

NN 8201

no 385

C

J. W. Lackamp

Een onderzoek naar variabiliteit en vererving van het
ruw-eiwitgehalte in Engels raaigras

BIBLIOTHEEK
DER
LANDBOUWHOOGESCHOOL
WAGENINGEN

NN08201.385

J. W. Lackamp

Een onderzoek naar variabiliteit en vererving van het ruw-eiwitgehalte in Engels raaigras

with a summary

Research on variability and heritability of the crude
protein content in perennial rye grass

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad van doctor in de landbouwkunde
op gezag van de Rector Magnificus, Ir. W. F. EIJSSVOOGEL,
hoogleraar in de hydraulica, de bevoeiing, de weg- en waterbouwkunde
en de bosbouwarchitectuur,
te verdedigen tegen de bedenkingen van een commissie uit de Senaat
van de Landbouwhogeschool te Wageningen
op vrijdag 11 juni 1965 te 16 uur



1965 *Centrum voor landbouwpublikaties en landbouwdocumentatie*

Wageningen

STELLINGEN

I

Voor de veredelaar van groenvoedergewassen is kennis van de fysiologie even onontbeerlijk als kennis van de genetica.

Dit proefschrift

II

De geniteurswaarde van een graskloon kan beter tot uiting komen door middel van een I_1 -generatie dan door middel van een massale proefkruising

Dit proefschrift

III

Door het stelselmatig verwijderen van minusvarianten laat de veredelaar de kans op het verkrijgen van genetisch inzicht vaak voorbijgaan.

IV

Het kan voor een veredelaar zeer riskant zijn te selecteren op correlaties.

V

Bij de tegenwoordige stand van de veredeling in Nederland, dient de Stichting voor Plantenveredeling de kwekers meer door kritische methodenstudie dan door afgifte van materiaal.

VI

Als een tevoren gefantaseerde uitkomst in de zin van VERVELDE moge het volgende dienen: „Verbetering van kwaliteitsfactoren, tenzij discontinu en tenzij cumulatief, die aanmerkelijk beïnvloed worden door het milieu, is eerder te verwachten van cultuurmaatregelen, dan van plantenveredeling.”

G. J. VERVELDE, *Landbouwk. Tijdschr.* 76, 1964, p. 543.

VII

Minnendheid en mijndendheid als termen uit de vegetatiekunde kunnen beter vervangen worden door voorkeur en afkeer.

VIII

Door negatie van de economische wetten leidt het Nederlandse loon- en prijsbeleid tot een voortdurende vervlakking van de morele normen in de bedrijven.

IX

Door de omzetten aan veevoer en kunstmest bij plaatselijke coöperatieve aan- en verkoopverenigingen te berekenen op basis van percentages rundvee-, varkens- en kippenvoer, resp. N-, P- en K en door deze uit te zetten in driehoeksgrafieken kunnen zeer treffende streekkenmerken worden verkregen omtrent de bedrijfshuishoudingen.

X

De autonomie van de gewestelijke keuringsdiensten van de N.A.K. dreigt meer en meer een anachronisme te worden.

XI

Wanneer publikaties over het effect van de landbouwvoorlichting hoofdzakelijk verschijnen van de hand van personen, die hiërarchisch tot de Directie van de Voorlichting behoren, dreigt gevaar voor overwaardering van dit effect.

XII

Als voorbereiding tot de studie aan de Landbouwhogeschool verdient Gymnasium-B de voorkeur boven H.B.S.-B.

XIII

Het verband dat vaak gelegd wordt tussen geloofsovertuiging en volkskarakter in Nederland is zelden oorzakelijk, meestal accidenteel.

XIV

Het wordt tijd dat de Griekse schoolwoordenboeken de vergissing van FÉE van 1833 herstellen door *ζεῖ* niet langer te vertalen door *spelt*.

o.a. MULLER-THIEL, Beknopt Grieks-Nederlands Woordenboek, 1958

XV

ENTWISTLE en MORISON geven een onvoldoende verklaring voor het overnemen van de functie van de aorist door de perfective verba in de ontwikkeling van het slavisch, omdat in het oud-slavisch zowel aorist als perfective en imperfective verba gelijktijdig bestonden.

W. J. ENTWISTLE and W. A. MORISON, Russian and the Slavonic languages, p. 103, 106 en 107.

A, LESKIEN, Handbuch der Altbulgarischen Sprache, 1962, p. 172.

Voorwoord

Hooggeleerde 't Hart, hooggeachte promotor, ik moet U wel zeer erkentelijk zijn dat U deze studie, als een wild gewas in een stille tuin opgeschoten, hebt willen snoeien en waar nodig kerven. Dankbaar ben ik U ook dat U mijn te speelse geest tot nieuwe discipline dwong.

Hooggeleerde Dorst, van U heb ik geleerd dat plantenveredeling behalve het toepassen van wetten ook casuïstiek en compromis betekent. Ik hoop noch het een, noch het ander te hebben verwaarloosd.

Hooggeleerde Prakken, het stemt mij tot voldoening, dat deze studie mij opnieuw met U in contact bracht, waardoor ik eens te meer de waarde van de vorderingen in de fundamentele genetica voor mijn vak ging beseffen.

Zeergeleerde Van der Veen, Uw jongste colleges in de populatiegenetica waren voor mij een openbaring. Voor Uw opbouwende kritiek ben ik U veel dank verschuldigd.

De hulp, die ik mocht ontvangen van het Centrum voor Landbouwwiskunde brengt mij op de eerste plaats de namen van Ir. S. H. Justesen en M. Keuls voor de geest. Beiden betuig ik hierbij voor hun waardevolle adviezen mijn oprechte dank.

Zonder de genereuze bijstand van het Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie zou het mij door gebrek aan tijd, geduld en ervaring, nauwelijks gelukt zijn, deze publikatie in een voor de druk gereede vorm te brengen. Als ik in dit verband aan één naam hommage moet betuigen, van degene die in dit opzicht veel uitstekend werk voor mij deed, dan moet dit aan die van de heer M. J. M. Osse zijn.

Inhoud

1	Inleiding en doel van het onderzoek	3
2	De variatie in het ruw-eiwitgehalte ten gevolge van uitwendige omstandigheden	7
2.1	Historische ontwikkeling	7
2.2	Invloed van de veroudering van het gras op het ruw-eiwitgehalte	9
2.3	Invloed van de standplaatsfactoren op het ruw-eiwitgehalte	12
2.4	Invloed van de stikstofvoeding op het ruw-eiwitgehalte	14
3	De vererving van het ruw-eiwitgehalte in Engels raaigras	17
4	Methoden van onderzoek	24
4.1	Nadere precisering van het doel	24
4.2	Het proefplan	25
4.3	De eiwitbepalingen	29
5	De niet-genetische variabiliteit	32
5.1	De toevalsvariatie	32
5.2	Herhaling in de tijd	36
5.2.1.	<i>Ander jaar, zelfde snede</i>	37
5.2.2.	<i>Zelfde jaar, oudere snede</i>	38
5.3	Invloed van verschillende bemestingstrappen	40
5.4	Veldproeven in vergelijking met potproeven	52
5.5	Verschil van voorvrucht	53
6	De genetische variabiliteit	58
7	Vererving van genetische verschillen	63
7.1	Opsporen van de vererving	63
7.2	Vrije bestuiving	64
7.3	Topcross	65
7.4	Paarsgewijze kruising	66
7.5	Zelfbestuiving	73
7.6	Massale proefkruising	88

Samenvatting en discussie	96
Summary and discussion	104
Literatuur	112
Bijlage	115

1 Inleiding en doel van het onderzoek

De hoedanigheid. De twee hoofddoelinden bij produktie in het algemeen zijn *hoeveelheid* en *hoedanigheid*. Beide hebben terecht evenveel aandacht van onderzoek en praktijk. Dit geldt natuurlijk ook voor de produktie van onze graslanden. Deze produktie wordt door tal van factoren bepaald, zoals grond, klimaat, cultuurmaatregelen, gebruik, maar ook door de botanische samenstelling van de zode. Het is bekend, dat een van de belangrijkste soorten in onze goede graslanden het Engels raaigras is.

Sinds lange tijd hebben vele onderzoekers de grote waarde van het Engels raaigras voor de vaderlandse grascultuur onomstotelijk vastgesteld. In het goede blijvend-grasland komt het in grote hoeveelheden voor en bij inzaai van nieuw grasland overheerst het in de gebruikte mengsels. Hetzelfde geldt voor de omringende landen als Engeland, België en delen van Duitsland.

Dat wil niet zeggen, dat er ten aanzien van de eigenschappen van deze grassoort geen wensen meer worden gekoesterd of geen problemen meer zouden bestaan. Integendeel, juist omdat dit bestanddeel zo'n voornamelijk rol speelt, is er alle aanleiding het gedrag en de mogelijkheden ervan nauwkeurig te leren kennen.

Wanneer er gesproken wordt over *hoeveelheid* en *hoedanigheid* van de grasland- produktie, kan men het probleem verengen door de hoeveelheid en hoedanigheid van de Engels raaigrasproduktie te bestuderen. Deze is dan een der hoofdcomponenten waardoor de totaliteit wel niet wordt bepaald, maar toch zeer belangrijk wordt beïnvloed.

Gedachtig de spreuk '*non omnes possumus omnia*', beperkt deze studie zich tot de *hoedanigheid* van het Engels raaigras en dan nog tot één factor daarvan: *het eiwit*.

Het eiwit. De kwaliteit van het gras moet worden gemeten naar het doel, waarvoor het wordt gebruikt en dat is de veevoeding. Het kan vers worden gevoederd of geconserveerd, maar een andere maatstaf dan de voederwaarde is er niet.

Die voederwaarde nu wordt weer door verschillende factoren bepaald: door de hoeveelheid water in het voer, de droge-stof, de samenstelling hiervan (ruw-eiwit, ruwe celstof, overige koolhydraten, vet, asbestanddelen), de verteerbaarheid van deze bestanddelen, e.d.

Zonder in het minst te willen suggereren dat een van deze grootheden als component van het voeder minder belangrijk is dan het eiwit, werd ter wille van de noodzakelijke beperking en ter wille van de aantrekkelijkheid uit anderen hoofde het eiwit bestudeerd.

Over de rol van het eiwit in de veevoeding bestaat een omvangrijke literatuur. Zowel voor het groeiend als voor het volwassen individu is eiwit een noodzakelijk bestanddeel, dat dus in het voedsel aanwezig moet zijn. Juist omdat het zo essentieel is, is het voorkomen van eiwitovermaat en eiwittekort even noodzakelijk als wenselijk. Het licht van de publiciteit valt vele malen op het eiwit. In tijden van maatschappelijke nood en ontreddeering (oorlog) valt de nadruk op de eiwittekorten bij mens en dier en op alles wat gedaan kan worden om deze op te heffen; in tijden van welvaart en overconsumptie op de eiwitovermaat en de verkwisting die met dit, vaak dure, bestanddeel wordt bedreven.

Zo dikwijls wordt de eiwitpositie belicht, dat er in de literatuur reactie-geluiden worden vernomen, die er op wijzen dat er ook nog andere bestanddelen in het voedsel om regulering vragen.

Het ruw-eiwitbestanddeel in het voedsel, en in het gras, is aan grote veranderingen onderhevig; niet zozeer wat betreft de samenstellende aminozuren als wel wat betreft de hoeveelheid. Er zijn uit literatuur en praktijk heel wat voorbeelden bekend van factoren die de hoeveelheid beïnvloeden: vochttoevoer, belichting, plantafstand, bemesting, enz., alsook van interne fysiologische processen, van veroudering en fase-verschuiving bijv., die hetzelfde effect hebben. Het onderscheid echter tussen het aandeel, dat voor rekening komt van milieufactoren en het aandeel dat fysiologisch of genetisch wordt bepaald, valt niet steeds gemakkelijk aan te geven. Vele van de bestudeerde verschijnselen immers zijn waargenomen aan gemengd weidegras óf, wanneer één grassoort als object gekozen is, aan populaties van genotypisch verschillende planten.

Daar zowel teveel als te weinig eiwit bezwaren veroorzaakt, is het van belang de variatie zowel fenotypisch als genotypisch beter te kennen. Uit het gezichtspunt van onderzoek-techniek is het belangrijk dat de bepaling van ruw-eiwit eenvoudig is. De door de Kjeldahl-bepaling geanalyseerde hoeveelheid stikstof, vermenigvuldigd met 6,25, geeft deze hoeveelheid ruw-eiwit op eenvoudige wijze aan.

