

3. In the F_2 -generation a strong deviation of the theoretically expected ratio of somatic chromosome numbers (i. e. 25% with $2n = 10$, 50% with $2n = 11$, 25% with $2n = 12$) was found. We chiefly observed about 50% plants with $2n = 10$ and $2n = 11$ respectively. The frequency of plants with $2n = 12$ was about 5% only. In regard to habit and fertility the plants with $2n = 10$ chromosomes resembled ssp. *amphicarpa*, those with $2n = 11$ the F_1 -hybrids.

4. While the progenies of the F_2 -plants with $2n = 10$ remained uniform in regard to chromosome number, the progenies of F_2 - and F_3 -plants with $2n = 11$ again showed the segregation ratio of 50% plants with $2n = 10$ and $2n = 11$ respectively (table 3).

5. The abnormal segregation behaviour of $2n = 11$ hybrid plants is due to the elimination of a high percentage of male gametes with $n = 6$ chromosomes, as could be shown by back-crossing both parents with the F_1 -hybrid as male parent. Whether the sex-dependent elimination of one type of gametes is due to genetic or plasmatic influences must be studied in further experiments.

6. In the hybrid progenies some triploid plants ($2n = 16$, $2n = 17$) were found. The plants were highly sterile. Raising the small progeny of the $2n = 17$ plant we got one plant with $2n = 22$ chromosomes. The behaviour of this spontaneous amphidiploid hybrid from ssp. *amphicarpa* \times ssp. *obovata* is described.

Literatur

1. ASCHERSON, P., und P. GRAEBNER: Synopsis der mitteleuropäischen Flora. Bd. IV, Teil 2. Engelmann, Leipzig (1906—1910). — 2. DARLINGTON, C. D., and A. P. WYLIE: Chromosome atlas of flowering plants. Allen & Unwin, London (1955). — 3. HEGI, F.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Bd. IV, Teil 3. Lehmanns Verlag, München (1924). — 4. HIRAYOSHI, I., and M. MATSUMURA: Cytogenetical studies on forage plants. I. Chromosome behaviour and fertility in the F_1 of common vetch and Japanese wild vetch. Jap. Journ. Breed. 1, 219—222 (1952). — 5. MANSFELD, R.: Vorläufiges Verzeichnis landwirtschaftlich oder gärtnerisch kultivierter Pflanzenarten. Die Kulturpflanze, Beiheft 2. Berlin: Akademie-Verlag 1959. — 6. METTIN, D.: Zur Morphologie der Chromosomen von *Vicia sativa* L. Die Kulturpflanze VI, 116—122 (1958). — 7. METTIN, D.: Über das Wesen des angeblichen Linsen-Wicken-Bastards. Biol. Zbl. 79, 701—718 (1960). — 8. METTIN, D.: Die Chromosomenzahlen einiger bisher nicht untersuchter *Vicia*-Arten. Die Kulturpflanze IX, 37—44 (1961). — 9. OEHLER, E.: Art- und Gattungskreuzung. Handb. d. Pflanzenz. Herausg. H. KAPPERT und W. RUDOLF Bd. I, 563—611. Berlin: P. Parey, 2. Aufl. 1958. — 10. PROGENT, A.: An annual forage crop that should be developed in the Southwest. The Cerdagne Vetch. Bull. Techn. Inform. Service agric., Paris 44, 639—640 (1949). — 11. SCHELHORN, M.: Über eigene und fremde Versuche zur Art- und Gattungsbastardierung bei *Vicia*, *Lens*, *Pisum* und *Lathyrus*. Forschungsdienst 9, 70—78 (1940). — 12. SEKIZUKA, S., T. YOSHIYAMA and K. MORIYA: On the characteristics of the new strains from the interspecific hybrid of *Yahazuendo* (*V. sativa* L. var. *normalis* Makino) and common vetch (*V. sativa* L.). Jap. Journ. Breed. 9, 64 (1959). — 13. SHIMANO, I., K. WATANABE and T. YAMADA: Studies on the interspecific hybridization of common vetch, *Vicia sativa* L. and *Yahazuendo*, *Vicia angustifolia* L. var. *segetalis* V. Comparison of several characters between the C_1 and C_2 generation of the induced amphidiploid. Jap. Journ. Breed. 9, 64 (1959). — 14. SHIMANO, I., K. WATANABE and T. YAMADA: Studies on the interspecific hybridization of common vetch, *Vicia sativa* L. and *Yahazuendo*, *V. angustifolia* L. var. *segetalis*. III. On the artificially induced amphidiploid with special reference to its characteristics in the second generation. Bull. Nat. Inst. Agric. Sci., Ser. G, 19, 163—182 (1960). Ref. Biol. Abstr. 1961; Nr. 36, 9509. — 15. SKIEBE, K.: Artbastardierung und Polyploidie in der Gattung *Cheiranthus* L. Der Züchter 26, 353—363 (1956). — 16. SKIEBE, K.: Die Bedeutung von unreduzierten Gameten für die Polyploidiezüchtung bei der Fliederprimel (*Primula malacoides* Franchet). Der Züchter 28, 353—359 (1958). — 17. SVESHNIKOVA, I. N.: Karyological studies on *Vicia*. Bull. appl. Bot. 17, 37—72 (1927). — 18. SVESHNIKOVA, I. N., and J. P. BELEKHOVA: Translocations in an interspecific hybrid. Bull. appl. Bot. Ser. II, 9, 63—70 (1935). — 19. SVESHNIKOVA, I. N.: Translocations in hybrids as an indicator of "karyotype evolution". Biol. Zhurn. 5, 303 bis 326 (1936). — 20. SVESHNIKOVA, I. N.: Cytogenetical analysis of heterosis in hybrids of *Vicia*. J. Hered. 31, 349—360 (1940). — 21. YAMAMOTO, K.: On the F_1 of *Vicia sativa* L. and *V. tetrasperma* Moench. Jap. Journ. Breed. 4, 21—24 (1954). — 22. YAMAMOTO, K.: On the F_1 of *Vicia sativa* \times *Vicia angustifolia*. Jap. Journ. Breed. 5, 115—118 (1955). — 23. YAMAMOTO, K.: Morphological characteristics of the hybrid between a Morocco strain ($2n = 10$) of *Vicia sativa* and common vetch ($2n = 12$). Techn. Bull. Fac. Agric., Kagawa University 11, 28—37 (1959). — 24. YAMAMOTO, K.: On the cytological studies of the hybrid, *Vicia sativa* Morocco strain $2n = 10$ and common vetch $2n = 12$. Techn. Bull. Fac. Agric., Kagawa University 13, 15—25 (1961).

