

Selbstfertilität und intraklonale Fertilität bei Luzerne

E. TELLHELM

Institut für Pflanzenzüchtung der Karl-Marx-Universität Leipzig

Self-fertility and Intra-clonal Fertility in Alfalfa

Summary. In comparison with self-pollination of alfalfa flowers fertility increased with geitonogamy to intra-clonal pollination; the number of seeds per pod and seed size were also favourably influenced. Plasma differentiation may be the reason. Methodical aspects of genetic and breeding studies are discussed.

Einleitung

Die Verklonung der Einzelpflanzen von Fremdbefruchtern ist ein wichtiges Hilfsmittel bei der Anwendung moderner Zuchtmethoden (z. B. Polycross, diallele Kreuzungen). Da man möglichst ohne Kastration auskommen möchte, ist für das sichere Erkennen genetischer Effekte Voraussetzung, daß sich die möglichst geringe Selbstfertilität der Ausgangspflanzen nach ihrer Verklonung nicht erhöht; sonst würde das Kreuzungsergebnis infolge Selbstbefruchtung innerhalb der Klone beeinträchtigt. Demgegenüber wäre eine eventuelle Herabsetzung der Selbstfertilität durch die vegetative Vermehrung sogar wünschenswert.

Wenn auch HIORTH (1963) schlechthin feststellt, daß infolge Kreuzung innerhalb eines Klons der gleiche Grad von Inzuchtdepression zu erwarten sei wie nach Selbstung, so gibt es doch zahlreiche anders lautende Befunde. LIBBY u. JUND (1962) stellen für genetische Untersuchungen mit Hilfe von Klonen die Forderung auf, mögliche Klonungseffekte zu berücksichtigen. Bei Roggen ist die Geitonogamie in ihren verschiedenen Formen der strengen Autogamie überlegen. Erfolgreicher als die strenge Selbstung von Blüten sind Bestäubungen zwischen Blüten eines Ährchens, zwischen verschiedenen Ährchen einer Ähre und zwischen verschiedenen Ähren einer Pflanze, wie LAUBE (1959) mitteilt. JALAL u. NIELSEN (1967) fanden statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der Färbarkeit des Pollens aus verschiedenen Blütenständen innerhalb der Pflanzen von Wehrloser Trespe.

Läßt man Luzernepflanzen zur Kreuzung frei abbilden, so ist zu berücksichtigen, daß der Grad der Selbstfertilität sortentypisch ist. Nach ZEINER (1956) sind die Sorten der *Medicago media*-Gruppe weitgehend selbststeril, während das Material der *M. sativa*-Gruppe zur Selbstfertilität neigt. Selbstfertilität und Kreuzungsfertilität der Luzerne korrelieren eng miteinander (WHITEHEAD u. DAVIS, 1954; AYCOCK u. WILSIE, 1967). Die Befruchtungschancen des eigenen Pollens einer Pflanze sind allerdings geringer als die des fremden Pollens. Bei Kreuzungen mit der Hand ohne vorherige Kastration fanden GARTNER u. DAVIS (1966) keine generelle Beziehung zwischen der Selbstfertilität und dem Selbstungsansatz; von 16 Kombinationen wichen eine signifikant ab. Nach SPANIER (1963) findet bei deutschen Sorten vorwiegend Selbstbefruchtung statt; außerdem muß

man beachten, daß deren Umfang je nach den Umweltbedingungen schwankt (LESINS, 1961).