Bij een groot aantal ruwvoedermiddelen, waaronder ook gras, is het mogelijk gebleken om het bij dierproeven gevonden gehalte aan voedernorm ruweiwit af te leiden uit het zó geanalyseerde ruw-eiwitgehalte door middel van regressie-vergelijkingen.

Daar ruw-eiwit echter bestaat uit werkelijk eiwit, amiden en anorganische stikstof zou zuiver-eiwit voor veevoederdoeleinden een betere maatstaf kunnen zijn.

Bij vele onderzoekingen is echter vastgesteld dat de verhouding tussen ruw-eiwit en zuiver-eiwit vrij constant is. Ook bij eigen onderzoek werd een hoge correlatie aangetroffen (zie 4.3).

De bepaling van zuiver-eiwit is overigens ook eenvoudig, wanneer aan de Kjeldahl-analyse een precipitatie met koperhydroxide vooraf gaat.

Wanneer men bij zijn onderzoek grote aantallen monsters moet onderzoeken bij betrekkelijk kleine objecten, zoals dat voorkomt bij praktijkproeven en bij de veredeling, is het dus prettig met eiwitanalyses te werken, omdat de Kjeldahlmethode geschikt is voor massaonderzoek en in kleine monsters uitvoerbaar is.

Het gehalte. De titel van dit onderzoek betreft het ruw-eiwitgehalte in Engels raaigras. Het gehalte immers is het gebruikelijke uitdrukkingmiddel voor een bepaalde component in een voedingsmiddel en dus ook in gras. Het gehalte wordt voorts vaak als kwaliteitskenmerk beschouwd. Een hoger gehalte van een waardevolle stof wordt op prijs gesteld, wanneer het om het verkrijgen van die stof begonnen is. In die zin menen we dan ook het ruw-eiwitgehalte in Engels raaigras te mogen hanteren als kwaliteitskenmerk, tenminste wanneer we ons volgens onze opzet voorlopig tot de hoedanigheid willen beperken.

Er moet hierbij echter wel worden opgemerkt, dat een hoog gehalte op zichzelf bij gebruik in een menu of rantsoen niet altijd gewenst is, ja, dat in de meeste gevallen het hoge gehalte versneden moet worden door bijmenging van andere bestanddelen. Dat neemt echter niet weg dat de hoge concentratie dan meer mogelijkheden geeft dan de lage. Versnijden met andere stoffen of vulstoffen is meestal eenvoudiger dan het toevoegen van noodzakelijke bestanddelen.

Vaak wordt de fout gemaakt dat te weinig op gehalte wordt gelet en teveel op totale opbrengst per eenheid van oppervlakte. Ervan uitgaande dat men een bepaald bestanddeel wenst, komt men uit een oogpunt van kwaliteitsvoeding geen stap verder; eerder gaat men erop achteruit, wanneer de aanwinst wordt verkregen, verpakt in een nog ruimere hoeveelheid vulstof, waardoor het gehalte daalt. Anderzijds is gehalteverhoging, wanneer daarbij de totale produktie per eenheid van oppervlakte daalt, evenmin een voordeel.

We weten dus wel dat, al wordt het gehalte als kwaliteitskenmerk gebruikt, dit relatief moet worden gezien, afhankelijk van het doel dat voor ogen staat.

Juist omdat het gehalte als waarderingsmaatstaf en als bepalingsfactor zo gemakkelijk gebruikt wordt, bestaat er een groot gevaar dat het gehalte gaat optreden als een zelfstandige grootheid en niet meer als de relatie, als het quotiënt, dat het in werkelijkheid is.

Het is dus in wezen de resultante van twee samenspelende grootheden; bij het eiwitgehalte met name: de totale hoeveelheid eiwit en de totale hoeveelheid verse- of droge-stof. Deze eenvoudige rekeneenheid markeert een op zichzelf genomen gecompliceerd fysiologisch gegeven en het zal ons niet mogen verbazen wanneer de variatie en de vererving van het eiwitgehalte als genetische karakteristieken minder simpel verlopen dan bij oppervlakkige hantering van het begrip zou kunnen worden gedacht.

Veranderingen in het gehalte. Veranderingen van zowel teller als noemer kunnen het gehalte aanmerkelijk beïnvloeden, ook al is de noemerwaarde doorgaans vele malen groter dan die van de teller.

Verandering van het gehalte kan geschieden door exogene factoren, door invloeden van buiten, van milieu en van cultuur; eveneens door endogene factoren, door veroudering en fase-verschillen, maar ook door verandering van de eigen aard door middel van selectie of veredeling.

Zolang men chemische analyses verricht aan gras en dat is al ongeveer honderd jaar

het geval, heeft men ervaren dat tal van milieufactoren het gehalte veranderen. Daarover kunnen in de literatuur tal van mededelingen worden gevonden.

Minder studie, zij het nog vrij veel, is verricht over de invloed van de endogene factoren zoals veroudering en verschillen van fase.

Slechts zeer weinig is bekend van de zuiver genetische verschillen die worden overgedragen op de nakomelingschap. Daarom is dit aspect in de studie betrokken.

Het is duidelijk dat het ruw-eiwitgehalte zich in de plant bij verandering niet autonoom gedraagt. Alleen al doordat het een rekeneenheid is, betrokken op het totaal der samenstellende delen in de plant, moet verandering van het eiwitgehalte, door welke exogene of endogene omstandigheden dan ook, verandering in de gehalten der overige componenten veroorzaken.

Dat geldt natuurlijk eveneens voor genetische verschillen in eiwitgehalte.

Maar ook fysiologisch gezien is het duidelijk dat verandering in stikstofopname of -omzetting tevens veranderingen bij de andere componenten in de plant moet veroorzaken; zo kan de samenhang tussen eiwitgehalte en andere eigenschappen als probleem worden gezien, vooral wanneer we genetische verschillen in eiwitgehalten signaleren.

In de loop van deze studie zal duidelijk worden dat men in het fysiologisch fijn afgestemde uurwerk dat een plant is, niet straffeloos één der samenwerkende delen buiten proporties kan vergroten.

Daarom is de veredeling op hoger gehalte niet een doelwit dat zonder meer tot een gunstig resultaat voert.

Toch is het waardevol variabiliteit te scheppen in de inwendige structuur, omdat daardoor zichtbare variabiliteit in het gewas opgeroepen kan worden; en deze kan als nieuw uitgangspunt voor selectie dienst doen.

Ook wordt hierdoor het inzicht vergroot in de waarde van de uiterlijke verschijningsvorm, wanneer deze gecorreleerd is aan bepaalde inwendige kwaliteiten. Zo worden in de literatuur nog wel eens van dergelijke toetskenmerken aangetroffen, zoals bijv. de donkerder kleur van planten met een hoger eiwitgehalte; het is wenselijk de waarde hiervan nader te onderzoeken.

2 De variatie in het ruw-eiwitgehalte ten gevolge van uitwendige omstandigheden

2.1 Historische ontwikkeling

De invloed van uitwendige omstandigheden op de eiwithuishouding van de grasplant kon pas de aandacht krijgen toen men zich meer wetenschappelijk met de weidecultuur ging bezig houden.

Dat was in het begin van de twintigste eeuw. De kunstmest begon betekenis te krijgen en het vraagstuk van de bemesting van weiden en hooilanden vroeg om een oplossing. Historisch was de invloed die het ruw-eiwitgehalte ondergaat van een stikstofbemesting het eerst aan de orde. Andere factoren, die gelegen zijn in het milieu of in de aanleg van de plant zelf, maar die geïnduceerd worden door het milieu en die een even grote invloed hebben, vielen voorlopig buiten de aandacht.

Het ligt natuurlijk voor de hand verband te zoeken tussen het eiwitgehalte en de stikstofvoorziening. Daarom heeft de stikstofbemesting de belangstelling voor het ruw-eiwitgehalte sterk verhoogd.

Het is op zichzelf interessant deze belangstelling te volgen in de oudere Nederlandse literatuur, zoals bij REINDERS (28), die in 1901 zich nog slechts vragenderwijs over deze kwestie uitliet, of bij TEN RODENGATE MARISSSEN (29), die zich in 1919 op grond van zijn praktische inzichten iets positiever uitsprak. Deze laatste vond zijn richtlijnen vooral in de Duitse literatuur o.a. bij WAGNER (36). KRAMER (18) kreeg oog voor de invloed van de bemesting op de kwalitatieve veranderingen in de graszode.

Uit de Hohenheimer Wiesenversuche werd door VON WRANGELL (37) bewezen, dat door de stikstofbemesting en de daarmee samenhangende vroegere maaidatum, de opbrengst en het ruw-eiwitgehalte van een weide buitengewoon kunnen stijgen.

Bij de bovenaangehaalde proeven nu is het verjongend effect van de stikstofbemesting benadrukt en daarmee de invloed op het gehalte.

We treffen hier dus, zij het nog niet duidelijk afzonderlijk geanalyseerd, de verandering van het eiwitgehalte aan als gevolg van stikstofbemesting en ontwikkelingsfase samen.

Zeer positief wordt door ZORN (39) medegedeeld dat de vraag of door stikstofbemesting het eiwitgehalte van het hooi kan worden verhoogd, bevestigend moet worden beantwoord. Dit antwoord is nog weinig genuanceerd, omdat niet op de vraag wordt ingegaan of dit hoger gehalte in feite meer rechtstreeks wordt veroorzaakt door het jongere stadium waarin het gras bij het maaien verkeerde of door de stikstofbemesting zelf.

ZORN (39) deelt intussen nog mee dat volgens de chemische analyse (nog niet

volgens stofwisselingsproeven bij dieren) het eiwitgehalte in stikstofrijk hooi verteerbaarder schijnt dan dat in niet met stikstof bemest hooi. Het blijkt dus ook mogelijk om het gehalte aan waardevol verteerbaar eiwit te verhogen.

Echt verhelderend heeft het proefschrift van VAN DAALEN (8) gewerkt, dat in 1928 verscheen en dat in eenvoudige bewoordingen enkele fundamentele verschijnselen, die voorheen onvoldoende uit elkaar werden gehouden, in het licht stelde. Als elementen, die voor een systematische bespreking over de invloed van de uitwendige omstandigheden op de variatie in eiwitgehalte nodig zijn, worden door VAN DAALEN onderscheiden:

1. de vervroeging van het gras door stikstofbemesting
2. de daling van het eiwitgehalte bij veroudering van het gras
3. de afhankelijkheid van het eiwitgehalte van de stikstofbemesting, maar niet onder alle opzichten in positieve zin.

Bij VAN DAALEN wordt ook de aandacht gevestigd op het werk van Rothamsted, waardoor de eenzijdige invloed van Duitse onderzoeken wordt doorbroken. Terwijl tot 1921 WAGNER (36) stikstofbemesting van weiden afried, dacht men daar in Rothamsted totaal anders over.

Na de oorlog 1914-1918 zijn de Duitse inzichten langzamerhand gewijzigd o.a. tengevolge van de prijsdaling van de stikstofmeststoffen en de prijsstijging van het voeder.

Maar uit VAN DAALEN's proeven blijkt zeer duidelijk, dat de voornaamste oorzaak voor de onderwaardering van de stikstofbemesting de onjuiste maaitijd was. Hij schrijft: „De percelen welke met veel stikstof zijn bemest, zijn aanmerkelijk vroeger geschikt om te maaien dan andere.

Bij onze proeven werd steeds alles gelijk gemaaid. Het gevolg is dat de zwaar bemeste veldjes te lang stonden. Het ondergras wordt geel, het gras strijkt en onkruiden en klavers krijgen de gelegenheid om zich te ontwikkelen. Feitelijk zou men dus de veldjes, die veel stikstof ontvangen eerder moeten maaien.” Dit is dus de eerste belangrijke conclusie, nl. het vervroegend effect van stikstofbemesting.

Zijn tweede fundamentele conclusie luidt: „In elk geval blijkt dat vroeg maaien een product geeft, dat rijk is aan aschbestanddelen en ruw eiwit. Bij later maaien neemt het eiwitgehalte af.”

In de derde plaats vinden we zeer helder geformuleerde inzichten over de invloed van de stikstofbemesting op het gehalte. Deze inzichten zijn veel genuanceerder dan de eerder aangehaalde Duitse meningen en zijn in belangrijke mate beïnvloed door de opvattingen van de Engelse onderzoeker Russell.