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Köln-Vogelsang

Methoden zum Solaninnachweis und zur Solaninbestimmung in Kartoffelzuchtmaterial*

Von P. SCHWARZE

Mit 5 Abbildungen

Die Heranziehung von Wildkartoffeln zur Resistenzzüchtung bringt es mit sich, daß neben erwünschten auch unerwünschte Merkmale, z. B. hoher Solanin Gehalt¹, aus den Wildarten in das Zuchtmaterial übertragen werden. Da das Solanin, sobald es eine

bestimmte Konzentration überschreitet, den Knollen einen bitteren und kratzigen Geschmack verleiht und sie darüber hinaus giftig macht, ist es erforderlich, Zuchtstämme mit höherem Solanin Gehalt zu eliminieren. Die einfachste Methode der Erkennung solaninreicher Knollen ist die Geschmacksprobe; diese ist jedoch nicht anwendbar, wenn im Zuchtmaterial extrem solaninreiche Knollen vorkommen. Solche Knollen schmecken brennend scharf; das darin enthaltene Solanin ätzt die Zunge und setzt die Empfindlichkeit der Geschmacksnerven zeit-

* Herrn Prof. Dr. Dr. H. STUBBE zum 60. Geburtstag.

¹ Unter Solaninen werden in dieser Arbeit alle Glykoalkaloide der Kartoffelarten verstanden, also Solanin im engeren Sinn und die erst in den letzten Jahren aufgefundenen Glykoalkaloide Demissin, Chaconin und Lepitin.

weilig so stark herab, daß eine sichere geschmackliche Differenzierung weiterer Knollen nicht mehr möglich ist. Eine Auslese solaninarmer Knollen nach dem Geschmack führt hier also ebensowenig zum Ziel wie die Auslese „süßer“ Lupinenmutanten aus einer bitteren Population. Aus diesem Grunde wurden chemische Methoden zur Unterscheidung solaninreicher und solaninarmer Klone und zur quantitativen Solaninbestimmung entwickelt.

Mit den erstgenannten qualitativen Methoden kann das für die Geschmacksprüfung vorgesehene Material voruntersucht und durch Ausscheidung solaninreicher Klone eingengt werden, während sich mit Hilfe der quantitativen Methode der Solanin-gehalt in Zweifelsfällen und insbesondere in den Eliten genau bestimmen läßt. Die Geschmacksprüfung wird damit nicht entbehrlich, da der Geschmack ein sehr komplexes Merkmal ist, dessen einzelne Komponenten sich nicht befriedigend mit chemischen oder physikalischen Verfahren erfassen lassen.

Um Aufschluß über die Beziehung zwischen dem Solaningehalt der Knollen und dem Solaningehalt der grünen Pflanzenteile zu erlangen, wurde auch das Kraut, insbesondere das Blatt, in die Untersuchungen einbezogen. Wenn, was zu erwarten ist, eine positive Korrelation zwischen dem Solaningehalt von Knollen und Kraut besteht, muß es möglich sein, Klone mit solaninreichen und solaninarmen Knollen auf Grund von Blattuntersuchungen zu erkennen. Das bedeutet, daß die Auslese schon sehr früh vorgenommen und damit viel Zuchtgartenarbeit, z. B. das Ernten und Lagern wertloser Knollen, eingespart werden kann. Für das Zuchtziel Käferresistenz gilt diese Überlegung nicht, da diese Resistenz durch bestimmte Solanine bedingt ist (KUHNS und Mitarbeiter 1947 u. 1959). Hier müßte nach Formen gesucht werden, die möglichst solaninarm in den Knollen sind, in den Blättern aber die Resistenz bewirkenden Solanine in hoher Konzentration enthalten.

Die für die Knollenuntersuchung ausgearbeiteten Methoden eignen sich nicht für die Analyse grüner Pflanzenteile; sie wurden deshalb modifiziert, vor allem mußte die Extraktion der ganz andersartigen chemischen Zusammensetzung der Blätter angepaßt werden.

Die Entwicklung von Methoden für Nachweis und Bestimmung des Solanins wird dadurch erschwert, daß die verfügbaren Solaninreaktionen nicht spezifisch sind, was eine Abtrennung des Solanins von der Mehrzahl anderer Knolleninhaltsstoffe notwendig macht. Für die Unterscheidung solaninreicher und solaninarmer Knollen wurde in dieser Arbeit die Reaktion des Solanins mit Antimontrichlorid, für die quantitative Bestimmung die Reaktion mit Paraformaldehyd-Phosphorsäure herangezogen.

Methoden zur Erkennung solaninreicher Klone

I. Knollen

Nach zahlreichen Vorversuchen, deren Beschreibung unterbleiben soll, wurden die folgenden qualitativen Verfahren, die eine Differenzierung des Zuchtmaterials in Klone mit niedrigem, mittlerem und hohem Solaningehalt gestatten, entwickelt. Im Prinzip geht es dabei darum, Extrakte oder Säfte aus Knollen herzustellen, diese von Eiweiß zu befreien,

die solaninhaltige Lösung auf Filtrierpapier aufzutropfen und auf dem Papier das Solanin mit einer augenfälligen Reaktion nachzuweisen.

