

sind darauf zurückzuführen, daß die Blätter vor dem Auspressen 5 Min. in Wasser gebadet wurden, was wie sich inzwischen gezeigt hat (u. a. DALE u. THORNBERRY 1956), nicht empfehlenswert ist.

Im folgenden Versuch wurde zur Kontrolle noch die Frage geprüft, ob der Blattsaft von 41956 infektiionshemmend wirkt. Wenn dem so wäre, so wären die erhaltenen Infektionswerte kein brauchbarer Maßstab des relativen Gehalts der Säfte an aktivem Virus:

Gleiche Mengen eines X-Impfsaftes (von groben Beimengungen befreiter Rohsaft aus Samsuntabak) wurden im einen Fall mit unterschiedlichen Mengen eines Blattsaftes aus 41956, im anderen mit ebensolchen Mengen eines Blattsaftes aus Samsuntabak (gesund) gemischt. Die Mischungsverhältnisse waren

1 Teil Impfsaft : 1 Teil Blattsaft  
1 Teil Impfsaft : 5 Teilen Blattsaft  
1 Teil Impfsaft : 10 Teilen Blattsaft.

Die einzelnen Gemische wurden durch Verimpfung auf die beiden Blätter von 16 Blattpaaren von *Gomphrena* nebeneinander vergleichbar getestet. Ergebnis auf Tabelle 3.

Tabelle 3. Anzahl Einzelherde je Blatt (Mittelwerte).

Blattsäfte aus	Mischungsverhältnis		
	1:1	1:5	1:10
41956	36,9	23,5	15,4
Samsuntabak	36,9	21,8	15,2

Demnach hatten die beiden Blattsäfte keine unterschiedliche Wirkung auf den Infektionserfolg; die geringen Abweichungen bei 1:5 und 1:10 sind nicht

signifikant. Da der Saft des Samsuntabaks keine infektiionshemmende Wirkung hat (KÖHLER, unveröff.), ist dies auch von dem 41956-Saft anzunehmen.

### 3. Zusammenfassung

Nach den mitgeteilten Untersuchungsergebnissen ist es höchst unwahrscheinlich, daß sich das X-Virus in den Blättern des immunen U.S.-Sämlings 41956, wenn auch nur zeitweise, vermehrt. Auf die Blätter verimpft verlor es seine Infektiosität in der Gewächshauspflanze sehr rasch (in etwa 72 Std.), im Kühlraum bei 2° C dagegen sehr langsam (in etwa 21 Tagen). In anderen Versuchen war das Virus an der Gewächshauspflanze noch 4 bis 5 Tage p. i. in geringer Menge nachweisbar. Die Unterschiede im Inaktivierungstempo sind vermutlich temperaturbedingt.

Der Blattsaft aus 41956 hat keine infektiionshemmende Wirkung bei Verimpfung zu *Gomphrena globosa*.

Die Frage, ob der Infektiositätsverlust in den Blättern von 41956 einer anderen Gesetzmäßigkeit folgt als in denen anderer Arten und Sorten, in denen das Virus nicht vermehrungsfähig ist, bleibt noch zu prüfen.

### Literatur

1. CLINCH, P. E. M.: Observations on a severe strain of potato virus X. *Sci. Proceed. Roy. Dublin Soc.* **23**, 273—299 (1944). — 2. HUTTON, E. M. u. WARK, D. C.: A relationship between immunity and localized reaction to virus X in the potato. *Austral. J. Sci. Res. — Ser. B.* **5**, 237—243 (1952). — 3. LAUFFER, M. A. u. PRICE, W. C.: Thermal denaturation of tobacco mosaic virus. *Journ. Biol. Chemistry* **133**, 1—15 (1940). — 4. SCHULTZ, E. S., CLARK, C. F., BONDE, R., RALEIGH, R. P. u. STEVENSON, F. J.: Resistance of potato to mosaic and other virus diseases. *Phytopath.* **24**, 116—132, 1934. — 5. Scottish Plant breeding Station. (1953) *Ann. Report*, Edinburgh.

(Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Göttingen)

## Eine vereinfachte Methode zur Prüfung von Steinklee-Individuen auf Cumarin

Von ALEXANDER MICKE

Mit 2 Textabbildungen

Erfolgreiche Mutationszüchtung hängt sehr wesentlich von dem Vorhandensein geeigneter Methoden zur Auslese der gesuchten Formen ab. Dies gilt insbesondere bei der Züchtung auf qualitative Leistungseigenschaften. Hierbei kommt es einerseits darauf an, zunächst mit Hilfe einer einfachen Serienmethode innerhalb kurzer Zeit ein umfangreiches Pflanzenmaterial zu testen, zum anderen dann durch eine zuverlässige Nachuntersuchung ein einwandfreies Zahlenmaterial für die ausgelesenen Individuen zu gewinnen.

Bei der Züchtung eines bitterstofffreien Steinklees sind zur genauen quantitativen Analyse verschiedene chemische und colorimetrische Methoden in Gebrauch (2), (3), (6), (7), (8), (12). Da sie in vieler Hinsicht nicht befriedigen, sind Arbeiten zu ihrer Verbesserung im Gange (1). Als Methode zur Massenauslese cumarinarmer Formen hat sich die 1934 von UFER eingeführte fluoreszenzoptische Prüfung bewährt (13). Sie wird sowohl in Deutschland als auch in Kanada und in den USA angewandt und beruht nach UFER (14) auf der gelbgrünen Fluoreszenz der Orthocumarsäure, die nach 2 $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen der Blattproben „in

konzentrierteren Alkalien“ aus Cumarin entstanden sein soll. Durch Mischung mit der roten Fluoreszenz des Chlorophylls ist in Grenzen auch eine quantitative Abschätzung möglich. SLATENSEK und WASHBURN präzisierten die ziemlich subjektive Prüfung durch Verwendung eines Photofluorometers (11), (15). Wünschenswert blieb eine weitere Vereinfachung mit dem Ziel der Arbeits- und Kostenersparnis.

Im Rahmen unserer Versuche, bei *Melilotus albus* mit Hilfe von Röntgenstrahlen und Chemikalien Mutationen auszulösen (4), (5), (9), haben wir umfangreiches Steinkleematerial nach der Methode von UFER (14) auf Cumaringehalt getestet. Wir verwendeten dazu eine Hochleistungs-Mikroskopierleuchte der Fa. Zeiss mit dem Quecksilberhöchstdruckbrenner Osram HBO 74 und einem blauen Erregerfilter Schott BG 12, dessen Strahlendurchlässigkeit zwischen etwa 3500 und 5000 Å liegt (Abb. 1). Dieses Filter ist speziell für die Erregung von Fluoreszenzlicht im gelben und roten Bereich vorgesehen. Es erlaubt, die nach UFER durch 2 $\frac{1}{2}$ stündiges Kochen mit NaOH vorbereiteten Blattproben rasch und relativ sicher zu prüfen. Die Beobachtung erfolgt normaler-

weise mit bloßem Auge, wobei eine starke Reflektion von Blaulicht häufig die sichere Farbbeurteilung erschwert. Diese Störung läßt sich vermeiden, indem man entweder die zu prüfenden Proben durch ein Orangefilter betrachtet (z. B. Schott OG 4 oder OG 5), oder aber statt des Erregerfilters BG 12 ein für kürzerwelliges Licht durchlässiges Filter verwendet. Für den vorliegenden Zweck eignen sich besonders die Filter Schott UG 2 und UG 5 (Spektrale Transmission s. Abb. 1).

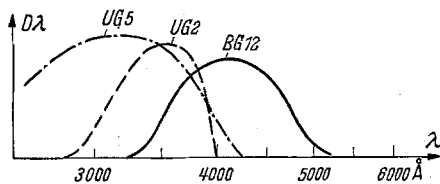


Abb. 1. Spektrale Transmission der Erregerfilter SCHOTT UG 2, UG 5 und BG 12.

