

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Hohenthurm.  
(Direktor: Prof. Dr. W. HOFFMANN.)

## Vorselektion induzierter autopolyploider Gersten- und Roggenkeimlinge nach der Wurzeldicke.

RUTH PETERS.

Mit 6 Textabbildungen.

### I. Einleitung.

Die Erfahrungen der Polyploidie-Züchtung haben gelehrt, daß ein Erfolg nur erzielt werden kann, wenn auf idiotypisch breiter Grundlage gearbeitet wird. Daher ist die Erzeugung polyploider Pflanzen auf verschiedenster genetischer Grundlage nötig. Wenn auch durch die Entdeckung der Wirkung des Colchizins die Erzeugung polyploider Formen mit großer Sicherheit gelingt, so weisen — wie auch bei allen anderen Methoden zur Polyploidie-Erzeugung — doch nicht alle behandelten Keimlinge oder Sprosse vermehrte Chromosomensätze auf. Man muß in der Behandlungsgeneration mit einer großen Zahl von Pflanzen arbeiten, um mit genügender Sicherheit polyploide Individuen zu bekommen.

Die Durchführung einer großen Anzahl zytologischer Untersuchungen ist technisch nicht ganz einfach. Bei einiger Erfahrung kann man zwar nach dem Habitus diploide und tetraploide Pflanzen unterscheiden. Als Vorselektion können weiterhin noch Messungen der Spaltöffnungen, der Pollenkörner und sonstiger Zellen herangezogen werden. Wie aus unseren eigenen Untersuchungen und Beobachtungen von SCHWANITZ (8) und anderen Autoren hervorgeht, sind derartige Messungen mit einem großen Fehler behaftet und können leicht zu Fehldiagnosen führen, so daß dadurch eine Chromosomenuntersuchung nicht überflüssig wird. Diese Messungen sind außerdem im allgemeinen fast ebenso zeitraubend wie die Herstellung und Sichtung von Quetschpräparaten. Spaltöffnungsmessungen sind bei monokotylen Pflanzen außerdem technisch schwerer durchzuführen als bei dikotylen.

Auch im weiteren Verlauf der züchterischen Bearbeitung polyploider Pflanzen ist es häufig notwendig, eine Kontrolle der polyploiden Formen durchzuführen. Durch mechanische Verunreinigungen, ungewollte Fremdbefruchtungen sowie Zurückregulierungen kann es vorkommen, daß diploide Pflanzen im Zuchtmaterial wieder auftreten, die bei der züchterischen Bearbeitung erkannt und wieder ausgemerzt werden müssen.

Zur Bearbeitung eines großen Materials wurde daher nach einer einfachen Vorselektionsmethode gesucht, die schon im frühen Keimlingsstadium erkennen läßt, ob Polyploidie vorliegt.

### II. Material und Methode.

Die Untersuchungen wurden an Gerste und Roggen durchgeführt. Als Gerstenmaterial standen Populationen tetraploider Formen zur Verfügung, die aus dem im Jahre 1938 von FREISLEBEN (1) durch Hitzeschock erzeugten Material hervorgegangen waren. Da FREISLEBEN (1) damals schon von dem Gesichtspunkt ausging, daß von autopolyploiden Formen nur dann ein züchterischer Fortschritt erwartet werden kann,

wenn das Material eine große erbliche Variabilität besitzt, wurde die Genomverdoppelung in direktem Anschluß an die künstliche Bastardierung nach der RANDOLPHSchen Hitzeschockmethode (5) vorgenommen. Da nicht jede Behandlung gelingt, sind gleichzeitig genügend Kontrollpflanzen vorhanden. Weiterhin gelangte der diploide Roggen-Stamm 3207, eine Auslese aus „Erzgebirgischem Landroggen“, ein Inzuchtstamm 3213 I<sub>3</sub>, aus einem Balkanroggen und ein besonders großkörniger Roggen aus Salzmünde<sup>1</sup> zur Untersuchung. Als polyploider Vergleich diente der tetraploide B-Stamm 3558 aus Petkuser-Normalstrohroggen, der aus einer Einzelpflanzennachkommenschaft ausgelesen wurde und seit 1949 in Hohenthurm bearbeitet wird.

