

## Züchtung auf zwei Samen pro Hülse bei Rotklee (*Trifolium pratense L.*)

### II. Die Wirkung gelenkter und nicht gelenkter freier Bestäubung sowie erster Kreuzungsversuch

JOHANNES SCHIEBLICH

Institut für Pflanzenzüchtung Bernburg der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

#### Breeding of two seeds per pod in red clover (*Trifolium pratense L.*)

##### II. The effect of directed and non-directed free fertilization and first experimental cross

**Summary.** Even after a sixth selected generation with preselection a further increase of pods containing two seeds has been achieved in red clover. This refers both to the average and the maximum value. The effect of pre-selection is strongly noticeable. It will rise with the proportion of doubleseed pods used. First tests of crossbreeding do not allow final conclusions as to the mode of heredity in the highly heterogeneous red clover, which is solely dependent on cross-pollination. There are signs of intermediary heredity. Results of breeding will be considerably hastened by planned manual cross-breeding.

In einer früheren Arbeit (SCHIEBLICH, 1963) wurde dargelegt, daß der Fruchtknoten des Rotkleeps stets zwei, mitunter sogar drei und vier Samenanlagen besitzt, die aber in der Regel nur einen Samen ausbilden. Es konnte festgestellt werden, daß in den weitaus allermeisten Fällen auch beide Samenanlagen befruchtet werden, einer der beiden Embryos stirbt aber in der Regel nach einiger Zeit ab. Das vorzeitige Absterben des einen Embryo wird mit der Lage der beiden Samenanlagen im Fruchtknoten zueinander in Zusammenhang gebracht werden können, in dem bei ungünstiger Lage ein Abschnüren bzw. Verklemmen der Leitungsbahnen eintritt, so daß es zum Absterben eines Embryos kommt. Es liegt somit als morphologische Ursache ein lagemäßig bedingter Ernährungseffekt vor. Die Tatsache, daß mit geringer Häufigkeit zwei Samen pro Hülse anzutreffen sind, gab Anlaß, zu versuchen, ob sich diese für die Steigerung der Rotkleepserträge so wichtige Eigenschaft auf züchterischem Wege steigern und festigen läßt.

In einem aus mehreren Sorten und Herkünften bestehenden sehr umfangreichen und sehr heterogenen Material konnte mit Hilfe einfacher Selektion der Anteil doppelsamiger Hülsen innerhalb von 5 Generationen durch einfache, planmäßige Selektion von durchschnittlich 0,6% (Anteil zweisamiger Hülsen im Ausgangsmaterial) auf 30,0% erhöht werden. Die Höchstwerte des Anteils doppelsamiger Hülsen pro Pflanze stiegen innerhalb des gleichen Zeitraumes von 7,1 auf 73,5%. Diese Ergebnisse und die Tatsache, daß von Pflanzen mit einem hohen Anteil zweisamiger Hülsen die Samen aus einsamigen Hülsen und die Samen aus zweisamigen Hülsen in beiden Nachkommenschaftsgruppen einen etwa gleich hohen Anteil doppelsamiger Hülsen aufweisen, lassen mit Sicherheit darauf schließen, daß diese Eigenschaft genetisch bedingt ist. Es konnte weiterhin nachgewiesen werden, daß außer der genkontrollierten Wirkung auch die Umweltverhältnisse, insbesondere die Witterung, einen Einfluß auf die Ausbildung von 2 Samen pro Hülse ausüben.

Im folgenden soll abschließend (die Untersuchungen können auf Grund anderer Aufgabenstellung

nicht fortgeführt werden) über weitere Ergebnisse berichtet werden.

#### Material und Methode

Eine frühere statistische Auswertung hatte ergeben, daß die Verarbeitung und Untersuchung von 10 gut ausgereiften sowie gut mit Samen besetzten Fruchtständen pro Pflanze als repräsentativ für die ganze Pflanze angesehen werden kann. Es wurde bei den weiteren Untersuchungen in gleicher Weise vorgefahren.

