

Landbouwhogeschool-Wageningen
CENTRUM VOOR LANDBOUWKUNDIG ONDERZOEK IN SURINAME

ENIGE ONDERZOEKINGEN BETREFFENDE DE GESLACHTS-
OVERERFING BIJ DE PAPAJA, CARICA PAPAYA L.
(onderzoekprojecten nos. 69/2, 69/3, 69/6)

M.F. Vis

Verslag van een onderzoek verricht onder
leiding van Dr. Ir. G.A.M. van Marrewijk

augustus 1969

INHOUD

	Blz.
1. <u>Samenvatting</u>	5
2. <u>Voorwoord</u>	5
3. <u>Algemene inleiding</u>	5
3.1. Plantbeschrijving van <i>Carica papaya</i> L.	5
3.2. Oorsprong en voorkomen	6
3.3. Beschrijving der bloemtypen	6
3.4. Phylogenese van het bloemtype	11
3.5. Overerving van het geslachtsmechanisme	11
3.6. Variabiliteit van de geslachtsexpressie	12
4. <u>Onderzoek naar de overerving van het geslachtsme-</u> <u>chanisme bij <i>Carica papaya</i> L.</u>	14
4.1. Probleemstelling	14
4.2. Materiaal en methode	14
4.3. Verloop en resultaten	18
4.3.1. Waarnemingen aan het hermafrodiete materiaal	18
4.3.2. Uitvoering en resultaten van het be- stuivingsprogramma	19
5. <u>Vergelijking van de geschiktheid van verschillende</u> <u>inhulmaterialen bij papaya-kruisingen</u>	23
5.1. Probleemstelling	23
5.2. Materiaal en methoden	24
5.3. Verloop en resultaten	24
6. <u>Karyologisch onderzoek aan <i>Carica papaya</i> L.</u>	26
6.1. Probleemstelling	26
6.2. Materiaal en methoden	26
6.3. Verloop en resultaten	27
7. <u>Literatuur</u>	31

1. SAMENVATTING

Enige experimenten werden gedaan met betrekking tot de geslachtsovererving bij de papaja. Zelf- en kruisbestuivingen werden gemaakt bij een aantal planten met verschillende geslachtsexpressie (vrouwelijk, mannelijk of tweeslachtig). Bij de tweeslachtige planten werden drie subtypen onderscheiden op grond van de morfologie van de eraan voorkomende bloemen. In de F₁ zal worden nagegaan of deze subtypen genetisch verschillend zijn, dan wel door milieu-invloeden waren ontstaan. Van de uitgevoerde bestuivingen resulteerden in totaal ongeveer 45% in een vrucht. De slagingspercentages waren echter voor bepaalde bestuivingstypen veel hoger, voor andere aanzienlijk lager dan deze waarde.

Voor inhullingen van te bestuiven en reeds bestoven bloemknoppen werden zakjes van drie materialen (plastic, grofmazig nylon, en fijnmazig katoen) gebruikt. Duidelijke verschillen in slagingspercentage tussen deze materialen werden niet gevonden. Plastic leek nog iets minder te voldoen dan de beide andere materialen.

Het al dan niet voorkomen van een geslachtschromosoom werd nagegaan aan de hand van mitose- en meiose-preparaten. In de mitose bleken de chromosomen zo klein, dat ze met een maximale vergroting van 1520x moeilijk waren te onderscheiden. Bij de meiotische deling daarentegen waren de chromosomen veel groter. Het uiteenwijken der beide homologe groepen chromosomen verliep regelmatig, zodat uit dit onderzoek niet kan worden afgeleid dat er een geslachtschromosoom voorkomt bij papaja. Het aantal bestudeerde preparaten was echter zeer gering.

2. VOORWOORD

Het hier gepresenteerde verslag behandelt de eerste fase van het onderzoek naar de overerving van het geslacht en van enkele bloem- en vruchtkenmerken bij de papaja. Het veldwerk van dit onderzoek werd verricht in de vruchten-tuin Boma van de Stichting voor Experimentele Landbouwbedrijven. Het cytologisch gedeelte werd op het CELOS verricht. De uitvoering was in handen van mej. M.F. Vis, studente in de plantenveredeling aan de Landbouwhogeschool te Wageningen. De leiding van het onderzoek berustte bij Dr. Ir. G.A.M. van Marrewijk.

3. ALGEMENE INLEIDING

3.1. PLANTBESCHRIJVING VAN CARICA PAPAYA L.

Carica papaya L. behoort tot de orde der Passiflorales, familie Caricaceae. De plant is kruidachtig en heeft een nauwelijks vertakte, sponsachtige holle stam. Vanwege haar

grote hoogte spreekt men echter vaak van bomen. De grote handvormige bladeren vallen vroegtijdig af en worden alleen boven aan de stam nog aangetroffen.

Van de papaja komen drie typen planten voor, volledig mannelijke, volledig vrouwelijke en tweeslachtige. De bloemgestellen staan in de bladoksels. De mannelijke bomen bezitten lange, hangende bloemgestellen met vele bloemen. De bloemgestellen van vrouwelijke en hermafrodiete planten daarentegen zijn kort en bevatten veel minder bloemen. De bloemen van hermafrodiete bomen worden in tegenstelling tot die van mannelijke en vrouwelijke bomen, gekenmerkt door een grote veelvormigheid en variabiliteit.

De gemiddelde levensduur van de plant is zes jaar. Na een half jaar kan ze reeds vrucht dragen. De vrucht is een vlezig bes; de vorm varieert van bijna rond tot langwerpig. Het vruchtvlees is oranje of rozerood van kleur en bevat de vitaminen A, B, C en G. De rijpe vrucht kan rauw worden gegeten; van halfrijpe vruchten wordt het witte vruchtvlees wel in suiker opgekookt. De Chinezen confijten het bijna rijpe vruchtvlees, terwijl de bloemen van de mannelijke papaja door hen worden gebruikt bij het bereiden van atjar.

Kenmerkend voor de familie der Caricaceae is het voorkomen van melksap in bladeren, stam en onrijpe vruchten. Uit het melksap van onrijpe vruchten wordt (voornamelijk op Ceylon) papaine gewonnen voor verwerking in kauwgum en in bepaalde medicijnen. Ook wordt het melksap wel gebruikt om taai vlees mals te maken, en staat het bekend als een der krachtigste wormdrijvende middelen.

3.2. OORSPRONG EN VOORKOMEN

De papaja is vermoedelijk oorspronkelijk afkomstig uit Mexico. In het begin van de 16e eeuw werd de plant voor het eerst aangetroffen in tropisch Amerika en vandaar naar tropisch Azië overgebracht. Tegenwoordig komt de papaja in bijna alle tropische en subtropische landen voor.

Het geslacht *Carica* bevat ongeveer 50 soorten. Enkele hiervan zijn sterk met de papaja verwant o.a. *C. erythrocarpa*, *C. candamarcensis*, de dwergpapaja van Colombia en Ecuador, met + 8 cm grote, gele, vijfhoekige vruchten, *C. quercifolia*, een 1½ m hoge plant met bladeren gelijkend op die van een eik en 4-6 cm lange, in trossen bijeenhangende vruchten en *C. gracilis*, een kleine sierplant uit Brazilië.

3.3. BESCHRIJVING DER BLOEMTYPEN

a. De mannelijke bloem

Kroonbladeren voor 1/2 tot 3/4 buisvormig vergroeid; meeldraden 10, in twee kransen van 5, aan de bovenzijde der kroonbuis ingeplant (een krans met korte en een met lange filamenten); vruchtbeginsel rudimentair, draadvormig, stempels ontbrekend.

b. De vrouwelijke bloem

Kroonbladeren alleen aan de basis vergroeid; meeldraden of meeldraadaanlegssels ontbrekend; vruchtbeginsel groot, eenhokkig, rond tot ovaal (♀ bloemen daardoor veel groter in doorsnede dan ♂), bestaand uit vijf onderling vergroeide carpellen met sterk gelobde stempels.

c. De hermafrodiete bloem

Deze bloemen komen in vele vormen voor. STOREY (1958) beschreef wel 28 verschillende typen. Deze konden worden teruggebracht tot 5 hoofdtypen:

II-. Carpelloid pentandria

Kroonbladeren alleen aan basis vergroeid; meeldraden 5 of minder, enkele of alle carpelloid, in het laatste geval nagenoeg identiek aan de vrouwelijke bloem;

II. Pentandria

Kroonbladeren alleen aan basis vergroeid; meeldraden 5, met lange filamenten ingeplant aan de basis van de vergroeide kroonbladeren; vruchtbeginsel goed ontwikkeld, licht tot sterk gegroefd.

III. Carpelloid elongata

Kroonbladeren weinig vergroeid; meeldraden 6-9; vruchtbeginsel goed ontwikkeld, sterk gegroefd.

IV. Elongata

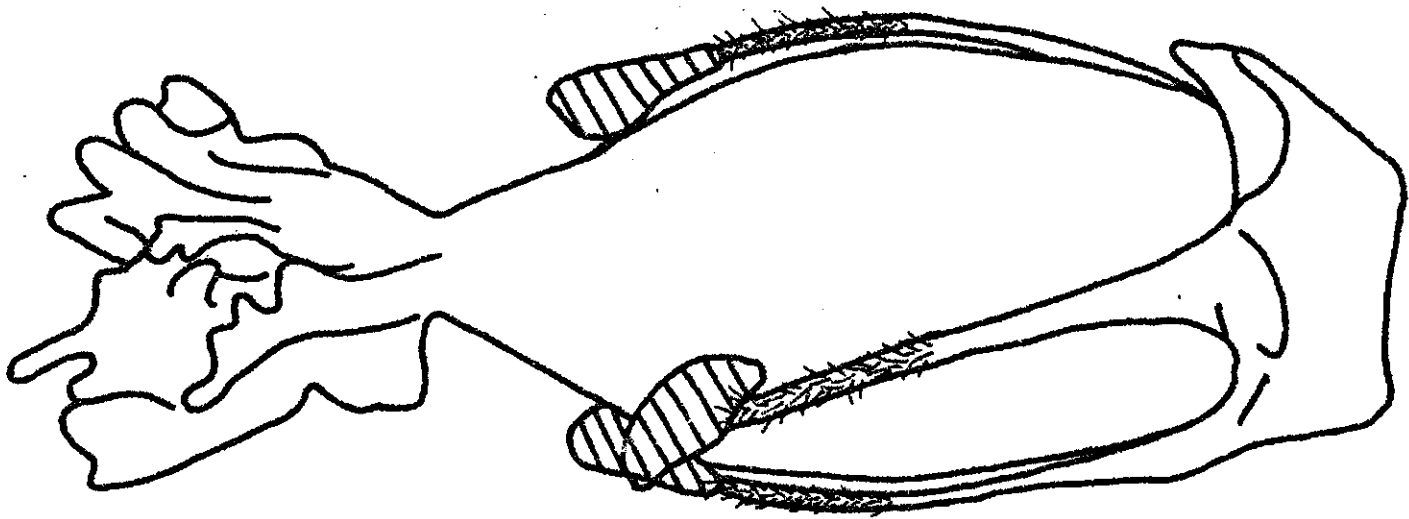
Kroonbuis $1/4$ tot $1/2$ der kroonbladeren; meeldraden 10, in twee kransen ingeplant op de kroonbuis, zoals bij de mannelijke bloem; vruchtbeginsel matig ontwikkeld, groeit uit tot lange cilindrische vrucht.