MEINEL (1964) berichtet, daß Wachstums- und Entwicklungsunterschiede zwischen Pflanzen des gleichen Luzerneklos nicht nur von den Umweltverhältnissen, sondern gleichfalls vom Idiotyp der Mutterpflanze abhängen. Auch das Problem der intraklonalen Fertilität der Luzerne wurde im Rahmen genetischer Forschungen wiederholt diskutiert. MYERS (1959) zitiert Fälle, in denen die natürliche Kreuzung von Klonen durch Selbstfertilität beeinträchtigt war. Zwischen den Klonen bestanden im prozentualen Anteil der natürlichen Kreuzung wesentlich geringere Unterschiede als in der Selbstfertilität; mit wachsender Selbstfertilität nahm bei den Klonen die Kreuzungshäufigkeit ab. KEPPLER und STEUCKARDT (1962) fanden mehrfach bestätigt, daß Selbstfertilität die Erträge der aus freier bzw. gelenkter Bestäubung hervorgegangenen Nachkommenschaften von Klonen nicht vermindert. So empfiehlt STEUCKARDT (1963) den Einsatz von Honigbienen bei diallelen Kreuzungen von Luzerneklonen in Kabinen, zitiert aber von anderen Autoren Arbeiten, aus denen hervorgeht, daß nach Bienenbestäubung teilweise Selbstungen auftraten. Nach SINSKAJA (1950) bewirkt die Bestäubung zwischen Blüten verschiedener Teile derselben Luzernepflanze besseren Samenansatz als strenge Autogamie. Durch Anzucht der Teile eines Klons unter verschiedenen Umweltbedingungen kann der Ertrag der nach intraklonaler Bestäubung erhaltenen Nachkommenschaft so sehr gesteigert werden, daß die Inzuchtdepression abnimmt bzw. überhaupt nicht in Erscheinung tritt. Einer Arbeit von SAIN (1966) zufolge entstehen die gleichen Effekte und erhöhte Winterfestigkeit, wenn die zu kreuzenden Klonpflanzen verschiedenen Sproßregionen der Mutterpflanze entstammen.

Ein weiteres Problem besteht nach KROPÁČOVÁ u. HASLBACHOVÁ (1966) darin, daß bestäubende Insekten bestimmte Luzerneformen mit hoher Nektarqualität bevorzugen. Verklotzt man solches Material, dann wird die für genetische Studien vorausgesetzte Panmixie nicht nur durch Kloneffekte beeinträchtigt, sondern auch durch unterschiedlichen Insektenbesuch.

Wie aus den vorstehenden Zitaten hervorgeht, kann die vegetative Vermehrung der Luzerne ihre Fertilitätsverhältnisse beeinflussen, worunter die Zuverlässigkeit der Ergebnisse genetischer Studien und die Wirksamkeit der angewandten Zuchtmethoden

leiden würden. Deshalb sollten mehrjährige eigene Untersuchungen zur Klärung der Frage beitragen, inwieweit die Selbstfertilität, verschiedene Samenmerkmale und die Vitalität der Nachkommen von Einzelpflanzen durch deren Verklonung beeinflußt werden.

Material und Methoden

In den Jahren 1964 bis 1966 wurden an 4 Luzerne-klonen (*Medicago media* Pers.) folgende Bestäubungsvarianten getestet: I. innerhalb einer Blüte, II. innerhalb einer Pflanze, III. zwischen benachbarten Pflanzen desselben Klons, IV. zwischen entfernt stehenden Pflanzen eines Klons, V. zwischen verschiedenen Klonen. Zur Pollenübertragung dienten schwache Hölzchen, welche nach jeder Bestäubung gewechselt wurden. Diese und andere Vorsichtsmaßnahmen (z. B. Blüteneinschluß in Gaze-häuschen, wiederholtes Reinigen der Hände) gewährleisteten die möglichst saubere Durchführung aller Varianten. Die Anzucht der Nachkommen geschah einzelpflanzenweise. 1967 erfolgte die Prüfung des Kloneffektes auf die Selbstfertilität an 26 Klonen verschiedener Herkünfte; außerdem wurden verschiedene Merkmale der erhaltenen Samen berücksichtigt und einige Beziehungen mit Hilfe der Rangkorrelationsrechnung untersucht.

Ergebnisse

Infolge extremer Witterungsbedingungen vor und während der Blühzeit (1964 Trockenheit, 1965 Kühle) waren die Befruchtungsergebnisse sehr schlecht. Als Fertilitätsmaß diente die Samenzahl pro bestäubte Blüte.

Tabelle 1. Einfluß verschiedener Bestäubungsformen auf die Fertilität der Luzerne (1964–1966)

Bestäubungs-variante	Blüten-bestäubt	Samen-zahl	Samen pro Blüte	Keimfähig-keit (%)
I	2102	65	0,03	80,0
II	1849	80	0,04	73,5
III	1226	116	0,09	66,5
IV	1780	110	0,06	80,5
V	1888	390	0,21	70,6

Aus Tabelle 1 geht hervor, daß die in allen 3 Jahren durch ungünstige Witterung beeinträchtigte Fertilität (Samenzahl/Blüte) von der Autogamie über verschiedene Formen der Geitonogamie anstieg und nach Xenogamie den höchsten Wert erreichte. Diese Tendenz bestand in allen 3 Versuchsjahren, lediglich 1964 gab Variante IV einen sehr niedrigen Wert, der den mehrjährigen Durchschnitt senkte (0,06).

