



Formica, ein Mattenklees mit reduziertem Östrogengehalt

Beat BOLLER, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau, Reckenholz (FAL), CH-8046 Zürich

Nach der Rotkleesamenernte 1996 wird erstmals Saatgut der neuen FAL-Züchtung Formica auf dem Markt erscheinen. Formica ist eine Sorte des Mattenklees, die sich durch einen reduzierten Gehalt an Formononetin, einem pflanzlichen Östrogen, auszeichnet. Die Selektion auf tiefen Östrogengehalt hatte keine nachteiligen Auswirkungen auf das Leistungsvermögen der sehr konkurrenzstarken neuen Sorte.

Verschiedene Kleearten enthalten Substanzen, die beim Vieh wie weibliche Sexualhormone wirken. Beim Rotklee hat Formononetin, ein Isoflavon, die grösste östrogene Wirkung. Der Verzehr von Rotklee kann bei Schafen zu erheblichen Fruchtbarkeitsstörungen führen. Aufgrund solcher Befunde ist ein niedriger Gehalt an Formononetin in Australien schon seit längerem ein stark beachtetes Zuchtziel bei der Entwicklung von Rotkleesorten. Die bisher in der Schweiz angebauten Mattenkleesorten der ausdauernden Mattenkleeform weisen mittlere bis hohe (z.B. Vanessa) Gehalte an Formononetin auf (Schubiger und Lehmann 1994).

Die erfolgreiche Nutzung genetischer Variabilität im Formononetin Gehalt durch

die australische Züchtung (Anonym 1972) und die Entwicklung einer effizienten Routinemethode für die Analytik (Gosden und Jones 1978) gaben 1984 Anlass zur Aufnahme eines entsprechenden Züchtungsprogrammes an der FAL Reckenholz. Diese Arbeiten gelangten mit der Empfehlung der diploiden Sorte Formica zu einem vorläufigen Abschluss. Formica ist die erste in Europa registrierte Rotkleesorte mit einem reduzierten Östrogengehalt. Wir präsentieren hier die bisher erzielten Versuchsergebnisse mit der neuen Sorte. Dabei stützen wir uns hauptsächlich auf die Ergebnisse der offiziellen Sortenprüfung an vier Orten in der Schweiz von 1990 bis 1992 (Mosimann *et al.* 1993) und auf die Leistungsprüfungen an drei Orten,

die wir als Züchter 1993 bis 1995 durchgeführt haben.

Selektion in altem Hofsortenmaterial

Als Ausgangsmaterial für die Auslese auf tiefen Gehalt an Formononetin dienten acht Populationen von Hofsorten, die hauptsächlich aus dem Kanton Bern stammten (Ostermundigen, Köniz, Kriechenwil, Spiegel, Neuenegg; dazu Brütten ZH und zwei komplexe Populationen). Sie waren aufgrund eines vergleichenden Versuches ausgewählt worden aus einer zwischen 1971 und 1974 durchgeführten, umfangreichen Sammlung dieser damals im Verschwinden begriffenen Lokalsorten des Mattenklees. Nach einer Infektion mit *Sclerotinia* wurden 1984 unter den überlebenden etwa 2000 Einzelpflanzen die 48 vielversprechendsten auf ihren Gehalt an Formononetin untersucht. Die 15 Pflanzen, die im Durchschnitt von zwei Probestimmen den tiefsten Gehalt aufwiesen (im Mittel 77 % des Populationsdurchschnittes), wurden untereinander gekreuzt. In der folgenden Generation wurden aus etwa 500 Einzelpflanzen erneut zunächst nach agronomischen Gesichtspunkten die 79 besten ausgewählt. Aufgrund der Formononetinanalysen erlaubte man 37 Pflanzen mit tiefem Gehalt (79 % des Populationsdurchschnittes), offen untereinander abzublühen. Nach einer weiteren Selektion auf Samenertrag und Nachkommenschaftsleistung blieben 20 Halbgeschwisterfamilien übrig, von denen das Ursprungssaatgut der neuen Sorte gewonnen wurde. Die Selektion wurde noch in einer weiteren Generation fortgeführt und lieferte den Zuchtstamm TP9045.

