes d'induction de l'haploïdie par pollinisation avec un pollen traité chimiquement, qui ont donné des résultats très satisfaisants sur Solanacées (MONTEZUMA DE CARVALHO, 1967, POCHARD, 1971, DUMAS DE VAULX, 1972).

L'utilisation de ce marqueur devrait permettre également de déterminer le taux de l'haploïdie spontanée ainsi que le degré de variabilité de l'aptitude génétique du cacaoyer à l'haploïdie.

Son usage devrait faciliter aussi les recherches d'haploïdes appartenant à un génotype Haut-amazonien donné, renforçant d'autant son intérêt, puisque les Haut-amazoniens constituent le relai obligatoire de tout programme d'amélioration du cacaoyer.

## BIBLIOGRAPHIE

- AL-YASIRI (S.), ROGERS (O.), 1971. — Attempting chemical induction of haploidy using toluidine blue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 96, 1, p. 126-127.
- BLANCHET (J. Y.), 1966. — Haploïdie et sélection des plantes. Conférence A. S. F., 49 p.
- BRAUDEAU (J.), 1969. — Le cacaoyer. Maisonneuve et Larose (Paris), 304 p.
- CAMPOS (F. F.), MORGAN (D. T.), 1958. — An androgenetic haploid of *Capsicum frutescens* L. *J. Hered.* 49, p. 135-137.
- CAMPOS (F. F.), MORGAN (D. T.), 1960. — Genetic control of haploidy in *Capsicum frutescens* L. following crosses with untreated and X-rayed pollen. *Cytologia* 25, p. 362-372.
- CHASE (S. S.), 1969. — Monoploids and monoploid-derivatives of maize (*Zea mays* L.). *The Botanical Review*, 35, p. 117-167.
- CHASE (S. S.), 1963. — Androgenesis — its use for transfer of maize cytoplasm. *J. Hered.* 54, p. 152-158.
- CHASE (S. S.), 1947. — Techniques for isolating monoploid maize plants. *Amer. J. Bot.* 34, p. 582.
- CHASE (S. S.), NANDA (D. K.), 1965. — Screening for monoploids by use of purple embryo marker. *Maize Genetics Cooperation News Letter*, 39, p. 59-60.
- CHEESMAN (E. E.), 1927. — Fertilization and embryogeny in *Theobroma cacao*. *An. of Bot.* XLIM-CLXI, p. 107-126.
- COE (E. H.), SARKAR (K. R.), 1964. — The detection of haploids in maize. *J. Hered.*, 55, 5, p. 231-233.
- COPE (F. W.), 1962. — The mechanism of pollen incompatibility in *Theobroma cacao* Linn. *Heredity*, 17, p. 157-182.
- DUBLIN (P.), 1972. — Polyembryonie et haploïdie chez *Theobroma cacao*. *Café Cacao Thé* (Paris), vol. 16, n° 4, p. 295-311.
- DUBLIN (P.), 1973. — Haploïdie chez *Theobroma cacao*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, 276, 29, p. 757-759.
- DUBLIN (P.), 1973. — Les « fèves plates » : une nouvelle source d'haploïdie chez le cacaoyer (*Theobroma cacao*). *Café Cacao Thé* (Paris), vol. 17, n° 1, p. 25-36.
- DULIEU (H.), 1964. — Détection des plants haploïdes parmi la descendance du croisement entre *Nicotiana tabacum* et *M. sanderae* Hort. après irradiation du pollen. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 259, 11, p. 4126-29.
- DUMAS DE VAULX (R.), 1971. — Obtention de plantes haploïdes par des méthodes ne mettant pas en jeu des cultures *in vitro*. INRA, Séminaire « Jeunes Chercheurs », Avignon, 5-7 oct.
- DVORYADKINA (A. G.), ZAMOTAILOV (S. S.), 1970. — Haploidy in the castor oil plant. *Tr. KUBAN. S. K. H. in-ta*, 27, p. 90-94.
- GLENDINNING (D. R.), 1960. — Selfing of self incompatible cocoa. *Nature*, 9 juil., vol. 187, p. 170.
- GRISHINA (E. V.), ZAITSEVA (M. I.), 1968. — Obtaining maize haploids by treatment with chemical mutagens and physiologically active substances. *Apomiksis i Tsitoembryologiya rast Saratov. URSS*, 65-68.

