

ÜBER EINIGE MORPHOLOGISCHE UND PHYSIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN DER MITTELS COLCHICINBEHANDLUNG INDUZIERTEN TETRAPLOIDEN PAPRIKAPFLANZEN

G. PÁLFI, S. GULYÁS und GY. SOMOGYI

Pflanzenphysiologisches und Mikrobiologisches Institut
der Attila József Universität

Botanisches Institut der Attila József Universität und
Paprika-Veredelungsgruppe der experimentellen landwirtschaftlichen
Versuchsanstalt, Szeged

Einleitung

Ungarische Forscher haben auf dem Gebiete der Paprikaveredlung ausgezeichnete Erfolge erzielt. Sie haben Gewürzpaprikasorten mit hohem Farbstoffgehalt entwickelt. Diese Sorten enthielten jedoch beträchtliche Mengen Capsaicin, dadurch ging ihre Verarbeitung mit ziemlich vielen Schwierigkeiten einher. E. Obermeyer brachte durch Kreuzung einer Speisepaprika- mit einer Gewürzpaprikasorte eine capsaicinfreie Gewürzpaprikavariante zustande. Im weiteren entstanden — ausgehend von dieser Sorte — durch Auswahl und Kreuzung mehrere capsaicinfreie Sorten. Der Farbstoffgehalt der capsaicinhaltigen Sorten ist jedoch bis auf den heutigen Tag grösser als jener der Capsaicin nicht enthaltenden Sorten. Es erschien daher zweckmässig, mit einem von den bisherigen Veredlungsmethoden abweichenden Verfahren Versuche zur Herstellung neuerer, die bisherigen an Qualität übertreffender Sorten zu unternehmen. Da es sich bei sämtlichen in der öffentlichen Züchtung befindlichen Paprikasorten um diploide Varianten handelt, dachten wir daran, es mit colchicininduzierten polyploiden Sorten zu versuchen. Es gelang uns bereits zweimal, tetra- bzw. oktoploide Pflanzen zu entwickeln (Pálfi et al., 1961; Pálfi, 1965). Im Jahre der Behandlung ging die Mehrzahl der stark vergifteten, physiologisch in geschwächtem Zustand befindlichen Pflanzen infolge der ungünstigen Kultur- und Witterungsverhältnisse noch vor Erreichung des Fruchtstandes ein. Ein ähnliches Schicksal harrte auch der Nachkommen der samentragenden Pflanzen.

In den vorliegenden Versuchen wird erneut mittels Colchicinbehandlung die Hervorbringung einer erblich — polyploiden Paprikavariante angestrebt. In den folgenden Jahren sollen dann die morphologischen, physiologischen und Veredlungseigenschaften der diploiden

Ausgangs- und der erhaltenen polyploiden Sorte vergleichend untersucht werden. Die im Jahre der Colchicinbehandlung beobachteten Wachstums- und Entwicklungsunterschiede sind bereits untersucht worden (Pálfi 1965) und haben zu der Feststellung geführt, dass sie vorwiegend Folge der Colchicinwirkung sind und nur zu einem kleineren Teil die polyploiden Eigenschaften zeigen. Wir fanden — und auch Bolli (1965) teilte mit —, dass das Colchicin seine bedeutende Wirkung auf dem Wege einer gewissen Enzymtätigkeit entfaltet, wodurch es zu einem erheblichen Anstieg der freien K^+ - und Na^+ -Ionenmenge kommt. Die vielen einwertigen Kationen bringen Änderungen im Wassersättigungszustande des Zytoplasmas und der Zellwände mit sich und induzieren deren beträchtliche Volumvergrößerung. Diese gesteigerte Wassersättigung wird durch Zunahme des schwach gebundenen Wassers verwirklicht.

Im Jahre der Colchicinbehandlung wiesen die einzelnen Pflanzen — neben stark verzögertem Wachstum und schwacher Entwicklung — Missbildungen auf, so dass erst die nächsten Generationen den polyploiden Charakter zeigen können. Zur Ausgleichung der infolge der Genomvermehrung gestörten inneren Verhältnisse bedarf es mehrerer Generationen, wonach dann die geschwächte Vitalität wiederhergestellt werden kann.

Rampal (1965) hat den Vitamin C-Gehalt normaler und colchicinbehandelter Tetraploide capsaicinhaltiger Paprikapflanzen untersucht. Für die Diploide ergaben sich Durchschnittswerte von 60 mg/100 g und für die tetraploiden Pflanzen von 95 mg/100 g. Die Vitamin C-Menge hatte also mit der Verdoppelung der Chromosomenzahl weitgehend zugenommen. Dies lässt auch an die Möglichkeit eines sprunghaften Anstieges anderer wertvollen Eigenschaften, wie z.B. Farbstoffgehalt, Vitamine, Aroma und aetherische Stoffe denken. Unterstützt wird diese Vermutung durch die Feststellung von Heslot und Ferrary (1959), wonach die Tetraploide nicht selten mit Mutationen einhergeht. Nach Stebbine (1966) sichert die Polyploide in der terminalen Phase der Evolution höherer Pflanzen die ökologische und physiologische Spezialisierung und die genetische Differenzierung.

Material und Methodik

Die diploide Ausgangspflanze war die von I. Erdei veredelte, capsaicinfreie Paprikasorte 57—13 (*Capsicum annum* L. var. *longum*, forma *Szegediense*). Zur Colchicinbehandlung wurden die Samen in mit der Erde gefüllte Kulturgefäße gesät (10. März 1966), welche unmittelbar nach der erfolgten Behandlung ins Freie gebracht und für die Nacht mit Folie bedeckt wurden. Mit der Behandlung wurde begonnen, wenn bei einigen Pflanzen zwischen den Keimblättchen der Ansatz des Vegetationssprosses erschien. Die Kulturgefäße und die darunter befindliche Erde wurden reichlich begossen, zwischen die Keimblättchen drei Tage hindurch täglich dreimal 0,2 %-ige Colchicininlösung geträufelt, von nun an der Boden unter den Kulturgefäßen ständig begossen und die Gefäße mit durchsichtiger Folie bedeckt, um ein Verdunsten der Colchicintröpfchen in der feuchten Atmosphäre zu verhüten. Nach Ablauf von drei Tagen wurden die Pflanzen abgewaschen, begossen und auch weiterhin im Sonnenlicht gehalten — bei kaltem Wetter wurden sie mit Folie überdeckt. Inzwischen fand auch Begießen mit Nährlösung statt. 2—3 Wochen lang entwickelte sich der Vegetationsspross nicht, nur die Keim-

blättchen und das Hypokotyl wurden grösser und dicker. Dann erschienen die Laubblätter, aber die Pflanzen blieben auch weiterhin zwerghenwüchsig. Bis zur Erreichung von 6—8 Blättern gingen etwa 20 % der Pflanzen ein. Die übriggebliebenen Pflanzen wurden nun in den Überschwemmungsboden des Botanischen Gartens unserer Universität gepflanzt. Beim Erscheinen der ersten Blüten wurden — je nach dem Habitus der Pflanzen bzw. auf Grund der Grösse der Blüten und der Staubgefässe — die Diploide herausgezupft (ca. 20 %). Nach dem weiteren Untergang blieben bis zur Fruchtreife von den ausgesetzten Pflanzen etwa 50 % am Leben. Besonders die Oktoploide gingen zugrunde. Nach dem Abernten der Früchte und deren Nachreife wurden die Kerne einer jeden Frucht in gesonderte Säckchen bzw. Tüten gegeben. Die einzelnen Schoten enthielten gewöhnlich nur 10—20 entwickelte Samen. Von den Samen der einzelnen Früchte wurden einige in Petrischalen zum Keimen gebracht und aus dem Meristem der nur noch rund 2 mm grossen Würzelchen Chromosomenzählungen vorgenommen. Zwecks Verkürzung und Streckung der Chromosomen wurden die Keime für drei Stunden in einer 8—8—0 ychlinolin-Lösung von 0,0015 Mol oder zwei Stunden in 0,2 %-iger wässriger Colchicininlösung inkubiert (Vorbehandlung).

