

(Aus dem „Laboratorium voor Erfelijkheidsleer der Landbouwhoogeschool“, Wageningen.)

## Einige Verfahren für die Verwendung wilder *Solanum*-Arten zu Zuchtzwecken.

Von M. S. SWAMINATHAN.

Mit 5 Textabbildungen.

Wie bekannt, sehen die Kartoffelzüchter sich bei ihren Züchtungsarbeiten oft verschiedenen Formen der (Kreuzungs- oder Selbst-)Sterilität gegenübergestellt, besonders wenn wilde Arten aus der sehr formenreichen polyploiden Reihe ( $2n = 24, 36, 48, 60$  und  $72$ ) mit einbezogen werden. Es lassen sich einige Arten, wie *Sol. demissum* ( $2n = 72$ ) leicht mit manchen andern wilden Arten (mit  $2n = 24, 36, 48$ ) und mit den Kultursorten von *S. tuberosum* ( $2n = 48$ ) kreuzen, während das mit vielen andern, wie *S. polyadenium* ( $2n = 24$ ), *Sol. macolae* ( $2n = 24$ ), *Sol. acaule* ( $2n = 48$ ), *Sol. longipedicellatum* ( $2n = 48$ ), nicht der Fall ist. In mehreren solchen Fällen hat Chromosomenverdoppelung eine erfolgreiche Kreuzung ermöglicht. So fanden LIVERMORE und JOHNSTONE (1940) und STELZNER (1943, a), daß die chromosomenverdoppelte *Sol. chacoense* ( $4n = 48$ ) sich leichter mit *Sol. tuberosum* kreuzen ließ als die diploide Form. STELZNER (1949) kreuzte mit gutem Erfolg tetraploide *Sol. polyadenium*-Pflanzen ( $4n = 48$ ) mit *Sol. tuberosum* und erhielt Bastarde, die gegen *Phytophthora infestans*, Virus Y und Kartoffelkäfer (*Leptinotarsa decemlineata*) widerstandsfähig waren. Nicht immer aber erscheint eine gleiche Chromosomenzahl der Eltern die beste Voraussetzung für das Gelingen der Kreuzung zu bieten. So bemerkte LAMM (1943), daß die verdoppelte *Sol. acaule* ( $4n = 96$ ) als Mutter leicht mit *Sol. tuberosum*-Kulturrassen gekreuzt werden kann, während die beiden 48-chromosomigen Arten sich nur schwierig kreuzen lassen. TOXOPEUS (1947) überwand die Sterilität des  $F_1$  Bastardes der Kreuzung *Sol. chacoense* ( $2n = 24$ )  $\times$  *Sol. antipoviczii* ( $2n = 48$ ) durch Herstellung der amphidiploiden Form. Auch die Ergebnisse unserer eigenen Untersuchungen bei einer Anzahl Arten und Artkreuzungen von *Solanum* zeigen den Nutzen der Chromosomenverdoppelung für die Verwendung wilder Arten bei der Züchtung. Während die Resultate dieser Untersuchungen demnächst an anderer Stelle mitgeteilt werden, sollen im Vorliegenden einige der mehr oder weniger vielversprechenden von den bei uns angewandten (nicht von uns eingeführten, teilweise aber abgeänderten) Methoden oder Verfahren beschrieben werden.

### 1. Das Colchicinbehandlungsverfahren.

Von den verschiedenen Behandlungsmethoden, welche wir versucht haben, zeitigte die Colchicin-Agar-Keimungsmethode die besten Ergebnisse. Das Verfahren läßt sich folgendermaßen beschreiben. Man mischt gleiche Teile einer 0,5%igen Colchicin- und 2%igen erwärmten Agarlösung in destilliertem Wasser und gießt das Ganze in eine sterilisierte Petrischale. Es genügt, wenn die Schale bis ein Drittel der Höhe damit gefüllt ist. Nach einigen Minuten gerinnt es zu einem Gelee und darüber verteilt man nun die zu behandelnden Samen gleichmäßig. Während der

Keimung empfiehlt sich eine Temperatur von  $\pm 12^\circ \text{C}$ . Da die Keimung der *Solanum*-Samen 4 bis 5 Tage dauert, muß Schimmelbildung so viel wie möglich vorgebeugt werden. Die gekeimten Samen (Keimwurzellänge ungefähr 4 mm) werden herausgenommen, mit Leitungswasser abgespült und in Petrischalen mit doppeltem Filtrierpapier ausgesetzt. Sobald die ersten Blätter sich zeigen werden die Keimlinge in Töpfen gepflanzt.