- HARLAND (S. C.), FRECHVILLE (G. E.), 1927. — Natural crossing and genetics of axil spot in cacao. *Genetica*, p. 278-288.
- KIHARA (H.), 1940. — Formation d'haploïdes au moyen de la pollinisation retardée chez *Triticum monococcum*. *Bot. mag.*, Tokyo, **54**, p. 178-185.
- KIHARA (H.), 1940. — Delayed pollination in *T. monococcum*. *Bot. mag.*, Tokyo, **54**, n° 641, 20 mai, p. 123 et 185.
- KIMBER (G.), RILEY (R.), 1963. — Haploid angiosperms. *Bot. Review*, oct.-déc., p. 480-531.
- KIRILLOVA (G.), 1966. — The phenomenon of haploidy in angiosperms. *Genetika*, **2**, n° 2, p. 137-147.
- KNIGHT (R.), ROGERS (H. H.), 1953. — Sterility in *Theobroma cacao* L. *Nature*, **172**, p. 164.
- KNIGHT (R.), ROGERS (H. H.), 1955. — Incompatibility in *Theobroma cacao*. *Heredity*, **9**, p. 69-77.
- MAGOON (M. L.), KHANNA (K. R.), 1963. — Haploids. *Caryologia*, **16**, n° 1, p. 191-235.
- MAIZONNIER (D.), 1968. — Utilisation du froid comme agent préfixateur pour les comptages chromosomiques sur apex radiculaires de trèfle violet autotétraploïdes. *Ann. Amélior. Plantes*, **189**, 1, p. 81-84.
- MAIZONNIER (D.), 1971. — Utilisation de plantes haploïdes pour l'analyse du caryogramme de *Petunia hybrida* Hort. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 3, p. 257-264.
- NANDA (D. K.), CHASE (S. S.), 1966. — An embryo marker for detecting monoploids of maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, **6**, p. 213-215.
- MONTELONGO ESCOBEDO (H.), ROWE (P. R.), 1969. — Haploid induction in potato : cytological basis for the pollinator effect. *Euphytica*, **1**, 18, p. 116-123.
- MONTEZUMA-DE-CARVALHO (J. M.), 1967. — The effect of N<sub>2</sub>O on pollen tube mitosis in styles and its potential significance for inducing haploidy in potato. *Euphytica*, **16**, 2, p. 190-198.
- NETTANCOURT (DE D.), STOCKES (G. W.), 1960. — Haploidy in tobacco. *J. Hered.*, **57**, p. 102.
- OPEKE (L. K.), JACOB (V. J.), 1968. — Studies on methods of overcoming self-incompatibility in *Theobroma cacao* Linn. *Cacao* (Turrialba), **13**, n° 4, p. 17-19.
- PELOQUIN (S. J.), HOUGAS (R. W.), 1959. — Decapitation and genetic markers as related to haploidy in *Solanum tuberosum*. *Am. Potato J.*, **2**, p. 176-183.
- POCHARD (E.), 1971. — Haploïdie en amélioration des plantes. INRA, Séminaire « Jeunes Chercheurs », Avignon, 5-7 oct.
- RIEMAN (C. H.), COOPER (D. C.), TSENG (P. M.), 1959. — Appearance and detection of haploid plants (2n = 24) in seedling populations of *Solanum tuberosum*. *Amer. Potato J.*, **36**, p. 302-303.
- SARKAR (K. R.), SACHAN (J. K. S.), MATHUR (D. S.), 1972. — Detection of androgenetic monoploids in maize. *Curr. Sci.*, India, **41**, 5, p. 190-192.
- THÉVENIN (L.), 1968. — Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. (1). II. Haploïdie et amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **18**, n° 4, p. 327-365.
- TOMPSON (K. F.), 1956. — Production of haploid plants of Marrowstem kale. *Nature*, **178**, p. 748.
- VELLO (F.), NASCIMENTO (I. F.), 1971. — Influencia da origem do polen na produção do cacauero. *Revista Theobroma* (Itabuna, Brasil), **1**, n° 1, p. 7-14.
- ZAMORA (P. M.), ORLIDO (N. M.), CAPINPIN (J. M.), 1960. — Ontogenetic and embryological studies in *Theobroma cacao* Linn. *The Philippine agriculturist*, n° 10, p. 613-636.