Die zytologischen Untersuchungen wurden an Wurzelspitzen durchgeführt. Die Körner wurden in großen Petrischalen ausgelegt und angekeimt; die Wurzelspitzen 24 Std. in dem abgewandelten ERNSTSchen Karmin-Essigsäure-Verfahren (nach GEITLER, 2) fixiert, bestehend aus 9 Teilen Karmin-Essigsäure, 6 Teilen absolutem Alkohol, 3 Teilen Eisessig, in Karmin-Essigsäure gekocht und gequetscht.

### III. Ergebnisse.

#### A. Gerste.

Bei der Auslese von Einzelpflanzen aus den genannten Populationen FREISLEBENS (1), die im Laufe der Jahre und besonders durch die Kriegseinwirkung stark verunreinigt waren, fielen besonders großkörnige Pflanzen auf, die sich durch gute Fertilität auszeichneten. Die Untersuchungen dieser Gersten und des Nachbaues ergaben, daß jedoch nur 2 polyploid waren. Auffallend war bei den gekeimten Körnern dieser beiden tetraploiden Pflanzen, daß die Wurzelspitzen erheblich dicker waren als die aller diploiden. Diese Erscheinung war so auffallend, daß sie zu der Annahme führte, polyploide Formen an ihrer Wurzeldicke erkennen zu können. Als besonders günstiges Moment ist bei dieser Art der Vorauslese außerdem die Tatsache zu werten, daß kein besonderer Arbeitsgang notwendig ist, sondern die Bestimmung der Wurzeldicke nur eine zusätzliche Beobachtung vor der Fixierung zur zytologischen Untersuchung darstellt. Zur Bestätigung der Annahme wurden zunächst 139 große Gerstenkörner eingekeimt. 20 hatten dickere Wurzeln, davon waren 19 tetraploid und eine zeigte die bereits von GREIS (3) beschriebene Chimärenbildung, also 2n und 4n Zellen innerhalb einer Wurzelspitze. Die restlichen 119 Gersten mit den dünnen Wurzeln waren diploid.

<sup>1</sup> Herrn Saatzuchtleiter SCHICHT, Salzmünde, danke ich bestens für die freundliche Überlassung des großkörnigen Roggens.

Mit Hilfe des Mikroskopes wurden zunächst die mit dem Auge sichtbaren Unterschiede der Wurzelstärke untersucht und genau gemessen. Die Messungen erfolgten im Bereich der beginnenden Wurzelbehaarung (Tab. 1). Wie aus Tab. 1 hervorgeht wurden die beiden Eltern, Heine's 4zeilige und Weihenstephaner, sowie die 2n- und 4n-Populationen aus dieser Kreuzung untersucht. Die mittleren Wurzelstärken der 2n Formen schwanken nur von 0,343–0,351 mm, während die polyploiden um 0,1 mm dickere Wurzeln zeigen. Die Unterschiede zwischen den Diploiden und den Tetraploiden sind sehr gut gesichert (Tabelle 1a). Die Wurzelstärke ist bei den Diploiden nicht abhängig vom Tausendkorngewicht (TKG).

Tabelle 1.

Vergleichsmaterial u. Polyploidiestufe	Wurzelstärke mm	n	Tausend- korngewicht
2n Heine's 4zeilige	0,350 ± 0,0029	50	43,5
2n Weihenstephaner	0,351 ± 0,0030	48	31,9
2n Kreuzungspopulation	0,343 ± 0,0035	39	47,1
4n Kreuzungspopulation	0,447 ± 0,0032	68	55,7

Tabelle 1a. Signifikanz der Differenzen.

Differenz-Faktor	t-Wert	p-Wert (nach Patau, 4)
2n Weihensteph./4n-Krztg. populat.	21,8	< 0,0002
2n H's 4zeilige/4n-Krztg. populat.	22,6	< 0,0002
2n/4n-Kreuzungspopulation	22,1	< 0,0002

Die Richtigkeit der Vorauslese fand in zytologischen Untersuchungen ihre Bestätigung. Innerhalb der Populationen war eine erhebliche Variabilität der Korngröße vorhanden, so daß das Material in 3 Gruppen eingeteilt wurde. Zunächst entnahmen wir eine Probe ohne auf die Korngröße zu achten, Gruppe I (Tab. 2), danach wurden die großen Körner ausgelesen, Gruppe II (Tab. 2); von dem Rest, der nun nur noch aus normalen bis kleinen Körnern bestand, kamen ebenfalls eine größere Menge zur Ankeimung, Gruppe III (Tab. 2).