IV+. Reduced elongata

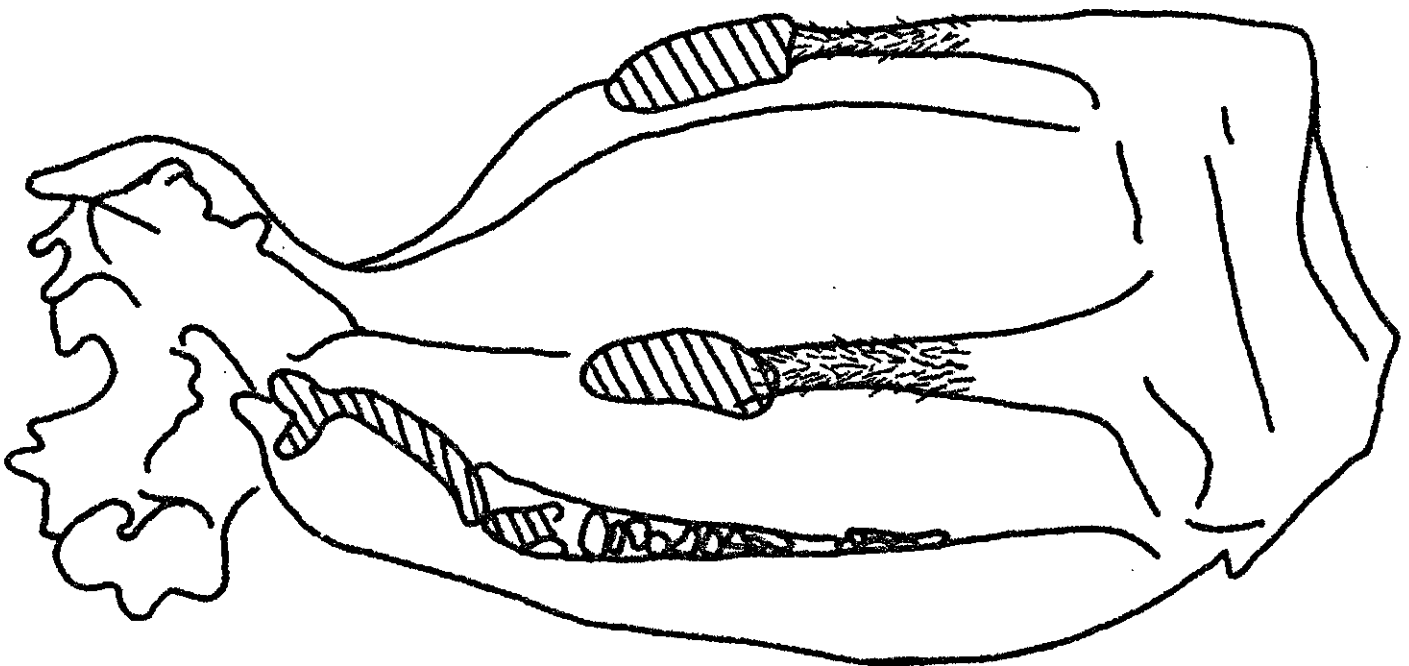
Kroonbuis $1/4$ tot $3/4$ der kroonbladeren; meeldraden 10, als bij mannelijke bloemen; vruchtbeginsel rudimentair, draadvormig, stempels ontbrekend. Verschilt alleen van mannelijke bloemen door de kortere en dikkere kroonbuis.

De typen I en V zijn resp. zuiver vrouwelijk en zuiver mannelijk. De verschillende bloemtypen zijn afgebeeld in de bijgaande tekeningen, gemaakt aan de hand van in Suriname verzameld materiaal. Van de bovengenoemde hermafrodiete bloemtypen komen pentandria en elongata het meest voor.

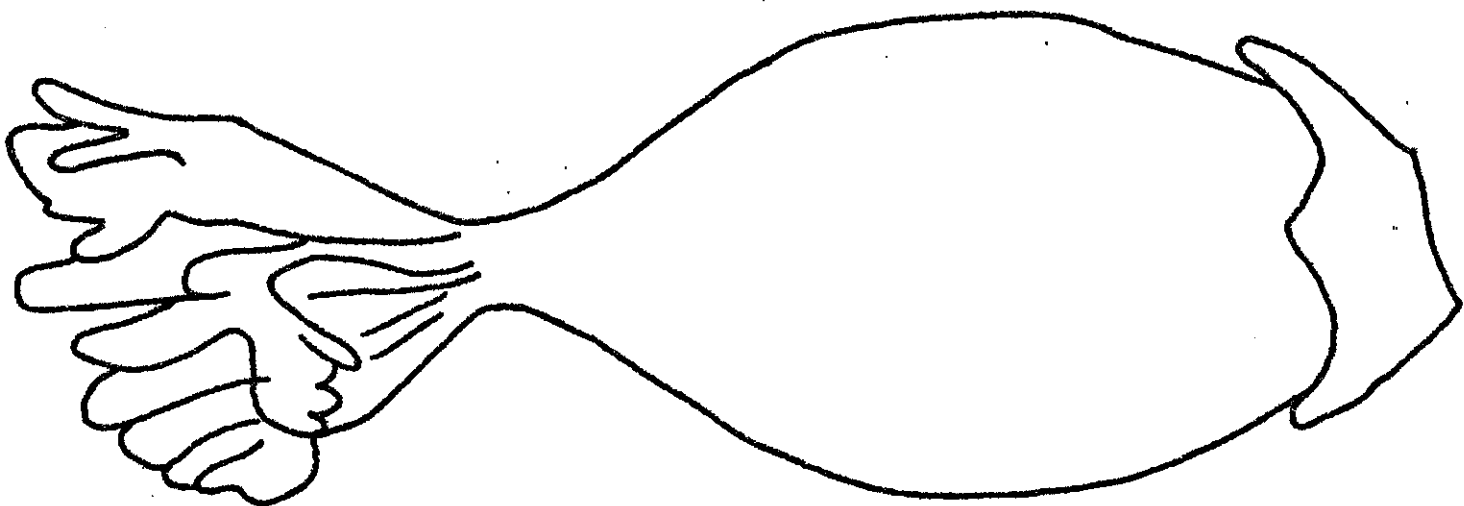
AGNEW (1968) onderscheidde eveneens een pentandria en een elongata bloemtype. Verder onderscheidde hij een "intermediaire groep" van vervormde bloemen, waarbij meeldraden en stampers in verschillende aantalscombinaties zijn verenigd en waarvan de vruchten onregelmatig zijn en een groep met onvolkomen bloemen, welke alleen pollen vormen (= reduced elongata type).