Tabelle 1 zeigt, welche Erfolge mit diesem Verfahren erzielt worden sind. Nun haben schon mehrere Forscher Chromosomenverdoppelung bei *Solanum*-Arten durch Colchicinlösungen verschiedener Konzentration

Tabelle 1.

Arten	Behandelte Samen	Polyploide Pflanzen	Prozentsatz Erfolg
1. <i>Sol. chacoense</i> . . . . .	25	12	48
2. <i>Sol. kesselbrenneri</i> . . . . .	25	8	32
3. <i>Sol. polyadenium</i> . . . . .	100	32	32
4. <i>Sol. rybinii</i> . . . . .	25	10	40
5. <i>Sol. acaule</i> Recoba . . . . .	25	9	36
5. <i>Sol. acaule</i> Bukasov $\times$ Recoba	25	10	40
7. <i>Sol. acaule</i> Recoba $\times$ Bukasov	25	6	24
8. <i>Sol. longipedicellatum</i> . . . . .	50	18	36
9. <i>Sol. acaule</i> (Bukasov) $\times$ <i>Sol. simplicifolium</i> , $F_1$ . . . . .	25	11	44
10. <i>Sol. macolae</i> $\times$ <i>Sol. simplicifolium</i> , $F_1$ . . . . .	25	5	20
11. <i>Sol. demissum</i> $\times$ <i>Sol. tuberosum</i> (Libertas), $F_1$ . . . . .	100	53	53
12. <i>Sol. demissum</i> $\times$ <i>Sol. tuberosum</i> (Katahdin), $F_1$ . . . . .	100	39	39

erreicht und es läßt sich schwer entscheiden, welche Konzentration die brauchbarste ist. Jedenfalls ist gerade bei *Solanum*-Arten für das Erhalten vollständig verdoppelter Pflanzen eine nahezu tödlich wirkende Colchicindosis erforderlich und diese Dosis scheint in Verbindung mit Agar weniger giftig zu wirken. LAMM (1945) erhielt sechs autotetraploide Pflanzen von *Sol. rybinii* durch Keimung der Samen in Colchicin-Agar aus 2 Teilen 2%igem Colchicin und einem Teil 3%igem Agar. Nach unseren Resultaten scheint aber eine so hohe Colchicinkonzentration nicht erforderlich zu sein.

### 2. Die Erkennung der polyploiden Pflanzen.

Eigenschaften wie allgemeine Wuchsform, Verhältnis der Blattlänge und Blattbreite, Dicke der Blätter, Zahl und Größe der Stomata, Größe und Fertilität der Pollenkörner, ermöglichen eine ungefähre Trennung zwischen verdoppelten und nicht verdoppelten Pflanzen oder Pflanzenteilen. Die meisten dieser Eigenschaften, insbesondere auch die Größe der Stomata, zeigen aber bisweilen eine so große Variabilität, daß ein ganz sicherer Schluß auf die Chromo-

somenzahl nicht immer möglich ist. Die tetraploiden Pflanzen können also nur durch Chromosomenzählung mit absoluter Sicherheit erkannt werden. Diese Zählung wird an wachsenden sehr jungen Blättern der jungen Pflanzen und nicht an den Wurzelspitzen durchgeführt, da in der colchicinbehandelten ersten Generation die Chromosomenzahl der Wurzeln keine sichere Auskunft über die Zahl in den Stengeln gibt. Nun ist, wie bekannt, das Chromosomstudium bei *Solanum* recht schwierig, da die zahlreichen Chromosomen sehr klein sind und meistens dicht zusammengedrängt liegen. TJIO und LEVAN (1950) aber haben kürzlich die günstige Wirkung einer Vorbehandlung mit 8-Hydroxyquinolin beschrieben: die Chromosomenmorphologie (Einschnürungen, Heterochromatin) tritt ganz klar hervor, die Chromosomen werden stark verkürzt und liegen in der Metaphase, infolge der spindelzerstörenden Wirkung des 8-Hydroxyquinolins, weit gespreizt. In unseren Untersuchungen mit *Solanum* hat sich die Anwendung des 8-Hydroxyquinolins als sehr vorteilhaft erwiesen. Für die Herstellung

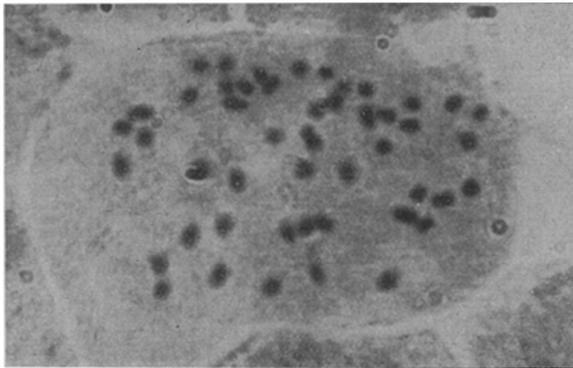


Abb. 1. Somatische Metaphaseplatte von *Solanum tuberosum* ( $2n = 48$ ). Hydroxyquinolin-Orcein-Ausstrichpräparat ( $\times 1480$ ).