In weiteren Versuchen stellte sich heraus, daß bei Anwendung dieser UV-durchlässigen Erregerfilter eine Prüfung auf Cumarin ohne jegliches Erhitzen oder Kochen möglich ist. Cumarin löst sich bekanntlich rasch in Alkalien. Gibt man zu einigen Kristallen reinen Cumarins einen Tropfen Natronlauge und beobachtet im UV-Licht, so zeigt sich, daß von der Oberfläche der Kristalle augenblicklich eine gelb-grüne Fluoreszenz ausgeht. Nach kurzer Zeit fluoresziert die ganze Lösung. Versuche mit Kombinationen verschiedener Erregerfilter ergaben, daß für die Fluoreszenz einer alkalischen Cumarin-Lösung ein gewisses Quantum Erregerlicht aus dem Spektralbereich unterhalb etwa 4000 Å erforderlich ist. Beim Hintereinanderschalten der beiden Filter BG 12 und GG 4 wird der erregende Spektralbereich auf 3700—5000 Å begrenzt. Es läßt sich lediglich die rote Fluoreszenz des Chlorophylls beobachten. Bei einer Kombination der Filter UG 2

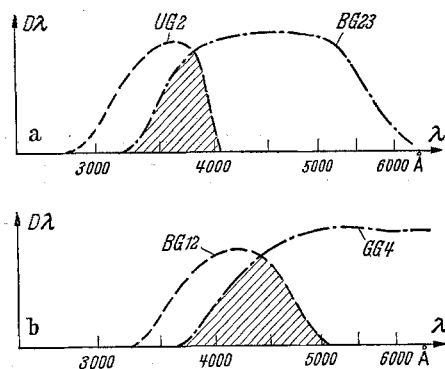


Abb. 2. Kombination verschiedener Erregerfilter.

a. Anregung von roter Chlorophyllfluoreszenz und gelber Cumarinfluoreszenz.

b. Nur Anregung von roter Chlorophyllfluoreszenz.

(Schraffiert jeweils der Bereich des von beiden Filtern durchgelassenen Erregerlichtes.)

und BG 23 reicht dagegen die Wellenlänge des Erregerlichtes von 3200—4000 Å mit dem Ergebnis, daß außer dem Chlorophyll auch das Cumarin zur Fluoreszenz angeregt wird (Abb. 2). Dieser Befund wurde mit dem Spektralphotometer Zeiss PMQ II nachgeprüft. Es bestätigte sich, daß eine Lösung von Cumarin in Natronlauge Strahlen von einer Wellenlänge zwischen 2000 und 4000 Å besonders stark absorbiert, oberhalb 4000 Å das Licht jedoch praktisch abgeschwächt durchtreten läßt.

Die Anwendung dieser Methode auf frisches Pflanzenmaterial von *Melilotus* ergab eine ebenso rasche und eindeutige Reaktion wie bei der Verwendung kristallisierten Cumarins. Die zu prüfenden Blätter wurden lediglich etwas verletzt und einige Tropfen NaOH hinzugegeben. Bei einer 10prozentigen Natronlauge fielen bereits nach 10 Sek. die cumarinhaltigen Proben durch ihre helle gelbgrüne Fluoreszenz auf. Die Laugenkonzentration spielt hierbei offenbar keine wesentliche Rolle. Auch mit NaOH von nur 0,2% war die Prüfung einwandfrei durchzuführen, sie dauerte allerdings etwas länger. Jungpflanzen cumarinreichen und cumarinarmen Steinklees im 4-Blattstadium ließen sich mit dieser Methode sogar im Dezember sicher trennen, ohne daß dafür eine zusätzliche Belichtung erforderlich gewesen wäre. Man wird also in Zukunft die Jungpflanzen bereits vor dem Auspflanzen ins Freiland auf ihren Cumarin Gehalt prüfen und dadurch die benötigten Versuchsfelder bedeutend verringern können. Das ist beim Steinklee besonders wertvoll, weil die Einzelpflanze bei den üblichen Prüfungen im Zuchtgarten einen sehr großen Standraum erfordert.

In ähnlicher Weise lassen sich einzelne trockene Samen prüfen. Sie brauchen nicht verletzt zu werden, wie das für die mikroskopische Untersuchung nach SCHRÖCK (10) notwendig ist. Man legt einen Samen in einen Tropfen NaOH und kann bereits nach etwa einer Minute feststellen, ob er Cumarin enthält. Bei einer Laugenkonzentration von 0,5—0,2% wird die Keimfähigkeit nicht beeinträchtigt, sofern man den Samen nicht länger als 5 Minuten in der Lauge beläßt und anschließend abspült.

Diese vereinfachte Methode bringt eine bedeutende Arbeits- und Kostenersparnis. Der Wegfall des Kochens erhöht außerdem die Zuverlässigkeit der Untersuchungen, weil z. B. in Zukunft Störungen durch ein Eindringen von Kondenswasser in die Proben vermieden werden können.

