

Aus der Bundesanstalt für Tabakforschung, Forchheim

Anwendung der Tüpfelmethode nach KRAFT in der Pflanzenzüchtung Zur Nikotinbestimmung in grünen Tabakpflanzen

Von G. KOELLE

Einleitung

Unter dem Nikotingehalt einer Tabaksorte versteht man im allgemeinen den Gehalt an Nikotin von getrockneten Blättern. Diese Nikotinmenge im Trockenmaterial ist nicht identisch mit der der grünen Pflanze, da während der Trocknung ein mehr oder weniger starker Nikotinabbau vor sich geht. Eine Pflanzenauslese auf einen gewünschten Nikotingehalt kann daher erst nach der Trocknung geschehen, wenn im Laufe des Winters die Nikotinwerte der Einzelpflanzen bekannt werden, und der Züchter ist damit gezwungen, im Sommer von sämtlichen Einzelpflanzen z. B. einer Aufspaltungsgeneration Samen zu ernten. Es wäre nun eine große Erleichterung, wenn der endgültige Nikotingehalt einer getrockneten Tabakpflanze schon auf dem Felde an den grünen Pflanzen vorbestimmt werden könnte.

In der Tüpfelmethode (KRAFT 1953) ist eine einfache und erprobte Schnellmethode gegeben, die es erlaubt, pro Person und Tag bis zu 500 Einzelpflanzen auf dem Felde (SEEHOFER spricht sogar von 5000) an einem Tag zu untersuchen (SEEHOFER 1956). Es ist nun die Frage, ob der Nikotingehalt einer grünen Pflanze einen Schluß auf die Nikotinmenge ihres Trockenmaterials zuläßt, und inwieweit für den Züchter eine Bestimmungsmethode an grünen Pflanzen anwendbar ist.

Material und Methode

Als Versuchsmaterial dienten die etwa je 1000 Einzelpflanzen umfassenden F_2 -Generationen von zwei Kreuzungen, und zwar FO (Forchheimer Ogrodowy) \times Virgin A, angebaut 1956, und FO \times Havanna IIc, angebaut 1958, beides Kreuzungen zwischen einer nikotinarmen, d. h. stark abbauenden Sorte, dem FO, und jeweils einer nikotinreichen, d. h. wenig abbauenden Sorte, dem Virgin A und Havanna IIc.

Jede Einzelpflanze der beiden Aufspaltungsgruppen wurde im Grünzustand nach der Tüpfelmethode und später nach der Trocknung mit der Pikratmethode (KOENIG und DÖRR 1934) auf ihren Nikotingehalt untersucht. Die Tüpfel wurden nach subjektivem Ermessen mit den Wertzahlen 0 bis 4 bonitiert, wobei 0 keinerlei Rotfärbung also Nikotinfreiheit, 4 stärkste Rotfärbung also hoher Nikotingehalt, bedeutet.

Für die Nikotinbestimmung an Trockenmaterial wurden von jeder Pflanze 10 Blätter geerntet, eingefädelt, im Trockenschuppen langsam getrocknet und dann gemahlen. Von dem so gewonnenen Trockenmaterial jeder einzelnen Pflanze wurden 10 g eingewogen und ihr Nikotingehalt nach der Pikratmethode bestimmt.

Ergebnis

Das Aufspaltungsverhältnis dieser beiden F_2 -Generationen soll uns in diesem Zusammenhang nicht interessieren. Wesentlich ist nur, daß es sich in bezug auf Nikotingehalt um heterogenes Pflanzenmaterial

handelt, aus dem grüne Einzelpflanzen mit einem gewünschten endgültigen Nikotingehalt ausgelesen werden sollen.