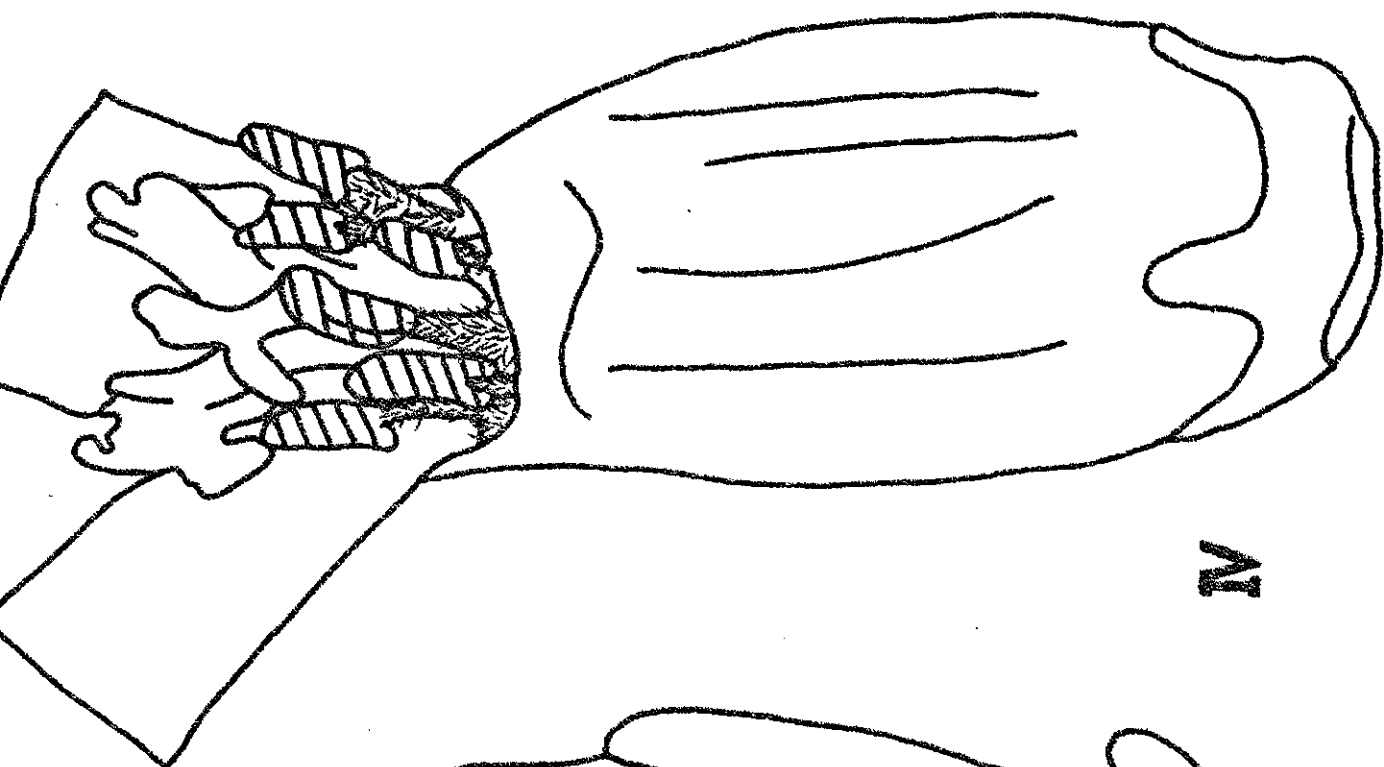
II



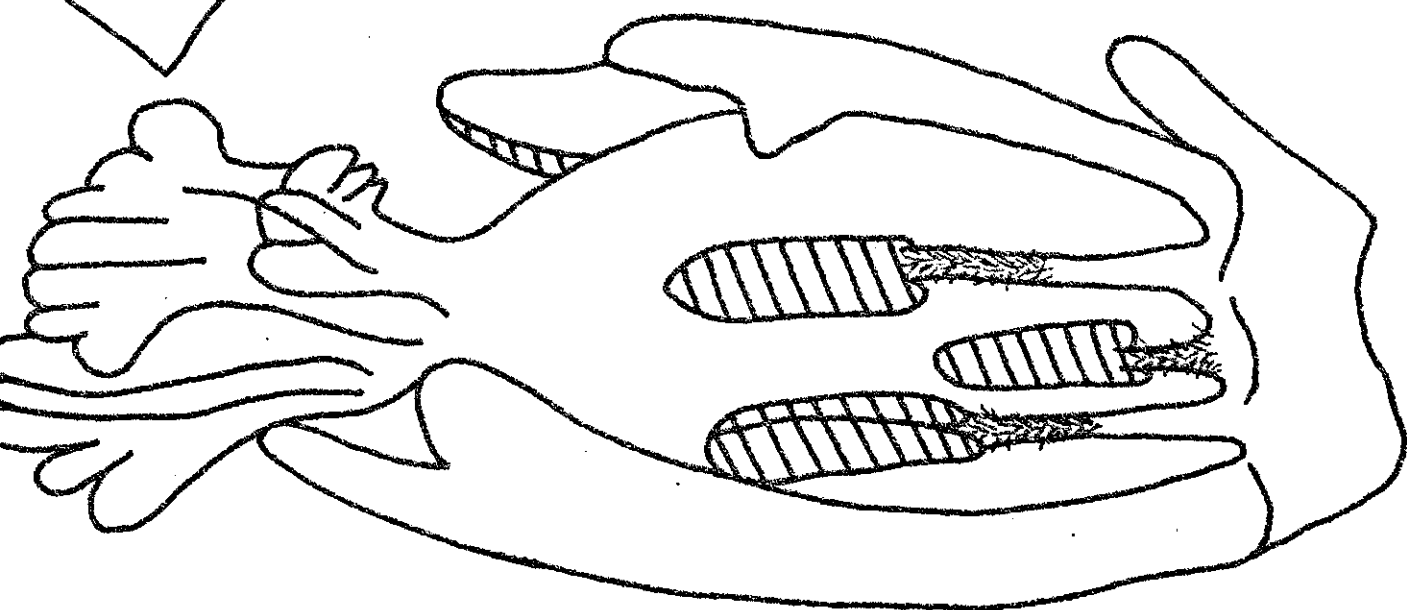
II-



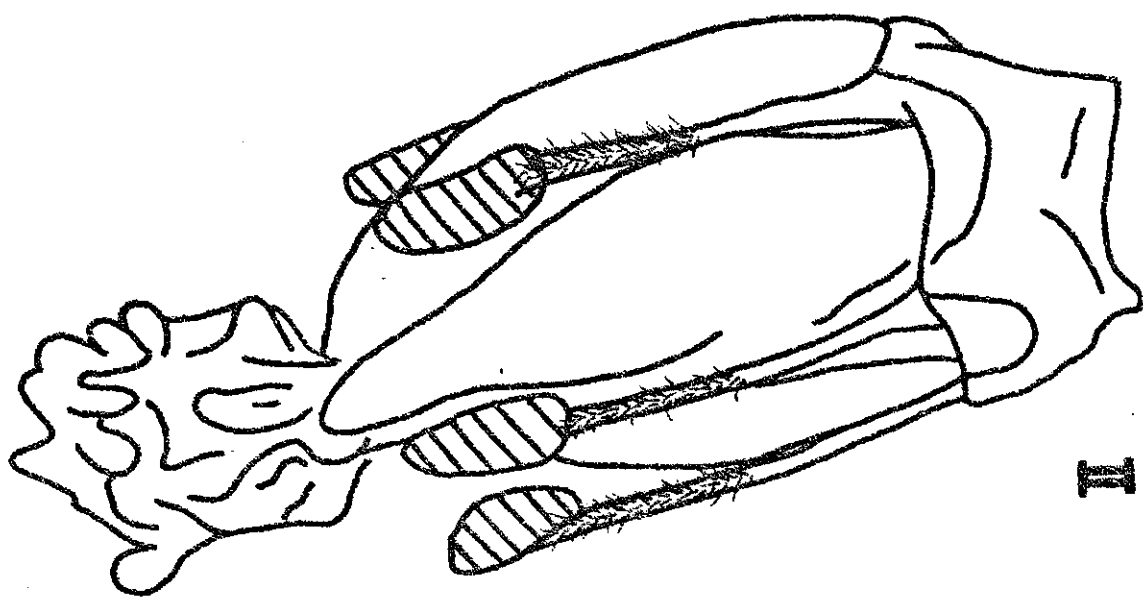
I



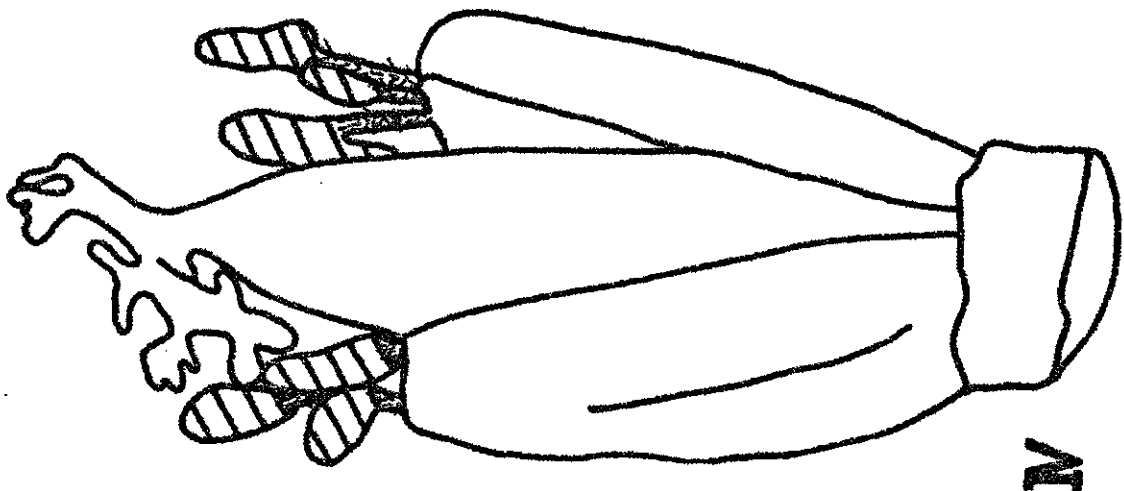
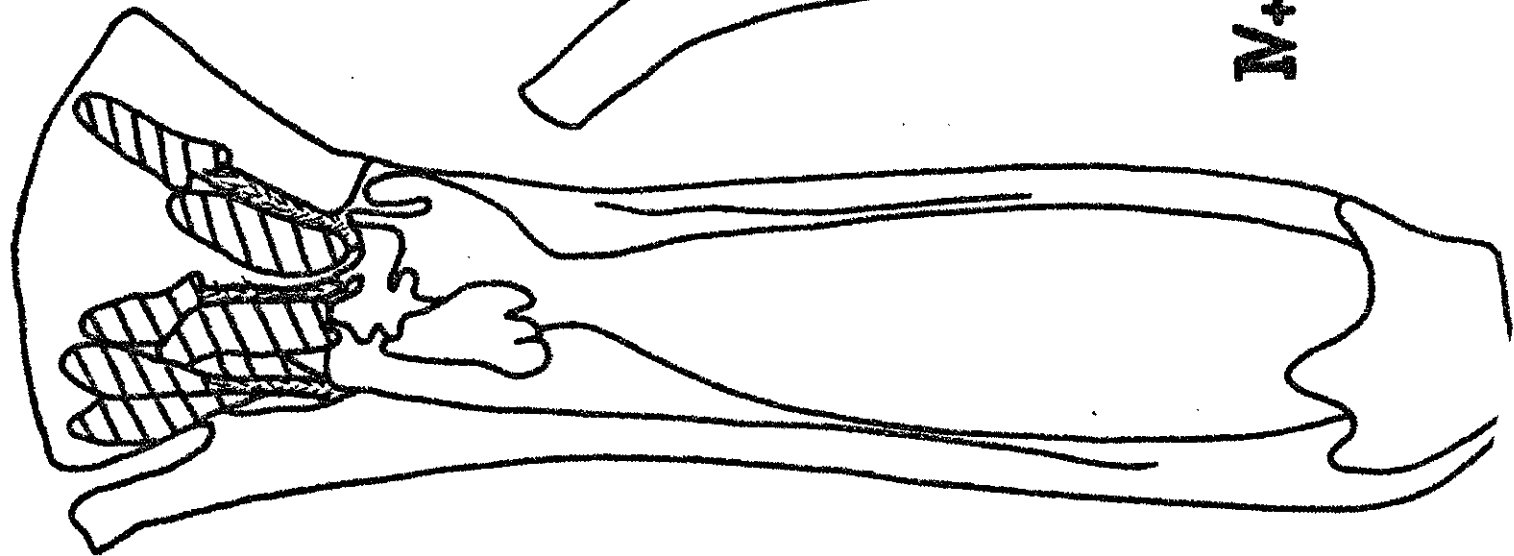
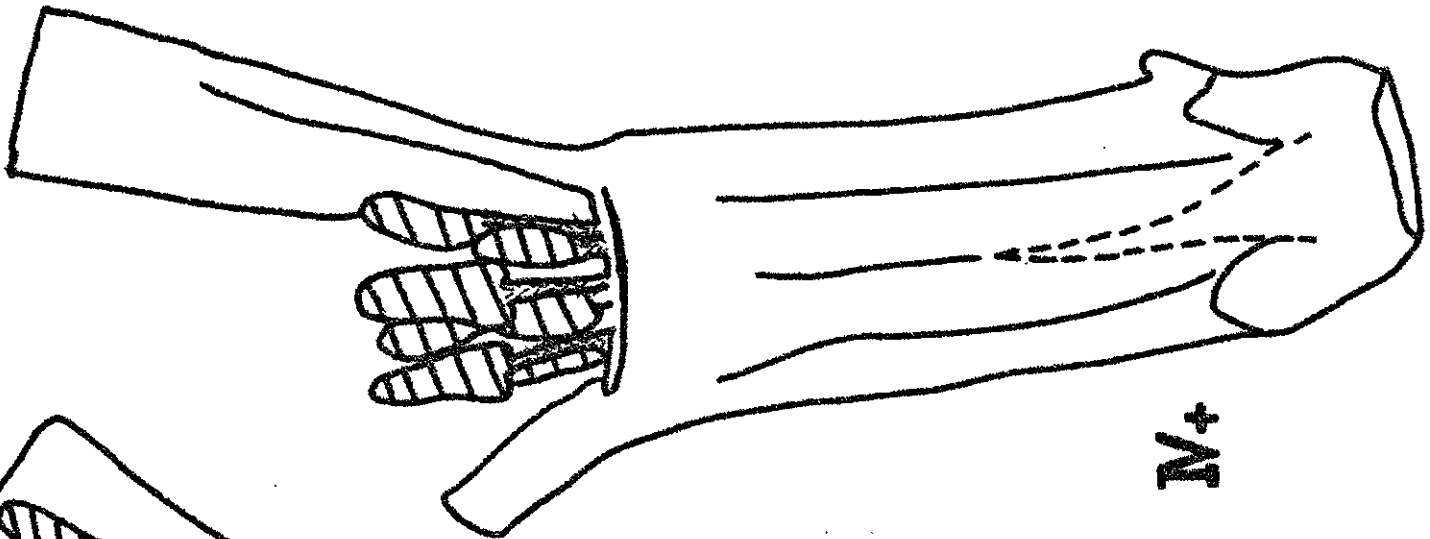
IV