Tabelle 2. Einfluß verschiedener Bestäubungsformen auf die Fertilität der Luzerne (1966)

Bestäubungs-variante	Blüten-bestäubt	Ansatz			
		Hülsen	Samen	Gesamt	pro Blüte
I	340	7	0,01	4	0,6
II	511	18	0,04	18	1,0
III	335	11	0,03	13	1,2
IV	426	20	0,05	27	1,4
V	456	67	0,14	139	2,1

Bemerkenswert war die hohe Keimfähigkeit des Selbstungsmaterials; in dieser Hinsicht ergaben sich keine Schäden gegenüber den Kreuzungssamen.

1966 fand die Zahl der angesetzten Hülsen Berücksichtigung. Wie Tabelle 2 zeigt, bewirkte intraklonale Bestäubung höheren Hülsenansatz, und auch die Samenzahl/Hülse stieg an. Die Samengröße nahm ebenfalls zu; so betrug die Einzelkornmasse nach Selbstung von Pflanzen 1,8 mg, nach intraklonaler Bestäubung 2,4 mg und nach Kreuzung 1,9 mg. Wahrscheinlich liegt im letzten Fall eine Beeinträchtigung der Korngröße infolge der größeren Samenzahl/Hülse vor.

Nach der χ^2 -Methode ermittelte Werte für Grenzwahrscheinlichkeiten ($\alpha\%$) sind folgende:

	$\alpha\%$
I / II	20
I + II / III + IV	20
I + II / V	$<0,1$
III + IV / V	$<0,1$

Demnach war die Erhöhung des Hülsenansatzes nach Fremdbefruchtung signifikant stärker als nach Selbstung und Intraklon-Bestäubung, während die Differenzen zwischen den verschiedenen Selbstungsvarianten nicht signifikant waren.

Da bei den üblichen Methoden der Selbstung Bestäubungen innerhalb der Pflanze eintreten, wurde 1967 die Einzelpflanzen-Bestäubung (Variante II) noch einmal an 26 Klonen mit der intraklonalen Bestäubung verglichen, wobei sowohl benachbarte als auch entfernt voneinander stehende Pflanzen wechselseitig bestäubt wurden (Varianten III + IV). Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse.

Tabelle 3. Einfluß von Selbstung und intraklonaler Bestäubung auf die Fertilität und Samengröße (1967)

Klon-Nr.	Hülsenansatz (%)		$\alpha\%$	Samengrößen-differenz in % (Selbstung = 100)
	Selb-stung	Intra-klon		
1	31,8	28,1	(—)	50 — 6
2	44,2	77,7	(+)	5 + 9
3	66,6	48,2	(—)	2,5 + 10
4	8,7	9,6	(+)	90 + 19
5	11,7	24,0	(+)	$<0,1$ + 32
6	1,0	6,4	(+)	1 + 18
7	0,5	2,9	(+)	10 + 59
8	46,1	54,9	(+)	10 — 15
9	10,0	7,2	(—)	30 — 10
10	36,7	18,4	(—)	$<0,1$ — 13
11	66,2	77,6	(+)	$<0,1$ — 8
12	44,4	68,5	(+)	$<0,1$ + 56
13	52,4	48,2	(—)	70 + 360
14	35,4	46,8	(+)	2,5 + 9
15	50,6	64,0	(+)	1 — 2
16	56,2	44,9	(—)	1 + 9
17	0,5	3,9	(+)	1 —
18	43,4	48,1	(+)	70 — 7
19	10,8	12,4	(+)	30 + 52
20	33,4	34,1	(+)	70 + 6
21	38,0	43,2	(+)	50 — 6
22	24,6	29,0	(+)	30 — 2
23	42,3	26,4	(—)	0,1 + 5
24	6,3	2,0	(—)	5 + 35
25	26,3	23,9	(—)	50 + 12
26	59,7	66,0	(+)	50 + 52
\varnothing bzw. Gesamt		31,8	34,6	30 + 15