der Quetschpräparate von Wurzelspitzen wie jungen Blättern haben wir (im Anschluß an TJIO und LEVAN, 1950, und GERSTEL, 1949) folgendes Schema aufgestellt:

a) Man beläßt die Wurzelspitzen oder das untere Ende wachsender sehr junger Blätter 3 bis 4 Stunden in einer Lösung von 8-Hydroxyquinolin (0,002 mol oder 0,27 g per Liter).

b) Man bringt das Material in eine etwa  $60^{\circ}\text{C}$  warme Lösung von einem Teil konzentrierter Salzsäure in 10 Teilen Wasser und spült nach 10 Minuten gründlich in Wasser, damit die Hydrolyse aufhört.

c) Man bringt das Material in 2%ige Orcein-Essigsäure (2 gm. Orcein in 100 cc 45%iger Essigsäure) in einem Uhrglas und erhitzt die Lösung vorsichtig über der Flamme, ohne sie kochen zu lassen. Man beläßt das Material etwa 5 Minuten in dem Farbstoff.

d) Man macht auf dem Objektträger in einem Tropfen des Farbstoffes ein Ausstrich- oder Quetschpräparat, das man dann nach einer der üblichen Methoden zum Dauerpräparat machen kann; wir verwendeten hierzu die Methode von MC CLINTOCK.

Abb. 1 zeigt eine somatische Metaphaseplatte in einem auf diese Weise hergestellten Präparat von *Solanum tuberosum*. Nebenbei sei erwähnt, daß wir mit diesem Verfahren auch bei anderen Gattungen befriedigende Ergebnisse erzielt haben (PRAKKEN und SWAMINATHAN, 1950).

### 3. Ein Verfahren gegen das Abfallen der Blüten bei hoher Temperatur.

Die Kreuzungsarbeit im Sommer in einem zu warmen Gewächshaus ohne Temperaturregulierungsvorrichtung drohte bei einigen Arten infolge starken Blütenabfalls zu mißlingen. Eine deutliche Verbesserung wurde herbeigeführt durch wiederholtes Bespritzen der Blütenstände mit einer Lösung von 25 mg  $\alpha$ -Naphthyl-Essigsäure je Liter Wasser. Dieses Verfahren wurde von GOUWENTAK-REINDERS und BING (1948) für Tomaten ausprobiert und beschrieben und empfiehlt sich wahrscheinlich bei jeder Kreuzungsarbeit mit *Solanum* unter höheren Temperaturen

### 4. Die Verwendung von *Solanum acaule*, *Solanum macolae* und *Solanum longipedicellatum* für die Züchtung.

Nach STELZNER (1943, b) empfiehlt es sich beim Kreuzen von *Solanum acaule* mit *Solanum tuberosum*, insofern nicht besonderer Wert auf eine reine Herkunft gelegt wird, Sippenbastarde dieser Wildform als Mutter zu verwenden, weil damit die Kreuzung viel besser gelingt. GleichermäÙen ist es angebracht, eine Anzahl wilder Arten zunächst unter sich und dann die Bastarde mit der Kulturform zu kreuzen. Es läßt sich *Solanum acaule* leicht mit einer 24-chromosomigen Art, *Solanum simplicifolium* kreuzen, aber der  $F_1$ -Bastard ( $2n = 36$ ) ist unfruchtbar (TOXOPEUS, nicht publiz.). Die amphidiploide Form aber ist fruchtbar und die Pollenfruchtbarkeit ist durchschnittlich 61% (Abb. 2 a und b). Die Pflanzen sind sehr kräftig (Abb. 3) und leicht mit *Solanum tuberosum* zu kreuzen, ebenso wie mit einer Anzahl anderer Arten wie *Solanum demissum*, *Solanum chacoense* und *Solanum longipedicellatum*. So könnte man vielleicht die