Diese 3 Gruppen und die beiden Kreuzungseltern je Population wurden in der bereits beschriebenen Weise nach 2–3 Tagen durch die Bonitur der Wurzelstärke mit dem Auge ohne Zusatz einer Lupe vorselektiert (Abb. 1). Auch Körner mit längeren Keimwurzeln nach einer Ankeimung von 4–5 Tagen können noch als 2n- oder 4n-verdächtig nach ihrer Wurzelstärke unterschieden werden (Abb. 2).

Es wurden nun Keimlinge mit dicken und dünnen Wurzelspitzen gesondert fixiert und zytologisch untersucht, um die Sicherheit der Vorselektion festzulegen (Abb. 3 u. 4).

Die Ergebnisse der Wurzelbonitur und der zytologischen Untersuchungen aller Populationen sind aus Tab. 2 ersichtlich.

Tabelle 2.

Gruppe	gekeimte Körner	dicke Wurzeln	zytolog. Bonitur	%
I	2459	11	9 = 4n	81,8
II	723	84	80 = 4n	95,2
III	4592	46	41 = 4n	89,1
		141	130 = 4n	92,2%

Von 141 auf Grund der dicken Wurzelspitzen polyploid verdächtigen waren insgesamt 130 zytologisch 4n-Formen. Besonders in der Gruppe II, die auf Grund der Korngröße polyploid erschien, waren sogar 95,2% der dickwurzeligen Keimlinge, die alle zur Untersuchung gelangten, tetraploid. In der Gruppe I liegt der Wert, wahrscheinlich infolge des geringen Zahlenmaterials, etwas niedriger. Aus Gruppe II wurden außerdem 67 Keimlinge mit dünnen Wurzeln untersucht, 64 waren davon diploid und nur 3 = 4,5% zeigten polyploide Zellen.

Zur weiteren Sicherung der Ergebnisse wurden im Frühjahr 1953, kurz vor der Sommergerstenaussaat, die tetraploiden Gersten-Populationen angekeimt und auf Wurzelstärke untersucht. Von insgesamt 46 774 angekeimten Samen hatten 976 eine dickere Wurzel und wurden ausgelegt. Eine größere Anzahl Körner mit dünnen Wurzeln kam ebenfalls zur Aussaat. Während der Vegetation wurden außer den üblichen

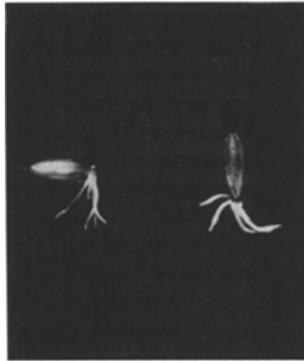


Abb. 1. Gerstenwurzeln nach zweitägiger Keimung, links diploid, rechts tetraploid.



Abb. 2. Gerstenwurzeln nach viertägiger Keimung, links diploid, rechts tetraploid.

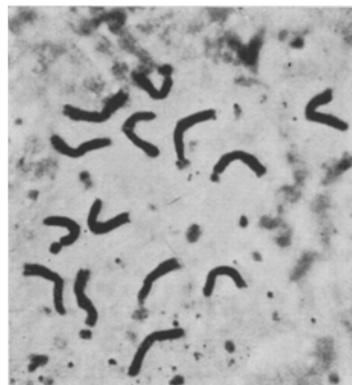


Abb. 3. 2n Gersten-Mitose, 2n=14, Phasenkontrast, 1350fache Vergrößerung.



Abb. 4. 4n Gersten-Mitose, 4n=28, Phasenkontrast, 1350fache Vergrößerung.

Bonituren keine besonderen Beobachtungen angestellt. Die Ernte sowie die Verarbeitung erfolgte einzelpflanzenweise.

Von 385 Einzelpflanzen, die nach Vorselektion auf ihre Wurzelstärke als 4n-verdächtig ausgelesen waren und die geerntet werden konnten, wurden 133 zytologisch untersucht (Tab. 3). Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, waren etwa 91% dieser untersuchten Pflanzen polyploid, ca. 15% davon waren jedoch Chimären.