Die aus der Ernte 1961 (5. Selektionsgeneration) gewonnenen Samen gelangten 1962 in vier Gruppen zur Aussaat:

1. Zur Fortsetzung der bisherigen Generationsfolge sind in einem Ramsch alle Samen aus Pflanzen zusammengeworfen worden, die mehr als 50% doppelsamige Hülsen pro Pflanze aufwiesen. Diese Samen wurden geteilt und deren Nachkommenschaften in zwei Untergruppen ausgepflanzt. Eine Untergruppe war für eine Vorselektion vorgesehen, bei der nur Pflanzen untereinander frei abblühten, die mehr als 60% zweisamige Hülsen aufwiesen. In der anderen Gruppe blühten alle Pflanzen ohne eine Vorselektion untereinander frei ab, um die Wirkung gelenkter freier Bestäubung im Vergleich zu nicht gelenkter freier Bestäubung nach fünf Selektionsgenerationen ermitteln zu können.

2. Eine mit A bezeichnete Gruppe bestand aus 23 Einzelpflanzennachkommenschaften, deren Mutterpflanzen mindestens 65% zweisamige Hülsen aufwiesen.

3. Eine mit B bezeichnete Gruppe bestand aus 8 Einzelpflanzennachkommenschaften, deren Mutterpflanzen 60,0 bis 64,9% doppelsamige Hülsen aufwiesen.

4. Eine mit C bezeichnete Gruppe bestand aus 15 Einzelpflanzennachkommenschaften von Müttern mit 50,0 bis 59,9% zweisamigen Hülsen.

Die Gruppen A, B und C, von denen je Nachkommenschaft 100 Pflanzen angezogen und ausgepflanzt wurden, sind gleichfalls in je eine Untergruppe mit und ohne Vorselektion unterteilt worden, um auch hier die Wirkung gelenkter und nicht gelenkter freier Bestäubung erfassen zu können.

Bei der Gruppe A blühten nach Vorselektion alle Pflanzen frei untereinander ab, die mindestens 65% doppelsamige Hülsen aufwiesen, bei der Gruppe B wurde diese Grenze mit 60% und bei der Gruppe C mit 55% festgelegt.

Die Zahl der untersuchten Pflanzen in den Nachkommenschaften betrug bei:

Gruppe A:	vorselektiert	206
	nicht vorselektiert	381
Gruppe B:	vorselektiert	123
	nicht vorselektiert	187
Gruppe C:	vorselektiert	217
	nicht vorselektiert	304

Ein Tastversuch mit planmäßiger, manueller Kreuzung sollte darüber Auskunft geben, wie weit sich das Merkmal Doppelsamigkeit genetisch gefestigt hat und ob hierbei eine wesentliche Steigerung in der Häufigkeit des Auftretens zweisamiger Hülsen zu verzeichnen ist. Zu diesem Zweck wurden 12 Pflanzen aus Nachkommenschaften, deren Eltern und sie selbst mehr als 65% doppelsamige Hülsen aufwiesen, im Gewächshaus manuell untereinander gekreuzt. Als Vergleich sind weiterhin je 10 Pflanzen mit mehr als 65% zweisamigen Hülsen aus den gleichen Nachkommenschaften mit dem nicht züchterisch bearbeiteten Ausgangsmaterial (Anteil doppelsamiger Hülsen = 0,6%), ebenfalls im Gewächshaus, reziprok gekreuzt worden. Es entstanden somit folgende Kombinationen:

- > 65% × > 65%
- > 65% × Ausgangsmaterial
- Ausgangsmaterial × > 65%

(Die Nachkommenschaft reziproker Kreuzungen aus Pflanzen mit 20% zweisamigen Hülsen konnte nicht ausgewertet werden, da sie Wildfraß zum Opfer fiel.)

Aus der Kombination a wurden 224 Pflanzen, aus der Kombination b 201 Pflanzen und aus der Kombination c 140 Pflanzen auf Doppelsamigkeit untersucht. Eine Vorselektion fand nicht statt.

Die angegebenen Prozentzahlen für zweisamige Hülsen beziehen sich stets auf die Anzahl samenträgender Hülsen, die tauben Hülsen blieben unberücksichtigt, weil wiederum eine hohe Befruchtungsrate erzielt wurde, sie lag durchschnittlich bei 87,1%.