Nun wurden die Würzelchen in Carnoy-II-Lösung fixiert, dann die Zellen der Gewebe mit einem Salzsäure-Alkoholgemisch (1:2) aufgelockert, auf dem Objektträger mit Carmin-Essigsäure gefärbt und nach Abdecken mit Schmidt'scher Verschlussmasse Chromosomenzählung in der Phasenkontrasteinrichtung mit Ölimmersion bei 1250-facher Vergrösserung vorgenommen. Rund 70 % der Früchte erwiesen sich als Tetraploide, zur Weiterzucht wurden nur sicher tetraploide Exemplare verwendet.

Da die Keimfähigkeit der Tetraploidsamen eine sehr schlechte war, haben wir sie im Frühjahr 1967 in Petrischälchen auf feuchtem Filtrierpapier unter optimalen Bedingungen zum Keimen angesetzt, die über Keimblätter verfügenden Pflänzchen in Treibhaus-Stecklingsbeete gepflanzt und die grösseren Pflänzchen später in den guten Boden der Veredelungsanlage der Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt übertragen. Gleichzeitig wurden auch mehrere hundert diploide Pflänzchen der gleichen Ausgangssorte als Kontrollen der tetraploiden ausgepflanzt. Im Sommer 1967 herrschte 5—6 Wochen lang heisse, trockene Witterung mit Tagestemperaturen von 30—35° C. Während dieser Zeit wurden di- und tetraploiden Pflänzchen gleichermaßen gut begossen.

Für die morphologischen Untersuchungen wurden am 25. Juli bei vollem Blütenstand Proben entnommen. Zum Vergleich der diploiden und der tetraploiden Paprikapflanzen (zweite Generation; C₁) wurden das sechste Internodium Blätter der Seitenzweige I. Ordnung und die Stiele dieser Blätter verwendet.

Das gesammelte Material wurde in 50 %-igem Aethanol fixiert, in Zelloidin eingebettet, im Mikrotom von jedem Organ 50 Querschnitte angefertigt, diese mit Delafield'schem saurem Hämatoxylin gefärbt und nach Abschliessen mit Kanadabalsam untersucht.

Zu den blatthistologischen Untersuchungen wurde das mittlere Drittel der Blattlamellen benutzt, da die Arten- und Sorteneigenschaften an diesen Stellen am ehesten zur Geltung kommen. Das Anteilsverhältnis der einzelnen Gewebe der untersuchten Organe wurde an aus dem Mikroskop projizierten Präparaten planimetrisch bestimmt.

Zur physiologischen Bewertung wurden zwei Wochen nach der Auspflanzung — und von da an 12 Wochen hindurch wöchentlich — Blätter aus den Verzweigungen am mittleren Drittel des Stengels gesammelt. Bei einem Teil der Blätter wurde das Gewicht frisch, sowie nach dem Trocknen bei 65° ermittelt (Lufttrockengewicht). Dünnschichtchromatographisch wurden die Farbstoffkomponenten der Chloroplasten der frischen Blätter und die Gesamtchlorophyllmenge bestimmt. Ebenfalls aus Frischmaterial wurde auch der Gehalt an löslichen Gesamtproteinen nach Lowry et al. (1951) nachgewiesen. Die Bestimmung der Aminosäuren erfolgte auf schicht- und papierchromatographischem Wege — ausgehend vom Lufttrockengewicht — und die des Gesamtaminosäuregehaltes mit dem Universal-Standardverfahren mittels Eluierung (Szalai, 1967; Pálfi, 1964). Als Solventien dienten: Butanol-Essigsäure-Wasser (2:1:1) und Phenol-Alkohol-Wasser (3:1:1), die Aminosäuren wurden mit Azetoninhydrin (0,2 %ig) entwickelt und mit Kupfernitrat fixiert.

Versuchsergebnisse

In 1966, im Jahre der Colchicinbehandlung kamen in den Geweben der langsam sich entwickelnden Pflanzen diploide und in verschiedenem Grade polyploide Zellen nebeneinander vor, d.h. es bestand eine Myxoploidie. 60—70 Prozent der Zellen waren tetraploid. Die myxoploiden Gewebe brachten in den Blättern Missbildungen zustande (Abb. 2. Tafel I). Manche Blätter zeigten Riesenwuchs mit Blattlamellenlängen von nicht selten 15 cm. Die Reifung der erstgebundenen Früchte war um 3—4 Wochen verzögert. Um das Reifen der Früchte zu sichern, wurden wegen des kalten Wetters die Pflanzen ausgegraben und in Kulturgefäßen ins Triebhaus gebracht. Da uns die Tetraploide interessierten, wurden einzelne Samen der Schoten (5—8) zum Keimen gebracht und dann Chromosomenzählungen vorgenommen. (Abb. 5, und 6, Tafel II). stellen die Chromosomensätze der tetraploiden Fruchtkerne — ohne Vorbehandlung — dar. Die Chromosomen sind lang, gekrümmt und sehr schwer zu zählen. An Abb. 1, und 2, von Tafel II sind die Chromosomen der Diploiden ($2n = 24$) — vorbehandelten — Früchte zu sehen, und zwar schon die gedrungenen, geradegereckten Formen. Ein ebenfalls vorbehandeltes Präparat zeigt auch Abb 3 und 4 an Tafel II, hier liegen tetraploide ($2n = 48$) Zellen von. Da wir die Samen der behandelten Pflanzen zum Keimen gebracht hatten, waren die ausgesprossenen Keimpflänzchen schon nicht die behandelte Generation, sondern Genus C_1 , so dass die 1967 gezüchteten Pflanzen als vererbte Tetraploide zu betrachten sind. Die Vererbung der Polyploidie beweist auch der Umstand, dass wir Kerne aus den Früchten der 1967 gezüchteten Pflanzen keimen liessen und sich auch die Generation C_2 als tetraploid erwies.

Hinsichtlich des Chromosomenbestandes des Capsicum-Genus ist zu bemerken, dass Darlington (1957) bei der ganzen Solanaceae-Familie $2n = 24$ beschrieb. Cooper und Rieman (1958) stellten fest, dass die gesamten gezüchteten Kartoffeln tetraploid ($2n = 48$) sind, unter den Artenhybriden aber auch diploide Pflanzen vorkommen. Goodspeed und Thompson (1959) fanden anlässlich ihrer zytotaxonomischen Untersuchungen, dass der Nicotiana-Genus Arten mit dem Chromosomensatz $2n = 24$ und $2n = 48$ enthält. Darüber hinaus wurde auch eine aneuploide Reihe nachgewiesen. Nach Pandey (1960) sind viele Forscher zu dem Schluss gekommen, die Grund-Chromosomenziffer der Solanaceae-Familie betrage $2n = 12$. Smith (1957) dagegen wies nach, dass bei allen Arten des Capsicum-Genus der diploide Chromosomensatz $2n = 24$ beträgt. Wir betrachten als diploid Chromosomenbestände von $2n = 24$.