Diese sowie weitere Untersuchungen am *Melilotus*-Problem wurden durch das Niedersächsische Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten unterstützt, wofür wir hierdurch unseren Dank aussprechen.

Die Unterlagen über die Lichtdurchlässigkeit der Filter wurden freundlicherweise von der Fa. Zeiss-Oberkochen zur Verfügung gestellt.

#### Literatur

1. BEHR, G., HÜLSMANN, G. und THILO, L.: Kritische Untersuchungen zur Bestimmung von Cumarin, Melilotsäure und Cumarsäure in Pflanzenteilen. *Angew. Botanik* 31, 63—73, 1957.
2. CLAYTON, J. S. und LARMOUR, R. K.: A comparative colour test for coumarin and melilotic acid in *Melilotus* species. *Can. Jour. Res.*, C, 13, 80—100 (1935).
3. DUNCAN, I. J. u. DUSTENAN, R. B.: Determination of coumarin in sweetclover. *Ind. Eng. Chem. Anal.* 9, 471—474 (1937).
4. HÜLSMANN, G.: Mutationsauslösung mit mutagenen Chemikalien bei *Melilotus albus*. (Unveröffentlicht.)
5. MICKÉ, A.: Die Auswirkungen einer Röntgenbestrahlung lufttrockener Samen von *Melilotus albus* Desr. auf die Bestrahlungsgeneration und deren Nachkommenschaften. Dissertation Gießen 1955.
6. OBERMAYER, E.: Quantitative Bestimmung des Cumarins in *Melilotus*-Arten. *Z. f. Anal. Chemie* 52, 172 (1913).
7. ROBERTS, W. L. und LINK, K. P.: A precise method for the determination of coumarin, melilotic acid and coumaric acid in plant tissue. *Jour. Biol. Chem.* 119, 269—281 (1937).
8. ROBERTS, W. L. u. LINK, K. P.: Determination of coumarin and melilotic acid. *Ind. Eng. Chem. Anal.* 9, 438—441 (1937).
9. SCHEIBE, A. u. HÜLSMANN, G.:

Über das Auftreten bitterstoffarmer Pflanzen von *Melilotus albus* in der C<sub>2</sub>-Generation nach Behandlung mit mutagenen Chemikalien. Naturwissensch. 44, 17, 1957. — 10. SCHRÖCK, O.: Der gegenwärtige Stand der Steinkleezüchtung. Züchter 19, 59—68 (1948/49). — 11. SLATENSEK, J. M. u. WASHBURN, E. G.: A rapid fluorometric method for determination of coumarin and related compounds in sweetclover. J. Amer. Soc. Agron. 36, 704—708 (1944). — 12. STEVENSON, T. M. u. CLAYTON, J. S.: Investigations relative to the breeding of coumarin-

free sweetclover (*Melilotus*). Can. Jour. Res., C, 14, 153—165 (1936). — 13. UFER, M.: Wege und Ergebnisse der züchterischen Arbeit am Steinklee. Züchter 6, 255—258 (1934). — 14. UFER, M.: Ein züchterisch brauchbares Verfahren zur Auslese coumarinreicher Formen beim Steinklee (*Melilotus*). Züchter 11, 317—321 (1939). — 15. WHITE, W. J., SAVAGE, R. G. u. JOHNSTON, F. B.: A slightly modified fluorometric method of testing for coumarin content in sweetclover. Canad. Jour. Agr. Sc. 32, 278—280 (1952).

(Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung Groß-Lüsewitz der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin)

## Arbeiten zur Züchtung krebsresistenter Kartoffeln

Von DIETRICH ROTHACKER

Mit 4 Textabbildungen

### I. Wild- und Primitivkartoffeln als Ausgangsmaterial für die Züchtung auf Krebsbiotypenresistenz — vorläufige Mitteilung

Die bewußte Züchtung und Einführung krebsresistenter Kartoffelsorten in die Praxis zählt zu den beachtlichsten Erfolgen in der Resistenzzüchtung. Seit dem Jahre 1941 wird das Auftreten neuer aggressiver Biotypen des Pilzes beobachtet. Der größte Teil gegen den Normaltyp resistenter Sorten wird von den neuen aggressiven Rassen befallen. Nach HEY (persönl.