Die Auswahl der Klone erfolgte zufällig, und so gelangte Material mit unterschiedlichem Grad der Selbstfertilität in die Untersuchung. Bei Selbstung schwankte der Hülsenansatz von 0,5 bis 66,6%, in der Intraklon-Variante von 2,0 bis 77,7%. Einige fast selbststerile Klone (Nr. 6, 7 und 17) erhöhten nach Intraklonbestäubung ihre Fertilität um ein Vielfaches, jedoch blieb sie gering (unter 10%). Die teils negativen und teils positiven Abweichungen der einzelnen Nummern wurden mit Hilfe der χ^2 -Methode geprüft (Vergleich befruchteter und nicht befruchteter Blüten). Es sind die Werte für $\alpha\%$ angegeben, und in Klammern gesetzte Vorzeichen erleichtern die Übersicht darüber, ob die Intraklonbefruchtung zur Steigerung oder Verminderung der Fertilität führte. Neben mehreren signifikant positiven Abweichungen (Nr. 5, 6, 11, 12, 14, 15, 17) gab es weniger signifikant negative (Nr. 3, 10, 16, 23). Insgesamt stehen 17 Erhöhungen der Fertilität 9 Abnahmen gegenüber. Hinsichtlich der Samengröße (durchschnittliche Einzelkornmasse ohne Schmachtkörper) waren es 16 positive und 9 negative Abweichungen (Nr. 17 fehlt). Zwischen den Extremen Nr. 10 (hochsignifikante Verminderung der Fertilität und Abnahme der Samengröße um 13%) und Nr. 12 (hochsignifikante Erhöhung der Fertilität und Zunahme der Samengröße um 56%) gab es die verschiedensten Übergänge. Bei Nr. 13 wuchs nach geringfügig verminderter Fertilität die Samengröße um über das Dreifache (Selbstung: 1,0 mg, Intraklon: 3,6 mg). Insgesamt betrachtet stiegen die Fertilität von 31,8% auf 34,6% (die Differenz war nicht signifikant, α etwa 30%) und die Samengröße um 15%. Zwischen den Prozентen des Hülsenansatzes nach beiden Bestäubungsformen bestand nach der Rangkorrelationsrechnung eine hochsignifikante Beziehung. Die Korrelation Selbstung/freie Bestäubung erreichte den Zufallshöchstwert nicht, dagegen stieg der r-Wert bei Intraklon/freie Bestäubung etwas an:

$$\text{Intraklon/Selbstung } r_s = 0,98$$

$$\text{Intraklon/freie Bestäubung } r_s = 0,42$$

$$\text{Selbstung/freie Bestäubung } r_s = 0,36$$

$$r_{\max} \text{ für } \alpha 5\% = 0,42$$

Tabelle 4. Blütenbiologische Merkmale in Abhängigkeit von Selbstung und Intraklonbestäubung (1967)

Hülsen- Variante ansatz (%)	Samen/ Hülse (gesamt)	Samen/ Hülse (voll entw.)	Einzel- kornmasse, (mg) (voll entw.)
II	31,8	1,25	1,02
III + IV	34,6	1,47	1,23
d	2,8	0,22	0,21
$\alpha\%$	20	9,8	14,3
			4,4

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, wurde durch Intraklonbestäubung im Vergleich zur Selbstung nicht nur der Hülsenansatz erhöht, sondern auch die durchschnittliche Samenzahl/Hülse (Gesamtzahl und voll entwickelte Samen) sowie die Einzelkornmasse. Nur im letzten Fall ergab die mit Hilfe der Differenzmethode geprüfte statistische Sicherheit Signifikanz.

Diskussion

Bei Luzerne können verschiedene Formen der Geitonogamie (einschließlich Intraklonbestäubung) gegenüber Autogamie verbesserte Fertilität, höhere Samenzahl/Hülse und größere Samen bewirken. Wenn auch in dieser Hinsicht negative Abweichungen auftraten und nur ein Teil der gefundenen Unterschiede signifikant war, so sind doch aus den mehrjährig durchgeführten Versuchen positive Tendenzen nicht zu verkennen.