Die Methode läßt sich empfindlicher gestalten, wenn das Solanin aus dem Extrakt oder Saft mit Ammoniak ausgefällt und der Niederschlag nach Verwerfen des Überstandes mit wenig Essigsäure wieder aufgenommen wird.

Der Saft kann durch Auspressen gewonnen werden. Es ist zweckmäßig, dafür eingefrorene und wieder aufgetaute Knollen zu benutzen, da sich aus diesen der Saft leichter als aus frischen Knollen auspressen läßt. Die Hauptmenge des Solanins ist bekanntlich dicht unter der Knollenschale lokalisiert. Wenn diese äußeren Gewebeschichten wenig Solanin enthalten, kann erwartet werden, daß auch die übrigen Teile der Knolle solaninarm sind. Aus diesem Grund wird für die Untersuchung nur Knollenschale benutzt. Da das im Saft enthaltene Eiweiß die Solaninreaktion stört, muß es vorher entfernt werden. Der Saft wird mit Hilfe einer von der Firma Zeiss bezogenen Preßzange, deren Griffe zur Verminderung des Kraftaufwandes beim Pressen verlängert sind, gewonnen.

Ein anderes, noch einfacheres Verfahren der Saftgewinnung besteht darin, Knollenstücke in Zentrifugengläsern einzufrieren und nach Wiederauftauen zu zentrifugieren.

1. Herstellung eines Knollensaftes. a) Durch Auspressen: Knollenhälften bei tiefer Temperatur einfrieren, bei Zimmertemperatur auftauen und etwa 3 mm dick schälen. Schale mit Zange ausquetschen und 1–3 ml Saft in Zentrifugenglas (10 × 1,5 cm), das mit 5 Tropfen 20%iger Trichloressigsäure beschickt ist, auffangen. Glas 3 Minuten in Wasserbad von etwa -55° einstellen und Eiweißniederschlag abzentrifugieren. Überstand für Solaninnachweis benutzen.

b) Durch Zentrifugieren: Aus einer Knolle etwa 3 mm dickes Oberflächengewebe ausschneiden und Zentrifugenglas (10 × 2 cm) zu $3/4$ damit füllen. 0,5 ml Trichloressigsäure (10%ig) auftropfen, Gewebe einfrieren, bei Zimmertemperatur wieder auftauen und zentrifugieren. Glas 4 Min. in ein Wasserbad von 55° einstellen und ausfallendes Eiweiß abzentrifugieren oder absitzen lassen. Überstehende Lösung für Reaktion verwenden.

2. Durchführung der Reaktion. a) Von überstehender Lösung etwa 20 mm³ auf Filtrierpapierblättchen (4 × 6 cm) auftragen und trocknen lassen. Auf Zentrum des Fleckes Gemisch von Essigsäure-Essigsäureäthylester (9:1) langsam auftropfen, daß sich eine etwa 0,5 cm breite Diffusionszone um den Fleck ausbildet. In diese geht das Solanin über, während störende Stoffe zurückbleiben. Nach Abtrocknen an der Luft Papier in Reagenz (38%ige Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform) tauchen. Reagenz 10 Min. bei Zimmertemperatur und 1 Min. bei 80°C im Trockenschrank einwirken lassen. Bei solaninarmen Knollen ist die Diffusionszone ungefärbt oder nur sehr schwach gefärbt, bei solaninreichen Knollen färbt sie sich, je nach Solaningehalt, deutlich bis intensiv rot (Abb. 1).

Noch einfacher ist die folgende Arbeitsweise: Auf Filtrierpapierstreifen (20 × 5 cm) 10 verschiedene Extrakte nebeneinander auftragen, Flecken trocknen lassen (an der Luft oder im Schrank) und Streifen mit unterem Rand in Essigsäure-Essigsäureäthylester-Gemisch (1:1) einstellen und Lösungsmittelgemisch bis etwa 1 cm über den oberen Rand der Flecken kapillar aufsteigen lassen. Streifen trocknen und Reaktion durchführen. Solanin wird als rote Zone oberhalb der Flecken sichtbar (Abb. 2).

b) 5 ml durch Auspressen oder Zentrifugieren gewonnenen Saft im Zentrifugenglas mit 1 ml konzentriertem Ammoniak versetzen, Glas 1 Min. in kochendes Wasserbad stellen und Niederschlag abzentrifugieren. Überstand abgießen und Fällung mit 0,25 oder 0,50 ml Eisessig aufnehmen und diese Lösung wie unter a) auf

Papier auftragen und wie dort weiterverfahren. Das Auswaschen des Solanins aus dem Fleck mit Essigsäure-Essigsäureäthylester kann jedoch unterbleiben, da die Hauptmenge störender Stoffe in Lösung bleibt und mit dem Überstand entfernt wird. Mit dieser etwas umständlicheren Variante des Verfahrens treten Unterschiede im Solaningehalt deutlicher zutage und lassen sich noch kleine und kleinste Solaninmengen nachweisen (Abb. 3).

Die mit diesem Verfahren gewonnenen Ergebnisse gehen mit den quantitativen Bestimmungen konform. Bei allen Sorten (Bona, Antje, Inka, Felde Lohn und Grata) ist die Diffusionszone (Methode a) oder der gesamte Fleck (Methode b) nur ganz schwach rot gefärbt, während die solaninreichen Zuchtstämme (540, 603, 607, 648 und 82, 784, 798, 813) eine deutliche bis starke Rotfärbung geben.

Mit der Antimontrichloridreaktion lassen sich, wenn man von einer essigsauren Solaninlösung ausgeht, unterschiedliche Mengen des Glykoalkaloids gut erkennen. 6,25 γ sind gerade noch wahrnehmbar, und bis zu 200 γ nimmt die Intensität der Rotfärbung kontinuierlich zu (Abb. 4). Mit Knollensäften ist, insbesondere wenn die Solaninfällung mit Ammoniak unterbleibt, eine so weitgehende Differenzierung nach der Menge nicht zu erreichen, da andere lösliche Knollenbestandteile die Reaktion beeinträchtigen. Eine Unterscheidung zwischen niedrigem, mittlerem und hohem Solaningehalt ist jedoch gut möglich. Nur diesem Zweck soll die beschriebene Methode dienen.