Volgens VAN DAALEN werd in Weihenstephan in sommige gevallen een verlaging van het stikstofgehalte door middelmatige en zware stikstofbemestingen geconstateerd; in andere gevallen daarentegen een verhoging van het gehalte aan ruw-eiwit. Zelf concludeert hij: „Van eene regelmatige daling of stijging van het stikstofgehalte van het product door stikstofbemesting is bij deze proeven geen sprake. Er zijn meer gevallen, waarin eene matige hoeveelheid stikstofmest het stikstofgehalte deed dalen dan omgekeerd.”

De verklaring zocht hij in de goede richting. Het gaat er om of de in verhoogde mate

toegevoerde stikstof benut kan worden of niet. Hij vraagt in deze, nog min of meer opzienbarende gevallen, naar het inzicht van Russell, die meent dat een verhoging van het stikstofgehalte erop wijst, dat andere groeivoorwaarden in het minimum verkeren, wat gewoonlijk gepaard gaat met een donkere kleur in het gras. Dit komt dus hierop neer, dat wanneer een vergrote harmonische toevoer van alle voedingsstoffen (waaronder dus ook stikstof) naar het gras plaats heeft, deze voedingsstoffen worden geassimileerd en tot produktie aanleiding geven, waardoor het gehalte niet hoeft te stijgen; maar dat bij groeiremmingen een overcompleet van een bepaalde component (bijvoorbeeld stikstof) optreedt, waardoor het gehalte stijgen kan. Gehaltestijging kan dus fysiologisch, althans onder bepaalde omstandigheden, een zeer ongewenst verschijnsel worden.

Deze inzichten die door later onderzoek werden bevestigd, zijn zeer vruchtbaar gebleken en zullen ook voor de verklaringen van fenotypisch en genotypisch hoog of laag eiwitgehalte van grote waarde blijken.

Na VAN DAALEN is het werk van de verschillende onderzoekers nu heel duidelijk te rubriceren en wel naar gelang zij zich bezig houden met de verandering van het eiwitgehalte in het gras onder invloed van veroudering (waarbij al spoedig naar voren kwam dat deze veroudering sprongsgewijze gaat, waarbij de sprongen door uitwendige omstandigheden worden geïnduceerd) of met de verandering van het eiwitgehalte onder invloed van standplaatsverschillen (waarvan de bemesting een bijzonder geval vormt).

2.2 Invloed van de veroudering van het gras op het ruw-eiwitgehalte

Men kan erover van mening verschillen of de aspecten van de veroudering besproken moeten worden onder het hoofd: uitwendige omstandigheden. Inderdaad is het verouderingsproces een endogeen proces dat inherent is aan het leven, maar omdat de reacties die daarbij optreden in hoge mate geïnduceerd worden door invloeden van buiten geven we er de voorkeur aan ze hier onder te brengen.

Wanneer veroudering opgevat wordt in de meest normale betekenis van het woord is het meer dan een voortduren van bestaan alleen. De betekenis sluit, ook in het normale spraakgebruik, een fysiologische verandering in. Wanneer een plant, in casu een grasplant, te beginnen met het kiemplantstadium, ouder wordt, vormt zij eerst een knopenstapel. De blad-stengel-verhouding ligt zeer zwaar ten gunste van het blad. Later ontwikkelen zich in de okselknoppen de aartjes-primordia; de stengel-leden gaan strekken, de blad-stengel-verhouding verschuift ten gunste van de stengel en de bloeistengels worden zichtbaar. Nog later treedt bloei en zaadrijping op; de plant sterft af of gaat het volgend jaar in met een rozet van veel blad en weinig stengel.

Dit hele proces treedt in het groot op in onze graslanden en spoedig stootte het graslandonderzoek op het feit, dat dit proces zelden natuurlijk verloopt maar vele malen wordt gestoord door het vee dat graast en door de mens, die het gras maait.

Detailonderzoek aan afzonderlijke planten heeft later geleerd dat ook klimaatsfactoren, zoals temperatuur en licht, van invloed zijn en kunstmatig gehanteerd, zelfs het gehele verouderingsproces kunnen ontdoen van fysiologische veroudering en kunnen terugbrengen tot een louter voortbestaan in de tijd.

Bij zijn voordrachten over moderne weidebouw in 1936 heeft FRANKENA (12) de wetenschap van die tijd op overzichtelijke wijze samengevat. Op duidelijke wijze toont hij aan hoe het percentage verteerbaar ruw-eiwit in een weiland voortdurend daalt naarmate de opbrengst stijgt. Hij wijst erop dat men rekening moet houden met een snelle teruggang van het eiwitgehalte in gras bij later maaien.

Hij zegt: „Men weet thans dat het ontwikkelingsstadium van het gras een doorslaggevende invloed op de chemische samenstelling heeft. Vergelijkt men twee grassen in een ongelijk groeistadium, dan spreekt het haast vanzelf, dat men verschil aantreft, dat echter geenszins als een soortverschil moet worden opgevat. Een voldoende inzicht krijgt men alleen, wanneer de grassen in verschillende groeistadia worden vergeleken. Ook doet zich hierbij de moeilijkheid voor dat de grassen in het grasland op een andere wijze groeien dan ze afzonderlijk uitgezaaid, zullen doen. Men moet dus op de volgende wijze te werk gaan. Met regelmatige tussenpozen neemt men uit een perceel grasmonsters, waarvan men de meest voorkomende grassen uitzoekt. Deze afzonderlijk uitgezochte soorten dienen voor nader onderzoek. Men kan dan de verschillende bestanddelen over het gehele traject vergelijken en vindt op deze wijze inderdaad verschillen, die met de aard van de soort samenvallen.”

FRANKENA zet hier dus al de stap, waarbij men overgaat van de studie van het gemengde weidebestand naar de studie van het gedrag der afzonderlijke soorten. En hij waarschuwt ertegen om te gemakkelijk conclusies te trekken uit een onderzoek, dat zich slechts tot een enkele periode beperkt.

Ook over het verband tussen ruw-eiwit en werkelijk-eiwit bij veroudering doet FRANKENA mededelingen. Men kan in zeer jong gras verwachten, dat het gehalte aan werkelijk-eiwit lager is dan op grond van ruw-eiwitgehalte vermoed kan worden. Bij de daar voorkomende zeer hoge gehalten wordt het werkelijk-eiwitgehalte naar verhouding kleiner; dit sluit dus in, dat het aandeel aan amiden of nitraat bij de zeer hoge eiwitgehalten in een jong groeistadium groter is.

Wanneer het gras wat ouder wordt, vindt men vaak een zeer streng verband tussen het werkelijk- en het ruw-eiwit.

Bij VAN ITALLIE (15) vindt men verschillende gegevens over de chemische samenstelling van gras in verschillende stadia van de groei. Uit een door hem geproduceerde grafische voorstelling kan worden afgeleid dat het percentage ruw-eiwit in de drogestof, in het bijzonder tengevolge van doorschieten vooral bij bemeste objecten, binnen enkele dagen kan dalen van ongeveer 18% tot 12%.

Later heeft MULDER (25) eveneens op overtuigende wijze aangetoond dat op stikstofbemestingsniveaus van 0 tot 420 kg zuiver stikstof per ha zonder enige uitzondering het eiwitgehalte daalt wanneer het gras ouder wordt (zie het overzicht in 2.4). Nu is deze wetenschap gemeengoed geworden voor alle boeren die grasland in exploitatie hebben.

Steeds meer onderzoek is verricht over de veranderingen in de gehalten aan stikstof bij het ouder worden. Uitvoerige literatuur-overzichten kunnen worden gevonden bij VAN BURG (5).

Het blijkt dat de belangstelling vooral gaat in de richting van het samenspel van het eiwitgehalte met het gehalte aan andere bestanddelen, vooral aan koolhydraten, omdat tussen de beide componenten eiwit en koolhydraat een negatieve correlatie wordt aangetroffen. Deze vindt men niet alleen over de gehele grasplant, maar zij wordt ook aangetroffen in de verschillende delen daarvan. Zo neemt het koolhydraadgehalte van top naar basis toe en het eiwitgehalte van top naar basis af (ALBERDA, 1).

Juist bij dit soort onderzoek, zoals dit o.a. door ALBERDA in de laatste jaren is ontwikkeld, wordt een sluier opgelicht van het fysiologisch mechanisme dat in de grasplant werkt, wanneer de veroudering telkens door mens of dier, zoals door maaien of beweiden, wordt gestoord. Direct na ingreep treedt een stijging van het eiwitgehalte op, gevolgd door een daling, zodat na enkele weken het uitgangsperscentage weer bereikt is (ALBERDA, 1). Hierdoor moet er rekening mee worden gehouden, dat het verloop van het eiwitgehalte in een regelmatig beweid of gehooïd grasland geheel anders is dan bij vrij uitgroeiende spruiten (ALBERDA, 2). Bij het in deze studie beschreven onderzoek zal er alle aanleiding zijn op de conclusies van ALBERDA nader in te gaan.

We zijn thans gekomen tot het meest recente onderzoek waarbij de relatie veroudering-chemische samenstelling steeds meer het karakter krijgt van een fysiologisch model; waarbij de fysiologische grenzen een barrière stellen aan de theoretische wenselijkheden betreffende een verschuiving van bepaalde componenten in de erfelijke constitutie.

De veroudering der plant, ook wanneer deze niet abrupt door menselijk ingrijpen wordt gestoord, verloopt echter niet continu, maar schoksgewijs. Hier moet de naam VAN DE SANDE BAKHUYZEN worden genoemd (31). Hij vond dat bij tarwe de lijn, die de samenhang tussen opgenomen stikstof en droge-stof weergeeft, bij vorming van het aarprimordium een scherpe knik vertoont; de plant gaat dan dus over van de vegetatieve jeugdfase in de generatieve fase.

Dit betekent dat het stikstof(eiwit)-gehalte in de droge-stof sprongsgewijze verandert. VAN DOBBEN heeft deze veranderingen ook bij de tarweplant bestudeerd (9). Hij onderzocht eveneens de relatie tussen gewichtstoename en stikstofopneming en vond een evenredigheid tussen beide. De plant heeft eerst behalve een constant stikstofgehalte in het verse materiaal ook een constant stikstofgehalte in de droge-stof. Omstreeks de 29ste dag vertoont de samenhang tussen stikstof en droge-stof een knik, in die zin dat plotseling de hoeveelheid droge-stof die werd gevormd per opgenomen milligram stikstof stijgt. Als gevolg daarvan gaat het gehalte aan stikstof langzaam dalen. De aanmaak van droge-stof wordt relatief versneld. Dit nu is de knik van VAN DE SANDE BAKHUYZEN. Het gehalte aan stikstof in het totale verse materiaal verandert echter niet na de overgang van de vegetatieve naar de generatieve fase; althans niet tot het

begin van de rijping en bij een optimale stikstofvoorziening (VAN DOBBEN, 10).

Deze fase-overgangen die reeds optreden in een stadium, waarin de aanleg van de aartjes-primordia met het blote oog nog niet zichtbaar zijn, kunnen de onderzoeker die zich met de eiwitgehalten bezig houdt, wanneer hij niet tevoren gewaarschuwd is, verrassen.

Wanneer hij zijn gehalten betreft op droge-stof en op verse-stof kunnen eventuele afwijkingen van zijn conclusies hem echter aanwijzingen geven dat in zijn materiaal de overgang van vegetatieve fase naar generatieve fase reeds is begonnen.

Ook deze overgangen worden door uitwendige omstandigheden beïnvloed en eveneens de daarmee samenhangende gehalteverschillen. Immers VAN DOBBEN stelt uitdrukkelijk dat de constante verhouding tussen opgenomen stikstof en vers gewicht slechts bij optimaal aanbod van stikstof optreedt (10).

Nu is bij de voedergrassen dit alles niet zo uitvoerig onderzocht als bij granen, maar de grote verwantschap, alsmede het aantreffen van dezelfde verschijnselen bij tal van andere plantensoorten maken het toch zeer waarschijnlijk dat grassen aan dezelfde wetten onderhevig zijn. Wat men er althans van opgemerkt heeft, veelal tijdens praktijkwaarnemingen, is er op geen enkele wijze mee in strijd. Wel echter mag men aannemen dat eventuele knikken bij de veroudering niet zo acuut zullen verlopen als bij tarwe, omdat er bij dezelfde grasplant altijd een grote spreiding is in de schiettijd van de verschillende spruiten.