DUBLIN (P.). — **Note sur l'utilisation d'un marqueur génétique dans les recherches d'haploïdes chez le cacaoier (*Theobroma cacao* L.).** *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 3, juil.-sept. 1973, p. 205-210, fig., réf.

Les méthodes d'induction de l'haploïdie telles que la pollinisation différée nécessitent la présence de marqueurs génétiques de manifestation précoce et d'observation facile. Le caractère appelé « axil spot » (tache violette à la jonction du pétiole et de la tige) chez le cacaoier répond à ces critères.

Ce marqueur génétique a donc été utilisé dans la recherche d'haploïdes par pollinisation différée chez *Theobroma cacao* : des fleurs femelles d'un Haut-amazonien, récessives pour les facteurs de production du caractère « axil spot », ont été fécondées avec un pollen du clone C 305 homozygote pour les allèles dominants de ce caractère ; toutes les plantules hybrides de ce croisement présentent la tache colorée à la base du pétiole ; les plantules à base pétiolaire incolore, phénotype maternel, peuvent être considérées comme issues du développement parthénogénétique de cellules maternelles.

Les pollinisations ont été faites soit sur boutons floraux, vingt-quatre heures avant épanouissement, soit sur fleurs, vingt-quatre heures après épanouissement ; les graines issues

DUBLIN (P.). — **Note on the use of a genetic marker in the search for haploids in the cacao tree (*Theobroma cacao* L.).** *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 3, juil.-sept. 1973, p. 205-210, fig., réf.

The methods of inducing haploidy such as postponed pollinization require the presence of genetic markers with early manifestations and which are easily observable. The characteristic known as « axil spot » (purple spot at the junction of the petiole and stem) in the cacao tree satisfies these criteria.

This genetic marker was therefore used to search for haploids through postponed pollinization in *Theobroma cacao* : female flowers of an Upper Amazon, recessive for the factors producing the « axil spot » characteristic, were fertilized with a pollen of clone C 305 homozygote for dominant alleles of this characteristic ; all the hybrid plantlets originating from this crossing showed the colored spot at the base of the petiole ; the plantlets with a colorless petiole base of maternal phenotype, may be considered as originating from the parthenogenetic development of maternal cells.

The pollinizations were carried out, either on flower buds, twenty-four hours before blooming, or on flowers twenty-four hours after blooming ; the seeds originating from

des croisements sont plantées et seules les jeunes feuilles des plantules montrant le phénotype maternel sont soumises à une étude cytologique.

Un seul cas d'haploïdie ( $n = 10$ ) a été relevé parmi les cinq plantules de phénotype maternel issues des pollinisations effectuées vingt-quatre heures après épanouissement.

Aucun cas d'haploïdie n'a été découvert parmi les plantules issues des pollinisations faites sur bouton floral.

Le caractère « axil spot » constitue donc un marqueur génétique efficace pour les recherches d'haploïdie induite ou spontanée chez le cacaoyer.

DUBLIN (P.). — Bericht über die Verwendung eines genetischen Markierungszeichens beim Kakaobaum (*Theobroma cacao* L.). *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 3, juil.-sept. 1973, p. 205-210, fig., réf.

Die Folgerungsmethoden der Haploidie wie z. B. die verzögerte Bestäubung erfordern die Anwesenheit von genetischen, frühzeitig in Erscheinung tretenden und leicht wahrnehmbaren Markierungszeichen. Der sogenannte « axil spot » (ein violetter Fleck an der Verbindung des Blattstiels mit dem Stiel beim Kakaobaum) entspricht diesen Kriterien.