Zwecks Vereinfachung der graphischen Darstellungen und zur Wahrung einer besseren Übersichtlichkeit bei den Tabellen sind die Untersuchungsergebnisse hinsichtlich des Anteils doppelsamiger Hülsen pro Pflanze in Gruppen zu je 10% zusammengefaßt worden (Abszisse). Auf der Ordinate der graphischen Darstellungen ist der Anteil der untersuchten Pflanzen angegeben, der jeweils zu den auf der Abszisse aufgeführten Gruppen gehört.

### Ergebnisse

Aus der Tab. 1 und Abb. 1 ist ersichtlich, daß in einer 6. Selektionsgeneration (Ernte 1963) mit Vorselektion der durchschnittliche Anteil doppelsamiger Hülsen um 13,7% auf 43,7% gesteigert werden konnte und der Höchstwert um 8,4% auf 81,9% anstieg. Erheblich geringer war der Selektionserfolg ohne Vorselektion, hier stieg der Durchschnittswert nur um 4,7% auf 34,7% und der Höchstwert um 2,7% auf 76,2%. Die positive Wirkung der gelenkten Befruchtung mit Vorselektion im Vergleich zu nicht vorselektiert bei freier Bestäubung veranschaulichen Tab. 2 und Abb. 2. Mit Vorselektion liegt das maximale Auftreten zweisamiger Hülsen in der Gruppe 40,1–50%, ohne Vorselektion in der Gruppe 30,1 bis 40%.

Pflanzen mit einem Anteil von mehr als 80% doppelsamiger Hülsen treten bei ausgebliebener Vorselektion überhaupt nicht auf.

Tabelle 1. Ausleseeffekt auf 2 Samen pro Hülse in der 5. und 6. Generation im Vergleich zum Ausgangsmaterial.

Generation	Zahl der untersuchten Pflanzen	Anteil Pflz. mit nur 1 Samen pro Hülse in %	Anteil Pflz. mit 2 Samen pro Hülse in %	2 Samen pro Hülse im ♂ aller Pflanzen in %	Höchstwert zweisamiger Hülsen pro Pflanze in %	
Ausgangsmaterial	18000	—	—	0,6	7,1	
5 (1961)	2837	0,2	99,8	30,0	73,5	—
6 (1963)	1032	< 0,1	~ 100,0	43,7	81,9	+
6 (1963)	889	0,3	99,7	34,7	76,2	—

+ mit Vorselektion

- ohne Vorselektion

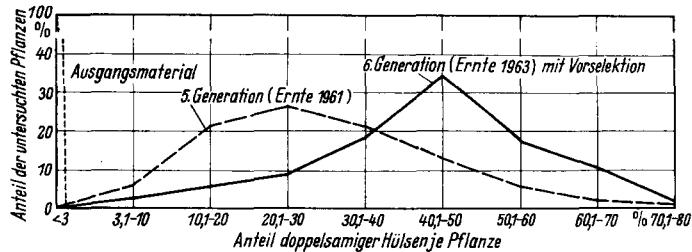


Abb. 1. Ausleseeffekt auf 2 Samen pro Hülse in graphischer Darstellung.

Tabelle 2. Wirkung des Ausleseeffektes auf 2 Samen pro Hülse mit und ohne Vorselektion in der 6. Generation.

Anteil zweisamiger Hülsen pro Pflanze in %	Anteil der untersuchten Pflanzen in %	
	mit Vorselektion	ohne Vorselektion
0 – 3	0,1	0,6
3,1 – 10	3,3	4,8
10,1 – 20	6,1	13,2
20,1 – 30	9,1	20,7
30,1 – 40	18,2	23,0
40,1 – 50	33,9	20,7
50,1 – 60	16,9	12,9
60,1 – 70	10,1	3,8
70,1 – 80	1,8	0,3
> 80	0,5	0

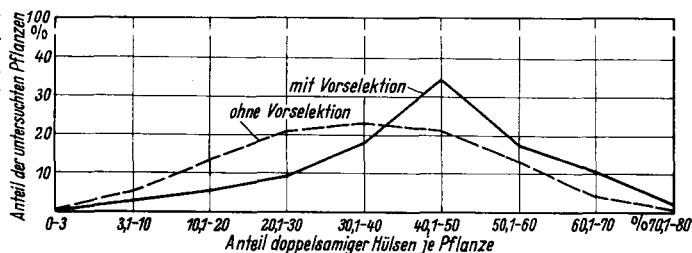


Abb. 2. Ausleseeffekt auf 2 Samen pro Hülse in der 6. Generation (Ernte 1963)

Tabelle 3. Wirkung des Selektionserfolges der Gruppen A, B, C mit und ohne Vorselektion bei freiem Abblühen.