Bovendien worden er bij gras voortdurend nieuwe spruiten gevormd en wordt tarwe rijp geogst en gras niet. Als het om *graszaad* zou gaan, zouden we een treffender overeenkomst mogen verwachten.

2.3 Invloed van de standplaatsfactoren op het ruw-eiwitgehalte

Tot de standplaats of het milieu mogen alle factoren worden gerekend, die bij de uitwendige omstandigheden behoren, nl. temperatuur, licht, water, vruchtbaarheid van het voedend substraat, afstand van de plant tot de buurplanten, enz.

SCHWANITZ en SCHWARZE (33) hebben in 1937 een uitgebreid literatuuroverzicht samengesteld om uit talrijke onderzoeken van uiteenlopend gehalte en van verschillende draagwijdte ten behoeve van allerlei doeleinden een regel op te stellen voor de veredeling op hogere eiwitgehalten en eiwitopbrengsten bij granen.

Uiteindelijk was het hun doel te komen tot de vaststelling van de voorwaarden, waarop hoge opbrengst en hoog eiwitgehalte fysiologisch te verenigen zijn.

Uit hun werk komt een richtlijn te voorschijn voor het tegelijk veredelen op hoog eiwitgehalte en hoge eiwitopbrengst. Deze richtlijn wordt als basis voor de betreffende bespreking teruggevonden in het *Handbuch der Pflanzenzüchtung* (34, p. 339). Hierbij moet uitdrukkelijk worden vermeld, dat de richtlijn is bedoeld voor granen en nergens de pretentie heeft ook voor grassen te gelden. Bij granen immers vormt de korrel het waardebestanddeel van de oogst, terwijl bij grassen de korrel vrijwel geen

betekenis voor de oogst heeft, maar deze gevormd wordt door stengels en bladeren.

Toch is het de moeite waard om deze richtlijn voor grassen te toetsen, omdat zij een algemeen fysiologische ondergrond heeft en omdat verder op dit terrein nauwelijks iets dergelijks te vinden is.

De literatuur van beide auteurs heeft naast vele verdiensten wel het bezwaar van het eclecticisme, met name dat de eenheid van conceptie door het weergeven van gevarieerde meningen in het gedrang komt.

Voorts komen er een aantal milieufactoren naar voren, die onder onze omstandigheden geen enkele rol spelen en daarom voor het doel van deze studie nauwelijks interessant of veel te globaal zijn. Zo bijvoorbeeld, waar vermeld wordt dat een slechte watervoorziening een laag eiwitgehalte veroorzaakt.

Modern onderzoek geeft hiervan een veel gedifferentieerder indruk.

VAN DOBBEN schrijft in 1961 (9): „De protoplasmahoeveelheid is onafhankelijk van de ontwikkelingsfase. Milieufactoren, zoals de vochtvoorziening, schijnen die hoeveelheid weinig te beïnvloeden. Zo zou kunnen worden verklaard dat bij de remming van de groei door droogte het stikstofgehalte zowel voor de droge als de verse massa veel hoger komt te liggen.”

Uit een grafiek van MAKKINK (22), berekend naar eerder gepubliceerde gegevens van Dijkshoorn, blijkt ook dat het percentage stikstof in de droge-stof toeneemt met een afnemend percentage bodemvocht.

In MAKKINK's eigen onderzoek met tensimeters wordt echter aangetoond dat het stikstofgehalte bij verschillende sneden niet gelijk reageert op de vochttoestand van de grond; soms daalt het, vaak echter stijgt het ook en bij optimale vochtspanning stijgt het stikstofgehalte in het gras naarmate het seizoen verder gevorderd is. De variaties kunnen hierdoor wel uiteenlopen van 24 tot 15% eiwit in de droge-stof.

ALBERDA (3) vermeldt, dat er enige analogie is tussen het effect van hoge temperaturen en een hoge stikstofgift. Beide kunnen een snelle groei veroorzaken. Wanneer deze snelle groei aanleiding geeft tot een spoedig verbruik van de aangevoerde stikstof, zal het gehalte niet stijgen, zoals we bij de bespreking van het werk van VAN DAALLEN hebben gezien. Maar wanneer daarbij herhaald afsnijden voorkomt, waardoor de plant de koolhydraatvoorraad niet kan aanvullen, kunnen remmingen optreden, waardoor het gehalte wel stijgt.

Hieruit zien we hoe gecompliceerd het fysiologisch proces is en hoe weinig men eigenlijk aan algemene uitspraken heeft; een reden te meer dus ook om sceptisch te staan tegenover het schematische overzicht van SCHWANITZ en SCHWARZE (33).

Er is alle aanleiding om een bepaalde standplaatsfactor, namelijk de vruchtbaarheid van het voedend substraat en daarvan speciaal de stikstofoediening, afzonderlijk te bestuderen.

Apart vermeldenswaard voor proefveldwerk is de ervaring van BARBACKY (4), die over de variabiliteit van het eiwitgehalte in gerst ten gevolge van kleine standplaatsverschillen zegt: „A considerable variability in the nitrogen content, according to the situation of the plot is evident from these results, as well as often quite considerable

differences in the nitrogen content of grain, originating from plots located quite close to each other.”

2.4 Invloed van de stikstofvoeding op het ruw-eiwitgehalte

Zoals reeds verschillende malen werd gezegd, is er bij talrijke onderzoeken geen eenvoudig en positief verband aangetoond tussen de stikstofvoeding en het eiwitgehalte in het gras.

VAN DAALEN, geleid door de inzichten van Russell, zocht de verklaring reeds in de goede richting, namelijk dat de gehalteverhoging, die dus in wezen een ophoping betekent, een aanwijzing is voor een fysiologische remming.

Toch is er over een ruim traject wel degelijk een positief verband, maar dat werd eerst gevonden toen onderzoek werd verricht naar de mogelijkheid van zeer hoge stikstofbemesting. Zeer instructief hiervoor is tabel 1, ontleend aan MULDER (25).

Wanneer men deze cijfers grafisch uitzet, blijkt dat bij iedere maaidatum bij de eerste N-giften het eiwitgehalte nauwelijks verhoogd wordt, daarna stijgt het vrij snel, om na een bepaalde hoogte weer ongeveer constant te blijven.

De gift waarbij de stijging optreedt is hoger naarmate de maaidatum later valt. Op een bepaald moment gaat de plant sterker groeien en dan daalt het gehalte aan eiwit.

Tabel 1. Het verband tussen de stikstofvoeding en het eiwitgehalte bij verschillende maaidata (MULDER, 25)

Stikstofvoeding <i>N fertilisation</i> (in kg/ha)	Ruw-eiwitgehalte (in % van de droge-stof) bij de maaidatum <i>crude protein content (in % of the dry matter) at the cutting date</i>		
	27 mei/ <i>May</i>	4 juni/ <i>June</i>	16 juni/ <i>June</i>
0	16,6	13,6	12,0
20	15,9	—	—
30	—	14,5	—
40	16,2	—	—
60	16,7	15,2	11,8
80	18,3	—	—
90	—	18,4	—
100	17,8	—	—
120	19,9	14,9	12,6
140	20,6	—	—
150	—	16,8	—
180	24,8	18,1	14,8
210	—	19,0	—
240	22,2	20,4	15,6
300	27,6	21,4	18,2
360	27,6	23,3	19,6
420	27,8	24,1	18,5

Table 1. The protein content at three cutting dates related to the N fertilisation (MULDER, 25)

De vraag, onder welke omstandigheden de stikstofaanwending het eiwitgehalte van het gras nu verhogen kan, werd zeer concreet gesteld door FRANKENA (13) en bevredigend beantwoord.

Hij stelt duidelijk dat uit verschillende onderzoeken voldoende is komen vast te staan, dat de stikstofbemesting op gras in de eerste plaats betekenis heeft voor het verkrijgen van een grotere opbrengst. Het streven naar een betere kwaliteit van het hooi gaf aanleiding tot vroeger maaien, omdat gebleken is dat de kwaliteit van het hooi grotendeels beheerst wordt door het groeistadium waarop wordt gemaaid.

De verhoogde kwaliteit van het hooi zag FRANKENA in een hoger eiwitgehalte.

In het voetspoor van VAN DAALEN stelt hij nu dat, wil men het eiwitgehalte in het hooi doen stijgen, er wel stikstof moet worden opgenomen maar dat het gras er niet merkbaar van moet groeien.

Hij diende daartoe zeer laat stikstof toe, nl. op 12 en 13 mei en maaide dit gras weer op 24 mei, of hij gaf de stikstof op 24 mei en maaide op 8 of 9 juni.

Uit zijn gegevens blijkt nu dat de late stikstoftoediening het eiwitgehalte verhoogt t.o.v. geen stikstof en ook t.o.v. eerder stikstof, in even grote gift (60 kg). Vroege stikstoftoediening geeft nauwelijks of geen verhoging van gehalte maar wel veel meer opbrengst. Late toediening geeft enige opbrengstverhoging. Het is dus goed te constateren, dat men de hoge gehalten door stikstoftoediening bereikt, wanneer men het gras nog niet de gelegenheid heeft gegeven deze te benutten voor groei. Zodra het gras erdoor gaat groeien, zakt het gehalte weer tot normale proporties terug.

De vraag, die nu naar voren komt en die FRANKENA natuurlijk ook opwerpt, is of dit hoge gehalte nu wel werkelijk eiwit is, of althans uit zodanige bouwstoffen bestaat dat het uit voedingsoogpunt waardevol is.

Uit het vervolg van het onderzoek blijkt dat het aandeel werkelijk-eiwit betrokken op ruw-eiwit in het algemeen geen verlaging ondergaat door de late aanwending van de stikstof. Meestal vindt hij dat dit ongeveer 80 % bedraagt en dat 20 % bestaat uit amiden, ammoniak of nitraat. Het nitraatgehalte kan bezwaren opleveren, maar dit blijkt bij zijn proeven zelfs bij late aanwending zo gering, dat daaraan waarschijnlijk geen aandacht geschonken behoeft te worden.

Toch blijkt uit latere literatuur, zoals bij VAN BURG (5), dat in het algemeen wel gesteld kan worden, dat door factoren die de groei remmen, de nitraataccumulatie bevordert wordt. Wij menen het hierbij te kunnen laten.

De hoofdverschijnselen, waardoor het eiwit-(of stikstof)gehalte in het gras wordt beïnvloed door de uitwendige omstandigheden, zijn wel ongeveer duidelijk, maar zonder alle omstandigheden te kennen zal het altijd zeer moeilijk blijven precies te voorspellen hoe het eiwitgehalte zich onder invloed van bepaalde maatregelen zal gedragen. Enige veranderingen in de bijkomende omstandigheden en het fysiologisch gedrag van de plant stelt de onderzoeker weer voor verrassingen.

Conclusies

Tengevolge van milieu-invloeden kunnen buitengewoon grote kwantitatieve verschillen in eiwitgehalte in de droge- en in de verse-stof ontstaan.

Het noemen van getallen is gevaarlijk, omdat deze nergens een algemene exacte waarde bezitten. Om een indruk te geven, kan men zeggen, dat relatieve verschillen van 50 % op verschillende hoogten van gemiddeld eiwitgehalte gemakkelijk kunnen voorkomen tengevolge van doorschieten, door veroudering, door droogte, door stikstoefoeding bij alle maaitijden, enz.

Fenotypisch bestaat er een negatieve correlatie tussen eiwit en koolhydraten.

De variabiliteit bij genetisch gelijke aanleg voor eiwitgehalte kan, zelfs op korte afstanden in een schijnbaar gelijkvormig milieu, zeer groot zijn.

3 De vererving van het ruw-eiwitgehalte in Engels raaigras

Over het zoeken naar de erfelijke verbetering van het ruw-eiwitgehalte, is meer theoretisch geschreven dan praktisch gewerkt. Aansporingen zijn er echter wel.

Zo lezen wij bij HERTZSCH (14), in de nieuwste uitgave van het *Handbuch der Pflanzenzüchtung* van 1959, dat verbeteringen van de voedergrassen wat betreft de eigenschappen als gehalten aan voedingsstoffen, bladrijksdom, vitaminegehalte, enz. geëntameerd kunnen worden.

Heel veel uitvoering is aan dergelijke plannen nog niet gegeven. In de literatuur vindt men schaarse gegevens; meestal heeft men naar analogie van proeven bij granen soortgelijke suggesties geponeerd voor voedergewassen.