Mitteilung) konnten in der DDR bisher mit Sicherheit 4 selbständige Rassen identifiziert werden, die mit den Ortsnamen Dahlem (Normaltyp) = D, Gießübel = G, Pappenheim und Koppatz gekennzeichnet sind. Auch in der Bundesrepublik sind weitere selbständige Rassen gefunden worden. Mit dem Auffinden weiterer neuer Rassen muß gerechnet werden.

Die wenigen gegen den Biotyp Gießübel resistenten Sorten wurden als Ausgangsmaterial für die Züchtung weiterer biotypenresistenter Kartoffelsorten verwendet. Besonderes Interesse fand dabei die Sorte *Mira*, deren Resistenz aus dem Stamm 9089 der Biologischen Reichsanstalt stammt.

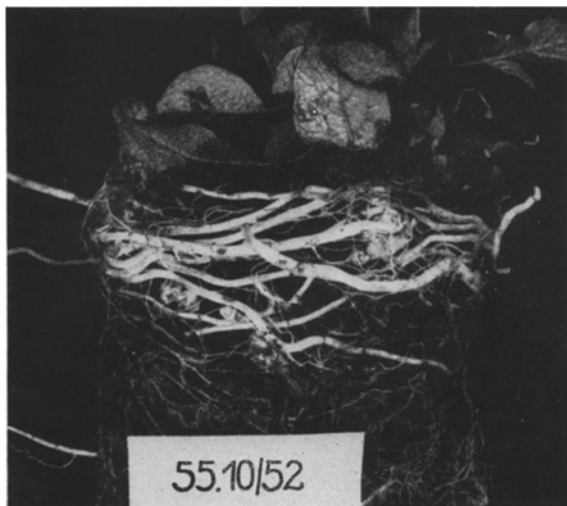


Abb. 1. *Sol. demissum*, Topfballen mit Krebswucherungen an Stolonen.

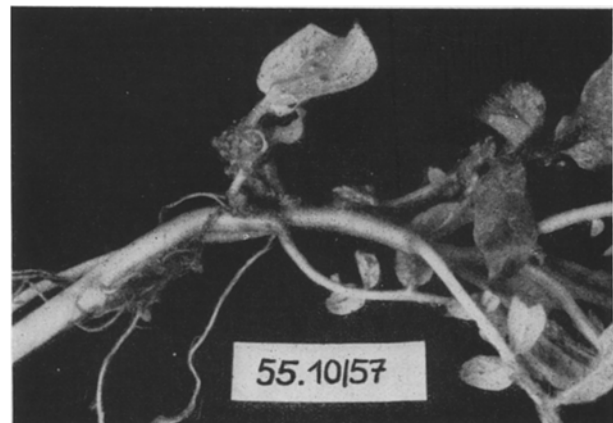


Abb. 2. *Sol. demissum*, Stengel mit Krebswucherungen.

Tabelle 1. Ergebnisse über das Resistenzverhalten einiger Serien knollentragender Solanaceen gegen zwei Krebsbiotypen nach Untersuchungen in den Jahren 1954—1956.

Serie	Biotyp D			Biotyp G		
	Anz. gepr. Arten	Genotypen	Beurteilung 1954—1956	Anz. gepr. Arten	Genotypen	Beurteilung 1956
<i>Pinnatisecta</i>	2	55	anfällig + widerstandsfähig	2	22	anfällig + widerstandsfähig
<i>Commersoniana</i>	13	551	weitgehend widerstandsfähig, vereinzelt anfällig	13	244	teilweise anfällig, teilweise widerstandsfähig
<i>Acaulia</i>	3	135	größtenteils widerstandsfähig, selten anfällig	2	36	größtenteils widerstandsfähig, selten anfällig
<i>Demissa</i>	2	1783	größtenteils anfällig, vereinzelt widerstandsfähig	2	726	größtenteils anfällig, selten widerstandsfähig
<i>Longipedicellata</i>	7	418	voll anfällig	7	307	voll anfällig
<i>Polyadenia</i>	1	47	anfällig	1	32	anfällig
<i>Tuberosa</i>	20	734	anfällig + widerstandsfähig	20	460	größtenteils anfällig, vereinzelt widerstandsfähig