Von jeder Einzelpflanze liegen 2 Nikotinwerte vor, ein Tüpfelwert und ein Pikratwert. Der Tüpfelwert entspricht dem Nikotinwert der grünen Pflanze, der Pikratwert gibt den prozentualen Gehalt dieser Pflanze nach der Trocknung wieder, der Einfachheit halber als „Grün“- und „Trockenwert“ bezeichnet. Es ist nun zu prüfen, ob man aus hohen Tüpfelwerten auch auf hohe Nikotinwerte des getrockneten Blattmaterials und aus niederen Tüpfelwerten auf Nikotinfreiheit des getrockneten Blattmaterials schließen kann, d. h. ob eine Korrelation besteht zwischen den Grün- und den Trockenwerten.

Tabelle 1. Korrelationsstafel für den Nikotingehalt im grünen (x -Werte) und im getrockneten (y -Werte) Zustand von 974 Pflanzen der F_2 -Generation FO \times Virgin A, 1956.

$y \backslash x$	0	1	2	3	4	Σ
0	4	154	258	210	81	707
Spuren	1	9	8	14	6	38
> Spuren						
—0,2 %		26	24	10	4	64
0,21—0,40 %		5	31	44	8	88
0,41—0,60 %		1	11	25	25	62
0,61—0,80 %				5	7	12
0,81—1,00 %					3	3
Σ	5	195	332	308	134	974

Tabelle 2. Korrelationsstafel für den Nikotingehalt im grünen (x -Werte) und im getrockneten (y -Werte) Zustand von 1097 Pflanzen der F_2 -Generation FO \times Havanna IIc, 1958.

$y \backslash x$	0	1	2	3	4	Σ
0	1	65	233	224	54	577
Spuren	1	9	33	88	44	175
> Spuren						
—0,20 %		13	38	36	22	109
0,21—0,40 %		9	23	32	21	85
0,41—0,60 %		1	13	52	19	85
0,61—0,80 %			3	23	23	49
0,81—1,00 %				7	9	16
1,01—1,20 %				1		1
Σ	2	97	343	463	192	1097

In Tabelle 1 und 2 sind in Form einer Korrelationsstafel die Grün- und Trockenwerte einander zugeordnet. Beide Tafeln zeigen in der Verteilung der Werte eine gewisse Übereinstimmung ungeachtet der Tatsache, daß es sich um zwei verschiedene Kreuzungen handelt und vor allem daß ihr Pflanzenmaterial aus zwei verschiedenen Jahren stammt. Beide lassen auch auf den ersten Blick schon eine Beziehung zwischen Grün- und Trockenwerten erkennen, derart, daß die hohen Pikratwerte von Pflanzen stammen, die auch im Grünzustand schon hohe Tüpfelwerte aufwiesen, und

daß die Pflanzen mit niederen Tüpfelwerten auch niedrigere Pikratwerte ergaben.

Einen Korrelationskoeffizienten zu berechnen, wäre statistisch unzulässig, da die Verteilung in den Spalten keine normale ist. Es sind vielmehr zwei Gipfelpunkte vorhanden, der eine liegt in den Null-Pikratwerten, der andere im nikotinhaltigen Bereich der Pikratwerte. Das Material ist also statistisch gesehen aus mindestens zwei Grundgesamtheiten zusammengesetzt. Schon ihre von einer normalen Korrelationstabelle abweichende Form zeigt dies an. (Siehe zum Vergleich ERNA WEBER: Grundriß der biologischen Statistik 1957, S. 297.)

Wir prüfen nun, wann ein Tüpfelwert einen Schluß auf den Nikotingehalt des Trockenmaterials zuläßt und wann nicht. Wie schon festgestellt, ergaben die Pflanzen mit niedrigen Tüpfelwerten auch niedrigere Pikratwerte, denn alle Pflanzen, die im Grünzustand mit Null bonitiert worden waren, enthielten im getrockneten Zustand kein oder nur Spuren von Nikotin. Umgekehrt aber lassen hohe Tüpfelwerte nicht auch auf hohe Pikratwerte schließen: Von den Pflanzen, die nach dem Tüpfelbild mit 4 oder 3 bonitiert worden waren, hat nur ein kleiner Prozentsatz diesen hohen Nikotingehalt auch im getrockneten Zustand noch beibehalten und mindestens die Hälfte hat ihr Nikotin während der Trocknung vollständig oder bis auf geringe Spuren verloren.