Slechts twee onderzoekingen zijn ons bekend, een uit Wales en een uit België, de eerste van COOPER (6), de tweede van DE ROO, VAN HEE en HOFMAN (30). Zijdelings sluit een onderzoek van DE LOOSE (21) in België op het probleem aan. Later zullen deze gegevens ter sprake komen.

In ieder geval wordt in al deze pogingen het ruw-eiwitgehalte als een grootheid op zichzelf beschouwd. Een uitzondering moet worden gemaakt voor het eerder genoemde literatuuronderzoek van SCHWANITZ en SCHWARZE (33), die zich voor granen grondig verdiept hebben in de vraag, welke fysiologische en genetische grondslagen er gelden voor het kweken van produktieve en eiwitrijke rassen.

Alvorens de gegevens uit de literatuur te bespreken, is het wenselijk duidelijk voor ogen te houden dat de vererving van het ruw-eiwitgehalte in wezen de vererving van het vermogen moet zijn om onder bepaalde omstandigheden het fysiologisch systeem van aanvoer en verwerking van stikstof zó te laten verlopen dat als resultante een bepaald gehalte ontstaat. Daar verschillende processen dus tesamen deze resultante moeten opleveren, betekent dit dat de genetische aanleg, die aan ieder van deze processen ten grondslag ligt, misschien wel afzonderlijk vererft. Dat men dus te maken kan krijgen met de vererving van verschillende reactievermogens, die ieder voor zich verschillend kunnen reageren op een wijziging van de milieu-omstandigheden. Ten gevolge waarvan het tevoren helemaal niet vaststaat dat de resultantes, de gehalten van de vergelijkingsobjecten onder verschillende omstandigheden (ook al kiest men deze bij iedere vergelijking identiek) steeds verschillen zullen aanwijzen die zich in dezelfde richting manifesteren. De enorme variabiliteit van het ruw-eiwitgehalte, die we tevoren reeds signaleerden, waarschuwt voor deze mogelijkheid. Het is dus zeer de vraag of de vererving van het eiwitgehalte wel een eenvoudig antwoord, eensluidend voor verschillende omstandigheden, krijgen kan.

Het is de verdienste van de probleemstelling van SCHWANITZ en SCHWARZE, dat

daarbij naar een bepaald milieugegeven wordt gezocht, waarbij een hoge opbrengst en een hoog eiwitgehalte fysiologisch te verenigen zijn en dat dus voor dit milieu de vererving wordt vastgesteld. Zij leggen zich dus reeds tevoren op een bepaald milieu vast en maken de vraagstelling zinvoller. Hun studie heeft betrekking op granen en wanneer hun conclusies juist zijn, behoeven ze desondanks nog geen geldigheid te hebben voor voedergewassen. Intussen is het echter de moeite waard kennis te nemen van hun bevindingen. In hun inleiding (33) zeggen zij, dat de praktische vraag of onder bepaalde milieu-omstandigheden een hoge opbrengst en een hoog ruw-eiwitgehalte van de korreloogst te verenigen zijn, reeds vaker werd gesteld, maar meestal ontkennend werd beantwoord. Na hun uitvoerig literatuuronderzoek komen zij tot de volgende overweging: de mate waarin een plant de beschikbare stikstof in opbrengst omzet, bepaalt tevens het stikstof- (of eiwit)gehalte. Eerst wanneer de plant de stikstof niet meer gebruikt voor opbrengstverhoging, kan een verhoging van het ruw-eiwitgehalte optreden en dit omslagpunt wordt niet alleen bepaald door het milieu, maar ook door de genetische constitutie van de plant.

De gewenste combinatie van hoge opbrengst en hoog ruw-eiwitgehalte zou wel eens een gunstig extreem geval kunnen zijn in de groep planten, die bij een geringe stikstofvoeding reeds een hoge opbrengst leveren en de toegift in een hoger gehalte tot uitdrukking brengen.

Daarom concluderen zij dat een hoge opbrengst en een hoog ruw-eiwitgehalte zich slechts laten verenigen onder milieu-omstandigheden, die een hoge opbrengst begunstigen; dus bij optimale water- en voedseltoevoer.

Dit alles is zeer intelligent gedacht, maar omdat het meer het resultaat is van bespiegeling (zij het op grond van literatuurgegevens) dan van doelgericht onderzoek is het de vraag of dit alles klopt.

In het *Handbuch der Pflanzenzüchtung* geeft SCHWARZE (34) een fundamentele beschouwing over veredeling op eiwitopbrengst en eiwitgehalte. Het is niet nodig dit alles te herhalen. Hij baseert zich hier op het literatuuronderzoek dat hij samen met SCHWANITZ verrichtte.

Wanneer de genetische grondslagen voor het ruw-eiwitgehalte besproken worden, komt het klassieke voorbeeld naar voren van de proeven van Hopkins in Illinois die, gevolgd door Woodworth c.s., er in slaagde maislijnen te isoleren waarbij in 50 selectiegeneraties het eiwitgehalte van 10% tot 19% steeg, resp. tot 5% zakte. Uit deze proeven is door Frey berekend dat het eiwitgehalte door 22 genparen bepaald zou zijn, waarvan enige als hoofdgenen en de andere als modificatiegenen beschouwd zouden moeten worden.

Als zeer belangrijk moeten we de vermelding opvatten dat de eiwitrijke en eiwitarme maislijnen van Illinois ongeveer de helft minder opbrengen dan recente hybriden, en dat de eiwitrijke lijn ongeveer 20% minder eiwit produceert dan de hybriden met hun middelmatig eiwitgehalte.

Maar, zegt SCHWARZE, het gaat hier om proeven met een eenzijdige selectie op eiwitgehalte, waarbij geen aandacht werd geschonken aan opbrengst.

Dat is natuurlijk juist, maar er zal toch rekening mee moeten worden gehouden dat

er een fysiologische wet bestaat, die in zeer belangrijke mate voor dit resultaat verantwoordelijk is.

Het is verleidelijk de boven besproken uiteenzettingen, die vrijwel zonder uitzondering betrekking hebben op granen, toe te passen op grassen.

Bij granen echter, waar het gaat om de opbrengst aan zaadkorrels (in wezen reserveorganen), grijpt een verschuiving in gehalte mogelijk niet zo diep in als bij de assimilatie-organen, waarmee men bij grassen te maken heeft.

ALBERDA (3) heeft reeds opgemerkt: „Het kardinale punt bij de grasproductie is, dat hier het oogstproduct identiek is met de assimilerende organen van de plant.”

En de o.i. fysiologische wet, waarbij een hoog stikstof- of eiwitgehalte en een hoge opbrengst negatief gecorreleerd zijn (welk verschijnsel we hierboven tegenkwamen in de maisproeven uit Illinois), werkt vermoedelijk, om de reden die ALBERDA aangeeft, veel klemmender bij grassen dan bij granen.

Natuurlijk zou het overzicht van SCHWARZE in het *Handbuch* (34) niet volledig zijn, wanneer hij niet gewezen had op de noodzakelijkheid dat de veredeling op hoog eiwitgehalte, die gewoonlijk op grond van ruw-eiwitbepalingen verricht wordt, correspondeert met de veredeling op het gehalte aan verteerbaar en biologisch hoogwaardig eiwit. Gelukkig kan hij uit eigen proeven (uitgevoerd bij Leguminosen) vermelden: „bis auf Stammunterschiede ging der biologisch verwertbare Anteil mit dem Rohproteingehalt konform”.

Na al deze beschouwingen, die natuurlijk wel waarde hebben voor de veredeling op eiwitgehalte in grassen en voor de vererving van dit gehalte, maar toch eigenlijk min of meer abstract zijn, geven wij gaarne aandacht aan het experiment dat uitgevoerd werd door COOPER te Aberysthwyth en waarover hij rapporteert in 1961 (6).

COOPER (6) gaat uit van oudere gegevens die aantoonde dat het mogelijk moest zijn om raaigrasplanten te verkrijgen resp. met dezelfde opbrengst maar met verschillend stikstofgehalte, of verschillende opbrengst bij gelijk stikstofgehalte.

Daar de relatieve waarde van verschillende genotypen gedeeltelijk een functie is van het groeistadium en het niveau van de stikstofvoeding, gebruikte hij klonen, zodat ieder genotype met een voldoende aantal herhalingen kon groeien op verschillende stikstofniveaus en kon worden geoogst op verschillende tijdstippen.

Twintig genotypen van het ras Engels raaigras S 24 werden geselecteerd, door kloonvorming vermeerderd en opgekweekt op eenzelfde voedingsniveau („with an uniform nutritional history”). Elk genotype werd daarna gebracht op watercultures van resp. 140 d.p.m., 70 d.p.m. en 35 d.p.m. nitraatstikstof.

COOPER constateerde, na de planten geanalyseerd te hebben, dat de verschillen tussen de genotypen significant waren en dat er blijkbaar geen interactie was tussen de genotypen en de andere hoofdeffecten. De genotypen gedragen zich niet verschillend ten opzichte van elkaar wanneer het stikstofniveau wordt gewijzigd of de oogst op verschillende tijdstippen valt.

De verschillen tussen de stikstofniveaus en de oogsttijden zijn zeer significant. Een bijkomende mededeling verdient vermelding, nl. dat het eiwitgehalte recht evenredig is met het stikstofniveau en omgekeerd evenredig met het koolhydraatgehalte.

COOPER schrijft nu: „Voor de kweker is de aanzienlijke genetische variatie bij alle drie de factoren het belangrijkste, vooral wanneer daarbij bedacht wordt dat bij het experiment slechts twintig genotypen waren betrokken, die volgens toeval uit een geselecteerd ras zijn genomen.”

Hierbij moet worden aangetekend dat COOPER, vóór de proef begon, alle voorzorgen heeft genomen wat betreft een uniforme voeding van alle genotypen. Hij heeft ze in de proef onder dezelfde omstandigheden vergeleken, maar o.i. is er onvoldoende garantie dat niet een deel der planten, onzichtbaar voor het oog, reeds is overgegaan van de vegetatieve naar de generatieve fase. Zelfs een geselecteerd ras als S 24 bevat steeds een deel vroege schieters en een deel late schieters en juist doordat de planten volgens het toeval gekozen zijn en niet werden gecontroleerd op het tijdstip van doorschieten, is het niet onmogelijk dat geselecteerd is op een verschil in schietdatum (op de overgang naar de generatieve fase), zij het langs een zeer omslachtige weg. Hoog eiwitgehalte zou dan in feite betekenen: laat doorschieten, en laag eiwitgehalte: vroeg doorschieten.

Dit bezwaar kan weerlegd worden wanneer de nakomelingschap bij vererving, en nu geanalyseerd in een vegetatief stadium, inderdaad de verschillen van de genotypen die als ouders optraden, vertoont. Het essentiële blijft het oogsten in onvervalst vegetatief stadium. De neiging tot vroeg schieten, ook al was deze nog niet zichtbaar, vererft en zal dus bij de nakomelingschappen ook weer tot uiting komen en de positieve correlatie veroorzaken. COOPER heeft getracht dit bezwaar op te vangen door nakomelingschappen van geselecteerde klonen in een vegetatief stadium te onderzoeken en heeft de proef op de som genomen (6). Er werden opnieuw analyses gemaakt van een aantal individuele genotypen van raaigras en door paarkruising is een nakomelingschap verwekt, die werd uitgezaaid. Alle analyses werden gemaakt op vegetatief materiaal, de ouders werden gesneden ofwel in het voorjaar ofwel in de tweede snede en de nakomelingschappen werden geoogst in het jaar van uitzaai, die in april plaatshad. In een tabel worden de waarden gegeven voor oplosbaar koolhydraat en eiwit voor de individuele genotypen en voor de familiegemiddelden. Bij 31 ouderplanten lopen de gehalten oplosbaar koolhydraat uiteen van 7,4% tot 17,4% en van eiwit van 17,0% tot 32,0%.

De doelmatigheid van het selecteren op deze componenten echter hangt natuurlijk af van de mate, waarin de genotypen der ouderplanten terug te vinden zijn in de nakomelingschappen. De vererving van deze karakteristieken wordt nu door COOPER berekend uit de correlatie tussen de gemiddelden der nakomelingschappen en de gemiddelde waarden der ouders, die echter niet op dezelfde tijdstippen gesneden zijn.