Dieses genetische Markierungszeichen wurde folglich bei der Forschung nach Haploiden durch verzögerte Bestäubung bei *Theobroma cacao* verwendet : weibliche Blüten eines Ober Amazoniers, rezessiv für die Erzeugungsfaktoren des Merkmals « axil spot » wurden mit dem Blütenstaub des Klons C 305 homozygot für die vorherrschenden Allele dieses Merkmals befruchtet ; alle hybriden Keimlinge dieser Kreuzung weisen diesen Farbfleck am Ausgang des Blattstiels auf ; die Keimlinge mit farblosem Blattstielausgang, ein mütterlicher Erscheinungstyp, können als aus der parthenogenetischen Entwicklung von Mutterzellen hervorgegangen betrachtet werden.

Die Bestäubungen erfolgten entweder auf Blütenknospen, vier und zwanzig Stunden vor dem Aufspringen oder auf Blüten vier und zwanzig Stunden nach dem Aufspringen ; die aus den Kreuzungen hervorgegangenen Samen werden gepflanzt und nur die jungen Blätter der den mütterlichen Erscheinungstyp aufweisenden Keimlinge werden zytologisch geprüft.

Bei den fünf Keimlingen mütterlichen Erscheinungstyps die aus den vier und zwanzig Stunden vor Aufspringen durchgeführten Bestäubungen hervorgingen wurde nur ein einziger Fall von Haploidie ( $n = 10$ ) festgestellt.

Bei den Keimlingen die aus den an Blütenknospen vorgenommenen Bestäubungen hervorgingen wurde kein Fall von Haploidie festgestellt.

Das Merkmal « axil spot » stellt demnach ein wirksames genetisches Markierungszeichen für die Forschungen nach einer gefolgerten oder spontanen Haploidie beim Kakaobaum dar.

the crossings were planted and only those young leaves in plantlets showing the maternal phenotype were subjected to a cytological study.

Only one case of haploidy ( $n = 10$ ) was noted among the five plantlets of maternal phenotype originating from pollinizations carried out twenty-four hours after blooming.

No case of haploidy was noted among plantlets originating from pollinizations carried out on a floral bud.

The « axil spot » characteristic therefore constitutes an efficient genetic marker for searching for induced or spontaneous haploidy in the cacao tree.

DUBLIN (P.). — Nota sobre el uso de un marcador genético en la búsqueda de haploides en el cacao (*Theobroma cacao* L.). *Café Cacao Thé* (Paris), vol. XVII, n° 3, juil.-sept. 1973, p. 205-210, fig., réf.

Los métodos de inducción de la haploidía como la polinización diferida requieren la presencia de marcadores genéticos que se manifiesten tempranamente y se observen fácilmente. El carácter llamado « axil spot » (mancha morada allí donde se juntan el pecíolo y el tallo) en el cacao responde a dichos criterios.

Se usó pues este marcador genético para la búsqueda de haploides mediante la polinización diferida en *Theobroma cacao* : flores hembras de un alto amazónico recesivas para los factores de producción del carácter « axil spot » se fecundaron con un polen del clon C 305 homocigoto para los alelos dominantes de este carácter ; todas las plantitas híbridas de este cruzamiento tienen la mancha de color en la base del pecíolo ; las plantitas con base peciolar incolora, fenotipo materno, pueden considerarse como procedentes del desarrollo partenogénico de células maternas.

Se hicieron las polinizaciones sea sobre capullos, veinticuatro horas antes el abrirse de las flores, o sobre las flores veinticuatro horas después de abrirse ; se plantaron los granos procedentes de cruzamientos y sólo fueron sometidas a un examen citológico las jóvenes hojas de las plantitas que mostraban el fenotipo materno.

Un único caso de haploidía ( $n = 10$ ) se observó entre las cinco plantitas de fenotipo materno procedentes de polinizaciones hechas veinticuatro horas después de abrirse las flores.

Ningún caso de haploidía se descubrió entre las plantitas procedentes de polinizaciones hechas sobre un capullo.

El carácter « axil spot » representa pues un marcador genético eficaz para las investigaciones de haploidía inducida o espontánea en el cacao.