II. Kraut

Der für die Knollenuntersuchung vorgeschlagene Nachweis des Solanins scheidet bei krautigem Material daran, daß im Preßsaft oder wäßrigen Extrakt Stoffe enthalten sind, die mit Antimontrichlorid unter Farbstoffbildung reagieren und sich auf dem Papier durch einfaches Auswaschen nicht entfernen lassen. Es wurde gefunden, daß ein Gemisch von Eisessig und Essigsäureäthylester aus getrockneten Blättern das Solanin extrahiert, ohne diese Stoffe zu lösen. Solche Extrakte sind grün gefärbt, doch bleiben Chlorophyll und andere störende Bestandteile

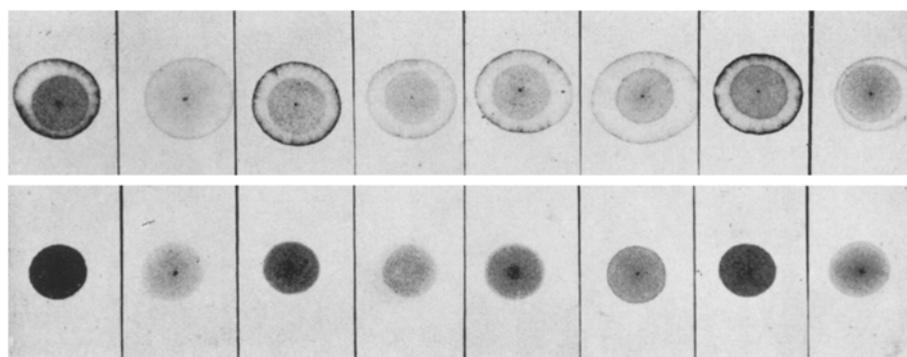


Abb. 1. Solaninnachweis in Kartoffelsaft (Methode 2a). Oben: Solanin aus den Saftflecken durch Auftropfen von Essigsäure-Essigsäureäthylester ausgewaschen. Unten: Saftflecken nicht ausgewaschen.

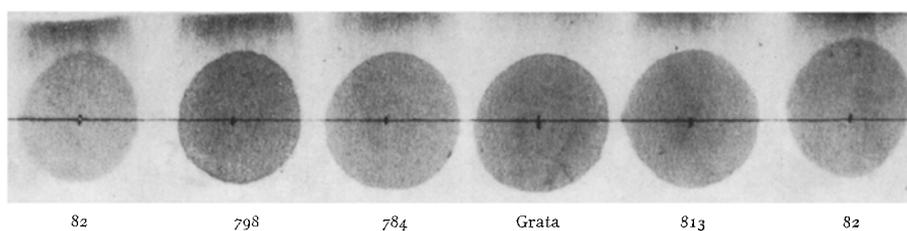


Abb. 2. Solaninnachweis in Kartoffelsaft. Solanin aus Saftflecken durch Aufsteigenlassen von Essigsäure abgetrennt.

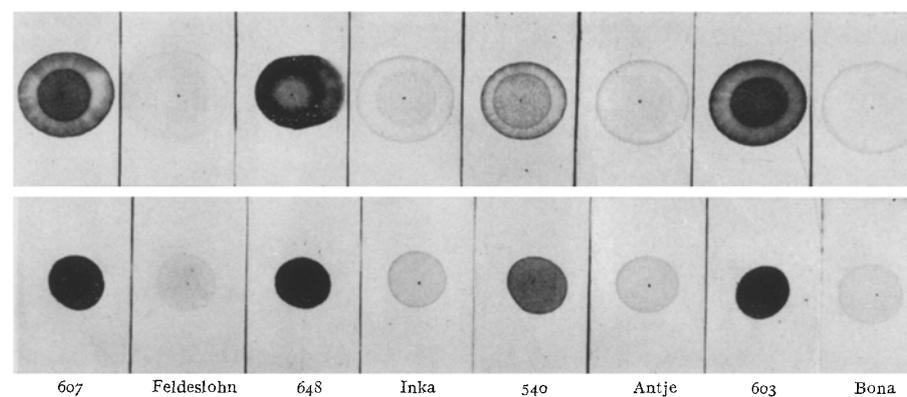


Abb. 3. Nachweis des Solanins nach Anreicherung durch Ausfällung mit Ammoniak (Methode 2b). Oben: Solanin aus den Flecken durch Auftropfen von Essigsäure-Essigsäureäthylester ausgewaschen. Unten: Flecken nicht ausgewaschen.

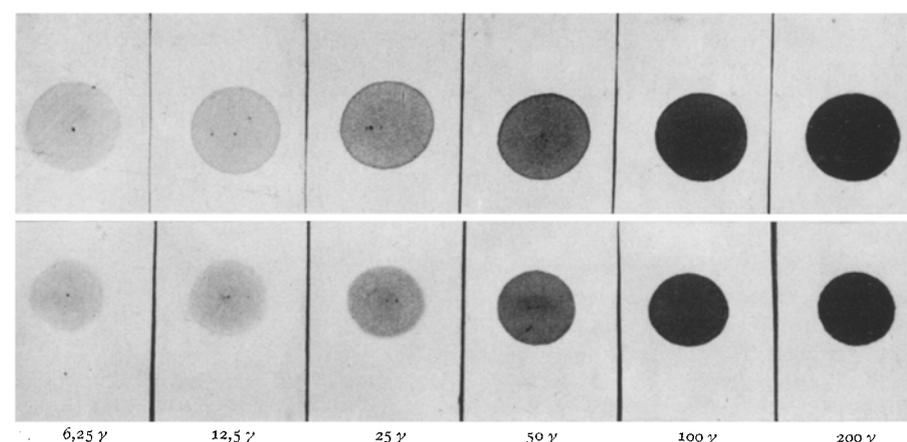


Abb. 4. Beziehung zwischen Solaninkonzentration und Intensität der Reaktion mit Antimontrichlorid (Rotfärbung). Aufgetragene Mengen: Je 20 mm² mit 6,25 bis 200 γ Solanin. Oben: Solanin in 5%iger Essigsäure gelöst. Unten: Solanin in 5%iger Trichloressigsäure gelöst.

an der Auftragstelle zurück, wenn das Solanin mit verdünnter Essigsäure aus dem Fleck herausgelöst wird.