COOPER vindt nu de volgende correlaties:

	Oplosbaar koolwaterstof (n)	Ruw-eiwit (n)
Bij het oogsten van de nakomelingschappen op 5 juli	$r = 0,62$ (14)	$r = 0,75$ (10)
Bij het oogsten van de nakomelingschappen op 6 augustus	$r = 0,11$ (14)	$r = 0,20$ (10)

Uit deze gegevens blijkt dat op 5 juli de correlatie bevredigend is en die op 6 augustus slecht. Onder bepaalde omstandigheden komt het karakter van de ouderplanten dus wel in de nakomelingschappen tot uiting en heeft een ongemerkte overgang van vegetatieve naar generatieve fase blijkbaar geen invloed gehad.

Onder andere omstandigheden komt het karakter van de ouderplanten niet te voorschijn. Over de oorzaak hiervan deelt COOPER voorhands nog niets mee. Dat op 6 augustus de correlatie onbetekenend is, doet de vraag rijzen of het afwezig zijn van een vernalisatie-impuls misschien een rol speelt.

We hebben hier dus te maken met één der weinige onderzoeken die in de literatuur worden aangetroffen en die op exacte wijze de vererving van het eiwitgehalte in Engels raaigras tracht op te sporen. Hier blijkt dus dat het effect soms aantoonbaar is, soms niet.

Dat is natuurlijk niet erg bevredigend, wanneer de eigenschap waarop geselecteerd wordt en waarvan de erfelijke reproductie van praktisch belang moet worden geacht, soms wel en soms niet te voorschijn komt. In ieder geval zal men dan toch moeten weten wat de oorzaak hiervan is.

Dat de onderlinge positie der genotypen in de ouderplanten onafhankelijk is van oogstdatum of stikstofniveau is een conclusie die een vereenvoudiging toelaat van de conceptie van SCHWARZE en SCHWANITZ, waaruit volgt dat men de selectie slechts onder optimale omstandigheden dient uit te voeren (33).

De aangetoonde negatieve correlatie tussen koolhydraatgehalte en eiwitgehalte wijst echter weer in de richting van de fysiologische wet, die misschien wel definitief alle optimisme de bodem zal inslaan. Vooral de recente onderzoeken van ALBERDA (1, 2 en 3) hebben aangetoond hoe noodzakelijk een goed koolhydraatniveau is voor een snelle hergroei en dus voor de produktie.

Het onderzoek van DE ROO c.s. (30) gaat principieel uit van de negatieve correlatie in gras tussen koolhydraten en ruw-eiwit en van het bezwaar dat een verhoogde stikstofbemesting voor het koolhydraatgehalte oplevert bij inkuilen. Daarom willen zij zoeken naar genotypen bij tetraploid Engels raaigras met koolhydraatgehalten die uit zichzelf hoger zijn. Hoe verder zij doorselecteren, na de zwakke planten verwijderd te hebben, hoe lager het eiwitgehalte in de populatie wordt. Zij menen dat dit komt omdat men onbewust door het kiezen van stevige planten op droge-stofgehalte selecteert. Positief daarmee gecorreleerd is het koolhydraatgehalte en negatief het eiwitgehalte, zoals dit uit het volgende door hen geleverde overzicht blijkt:

		selectie I	selectie II
Correlaties tussen oplosbare koolhydraten en (selectie I is het verst doorgeselecteerd)	% droge-stof	0,67	0,92
	% ruw-eiwit	— 0,69	— 0,82
	% ruw-vezel	— 0,41	— 0,43
	% as	— 0,87	— 0,84

Volgens deze correlaties zou een selectie op oplosbare koolhydraten een verlaging van het ruw-eiwit- en asgehalte en een verhoging van het droge-stofgehalte mee-

brengen. Nochtans blijft er een keuzemogelijkheid tussen meerdere combinaties ruw-eiwit en koolhydraten.

Als derde onderzoek van praktische aard, dat wel niet op de eerste plaats gericht was op de verhoging van het eiwitgehalte door selectie maar dat daarop langs een omweg is uitgekomen, kan het onderzoek gelden naar de selectie van Engels raaigras R.v.P. op een meer evenwichtige mineralen-verhouding in verband met het kop-ziektevraagstuk door DE LOOSE (21).

DE LOOSE vroeg zich af of het niet mogelijk was, binnen de aanzienlijke variabiliteit die het Engels raaigras biedt, een plant te ontdekken met een verhouding $K/Ca + Mg$ (in meq per 100 g droge-stof), die nadert tot die van witte klaver (ongeveer 1).

Met deze selectie had hij succes; hij zag kans families op te bouwen met een hoog gemiddeld quotiënt en een laag gemiddeld quotiënt. Onder invloed van een zwaardere N.P.K.-bemesting blijft het verschil bestaan. Dit is in analogie met de proeven van COOPER betreffende stikstofgehalten. Eveneens kan hierin een aanwijzing worden gevonden dat niet onder optimale omstandigheden behoeft te worden geselecteerd.

Ook bij de proeven van DE LOOSE krijgt men de indruk dat deze selectie botst op een fysiologische wet, want hij schrijft: „Over het algemeen kan gezegd worden dat een kloon, dewelke onder invloed van een hoge bemesting nog een lage $K/Ca + Mg$ verhouding vertoont in de eerste twee sneden insgelijks een lage productie oplevert.” Waarna de zinsnede volgt, die verband legt met ons onderwerp: „Tevens zij gewezen op het feit dat de planten met een lage $K/Ca + Mg$ verhouding voor hun gehalte aan bruto-eiwit niet moeten onderdoen voor die met een hoge verhouding.”

Hij laat zien, dat planten met een lage $K/Ca + Mg$ verhouding een hoog stikstofgehalte hebben en die met een hoog $K/Ca + Mg$ quotiënt een laag stikstofgehalte.

Wanneer we deze gegevens in verband brengen met die van COOPER zouden we kunnen veronderstellen dat een hoog stikstof(eiwit)gehalte samengaat met een laag koolhydraatgehalte, met een lage $K/Ca + Mg$ verhouding en een lage opbrengst en anderzijds dat een laag stikstof(eiwit)gehalte samengaat met een hoog koolhydraatgehalte, met een hoge $K/Ca + Mg$ verhouding en een hoge produktie.

Wanneer de veredelaar zich dus voorneemt deze correlaties te doorbreken, zal het er dus om gaan of de natuur sterker is dan de leer óf dat de leer de natuur kan overwinnen.

Conclusies

Er kunnen volgens COOPER tussen planten Engels raaigras genetische verschillen in eiwitgehalte worden aangetroffen van 17-32%. Het staat hierbij niet vast of niet een verschil van fysiologische ouderdom hier doorheen speelt.

Ook genetisch schijnt er een negatieve correlatie te bestaan tussen koolhydraat- en eiwitgehalte.

Er is een vrij grote kans dat een genetisch hoog eiwitgehalte samengaat met een verminderde produktiviteit.

Hoewel theoretisch wordt gesteld dat selectie op hoge eiwitopbrengst en hoog gehalte

onder optimale omstandigheden moet geschieden, wordt dit bij enig onderzoek in de praktijk niet bevestigd.

In het voorseizoen wordt een vererving van eiwitgehalte geconstateerd, die in het naseizoen niet blijkt.

4 Methoden van onderzoek

4.1 Nadere precisering van het doel

Toen deze studie in 1952 begonnen werd, bestond er in Nederland belangstelling voor de verhoging van het eiwitgehalte in voedergewassen. In het verslag van de 17e Landbouweek in 1952 vertegenwoordigen **CRIJNS** (7) en **TOXOPEUS** (35) deze richting. De hier gedane suggesties vormden feitelijk de reden, waarom deze studie werd opgezet. Juist echter vanwege het bezwaar, genoemd op pag. 5, dat het niet interessant is te werken met een component die relatief zozeer in de minderheid is als het eiwit in de aardappel, werd met Engels raaigras begonnen (zie ook **LACKAMP**, 19).

In 1952 was het werk van **SCHWANITZ** en **SCHWARZE** (33) bekend, de verhelderende fysiologische betogen van **ALBERDA** en **VAN DOBBEN** (1, 2, 3 en 9 en 10) waren echter nog niet geschreven en de onderzoekingen van **COOPER** (6), **DE ROO** c.s. (30) en **DE LOOSE** (21) werden pas negen jaar later gepubliceerd. Het is dus van belang de resultaten van deze studie te vergelijken met de inzichten, die bij dat andere onderzoek naar voren kwamen en die in hoofdstuk 3 zijn besproken.

Er rijzen echter nog een aantal vragen die beantwoord moeten worden. Deze vragen kunnen als volgt worden geformuleerd:

1. Hoe staat het precies met de milieu-variatie van een bepaald genotype in het eiwitgehalte van Engels raaigras bij herhalingen op dezelfde plaats en tijd, bij herhalingen op verschillende tijdstippen, bij opzettelijke bemestingsverschillen, bij veldproeven en potproeven en bij verschillende voorvrucht?
2. Hoe staat het met de genetische variabiliteit, wanneer het verschil in ontwikkelingsfase primair wordt uitgesloten?
3. Hoe staat het met de interactie tussen genetische verschillen en milieu?
4. Hoe vererft het eiwitgehalte?
5. Welk verband bestaat er tussen eiwitgehalte en produktiviteit?
6. Zijn produktiviteit en vitaliteit hierbij hoog gecorreleerd?
7. Welke van beide is in dit geval het belangrijkste?
8. Wat is dan de gebruikswaarde van bepaalde fenotypen?
9. Ligt onder de negatieve fenotypische correlatie tussen eiwit en koolhydraatgehalte ook een genetisch negatieve correlatie verborgen?
10. Is genetisch hoog eiwitgehalte misschien een fysiologisch ongewenst verschijnsel?
11. Kan men bij cumulatief doorselecteren in de richting hoog- of laaggehalte bij gras evenveel succes verwachten als bij analoge selectie in maïs?

12. Is er een oorzakelijk verband tussen genetisch hooggehalte en lage produktiviteit?
13. Kan de richtlijn van SCHWANITZ en SCHWARZE ook toegepast worden bij grassen?
14. In hoeverre kan door selecteren op gehalte nieuwe variabiliteit worden vrijgemaakt, die voor praktische doeleinden waardevol is, al was het alleen maar door een verschil in groeiritme.

Om op deze vragen antwoord te kunnen geven werd principieel uitgegaan van een klein aantal individuen waarvan de eigen aard, het genotype, zowel naar de kant van het hoge gehalte als naar de kant van het lage gehalte, voldoende extreem is. Deze genotypen worden gedurende enige jaren nauwkeurig onder verschillende omstandigheden geobserveerd teneinde het gedrag t.o.v. het gehalte te kunnen nagaan. Juist bij een uitstoelend meerjarig gras als Engels raaigras kan zo'n methode goed worden toegepast.

Wanneer de individuele typen goed bekend zijn, kunnen ze benut worden voor het voortbrengen (op verschillende wijzen) van nakomelingschappen. Deze nakomelingschappen kunnen dan weer als afzonderlijke planten worden geanalyseerd; ze kunnen ook als populaties tesamen worden genomen; in dat geval kan een indruk worden verkregen van het gedrag der populaties.

Er is van afgezien met populaties (herkomsten, selecties, rassen) te beginnen omdat deze bij een kruisbestuivend gewas als Engels raaigras te heterozygoot zijn om daarop détail-conclusies te kunnen baseren. Bovendien kunnen afzonderlijke planten veel beter als bouwstenen voor nieuwe rassen gebruikt worden dan populaties.

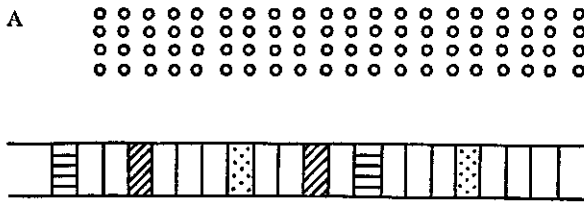
Vermeld dient hier te worden, dat deze proeven zijn verricht in het kader van een veredelingsprogram op een particulier veredelingsbedrijf, waardoor grenzen gesteld waren aan de omvang van het werk. De resultaten moeten derhalve steeds gerelativeerd worden. Tegen generaliserende conclusies zal moeten worden gewaakt. Het leveren van het bewijs dat uitzonderingen op de gevonden verbanden in voldoende frequentie gevonden kunnen worden (om daaruit met redelijke kans op succes bij het kruisbestuivend raaigras geschikte combinaties te bouwen), zou de praktische mogelijkheden op een zodanig bedrijf ver te boven zijn gegaan.