Anteil zweisamiger Hülsen pro Pflanze in %	Anteil der untersuchten Pflanzen in %		
	mit Vorselektion		ohne Vorselektion
	A	B	C
0 – 3	0,4	0,3	0,6
3,1 – 10	2,0	4,8	3,3
10,1 – 20	3,4	6,3	6,4
20,1 – 30	4,1	7,5	11,8
30,1 – 40	9,1	10,8	28,7
40,1 – 50	17,7	39,9	27,0
50,1 – 60	42,0	17,6	14,1
60,1 – 70	18,0	11,4	7,5
70,1 – 80	3,1	1,4	0,6
> 80	0,2	0	0

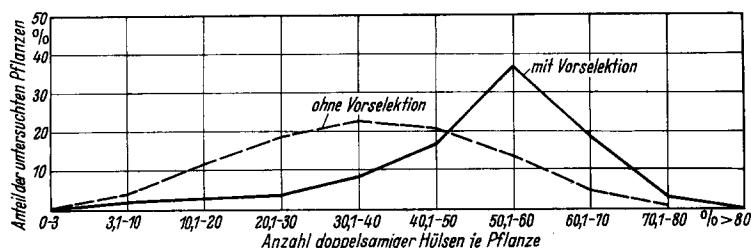


Abb. 3. Ausleseeffekt auf 2 Samen pro Hülse in der Nachkommenschaft der Gruppe A (Elternpflanzen = > 65 % DS).

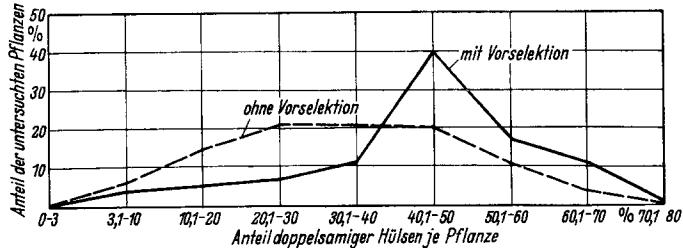


Abb. 4. Ausleseeffekt auf 2 Samen pro Hülse in der Nachkommenschaft der Gruppe B (Elternpflanzen = 60,0-64,9 % DS).

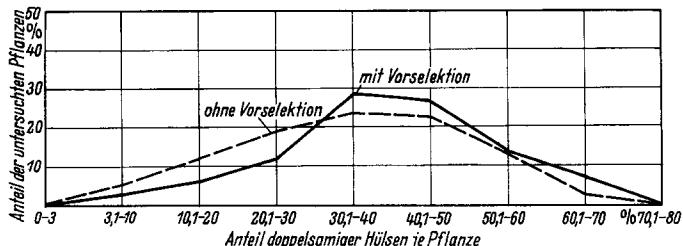


Abb. 5. Ausleseeffekt auf 2 Samen pro Hülse in der Nachkommenschaft der Gruppe C (Elternpflanzen = 50,0-59,9 % DS).

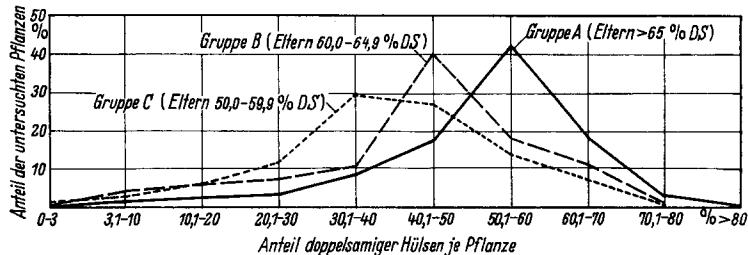


Abb. 6. Vergleichende Darstellung des Ausleseeffektes der Gruppen A, B, C mit Vorselektion.