Tabelle 3

Bonitur der Wurzelstärke vor der Aussaat	Zytologische Untersuchungen nach der Ernte	n	%
4n	4n	101	75,9
4n	4n + 2n	20	15,1
4n	2n	12	9,0

Von 278 Einzelpflanzen, die als diploid vorselektiert waren, sind 119 zytologisch untersucht worden und ergaben folgendes Bild in Tab. 4.

Tabelle 4

Bonitur der Wurzelstärke vor der Aussaat	Zytologische Untersuchungen nach der Ernte	n	%
2n	2n	113	95,0
2n	2n + 4n	5	4,2
2n	4n	1	0,8

Beobachtungen an den Keimwurzeln dieser zytologisch untersuchten Einzelpflanzennachkommenschaften ergaben eine 100%ige Übereinstimmung zu der Wurzelstärke und den 2n- und 4n-Chromosomenzahlen, wobei die Formen, die sowohl 2n- als auch 4n-Genome hatten, in die Gruppe der mit dicken Wurzeln versehenen Keimlinge fielen.

### B. Roggen.

Auch bei Roggen erfolgten zunächst die mikroskopischen Wurzelstärkenmessungen, die zu analogen Ergebnissen wie bei der Gerste führten (Tab. 5). Auch hier haben alle Diploiden erheblich dünnere Wurzeln als der tetraploide Stamm (Abb. 5. u. 6). Der großkörnige Salzmünder Stamm zeigt nur eine geringe Zunahme der Wurzelstärke gegenüber dem diploiden Stamm, obwohl das Tausendkorngewicht bedeutend höher liegt und sogar den Tetraploiden übertrifft.

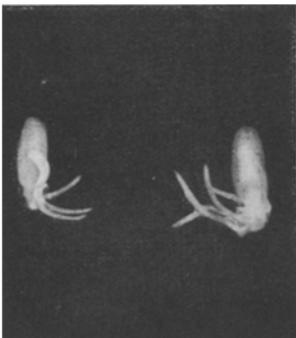


Abb. 5. Roggenwurzeln nach zweitägiger Keimung, links diploid, rechts tetraploid.



Abb. 6. Roggenwurzeln nach viertägiger Keimung, links diploid, rechts tetraploid.

Tabelle 5

Vergleichsmaterial u. Polyploidiestufe	Wurzelstärke mm	n	Tausendkorngewicht
2n Inzucht Roggen, St. 3213	0,313 ± 0,0024	38	29
2n St. 3207	0,316 ± 0,0022	35	42
2n Salzmünde, großkörnig	0,331 ± 0,0028	37	66
4n St. 3558	0,418 ± 0,0026	40	64

Tabelle 5a. Signifikanz der Differenzen

Differenz-Faktor	t-Wert	p-Wert (nach PATAU, 4)
2n Inzucht Roggen/2n	0,9	0,345
2n Salzmünde, großkörnig/2n	4,2	< 0,0002
2n/4n	30,0	< 0,0002
2n Salzmünde, großkörnig/4n	22,9	< 0,0002

Auch hier sind die Differenzen zwischen den diploiden und den tetraploiden Wurzelstärkenmessungen sehr gut statistisch gesichert (Tab. 5a).

Da bei dem Roggenmaterial die Valenzstufe festliegt, wurden nur wenige zytologische Untersuchungen zur Bestätigung durchgeführt. Es zeigte sich in allen Fällen, daß die dünnen Wurzelspitzen diploid waren, während die Keimlinge mit dicken Wurzeln sich als tetraploid erwiesen. Chimären traten nicht auf.

### IV. Diskussion.

Die hier vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Dicke der Wurzelspitzen in einfacherer Weise als die Spaltöffnungs- und Pollenmessungen zur Vorselektion polyploider Pflanzen verwendet werden kann. Besonders wertvoll erscheint die Methode in denjenigen Fällen, in denen mit einer Zurückregulierung der Chromosomen gerechnet werden muß und größeres Zuchtmaterial laufend überprüft werden soll.

Auf die Vergrößerung der Wurzeln bei Tetraploiden verschiedener Arten wurde schon häufig hingewiesen, ohne daß diese Erscheinung als Merkmal zur Vorselektion polyploider Pflanzen ausgewertet wurde (zitiert bei SCHWANITZ, 7). Die Übereinstimmung der Vorselektion nach der Wurzelstärke mit den zytologisch festgestellten Chromosomenzahlen beträgt etwa 92%; die Feststellung der Wurzelstärke ist daher zur Vorselektion durchaus brauchbar, um das Material, das zytologisch untersucht werden muß, einzuschränken. Diese Methode stellt somit eine wesentliche Erleichterung zur Auffindung polyploider Formen ohne zusätzlichen Arbeitsaufwand dar.

Die Zurückregulierungen, die nach GREIS (3) und ROSENDAHL (6) auf Störungen während des Meiosisablaufes zurückzuführen sind, werden auch von anderen Autoren bei verschiedenen Kulturarten erwähnt und traten auch in unserem Gerstenmaterial, 1953 mit ca. 15%, auf. Wie diese Zurückregulierungen in unserem Material zustande kommen, konnte durch die vorliegenden Untersuchungen noch nicht geklärt werden, und es bedarf hier noch weiterer Beobachtungen besonders an solchen Pflanzen, die 2n- und 4n-Zellen in einer Wurzelspitze aufweisen.

Da sowohl das Gersten- als auch Roggenmaterial züchterisch langjährig bear-

beitet ist, handelt es sich nicht mehr um sogenannte „Rohpolyploide“, sondern um züchterisch verbesserte Linien und Familien, die durch Auslese auf Fertilität und andere züchterische Merkmale erreicht wurden. Von großem Interesse könnten daher die  $4n$ -Pflanzen sein, bei denen dünne Wurzeln auftreten. Wenn es sich bestätigen sollte, daß diese tetraploiden Pflanzen stets dünne Wurzeln besitzen, so könnte es sich hier, analog zu den Ergebnissen von v. WETTSTEIN an Moosen (9), um eine Zurückregulierung der Zellgröße handeln. Solche Pflanzen wären im Zusammenhang mit Fertilitätsuntersuchungen und Zellgrößenmessungen von besonderer Bedeutung. Zur Klärung dieser Frage bedarf es aber noch weiterer Untersuchungen während mehrerer Generationen. Da erfahrungsgemäß Rohpolyploide größere Wurzeldicken aufweisen, kann das seltene Auftreten solcher  $4n$ -Pflanzen mit dünnen Wurzeln den Wert der Vorselektionsmethode kaum beeinträchtigen.

Aus den Untersuchungen an Roggen und Gerste ergibt sich, daß dieselbe Erhöhung des TKG, wie sie durch die Polyploidie erreicht wird, auch auf diploider Grundlage erzielt werden kann. Der auf Großkörnigkeit ausgelesene Salzmünder Roggen hat ein noch höheres TKG als der tetraploide Roggen und zeigt dabei nur eine geringe Verdickung der Wurzeln, die aber bei weitem nicht an die Vergrößerung der Wurzeldicke des polyploiden heranreicht. Auch bei der Gerste konnten aus dem FREISLEBENSCHEN Material Einzelpflanzennachkommenschaften ausgelesen werden, die im TKG an dasjenige der tetraploiden Gersten heranreichen, ohne daß eine Wurzelverdickung feststellbar ist. Diese Beobachtungen sind im Zusammenhang mit den Betrachtungen, die SCHWANITZ über die Zellgröße als Grundelement der Phylogenese und Ontogenese (7) anstellt, von Bedeutung.

Versuche mit anderen Objekten, *Brassica*-, *Triticum*- und *Linum*-Arten, sind im Gange, es scheint jedoch, als ob nur an Autopolyploiden die Wurzelverdickung zur Diagnose zu verwerten ist, da Allopolyploide keine sicheren Unterschiede zeigen. So ist z. B. zwischen *Triticum monococcum*, *Tr. dicoccum* und *Tr. aestivum* kein Unterschied festzustellen, jedoch sind hier noch weitere Untersuchungen nötig.