Eine starke Rotfärbung der Tüpfel erlaubt also bei heterogenem Pflanzenmaterial keinen Schluß auf einen ebenfalls hohen Nikotingehalt nach der Trocknung. Nur von den Pflanzen, die keinerlei Rotfärbung der Tüpfel ergaben, kann mit Sicherheit etwas über ihren Nikotingehalt in getrocknetem Zustand ausgesagt werden, nämlich daß sie nikotinfreies oder zumindest nikotinarmses Trockenmaterial liefern werden. Sie bilden in unserem Fall nur einen ganz geringen Prozentsatz aller Pflanzen. In Tab. 1 sind es nur 5 unter 974, in Tab. 2 nur 2 unter 1097 Pflanzen, denen ein Selektionswert zugeschrieben werden kann.

Diskussion

Nach diesen Ergebnissen gelten die Nikotinwerte grüner Tabakpflanzen nur für den betreffenden Grünzustand und lassen nur in ganz beschränktem Umfange einen Schluß auf den Nikotingehalt des Trockenmaterials zu. Diese Einschränkung gilt nicht nur für die Tüpfelmethode, sondern für alle Nikotinbestimmungsmethoden an grünen Pflanzen. Es ist dies kein Mangel der Methode als solcher, sondern liegt begründet in der genetischen Besonderheit des Nikotingehaltes. Der endgültige Nikotingehalt ist das Ergebnis von Abbaufaktoren, deren Anzahl für die Stärke des Nikotinabbaues und damit auch für die Höhe des Nikotingehaltes in den getrockneten Blättern verantwortlich ist (KOELLE 1960). Vom FO wissen wir, daß er mehr Abbaufaktoren besitzt als Virgin A und Havana IIc (KOELLE 1957). Die untersuchten F_2 -Generationen enthalten also Pflanzen mit verschiedener Anzahl solcher Abbaufaktoren.

Die Wirkung dieser Faktoren macht sich schon in der reifenden Pflanze auf dem Felde bemerkbar, am stärksten aber erst während der Trocknung. Es ist daher verständlich, warum nur aus einer nikotinfreien grünen Pflanze mit Sicherheit ihr endgültiger Nikotingehalt vorausbestimmt werden kann: Da sie schon im Grünzustand alles Nikotin abgebaut hat, muß sie viele Abbaufaktoren enthalten und bleibt folglich auch nach ihrer Trocknung nikotinfrei.

Ein hoher Nikotingehalt der grünen Pflanze dagegen braucht nicht nur von einem Mangel an Abbaufaktoren herzuführen, sondern kann auch eine gewisse Zahl derartiger Faktoren verbergen, die nur langsamer zur Wirkung kommen.

In einer heterogenen Pflanzengruppe kann daher über den Selektionswert von Pflanzen mit hohem Nikotin-Grüngehalt nur etwas ausgesagt werden, wenn auch die Menge des Nikotins in ihren getrockneten Blättern nachfolgend bestimmt wird. Damit beschränkt sich für den Züchter die alleinige Anwendung einer Grünbestimmungsmethode nur auf die Auslese eines Teils der nikotinfreien Pflanzen.

Aus diesen Überlegungen wird verständlich, warum auch umgekehrt aus den Nikotinwerten der getrockneten Pflanzen nur in ganz beschränktem Umfang Rückschlüsse auf den Nikotingehalt des grünen Materials gemacht werden können, eine Tatsache, die zwar mehr den Genetiker als den Züchter interessieren muß. Hier sind es die hohen Pikratwerte, die solche Rückschlüsse erlauben. Für die Beziehung von Nikotin-Grün- und Trockenwerten ist ein Korrelationskoeffizient von 1 oder nahezu 1 nur zu erwarten bei einem in bezug auf die Abbaufaktoren homogenen Pflanzenmaterial. Die Höhe des Korrelationskoeffizienten zwischen frühen und späten Nikotinwerten kann daher als Maß für die genetische Ausgeglichenheit des Pflanzenmaterials in bezug auf den Nikotinabbau gewertet werden.