Konstant tiefer Östrogengehalt

In den vergleichenden Parzellenversuchen hatte Formica an sämtlichen Versuchsorten und zu jedem Probenahmetermin

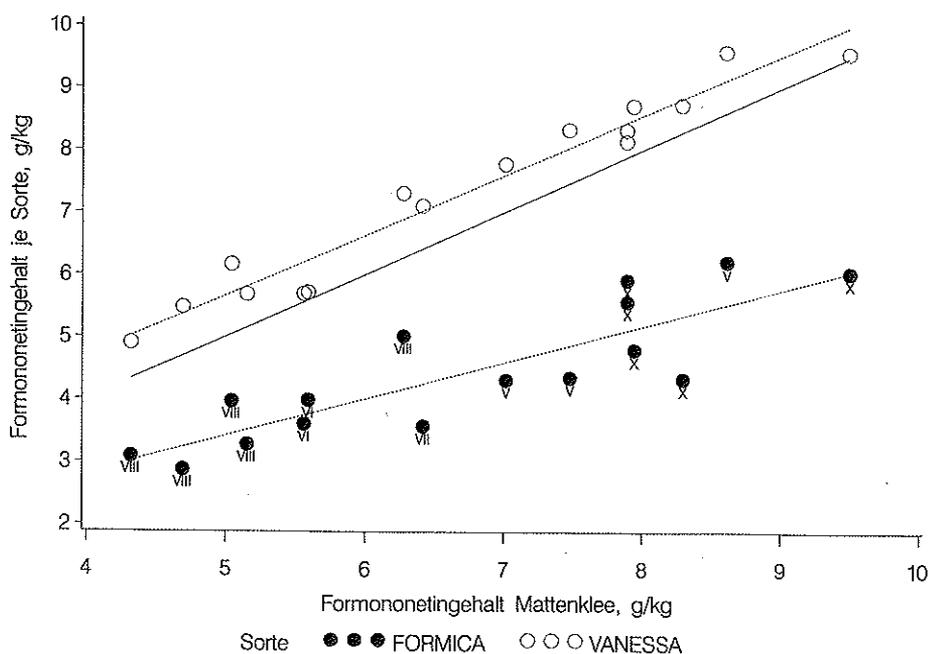


Abb. 1. Formononetin Gehalt der Sorten Formica und Vanessa im Vergleich zum Mittel der Mattenkleesorten Milvus, Rüttinova, Temara und Vanessa. Römische Ziffern = Monat der Probenahme; gestrichelte Linien = Regressionsgeraden je Sorte; durchgezogene Linie = Mittel Mattenkleesorten.

min einen deutlich tieferen Gehalt an Formononetin als die Vergleichssorten (Abb. 1). Bei 16 Einzelresultaten war der Gehalt von Formica gegenüber dem Mittel der übrigen Mattenkleesorten um 20 bis 48 % tiefer, im Durchschnitt um 35 %. Auch die relativ geringen Unterschiede zwischen den nicht auf tiefen Gehalt selektierten Sorten blieben erhalten: Milvus, Temara und Vanessa lagen im Formononetingehalt immer über Rüttinova.

Der höchste gemessene Gehalt an Formononetin betrug für Formica 6,2 g/kg TS gegenüber 7,8 bis 11,0 g/kg für die übrigen Sorten. Um Fruchtbarkeitsstörungen bei Schafen auszuschliessen, sollte der Gehalt im Futter nach australischen Angaben 3 g/kg nicht überschreiten (Neil *et al.* 1969). Man kann also damit rechnen, dass Klee-Gras-Futter mit Formica als Rotkleepartner keine kritischen Östrogengehalte erreichen wird, solange der Rotkleeanteil in der Mischung unter 50 % bleibt. Hohe Kleeanteile werden vor allem im Sommer beobachtet, während im Frühjahr die Gräser in den Mischungen stark dominieren und im Herbst zulasten des Klees wieder zunehmen. Diese Tatsache wirkt sich zusätzlich günstig auf die Einhaltung der Formononetingrenzwerte im Futter aus, weil im Sommer meist tiefere Gehalte gemessen werden als im Frühjahr und Herbst (Abb. 1).

Vielversprechende agronomische Leistungen

Starke Selektion in Richtung eines einzelnen Merkmals führt oft zu Einbussen in den übrigen Werteigenschaften, besonders im Ertragsvermögen. Die Ergebnisse unserer Parzellenversuche zeigen, dass dies im Fall der Selektion von Formica nicht der Fall war (Tab. 1). Im Ertrag des ersten Hauptnutzungsjahres lag Formica sogar deutlich über den diploiden Vergleichssorten Milvus und Rüttinova und war den besten Ackerkleesorten wie Merviot ebenbürtig (vgl. Mosimann *et al.* 1993). Formica ist ziemlich resistent gegen die Blattkrankheiten Mehltau und *Stemphylium*. Auch in der für die Ertragsicherheit wichtigen Resistenz gegen den Kleekrebs (*Sclerotinia*), und in der Ausdauer zeigten sich keinerlei Nachteile gegenüber der bewährten Mattenkleesorte Rüttinova. Hingegen wird Formica in diesen Eigenschaften von der neuen Sorte Milvus übertroffen. Hier dürfte sich die längere Entwicklungsdauer und die mehrfache Selektion auf Resistenz gegen