Die Durchführung des Solaninnachweises in Blatttrockensubstanz gestaltet sich folgendermaßen: 0,25 g Trockensubstanz im Zentrifugenglas (10 \times 1,5 cm) mit 2 ml Essigsäure-Essigsäureäthylestergemisch (1 : 1) $\frac{1}{2}$ Stunde maschinell schütteln oder über Nacht stehen

lassen. Nach Zentrifugieren oder Absitzenlassen des Ungelösten mit einem Glasstab oder einem mit einer Marke versehenen Tropftröhrchen etwa 0,25 ml Extrakt entnehmen und auf Papier auftropfen. Durch Auftropfen oder Aufsteigenlassen 5%iger Essigsäure Solanin aus den grünen Flecken auswaschen und wie beschrieben mit der Antimontrichlorid-Reaktion sichtbar machen.

Die Intensität der Rotfärbung der Diffusionszone geht größenordnungsmäßig wiederum mit dem Solaningehalt konform. Bei Kultursorten (Grata) ist sie nur schwach, bei Zuchtstämmen mit mittlerem Solaningehalt (164, 521, 540, 644, 652) deutlich, bei solaninreichen Zuchtstämmen (602, 613) intensiv rot gefärbt (Abb. 5). Während bei Knollen von Kulturarten der Solaningehalt häufig unter der Erfassungsgrenze der Methode liegt, die Reaktion also negativ verläuft, fällt sie bei Krautuntersuchungen immer positiv aus, da in der Regel die grünen Pflanzenteile wesentlich mehr Solanin als die Knollen enthalten.

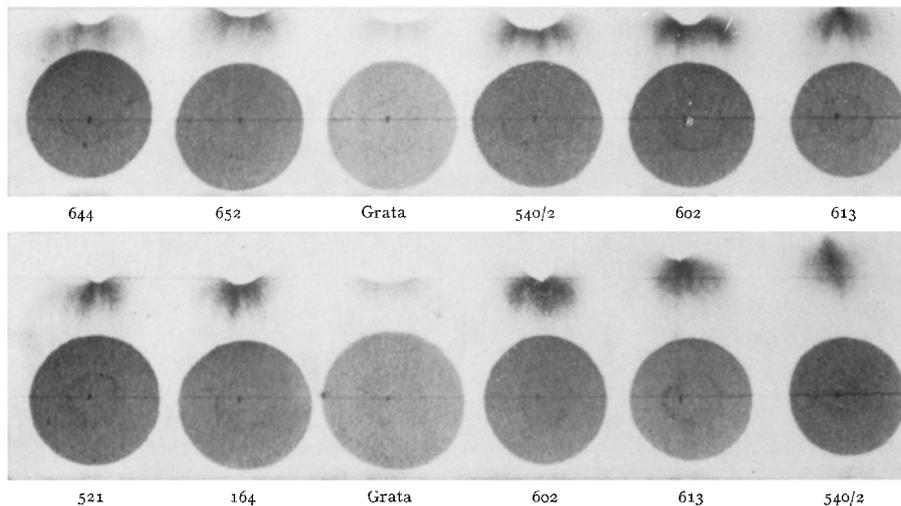


Abb. 5. Solaninnachweis in Kartoffelkraut. Solanin aus Saftflecken durch Aufsteigenlassen von Essigsäure abgetrennt.

Methode zur quantitativen Solaninbestimmung

Für die quantitative Solaninbestimmung wurde zunächst die von PFANKUCH (1937) ausgearbeitete photometrische Methode benutzt. Sie beruht auf dem von ALBERTI (1932) vorgeschlagenen Solaninnachweis, der Rotfärbung des Solanins mit Formaldehyd-Schwefelsäure. Die von PFANKUCH angegebene Arbeitsweise ist später verschiedentlich abgeändert worden (z. B. von DABBS u. HILTON 1953, BAKER, LAMPITT u. MEREDITH 1955, GULL u. ISENBERG 1960). Da die Methode und alle ihre Varianten eine weitgehende Isolierung des Solanins erfordern und die Farbreaktion selbst für Serienuntersuchungen wenig handlich ist — sie muß z. B. unter Kühlung durchgeführt werden, damit sich das Reaktionsgemisch nicht zu stark erhitzt —, wurde die Schwefelsäure durch konzentrierte Orthophosphorsäure und der Formaldehyd durch Paraformaldehyd ersetzt. Ein aus diesen beiden Komponenten zusammengesetztes Reagenz wurde von TUZSON (1959) für den Nachweis von Solanin auf Papier angegeben. Die Analyse der Reaktionsbedingungen, über die an anderer Stelle berichtet wird, hat zur Festlegung des folgenden Arbeitsganges geführt:

I. Extraktion des Solanins aus Kartoffelknollen. 10—20 g Knolle mit dem gleichen Volumen 5%iger wäßriger Essigsäure homogenisieren, Homogenat durch Faltenfilter filtrieren, 5 ml des Filtrates in Zentrifugenglas (10 × 1,5 cm)

abnehmen und dieses zur Ausfällung des Eiweißes 2 Min. in kochendes Wasserbad einstellen. Niederschlag abzentrifugieren, Überstand vollständig in zweites Zentrifugenglas abgießen, 1 ml konzentriertes Ammoniak zugeben und 2 Min. im siedenden Wasserbad erhitzen. Entstandene Solaninfällung abzentrifugieren, Überstand abgießen und verwerfen, Glas zum Trocknen der Fällung über Nacht offen bei Zimmertemperatur stehen lassen. Um gelegentliche Fehler, die vermutlich durch unterschiedlichen Wassergehalt und unterschiedliche Verteilung des Niederschlages bedingt sind, auszuschließen, wurde die Fällung in ½ ml Äthylalkohol gelöst und im Vakuum-schrank bei 50—60 °C erneut getrocknet. Das Solanin bleibt als feiner Film am Boden des Zentrifugenglases zurück.