III



II



3.4. PHYLOGENESE VAN HET BLOEMTYPE

Er is geen eenheid van opvatting over de vraag of de tweehuizige papaja is ontstaan uit een eenhuizige voorouder of omgekeerd. STOREY (1969) meende, dat de plant oorspronkelijk tweeslachtig was. Binnen de soort zouden twee phylogenetische ontwikkelingslijnen gedivergeerd zijn, elk eindigend in het ontstaan van een eenslachtige vorm. De mannelijke bloem zou het eindprodukt zijn van de ene, de vrouwelijke van de andere ontwikkelingslijn. De hypothetische voorouder van deze vormen zou overeenkomen met het elongata type. Afleiding tot mannelijke bloem zou verlopen zijn via verlies van het gynoecium, zonder merkbare verstoring in structuur en rangschikking der andere bloemorganen; afleiding tot vrouwelijke bloem via het carpelloid worden der meeldraden, gevolgd door samensmelting daarvan met het vruchtbeginsel.

Een aanwijzing voor zijn hypothese meende STOREY gevonden te hebben in de regelmatig optredende overgangsbloemtypen tussen elongata en vrouwelijk. Deze kunnen op een hermafrodiete boom in de loop van het jaar regelmatig worden aangetroffen.

HOROVITZ (1955) was echter van mening dat de hermafrodiete eenhuizige vorm bij papaja is voortgekomen uit de tweehuizige vorm. Van de ongeveer vijftig bestaande Carica soorten zijn er namelijk slechts twee eenhuizig, en met uitzondering van de cultuurpapaja kent geen enkele soort hermafrodiete vormen. HOFMEYR (1945) huldigde eveneens de opvatting dat de papaja oorspronkelijk tweehuizig is geweest.

3.5. OVERERFING VAN HET GESLACHTSMECHANISME

De overerving van het geslacht is door de meeste onderzoekers verklaard uit de werking van één enkel gen met drie allelen of een complex van nauw gekoppelde factoren. Volgens HOFMEYR (1938) is het allel M_1 , bepalend voor mannelijkheid, m voor vrouwelijkheid, M_2 voor tweeslachtigheid. M_1 , M_2 en m liggen op één locus, waarbij M_1 en M_2 dominant zijn over m . De mannelijke en hermafrodiete planten werden heterogametisch verondersteld, respectievelijk M_1m en M_2m , en de vrouwelijke homogametisch, mm . De combinaties M_1M_1 , M_1M_2 , en M_2M_2 zouden letaal zijn.

STOREY (1953) daarentegen meende dat het geslacht wordt bepaald door een complex van sterk gekoppelde genen. De opvatting van STOREY kan als volgt worden weergegeven:

$$\text{♀} = \frac{m}{m} : \frac{+ + + sa +}{+ + + sa +}$$

$$\text{♂} = \frac{M_1}{m} : \frac{M_2 \text{ I C } + sg}{+ + + sa +}$$

$$\text{♀} = \frac{M_2}{m} : \frac{+ \text{ I C } + sg}{+ + + sa +}$$

Mg = lange bloemsteel;
I = letaliteitsfactor;
sa = suppressor gen voor mannelijk (recessief);
sg = suppressor gen voor vrouwelijk (recessief);
C = hypothetische factor, welke overkruising verhindert.

De aanwezigheid van factor C werd afgeleid uit het ontbreken van een vrouwelijke bloeiwijze met lange bloemsteel. De letaliteitsfactor I verhoogt de mate van heterozygotie bij mannelijke en hermafrodiete planten.

HOROVITZ (1955) duidde de geslachtsbepalende factoren als volgt aan: f is bepalend voor vrouwelijkheid, F voor mannelijkheid en F^h voor tweeslachtigheid. F^h werd hierbij beschouwd als een duplicatie van F plus f. Van de factor f zou eveneens een duplicatie voorkomen, weergegeven als f'. De geslachtsbepaling zou nu afhangen van het evenwicht tussen de elementaire genen F en f. Vrouwelijke planten zijn ff of ff'; hermafrodiete planten zijn F^hf of F^hf', en mannelijke planten zijn Ff of Ff'.

Volledig geslachtsgekoppelde eigenschappen werden door HOROVITZ niet gevonden. Een aantal eigenschappen vertoonde wel onvolledige koppeling, zoals:

P-p : paarse tegenover groene bladsteel.

Y-y : gele tegenover witte bloemen.

B-b : grijze tegenover zwarte sarcotesta (een slijmig vlies dat het zaad omgeeft, gevormd door metaxeniën en alleen aan vers zaad te zien).

Ga-ga: gametofytisch factorenpaar, dat de groei van de pollenhuis bepaalt.

Mp-mp: lange tegenover korte bloemsteel (vgl. STOREY, 1953).

3.6. VARIABILITEIT VAN DE GESLACHTSEXPRESSIE

Reeds voor er gericht onderzoek over deze materie was ingezet, was Bij de bewoners van Puerto Rico bekend, dat bij papaja verandering van de mate van mannelijkheid en vrouwelijkheid kan optreden (SINGH et al., 1961). Ze meenden dat verandering van mannelijk naar vrouwelijk optrad, wanneer de eindknop van de plant werd verwijderd bij een bepaalde stand van de maan. Hoewel vele onderzoekers de verandering van het geslacht van papaja hebben waargenomen, is er nog geen eensluidende verklaring voor. Men heeft geconstateerd, dat de vrouwelijke expressie van planten soms toeneemt na verwonding, zoals het wegnemen van de eindknoppen of het afbreken van wortels bij het overplanten van mannelijke planten.

Het gedrag van mannelijke papaja-planten na het wegnemen van de eindknop werd door IORNS (1928) nader bestudeerd. Hoewel enkele bomen na deze ingreep een geslachtsverandering te zien gaven, concludeerde hij dat andere oorzaken dan het verlies van de eindknop hiervoor verantwoordelijk waren. SINGH (1961) meende binnen de groep van mannelijke planten onderscheid te kunnen maken tussen planten die vanaf het eerste jaar van hun bloei naast mannelijke ook enkele vrouwelijke bloemen te zien gaven en (een grotere groep) van zuiver

mannelijke planten. De beide typen zouden genetisch verschillen.

HOFMEYR (1953) schreef de verandering in geslachts-expressie toe aan een interactie van modificerende genen en uitwendige omstandigheden. STOREY (1953) meende het verschijnsel te kunnen verklaren uit de werking van twee factorenparen. Het eerste factorenpaar zou verantwoordelijk zijn voor de invloed van het seizoen op de mate van vrouwelijkheid, terwijl het tweede paar carpelloïdie zou veroorzaken. Volgens hem wordt het voorkomen van de vele verschillende typen hermafrodiete bloemen hoofdzakelijk bepaald door deze twee factorenparen.

HOROVITZ (1954) veronderstelde ter verklaring van de verandering van de geslachtsexpressie in de loop van het seizoen de aanwezigheid van een specifiek mannelijk en een specifiek vrouwelijk bloeihormoon, welke genetisch bepaald zouden zijn door één gen met twee allelen. Het dominante allel is verantwoordelijk voor de vorming van het mannelijke, het recessieve allel voor die van het vrouwelijke hormoon. In hoeverre in de hermafrodiete bloem meeldraden en vruchtbeginsel ontwikkeld zijn, zou dan afhangen van de verhouding, waarin de beide bloeihormonen in de bloemknopaanlegfels voorkomen. Binnen een gegeven genotype, zou de temperatuur bepalend zijn voor de produktie van een bepaald bloemtype.