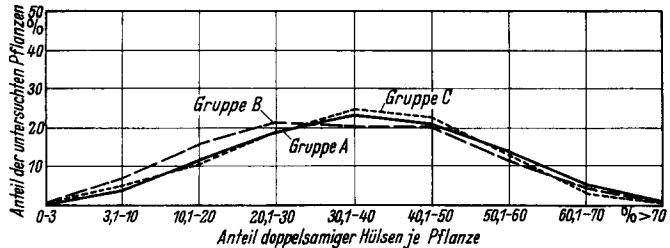


Abb. 7. Vergleichende Darstellung des Ausleseeffektes der Gruppen A, B, C ohne Vorselektion.

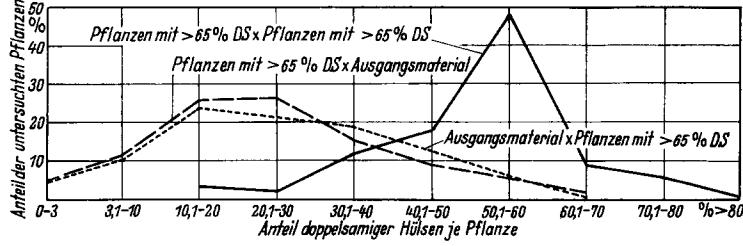


Abb. 8. Anteil doppelsamiger Hülsen in den Kreuzungsnachkommenschaften. (DS = Doppelsame Hülsen pro Pflanze)

Tab. 3 und die graphischen Darstellungen der Abb. 3, 4, 5 veranschaulichen die Wirkung der Vorselektion in den Gruppen A, B, C, bei denen das Ausgangsmaterial jeweils einen unterschiedlich hohen Anteil zweiseitiger Hülsen pro Pflanze aufwies. Die Gruppe A weist einen höheren Anteil doppelsamiger Hülsen als Gruppe B und Gruppe C einen höheren Anteil als Gruppe C in den Nachkommenschaften auf. Ein höherer Anteil zweiseitiger Hülsen im Ausgangsmaterial bedingte nach Vorselektion auch einen höheren Anteil in den Nachkommenschaften, wie aus der Darstellung in Abb. 6 deutlich erkennbar ist. Die Werte in den Gruppen 20,1 bis 70% sind mit Ausnahme der 14,1% in Tab. 3 vierte Spalte C sämtlich signifikant. Der durchschnittliche Anteil doppelsamiger Hülsen mit Vorselektion betrug in den Nachkommenschaften der Gruppe A 53,9%, in der Gruppe B 43,2% und in der Gruppe C 38,1%.

Ohne Vorselektion war in den Gruppen A, B, C trotz unterschiedlich hohem Anteil zweiseitiger Hülsen im Ausgangsmaterial in dieser 6. Generation kein Selektionserfolg zu verzeichnen (Tab. 3). Die graphische Darstellung der Abb. 7 veranschaulicht, daß die Kurven der Häufigkeitsverteilung nahe beieinander liegen, und die entsprechenden Werte der Tab. 3 ließen sich in keinem Fall statistisch sichern. In der Nachkommenschaft der Gruppe A lag der durchschnittliche Anteil doppelsamiger Hülsen bei 35,7%, in der Gruppe B bei 33,1% und in der Gruppe C bei 35,2%. Die Werte der Untersuchungsergebnisse der Gruppen A, B, C ohne Vorselektion fallen nahezu mit denen der 6. Selektionsgeneration (Ausgangsmaterial Ramsch), ebenfalls ohne Vorselektion, zusammen.

In Tab. 4 und Abb. 8 sind die Ergebnisse der Testkreuzungen wiedergegeben und dargestellt. Die Nachkommenschaften aus den drei Kreuzungsgruppen a, b, c weisen einen eindeutigen Anstieg doppelsamiger Hülsen in der Gruppe a auf. Das ist die Nachkommenschaft aus der Kombination von Pflan-

Tabelle 4. Häufigkeitsverteilung doppelsamiger Hülsen pro Pflanze nach Kreuzung.