4.2 Het proefplan

Het proefplan is opgezet om een hooggehaltig en een laaggehaltig ras van Engels raaigras te kweken. Voor het doel van deze studie zullen verschillende étappes uit de cyclus van negen jaren onder verschillende gezichtspunten worden gezien. Gewerkt werd gedurende de jaren 1953-1962 op lichte zandgrond (gevoelig voor droogte) waarvan de volgende gegevens gelden: humusgehalte 2,4%; afslibbaar 2%; Ph-KCl 4,7; P-getal 7; P-Al 7; K-HCl 22; MgO 34.

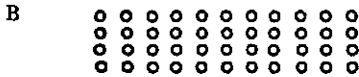
A(1953). In 1953 was als beginmateriaal aanwezig een serie van 300 klonen van Engels raaigras (weidetype), ontstaan uit enkelvoudige spruitjes, verzameld uit de

Fig. 1. Schematisch proefplan / Experimental design

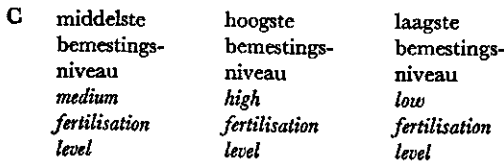


A(1953). 300 moederklonen, waarvan 28 bemonsterd
A(1953). 300 mother clones, of which 28 sampled

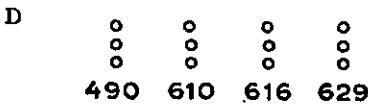
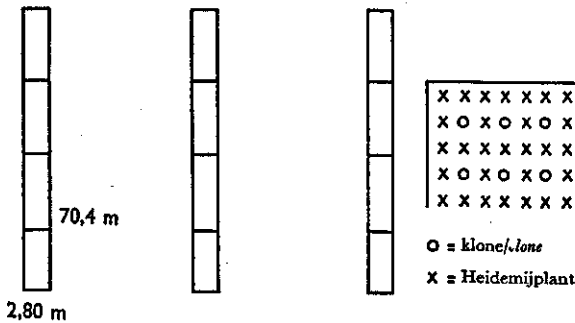
600 nakomelingschappen in duplo, waarvan 56 bemonsterd
600 progenies in duplicate, of which 56 sampled



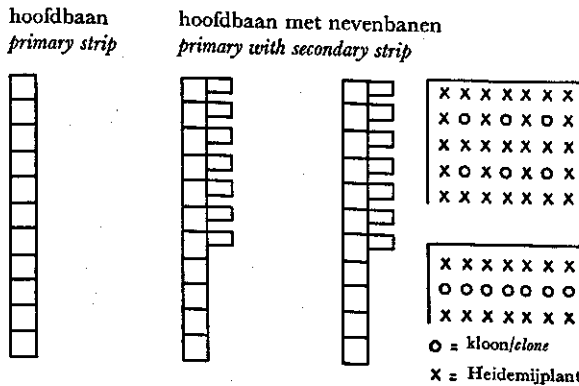
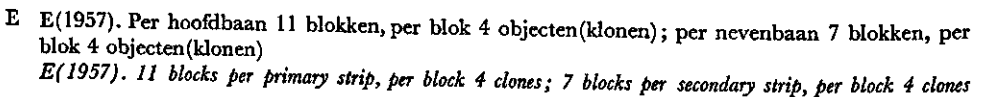
B(1954). 11 klonen geselecteerd en vermeerderd
B(1954). 11 clones selected and propagated

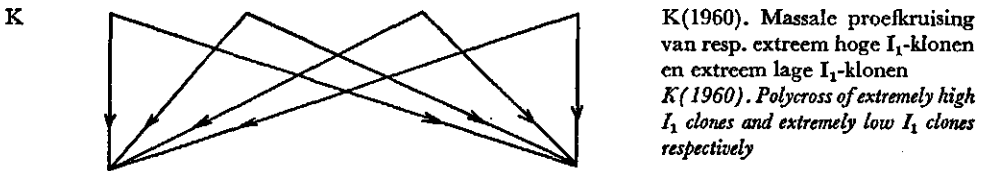
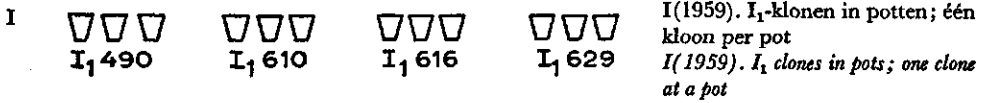
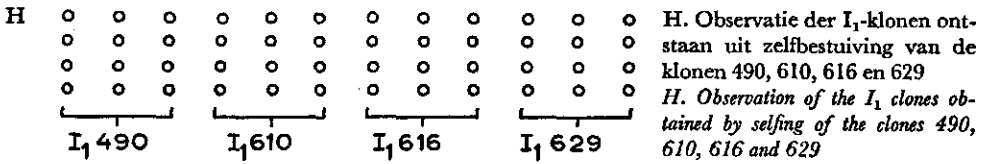
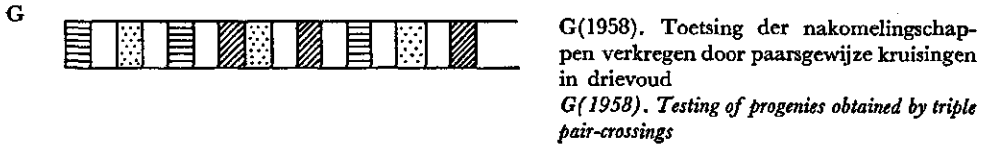
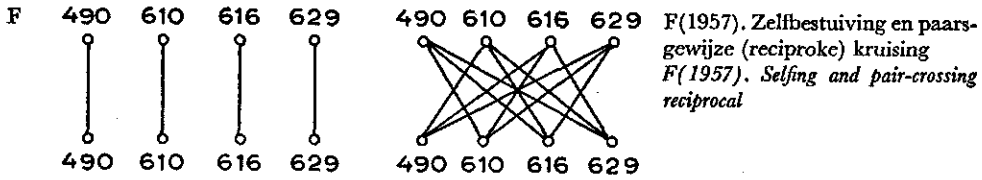


C(1955). Per baan 4 blokken, per blok 11 objecten (klonen)
C(1955). 4 blocks per strip, each block with 11 clones

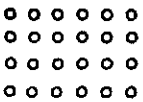


D(1956). Vermeerdering van twee hooggehaltige en twee laaggehaltige klonen
D(1956). Propagation of two high-content and two low-content clones

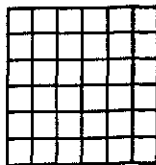
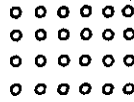




L, M hooggehaltige
 extremen
*extremely high
 content*



laaggehaltige
 extremen
*extremely low
 content*



L(1961); M(1962). Latijns vierkant met nakomelingschappen en controles
L(1961); M(1962). Latin square with progenies and controls

natuur in 1950 en als klonen gepoot in april 1951. Iedere kloon bestond uit 4 individuen, die achter elkaar lagen. Voorts was van iedere kloon in 1951 door vrije bestuiving zaad gewonnen, waarvan 600 nakomelingschappen als gezaaide veldjes in duplo, in mei 1952, achter de klonen werden aangelegd, echter in andere volgorde. In 1953 waren dus deze veldjes ook beschikbaar. Uit klonen en zaaisels in duplo werden 28 nummers, waarvan in 1951 bij de bloei aan de moederklonen was geconstateerd dat ze een gelijke schietdatum hadden, bemonsterd op eiwitgehalte. De kloonveldjes waren 1,28 m², de nakomelingveldjes 6 m². Bemest werd met 30 kg N, 33 kg P₂O₅, 60 kg K₂O per ha.

B(1954). 11 nummers, gekarakteriseerd door een extreme positie ten opzichte van het eiwitgehalte (zowel hoog als laag) werden uitgekozen en door klonen vermeerderd.

C(1955). De kans bestaat, dat de extreme nummers van *B(1954)* deze posities vertonen door interactie met het milieu (suboptimaal, optimaal of maximaal). Daarom werden ze in hun gedrag vervolgd in verschillende milieus, teweeggebracht met opklimmende hoeveelheden bemesting en een verschillende voorvrucht (zie *E(1957)*).

Op drie kunstmatig veroorzaakte bemestingsniveaus (hoog, laag en middelmatig) werden blokkenproeven aangelegd met die 11 klonen. Het laagste niveau is gelijk aan dat van *A(1953)*. Op ieder bemestingsniveau lagen 4 blokken, in iedere blok dus 11 objecten. Ieder object was een kloon, bestaande uit 6 afzonderlijke individuen. De individuen van een kloon grensden niet aan elkaar, ook niet aan die van een andere kloon, want zij werden geheel omgeven door niet-geklonde planten van het ras Engels raaigras-Heidemij, dat eventueel als topcrosspartner kan dienen in een bestuivingschema met de te onderzoeken klonen.

De 4 blokken per bemestingsniveau lagen in elkaars verlengde, de onderlinge plantafstanden waren 40 cm, zodat de totale lengte 70,4 m en de breedte 2,80 m bedroeg. Per object werden mengmonsters samengesteld uit de 4 blokken per baan en hiervan werden zowel in de droge- als in de verse-stof de eiwitgehalten bepaald.

D(1956). Twee hooggehaltige en twee laaggehaltige klonen werden opnieuw door scheuring sterk vermeerderd, resp. de no's 616, 629 en 490, 610.

E(1957). De mantels van de Heidemij-planten, die de gebruikte klonen omgaven, werden gespaard maar de klonen werden verwijderd. Zodoende ontstonden er uit de 4 blokken met 11 objecten 44 vrije veldjes van telkens 6 plaatsen, waar de 6 individuen van iedere kloon hadden gestaan. Deze plaatsen werden benut om de 4 verschillende klonen onder te brengen, zodat er nu 11 blokken ontstonden met 4 objecten, in telkens wisselende volgorde per baan. Deze opzet werd op ieder bemestingsniveau teruggevonden.

Naast deze series werden op het hoogste en laagste bemestingsniveau nog series in zeventvoud aangelegd van dezelfde klonen; nu op grond, waar zeker in de voorgaande twee jaar geen gras had gestaan, zoals het geval was met de series in elfvoud. Boven-

dien was de rangschikking iets anders, nl. aaneengesloten rijen van eenzelfde kloon, afgewisseld met aaneengesloten rijen van Engels raaigras-Heidemij-planten.

F(1957). Afzonderlijk werden zelfbestuivingen en paarsgewijze kruisingen uitgevoerd van de twee hooggehaltige en de twee laaggehaltige klonen. De zelfbestuivingen in geïsoleerde kassen, de paarsgewijze kruisingen in ruimtelijke isolaties binnen een roggegewas.

G(1958). De nakomelingschappen der paarsgewijze kruisingen werden in een proefveld te Ottersum en een proefveld te Veghel bestudeerd op eiwitgehalte en opbrengsten, resp. in drievoud van 5 m² en in vijfvoud van 10 m² per veldje.

H(1958). De planten der I₁-populaties die uit de zelfbestuiving waren ontstaan, werden in vieren gekloond en op het veld geobserveerd en beschreven.

I(1959). De I₁-klonen werden in een potproef in enkelvoud (één kloon per pot) geanalyseerd op eiwitgehalte en op opbrengst (één nummer in vijfvoud ter controle).

K(1960). Een massale proefkruising werd gemaakt van de extreem hooggehaltige I₁-klonen enerzijds en de extreem laaggehaltige I₁-klonen anderzijds, eveneens van de middengroep. Bovendien van een selectie uit de hoge I₁-klonen en van een selectie uit de lage I₁-klonen.

L(1961). Een nakomelingschap-toetsing van deze vijf groepen, samen met stamzaad van Engels raaigras-Heidemij, werd in het najaar van 1961 uitgevoerd in een latijns vierkant naar eiwitgehalte en opbrengst (in veldjes van 10 m²).

M(1962). In het voorjaar van 1962 werd dezelfde toetsing herhaald, gedeeltelijk ook in potten.

4.3 De eiwitbepalingen

Ten aanzien van de meting van het eiwitgehalte is gebruik gemaakt van de Kjeldahl-bepaling, waarbij dus eigenlijk de hoeveelheid stikstof wordt vastgesteld, die na de gebruikelijke vermenigvuldiging met 6,25 de hoeveelheid ruw-eiwit geeft. Deze hoeveelheid kan worden uitgedrukt in een percentage van de droge-stof of van de verse-stof.