De modificeerbaarheid van de geslachtsexpressie door uitwendige omstandigheden is door veel auteurs vermeld. Hun resultaten zijn echter enigszins tegenstrijdig. Wat betreft de invloed van de temperatuur op de ontwikkeling van de bloem in mannelijke of vrouwelijke richting, meenden SINGH et al. (1961) en TEAOTIA en SINGH (1967) gevonden te hebben, dat hoge temperatuur en lange dag vrouwelijkheid bevorderen, terwijl lage temperatuur en korte dag de mannelijkheid doen toenemen. STOREY (1958) daarentegen vermeldde dat bij hoge temperatuur en lange dag vrouwelijke steriliteit, en bij lage temperatuur en korte dag vrouwelijke fertiliteit werd bevorderd. AWADE (1958) rapporteerde eveneens bij hoge temperatuur meer hermafrodiete bloemen van het reduced elongata type, en bij lage temperatuur meer carpelloïden te hebben gevonden. LANGE (1961) tenslotte was van mening, dat lage minimum temperatuur of grote verschillen tussen dag- en nachttemperatuur, de vorming van vrouwelijke bloemen stimuleerden. Na plaatsing van hermafrodiete planten gedurende een maand onder polyethyleen tenten constateerde deze auteur een verandering van hermafrodiët naar het meer vrouwelijke bloemtype. Het was hierbij echter moeilijk na te gaan wat de belangrijkste factor is geweest, de luchtvochtigheid, de lichtintensiteit of de temperatuur.

Behandeling met chemicaliën als DCIB (dichloor-isoboterzuur) veroorzaakte eveneens een verandering van tweeslachtige planten in vrouwelijke richting.

4. ONDERZOEK NAAR DE OVERERVING VAN HET GESLACHTSMECHANISME BIJ CARICA PAPAYA L.

4.1. PROBLEEMSTELLING

Over de genetische achtergronden van de geslachtsovererving bij *Carica papaya* L. heerst geen eenheid van opvatting. De meeste onderzoekers zijn van mening dat de geslachtsovererving bepaald wordt door één gen met drie allelen of een genencomplex (zie Algemene Inleiding). Er zijn echter ook resultaten welke zouden kunnen worden verklaard uit de werking van twee onafhankelijke genenparen.

Het onderzoek naar de achtergronden van het geslachtsmechanisme wordt sterk bemoeilijkt door de grote variabiliteit en veelvormigheid van hermafroditische bloemen van eenzelfde boom. De bloemen verschillen in de mate van carpelloïdie, en in aantal en inplantingsplaats van de meeldraden. De uit meeldraden ontstane carpellen kunnen weer geheel of ten dele vergroeid zijn met de carpellen van het oorspronkelijk vruchtbeginzel.

In dit onderzoek zal de overerving van het geslacht bij *Carica papaya* L. worden nagegaan. Tevens zal worden nagegaan in hoeverre de onderscheiden hermafroditische typen evident genetisch verschillend zijn, dan wel moeten worden beschouwd als modificaties van eenzelfde genotype. Daarnaast zal ook de overerving van enige bloem- en vruchtkenmerken worden bestudeerd. Dit rapport bevat uitsluitend de resultaten van de waarnemingen en bewerkingen in de oudergeneratie.

4.2. MATERIAAL EN METHODEN

De proef werd uitgevoerd in de papaja-aanplant van de vruchtentuin Boma van de Stichting voor Experimentele Landbouwbedrijven. De afmetingen van het proefterrein waren 50 bij ca. 400 m. Het terrein werd in de breedterichting doorsneden door 1 m brede en 60 cm diepe trezen, op onderlinge afstand van 8 m. De trezen ontwaterden op een 2,5 m brede langs het proefterrein gelegen sloot. De bodem bestond uit een slecht doorlatende, zware klei.

Op de tussen de trezen gelegen bedden stond telkens een rij papaja en een rij West Indische Kers. De papajaplanten stonden op een onderlinge afstand van 2 m, zodat per rij 25 bomen voorkwamen. De papaja-aanplant was begin 1968 aangelegd uit zaad van rijpe vruchten van een vroegere aanplant op hetzelfde terrein. De planten bestonden uit een mengsel van overgangsvormen tussen het Solo en het Semangka type.

Begin februari 1969 werd een aantal mannelijke, vrouwelijke en hermafroditische planten geselecteerd. Mannelijke bomen waren op grond van hun afwijkende bloeiwijze (foto 1) gemakkelijk te herkennen, de vrouwelijke en hermafroditische typen (foto's 2 en 3) werden onderscheiden door beoordeling van een aantal bloemen van elke boom op de aanwezigheid van



1. Mannelijke plant: bloemen in langgesteelde "trossen".

2. Vrouwelijke plant: bloemen afzonderlijk in de blad-
oksel.



3. Hermafroditische plant (H_3 type):
bloemen kortgesteeld, in kleine
groepjes bijeen. Vruchten lang-
werpig.

meeldraden. De hermafroditische bomen werden op grond van de eraan voorkomende bloemen in de drie groepen H_1 , H_2 en H_3 onderverdeeld:

- H_1 bomen bezaten overwegend bloemen van het carpelloïd pentandria en het pentandria type.
- H_2 bomen vertoonden overwegend bloemen van het pentandria, het carpelloïd elongata, en het elongata type.
- H_3 bomen bevatten soms uitsluitend bloemen van het reduced elongata type. Bij de meeste echter werden naast deze ook bloemen van het elongata en het carpelloïd elongata type gevonden.

In totaal 28 bomen ($6F$, $7H_1$, $3H_2$, $9H_3$, $3M$) werden in het bestuivingsprogramma opgenomen. De volgende bestuivingscombinaties (gerangschikt volgens afnemende mannelijkheid van de vaderplanten binnen elk moedertype) werden gemaakt: $F \times M$, $F \times H_3$, $F \times H_1$, $H_1 \times M$, $H_1 \times H_3$, H_1 -zelf, H_2 -zelf, $H_3 \times M$ en H_3 -zelf. De theoretische mogelijke kruising $H_3 \times H_1$ werd weggelaten omdat het resultaat vermoedelijk gelijk zou zijn aan dat van de gemakkelijker uitvoerbare kruising $H_1 \times H_3$.

Van de gebruikte planten werden ook de bloemkleur, de kleur van het vruchtvlees, de vruchtvorm en de gemiddelde vrucht lengte bepaald. De overerving van deze kenmerken, ten dele reeds uit de literatuur bekend (HOFMEYER, 1938: gele bloem dominant over wit, oranje vruchtvlees dominant over rood), zal in de volgende generatie(s) worden nagegaan.

Tc bestuiven bloemen werden tenminste drie dagen voor het opengaan ingehuld en zo nodig geëmasculeerd. Werden hermafroditische planten uit groep H_1 als vader gebruikt, dan vond bestuiving plaats door helmknoppen met behulp van een pincet op de stempel uit te wrijven. Bestuiving met mannelijke bloemen was eenvoudiger uit te voeren. De bloembladeren werden verwijderd, en de meeldraden over de stempels van de te kruisen bloem uitgewreven. Hermafroditische planten van het type H_3 bezaten gewoonlijk een groot aantal zuiver mannelijke bloemen, die op dezelfde manier voor bestuiving werden gebruikt als bloemen van mannelijke bomen. De bestuiverbloemen behoefden niet te worden ingehuld. Het stuifmeel was namelijk reeds een dag vóór de bloemen zich openden bruikbaar, zodat voorafgaande besmetting met vreemd stuifmeel was uitgesloten.

De bestoven bloemknoppen werden na ca. 10 dagen gecontroleerd. Was de stempel bruin, en het vruchtbeginzel cnigszins gezwollen dan werden de inhulzakjes verwijderd, om uitgroei van de vrucht mogelijk te maken.

4.3. VERLOOP EN RESULTATEN

4.3.1. Waarnemingen aan het hermafrodiets materiaal

De in het bestuivingsprogramma opgenomen bomen waren geselecteerd na een eenmalige beoordeling van de hieraan voorkomende bloemen. Hoewel, zoals hieronder zal blijken, binnen de groepen H_1 , H_2 en H_3 soms aanzienlijke verschillen tussen de individuen optraden, behoefde slechts in één geval (plant 305) een plant naar een andere groep te worden overgeplaatst. Van de bomen ingedeeld onder het type H_1 waren er drie waarop zich naast pentandria bloemen met geheel of gedeeltelijk vergroeide carpellen, bloemen met minder dan vijf meeldraden ontwikkelden. Ook werd een klein aantal zuiver vrouwelijke bloemen bij deze bomen aangetroffen.

Bij één plant van het type H_1 (307) waren van de 18 bekeken bloemknoppen er 12 pentandria en carpelloïd pentandria, 4 elongata en 2 zuiver vrouwelijk. Deze 4 elongata en 2 zuiver vrouwelijke bloemen waren de eerste 6 bloemen aan de plant, daarna werden steeds pentandria en carpelloïd pentandria bloemen gevormd. Aan deze boom kwamen later vruchten van verschillende vorm voor. Uit vrouwelijke bloemen ontstonden overwegend rond tot rond ovale, uit pentandria en carpelloïd pentandria voornamelijk ovaal-ronde en uit elongata langwerpige vruchten. Men vergelijk tabel 1.

Aan een andere plant van het type H_1 , ontwikkelden zich naast enkele bloemen van het pentandria type overwegend bloemen van het elongata type. Deze plant (305) is daarom bij de uitwerking van de resultaten bij de H_2 groep gerekend. De twee resterende planten van het type H_1 ontwikkelden, naast pentandria bloemen, regelmatig bloemen van het carpelloïd elongata type.

Van de 4 H_2 planten (inclusief 305) waren er 2 die elongata en pentandria bloemen in ongeveer gelijke aantallen ontwikkelden. Aan de overige twee bomen werden veel meer knoppen van het elongata dan van het pentandria type gevormd. Het enige verschil van laatstgenoemde bomen met het H_3 type was, dat bij bijna alle bloemen het vruchtbeginsel goed ontwikkeld was. In de H_3 groep kwam altijd een groot percentage reduced elongata bloemen voor.