II. Extraktion des Solanins aus Kartoffelblättern. a) Aus getrockneten Blättern: 0,5 g Blattpulver im Zentrifugenglas mit 10 ml Eisessig über Nacht stehen lassen und anschließend ¼ Stunde in der Maschine schütteln. 10 ml Essigsäureäthylester zugeben, kräftig mit der Hand durchschütteln und zentrifugieren. 5 ml des Überstandes in zweites Zentrifugenglas abnehmen, mit 5 ml Äthyläther und 5 ml Wasser versetzen, durchschütteln und zentrifugieren. Untere wäßrige Schicht in 25 ml-Meßkölbchen abnehmen. Ausschütteln mit der gleichen Wassermenge wiederholen. Zur Entfernung gelösten Äthylacetats Kölbchen ½ Stunde in siedendes Wasserbad einstellen, abkühlen lassen und mit Wasser bis zur Marke auffüllen. 5 ml des Extraktes für die Solaninfällung entnehmen und wie oben weiterarbeiten.

b) Aus frischen Blättern: 5 g Blätter im Mörser mit Sand und 1 ml Eisessig zerkleinern. Brei mit wasserfreiem Natriumsulfat (etwa 2 Teelöffel) verreiben und im Vakuum-schrank bei 70 °C trocknen. Trockene Substanz fein zerreiben, in Zentrifugenglas (10 × 2 cm) umfüllen,

mit 10 ml Eisessig versetzen und wie unter a) weiterverarbeiten.

III. Durchführung der photometrischen Bestimmung. Zum Solaninniederschlag bzw. Solaninrückstand 3 Tropfen gesättigte wäßrige Lösung von Paraformaldehyd und 3 ml 85%ige Orthophosphorsäure geben. Glas bis zur Auflösung des Niederschlages wiederholt schwenken und nach insgesamt einstündiger Einwirkung des Reagenzes die Intensität der Violettfärbung im Photometer bei 595 m μ messen.

Herstellung einer Eichkurve. 1, 2, 3, 4 und 5 ml einer 0,02%igen essigsäuren Solaninlösung wurden jeweils auf 5 ml mit Essigsäure (5%ig) ergänzt und dem beschriebenen Analysengang einschließlich Ausfällung des Solanins mit Ammoniak unterworfen. Die erhaltene Kurve verläuft nahezu linear, und die am Photometer abgelesenen Extinktionen entsprechen, was aber streng genommen nur für das benutzte Solaninpräparat gilt, ziemlich genau der im Ansatz vorliegenden Solaninmenge in Milligramm. Daraus läßt sich, wenn der Wassergehalt des Materials bekannt ist, der Solaningehalt in Frisch- und Trockensubstanz errechnen.

Auswertung der Messungen

In der Literatur werden für die Knollen von Kultursorten Solaningehalte von 2—20 mg/100 g Frischsubstanz angegeben (vgl. KRÖNER und VÖLKSEN 1942). Wir fanden bei Einzelknollenuntersuchungen einer Anzahl von Sorten (Antje, Aquila, Bona, Carmen, Feldeslohn, Grata, Inka, Rheinhort) Werte von 1—18 mg % Solanin. Unter extremen

Entwicklungs- und Lagerungsbedingungen kann der Solaningehalt aber wesentlich höher liegen. In ergrüntem Knollen von Kultursorten z. B. wurden Werte bis zu 118 mg % beobachtet. Da innerhalb derselben Sorte die Differenzen von Knolle zu Knolle sehr beträchtlich sein können, ergibt die Untersuchung einer Knolle keinen repräsentativen Wert für die betreffende Sorte, dieser ist vielmehr nur mit einer größeren Durchschnittsprobe zu erhalten. Bei der Beurteilung von Einzelergebnissen muß ferner berücksichtigt werden, daß der Solaningehalt auch vom Standort abhängt und durch den Witterungsverlauf des Anbaujahres stark modifiziert werden kann.

Für die einzelne Bestimmung sind nur 5 ml Extrakt erforderlich. Diese lassen sich aus wenigen Gramm Frischsubstanz, d. h. aus einem Teil der Knolle gewinnen. Von dieser Möglichkeit wird man dann Gebrauch machen, wenn von einem Klon nur wenige Knollen zur Verfügung stehen. In diesem Fall ist zu berücksichtigen, daß das Solanin, wie viele andere Knolleninhaltsstoffe, nicht gleichmäßig in der Knolle verteilt ist. Die Hauptmenge ist dicht unter der Schale deponiert, nach FISCHER und THIELE (1930) in den ersten 10 Schichten des Speichergewebes. Der Unterschied zwischen den äußeren und inneren Geweben der Knolle ist groß. Wenn man Knollen von Kultursorten etwa 2 mm dick schält und Schalen und Knollenrest getrennt analysiert, so findet man in der Schale eine gut meßbare Menge Solanin, der Rest gibt nur eine ganz schwache oder gar keine Reaktion. Bei solaninreichen Zuchtstämmen führen auch die im Inneren gelegenen Gewebe recht bedeutende Solaninmengen, wesentlich höher liegen aber auch hier die Solaninkonzentrationen in den äußeren Gewebeschichten. Die Konzentration sinkt in den auf den solaninreichen Außenbezirk folgenden Rindenzellen auf 1/3, bis zum Zentrum der Knolle auf 1/6 ab. Zum Solaningehalt tragen aber die solaninärmeren Zonen wesentlich bei, da sie den größeren Teil der Knolle ausmachen (Tab. 1).