Klone gelten allgemein als einheitlich in ihrer Erbmasse, und nach MYERS (1959) ist die Selbstfertilität der Luzerne genetisch bedingt. Verbesserte Selbstfertilität nach Geitonogamie oder Verklonung ließe sich dadurch erklären, daß in den verschiedenen Klonteilen infolge unterschiedlicher Umweltbedingungen bei gleicher idiotypisch festgelegter Reaktionsnorm phänotypische Unterschiede zur Ausprägung kommen; denn wie alle Eigenschaften und Merkmale gilt die Selbstfertilität als Teil des Phänotyps. Unterschiede in den Milieubedingungen dürften jedoch kaum von Bedeutung sein, da die zur Bestäubung verwendeten Klonteile auf der gleichen Parzelle und sehr einheitlichem Boden höchstens 3 m voneinander aufwuchsen und visuell nicht voneinander zu unterscheiden waren.

FISCHER (1967) definiert neben der von Populationsgenetikern herausgearbeiteten Interaktion zwischen Idiotyp und Umwelt eine andere Art genetischer Wechselwirkung: die Wirkung der Genkomplexe sei mehr oder weniger umweltvariabel. Wahrscheinlich ist eine diesbezügliche Interpretation der oben beschriebenen Ergebnisse nicht angebracht, weil die Unterschiede in den Umweltbedingungen zu gering waren. Auch somatische Mutationen und vegetative Spaltungen konnten infolge ihrer Seltenheit sicher keine wesentliche Rolle spielen.

Verständlicher erscheint eine Erklärung von ŁĄCZYŃSKA-HULEWICZ (1960, 1963). Demnach ist die Differenzierung physiologischer Faktoren innerhalb der Pflanze möglich, wahrscheinlich auf der Grundlage plasmatischer Unterschiede. Je stärker die Plasma-Differenzierung ist, desto höher soll die Selbstfertilität sein. Die physiologischen Unterschiede der Geschlechtspartner sind demnach bei Geitonogamie größer als bei Autogamie. Das starke Anwachsen der Selbstfertilität beim Übergang von strenger Autogamie zur Bestäubung zwischen Blüten verschiedener Teile einer Pflanze würde den Plasmaunterschieden entsprechen. Diese sind im Vergleich zu einer Blüte innerhalb der Pflanze relativ größer als zwischen verschiedenen Klongliedern, die in unseren Versuchen dem gleichen Stengelabschnitt der Mutterpflanze entstammten (Entnahme von Spitzestecklingen im zeitigen Frühjahr). Unter solchem Aspekt würden auch die Ergebnisse von ŠAIN (1966) verständlich, der durch Gewinnung von Stecklingen aus unterschiedlichen Stengelabschnitten die Verschiedenartigkeit der Klonglieder erhöhte. Die intraklonale Nachkommenschaft von Klonen, deren Glieder aus verschiedenen Sproßregionen der Mutterpflanze stammten, zeigte nach jenem Autor erhöhte Vitalität.

In unseren Versuchen schwankten die Erträge der einzelpflanzenweise angezogenen Nachkommenschaften außerordentlich stark, und es ergab sich kein klares Bild. Vielleicht hat sich in dieser Hinsicht die

Zu- oder Abnahme der Samengröße unterschiedlich ausgewirkt. Wie andere Versuche ergaben (TELLHELM, 1968), entstehen nach Selbstung zwar weniger, doch meistens größere Samen, wodurch die Inzuchtdepression der Nachkommen vermindert bzw. zumindest im Jugendstadium überdeckt wird. Intraklonale Bestäubung beeinflußt die Samengröße ebenfalls, wovon weitere Einflüsse auf die Nachkommenerträge abgeleitet werden könnten.

Für genetische und züchtungsmethodische Untersuchungen an Luzerneklonen ergibt sich die Notwendigkeit, die oft auftretenden, mehr oder weniger starken Klonungseffekte zu berücksichtigen. Es erscheint nicht ausreichend, die Selbstfertilität nur an Einzelpflanzen zu prüfen. Größere Sicherheit wird durch Intraklonbestäubung erreicht, wobei andere blütenbiologische Faktoren, wie z. B. Samengröße und -zahl pro Hülse, Berücksichtigung finden sollten.

Zusammenfassung

Im Vergleich zur Selbstbestäubung von Luzerneblüten wuchs die Fertilität über die Geitonogamie zur intraklonalen Bestäubung an; auch die Samenzahl pro Hülse und die Samengröße wurden positiv beeinflußt. Als Ursache dafür kommt die Plasmadifferenzierung in Frage. Methodische Aspekte genetisch-züchterischer Untersuchungen werden diskutiert.