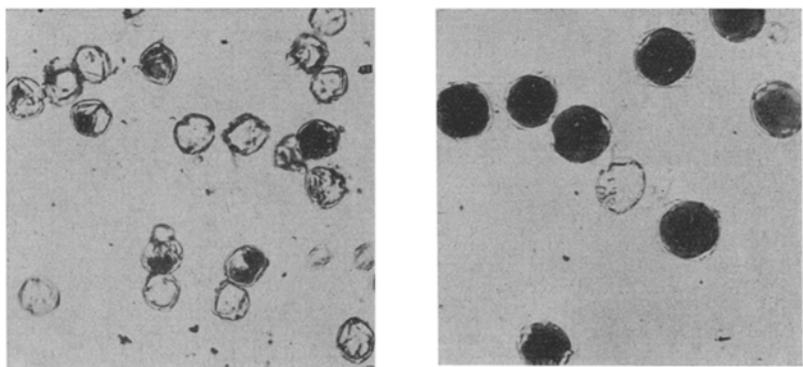


Abb. 2. Pollen des Bastardes der Kreuzung *Solanum acaule*  $\times$  *Solanum simplicifolium*.

a) Der unbehandelte Bastard (somatische Chromosomenzahl = 36).

b) Die amphidiploide Form (somatische Chromosomenzahl = 72).

Frostresistenz von *Solanum acaule* mit wertvollen Eigenschaften anderer Arten kombinieren und schließlich die gewünschten Gene in die Kulturform einführen durch wiederholte Rückkreuzung und strenge Selektion.

*Solanum macolae*, nach Befund von STELZNER und TORCA (1948) resistent gegen Kartoffelkäfer, läßt sich schwer mit *Solanum tuberosum* kreuzen, leichter aber mit *Solanum*.

*simplicifolium* und die entstandenen Bastarde sind fruchtbar. Die Meiosis ist sehr regelmäßig; es gibt immer 12 Bivalente in der ersten Metaphase. Im Durchschnitt ist 85% des Pollens fruchtbar. Die Kreuzung dieses 24-chromosomigen *Sol. macolae* × *Sol. simplicifolium* Bastardes mit *Sol. tuberosum* ist ge-

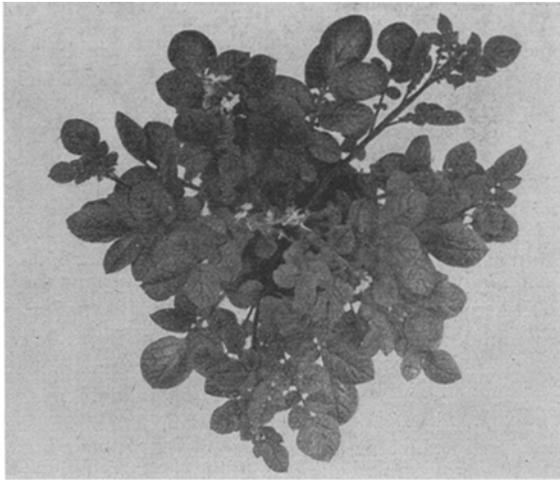


Abb. 3. Eine amphidiploide *Sol. acaule* × *Sol. simplicifolium* Pflanze.

lungen, aber nur in einer Richtung, mit *Sol. tuberosum* als Vater. Nun darf in den 36-chromosomigen triploiden Bastarden wahrscheinlich eine hohe Sterilität erwartet werden und deshalb wurde im *Sol. macolae* × *Sol. simplicifolium*-Bastard die Chromosomenzahl verdoppelt, was zu sehr kräftigen Pflanzen (Abb. 4)

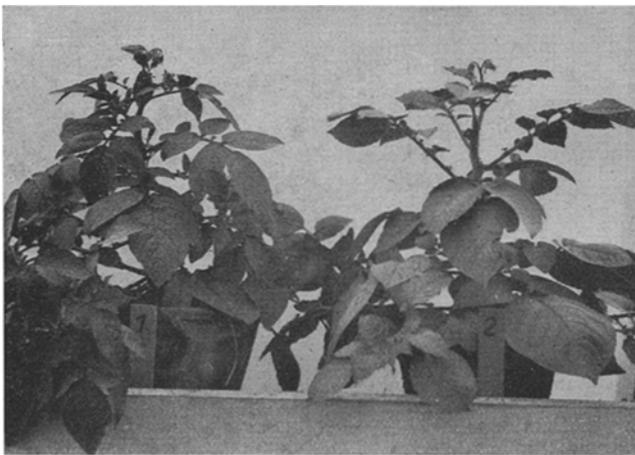


Abb. 4. F<sub>1</sub>-Bastard der Kreuzung *Sol. macolae* × *Sol. simplicifolium*.  
1. Der unbehandelte Bastard (somatische Chromosomenzahl = 24).  
2. Die amphidiploide Form (somatische Chromosomenzahl = 48).

mit einer durchschnittlichen Pollenfertilität von 69% führte, die sich leicht reziprok mit der Kulturkartoffel kreuzen lassen.

Schließlich sei erwähnt, daß die chromosomenverdoppelten, zur Grundzahl 12 oktoploiden, *Sol. longipedicellatum*-Pflanzen (Abb. 5) sich leichter mit *Sol. tuberosum* kreuzen lassen als die unverdoppelte Form ( $2n = 48$ ), genau so wie bei *Sol. acaule*. Die polyploiden Pflanzen haben eine Pollenfertilität von 68% und können auch mit verschiedenen andern Arten wie *Sol. chacoense*, *Sol. acaule* gekreuzt werden. Nach (nicht publiz.) Untersuchungen von Dr. H. J. TOXOPEUS ist *Sol. longipedicellatum* resistent gegen einige in den Niederlanden isolierten *Phytophthora*-Biotypen.

### Zusammenfassung.

Die Colchicin-Agar-Methode der Chromosomenverdoppelung, die Hydroxyquinolin-Orcein-Ausstrichpräparatmethode und ein Verfahren gegen Blütenabfall bei hoher Temperatur werden beschrieben. Weiter werden die Möglichkeiten der Verwendung der neuhergestellten amphidiploiden Bastarde *Sol. acaule*



Abb. 5. *Sol. longipedicellatum*. 1. Diploid ( $2n = 48$ ). 2. Tetraploid ( $2n = 96$ ).

× *Sol. simplicifolium* und *Sol. macolae* × *Sol. simplicifolium* und der verdoppelten *Sol. longipedicellatum*-Pflanzen in der Kartoffelzüchtung angedeutet.

Dr. H. J. TOXOPEUS vom „Instituut voor Veredeling van Landbouwgewassen“, Wageningen, hat dankenswerterweise das Material für diese Experimente zur Verfügung gestellt; außerdem verdanke ich ihm wertvolle Anregungen. Professor Dr. R. PRAKKE schulde ich Dank für die Gastfreiheit im „Laboratorium voor Erfelijkheidsleer“ und für seine Ratschläge und Hilfe bei den Untersuchungen.

### Literatur.

1. GERSTEL, D. U.: Hydrochloric acid as a fixative for root tip chromosomes. *Stain Techn.* **24**, 95—97 (1949).
2. GOUWENTAK-REINDERS, C. A. und F. BING: Action de l'acide  $\alpha$ -naphthylacétique contre la chute des fleurs et des fruits de la tomate et son influence sur la couche séparatrice des pédicelles. *Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch., A'dam*, **51**, 1183—1194 (1948).
3. LAMM, R.: Notes on an octoploid *Sol. pumae* plant. *Hereditas* **29**, 193—195 (1943).
4. LAMM, R.: Cytogenetic studies in *Solanum*, Sect. Tuberarium. *Hereditas* **31**, 1—128 (1945).
5. LIVERMORE, J. R. und F. E. JOHNSTONE: The effect of chromosome doubling on the crossability of *Sol. chacoense*, *Sol. jamesii* and *Sol. bulbocastanum* with *Sol. tuberosum*. *Amer. Potato Journ.* **17**, 170—173 (1940).
6. PRAKKE, R. und M. S. SWAMINATHAN: Experiences with the hydroxyquinoline smear technique. *Mededelingen v. d. Landbouwhogeschool, Wageningen* (1950; unter Veröffentlichung).
7. STELZNER, G.: Wege zur züchterischen Nutzung des *Sol. chacoense* in Hinblick auf die Züchtung käferresistenter Kartoffelsorten. *Züchter* **15**, 33—38 (1943, a).
8. STELZNER, G.: Über die Fertilitätsverhältnisse bei Bastardierung zwischen der frostfesten Wildkartoffel *Sol. acaule* und der Kulturkartoffel *Sol. tuberosum*. *Züchter* **15**, 143—144 (1943, b).
9. STELZNER, G.: Über die Erzeugung von Bastarden von *Sol. polyadenium* mit Kulturkartoffelsorten und ihre Resistenzmerkmale. *Züchter* **19**, 331—333 (1949).
10. STELZNER, G. und M. TORKA: *Sol. macolae*, eine neue käferfeste Wildkartoffel. *Züchter* **19**, 68—69 (1948).
11. TJO, J. H. und A. LEVAN: The use of oxyquinoline in chromosome analysis. *Anales de la Estacion Experimental de Aula Dei* **2**, 21—64 (1950).
12. TOXOPEUS, H. J.: Preliminary account of a new amphidiploid — *Sol. artificiale*. *Genetica* **24**, 93—96 (1947).