Tabelle 1. Verteilung des Solanins in einer Knolle des solaninhaltigen Zuchtstammes Nr. 603. Der Berechnung des Solaningehaltes in Frisch- und Trockensubstanz liegt ein Wassergehalt von 75% in allen Gewebeschichten zugrunde.

Schicht (von außen nach innen)	% Solanin in	
	Frischsubstanz	Trockensubstanz
1	0,270	1,08
2	0,093	0,36
3	0,102	0,41
4	0,096	0,38
5	0,040	0,16

Bei der Untersuchung von Knollenteilen ist ferner zu berücksichtigen, daß am Kronenende und in der Umgebung der Augen der Solaningehalt höher liegt als am Nabelende bzw. in den augenfreien Bezirken der Knolle. Teile mit annähernd gleichem Solaningehalt werden erhalten, wenn man die Knolle mit einem durch Kronen- und Nabelende geführten Schnitt zerlegt.

Ein Solaningehalt von 20 mg/100 g Frischsubstanz muß in geschmacklicher und nach unseren derzeitigen

Kenntnissen auch in gesundheitlicher¹ Hinsicht als äußerste Grenze gelten. Diesem Gehalt entspricht bei Einhaltung des geschilderten Analysenganges eine Extinktion von 0,58. Für Zwecke der Auslese und ersten Überprüfung von Zuchtmaterial genügt ein Vergleich der Extinktionen. Alle Zuchtstämme mit höheren Extinktionen müssen eliminiert oder, wenn es aus anderen Gründen geboten erscheint, züchterisch weiter bearbeitet werden. Infolge der starken Modifizierbarkeit des Merkmals Solaningehalt werden bei dieser Abgrenzung mit Einzelknollenuntersuchungen auch Zuchtstämme ausgelesen, deren durchschnittlicher Gehalt diesen Grenzwert überschreitet. Durch die Vorauslese wird die Zahl der Zuchtstämme aber stark reduziert, so daß eine genaue Untersuchung für die letzte Auswahl keine Schwierigkeiten mehr bereiten dürfte.

Ergebnisse und Diskussion

Die qualitativen Methoden wurden noch nicht in größerem Maßstab für die Untersuchung von Zuchtmaterial eingesetzt, wohl aber werden seit einigen Jahren quantitative Solaninbestimmungen in Knollen und Kraut von Zuchtklonen durchgeführt. Es ist beabsichtigt, später über diese Arbeiten zu berichten. Da sie etwas über die Brauchbarkeit und Grenzen dieser chemischen Ausleseverfahren aussagen, sollen einige wesentliche Ergebnisse kurz mitgeteilt werden.

Knollen mit mehr als 20 mg Solanin/100 g Frischsubstanz schmecken immer deutlich bis stark bitter. Auf Grund der chemischen Untersuchung können also mit Sicherheit stark bittere Klone erkannt und ausgeschieden werden. Bei Klonen mit weniger als 20 mg/100 g Frischsubstanz wurde beobachtet, daß diese meist nicht bitter schmecken, daß aber hin und wieder Klone mit bitterem Geschmack auftreten, die auf Grund der Geschmacksprobe ausgeschieden werden müssen. Eine Erklärung für diese Erscheinung ist z. Z. noch nicht möglich. Das bearbeitete Zuchtmaterial ist aus Kreuzungen zwischen Kultursorten von *Solanum tuberosum* und den Wildarten *Solanum chacoense* und *Solanum demissum* hervorgegangen. Von den in diesen Kreuzungspartnern enthaltenen Solaninen gibt das Demissin, das Hauptglykoalkaloid der letztgenannten Art, da sein Aglykon keine Doppelbindung enthält, nur eine schwache Färbung mit dem Paraformaldehyd-Phosphorsäure-Reagenz. Es besteht also die Möglichkeit, daß bitter-

¹ Solanin ist ein stark toxischer Stoff, wie gelegentliche Solaninvergiftungen zeigen. Diese treten dann auf, wenn Kartoffelknollen unter Bedingungen gelagert werden, die eine Neubildung von Solanin ermöglichen. Bei der Züchtung muß auf jeden Fall darauf geachtet werden, daß der Solaningehalt einer neuen Sorte niedrig liegt. Der Züchter eliminiert bitter schmeckende und damit automatisch solaninreiche Klone. Die Frage, welche Solaninkonzentrationen schädlich sind, insbesondere inwieweit dies für niedrige Konzentrationen, die mit dem Geschmack nicht mehr feststellbar sind und keine sich sofort bemerkbar machende Störungen verursachen, zutrifft, ist noch nicht planmäßig untersucht worden. Es ist durchaus möglich, daß sich auf die Dauer auch verhältnismäßig geringe Solaninmengen, die jetzt als unbedenklich gelten, nachteilig auf die Gesundheit auswirken. Da die Kartoffel ein sehr wichtiges Nahrungsmittel ist und in zunehmendem Maße solaninreiche *Solanum*-Arten für die Züchtung herangezogen werden, sollte der Frage der Giftigkeit des Solanins mehr als bisher Beachtung geschenkt werden.

schmeckende Klone, deren quantitative Untersuchung einen sehr niedrigen Solaningehalt ergeben hat, das Glykoalkaloid Demissin in größerer Konzentration enthalten. Es ist aber auch denkbar, daß die Manifestierung des bitteren Geschmacks durch andere Knollenbestandteile beeinflußt wird, also andere Stoffe darüber entscheiden, ob bei gleichem Solaningehalt die Knollen bitter oder nicht bitter schmecken. Trotz dieser Einschränkungen leistet die Methode gute Dienste, da sie auf jeden Fall einen großen Teil solaninreicher Klone zu erkennen und auszuschneiden gestattet.