Auch die Form der Pflanzen des 1967 gezüchteten, tetraploiden Genus C_1 unterschied sich stark von der der diploiden Kontrollen. Die tetraploiden Pflanzen waren bereits zur Zeit der vollen Blüte um 15—20 cm höher gewachsen als die diploiden, beim Eintritt der Reife aber glich sich diese Differenz aus. In den Entwicklungsphasen der tetraploiden Pflanzen war schon kein Zurückbleiben hinter den diploiden mehr zu verzeichnen wie im Jahre der Behandlung. Beide Varianten blühten zur gleichen Zeit, die Blüten der tetraploiden Pflanzen waren in der

Regel grösser als die der diploiden. Abb. 1, an Tafel I zeigt zwei grosse Blüten in natürlicher Grösse. Das Kelchblatt der einen Blüte ist 16-teilig, der Durchmesser der einen Blume beträgt bei Aufsicht 4,0 cm, der der anderen 3,8 cm. Im Jahre der Colchicinbehandlung wich der Habitus der Pflanzen stark von dem der unbehandelten diploiden ab, doch entbehrten die Abweichungen der Eineitlichkeit. Die tetraploiden Nachkommen C_1 zeigten schon einheitlich entwickelte Gestalt, so dass wir 1967 auch morphologische Untersuchungen anstellten.

Die makroskopisch augenfälligste Abweichung an den Stengeln war der Grössenunterschied zwischen di- und tetraploiden Individuen: der tetraploide Stengel ist fast zweimal so dick wie der diploide, dennoch ist hinsichtlich Zahl und Zeichnung der an den Stengeln sichtbaren Carinen und Valleken kein wesentlicher Unterschied zu beobachten. Das Beteiligungsverhältnis der einzelnen Gewebsarten im Querschnitt der beiden Stengel führt Tabelle I. vor Augen.

Tabelle I. Prozentuelles Beteiligungsverhältnis der Gewebe diploider und tetraploider Paprikapflanzen im Stengelquerschnitt.

Gewebe	Diploid	Tetraploid
Epidermis + Rindenparenchym	22,8	25,7
Collenchyma	8,2	7,0
Phloemgewebe + Kambium	6,9	7,3
Xylem	28,6	44,5
Markstrahlparenchym	33,5	15,5

Der Tabelle ist zu entnehmen, dass die grösste Abweichung zwischen den beiden Arten das Xylem und das Parenchym der Marksubstanz aufweisen. Im Stengel der tetraploiden Variante ist das Xylem annähernd um 30 % grösser. Dieser entwickeltere Holzanteil ist natürlich zur Sicherung eines weit besseren und schnelleren Wasser- und Nährstofftransportes imstande als der kleinere Holzanteil bei den diploiden Pflanzen.

Auffallend ist, dass im Stengel der tetraploiden Paprikapflanzen das Markgewebe sehr spärlich entwickelt war (15,5 %). Von allen Geweben ist bei den tetraploiden Pflanzen das Xylem mit 44,5 % Beteiligung das bestentwickelte (s. Tabelle I, und Abb. 3, und 4, an Tafel I), während in den diploiden Stengeln das Markgewebe (mit 33,5 %) dominiert und erst dann das Xylem usw. folgen. Der gewaltige Grössenunterschied im Holzanteil der tetra- und der diploiden Sorte geht auch daraus hervor, dass im Falle der diploiden Variante die Vergrösserung des ganzen Xylem auf der Abbildung Platz hatte, im Falle der tetraploiden aber — bei gleicher Vergrösserung — nur ein Teil davon. In den beiden Stengeln ist hinsichtlich der in Tabelle I. angeführten übrigen Gewebe die Abweichung eine minimale — 1-3 % — (Abb. 3, und 4, in Tafel III) — Beim Vergleich der Gewebeteilung im Holz- und Markanteil der beiden Stengelarten ist ein reziprokes Verhältnis zu beobachten. Dies

deutet darauf hin, dass betreffs der Entwicklung von Holz- und Markgeweben ein weit engerer Zusammenhang besteht zwischen dem Holz- und den übrigen Gewebetypen. Es ist wahrscheinlich, dass im Falle der tetraploiden Pflanzen das Xylem schon im jungen Alter auf Kosten des Markanteiles gewachsen ist. Ein weiterer grundlegender Unterschied zwischen den beiden Stengeln ist noch, dass fast alle Gewebebestände der tetraploiden Variante aus grösseren Zellen aufgebaut sind. Am deutlichsten tritt dies im Parenchym des Markgewebes zutage (Abb. 5, und 6, in Tafel III). Auf eine Gebietseinheit entfallen also im diploiden Stengel stets mehr Zellen.

Erhebliche Unterschiede zwischen di- und tetraploiden Varianten machen sich auch im morphologischen und strukturellen Gefüge des Blattstiemes bemerkbar. Bei der tetraploiden Art ist der Blattstiel kurz, dick und auch sein Gefässbündel besser entwickelt; am auffallendsten aber ist sein gewaltiges Phyllodium (Abb. 5, Tafel IV), welches auch die Assimilationsfläche bedeutend vergrössert. Bei den diploiden Individuen ist zwar der Ansatz eines Phyllodium ebenfalls vorhanden, und auch ein Assimilationsparenchym ist darin zu beobachten, doch ist dieses im Vergleich zu dem vorgenannten unbedeutend (Abb. 6, Tafel IV).

Beim Vergleich der Blätter dienen die Dicke der Blattlamellen, der Entwicklungsgrad der Äderung, die Zahl der auf eine Gebietseinheit entfallenden Epidermiszellen sowie die Zahl der Stomen als Grundlage. Die Auswertung der Blattepidermis ist noch im Gange und daher betreffs der Blätter ist vorerst nur folgendes festzustellen: Die Blätter der tetraploiden Pflanzen sind breiter, haben eine grössere Oberfläche und typische Herzschulterform. Ihre Äderung erinnert an die der diploiden, doch fällt sofort die hochentwickelte Hauptader auf (Abb. 3, und 4, an Tafel IV), diploiden Blätter. Die Blattlamelle ist interessanterweise dicker als bei

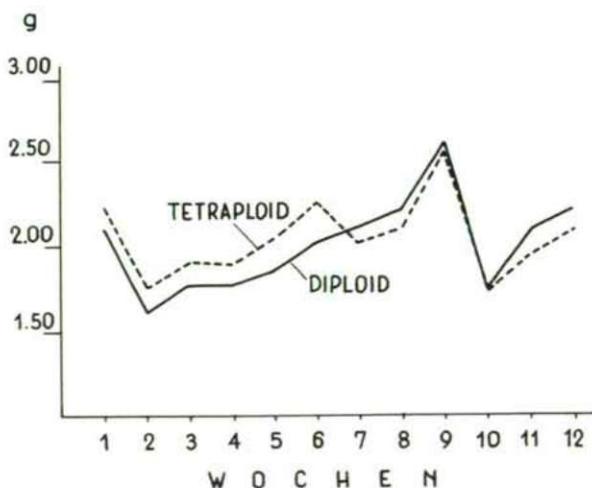


Diagramm 1.: Trockensubstanz aus je 10 g frischen diploiden und tetraploiden Paprikablättern. Wöchentlich entnommene Proben (1—12).

diploiden Blätter. Die Blatlamelle ist interessanterweise dicker als bei den diploiden Blättern (Abb. 1, und 2, Tafel IV). Diese Tatsache ist auf das besser entwickelte, spongiöse Parenchym der diploiden Blätter zurückzuführen. Hinsichtlich des Palisadparenchyms waren wesentliche Abweichungen nicht festzustellen. Im Mesophyllum war noch zu beobachten, dass die diploiden Blätter weitaus mehr Idioblasten enthalten.

Im Jahre der Colchicinbehandlung wurde aus 10 g Frischmaterial im Falle der tetraploiden Blätter bei jeder Untersuchung weniger Trockensubstanz erhalten, als bei den diploiden. Der Wassergehalt der tetraploiden war in jeder Phase der Entwicklung um 10—15 % grösser als bei den diploiden. Beim Genus C_1 erfuhr diese Richtung 1967 eine Wandlung. Aus dem Graphikon Nr. 1 ist ersichtlich, dass aus 10 g frischer Substanz anlässlich der ersten sechs Untersuchungen in jedem Falle das tetraploide Material mehr Trockensubstanz lieferte. Wenn auch bei den folgenden sechs Untersuchungen viermal die Trockensubstanzmenge bei der diploiden Sorte grösser war, gleicht dies doch den Vorteil der tetraploiden Variante nicht aus, denn in der neunten und zehnten Woche lieferten beide Sorten annähernd gleiche Werte.

Die quantitativen Messungen der löslichen Gesamtproteine im Falle des Genus C_1 ergaben, dass die tetraploide Sorte — ebenso wie beim Trockenmaterial — auch hier in sechs Fällen die diploide übertraf (Abb. 2) und nur anlässlich dreier Untersuchungen geringere Werte lieferte als die diploide.

Vergleich der Diagramme 1, und 2 lässt einen Zusammenhang in der Richtungsänderung des Kurvenverlaufes feststellen. Ausserdem stimmen auch die Wertänderungen betreffs des löslichen Gesamtproteins und der Trockensubstanz bei di- und tetraploiden Varianten ziemlich überein.

Die Farbe der tetraploiden Blätter unterschied sich sowohl im Jahre der Behandlung, als auch in dem folgenden Jahr von der der diploiden: sie waren von satterem, etwas bläulichem Grün. Bei der dünn-

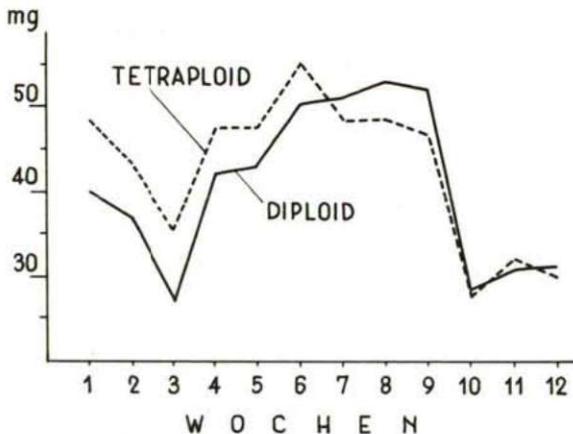


Diagramm 2.: Lösliches Gesamtprotein der Blätter diploider und tetraploider Paprikapflanzen, mg/1 g frisches Material. Wöchentlich entnommene Proben.

chromatographischen Untersuchung der Farbstoffelemente der Chloroplasten der beiden Sorten stellte sich heraus, dass das quantitative Verhältnis der einzelnen Farbstoffe in den beiden Varianten vollkommen identisch war. Auch die Gesamtchlorophyllmessungen zeigten — auf 1 g frische Substanz bezogen — keine Abweichung zwischen di- und tetraploiden Blättern. Die mikroskopischen Untersuchungen ergaben dann, dass die Farbabweichungen zwischen di- und tetraploiden Blättern dadurch bedingt waren, dass die Chloroplasten der tetraploiden Blätter grösser waren und auch ihre räumliche Verteilung eine andere ist.

Im Jahre der Colchicinbehandlung zeigten die Aminosäureuntersuchungen in keinem einzigen Falle eine qualitative Abweichung zwischen diploiden und tetraploiden Varianten. Demgegenüber war der Gesamtaminosäuregehalt der Blätter der tetraploiden Paprikapflanzen höher als der der diploiden. Dies deutete auf die infolge der Colchicinbehandlung eingetretene Störung in der Eiweißsynthese hin.

Die qualitative Zusammensetzung der Aminosäuren des tetraploiden Genus C_1 unterscheidet sich nicht von der bei den diploiden Individuen, während der Gesamtaminosäuregehalt in der 4. und 5. Woche in den Blättern der diploiden Paprikapflanzen höhere Konzentrationen erreichte. Hier betrug der Gesamtaminosäuregehalt pro 1 g Trockensubstanz in den diploiden Blättern 9,5 mg (4. Woche) und 7,5 mg (5. Woche) und in den tetraploiden 7,0 mg (4. Woche) und 6,5 mg (5. Woche). Die zweidimensionalen Schichtchromatogramme der in der vierten Woche entnommenen Blätterproben zeigen an Abb. 1, und 2, von Tafel III. die Zusammensetzung der Aminosäuren bei diploiden und tetraploiden Paprikapflanzen, sie liefern gewissermassen auch Aufschluss über die quantitativen Verhältnisse und zeigen ferner, dass beim Paprika Alanin, Glutaminsäure und γ -Aminobuttersäure den grössten Fleck geben. Bei den einzelnen Untersuchungen wurden aber die grössten Veränderungen in quantitativer Hinsicht im Falle der γ -Aminobuttersäure gefunden.

Die quantitativen und qualitativen Auswertungen der Früchte des Genus C_1 wurden im Herbst 1967 nicht durchgeführt. Die infolge der Colchicinbehandlung entstandenen Schädigungen waren von diesem Genus noch nicht überwunden, die Früchte waren noch sichtlich minderwertig. Die Keimungsproben der Samen des Genus C_1 aber liessen bereits eine grosse Besserung im Verhältnis zu den Früchten des Vorjahres feststellen. Gegenüber dem Keimungsvermögen der im Jahre der Behandlung erzeugten Samen von 50 % betrug das der Samen des Genus C_1 schon 80—90 Prozent. Allerdings waren die Samen der tetraploiden Pflanzen rund doppelt so gross wie die der diploiden, doch betrug die Zahl der in einer Frucht enthaltenen Samen um 40—50 Prozent weniger als in den diploiden Schoten. Es wurden einige grössere und qualitativ bessere Schoten tragende Pflanzen ausgewählt, um ihre Nachkommen in den folgenden Jahren gesondert zur Vermehrung zu bringen. Die Samen des tetraploiden Genus C_1 wurden zum Keimen angesetzt und Chromosomenzählungen aus dem Meristem der Würzelchen (Genus C_2) vorgenommen. Den Ergebnissen zufolge ist diese Sorte vererblich tetraploid.

Besprechung der Ergebnisse

Im Jahre 1966 haben wir mittels Colchicinbehandlung polyploide Paprikapflanzen gezüchtet. Die Samen der Schoten wurden im Herbst zum Keimen gebracht und aus dem Meristem der Würzelchen Chromosomenzählungen vorgenommen. Etwa 70 % der fruchttragenden Pflanzen waren tetraploid ($2n = 48$). Die höher polyploiden Varianten gingen innerhalb des Kulturjahres zugrunde. Da im Jahre der Behandlung die Gewebe der einzelnen Pflanzen di-, tetra- und polyploide Zellen nebeneinander enthielten (myxoploides Gewebe), kam es wegen der verschiedenen grossen Zellen in den einzelnen Organen zu Missbildungen verschiedenen Grades. Die Mehrzahl der Gewebezellen aber stellte tetraploide Elemente dar (60—70 %), und auch die meisten Früchte erwiesen sich als tetraploid. Im Jahre der Behandlung zeigten die einzelnen Pflanzen stark heterogenen Habitus, deshalb wurde von der Durchführung histologischer Untersuchungen Abstand genommen.

Laut den physiologischen Untersuchungen ist der Wassergehalt der behandelten Pflanzen während der ganzen Evolutionsperiode um 10—15 % höher als bei den diploiden Kontrollen.

Tretjak und Okanenko (1966) fanden bei polyploiden Zuckerrüben ebenfalls eine grössere Wassersättigung des Protoplasmas als bei diploiden Pflanzen. Dies ist unseres Erachtens eine Folge der Vermehrung des schwach gebundenen Wassers. Die Autoren kamen zu der Schlussfolgerung, dass der Gehalt an festgebundenen Wasser mit zunehmender Polyploidie nachlässt. Dessenungeachtet pflegt das Wasserdefizit der polyploiden Pflanzen in den heissen Mittagsstunden etwas geringer zu sein als das der diploiden.

Qualitativ war die Zusammensetzung der Aminosäuren im Jahre der Colchicinbehandlung bei beiden Pflanzensorten vollkommen gleich, quantitativ aber war der Aminosäuregehalt der behandelten Pflanzen während der ganzen Kulturperiode um 15—20 % höher als im Falle der diploiden, was auf eine Störung in der Eiweissynthese der myxoploiden Gewebe hinweist.

Auch Wolter (1965) wies bei tetraploiden Zuckerrüben einen höheren Aminosäuregehalt nach als bei diploiden. Laut seinen Angaben sind in den tetraploiden Varianten in grosser Menge auch Aminosäuren anzutreffen, die in der diploiden Variante nur in geringer Quantität oder überhaupt nicht vorkommen. Wir haben derartige Abweichungen beim Paprika nicht gefunden.

Im Jahre der Colchicinbehandlung wurden stark unterentwickelte Früchte erhalten und auch die Reifezeit war um 3—4 Wochen verzögert. Die Zahl der Kerne in den einzelnen Schoten betrug nur 10—20 und auch ihre Keimfähigkeit erreichte höchstens 50 %. Im Jahre 1967 wurden nur die sicher tetraploiden Individuen weitergezüchtet.

Die bereits vererbt tetraploiden Paprikapflanzen taten sich durch ein allgemein intensiveres Wachstum hervor, sie waren grösser und schwerer als die diploide Ausgangssorte (Kontrollen). Blütenstand und Frucht-reife fielen zeitlich bei dem tetraploiden Genus C_1 und den diploiden Pflanzen zusammen.

Der Stengel der in ihren Habitus schon einheitlich tetraploiden C_1 -Pflanzen ist fast doppelt so dick wie der der diploiden. Diese Verdickung ist nicht nur durch die Vergrößerung der das Gewebe bildenden Zellen bedingt, sondern teilweise auch Folge des Wachstums der Transportelemente, welches einen gesteigerten Stoffwechsel ermöglicht. Auch Tretjak und Okanenko (1966) fanden bei Zuckerrüben mit zunehmendem Ploidiegrade eine Vergrößerung des Durchmessers der Xylemgefäße. In den Stengeln unserer tetraploiden Paprikapflanzen wurde der Durchmesser der Xylemgefäße ebenfalls grösser, bedeutsamer aber ist die grössere Ausdehnung des ganzen Holzanteilquerschnittes überhaupt. Horváth (1965) fand anlässlich seiner ökologischen Untersuchungen im Stengel von Erbsen ebenfalls eine Vergrößerung des Xylems auf Kosten des Markparenchyms.

Bei den tetraploiden Pflanzen ist wegen der Vergrößerung der Blattfläche, des Stengelumfangs und des am Blattstiel breit entwickelten Phylloodiums die Assimilationsfläche erheblich vergrössert.

Obzwar die Blätter der tetraploiden Variante C_1 sich mit ihrem satten grün stark von der Farbe der diploiden unterscheiden, konnten im Laufe der Untersuchungen doch weder im Gesamtchlorophyllgehalt, noch in den Chloroplastkomponenten Abweichungen festgestellt werden. Die mikroskopischen Befunde ergaben, dass der Farbunterschied durch die unterschiedliche räumliche Anordnung der grösseren Chloroplasten in den tetraploiden Blättern — gegenüber der bei den diploiden Pflanzen beobachteten — verursacht war. Essad und Touvin (1959) fanden ebenfalls, dass in den Blättern der polyploiden Rüben die Chloroplasten vergrössert waren und im mikroskopischen Gesichtsfeld in geringerer Zahl vorhanden waren als in den diploiden Blättern. Die Autoren schlugen diese Tatsache als eine Methode zur schnellen Auswahl der Polyploide vor mit der Bemerkung, dass sichere Daten durch die Chromosomenzählung zu erhalten sind.

Hinsichtlich des aus 10 g frischen Blättern gewonnenen Trockengewichtes erwies sich die tetraploide Variante als vorteilhafter. Diese Tatsache lässt mit einer schnellen Besserung der tetraploiden Paprikapflanzen in den nächsten Generationen rechnen, war doch im Vorjahre während der ganzen Züchtungsperiode der Trockensubstanzgehalt der Blätter der diploiden Pflanzen grösser.

Die Menge des löslichen Gesamtproteins in den tetraploiden Blättern erwies sich im allgemeinen ebenfalls als grösser als die der diploiden Pflanzen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Shimano und Mitarbeiter (1959) sowie Takasugi und Mitarbeiter (1959) in Verbindung mit den Blättern von polyploiden *Vicia angustifolia* L., bzw. *Astragalus sinicus* L.

Beim Vergleich des Gesamtproteingehaltes (Abb. 2) und der Trockengewichtskurven (Abb. 1) ist festzustellen, dass parallel mit dem Zu- bzw. Abnehmen des Gesamtproteingehaltes auch die Trockengewichtskurve steigt oder sinkt. Ausserdem wechseln auch die quantitativen Verhältnisse der beiden Varianten an den Kurven der beiden Abbildungen parallel. Hieraus ist ersichtlich, dass zwischen dem Gehalt

an löslichem Gesamtprotein und der Vermehrung des Trockensubstanzgehaltes ein enger Zusammenhang besteht.

Das Aminosäurespektrum des tetraploiden Genus₁ ist vollkommen identisch mit der Zusammensetzung der Aminosäuren in den diploiden Blättern. In zwei Fällen war die Gesamtaminosäurenkonzentration der diploiden Variante grösser als die der tetraploiden. Allerdings herrschte zur Zeit der Untersuchungen heisses Wetter, was eine Störung in der Eiweißsynthese verursacht haben dürfte. Die tetraploide Variante vermochte die grosse Hitze leichter zu tolerieren, da ja ihre aktiven wassertransportierenden Gewebe, d.h. das Xylem, gegenüber denen der diploiden Pflanzen riesig vergrössert war.

Im Jahre 1967. wurden die vererbten Tetraploide durch künstliche Bestäubung mit dem Ausgangsdiploid rückgekreuzt und daraus auch Früchte erhalten, allerdings mit stark verminderter Samenzahl. Die Untersuchung dieser Chromosomen ist eine unserer nächsten Aufgaben. Eine optimale Vitalität zeigen nach den Befunden von Knapp (1957), Lebedeva (1959) und Müntzing (1956) die Triploide.

Bei den tetraploiden Pflanzen kommt es häufig zu Mutationen, wodurch Auswahl neuer, besserer Stämme möglich wird. Eine bedeutende — wenn auch nicht vorteilhafte — Mutation fanden wir bereits: Die Ausgangssorte für die Colchicinbehandlung war eine konstant vererbliche, capsaicinfreie Paprikasorte, und dennoch enthielten rund 20 % der Früchte des tetraploiden Genus C₁ Capsaicin. Da diese Mutation bei sämtlichen Früchten einiger Pflanzen in Erscheinung trat, ist eine Selektierung unschwer möglich.

Zusammenfassung

Die Verfasser haben an einem selbstgezüchteten tetraploiden Paprikapflanzenbestand (*Capsicum annuum* L.) morphologische, histologische und physiologische Untersuchungen angestellt.

1. Im Jahre der Colchicinbehandlung (C₁ Genus) wurden myxoploide Blätter erhalten, deren Form infolge von Gewebverschiebungen Missbildungen aufwies. Die über höhere Genome verfügenden Pflanzen gingen zugrunde. 70 % der fruchttragenden Individuen wurden tetraploid. In den einzelnen tetraploiden Früchten ging die Zahl der Kerne auf 10—20 zurück, und auch deren Keimungsfähigkeit war nur eine 50-prozentige.

2. Der Trockensubstanzgehalt der Blätter der mit Colchicin behandelten Pflanzen war um 10—15 % geringer als der in der diploiden Variante, d.h. der Wassergehalt in den Blättern der myxoploiden Pflanzen war höher als der in den unbehandelten diploiden.

3. Der Gehalt der myxoploiden Blätter an freien Gesamtaminosäuren war während der ganzen Untersuchungsperiode grösser als bei den diploiden Pflanzen. Diese Vermehrung war eine Folge der Eiweißsynthesestörung bei der colchicinbehandelten Variante. Qualitative Unterschiede betreffs der Aminosäuren bestanden nicht.

4. Die erblich tetraploiden Paprikapflanzen (Genus C₁) gediehen schneller als die diploiden und dieser Unterschied wurde erst zur Zeit

der Fruchtreife ausgeglichen. Die Entwicklungsphasen der tetra- und diploiden Varianten fielen zeitlich zusammen. Die Zahl der Samen in den tetraploiden Schoten blieb immer noch hinter der in den diploiden zurück, wogegen die Keimungsfähigkeit der Samen auf 80—30 % stieg.

5. In den Stengel- und Blattquerschnitten der tetraploiden Sorte (C_1) sind Transportelemente in wesentlich grösserer Zahl vorhanden als in der diploiden, was einen intensiveren Materialtransport ermöglicht. In den tetraploiden Stengeln ist das Xylem auf Kosten des Markparenchyms um rund 30 % vermehrt.

6. In den tetraploiden Individuen ist infolge der Vergrößerung der Blattfläche und des Stengelumfangs, sowie der gutentwickelten Phylloiden die Assimilationsfläche erheblich grösser geworden.

7. Da in den tetraploiden Geweben die Zellen umfangreicher sind als in den diploiden, ist hier die Zahl der auf eine Gebietseinheit entfallenden Zellen geringer als im diploiden Gewebe.

8. Hinsichtlich der aus gleich schweren Mengen Frischmaterial erhaltenen Trockensubstanzgewichte erwies sich das tetraploide Genus C_1 als vorteilhafter als die Kontrollen, was zur Hoffnung auf eine schnelle Besserung der Sorte in den folgenden Jahren berechtigt, da ja im Vorjahre die Trockensubstanz der diploiden Variante noch die grössere war. Auch der Gehalt an löslichen Gesamtproteinen ist in den tetraploiden Blättern gewöhnlich ein höherer als in denen der diploiden Ausgangssorte.

9. Die qualitative Zusammensetzung der Aminosäuren in dem tetraploiden Genus C_1 stimmt völlig mit der in den diploiden Blättern überein. Die Gesamtaminosäurenkonzentration in den Blättern der beiden Varianten zeigte im Laufe der 12 Untersuchungen keine nennenswerten Abweichungen.

10. Die tetraploiden Blätter sind von einem satteren Grün als die diploiden. Diese Abweichung ist weder durch die qualitative Zusammensetzung der Farbstoffkomponenten in den Chloroplasten, noch durch die quantitativen Unterschiede im Gesamtchlorophyllgehalt bedingt. In den Zellen der tetraploiden Blätter sind die Chloroplasten grösser und räumlich anders angeordnet als in den diploiden, daher die farbliche Abweichung.

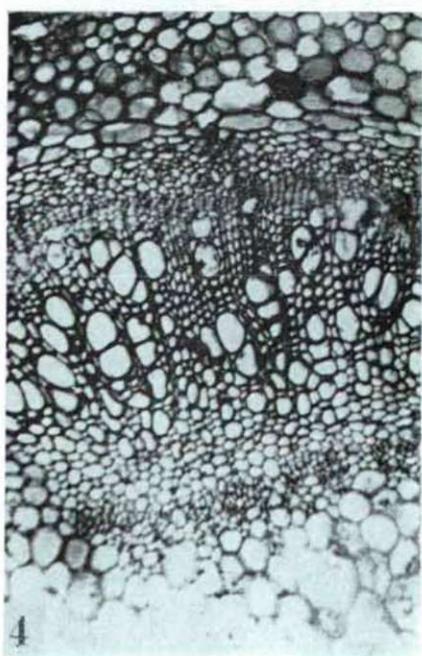
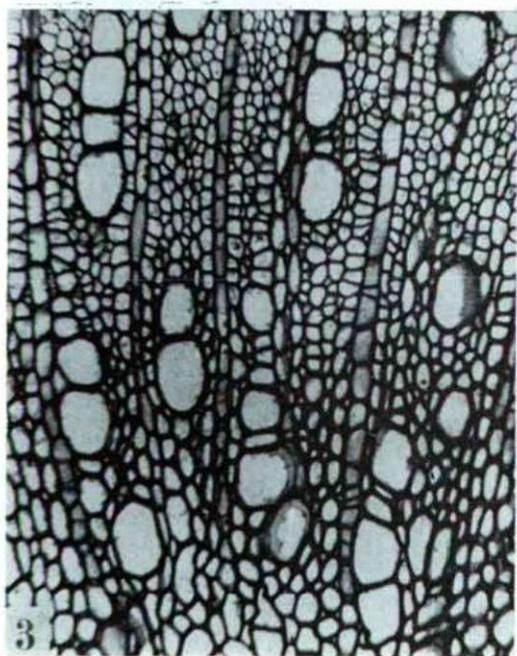
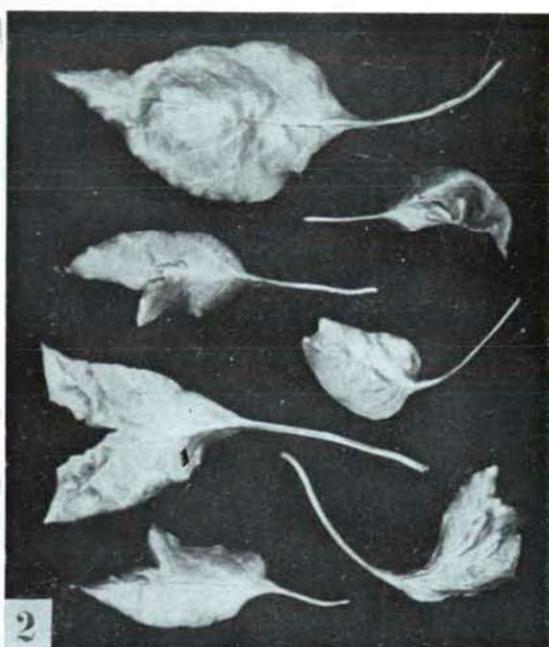
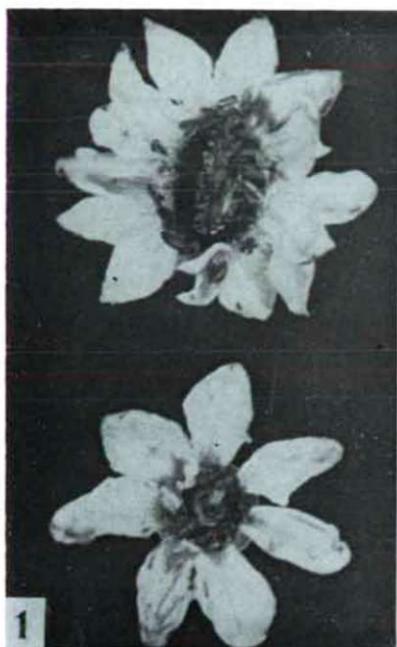
Literatur

- Bolli, M. (1966): Sul meccanismo di azione della colchicina. — Genet. Agr., Pavia, 20, 362—369.
- Cooper, D. C., Rieman, G. H. (1958): Diploid plant in a seedling population of the cultivated potato. — Amer. Potato J., 35, 642.
- Darlington, C. D. (1957): Chromosomenbotanik. — (Übers. aus dem Russ.) Stuttgart, George Thieme.
- Essad, S., Touvin, H. (1959): Techniques de production et de controle des betteraves poliploides. — Ann. Inst. nat. rech. agron., B—9, 553—574.
- Goodspeed, T. H., Thompson, M. C. (1959): Cytotaxonomy of Nicotiana. II. — Bot. Rev., 25, 385—415.
- Heslot, H., Ferrary, R. (1959): Obtention experimentale d'un autotetraploide aberrant (*Triticum timonovum*) á partir de *Triticum Timopheevi* Zhuk. — C. r. Acad. Sci., 248, 452—455.

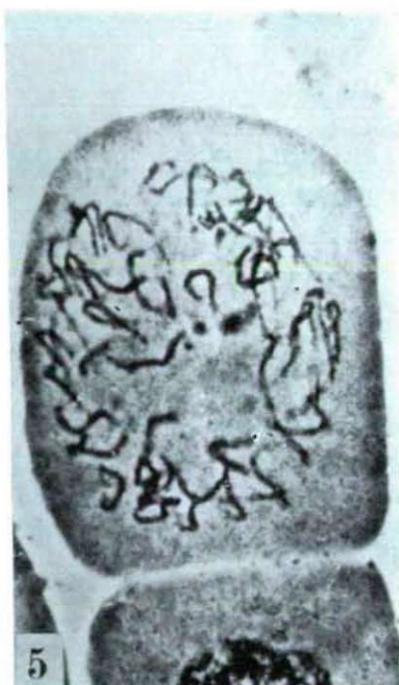
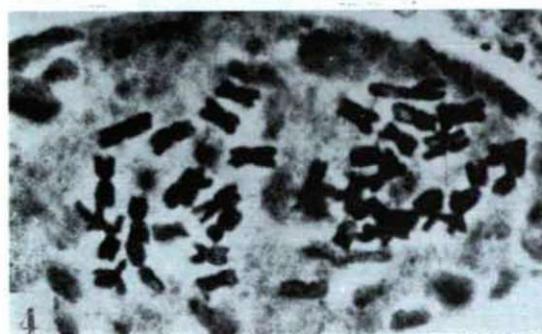
- Horváth, I. (1965): A fény színképi összetételének növényökologiai szerepe. (Doktori disszertáció.) Gödöllő.
- Knapp, E. (1957): The significance of polyploidy in sugar beet breeding. — *Cytologia*, Suppl. Vol. Tokyo, 300—304.
- Lebedeva, N. A. (1959): Izmenenija kartoffelja (*Solanum* ssp.) pri poliploidii. — *Botan. Zsurn.*, 44, 1075—1090.
- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin-phenol reagent. — *J. Biol. Chem.*, 193, 265—275.
- Müntzing, A. (1956): *Polyploidiezüchtung*. Parey, Berlin—Hamburg.
- Pandey, Kamila, K. (1960): Selfincompatibility system in two Mexican species of *Solanum*. — *Nature*, 185, 483—484.
- Pálfi, G., Visnyovszky, Zs., Tranger, B. (1961): Poliploid fűszerpaprika előállítás. — *Kísérleti közlemények. Kertészet*, 1, 3—13.
- Pálfi, G. (1965): A comparative study of the N, P and amino acid content of colchicine treated polyploid paprika plant. — *Acta Biol. Szeged*, 11, 87—92.
- Pálfi, G. (1964): A new, ninhydrine-isatine positive amino acid-like compound in the leaves of rice plant. — *Acta Biol. Szeged*, 10, 53—63.
- Rampal, S. (1965): Note on vitamin C content in diploid and tetraploid *Capsicum*. — *Current. Sci.*, Bangalore, 34, 614—615.
- Shimano, I., Watanabe, K., Yamada, T. (1959): *Vicia angustifolia* L. var. *segetalis*. — *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci.*, G, 18, 23—43.
- Smith, P. G. (1957): Breeding behaviour of cultivated peppers. — *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, Geneva, 70, 286—290.
- Stebbins, G. L. (1966): Chromosomal variation and evolution. Polyploidy and chromosome size and number shed light on evolutionary process in higher plants. — *Science*, Washington, 152, 1463—1469.
- Szalai, I. (1957): Photometrische Bestimmung des Gesamtaminosäurespiegels im Kartoffelsaft mittels der Ninhydrinreaktion. — *Acta Biol. Szeged*, 3, 33—40.
- Takasugi, K., Futatsudera, T. (1959): Ulutschsenie experimental'no polütschennüch tetraploidov *Astragalus sinicus* L. — In *Referativn. Journ. Biol. AN. SSSR*, 1961. 3. g. 345.
- Tretjak, T. V., Okanenko, A. Sz. (1966): Osobennosi anatomitscheskoj strukturü i vodnogo rezima u poliploidnüch form sacharnoj skveklü. — *Fisiol. Rastenij*, 13, 469—478.
- Wolter, J. (1965): Studia nad zroznicovaniem wolnych aminokwasow w niektorych diploidalnych i poliploidalnych roslinach uprawnych. — *Ann. Univ. Mariae Curie-Sklodowska. Agric.*, 19, 347—380.

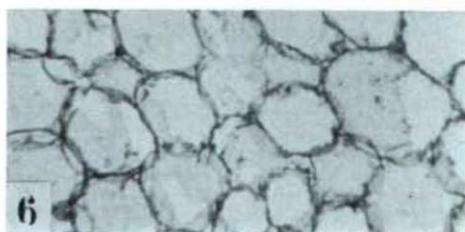
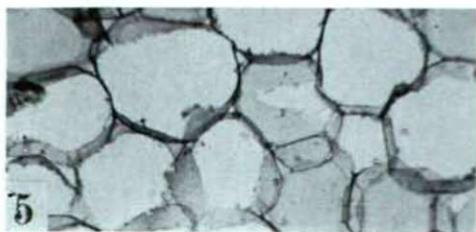
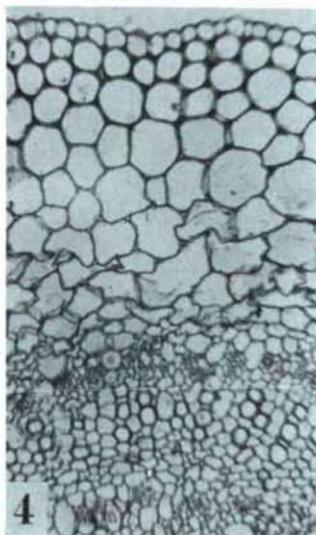
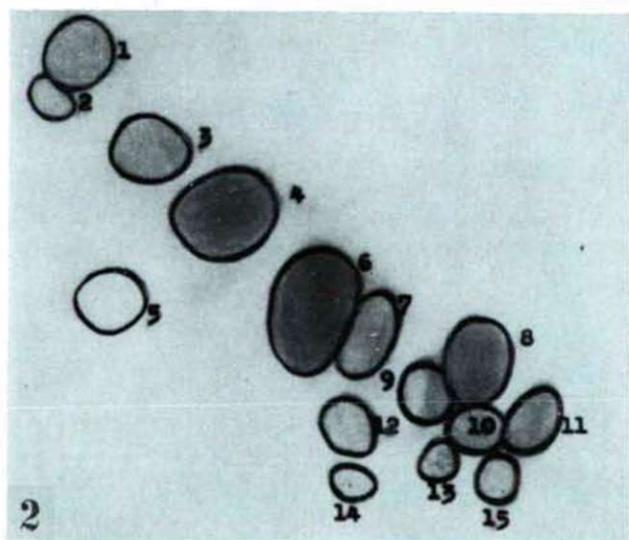
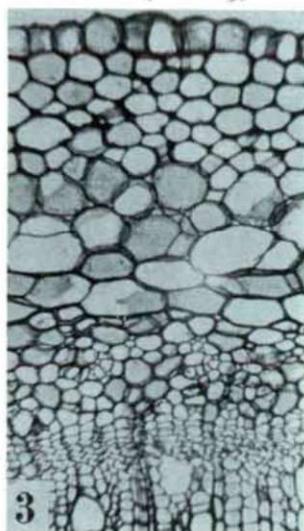
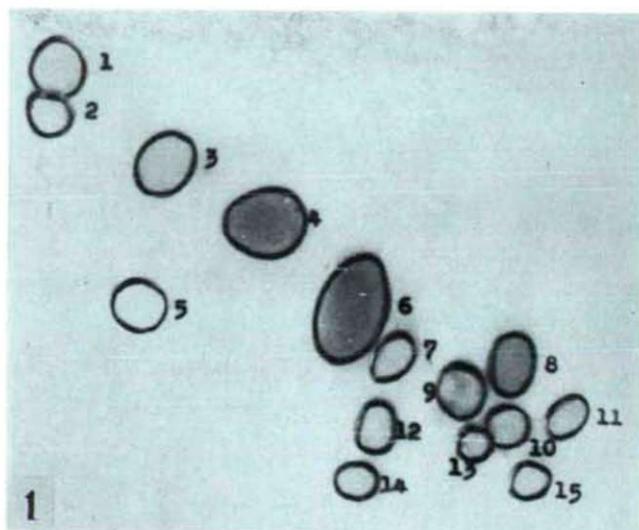
- Tafel I.** Abb. 1.: Riesenblüten einer tetraploiden Paprikapflanze (Genus C_1), natürliche Grösse.
 Abb. 2.: Myxoploide Zellen enthaltende, missgebildete Paprikablätter.
 Abb. 3.: Innenanteil des Stengelquerschnittes einer tetraploiden Paprikapflanze. Zentraler Teil des Xylem. x150.
 Abb. 4.: Teil des Stengelquerschnittes einer diploiden Paprikapflanze mit Xylem. x 150.
- Tafel II.** Abb. 1. und 2.: Diploide ($2n = 24$) Wurzelmeristemzellen in der Metaphase. Vitale Vorbehandlung bewirkte Verkürzung der Chromosomen. x 1250 + Photo x 5.
 Abb. 3. und 4.: Tetraploide ($2n = 48$) Wurzelmeristemzellen in der Metaphase, mit vitaler Vorbehandlung (C_1 Genus). x 1250 + Photo x 5.
 Abb. 5. und 6.: Polyploide Wurzelmeristemzellen in der Pro- und Metaphase (C Genus), (Jahr der Behandlung). Ohne vitale Vorbehandlung sind die Chromosomen lang und gekrümmt. x 1250 + Photo x 5.
- Tafel III.** Abb. 1.: Dünnschichtchromatogramm der Aminosäuren in tetraploiden Paprikapflanzenblättern:
- | | | |
|-------------------|----------|--------------------------|
| 1 = Leu | 6 = Ala | 11 = Asp |
| 2 = Phe | 7 = Thr | 12 = Glu-NH ₂ |
| 3 = Val, Met | 8 = Glu | 13 = Asp-NH ₂ |
| 4 = γ -Amb | 9 = Gly | 14 = Lys |
| 5 = Pro | 10 = Ser | 15 = Cys |
- Abb. 2.: Dünnschichtchromatogramm der Aminosäuren in diploiden Paprikapflanzenblättern.
 Bezifferung gleichbedeutend mit der in Abbildung 1 bzgl. der tetraploiden Variante.
 Abb. 3.: Äusserer Teil des Stengelquerschnittes einer tetraploiden Paprikapflanze (C_1 -Genus). Unten im Bilde äusserer Xylemanteil. x 80.
 Abb. 4.: Äusserer Teil des Stengelquerschnittes einer diploiden Paprikapflanze. Unten im Bilde innerer Xylemanteil. x 80.
 Abb. 5.: Mark-Parenchym eines tetraploiden Stengels. x 200.
 Abb. 5.: Mark-Parenchym eines diploiden Stengels. x 200.
- Tafel IV.** Abb. 1.: Querschnitt eines tetraploiden Blattes. x 200.
 Abb. 2.: Querschnitt eines diploiden Blattes. x 200.
 Abb. 3.: Querschnitt einer tetraploiden Blattader. x 80.
 Abb. 4.: Querschnitt einer diploiden Blattader. x 80.
 Abb. 5.: Querschnitt des Phylloodiums eines tetraploiden Blattstieles. x 80.
 Abb. 6.: Teil des Querschnittes eines diploiden Blattstieles mit dem Phylloodium. x 80.

TAFEL I



TAFEL II





TAFEL IV