Van de 9 uitgezochte bomen van het type H_3 bleken er 4 bijna uitsluitend bloemen te vormen van het reduced elongata type (504, 505, 507, 508). Deze waren voor het bestuivingsprogramma minder geschikt en werden daarom uitgeschakeld. Van de overige bomen waren er 3 welke, naast bloemen van het reduced elongata type, regelmatig bloemen van het elongata type gaven. Bij 2 bomen kwamen een tijd lang naast bloemen van het reduced elongata type ook elongata bloemen voor, gevolgd door een periode waarin zich uitsluitend bloemen van het reduced elongata type ontwikkelden.

Het is van belang hier op te merken dat voor de beoordeling van bloemen (en het bestuivingswerk) alleen gebruik werd gemaakt van de eindknop van ieder bloemgestel. De andere knoppen waren meestal meer mannelijk; bij de H_1 groep waren ze vaak van het elongata type, en bij de H_3 groep van het reduced elongata type.

4.3.2. Uitvoering en resultaten van het bestuivingsprogramma

In de periode van 5 februari tot 10 juni 1969 werden driemaal per week bestuivingen uitgevoerd. Voor de bestuivingen werden aan moederbomen bijna uitsluitend de eindknoppen van het bloemgestel gebruikt. Bij vrouwelijke bomen was vaak de eindknop de enige ontwikkelde knop. Bij hermafrodiete planten werd de eindknop gebruikt, omdat de andere knoppen meestal meer mannelijk waren. Deze werden bij het inhullen van de eindknop verwijderd.

Het aantal bestuivingen, dat per dag gemaakt kon worden was gering, hoofdzakelijk door de verspreiding der bomen over het terrein. Van het type H₁ bijvoorbeeld kwamen maar weinig bomen op het proefveld voor; de uiteindelijk gevonden zes bomen stonden ver uit elkaar. De moeilijke begaanbaarheid van het terrein, de hoogte van sommige bomen, de weersomstandigheden en de trage bloemvorming waren er mede oorzaak van, dat het aantal bestuivingen per observatiedatum niet meer dan gemiddeld vijf kon bedragen.

Bij kruisingen tussen hermafrodiete en mannelijke planten moesten de moederplanten worden geëmasculeerd. Emasculatie werd uitgevoerd enkele dagen voor het receptief worden van de stempels. De vruchtbeginsels werden bij de emasculatie steeds beschadigd, waarbij melksapvloeiing, gevolgd door rotting en knopafval vaak al vóór de bestuiving optraden. Dit was in het bijzonder het geval wanneer elongata bloemen werden gebruikt. Bij pentandria bloemen, waarbij de meeldraden aan de basis van het vruchtbeginsel zijn ingeplant, konden deze gemakkelijk worden verwijderd. Hermafrodiete bomen waar zuiver vrouwelijke bloemen op voorkwamen gaven geen moeilijkheden.

De resultaten van bestuiving na emasculatie waren zelfs bij het pentandria bloemtype zo slecht, dat een andere oplossing moest worden gezocht. Er werden kruisingen gemaakt met hermafrodiete moederplanten zonder voorafgaande emasculatie. Om eventuele zelfbevruchting te kunnen ontmaskeren werden steeds recessief witbloemige planten met dominant geelbloemige vaderplanten gekruisd. Gele bloemkleur fungeerde hier dus als signaalkenmerk. Een bezwaar tegen deze werkwijze is, afgezien van mogelijke koppeling van bloemkleur met de geslachtsfactor dat heterozygote vaderplanten 50% witbloemige nakomelingen zullen leveren, welke uiteraard niet van door zelfbevruchting verkregen witbloemige planten zullen zijn te onderscheiden en dus moeten worden geëlimineerd.

De indruk werd verkregen dat bloemknoppen na een periode van betrekkelijke droogte meer mannelijk waren terwijl na een vochtige periode beter ontwikkelde vrouwelijke delen werden gevonden. Factoren als temperatuur en relatieve luchtvochtigheid tijdens de bloemontwikkeling waren mogelijk van invloed. Definitieve uitspraken hierover zijn echter niet mogelijk, daar het aantal bestudeerde planten gering was, en deze op een proefveld stonden, waarvan de watervoorziening onvoldoende werd geregeld. Bij tijden

stonden de treizen leeg, het gebeurde daarentegen ook wel dat het proefveld bijna geheel onder water stond. Ook waren samenstelling en vochttoestand van de grond voor de verschillende planten waarschijnlijk niet gelijk. De planten verschilden daardoor onderling sterk in groei-kracht. Die aan de hoogst gelegen lengtezijde van het veld ontwikkelden zich het best. Bij deze planten lag ook het percentage bestoven knoppen dat afviel veel lager dan op de rest van het terrein.

Tabel 1 (blz. 21) geeft een overzicht van de diverse bestuivingscombinaties, alsmede van de bloemkleur en vruchtenmerken van de gebruikte planten. De meeste bestuivingen werden in 3-voud uitgevoerd en zo nodig later herhaald. In totaal kwamen 244 bestuivingen tot stand. Hiervan waren er per 15 juni 115 geslaagd. De aantallen bestuivingen binnen de verschillende typen en hun resultaat zijn weergegeven in tabel 2 (blz. 22).

Voor de grote verschillen in slagingspercentage zijn enkele oorzaken aan te wijzen. In de ongeveer anderhalve week, dat de knoppen ingehuld waren viel bij hermafrodiete planten een veel groter aantal af dan bij vrouwelijke. Dit zou ten dele kunnen worden verklaard uit het verschil in aantal knoppen per bloemgestel. Bij hermafrodiete planten was dit aantal gemiddeld groter dan bij vrouwelijke; ook de afstand tussen twee bloemgestellen was in de regel voor hermafrodiete planten kleiner. De knoppen van hermafrodiete planten zaten daardoor dicht opeen en hadden een grotere kans bij het inhullen te worden beschadigd dan knoppen van vrouwelijke bomen. Bij hermafrodiete bomen was er bovendien altijd een percentage natuurlijke afval. Een ander belangrijk verschil lag in de bouw van het vruchtbeginsel zelf. Bij vrouwelijke bloemen is het vruchtbeginsel glad. De vruchtbeginsels van hermafrodiete bloemen (vooral bij het H_1 boomtype) daarentegen zijn in meer of mindere mate gegroefd, doordat de carpellen slechts ten dele vergroeid zijn. Ze zijn hierdoor makkelijker aan te tasten door schimmels en andere organismen. Vruchtbeginsels, waarbij de carpellen bijna niet of in geringe mate waren vergroeid, leverden bijna nooit volgroeiende vruchten. Bloemen aan H_1 bomen bevatten bovendien meestal weinig stuifmeel en bevruchting hiermee zal daardoor in een aantal gevallen niet hebben plaatsgevonden. Dit verklaart echter niet het vrij lage slagingspercentage in kruisingen $H_1 \times M$, zodat ook andere oorzaken een rol moeten hebben gespeeld. In de groep H_3 moest het grote percentage afgevallen knoppen worden toegeschreven aan het grote aantal bloemen met rudimentair vruchtbeginsel.

Verscheidene vruchten aan hermafrodiete bomen groeiden aanvankelijk iets uit, werden vervolgens geel en vielen af, soms een week of langer nadat het inhulzakje was weggenomen. Het kwam zelfs voor dat vruchten meer dan drie weken nadat het inhulzakje verwijderd was nog geel werden en afvielen.

Tabel 1. Overzicht van de in het bestuivingsprogramma gebruikte planten
en de gemaakte bestuivingscombinaties

Plantnr.	Planttype	Bloemkleur	Vruchtvlees- kleur	Vruchtvorm	Benaderende vruchtlengte (cm)	Kruisingspartners
201	F	wit	roze-oranje	rond	± 15	101-501
202	F	wit	oranje	rond-ovaal	± 17	102-502
203	F	wit	oranje	ovaal-rond	± 20	103-503
204	F	wit?	?	ovaal-rond	± 18	101-301
205	F	geel	oranje	rond-ovaal (peervormig)	± 15	102-302
206	F	geel	oranje	rond-ovaal	± 17	103-303
301	H ₁	wit	roze-rood	ovaal-rond	± 20	301-101-501
302	H ₁	wit	roze-rood	ovaal-rond	± 20	302-102-502
303	H ₁	wit	rood	ovaal-rond	± 25	303-103-503
304	H ₁	wit	oranje	ovaal-rond; langwerpig	± 20; -	304-101
306	H ₁	wit	roze	rond; ovaal-rond	± 18; ± 20	306-103
307	H ₁	wit	oranje-rood	rond; ovaal-rond; langwerpig	± 14; -; ± 22	307-101-501
305')	H ₂	wit	roze-rood	rond-ovaal	± 15; ± 20	305
401	H ₂	wit	roze	langwerpig ovaal-rond; langwerpig	± 18; ± 30	401
402	H ₂	wit	rood	langwerpig	± 28	402
403	H ₂	wit	roze	ovaal-rond; langwerpig	± 20; ± 25	403
501	H ₃	wit	oranje	langwerpig	± 23	501-101
502	H ₃	wit	roze	langwerpig	± 25	502
503	H ₃	wit	oranje	langwerpig	± 26	503-103
506	H ₃	wit	roze	langwerpig	± 30	506-103
509	H ₃	wit	oranje	langwerpig	± 23	509-103
101	M	wit	-	-	-	201-204-301-307-501
102	M	wit	-	-	-	202-205-302
103	M	geel	-	-	-	203-206-303-306-503-506-509

Plantnr. Planttype Bloemkleur Vruchtvlees-kleur Vruchtvorm Benaderende vruchtlengte (cm) Kruisingspartners

Tabel 2. Aantallen bestuivingen en hun resultaten voor de verschillende bestuivingstypen

Bestuivings- type	Aantal bestuivingen		Bloemknoppen afgevallen			Slagings- %
	gemaakt	geslaagd	gedurende inhulperiode	binnen week na verwijderen inhulzakje	langer dan week na verwijderen inhulzakje	
F x M	20	18	1	1	-	90
F x H ₃	9	8	-	-	1	89
F x H ₁	11	8	-	1	2	73
H ₁ x M	48	19	16	6	7	40
H ₁ x H ₃	17	9	1	3	4	53
H ₁ -zelf	56	17	22	8	9	30
H ₂ -zelf	18	12	3	2	1	70
H ₃ x M	18	8	10	-	-	44
H ₃ -zelf	47	16	28	3	-	34
totaal	244	115	81	24	24	47

Dit verschijnsel werd soms begeleid door schimmelaantasting en vruchtrot, maar het is niet duidelijk of deze de oorzaak dan wel het gevolg van vrucht-degeneratie waren. Sommige vruchten daarentegen, welke al geel uit het inhulzakje kwamen, herstelden zich na enkele dagen en groeiden normaal uit.