Nach den bisher durchgeführten vergleichenden Solaninbestimmungen in Kraut und Knollen entspricht im allgemeinen einem hohen Solaningehalt der Blätter ein hoher Solaningehalt der Knollen. Es wurden aber vereinzelt Klone angetroffen, bei denen die Solaninkonzentration in den Blättern hoch, in den Knollen niedrig liegt. Nicht aufgefunden wurden dagegen Klone mit solaninreichen Knollen und solaninarmem Kraut; diese Kombination ist vermutlich physiologisch nicht möglich. Bedeutung für die Züchtung resistenter Sorten besitzen aber möglicherweise Klone, die solaninreich in den Blättern und extrem solaninarm in den Knollen sind.

Die beiden bei der Herstellung der Kreuzungen benutzten Wildarten sind resistent gegen den Kartoffelkäfer. Bei *Solanum demissum* wird die Resistenz durch das Glykoalkaloid Demissin, bei *Solanum chacoense* durch das Glykoalkaloid Leptin bedingt (KUHN und GAUHE 1947 bzw. KUHN und LÖW 1959). Demissin und Leptin wirken in Konzentrationen von 300 bis 400 bzw. 100 bis 200 mg/100 g Blattsubstanz fraßabschreckend. Diesen Werten entsprechen bei der Mehrzahl der Zuchtklone Solaningehalte der Knollen, die wesentlich über dem Grenzwert (20 mg/100 g Frischsubstanz) liegen. Die Befunde über die Variabilität der Relation Solaningehalt der Knollen/Solaningehalt der Blätter lassen es sinnvoll erscheinen, nach Genotypen zu suchen, deren Blätter reich an Leptin und Demissin sind, deren Knollen aber nur geringe Mengen dieser Glykoalkaloide enthalten. Derartige Formen sind wahrscheinlich schon gefunden worden. Nach Untersuchungen von BAERECKE (1962) besteht keine Beziehung zwischen dem Grad der Resistenz und dem Solaningehalt der Knollen. U. a. wurden hochresistente Klone ausgelesen, deren Knollen nicht mehr Solanin enthalten als die Knollen bewährter Kultursorten. Untersuchungen über den Solaningehalt und die Zusammensetzung des Solaninkomplexes der Blätter dieser Klone sind eingeleitet.

Zusammenfassung

Es werden Methoden zum Nachweis und zur Bestimmung des Solanins in Kartoffelzuchtmaterial

beschrieben. Mit den Nachweismethoden lassen sich Klone mit hohem, mittlerem und niedrigem Solaningehalt in Knollen und Blättern erkennen, die quantitativen Methoden gestatten eine genaue Bestimmung des Solaningehaltes in den Eliten und anderem Zuchtmaterial. Alle Verfahren, insbesondere die des Nachweises in Knollen und Blättern, eignen sich für Serienuntersuchungen und können für die Einengung des Zuchtmaterials vor der Geschmacksprüfung durch Ausscheidung solaninreicher, stark bitterer Klone herangezogen werden.

Bei den qualitativen und quantitativen Methoden der Knollenuntersuchung wird von Knollensaft — durch Auspressen oder Zentrifugieren gewonnen — bzw. essigsäuren Extrakten ausgegangen, bei den Blattuntersuchungen von Extrakten aus Blatt-trockensubstanz mit einem Gemisch von Essigsäure und Essigsäureäthylester. Den Nachweismethoden liegt die auf dem Papier ausgeführte Farbreaktion mit Antimontrichlorid, den Bestimmungsmethoden die Reaktion mit Paraformaldehyd-Phosphorsäure, die photometrisch ausgewertet wird, zugrunde.

Brauchbarkeit und Grenzen der beschriebenen Ausleseverfahren werden an Hand von Ergebnissen diskutiert.

Die Untersuchungen wurden in enger Zusammenarbeit mit Fräulein Dr. M.-L. BAERECKE durchgeführt.

Fräulein M. WIERSCH danke ich für ihre Mithilfe bei der Ausführung der Versuche.

Literatur

1. ALBERTI, B.: Z. Unters. Lebensm. **64**, 260 (1932). Zit. nach K. SCHREIBER: Die Glykoalkaloide der Solanaceen. Chem. Techn. **6**, 648—658 (1954). — 2. BAERECKE, M.-L.: Stand der Resistenzzüchtung gegen den Kartoffelkäfer auf der Basis von *Solanum chacoense*. In Vorbereitung. — 3. BAKER, L. C., L. H. LAMPITT and O. B. MEREDITH: Solanine, glycoside of the potato. III. An improved method of extraction and determination. J. Sci. Food Agr. **6**, 197—202 (1955). — 4. DABBS, H. W., and R. J. HILTON: Methods of analysis for solanine in tubers of *Solanum tuberosum*. Can. J. Tech. **31**, 213—220 (1953). — 5. FISCHER, R., and J. THIELE: Über den Solaninnachweis in der Kartoffel mit Blutgelatine. Österr. Bot. Z. **78**, 325—334 (1930). — 6. GULL, D. D., and F. M. ISENBERG: Chlorophyll and solanine content and distribution in four varieties of potato tubers. Proc. Am. Soc. Horticult. Science **75**, 545—556 (1960). — 7. KUHN, R., und A. GAUHE: Über die Bedeutung des Demissins für die Resistenz von *Solanum demissum* gegen die Larven des Kartoffelkäfers. Z. Naturforsch. **2b**, 407—409 (1947). — 8. KUHN, R., und J. LÖW: In: Chemie und Biochemie der Solanum-Alkaloide. Angew. Chemie **71**, 529 (1959). — 9. KRÖNER, W., und W. VÖLKSSEN: Die Kartoffel. Die wichtigsten Eigenschaften der Knolle als Lebensmittel und Rohstoff. Leipzig: J. A. Barth, 1942. — 10. PFANKUCH, E.: Die photometrische Bestimmung von Solanin. Biochem. Zeitschr. **295**, 44—48 (1937). — 11. TUZSON, P.: In: Chemie und Biochemie der Solanum-Alkaloide. Angew. Chemie **71**, 529 (1959).