Zusammenfassung

Die Pflanzen von 2 Aufspaltungsgenerationen wurden im Grünzustand mit der Tüpfelmethode nach KRAFT und im getrockneten Zustand mit der Pikratmethode auf ihren Nikotingehalt untersucht und die zweierlei Nikotinwerte in Form einer Korrelationstabelle miteinander verglichen.

Die Anwendung der Tüpfelmethode als Schnellmethode in der Pflanzenzüchtung wird diskutiert und festgestellt, daß die Aussagekraft von Nikotinwerten grüner Pflanzen für die züchterische Praxis sehr beschränkt ist. Nur wenn die grüne Pflanze nikotinfrei ist, kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß sie auch in getrocknetem Zustand noch nikotinfrei sein wird. Ein hoher Nikotingehalt der grünen Pflanzen jedoch läßt keinen Schluß auf den endgültigen Nikotingehalt ihrer getrockneten Blätter zu.

Für die züchterische Praxis beschränkt sich damit die Anwendung von Nikotinbestimmungsmethoden an grünen Pflanzen auf die Selektionierung eines Teils der nikotinfreien Pflanzen.

Summary

The question under consideration is whether the nicotine content of a green tobacco plant in a heterogeneous population enables us to judge its content after drying. It would be a considerable facilitation for the breeder if he could already in the field segregate the plants with a desired quantity of nicotine.

The nicotine content of about 1000 plants of each of two F_2 generations was determined firstly when the plants were green and secondly when the plants were dried. Thus we have two nicotine values for each plant. These two kinds of nicotine values were contrasted with each other in the form of a correlation table.

Comparing their distribution we see that only those plants which possess no nicotine in their green stage are also nicotine free in their dried stage. High

nicotine content in the green plant, however, does not allow any prediction as to its final nicotine content after drying.

Consequently the breeder may use any method for nicotine determination in green plants only in order to recognize in the field those plants which will be nicotine free or nicotine poor after drying.

Literatur

1. KRAFT, D.: Die Tüpfelmethode in der Pflanzenzüchtung. *Pharmazie* 8, 170—173 (1953). — 2. KOENIG, P., und W. DÖRR: Methodik der Nikotinbestimmung.

Ztschr. f. Untersuchung der Lebensmittel 67, 113—144 (1934). — 3. SEEHOFER, F.: Die chemische Selektion einer großen Pflanzenzahl. Vortrag, gehalten am 10. Oktober 1956 auf der Alkaloidtagung in Quedlinburg. — 4. KOELLE, G.: Versuche zur Genetik des Nikotingehaltes. 3. Mitt. Die Züchtung von Stämmen mit verschieden hohem Nikotingehalt aus der Kreuzung der Tabaksorten FO × Havanna II c. *Tabakforschung* Nr. 22, 65—68 (1957). — 5. KOELLE, G.: Versuche zur Genetik des Nikotingehaltes. 4. Mitt. Der Nikotingehalt als Ergebnis quantitativ wirkender Abbaufaktoren, dargestellt an Nikotinwerten im grünen und getrockneten Zustand einiger Tabaksorten. *Tabakforschung* Nr. 28/29, 125—128 (1960).

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

Selektionsverfahren für die Züchtung von Speisekartoffeln

Von K.-H. MÖLLER und J. VOGEL

Mit 1 Abbildung

Die erfolgreiche Züchtung von Speisekartoffeln erfordert Selektionsverfahren, die es ermöglichen, Individuen mit guten Speiseeigenschaften frühzeitig zu erkennen. Knollenform, Augen- und Nabeltiefe, Schalenfarbe und -beschaffenheit sowie Fleischfarbe sind Qualitätsmerkmale, auf die bereits bei der Feldselektion geachtet wird, während Verfärbung geschälter roher und gekochter Knollen, Mehligkeit, Feuchtigkeit, Stärkekornstruktur, Geschmack und die für die industrielle Verwertung bedeutungsvollen Inhaltsstoffe im Laboratorium festgestellt werden müssen.