De eerste vruchten uit bestuivingen van begin februari waren eind juni rijp, en konden worden geoogst. In de laatste week van juni had de aanplant veel te lijden van wateroverlast. Vele bomen vertoonden kort daarna ernstige afstervingsverschijnselen en vielen om.

Van de 6 geselecteerde vrouwelijke bomen was er één reeds in april omgevallen. Hiervoor kon nog een nieuwe boom in het bestuivingsprogramma worden opgenomen. Van de twee vrouwelijke bomen welke begin juli afstierven waren een aantal vruchten bijna rijp; de overige werden onrijp geoogst. Van de H₃ groep ging eveneens één plant verloren. Een tweede liet in de loop van juli alle bladeren vallen, zodat de vruchten hiervan waarschijnlijk ook niet volledig zullen afrijpen.

De zaden van geoogste vruchten werden schoongespoeld met kraanwater en 2 tot 3 dagen in een droogstoof bij 35-40°C gedroogd. De omvang van de te analyseren F₁ nakomeling-schappen zal afhangen van het uiteindelijk aantal geoogste vruchten, de grootte van het beschikbare terrein op het CELOS, het te gebruiken plantverband enz.

5. VERGELIJKING VAN DE GESCHIKTHEID VAN VERSCHILLENDE INHULMATERIALEN BIJ PAPAJA-KRUISINGEN

5.1. PROBLEEMSTELLING

De vrij grote, geel of helderwit gekleurde, wijd openstaande bloemen van de papaja lenen zich goed voor natuurlijke bestuiving door insecten of wind. Bij het uitvoeren van een kunstmatig bestuivingsprogramma is het dan ook noodzakelijk de bloemen te beschermen tegen ongewenste voor- of nabestuiving. Dit geschiedt door de bloemen in te hullen vanaf het bloemknopstadium tot het moment dat de stempels niet meer receptief zijn en bruin worden.

Door het inhullen wordt, afhankelijk van het gebruikte materiaal, de waterdamp-, gas- en warmte-uitwisseling met de buitenlucht in meer of mindere mate belemmerd. Dit kan leiden tot groeistoornissen van de bloemknop (knopafval) en/of schimmelaantasting, waardoor het rendement van de bestuiving nadelig wordt beïnvloed.

In het onderzoek werd nagegaan of de aard van het voor inhullen gebruikte materiaal van invloed is op het slagingspercentage.

5.2. MATERIAAL EN METHODEN

In de proef werden inhulzakjes van onderling ongeveer gelijke afmetingen (18 bij 9 cm) van drie materialen gebruikt, nl.:

1. zakjes van ondoorlatend transparant plastic;
2. zakjes van fijnmazig katoen;
3. zakjes van grofmazig nylongaas.

De drie soorten zakjes werden gecontroleerd op doorlatendheid voor stuifmeel. Zowel de katoenen als de nylon zakjes waren regenbestendig d.w.z. ze behielden hun stijfheid en vorm ook bij langdurige en herhaalde bevochtiging.

De proef werd uitgevoerd aan de hand van de te verichten bestuivingen voor het onderzoek betreffende geslachtsovererving, dus met vrouwelijke en verschillende typen hermafrodiete bloemen. De knoppen werden ongeveer drie dagen voordat ze open zouden gaan ingehuld, en wanneer ze open waren bestoven. Aanvankelijk werden alle bestuivingen in dricvoud gemaakt, waarbij elk van de drie bloemknoppen met verschillend materiaal werd ingehuld. Mislukte echter een bestuiving met een bepaald inhulmateriaal dan werd deze één of meer keer herhaald. Soms ook waren onvoldoende bloemknoppen tegelijkertijd aanwezig, om alle drie inhulmaterialen te gebruiken. Door deze omstandigheden werden de drie inhulmaterialen in niet geheel gelijke aantallen gebruikt.

De zakjes werden voorzichtig om de knoppen geschoven en met zg. vliegertouw dichtgebonden. Het was hierbij niet te vermijden, dat kleine openingen bleven bestaan. Te strak aantrekken van de lus zou beschadiging veroorzaken, die tot vervalsing van de resultaten zou kunnen leiden.

5.3. VERLOOP EN RESULTATEN

Van de 244 beoordeelde kruisingen waren er 82 ingehuld met plastic, 74 met nylongaas en 88 met katoen. Deze aantallen werden berekend over alle bestuivingstypen. Het slagingspercentage was voor inhullingen met plastic zakjes 40, voor die met nylon zakjes 55, en voor die met katoenen zakjes 47 (tabel 3, blz. 25).

Van de 20 controle inhullingen (5p, 8n, 7k) groeide in enkele gevallen het vruchtbeginsel iets uit. Na twee tot drie weken vielen echter alle knoppen af. De controleinhullingen werden uitsluitend uitgevoerd aan bloemknoppen van vrouwelijke bomen. Daar bij bestuivingen aan deze bomen het slagingspercentage hoog lag, was knopafval bij controleinhullingen vrij zeker het gevolg van het uitblijven van bestuiving.

Bij plastic zakjes wordt de gas- en waterdampuitwisseling bemoeilijkt, en kan de temperatuur in het zakje hoog oplopen; de afgehaalde plastic zakjes waren aan de binnenkant dan ook vaak beslagen met gecondenseerde waterdruppels.

Tabel 3. Aantallen gemaakte bestuivingen van verschillende typen, en de resultaten daarvan bij gebruik van verschillende inhuulmaterialen

Bestuivings- type	Bestuivingen gemaakt					Aantal knoppen afgevallen						Percentage geslaagd				
	p	n	k	tot.		gedurende inhul- periode			na verwijderen inhulmateriaal			totaal				
						p	n	k	p	n	k	p	n	k	p	tot.
F x M	7	7	6	20		-	1	-	1	-	-	1	1	-	86	96
F x H ₃	2	4	3	9		-	-	-	-	1	-	-	-	-	100	89
F x H ₁	4	5	2	11		1	-	-	-	2	-	1	2	-	75	73
H ₁ x M	15	14	19	48		6	4	6	3	4	6	9	8	12	40	40
H ₁ x H ₃	5	5	7	17		-	-	1	3	2	2	3	2	3	40	53
H ₁ -zelf	22	21	13	56		13	8	2	5	7	4	18	15	6	18	30
H ₂ -zelf	5	4	9	18		-	-	3	1	-	2	1	-	5	80	70
H ₃ x M	3	5	10	18		1	1	8	-	-	-	1	1	8	67	44
H ₃ -zelf	19	9	19	47		12	3	12	3	-	1	15	3	13	21	34
totaal	82	74	88	244		33	17	32	16	16	15	49	33	47	40	47

De ingehulde knop vertoonde dikwijls in meer of mindere mate schimmelaantasting van de bruin geworden stempels. De gas- en waterdampuitwisseling is bij nylon zakjes beter; ze zijn echter moeilijker om de knop te bevestigen dan plastic zakjes door de stugheid van het materiaal. Katoenen zakjes zijn goed doorlatend en laten zich gemakkelijk om de knop bevestigen, zodat dit het meest geschikte materiaal leek te zijn.

Bij de bestudering van tabel 3 blijkt dat bij bestuivingstypen waarvan het slagingspercentage hoog lag ($F \times M$; $F \times H_2$; $F \times H_1$) er weinig verschil was tussen de gebruikte inhulzakjes. Plastic was hier zeker niet slechter dan de andere materialen. Katoen bleek bij deze bestuivingstypen de beste resultaten te geven. De bestuivingstypen $H_1 \times M$, $H_1 \times H_2$, en H_1 -zelf slaagden het best in nylon zakjes; het verschil tussen plastic en katoenen zakjes was bij deze bestuivingstypen gering.

Uit de tabel blijkt dat het slagingspercentage sterker afhing van het bestuivingstype, dan van het gebruikte inhulmateriaal.

6. KARYOLOGISCH ONDERZOEK AAN CARICA PAPAYA

6.1. PROBLEEMSTELLING

Geslachtsdifferentiatie is in het algemeen genetisch bepaald, in het eenvoudigste geval door één enkel gen. Soms ook komen naast de hoofdfactor voor de geslachtsbepaling één of meer modificerende factoren voor, welke de geslachtsexpressie beïnvloeden. Een geheel ander systeem van geslachtsbepaling is die via gespecialiseerde geslachtschromosomen, zoals bij *Lychnis*.

De wijze waarop het geslacht van *Carica papaya* L. wordt bepaald, heeft vele onderzoekers beziggehouden. Hun resultaten en gevolgtrekkingen lopen echter uiteen. Het door KUMAR et al. (1945) beschreven verschijnsel van vervroegd uiteenwijken der chromosomen in anafase I van de meiose bij mannelijke en hermafrodiete planten, maar niet bij vrouwelijke planten, zou op het bestaan van een geslachtschromosomenpaar kunnen duiden. Het voorkomen van tetravalenten, trivalenten, bivalenten en ook univalenten tijdens de metafase van de reductiedeling, vermeld door DE ZERPA (1958) bij met colchicine behandelde planten, zou eveneens in die richting kunnen wijzen. Andere onderzoekers daarentegen hebben geen duidelijke aanwijzingen kunnen vinden voor het bestaan van een geslachtschromosomenpaar.

In het eigen onderzoek werd gepoogd het al of niet bestaan van een geslachtschromosoom na te gaan.

6.2. MATERIAAL EN METHODEN

Het onderzoek werd verricht met behulp van squash-preparaten van worteltopjes en helmknoppen in meiosestadium. De meest gunstige behandeling van het materiaal (chemische

voorbehandeling, fixatie, maceratie, kleuring) moest empirisch worden bepaald, aangezien de literatuur hieromtrent nauwelijks aanwijzingen geeft.

De worteltoppreparaten dienden vooral ter bestudering van het karyotype, dus van de mogelijkheid om de 9 chromosomen morfologisch te onderscheiden, terwijl de meiosepreparaten werden bestudeerd op onregelmatigheden tijdens de paring en bij het uitcengaan van de homologen tijdens de anafase.