Anteil zweiseitiger Hülsen pro Pflanze in %	Anteil der untersuchten Pflanzen in %		
	a	b	c
0 — 3	—	4,9	4,8
3,1—10	—	11,2	10,6
10,1—20	3,4	25,8	23,8
20,1—30	2,3	26,7	22,0
30,1—40	12,1	15,7	18,9
40,1—50	17,9	8,9	13,2
50,1—60	49,3	5,6	6,0
60,1—70	8,7	1,2	0,7
70,1—80	6,2	—	—
>80	0,1	—	—

a = Pflanzen mit > 65 % DS x Pflanzen mit > 65 % DS  
b = Pflanzen mit > 65 % DS x Ausgangsmaterial

c = Ausgangsmaterial x Pflanzen mit > 65 % DS

zen mit einem Anteil von über 65% zweisamigen Hülsen. Pflanzen mit weniger als 10% doppelsamigen Hülsen treten in dieser Nachkommenschaft nicht mehr auf, und in der Gruppenklasse 70,1 bis 80% ist im Vergleich zu dem frei abgeblühten Material eine Zunahme von Hülsen mit 2 Samen von 3,1% (Gruppe A mit Vorselektion) bzw. von 5,7% (Gruppe A ohne Vorselektion) zu verzeichnen.

Die reziproken Kombinationen von Pflanzen mit einem hohen Anteil doppelsamiger Hülsen und dem nicht züchterisch bearbeiteten Ausgangsmaterial weisen, wie in Tab. 4 aufgeführt und in Abb. 8 dargestellt, einen wesentlich geringeren Anteil von Hülsen mit 2 Samen auf. Die Durchschnittswerte für das Auftreten doppelsamiger Hülsen betragen in den Nachkommenschaften der Kombination a = 50,9%, in denen der Kombination b = 24,8% und in denen der Kombination c = 26,2%. Die Einkreuzung des in dieser Richtung züchterisch nicht bearbeiteten Ausgangsmaterials hat eine Reduzierung der Doppelsamigkeit um 25,4% bewirkt.

### Besprechung der Ergebnisse

Wie bereits früher dargelegt (SCHIEBLICH, 1963), bestätigen die weiteren Ergebnisse, daß die Eigenschaft Ausbildung von zwei Samen pro Hülse bei Rotklee genetisch veranlagt ist. Durch die Selektion einer weiteren, sechsten Generation ließ sich nach Vorselektion der Anteil doppelsamiger Hülsen weiter beträchtlich steigern. Eine Konstanz dieser Eigenschaft dürfte nach dem bisherigen Verlauf auch mit der 6. Selektionsgeneration noch nicht erreicht sein, zumal auch der Höchstwert noch eine Zunahme von mehr als 8% erfuhr. Sehr eindrucksvoll ist in allen geprüften Fällen die Wirkung einer Vorselektion auf die Ausbildung doppelsamiger Hülsen bei Rotklee. Durch den Ausschluß von Pflanzen, die keinen oder nur einen geringen Anteil zweisamiger Hülsen aufweisen vor der Blüte, ist im Vergleich zu unterlassener Vorselektion in den Nachkommenschaften ein sehr deutlicher Anstieg in der Ausprägung des Merkmals zu verzeichnen. Wie aus Abb. 6 ersichtlich, ist dieser Anstieg um so ausgeprägter, je höher der prozentuale Anteil doppelsamiger Hülsen bei den Mutterpflanzen war. Es ist aber immer darauf zu achten, daß die Zahl der auszuwählenden Pflanzen nicht zu klein wird, denn durch eine zu große Einengung können die bei Rotklee üblichen Wuchsdepressionen auftreten, die sich auch auf die Samenbildung auswirken.