Ziel der Untersuchungen

In jedem Jahr zieht die Arbeitsgruppe Kulturkartoffelzüchtung des Instituts für Pflanzenzüchtung Groß-Lüsewitz viele Sämlinge an, aus denen Zuchtstämme mit wertvollen Speiseeigenschaften ausgeslesen werden sollen. Als Ergänzung zur Sämlingsauslese auf dem Felde nach äußeren Knollenmerkmalen sollte ein Selektionsverfahren entwickelt werden, mit dem wesentliche innere Eigenschaften möglichst einfach geprüft werden können. Die Ergebnisse sollten zeigen, aus welchen Kombinationen möglichst viele Speisekartoffeln mit den gewünschten Eigenschaften zu erwarten sind.

MÖLLER (1957) berichtet, daß es möglich ist, den Anteil virusresistenter Nachkommen in verschiedenen Kombinationen durch mehrjährigen Anbau von Populationen in Abbaulagen mit guter Sicherheit festzustellen. Gleichzeitig konnte er die für die Vererbung der Virusresistenz wertvollen Eltern herausfinden. Nach diesem Vorbild wurde geprüft, ob im Populationstest auch Speisequalitätsmerkmale verschiedener Kombinationen ermittelt werden können.

Untersuchungsmethode und -material

Bei der Ernte der im Freiland angebauten Kartoffelsämlinge wurde von jeder Kombination bei 200 Pflanzen eine mittelgroße Knolle abgenommen. 100 Knollen wurden gleichzeitig in einem elektrischen Kartoffeldämpfer mit einem Fassungsvermögen von 60 l eine bestimmte Zeit gedämpft, anschließend herausgenommen, sofort geschält, durch einen Schnitt vom Kronen-

zum Nabelende halbiert und mit der Schnittfläche nach oben in bereitstehende Glasschalen gelegt. Die anderen 100 Knollen wurden roh in gleicher Weise geteilt und ausgelegt.

An den Knollen wurden folgende Merkmale beurteilt:

1. Zustand der Knollen nach dem Kochen
 - a) Zahl der nicht gargekochten Knollen
 - b) Zahl der zerkochten Knollen
 - c) Zahl der mehligten Knollen
 - d) Zahl der nicht mehligten Knollen
2. Fleischfarbe
Zahl der Knollen mit tiefgelber, gelber, hellgelber, gelblich-weißer und weißer Fleischfarbe
3. Verfärbung gekochter Knollen

a) an der Schnittfläche	}	unmittelbar nach dem Schälen und nach 24 Stunden
b) an der Rinde		
4. Verfärbung roher Knollen
an der Schnittfläche 4 Stunden nach dem Schneiden.

Die einzelnen Merkmale wurden immer von derselben Person subjektiv eingeschätzt, die Verfärbung gekochter Knollen wurde mit Hilfe der 10 Verfärbungsstufen umfassenden Farbtabelle von HANSEN (KELLER, 1957) festgestellt.

Eine ähnliche Technik zur Feststellung einiger Speisequalitätsmerkmale an Knollen verschiedener Kartoffelspecies und Herkünfte wurde von ROTHACKER und VOGEL (1960) beschrieben. Der prozentuale Anteil der in den einzelnen Merkmalsstufen ermittelten Knollen wurde errechnet.

Untersuchungsergebnisse

Zwischen den Kombinationen zeigen sich teilweise große Unterschiede. In der Tabelle 1 sind Ergebnisse einiger geprüfter Kombinationen zusammengestellt.

Die Verfärbung der Schnittfläche roher Kartoffeln schwankt in der Hauptsache zwischen den Stufen „unverfärbt“ und „leicht verfärbt“. Es müßte demzufolge nahezu in allen Kombinationen möglich sein, Individuen auszulesen, deren rohe Knollen nicht oder nur gering verfärben. Es kann aber auch daraus geschlußfolgert werden, daß durch dieses Prüfungsverfahren die Unterschiede nicht genügend stark hervortreten, um eine strenge Auslese vornehmen zu können.