Tab. 1. Agronomische Eigenschaften von Formica im Vergleich zu den übrigen empfohlenen Sorten des diploiden Mattenklees

| | Formica | Milvus | Rüttinova | Serie (Versuchsjahre) |
|--|---------|--------|-----------|-----------------------|
| Ertrag im 1. Hauptnutzungsjahr (Rüttinova=100 %), 4 Schnitte | 104,5 | 102,1 | 100 | 90-92 |
| | 104,0 | 99,6 | 100 | 93-95 |
| | 104,2 | 100,8 | 100 | Ø |
| Ertrag im 2. Hauptnutzungsjahr (Rüttinova=100 %), 4 Schnitte | 98,4 | 104,4 | 100 | 90-92 |
| | 99,5 | 106,0 | 100 | 93-95 |
| | 99,0 | 105,2 | 100 | Ø |
| Kleekrebsresistenz (Note) | 4,2 | 3,3 | 4,6 | 90-92 |
| | 2,8 | 2,0 | 2,6 | 93-95 |
| | 3,5 | 2,6 | 3,6 | Ø |
| Mehltauresistenz (Note) | 3,2 | 2,9 | 4,6 | 90-92 |
| Resistenz gegen <i>Stemphylium</i> Blattflecken (Note) | 3,9 | 4,6 | 4,8 | 93-95 |
| Ausdauer (Note) | 3,5 | 3,0 | 3,6 | 90-92 |
| | 4,6 | 3,2 | 4,6 | 93-95 |
| | 4,0 | 3,1 | 4,1 | Ø |

Notenskala: 1 = beste, 9 = schlechteste Resistenz/Ausdauer

lebensbedrohende Schaderreger stärker zugunsten von Milvus ausgewirkt haben. Besonders günstig wird Formica in bezug auf die Konkurrenzkraft eingestuft. Mosimann *et al.* (1993) setzten sie an die Spitze sämtlicher geprüften Rotkleesorten, noch vor die besten tetraploiden Konkurrenten. Formica besitzt lange Stengel und grosse Blätter. Diese Eigenschaften tragen vermutlich stark dazu bei, dass sich die Sorte im Konkurrenzkampf um Licht gegen hochwachsende Gräser wie Knaulgras und Italienisches Raigras gut durchsetzen kann.

Rascher Zuchtfortschritt dank hoher Heritabilität

Die Züchtung der Sorte Formica benötigte von den ersten chemischen Analysen (1984) bis zum Eintrag in die empfehlende Sortenliste (1992) lediglich acht Jahre. Eine erste Begründung für diese kurze Entwicklungszeit findet sich in der Analyse der Heritabilität (Erblichkeitsgrad).

Eltern-Nachkommen-Vergleiche ergaben in drei untersuchten Selektionsschritten für die Formononetinkonzentration im Mittel eine Heritabilität (h^2) von 0,7 (Tab. 2). Dies bedeutet, dass vom gemessenen Unterschied im Gehalt zwischen den ausgewählten Pflanzen und der Gesamtpopulation 70 % an die nächste Generation weitergegeben wird. Ein so hoher Wert für die Heritabilität bietet gute Voraussetzungen für rasche und sichere Zuchtfortschritte. Es lässt sich daraus aber auch ableiten, dass die genetisch bedingten Unterschiede durch Umweltfaktoren wenig beeinflusst werden. Diese Voraussage findet sich in den geringen Schwankungen im Verhältnis der Formononetingehalte zu Vergleichssorten bestätigt (vgl. Abb. 1).

Eine zweite Ursache für den raschen Erfolg in der Kombination von Formononetingehalt und agronomischer Leistung dürfte in der Wahl des Ausgangsmaterials liegen. Die 15 Pflanzen der ersten Selektionsgeneration stammten aus acht

Tab. 2. Schätzung der Heritabilität h^2 (Erblichkeitsgrad) der Formononetinkonzentration anhand Eltern-Nachkommen-Regressionen

| Elterngeneration | Nachkommenschaft | Anzahl Paare | $h^2 \pm$ mittlerer Fehler |
|------------------|------------------|--------------|----------------------------|
| P | F ₁ | 24 | 0,69 \pm 0,15 |
| F ₁ | F ₂ | 31 | 0,55 \pm 0,40 |
| F ₂ | F ₃ | 39 | 0,86 \pm 0,15 |
| Mittel | | | 0,70 |