Literatur

1. AYCOCK, M. K., and C. P. WILSIE: Inbreeding *Medicago sativa* L. by sib-mating. I. Cross-, sib-, and self-fertility. *Crop Science* **7**, 281–284 (1967). — 2. FISCHER, H. E.: Idiotyp, Umwelt, Phänotyp. *Biol. Zbl.* **86**, 589–597 (1967). — 3. GARTNER, A., and R. DAVIS: Effects of self-compatibility on chance crossing in *Medicago sativa* L. *Crop Science* **6**, 61–63 (1966). — 4. HIORTH, G.: Quantitative Genetik. Berlin/Göttingen/Heidelberg 1963. — 5. JALAL, S. M., and E. L. NIELSEN: Intraplant instability in smooth bromegrass (*Bromus inermis* Leyss.). *Euphytica* **16**, 385–390 (1967). — 6. KEPPLER, E., u.

- R. STEUCKARDT: Untersuchungen über die Beziehungen zwischen der individuellen Leistung von Luzerneklonen (*Medicago med.*) und ihren aus freier bzw. gelenkter Bestäubung hervorgegangenen Nachkommenschaften. *Der Züchter* **32**, 59–71 (1962). — 7. KROPÁČOVÁ, S., u. H. HASLBACHOVÁ: Einige Luzernesorten und die Bestäubungsarbeit der Honigbienen (tschech.). *Sborník vysoké školy semědělské v Brně, Řada A*, 407–416 (1966). — 8. ŁACZYŃSKA-HULEWICZ, T.: Selbstfertilität und Inzuchtdepression bei tetraploidem Rotklee. *Der Züchter* **30**, 219–222 (1960). — 9. LAUBE, W.: Roggen (*Secale cereale* L.). Blühbiologie und Samenbildung. *Handbuch der Pflanzenzüchtung II*, 42–50. Berlin u. Hamburg 1959. — 10. LESINŠ, K.: Mode of fertilisation in relation to breeding methods in alfalfa. *Z. f. Pflanzenzücht.* **45**, 31–54 (1961). — 11. LIBBY, W., and E. JUND: Variance associated with cloning. *Heredity* **17**, 533–540 (1962). — 12. MEINEL, A.: Untersuchungen über die Eignung verschiedener Sproßregionen der Luzerne (*Medicago media* Pers.) zur Stecklingsgewinnung und zur Erzeugung ausgeglichener und leistungsfähiger Klone. *Diss. Landw. Hochschule Bernburg* 1964. — 13. MYERS, W. M.: Luzerne-Arten. Biology of flowering, fertility, technics of selfing and crossing. *Handbuch der Pflanzenzüchtung IV*, 114–136. Berlin u. Hamburg 1959. — 14. ŠAIN, S. S.: Die Bedeutung der Heterogenität verschiedener Stengelabschnitte bei der vegetativen Vermehrung mehrjähriger Futterleguminosen (russ.). *Diss. Allunionsinstitut für Futtermittel Moskau* 1966. — 15. SINSKAJA, E. N.: Die Luzerne — *Medicago* L. EM: (russ.). *Kul'turnaja Flora SSSR* **13**, Nr. 1, Moskau—Leningrad 1950. — 16. SPANIER, J.: Untersuchungen über den Samenansatz ausländischer Luzernesorten in Beziehung zur Befruchtungsform und einigen morphologischen Merkmalen. *Der Züchter* **33**, 174–180 (1963). — 17. STEUCKARDT, R.: Der Einsatz von Honigbienen bei diallelen Kreuzungen insektenblütiger Fremdbefruchteter. *Z. f. Pflanzenzücht.* **49**, 161–172 (1963). — 18. TELLHELM, E.: Die Wirksamkeit der Selektion von Luzerne aus einem gedrillten Pflanzenbestand sowie im Jugendstadium. *Theor. Appl. Genetics* **38**, 321–324 (1968). — 19. WHITEHEAD, W. L., and R. L. DAVIS: Self- and cross-compatibility in alfalfa, *M. sativa*. *Agron. J.* **46**, 452–456 (1954). — 20. ZEINER, W. F.: Die Züchtung der Luzerne unter den ökologischen Bedingungen Südafrikas. *Z. f. Acker- u. Pflanzenbau* **123**, 383–394 (1966). — 21. ŁACZYŃSKA-HULEWICZ, T.: Self-fertility and inbreeding in tetraploid red clover. *Genetica Polonica* **4**, 97–119 (1963).