### V. Zusammenfassung.

1.  $2n$ - und  $4n$ -Formen zeigen große statistisch gesicherte Unterschiede in der Wurzeldicke. Da diese

Unterschiede auch mit dem Auge sichtbar sind, kann die Wurzeldicke als einfaches Vorselektionsmerkmal polyploider Keimlinge verwendet werden.

2. Die zytologische Untersuchung der Keimlinge mit dicken Wurzeln ergab eine Übereinstimmung mit der tetraploiden Chromosomenzahl bei Gerste von ca. 92%.

3. Bei Gerste konnten wiederholt Chimären mit  $2n$ - und  $4n$ -Zellen in der Wurzelspitze festgestellt werden, die noch weiter untersucht werden sollen.

4.  $4n$ -Roggen zeigte in allen Fällen eine verdickte Wurzel. Diploide Stämme mit sehr hohem Tausendkorngewicht weisen dünne Wurzelspitzen auf, die nur geringfügig gegenüber dem normal-körnigen Roggen verstärkt sind. Regelwidrige Abweichungen zwischen Wurzeldicke und Chromosomenzahl sowie Chimären konnten bei dem untersuchten Roggen-Material nicht festgestellt werden.

5. Ob mit Hilfe der Feststellung der Wurzeldicke auch bei anderen Arten Unterschiede in der Polyploidie-Stufe erkannt werden können, muß noch geprüft werden. Die Verwendungsmöglichkeiten scheinen bei Autopolyploiden bessere als bei Allopolyploiden zu sein.

Nach Beendigung der Untersuchungen möchte ich Herrn Prof. Dr. W. HOFFMANN für wertvolle Anregungen und die bei der Arbeit gewährte Hilfe und Unterstützung herzlichst danken.

### Literatur.

1. FREISLEBEN, R.: Untersuchungen an tetraploiden Kulturgersten. Forschungsdienst, Sonderheft 16, 361, (1942). — 2. GREITLER, L.: Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchungen. 2. Aufl., Springer, Wien (1949). — 3. GREIS, H.: Vergleichende physiologische Untersuchungen an diploiden und tetraploiden Gersten. Züchter 12, 62, (1940). — 4. PATAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. Biol. Zbl., 63, 152, (1943). — 5. RANDOLPH: Some effects of high temperature on polyploidy and other variations in maize. Proc. nat. Ac. Sci. 18, 222, (1932). — 6. ROSENDAHL, G.: Zytologische Untersuchungen an tetraploiden Gersten. Kühn-Archiv 60, 238, (1943). — 7. SCHWANITZ, F.: Die Zellgröße als Grundelement in Phylogenese und Ontogenese. Züchter 23, 17 (1953). — 8. SCHWANITZ, F.: Einige kritische Bemerkungen zur Methode der Bestimmung der Polyploidie durch Messung der Pollen- und Spaltöffnungsgröße. Züchter 22, 273 (1952). — 9. v. WETTSTEIN, D.: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. Ztschr. indukt. Abst.- u. Vererbungslehre 33, 1, (1924).

(Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben und der Agrarmeteorologischen Forschungsstation Aschersleben des Meteorologischen und Hydrologischen Dienstes der DDR.)

## Mikroklimatische Untersuchungen bei Kartoffelschorf-Infektionen in Lohtöpfen unter Freilandbedingungen.

Von G. M. HOFFMANN und H. SCHRÖDTER.

Mit 8 Textabbildungen.

### I. Einleitung.

In vorangegangenen Untersuchungen von KLIN-KOWSKI und HOFFMANN (13) konnte in Anlehnung an HOCKER (10) eine Methode zur Resistenzprüfung der Kartoffelsorten gegenüber dem Kartoffelschorf (*Streptomyces scabies* (THAXT.) WAKSMAN et HENRICI) entwickelt werden. In dem Bestreben, die Prüfungen unter möglichst natürlichen Verhältnissen durchzu-

führen, wurden mit einer abgewandelten Methode Freilandversuche angestellt, die die Brauchbarkeit des Verfahrens bestätigten [HOFFMANN (9)]. Resistenzprüfungen im Freiland haben gegenüber Gewächshausuntersuchungen eine Reihe von Vorzügen aufzuweisen. Die Boden- und Düngungsverhältnisse können entsprechend den acker- und pflanzenbaulichen Ansprüchen gestaltet werden. Die Pflanzen vermögen