Tab. 3. Formononetingehalt und Ertragsvermögen nach ein bis drei Generationen Auslese auf tiefen Gehalt

| Zuchtstamm/ Sorte | Anzahl Generationen | Formononetingehalt Rüttinova = 100 % | Ertrag im 1. Hauptnutzungs- jahr, Rüttinova = 100 % |
|----------------------|------------------------|---|--|
| G 8612 (Zuchtstamm) | 1 | 84 | 102,0 |
| Formica | 2 | 76 | 104,2 |
| TP 9045 (Zuchtstamm) | 3 | 65 | 100,2 |

miteinander nicht verwandten Populationen, so dass in der Nachkommenschaft kaum Inzuchteffekte auftraten. Der Vergleich der verschiedenen Selektionsstufen zeigt aber, dass das Material nicht beliebig eingengt werden kann, um den Formononetingehalt weiter zu senken (Tab. 3). Eine weitere Selektion innerhalb der Sorte Formica erlaubte zwar nochmals eine deutliche Reduktion des Östrogengehaltes, aber das Ertragsvermögen des entsprechenden Zuchtstammes (TP9045) lag ebenfalls tiefer.

Folgerungen

Mit nur zwei Generationen Einzelpflanzenselektion gelang es, eine Mattenkleesorte zu schaffen, die einen wesentlich reduzierten Gehalt an Formononetin, ei-

nem pflanzlichen Östrogen, aufweist. Die neue Sorte Formica ist ebenso ausdauernd wie die bewährten Mattenkleesorten (z.B. Rüttinova), bringt im ersten Hauptnutzungs-jahr höhere Erträge und verfügt über eine hervorragende Konkurrenz-kraft. Diese Eigenschaften machen sie zum idealen Mischungspartner zu Italienischem Raigras (z.B. in der Standardmischung 200 CH).

LITERATUR

Anonym, 1972. Register of Australian herbage cultivars. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science* 38, 142-144.

Gosden A.F. and Jones R., 1978. A routine method for predicting the formononetine content of red clover. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29, 925-929.

Mosimann E., Chalet C., Lehmann J. et Schubiger F.X., 1993. Essais de variétés de trèfle violet (*Trifolium pratense* L.) 1990-1992. *Revue Suisse d'Agriculture* 25, 139-143.

Neil H.G., Fels H.E. and Francis C.M., 1969. Control of clover infertility in sheep. *Journal of Agriculture of Western Australia* 10, 275-277.

Schubiger F.X. und Lehmann J., 1994. Stoffe mit östrogen Wirkung in Rotkleearten. *Agrarfor-schung* 1, 361-363.

RÉSUMÉ

Formica, un trèfle violet de longue durée avec une teneur réduite en phytoestrogènes

Pour la première fois en Europe, une variété de trèfle violet (*Trifolium pratense* L.) sélectionnée pour une faible teneur en formononétine apparaît sur le marché. La nouvelle variété de longue durée (type «Mattenklee») Formica a une teneur en formononétine inférieure d'un tiers à celle des autres variétés comparables. Cette relation est peu modifiée par les conditions de croissance. Formica persiste aussi longtemps que les variétés de type «Mattenklee» connues jusqu'à présent, tout en étant plus productive en première année d'utilisation principale. Nous avons pu combiner un potentiel oestrogénique réduit et une bonne capacité de rendement grâce à une héritabilité élevée de la teneur en formononétine et au choix d'un matériel de base génétiquement large.

SUMMARY

Formica, a red clover of the persistent Mattenklee type with a reduced content of phytoestrogens

For the first time in Europe, a cultivar of red clover (*Trifolium pratense* L.) was released which had been selected for a low content of formononetine, a substance known for its oestrogenic effect on ruminants. This new variety of the persistent Mattenklee type Formica, contains one third less formononetine than comparable varieties. This relationship is little affected by the environment. Formica persists similarly well as varieties of the Mattenklee type known previously and yields better in the first year after the year of sowing. Obtaining the desired combination of a reduced oestrogenic potential with a good yielding ability was facilitated by a high heritability of the formononetine concentration, as well as by choosing a genetically broad base material for the selection.

KEY WORDS: formononetine, cultivar, red clover, *Trifolium pratense*, selection



Abb. 2. In Mischungen mit Italienischem Raigras (SM 200) erreicht Formica (links) schon im ersten Hauptnutzungs-jahr höhere Bestandesanteile als die Ackerkleesorte Merviot (rechts).