Voor het chromosoom-onderzoek aan worteltopjes werd uitgegaan van juist gekiemde zaden, kiemplanten en vruchtdragende bomen. Zaden werden schoongespoeld, in de zon gedroogd en daarna op vochtig filtreerpapier in petrischalen bij ca. 30°C in de broedstoof gekiemd. Het filtreerpapier werd zo nodig ververs, om kiemremstoffen kwijt te raken en schimmelaantasting te voorkomen. Ook werden zaden uitgelegd in plastic bakken met vochtig fijn zand of zaagsel. Kiemplanten werden verkregen door al dan niet voorgeweekte zaden uit te leggen in met zand gevulde "multipots" van 48 bij 50 mm. Eenmaal werd bemest met een zwakke oplossing van NPK (15-15-15) in water.

Worteltopjes werden 15 minuten gefixeerd in Carnoy, 6 à 8 minuten gemacereerd in een mengsel van één deel alcohol 96% en één deel geconcentreerd zoutzuur, 5 tot 10 minuten uitgespoeld in kraanwater en tenslotte gekleurd in orceïne-azijnzuur.

Ook werd kleuring volgens de Feulgen-methode toegepast. Hiervoor werd 6 à 10 minuten gemacereerd in 1N zoutzuur bij 60°C, waarna werd uitgespoeld en gekleurd in Feulgen-reagens (leukobasische fuchsine).

Vóór het maken van de preparaten werden de gekleurde worteltopjes op het voorwerpsglas met prepareernaalden zoveel mogelijk uit elkaar getrokken en verspreid. Na opbrengen van een dekglasje werd met behulp van een luciferhoutje gesquashed. Boven een spiritusvlam werd voorzichtig verwarmd, om een betere kleuring en strekking der chromosomen te krijgen.

De meiose werd onderzocht aan helmknoppen van mannelijke en hermafroditische planten. Enkele helmknoppen werden in orceïne-azijnzuur op een voorwerpsglas met een glazen staafje fijngewreven. Nadat het wandweefsel zoveel mogelijk was verwijderd, werd een dekglasje opgebracht. Zonodig werd nagesquashed en verwarmd boven een spiritusvlam. Met behulp van Lero, Canada-balsem of nagellak werden de preparaten verduurzaamd, waarna ze bekeken werden met een Leitz-laborlux microscoop met maximale vergroting 1520x. Naast de normale uitrusting werd een fase-contrastset gebruikt.

6.3. VERLOOP EN RESULTATEN

Het verschil in kiemsnelheid van de verschillende partijtjes zaad was groot. Sommige kiemen reeds binnen de 14 dagen, anderen begonnen pas na 4 tot 6 weken te kiemen.

De kieming in vochtig zand en zaagsel was gering, de zaden in multipots daarentegen kiemden bijna volledig, de voor-geweekte na ongeveer 10 dagen, de droge een week later.

De worteltopjes van kiemplanten met 4 tot 8 blaadjes waren klein en dun, en kleurden slecht met orceïne. Cel-delingen werden nauwelijks aangetroffen. Worteltopjes van juist gekiemd zaad vertoonden in het algemeen wat betere kleuring. De beste kleuring en hoogste delingsactiviteit werd echter gevonden bij dicht aan het grondoppervlak komende wortels van omgevallen volwassen bomen.

Preparaten ingesloten met Lero bleken slechts één à twee dagen in een glazen preparatendoos in de koelkast houdbaar te zijn. Daarentegen waren preparaten behandeld met nagellak veel langer houdbaar. De met Canada-balsem ingesloten preparaten droogden tijdens de behandeling vaak uit, zodat deze methode van verduurzamen niet meer werd toe-gepast.

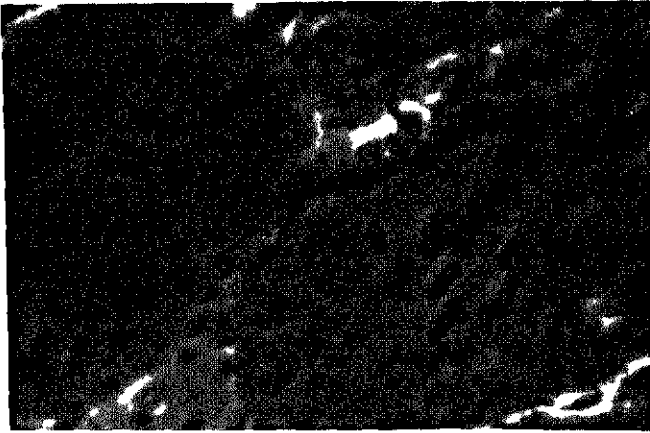
De chromosomen waren tijdens de somatische delingen alleen bij maximale vergroting (1520x) enigszins waarneembaar. Door hun geringe grootte en neiging tot samenklonteren was het zelden mogelijk de 18 chromosomen afzonderlijk te zien, laat staan hieraan vorm- en grootte-verschillen of chromosoomstructuren waar te nemen.

De kleuring met Feulgen was meestal slecht; de cel-inhoud werd grijs-korrelig, waardoor het moeilijk was chromosomen te vinden. Om de kwaliteit van de kleurstof te toetsen, werden gelijktijdig met de papajaworteltopjes, ook worteltopjes van Rhoeo discolor met Feulgen behandeld. Deze laatsten kleurden na 10 tot 15 minuten paarsviolet en gaven duidelijke mitose-stadia te zien.

Nadat er enige tijd zonder resultaat helmknoppreparaten gemaakt waren, werd verondersteld dat het stadium van de meiose, waarin de chromosomen zichtbaar te maken zijn, misschien alleen op een bepaald tijdstip van de dag voorkomt. Door bloemknoppen op verschillende tijdstippen van de dag van de boom te nemen, bleek dat de metafase-anafase stadia het meest te vinden waren tussen 9.30 en 10.30 uur 's morgens.

De gewenste meiose-stadia kwamen voor in nog jonge bloemknoppen met gelig witte antheren. Nog jongere, doorzichtig groene helmknoppen gaven groepjes cellen te zien, waarin weinig kleuring optrad; een enkele keer werd hierin een profase-stadium aangetroffen. In geel gekleurde helmknoppen werden meestal uitsluitend tetrade-cellen en stuifmeelkorrels gevonden.

Tijdens de meiose bleken de chromosomen aanzienlijk groter, dan tijdens de mitotische delingen. Zowel bij mannelijke als bij hermafrodiete planten bezaten de meeste metafase-cellen 8 ringbivalenten en één staaftivalent. Voor zover kon worden nagegaan, was het verloop van de anafase geheel normaal. De beide anafase-groepen weken zonder onregelmatigheden uiteen, zodat een gelijke verdeling van de chromosomen



4. Reductiedeling:
metafase I (1200x).

5. Reductiedeling:
telofase (2400x).



over de dyade-cellen plaatsvond. Verschillende malen werd waargenomen, dat één der chromosoomparen reeds uiteenweek terwijl de andere acht nog gepaard waren. Er kon echter niet worden uitgemaakt, of het hier steeds hetzelfde chromosomenpaar betrof, zodat deze waarneming geen enkele conclusie toelaat. Tijdens de telofase lagen de chromosomen niet steeds bijeen, doch ook wel in twee of drie afzonderlijke groepjes.

Op grond van de geringe omvang van de chromosomen werd besloten het onderzoek althans voorlopig te beëindigen. Het onderwerp lijkt meer geschikt voor een geoefend cytoloog met onbeperkte hulpmiddelen.

7. LITERATUUR

- AGNEW, G.W.J., 1968. Growing quality papaws in Queensland. Qd. agric. J., 94 (1): 24-36.
- AWADA, M., 1958. Relationship of minimum temperature and growth rate with sex expression of papaya plants (*Carica papaya* L.). Tech. Bull. Hawaii. agric. Exp. Stn. 38: 16 pp.
- HOFMEYR, J.D.J., 1938. Genetical studies of *Carica papaya* L. I. The inheritance and relation of sex and certain plant characteristics. Bull. Dep. Agric. For. Un. S. Afr. 187: 9-37.
- HOFMEYR, J.D.J., 1938. Genetical studies of *Carica papaya* L. II. Sex reversal and sex forms. Bull. Dep. Agric. For. Un. S. Afr. 187: 37-64.
- HOFMEYR, J.D.J., 1945. Further studies of tetraploidy in *C. papaya* L.. S. Afr. J. Sci. 41: 225-230.
- HOFMEYR, J.D.J., 1953. Sex reversal as a means of solving breeding problems of *C. papaya* L.. S. Afr. J. Sci., 49: 228-232.
- HOROVITZ, S., 1954. Expresion sexual y substancias florigenas en *Carica papaya* L.. Agronomia trop., 4: 13-27.
- HOROVITZ, S., 1955. Sex in *Carica papaya*. 14th. int. hort. Congr., La Haye: 1324-1334.
- IORNS, M.J., 1928. Observations on change of sex in *Carica papaya* L.. Science 98: 125-126.
- KUMAR, L.S.S., et al., 1945. The cytology of *Carica papaya* L.. Indian J. agric. Sci., 15: 242-253.
- LANGE, A.H., 1961. Factors affecting sex changes in the flowers of *Carica papaya* L. Proc. Amer. Soc. hort. Sci., 77: 252-264.
- LANGE, A.H., 1961. The effect of 2,3- dichloro-isobutyrate and 2,2- dichloropropionate on the sex-expression of *Carica papaya* L.. Proc. Amer. Soc. hort. Sci., 78: 218-224.

- SINGH, R.N., et al., 1961. Sex reversal in papaya (*Carica papaya* L.). *Indian J. Hort.*, 18 (2): 148-149.
- STOREY, W.B., 1953. Genetics of the papaya. *J. Heredity*, Lond., 44: 70-78.
- STOREY, W.B., 1958. Modifications of sex expression in papaya. *Hort. Adv.*, Saharanpur, 2: 49-60.
- STOREY, W.B., 1969. Pistillate papaya flower: a morphological anomaly. *Science*, N.Y., 163: 401-405.
- TEAOTIA, S.S. & SINGH, R.N., 1967. Seasonal variation in sex expression of papaya (*Carica papaya* L.). *Indian Agric.*, 11 (1): 45-49.
- ZERPA, D.M. DE, 1958. Tetraploidy in *C. papaya* and *C. cauliflora*. *Agronomia. trop.*, 8: 67-73.