Wie wichtig in fortgeschrittenen Generationen eine Vorselektion und dementsprechend gelenkte Bestäubung ist, veranschaulicht Abb. 7. Trotz Verwendung von Ausgangsmaterial, das mindestens 65% zweisamige Hülsen pro Pflanze aufwies (Gruppe A), konnte im Vergleich zum Ausgangsmaterial mit geringeren Anteilen doppelsamiger Hülsen ohne Vorselektion kein Züchtungsfortschritt erzielt werden. Mit Vorselektion hingegen ist bei allen 3 Gruppen ein Züchtungsfortschritt zu verzeichnen. Bei dem absolut auf Fremdbefruchtung angewiesenen und demzufolge sehr heterogenen Rotklee war anzunehmen, daß bei der Züchtung die Vorselektion mit nachfolgender gelenkter Bestäubung eine entsprechende Wirkung haben werde. Der Effekt der Vorselektion

kann im vorliegenden Fall mit durchschnittlich 10% angenommen werden. Die Wirkung der Vorselektion ist um so größer, je höher der Anteil zweisamiger Hülsen im Ausgangsmaterial ist, sie beträgt in der Gruppe A 18,2%, in der Gruppe B 10,1% und in der Gruppe C 2,9%. Es sei darauf verwiesen, daß diese Ergebnisse im Jahr 1963, einem für die Samenbildung bei Rotklee günstigen Jahr, erzielt wurden. Der Einfluß der Umweltverhältnisse wurde in der zitierten Arbeit bereits früher nachgewiesen. Es muß stets mit einer umweltbedingten Beeinflussung gerechnet werden.

Auch die drei Testkreuzungen stellen einen Beweis dafür dar, daß hier ein erblich bedingtes Merkmal vorliegt. Es dürfte auch weder gametophytisch noch sporophytisch beeinflußbar sein. Nach den vorliegenden Ergebnissen der drei Kombinationen ist es aber verfrüht, zumal bei der großen Heterogenität des Rotklees, Rückschlüsse auf den Vererbungsmodus ziehen zu wollen. Die Konstanz des Merkmals Doppelsamigkeit ist noch nicht in ausreichendem Maße erreicht. Mit Vorbehalt (nur eine Generationsfolge) deutet sich eine intermediäre Vererbung an.

Die Häufigkeitsverteilung im Auftreten zweisamiger Hülsen in der Nachkommenschaft aus den Kreuzungen  $> 65\% \times > 65\%$  entspricht annähernd der Gruppe A, Vorselektion auf 65% doppelsamige Hülsen pro Pflanze, mit Vorselektion und nachfolgender freier Bestäubung. Es ist dabei aber zu beachten, daß sich die Häufigkeitsverteilung aus der Kreuzung  $> 65\% \times > 65\%$  ohne Vorselektion ergab, daß in den unteren Klassen von 0–10% keine Individuen mehr auftreten und in den höchsten Klassen 70% bis  $> 80\%$  ein Anstieg zu verzeichnen ist. Es darf daraus die Schlußfolgerung gezogen werden, daß mit systematischer Kombination ein größerer und rascherer Fortschritt erreicht werden kann. Die Verwendung von nur 12 bzw. 10 Pflanzen als Ausgangsmaterial dürfte aber für den weiteren Verlauf derartiger Züchtungsarbeiten zu eng sein, wenn der Einfluß von Inzuchtdepressionen auf die Samenbildung vermieden werden soll.

### Zusammenfassung

Auch nach einer sechsten Selektionsgeneration mit Vorselektion ist eine weitere Steigerung im Auftreten zweisamiger Hülsen bei Rotklee erreicht worden, das gilt sowohl für den Durchschnitts- als auch für den Maximalwert. Die Wirkung einer Vorselektion war stark ausgeprägt, sie nimmt mit der Erhöhung des Anteiles doppelsamiger Hülsen im Ausgangsmaterial zu. Erste Testkreuzungen lassen bei dem sehr heterogenen, ausschließlich auf Fremdbefruchtung angewiesenen Rotklee noch keine endgültigen Rückschlüsse auf den Vererbungsmodus zu. Eine intermediäre Vererbung scheint sich anzudeuten. Mittels planmäßiger, manueller Kreuzungen lassen sich die Züchtungsarbeiten beschleunigen.

### Literatur

SCHIEBLICH, J.: Züchtung auf zwei Samen pro Hülse bei Rotklee (*Trifolium pratense* L.). I. Unter Anwendung einfacher Selektion. Der Züchter 33, 169–173 (1963).