In deze zin nu worden bij vele onderzoeken de conclusies ten aanzien van stikstofgehalte en eiwitgehalte onderling verwisseld. Daar is geen bezwaar tegen wanneer men maar beseft dat het ruw-eiwit niet alleen uit zuiver-eiwit en de afbraakproducten of bouwstenen daarvan kan bestaan, maar ook uit ammoniak of zelfs nitraat, waarvan het laatste bestanddeel voor de voeding zeker niet gewenst is.

Bij ons onderzoek, waarbij de variatie door toeval en door genetische oorzaken

wordt bestudeerd, kan alleen gebruik worden gemaakt van de Kjeldahlbepaling wanneer tevoren twee dingen vaststaan.

Ten eerste dat deze bepaling niet alleen bij gemengd weidegras, maar ook bij enkelvoudige grassoorten een maatstaf is voor de voederwaarde en in de tweede plaats dat bij variatie van het eiwitgehalte van hoog tot laag door milieu of genese in de gebruikte Engels raaigrasplanten een nauwe correlatie bestaat tussen ruw-eiwit en zuiver-eiwit.

Op de eerste vraag werd antwoord gegeven door DIJKSTRA (11) in een onderzoek waarbij hij vaststelde dat er bij grasmonsters, afkomstig van blijvend grasland, een zeer goed verband bestond tussen het gehalte aan ruw-eiwit en dat aan verteerbaar-ruw-eiwit. Dit verband werd vastgelegd in regressieformules met behulp waarvan het mogelijk is, wanneer men tenminste over de chemische analyse beschikt, de voederwaarde van een dergelijk gras te benaderen. De vraag of het geoorloofd is de voederwaarde van het gras van kunstweiden, bestaande uit één enkele of uit een paar afzonderlijke grassoorten ook op dezelfde wijze te berekenen, bleef onbeantwoord.

DIJKSTRA betrok, om op deze vraag een antwoord te krijgen, in het onderzoek Westerwolds raaigras, kropbaar, roodzwenkgras en Engels raaigras (zowel het hooi als het weidetype).

De conclusie van zijn onderzoek is de volgende: „Uit de figuren en de tabellen blijkt dat in het algemeen zowel de gehalten aan verteerbaar-ruw-eiwit als de zetmeelwaarde van kropbaar en Westerwolds en Engels raaigras op dezelfde wijze kunnen worden berekend als die van monsters gras van blijvend grasland.”

Wat het tweede punt betreft werden door ons steekproefsgewijs bepalingen verricht ter vaststelling zowel van het chemisch ruw-eiwitgehalte als van het chemisch zuiver-eiwitgehalte.

Uit de vergelijking van 23 monsters van onze individuele Engels raaigrasplanten, waarbij de zuiver-eiwitgehalten varieerden van 11,4 tot 26,1 en de Kjeldahlstikstofwaarden van 2,12 tot 5,05, bleek een zeer hoge correlatie (nl. $r = 0,99 \pm 0,004$).

Ook bij een tiental inteeltklonen werd de correlatie nagegaan; deze was iets minder hoog, maar ook nog zeer goed. Er is dus geen reden om de Kjeldahlbepaling voor het doel van het onderhavige onderzoek te wantrouwen.

Men zou kunnen opmerken, dat er mogelijk waardevolle verschillen in aminozuursamenstelling gevonden kunnen worden tussen planten met hetzelfde totaalgehalte en dat hiermede helemaal geen rekening gehouden wordt. Hiervoor is dit soort onderzoek echter nog niet rijp. Daarenboven blijkt uit gegevens van DE MAN (23 en 24) dat diverse proteïne-preparaten, afkomstig van de meest uiteenlopende grassoorten, slechts zeer weinig verschillen in aminozuursamenstelling, zo weinig zelfs dat ze binnen de foutengrens van de methode bleven. Bovendien deelt hij mede dat ook het tijdstip van monsterneming (lentegras of herfstgras) geen invloed op de samenstelling had.

Men zou geen probleem verwachten betreffende het uitdrukken van de gehalten op droge-stof en verse-stof. Toch dient hieromtrent wel iets te worden gezegd. Uitdrukken op verse-stof levert in het veld, door het variërend watergehalte, een extra foutenbron op. Uit de onderzoekingen van VAN DOBBEN bleek echter dat na de aanleg der aartjes-primordia het voorheen constant stikstofgehalte in de droge-stof wordt

verlaagd, terwijl het gehalte in de verse-stof, althans tot het begin van rijping en bij optimale stikstofvoorziening, niet verandert; waaruit blijkt dat het verschil in uitdrukking op droge- of verse-stof fundamenteel kan zijn.

Vooraf bij het vergelijkend onderzoek van vele planten, waarvan een deel ongemerkt de overgang van vegetatieve naar generatieve fase gemaakt zou kunnen hebben, is het gevaarlijk wanneer niet wordt gecontroleerd of de uitdrukking van het gehalte in verse-stof wellicht tot andere conclusies leidt dan de uitdrukking in droge-stof. Daarom werd verschillende malen van beide mogelijkheden gebruik gemaakt.

5 De niet-genetische variabiliteit

De totale variatie kan worden onderscheiden in toevalsvariatie, systematische milieuvariatie en genetische variatie. De beide eerste variaties worden hier samengevat als de niet-genetische variaties.

De toevallige variatie wordt behandeld in 5.1, de systematische milieuvariaties, opgeroepen door verschil in tijd, verschil in bemesting, verschil in proefaanleg (veldproeven of potproeven) en verschil in voorvrucht worden respectievelijk behandeld in 5.2, 5.3, 5.4 en 5.5.

5.1 De toevalsvariatie

De toevalsvariatie kan worden opgevat als de niet-geïdentificeerde milieu- en ontwikkelingsvariatie. Zij kan worden uitgedrukt in de standaardafwijking en de variatiecoëfficiënten, gevonden bij de proef in een milieugebied, dat naar best vermogen constant werd gehouden.

Toevallige variaties kunnen worden verwacht door onregelmatigheden van de grond, door vochtverschillen, door ongelijke bemesting, door spruitvorming, door bodemparasieten, door lichtverschillen, door seizoensinvloeden, enz.

Informatie kan worden verkregen over de mate waarin de toevallige variaties de systematische variaties dreigen te verdoezelen.

In dit verband is het instructief om de gegevens uit de proeven die beschreven zijn in 4.2 onder A, C, E, G, I, L en M achter elkaar te rangschikken. Voor zover er meer dan een enkelvoudige bepaling is gedaan (onder overigens zoveel mogelijk gelijke omstandigheden) vinden we de hier bedoelde toevalsvariatie (tabel 2).

Bij de in tabel 2 gereleveerde proeven is het duidelijk dat daar, waar parallellen ontbreken, geen scheiding kan worden gemaakt tussen de totale variatiecoëfficiënt en de toevalsvariatiecoëfficiënt en dat daar waar slechts één object wordt aangetroffen alleen de toevalsvariatiecoëfficiënt een rol speelt.

Voor horizontale vergelijking kunnen de variatiecoëfficiënten dienen. Deze liggen, berekend volgens totaal en volgens toeval, vooral daar waar vele herhalingen worden aangetroffen, zeer dicht bij elkaar. Er kan dus uit al deze proeven in hun totaliteit de conclusie worden getrokken dat het toeval overal een zeer grote rol speelt en dat slechts proeven met zeer veel herhalingen de systematische verschillen in eiwitgehalten aan het licht zullen kunnen brengen.

Het moge merkwaardig schijnen dat bij de tweede proef (6 m² zaaisels uit vrije

bestuiving, A) die vrij onnauwkeurig was (zie 7.2) het verschil tussen de totale en de toevalsvariatiecoëfficiënt tamelijk groot gevonden wordt, maar dan moet hierbij bedacht worden dat alle wiskundige berekeningen slechts een schatting van de variantie opleveren en dat deze te minder betrouwbaar zijn naarmate het aantal parallellen kleiner is.

Overigens is het niet juist voor verticale vergelijking de variatiecoëfficiënten te gebruiken. Daar deze immers betrokken zijn op het absoluut gemiddelde der waarnemingen worden zij automatisch kleiner naarmate dit gemiddelde stijgt.

Veel beter voor verticale vergelijking dienen de standaardafwijkingen en hierbij is onmiddellijk zichtbaar dat de proef met de zaaizels uit vrije bestuiving bijna de hoogste standaardafwijking noteert (1,70) en dus inderdaad als niet nauwkeurig kan gelden.

Nog onnauwkeuriger zijn de gegevens (vier regels van onderen) in de tabel bij 10 m² zaaizel; immers hier is de standaardafwijking 2,60. De oorzaak hiervan kan goed worden aangegeven. Gezaaid werd in augustus 1961, geoogst in oktober 1961. De veldjes hadden nog geen zode gevormd en het maaien ging moeilijk. In april d.a.v. ging dit veel beter, de gegevens werden nauwkeuriger en de standaardafwijking was laag.

Van belang is nu te weten bij welke proefopzet ten aanzien van de eiwitgehalten de laagste standaardafwijking gevonden wordt. Uit de variatiecoëfficiënten zou men concluderen dat dit het geval is bij de hoogste eiwitgehalten. Maar verificering op grond van de standaardafwijkingen bevestigt dit niet. Er is praktisch geen correlatie tussen het gemiddelde eiwitgehalte van de proef en de standaardafwijking (zie fig. 2).

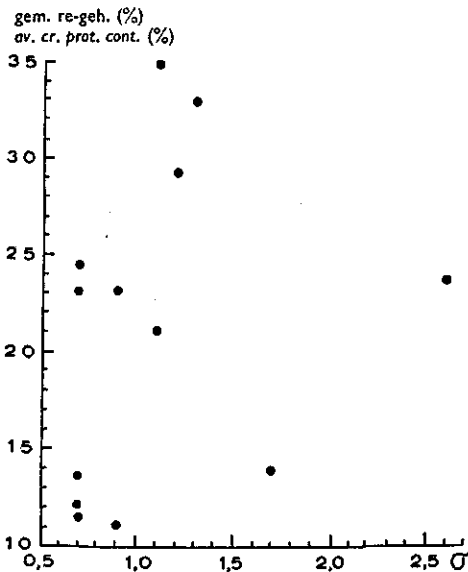


Fig. 2. Het verband tussen de standaardafwijking en het gemiddeld ruw-eiwitgehalte per proefveld

Fig. 2. The relation between the standard deviation and the average crude protein content per experimental field

Aangezien we later zullen zien dat de hoge eiwitgehalten daar worden aangetroffen waar de plant optimaal groeit, blijkt hieruit toch niet dat dan ook de nauwkeurigheid van de bepaling het grootst is.

Tabel 2. De toevalsvariantie van het ruw-eiwitgehalte, uitgedrukt in de standaardafwijking en de variatie-coëfficiënten in verschillende milieus

Object	Beschrijving	Aantal/number		Gem. ruw-eiwit geh.(%)	Stand. afwijking	Var.coëf. (%)	
		objecten	herhalingen			totaal	toeval
<i>treatment</i>	<i>description</i>	<i>treatments</i>	<i>replications</i>	<i>av. cr.prot. cont.(%)</i>	<i>stand. dev.</i>	<i>total</i>	<i>random</i>
1,28 m ² klonen <i>clones</i>	A. ¹ Uitgangsklonen; gepl. april '51, geoogst mei '53 <i>A. mother clones; planted April '51, harvested May '53</i>	28	1	13,2	—	22	—
6 m ² , nakomelingsch. <i>progenies</i>	A. Uit vrije bestuiving; gezaaid mei '52, geoogst mei '53 <i>A. from free pollination; sown May '52, harvested May '53</i>	28	2	14,2	1,70	17	12
1,92 m ² klonen <i>clones</i>	C. Geselecteerd uit uitgangsklonen; gepl. maart '55, geoogst mei '55 <i>C. selected from mother clones; pl. March '55, harv. May '55</i>	11	3	21,4	1,07	9	5
1,92 m ² klonen <i>clones</i>	E. Twee hooggeh. en twee laaggeh. klonen geselecteerd uit de vorige 11; gepl. maart '57, geoogst mei '57; laag bemestingsniveau <i>E. two high-content and two low-content clones selected from the preceding 11; pl. March '57, harv. May '57; low fert. level</i>	4	11	12,3	0,74	7	6
1,92 m ² klonen <i>clones</i>	E. Als voorgaande; midden bemestingsniveau <i>E. ditto; medium fertilisation level</i>	4	11	11,1	0,89	9	8
1,92 m ² klonen <i>clones</i>	E. