

Einsatz von In-vitro-Techniken bei Industrie- und Energiepflanzen

GUNDA MIX-WAGNER

Institut für Pflanzenbau

1. Einleitung

In-vitro-Techniken gewinnen zunehmend für die Pflanzenzüchtung an Bedeutung. Die In-vitro-Vermehrung leistungsstarker Genotypen ist inzwischen integrierter Bestandteil klassischer Züchtungsarbeit geworden. In diesen Bereich fällt auch die Produktion virusfreier Pflanzen und die In-vitro-Langzeiterhaltung vegetativ vermehrbare Arten. Besonderes Interesse haben Pflanzenzüchter bei der Hybridzüchtung an Inzuchtlinien, die durch Antherenkultur erstellt werden können. Ferner bieten die In-vitro-Techniken die Möglichkeit, neues Basismaterial für die Pflanzenzüchtung zu schaffen, das durch konventionelle Kreuzung nicht zu erhalten ist. Beispiele hierfür sind die Embryokultur und die Protoplastenkultur.

Die Einbindung der neuen Methoden in die klassischen Züchtungsprogramme eröffnet der Pflanzenzüchtung neue Möglichkeiten, um auf die Anforderungen des Marktes zu reagieren (Mix et al., 1988a).

In dem vorliegenden Beitrag sollen zusammenfassend die bisherigen In-vitro-Arbeiten des Institutes an Industrie- und Energiepflanzen dargestellt und damit aufgezeigt werden, inwieweit In-vitro-Methoden helfen können, den züchterischen Fortschritt bei diesen Artengruppen zu beschleunigen.

2. Stärkepflanzen

2.1 Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.)

Um die Wettbewerbsfähigkeit der Kartoffel zur Erzeugung von Stärke zu verbessern, ist es notwendig, das genetisch determinierte Ertragspotential voll auszuschöpfen, ohne bei dem Anbau den Aufwand an Produktionsmitteln zu erhöhen. Dazu ist es erforderlich, ein anderes Ausgangsmaterial für die züchterische Selektionsarbeit zu schaffen, denn zur Realisierung dieses Zieles wäre unter anderem eine Reduktion der übermäßigen Krautentwicklung von Wichtigkeit. Hierbei bietet sich der Rückgriff auf Gene für Großblättrigkeit bei geringem Grünmassewuchs im Wildmaterial an. Wildarten besitzen aber oft einen anderen Chromosomensatz als die Kulturform und sind deshalb miteinander nur schwer kreuzbar. Solche natürlichen Barrieren lassen sich mit den In-vitro-Techniken überwinden.

2.1.1 Erzeugung haploider Pflanzen

Mit Hilfe der Antherenkultur ist es möglich, den Chromosomensatz der Kulturform und/oder der Wildarten durch Erstellung von Haploiden zu halbieren (Mix, 1982b).

48 autotetraploide Kartoffelgenotypen wurden im Freiland angebaut und dienten als Antherenspenderpflanzen. Antheren, deren Mikrosporen sich im Einkernstadium befanden,

wurden auf kallusinduzierende Nährböden aufgelegt. Zusätze zum Grundnährboden waren Auxine, Cytokinine, Saccharose und Kokosnußmilch in unterschiedlichen Konzentrationen. Bezieht man die gebildeten Kalli auf die angesetzten Antheren jedes Genotypen, fällt die geringe Kallusbildungsrate, die max. bei 2 % lag, auf.

Von 11 Genotypen waren Mikrosporen befähigt Pflanzen zu regenerieren, wobei die Zusammensetzung der Nährböden keinen entscheidenden Einfluß auf das Wachstum zu haben schien. Bei der Sproßinduktion könnte Benzylaminopurin, Zeatin und Kokosnußmilch im Nährboden einen positiven Einfluß auf die Regeneration haben (Mix, 1982a, 1983b).

Daneben wurden Antheren von 16 verschiedenen knollentragenden Wildkartoffeln auf kallusinduzierende Nährböden aufgelegt. Nur 9 Wildarten waren befähigt, Kallus unterschiedlicher Intensität zu bilden. Aus *S. gandarillassii*- und *S. microdontum* Mikrosporen konnten haploide Pflanzen entwickelt werden (Mix, 1982d).

Ein weiterer Weg zur Erstellung von dihaploiden Kartoffelpflanzen ist die Kreuzung *S. tuberosum* mit der Wildform *S. phureja*. Dabei entsteht eine geringe Anzahl diploider Pflanzen, die aufgrund eines Farbgenmarkers bereits im Sämlingsstadium erkannt werden können. Nach Überprüfung der Ploidiestufe aufgrund der Anzahl der Spaltöffnungen pro Blatt standen einige hundert Diploide zur Verfügung (Mix, 1983c), die an die Pflanzenzüchtung abgegeben wurden.

2.1.2 Vegetative Vermehrung

Bei Pflanzenarten, die vegetativ vermehrt werden, bietet sich die Vermehrung in vitro an, um gesundes Material in großer Zahl herstellen zu können.

Die Abbildung 1 stellt einen solchen Vermehrungsvorgang, ausgehend von Nodien mit Achselknospen, dar. Der intakte Sproß wird in Nodien zerlegt. Diese werden auf einen definierten Nährboden (Makro- und Mikronährstoffe sowie Saccharose) gesetzt, auf dem sich nach vier bis acht Wochen aus der Achselknospe ein Pflänzchen entwickelt hat, das wiederum geteilt werden kann, bis die gewünschte Pflanzenzahl erreicht ist. Diese können im 4 - 6-Blattstadium eingetopft werden und wachsen im Gewächshaus oder im Feld zu vollentwickelten Pflanzen heran. Die Methode ist heute Stand der Technik. Sie wird hier nur der Vollständigkeit halber mit aufgeführt.

Auch Kartoffelknollen können als Ausgangsgewebe für eine Pflanzenproduktion eingesetzt werden, wie Mix und Shi (1983d) zeigen konnten.

Abbildung 1: Schematische Darstellung der vegetativen Vermehrung

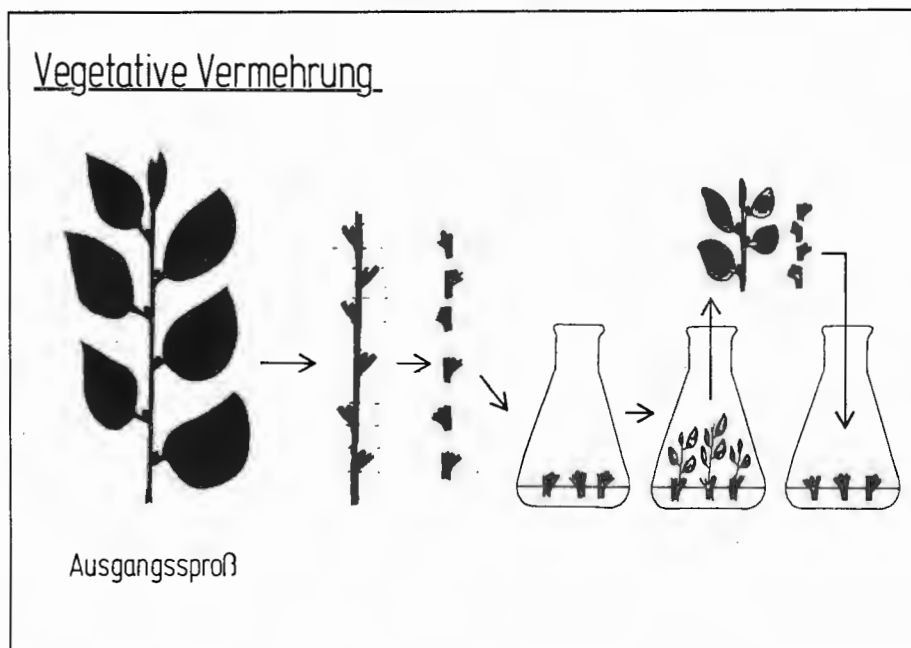


Abbildung 2: Die Kartoffelsorte "Leo" unter Langzeiterhaltungsbedingungen



2.1.3 Langzeiterhaltung von In-vitro-Kartoffelpflanzen

Die Langzeiterhaltung von genetischem Material mit Hilfe der In-vitro-Kultur bedeutet für die nur vegetativ vermehrbaren Arten, wie z.B. Kartoffel und Topinambur, eine entscheidende Verbesserung zum Feldanbau, der eine Gesunderhaltung des Materials fast unmöglich macht und überdies einen jährlichen, arbeitsaufwendigen Anbau erfordert.

Eine vollständige Nutzung der Vorteile einer In-vitro-Langzeiterhaltung hängt aber von vielen Faktoren ab, die in zwei Übersichtsartikeln dargestellt wurden (Mix und Dambroth, 1989; Mix, 1990).

Ausgegangen wird für die Langzeiterhaltung in vitro von einer gesunden Pflanze. Diese wird segmentiert wie bei einer Vermehrung. Es werden jeweils 10 Pflanzen einer Sorte in 10 Reagenzgläser, die mit Nährlösung gefüllt sind, in die Langzeiterhaltungsbedingungen überführt. Nach etwa zweijähriger Kulturdauer, diese ist sortenbedingt, bei 10° C und einer niedrigen Lichtintensität in einem 16 h/Tag müssen die Pflanzen wieder neu segmentiert und auf frischen Nährboden gesetzt werden (Abbildung 2). Nach einer 4wöchigen Zwischenkulturzeit bei 20° C erfolgt wieder die weitere Erhaltung unter reduzierten Wachstumsbedingungen (Mix, 1981a,b; 1982c; 1983a; 1984).

2.1.4 Induktion von Mikroknollen

Als eine Methode zur mittelfristigen Erhaltung von Kartoffel-Genmaterial, aber auch zur Erzeugung von In-vitro-Pflanzgut, wurde in den letzten Jahren die Induktion von In-vitro-Knollen (Mikroknollen) an Blattachselknospen von Kartoffelsprossen eingeführt.

Entsprechende Arbeiten am Institut zur Induktion und Lagerfähigkeit von in vitro erzeugten Mikroknollen, die von histologischen Untersuchungen begleitet wurden, führten zu folgenden Ergebnissen:

Bei sechs Kartoffelsorten konnten auf drei verschiedenen Induktionsnährböden in Abhängigkeit von der Sorte zwischen 0,5 und 1,4 Knollen pro Pflänzchen induziert werden, die im Mittel 1,9 bis 4,5 mm groß waren. Nach dreizehnmönatiger In-vitro-Erhaltung zeigten ruhende Mikroknollen vitale Endknospen und von der Knollenperipherie zum -zentrum zunehmende Zell- und Stärkekorngrößen. Durch histologische Untersuchungen des Stärkespeicherparenchyms können frühzeitig Hinweise auf die voraussichtliche Lagerfähigkeit von Mikroknollen gewonnen werden (Menge-Hartmann, 1992).

2.1.5 Selektion salzverträglicher Pflanzen

Die am Institut vorhandene Sammlung alter Kartoffelsorten - die Sammlung enthält zur Zeit 786 alte Kartoffelsorten, die aus vielen Ländern zusammengetragen wurden (Mix-Wagner, Seidewitz, 1991b) - bedarf der vielfältigen

Evaluierung auf besondere Eigenschaften. Auch dazu sind In-vitro-Techniken geeignet. Ein Beispiel hierfür ist die Testung von Genotypen auf ihre Salzverträglichkeit. Formen mit einer hohen Salzverträglichkeit sind in weiten Gebieten der Erde die einzige Möglichkeit, Nahrungs- und Futtermittel zu produzieren, um so den besonders hier herrschenden Hungersnöten zu begegnen.

Die Testung von zwei Sorten und drei Wildarten auf Salzverträglichkeit gaben die ersten Hinweise, daß mit Hilfe einer In-vitro-Behandlung nach kurzer Zeit die Möglichkeit besteht, das Pflanzenmaterial auf seine Salzverträglichkeit hin einzuordnen.

Die Achselknospen der Versuchspflanzen wurden auf Nährböden, die vier verschiedene Salzkonzentrationen enthielten, ausgelegt. Nach 6wöchiger Kulturdauer wurden die regenerierten Pflänzchen anhand von 9 ausgewählten Merkmalen (z.B. Anzahl der Sprosse, Längenwachstum der Sprosse) bewertet.

Die Ergebnisse der In-vitro-Testung konnten sehr deutlich zeigen, daß "Frühbote" eine salzverträgliche und "Hansa" eine sehr salzempfindliche Sorte sein muß (Arslan et al., 1987). Diese Ergebnisse wurden zum Anlaß genommen, ein größeres Sortiment von 86 Solanumgenotypen zu testen. Dabei wurden neben den Wachstumsparametern die Gehalte an Salzionen untersucht.

Das Wachstum der Pflanzen, gemessen in Sproßlänge und Trockenmasse, war von der Fähigkeit abhängig, bei hohem Salzangebot weniger Na⁺ und Cl⁻ im Sproß zu akkumulieren. Die untersuchten Solanum-Arten wiesen sowohl in vitro als auch in vivo ein unterschiedliches Vermögen auf, die Akkumulation von Na⁺ und Cl⁻ im Sproß zu verhindern.

Von den untersuchten Genotypen zeigten sechs Wildformen eine hohe Salzverträglichkeit, wogegen die Kultursorten niedrige Salzverträglichkeiten aufwiesen. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Wild- und Primitivformen von Solanum-Arten ein genetisches Potential für die Entwicklung von salzverträglichen Kartoffelsorten besitzen (Elhag et al., 1991, Elhag 1992) und damit eine gute züchterische Basis für dieses Merkmal besteht.

3. Zuckstoffliefernde Pflanzen

Die wichtigste zuckerliefernde Pflanze in Europa ist die Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.). Die weniger bekannten Kulturarten Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) und Zichorie (*Cichorium intybus* L.) können aber auch als zuckstoffliefernde Pflanzen genutzt werden. Ihre Speichersubstanz Inulin liefert Zucker in Form von

Abbildung 3: Entwicklung von In-vitro-Mikroknollen



Abbildung 4: Einfluß des Salzangebotes auf die Länge des gebildeten Hauptsprosses relativ zur Kontrolle ohne NaCl-Zufuhr bei 15 Kartoffel-Genotypen (x abgestorbene Pflanzen)

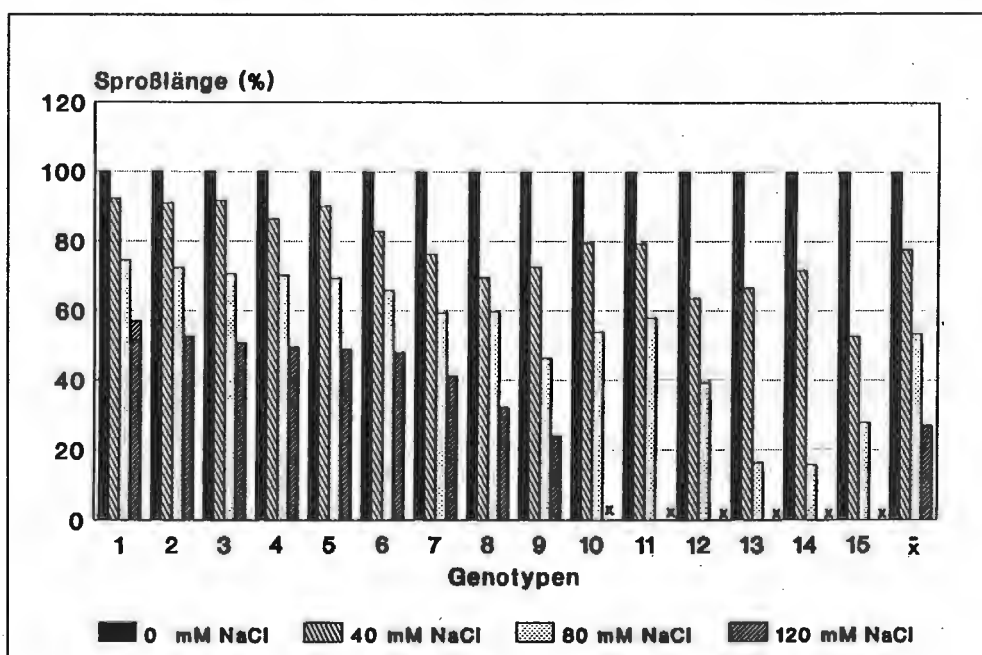


Abbildung 5: Eine Topinamburpflanze mit neu entwickelten Pflanzen an den Stolonen



flüssiger Fructose (Fructozucker), dessen Süßkraft bis zu 1,4 mal so groß ist wie die von Saccharose.

Die besondere Eignung von Zucker für die chemische Industrie gründet sich vor allem auf seine hohe Reinheit (Frese, 1993). Topinambur und Zichorien sind auch aus Gründen der Fruchtfolgegestaltung interessante Kulturen für die Gewinnung von Zuckerstoffen. Gleiches gilt für die hier nicht zu behandelnde Zuckerhirse (*Sorghum*), denn der Einsatz von In-vitro-Techniken ist bei dieser Art nicht so vordringlich.

3.1 Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.).

Die aus Nordamerika stammende Knollenfrucht hat seit ihrem Auftreten in Europa nur eine sporadische züchterische Bearbeitung erfahren.

Besonders vordringlich durch Züchtung zu verbessernde Eigenschaften sind neben der Erhöhung des Ertrages an total fermentierbaren Zuckern die Reduktion der übermäßigen Kraut- und Längenentwicklung, die Vorverlegung des Knollenansatzzeitpunktes sowie die Vollernteignung (Schittenhelm, 1989).

Um wertvolles genetisches Material von Topinambur über längere Zeiträume in Form von Pflanzen zu erhalten, bestand auch bei dieser Kultur das Interesse, ein Verfahren zur In-vitro-Erhaltung zu entwickeln.

Als Versuchsmaterial für die vegetative Vermehrung in vitro dienten 20 Topinamburgenotypen. Von im Freiland aufgewachsenen Pflanzen wurden Nodien und Sproßspitzen entnommen. Der Nährboden für die Sproßspitzen enthielt neben den Makro- und Mikronährstoffen auch Saccharose und Gibberellin. Dem Nährboden für die Nodien wurde noch zusätzlich Benzylaminopurin zugesetzt.

Die Kulturen der verschiedenen Gewebeteile befanden sich in einem Kulturraum bei 22° C und einer Tageslänge von 12h.

Bei allen 20 Topinamburgenotypen konnten mit unterschiedlichem Erfolg aus Nodien und Sproßspitzen Pflanzen regeneriert werden. Bis sich aus Sproßspitzen und Nodien gut ausgebildete Pflanzen gebildet hatten, vergingen im allgemeinen 4-6 Wochen.

Für die Langzeiterhaltung von Topinamburpflanzen erwiesen sich Reagenzgläser als wenig geeignet, da nur die Sproßspitzen zur Weitervermehrung verwendet werden konnten. In größeren Kulturgefäßen hingegen bildeten die In-vitro-Pflanzen Stolonen, aus denen sich wieder mehrere neue Pflanzen entwickelten (Abbildung 5).

Die gewonnenen Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die In-vitro-Pflanzen bei 20° C für ein Jahr, bevor sie wieder vermehrt werden müssen, im gleichen Gefäß erhalten werden können und dann wiedervermehrt werden müssen (Mix und Schittenhelm, 1988).

Außer für eine Langzeiterhaltung ließe sich ein solches System sich selbst vermehrender In-vitro-Pflanzen möglicherweise auch zur schnellen Vermehrung von Zuchtmaterial nutzen. Endgültige Aussagen bedürfen jedoch noch weiterer Untersuchungen.

3.2 Zichorie (*Cichorium intybus* L.)

Die Wurzelzichorie ist zur Erzeugung von Inulin und Fructose geeignet.

Bei der Zichorie ist die Erhöhung der Erträge besonders wichtig, damit sie als leistungsfähige Industriepflanze in die landwirtschaftlichen Nutzungssysteme eingeführt werden kann. Die erheblichen Ertragsreserven lassen sich durch das Polycrossverfahren nutzbar machen, doch bedarf es hierbei einer Erhaltung der Klonteile (Frese, 1993). Aus diesem Grund wurden Arbeiten zur In-vitro-Vermehrung von Zichorien durchgeführt.

3.2.1 In-vitro-Vermehrung von Zichorien

Bei der Suche nach geeignetem Ausgangsgewebe für eine vegetative Vermehrung und anschließender Langzeiterhaltung in vitro hat sich das Blattrippengewebe als sehr regenerationsfähig erwiesen.

Pflanzen der Sorte "Fredonia" dienten als Versuchsmaterial, deren Blattrippen segmentiert und auf verschiedene Nährböden aufgelegt wurden. Die Einzelpflanzen zeigten ein sehr unterschiedliches Verhalten bezogen auf die Kallus- und/oder Adventivknospenbildung, aber im allgemeinen fiel die relativ hohe Kallus- wie Adventivknospenbildung (10-20 Pflanzen/Segment) auf. Nach dem Umsetzen der zur Pflanzenbildung angeregten Segmente entwickelten sich auf den sproßinduzierenden Nährböden Pflänzchen von unterschiedlicher Anzahl. Bei einigen Sprossen traten Schwierigkeiten bei der Wurzelbildung auf, jedoch konnte durch eine 10tägige Behandlung mit Indolpropionsäure bei fast allen Sprossen eine gute Wurzelentwicklung induziert werden.

Ein Teil der bewurzelten Pflanzen wurde in Erde gepflanzt und in den allgemeinen Züchtungsablauf mit eingeschlossen.

3.2.2 In-vitro-Langzeiterhaltung von Zichorienpflanzen

An einem Teil der bei den Untersuchungen zur In-vitro-Vermehrung von Zichorien regenerierten Pflanzen wurde weiter geprüft, inwieweit es möglich ist, dieses In-vitro-Material über einen längeren Zeitraum in vitro zu erhalten. Damit könnte dem Züchter eine Methode angeboten werden, die es ihm erlaubt, das Zuchtmaterial gewissermaßen auf Abruf aufzubewahren, ohne einen Feldanbau durchführen zu müssen (Mix, 1985a).

Die Langzeiterhaltung der Pflanzen erfolgte in 1,5 l fassen- den Kulturgefäßen, die Perlite als Festigungssubstrat enthiel- ten. Die Nährlösung, in der die Pflanzen aufwuchsen, setzten sich aus den Makro- und Mikronährstoffen sowie 10 g/l Sac- charose zusammen. Die Umweltbedingungen waren bei der Anzucht der In-vitro-Pflanzen und der Langzeiterhaltung 20° C bei einem 12 h-Tag, denn bei Tag/Nachttemperaturen von 18° C bzw. 16° C war eine verstärkte Schosserbildung zu be- obachten. Eine Erhaltung bei tieferen Temperaturen (Kartof- fel/ 10° C) scheidet bei Zichorienmaterial aus, da unter diesen Bedingungen eine Vernalisation der Pflanzen induziert wird.

Die bisher gewonnenen Beobachtungen lassen darauf schließen, daß die Pflanzen mindestens zwei Jahre in dem gleichen Kulturgefäß verbleiben können (Mix und Frese, 1988b).

4. Ölpflanzen

Die Verwendung pflanzlicher Öle für industrielle Zwecke hat eine lange Tradition. Nach dem 2. Weltkrieg ging jedoch der Einsatz pflanzlicher Öle in der chemischen Industrie deut- lich zurück und dementsprechend sank das Interesse an den für die Erzeugung pflanzlicher Öle geeigneten Pflanzen. Ledig- lich der Raps nahm hierbei eine Sonderstellung ein. Er wurde weiter pflanzenzüchterisch und anbautechnisch fort- entwickelt, während die übrigen Arten auf dem Stand nach dem 2. Weltkrieg verharren. Mit dem nun wieder gestiegenen Interesse an pflanzlichen Ölen mit unterschiedlichen Qualitä- ten begann auch wieder das Interesse an den alten, schon fast vergessenen Ölpflanzenarten zu steigen. Um sie wieder an das heute für eine Wettbewerbsfähigkeit notwendige Ertrags- niveau heranzuführen, sind erhebliche pflanzenzüchterische Anstrengungen erforderlich. Um dieses Ziel in möglichst kurzer Zeit zu erreichen, können auch die In-vitro-Methoden einen Beitrag leisten.

4.1 Cruziferen

Die Hauptfettsäure im Samenöl der Cruziferen ist die ein- fach ungesättigte, langkettige Erucasäure. Sie wird bisher aus den Rapssamen gewonnen. Aus anbautechnischen Gründen und zur Auflockerung der Fruchtfolgen wäre aber auch der Anbau anderer Arten aus dieser Familie von Interesse. Um ihren züchterischen Fortschritt zu beschleunigen, wurden Un- tersuchungen zur Erzeugung haploider Pflanzen als Basis für die Hybridzüchtung bei dem Weißen Senf (*Sinapis alba*), der Crambe (*Crambe abyssinica*) und Sareptasenf (*Brassica juncea*) am Institut begonnen.

Jeweils 8 Genotypen von *B. juncea*, *S. alba* und *C. abys- sinica* wurden im Gewächshaus als Spenderpflanzen der Mi- krosproten herangezogen. Nach Abnahme der Knospen erfolgte eine Behandlung von unterschiedlichen Temperaturen. Dieser Streß versetzte die Mikrosproten in eine teilungsfreudige Phase.

Die Grundnährböden, die während der Kulturdauer einge- setzt wurden, bestanden aus Makro- und Mikronährstoffen sowie Vitaminen. Folgende Hormone wie Benzylaminopurin, 2,4D und 1-Naphthyllessigsäure wurden ausgetestet. Der Sac- charosegehalt der verschiedenen Nährböden lag zwischen 10- 100 g/l.

Im Gegensatz zur Antherenkultur, bei der jede Anthere se- parat auf dem Nährboden liegt, werden bei der Mikrosproten- kultur viele Knospen zusammen für einen Kulturansatz verar- beitet.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigten, daß sich von allen drei Cruziferenarten Mikrosproten isolieren und in Kultur nehmen lassen. Bereits nach wenigen Tagen zeigten die ersten Mikrosproten eine Teilungsaktivität. Diese war be- deutend intensiver, wenn die isolierten Mikrosproten einige Stunden mit 8° C behandelt wurden. Die Crambe-Genotypen reagierten am stärksten auf diese 8° C-Behandlung.

Die ersten Auswertungen machten deutlich, daß eine 2,4D- Behandlung der Knospen einen positiven Effekt auf die Anzahl der gebildeten Embryonen bei Crambe abyssinica und Sinapis alba im Vergleich zur Kontrolle hatte. Bei den B.juncea-Genotypen konnte kein Einfluß von 2,4D auf die Embryobildung beobachtet werden.

Ein Sinapis alba Genotyp entwickelte aus Mikrosproten auf einem Nährboden mit 0,5 mg/l BAP und 0,5 mg/l NES einige Embryonen, die zu kleinen Pflanzen heranwuchsen (Mix- Wagner, 1991a).

4.2 Sonnenblumen (*Helianthus annuus L.*)

Die Sonnenblume besitzt ein interessantes Fettsäuremuster. Es können sowohl Formen mit hohem Ölsäure- als auch Li- nolsäuregehalt im Samenöl entwickelt werden.

Die geringe Kälteverträglichkeit der Sonnenblume erfordert ein den hiesigen Witterungsverhältnissen angepaßtes Sorti- ment. Beim Aufbau von kältetoleranten und frühreifen Popu- lationen muß auf Wildformen, die eine gewisse Kältetoleranz besitzen, zurückgegriffen werden. Sie sind jedoch mit den Kulturformen nur schwer kreuzbar, so daß versucht werden muß, diese Barrieren mit Hilfe der In-vitro-Techniken zu überwinden.

4.2.1 Vegetative Vermehrung von Sonnenblumen

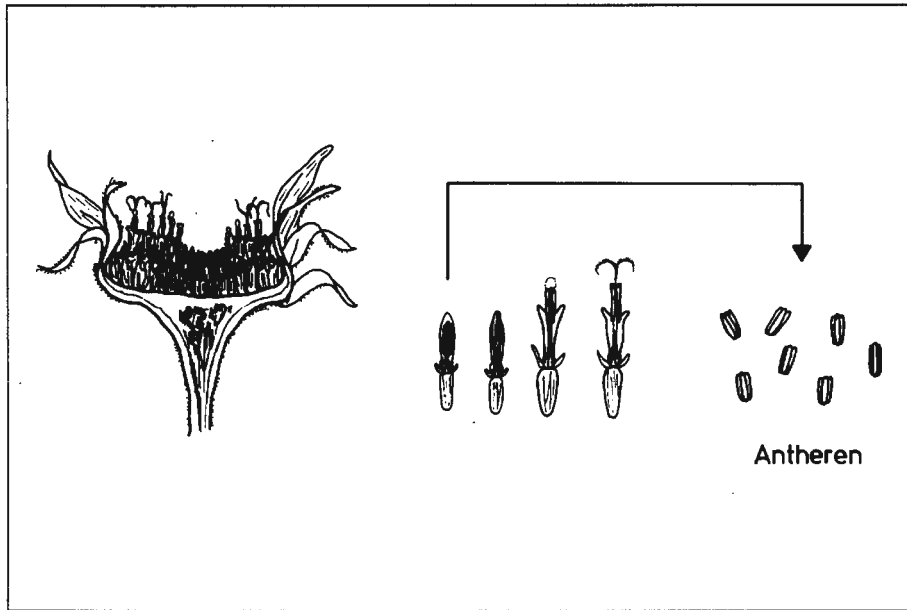
Für die Untersuchungen zur vegetativen Vermehrung in vitro dienten zwei Sonnenblumengenotypen. Die sterile An- zucht der Versuchspflanzen wurde in Anlehnung an die be- schriebene Methode durchgeführt (Mix und Knopp, 1986). Der Grundnährboden für eine In-vitro-Sproßinduktion aus Achselknospen basierte auf einem Nährboden, der mit Saccharose und einem Cytokininzusatz (BAP) versetzt war.

Nur aus wenigen Nodien (2-5 %) der beiden Genotypen konnten aus den Achselknospen, wenn vorher nicht die Sproßspitzen der Ausgangspflanzen entfernt wurden, Pflan- zen regeneriert werden. Die Entfernung der Sproßspitzen einige Tage vor dem Kultivieren der Nodien induzierte eine Erhöhung der Regeneration ganzer Pflanzen aus Achselkno- spen.

Im 12 h-Tag und bei niedriger BAP-Konzentration war bei beiden Genotypen eine gesteigerte Sproßbildung als in Dun- kelheit und bei höherer BAP-Konzentration im Nährboden zu beobachten.

Bei den regenerierten Pflanzen aus Achselknospen konnte ein frühes Knospenansetzen und Blühen am gestauchten Sproß verzeichnet werden. Von den kultivierten Nodien beider Genotypen bildeten 80 % der sich entwickelten Spro- se direkt Wurzeln. Die restlichen 20 % der Sprosse mußten auf einen wurzelinduzierenden Nährboden gesetzt werden, um Wurzeln zu bilden.

Abbildung 6: Schematische Darstellung der Entnahme von Sonnenblumenantheren



Alle Sorten zeigten auf diesem Nährboden eine Kallusbildung, allerdings mit sehr unterschiedlicher Intensität. Bezogen auf die angesetzten Antheren, erreichte die Sorte "Inra" mit 80 % die höchste und die Sorte "Jaszberenyi" mit 15 % die niedrigste Kallusbildungsrate von den acht ausgewählten Sorten.

Nur auf dem sproßinduzierenden Nährboden versetzt mit Saccharose und Benzylaminopurin konnten die aus dem Antherenkallus entwickelten Embryonen der Sorte "Inra" und "Luciole" zur Sproß- und Wurzelbildung angeregt werden. Nach etwa 8-wöchiger Kultur bildeten sechs Embryonen der Sorte "Inra" je ein Pflänzchen. Zwei Pflanzen waren haploid. Es konnten 17 Chromosomen in den Wurzelspitzenzellen gezählt werden. Die Sorte "Luciole" entwickelte aus einem Embryo eine ganze Pflanze, die einen haploiden Chromosomensatz aufwies.

4.2.2 Erzeugung haploider Pflanzen

Zur Erreichung des Zieles Frühreife, Kältetoleranz mit einem hohen Ölgehalt zu kombinieren, bedarf es einer großen Variation, um Selektionen vornehmen zu können. Die Antherenkultur diente dazu, haploide Pflanzen für diesen Zweck zu erstellen.

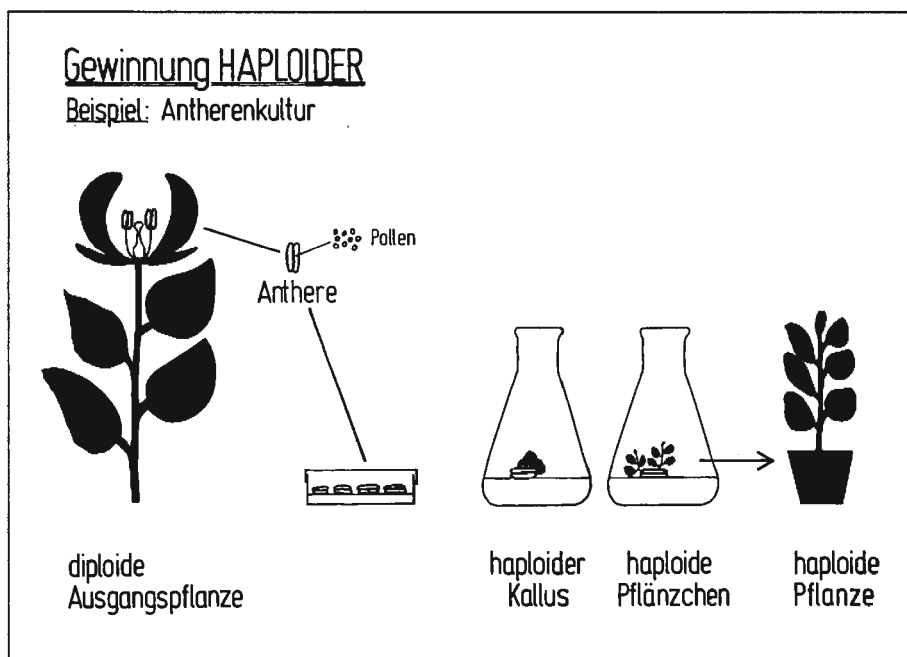
Antheren von acht Sonnenblumensorten wurden auf einen kallusinduzierenden Nährboden aufgelegt (Abbildung 6).

Die regenerierten Pflanzen entwickelten sich sehr schnell unter den In-vitro-Bedingungen, bildeten im 3.-4. Blattstadium schon Blüten und blieben dann im Wachstum stehen. Nur eine haploide Pflanze der Sorte "Inra" konnte sich zu einer normal großen Pflanze nach Überführung in Erde entwickeln (Mix, 1985b).

4.3 Mohn (*Papaver somniferum* L.)

Das Samenöl von Mohn enthält Linolsäure. Züchterische Anstrengungen wurden unternommen, um den gewünschten Inhaltsstoff und das niedrige Ertragsniveau auf ein höheres Niveau zu bringen. Zur Unterstützung der züchterischen Arbeiten wurde die Antherenkultur zur Erstellung von Haploiden mit einbezogen.

Abbildung 7: Schematische Darstellung der Antherenkultur



Für die Versuche wurden elf Herkünfte im Gewächshaus und im Feld angebaut. Nach Sterilisation der ganzen Knospen erfolgte das Auflegen der Antheren auf Nährböden, die neben Makro- und Mikronährstoffen auch Auxine, Cytokinine und Vitamine enthielten.

Sieben bis neun Wochen nach Beginn der Antherenkultur durchbrach an einigen Antheren fester, weißer Kallus die Antherenwand. Aus sechs Herkünften und insgesamt 210 Antherenkalli wurden 548 Pflanzen regeneriert. Die Kallusbildungsrate der Sorte "Soma" lag in Abhängigkeit von dem verwendeten Nährboden zwischen 0-3,4 %. Die vier Nährböden mit den höch-

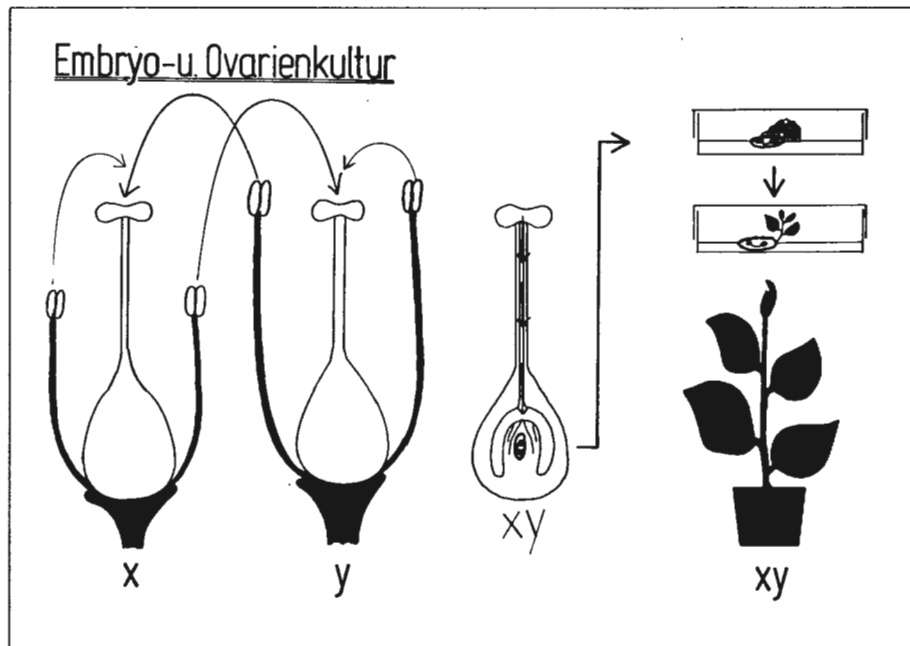
sten Kallusbildungsraten enthielten alle eine Kombination der Auxine 2,4D, 1-Naphthyllessigsäure und/oder Indolelessigsäure sowie als Cytokinin Benzylaminopurin.

Die Abbildung 7 gibt eine schematische Darstellung der Antherenkultur wieder.

Der überwiegende Teil der regenerierten Pflanzen war diploid. Nur sieben Prozent erwiesen sich als haploid. Alle Haploide ließen sich auf die Kalli aus Antheren von vier Knospen der Sorte "Soma" zurückführen.

Viele der aus Antheren entstandenen diploiden Pflanzen einer Herkunft zeigten morphologische Abweichungen von der Spenderpflanze, vor allem in der Blattform und Zahnung. Die haploiden Mohnpflanzen unterschieden sich in der Wüchsigkeit und im Habitus nicht eindeutig von den diploiden Pflanzen (Elbern, 1984).

Abbildung 8: Schematische Darstellung der Embryokultur



5. Eiweißliefernde Pflanzen

5.1 Lupine

Lupinen fanden bisher wenig Beachtung, obwohl der hohe Proteingehalt ihrer Samen und die gute Proteinqualität für eine Nutzung dieser Leguminose sprechen würden. Eine der Hauptursachen für den geringen Anbauumfang liegt in dem niedrigen Flächenertrag. Die Verbesserung der Ertragsleistung ist das wichtigste Ziel in der Lupinenzüchtung. Die Verwirklichung dieses Zieles wird durch die stark ausgeprägten Kreuzungsbarrieren zwischen den Lupinenarten behindert (Sator, 1983a, Schäfer-Menuhr, 1989c und 1990).

5.1.1 Vegetative Vermehrung

Auch bei Lupinen ist eine schnelle Vermehrung von Interesse, um Genotypen mit positiver Merkmalsausprägung schnell zur Verfügung zu haben. Bei der Anwendung von anderen In-vitro-Techniken, wie z.B. der Protoplastenfusion ist es von Wichtigkeit, In-vitro-Material in ausreichender Menge bereitzustellen zu können (Schäfer-Menuhr, 1985).

Versuche zur Regeneration von Pflanzen aus verschiedenen Gewebeteilen wie z.B. Blättern, Stengeln und Embryonen wurden mit einigen Lupinenarten durchgeführt. Aus halbierten Embryonen von *L. polyphyllus* und *L. hartwegii* konnte Vielfachsproßbildung erreicht werden. Bei den Sorten der Gelben Lupine bildeten sich nur Einzelsprosse. Die Sprosse von *L. luteus*, *L. hartwegii* und *L. polyphyllus* konnten mit unterschiedlichen Erfolgsraten bewurzelt werden (Sator, 1985b,c).

Die Sproßentwicklung aus Hypokotyl, Blättern und Blattstengeln war stark abhängig von der Lupinenart und der Nährbodenzusammensetzung. Nur eine Pflanze wurde aus dem Hypokotyl von *L. polyphyllus* regeneriert. Wenige Sprosse konnten auf den Blattsegmenten von *L. luteus* und *L. hartwegii* induziert werden (Sator, 1985d).

5.1.2 Erzeugung haploider Pflanzen

Erste Versuche, aus *Lupinus polyphyllus* Mikrosporen (Antherenkultur) haploide Pflanzen für den Züchtungsfortschritt zu erstellen, wurden bereits 1982 (Sator et al.) vorgenommen. Eine Regeneration von haploiden Pflanzen konnte bei *L. polyphyllus* induziert werden. Es zeigte sich sehr deutlich, daß die Anwesenheit von 2,4D und Kinetin im Nährboden einen entscheidenden Einfluß auf die Kallusbildung aller getesteten Lupinenarten hatte (Sator et al., 1983b, Sator, 1985a).

5.1.3 Erzeugung von Arthybriden mittels Embryokultur

Die Barrieren, Arthybride zu erstellen, können durch die Kultur von abortiven Embryonen und der Protoplastenfusion überwunden werden.

Eine Bestäubung an einer intakten Pflanze mit anschließender In-vitro-Embryokultur wird beispielhaft in Abbildung 8 dargestellt.

Kurz bevor der Embryo sein Wachstum auf der Pflanze einstellt, wird er unter sterilen Bedingungen herauspräpariert. Je nach Entwicklungsstadium des Embryos wird er auf einen Nährboden aufgelegt, der Mineralstoffe, Wachstumsregulatoren und Vitamine in unterschiedlichen Konzentrationen und Kombinationen enthält. Die Pflanze, die aus dem isolierten Embryo entsteht, ist ein Arthybrid.

Abortive Embryonen aus Kreuzungen *Lupinus mutabilis* x *Lupinus hartwegii* konnten in vitro zu Pflanzen regeneriert werden, wenn die Embryonen aus noch vitalen Hülsen isoliert wurden. Für den Kulturerfolg ist ein Phytohormonzusatz zu Beginn der Kultur von ausschlaggebender Bedeutung (Schäfer-Menuhr et al., 1988a, Schäfer-Menuhr et al., 1989f).

Ein zusätzliches Ziel der Arbeiten war die Lokalisierung der Kreuzungsbarrieren in vivo verschiedener Lupinen-Artkreuzungen. Histologische Untersuchungen ergaben bei der

Abbildung 9: **Hybridpflanze: *Lupinus mutabilis* x *Lupinus hartwegii***



Kreuzung *L. hartwegii* x *L. mutabilis* Embryonen im Kotyledonen-Stadium sowie zelluläres Endosperm. Bei der reziproken Kombination *L. mutabilis* x *L. hartwegii* endete die Embryoentwicklung am Ausgang des Globular-Stadiums, unmittelbar vor dem Erscheinen der Kotyledonen-Primordien. Die Kreuzung *L. luteus* x *L. hartwegii* führte nur zu einer begrenzten Embryoentwicklung bis zum frühen Globular-Stadium. Wurde *L. hartwegii* als Mutter verwendet, konnte nicht einmal Pollenkeimung beobachtet werden (Bumann et al., 1991, 1992).

5.1.4 Erzeugung von Arthybriden mittels Protoplastenfusion

Ein weiterer Weg, der Inkompatibilität bei der Lupine zu begegnen, ist die Protoplastenfusion.

Die Arbeitsschritte für die Isolation und Reinigung der Protoplasten konnten soweit optimiert werden, daß Lupinenprotoplasten von Altvartarten und amerikanischen Arten in hoher Ausbeute und Reinheit hergestellt werden können (Schäfer-Menuhr, 1987a).

Durch Screening zahlreicher Nährböden konnten Zusammensetzungen gefunden werden, in denen Lupinenprotoplasten Zellwände regenerieren, sich teilen und schließlich Kallus bildeten (Schäfer-Menuhr et al., 1987b).

Die aus somatischen Pflanzenzellen gewonnenen Protoplasten werden mit Hilfe der Elektrofusion miteinander verschmolzen. Die Elektrofusionen wurden mit Blattprotoplasten

aus den Hybriden *L. mutabilis* x *L. hartwegii* als dem einen Fusionspartner und Protoplasten aus Zellkulturen von *L. polyphyllus* als dem anderen Fusionspartner durchgeführt.

Da es nicht nur für die Gewinnung von Protoplasten aus Zellkulturen dieser Lupinenarten, sondern auch für den Fusionserfolg entscheidend ist, daß Protoplasten aus der exponentiellen Wachstumsphase eingesetzt werden, wurde das Wachstumsverhalten der Zellsuspensionskulturen von *L. hartwegii*, *L. angustifolius* und *L. polyphyllus* untersucht. Nach 6 Tagen Kultur ist die stationäre Phase erreicht, in der der Zuwachs an Frischgewicht und Sinkvolumen stagniert und das Trockengewicht leicht abnimmt. Bei beiden Lupinenarten ist die Verdoppelungszeit für das Frischgewicht von der Konzentration des Inokulums abhängig (Schäfer-Menuhr, 1988b, Schäfer-Menuhr, 1989d; Schäfer-Menuhr et al., 1989e).

Die daraus folgenden Fusionsansätze wurden in hoher Zellkonzentration in Petrischalen getropft, mit Agarose verdichtet und mit flüssiger Nährlösung umschwemmt. Drei Wochen alte Kalli wurden auf Regenerationsnährböden umgesetzt. Nach mehrfachem Transfer auf unterschiedlich zusammengesetzten Nährböden bildeten einige Kalli embryogene Strukturen aus, die Sprosse bildeten (Abbildung 9). Sprosse aus 102 verschiedenen Kalli aus Fusionsansätzen konnten bewurzelt werden (Schäfer-Menuhr, 1989a).

Die Züchtungsarbeiten sind mit klassischen Mitteln sehr zeitaufwendig, doch ein erster Zeitgewinn hat der Einsatz der Zell- und Gewebekulturen in der Züchtung gebracht, wie anhand der "Bestandesaufnahme" der In-vitro-Arbeiten, die im Institut für Pflanzenbau durchgeführt wurden, gezeigt werden konnte.

An einzelnen Zellen läßt sich bereits in großen Populationen auf die erwünschten Merkmale selektieren. Haploide erlauben schnelleres Auffinden aller Eigenschaften und die somatische Fusion verhilft zu einer effizienteren Kombination komplexer Genome (Schäfer-Menuhr, 1988c).

Zusammenfassung

Durch den Anbau von Industriepflanzen für industriell-technische Verwendung könnten für landwirtschaftliche Kapazitäten neue Verwertungsbereiche eröffnet werden. Dazu bedarf es der Züchtung von Sorten der Arten, die den Anforderungen des Marktes entsprechen.

Für die landwirtschaftliche Pflanzenzüchtung gewinnen In-vitro-Techniken, die über die Anwendung von Meristemkulturen hinausgehen, zunehmendes Interesse.

Dieser Beitrag stellt alle Ergebnisse der In-vitro-Arbeiten, die bisher die klassischen Züchtungsarbeiten im Bereich Industriepflanzenanbau im Institut für Pflanzenbau unterstützt haben, zusammen.

Utilization of In-vitro-techniques of industrial and energy plants

By the cultivation of industrial plants for technical application in industry, new areas for agricultural raw material could be offered.

For that purpose there is still a need for breeding varieties of those species which meet the appropriate demand of the market.

For the agricultural plant breeding those In-vitro-techniques which are beyond the application of meristem culture are gaining an increasing interest.

This contribution is a summary of results of the In-vitro-investigations which have supported the conventional breeding work in the field of industrial plant production in the Institute of Crop Science.

Literatur

Arslan, N., Mix, G. und El Bassam, N.: Ermittlung der Salztoleranz in vitro bei Wildarten und Kultursorten der Kartoffel. - Landbauforschung Völkenrode 37 (1987), S. 128-131.

Busmann-Loock, A., Dambroth, M., Menge-Hartmann, U.: Embryo- und Endospermentwicklung von *Lupinus luteus*, *L. mutabilis* und *L. hartwegii*. - Landbauforschung Völkenrode 41 (1991), S. 123-132.

Busmann-Loock, A., Dambroth, M. und Menge-Hartmann, U.: Histological Observation on Interspecific Crosses in the Genus *Lupinus*. - Plant Breeding 109 (1992), S. 82-85.

Elber, B.: Antherenkultur und Regeneration haploider Pflanzen von Mohn (*Papaver somniferum*). - Landbauforschung Völkenrode 34 (1984), S. 63-66.

Elhag, A. Z., El Bassam, N., Mix-Wagner, G.: Möglichkeiten der In-vitro-Testung der Salztoleranz von Kartoffelgenotypen. - Proceedings 35. Tagung Pflanzenbauwissenschaften, Braunschweig (1991), S. 389-391.

Elhag, A. Z.: Eignung von In-vitro-Verfahren zur Charakterisierung der Salztoleranz bei *Solanum*-Arten. - Dissertation (1992).

Fresse, L.: Ertragspotential und Verwendungsmöglichkeiten zuckerstoffliefernder Pflanzenarten. - Landbauforschung Völkenrode (1993) im Druck.

Menge-Hartmann, U.: Induktion und Histologie von Kartoffel-Mikroknollen. - Landbauforschung Völkenrode 42 (1992), S. 111-116.

Mix, G.: Kartoffelsorten aus dem Reagenzglas - Bedingungen zur Langzeitlagerung. - Kartoffelbau 7 (1981a), S. 198-199.

Mix, G.: Potato varieties from test tubes. - Plant Genetic Resources Newsletter 47 (1981b), S. 24-26.

Mix, G.: The use of tissue culture in breeding oilseed crops. In: E.S. Bunting (Ed.): Prod. and utilization of protein in oilseed crops. World crops: Production, utilization, description. Vol. 5 (1981c), S. 58-65.

Mix, G.: Diploide Pflanzen aus *Solanum tuberosum*-Antheren. - Landbauforschung Völkenrode 32 (1982a), S. 34-36.

Mix, G.: Haploide - ein neuer Weg in der Pflanzenzüchtung. - Der Palmengarten 2 (1982b), S. 55-65.

Mix, G.: Langzeitlagerung von Kartoffelsorten. - Inform 1 (1982c), S. 15-16.

Mix, G.: Anther culture of *S. tuberosum* L. and some wild species. In: Proceedings of the 5th Inter. Congress of Plant Tissue and Cell Culture. Japan (1982d), S. 573-574.

Mix, G.: Langzeitlagerung von Kartoffelgenmaterial in vitro. - Landbauforschung Völkenrode 33 (1983a), S. 179-182.

Mix, G.: Production of dihaploid plantlets from anthers of autotetraploid genotypes of *Solanum tuberosum* L. - Potato Research 26 (1983b), S. 63-67.

Mix, G.: Haploid extraction in *Solanum tuberosum*. - In: Proceedings Intern. Congress "Research for the Potato in the Year 2000" Lima (1983c), S. 133-134.

Mix, G. und Shi, S.: Regeneration von In-vitro-Pflanzen aus Kartoffelknollengewebe. - Landbauforschung Völkenrode 33 (1983d), S. 264-266.

Mix, G.: Long-term storage in vitro of potato gene material. - Plant Research and Development 19 (1984), S. 122-127.

Mix, G.: Regeneration von In-vitro-Pflanzen aus Blattrippensegmenten der Zichorie (*Cichorium intybus* L.). - Landbauforschung Völkenrode 35 (1985a), S. 59-62.

Mix, G.: Antheren- und Ovarienkultur von Sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.). - Landbauforschung Völkenrode 35 (1985b), S. 153-156.

Mix, G. und Knopp, E.: In-vitro-Sproß- und Wurzelregeneration aus Gewebeteilen der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.). - Landbauforschung Völkenrode 36 (1986), S. 127-129.

Mix, G.; Arslan, N. und El Bassam, N.: Ermittlung der Salztoleranz in vitro bei Wildarten und Kultursorten der Kartoffel. - Landbauforschung Völkenrode 37 (1987), S. 128-131.

Mix, G.; Schäfer-Menuhr, A. und Dambroth, M.: Die Bedeutung biotechnologischer Methoden für die Wiederverwendung des Industriepflanzenanbaus. - Produktions- und Verwendungsalternativen für die Land- und Forstwirtschaft - Nachwachsende Rohstoffe (1988a), S. 385-397.

Mix, G. und Fresse, L.: Die Entwicklung einer In-vitro-Langzeitlagerungsmethode für Zichorien-Zuchtmaterial (*Cichorium intybus* L.). - Landbauforschung Völkenrode 38 (1988b), S. 170-172.

Mix, G. und Schittenhelm, S.: Langzeitlagerung von Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) in vitro. - Landbauforschung Völkenrode 38 (1988c), S. 178-181.

Mix, G. und Dambroth, M.: Biotechnologische Methoden bei der Langzeitlagerung von genetischen Ressourcen. - Berichte über Landwirtschaft. Biotechnologie in der Agrar- und Ernährungswirtschaft 201, Sonderheft (1989), S. 407-414.

Mix, G.: In-vitro-Erhaltung pflanzengenetischer Ressourcen. - Proceedings Sicherung und Nutzbarmachung pflanzengenetischer Ressourcen. Gatersleben (1990), S. 72-83

Mix-Wagner, G.: Mikrosporenkulturen an für die Erzeugung technischer Öle geeigneter Kreuziferen. - Proceedings 35.

- Tagung der Pflanzenbauwissenschaften, Braunschweig (1991a), S. 397-399.
- Mix-Wagner, G. und Seidewitz, L.: Evaluierungsdaten 'Old Potato Varieties'. - Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der FAL (1991b).
- Sator, C., Mix, G. und Menge-Hartmann, U.: Antherenkultur mit *Lupinus polyphyllus*. - Landbauforschung Völkenrode 32 (1982), S. 37-42.
- Sator, C.: In-vitro-breeding of lupins. - In: Perspectives for peas and lupins as protein crops. Proceedings of an Intern. Symposium on Protein Production from legumes in Europe. Sorrento 1981, Ed. by R. Thompson and R. Casey, Martinus Nijhoff Publisher, London (1983a), S. 79-87.
- Sator, C., Mix, G. und Menge-Hartmann, U.: Investigations on anther culture of *Lupinus polyphyllus*. - Plant Research 18 (1983b), S. 37-46.
- Sator, C.: Regeneration von Lupinenpflanzen aus Antheren. - Landbauforschung Völkenrode 35 (1985a), S. 5-7.
- Sator, C.: Regeneration von Lupinenpflanzen aus Embryonen. - Landbauforschung Völkenrode 35 (1985b), S. 1-4.
- Sator, C.: Induktion einer "In-vitro-Vielfachsproßbildung" an Samen von Lupinen. - Landbauforschung Völkenrode 35 (1985c), S. 8-10.
- Sator, C.: Studies on shoot regeneration of lupins (*Lupinus* spp.). - Plant Cell Report 4 (1985d), S. 126-128.
- Schäfer-Menuhr, A.: Propagation of Lupins. - In: In-vitro-techniques - propagation and long-term storage advances in agricultural biotechnology. - A. Schäfer-Menuhr (Ed.), Martinus Nijhoff/W. Junk, Publ. for the Commission of the E.C. (1985), S. 23-28.
- Schäfer-Menuhr, A.: Isolation und Kultur von Lupinenprotoplasten. I Protoplasten aus Blättern von *Lupinus angustifolius* Sorte Kubesa. - Landbauforschung Völkenrode 37 (1987a), S. 117-120.
- Schäfer-Menuhr, A. und Stürmer, S.: Isolation und Kultur von Lupinenprotoplasten. II Modifikation von Nährmedien zur beschleunigten Teilung von Protoplasten aus Blättern von *Lupinus angustifolius* Sorte Kubesa. - Landbauforschung Völkenrode 37 (1987b), S. 231-234.
- Schäfer-Menuhr, A., Czerwinski, T. und Busmann, A.: Der Einsatz von Embryokultur zur Gewinnung von Artbastarden aus der Kreuzung *Lupinus mutabilis* x *Lupinus hartwegii*. - Landbauforschung Völkenrode 38 (1988a), S. 173-177.
- Schäfer-Menuhr, A.: Isolation und Kultur von Lupinenprotoplasten. III. Protoplasten aus Zellsuspensionskulturen von *Lupinus polyphyllus*. - Landbauforschung Völkenrode 38 (1988b), S. 99-102.
- Schäfer-Menuhr, A.: Biotechnology as a tool for plant breeders. - Proceedings of the Symposium on Recent Developments of Biotechnology in Food and Feed Production, Budapest (1988c), S. 35-45.
- Schäfer-Menuhr, A.: Isolation und Kultur von Lupinenprotoplasten. IV. Regeneration von Pflanzen aus Protoplasten. - Landbauforschung Völkenrode 39 (1989a), S. 133-136.
- Schäfer-Menuhr, A., Mix, G., Rühl, G., und Dambroth, M.: Zell- und Gewebekulturtechniken für die landwirtschaftliche Pflanzenzüchtung. - Berichte über Landwirtschaft. Biotechnologie in der Agrar- und Ernährungswirtschaft 201 Sonderheft (1989b), S.80-87.
- Schäfer-Menuhr, A.: The Application of Tissue Culture Techniques in Lupin Breeding. - Planta Medica Suppl. (1989c), S. 116.
- Schäfer-Menuhr, A.: Vergleich des Wachstumsverhaltens einiger Zellsuspensionskulturen von *Lupinus polyphyllus* und *L. hartwegii*. - Landbauforschung Völkenrode 39 (1989d), S. 100-104.
- Schäfer-Menuhr, A. und Wilkens, R.: Untersuchungen zur Zellteilungsaktivität von Zellsuspensionskulturen von *Lupinus polyphyllus*. - Landbauforschung Völkenrode 39 (1989e), S. 137-140.
- Schäfer-Menuhr, A., Busmann, A. und Dambroth, M.: Der Einsatz von Embryokultur zur Gewinnung von Artbastarden aus der Kreuzung *Lupinus mutabilis* x *L. hartwegii*. - Schriftreihe des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. Körnerleguminosen, Angewandte Wissenschaft 367 (1989f), S. 354-364.
- Schäfer-Menuhr, A.: Modern Breeding Techniques. - Proceedings of 6th Intern. Lupin Conference, Temuco/ Chile (1990), S. 335-339.
- Schittenehl, S.: Inheritance of agronomical important traits in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). - Vorträge für Pflanzenzüchtung (1989), S. 11-15.

Verfasser: Mix-Wagner, Gunda, Dr. agr., Institut für Pflanzenbau der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode (FAL), Leiter: Prof. Dr. agr. Manfred Dambroth.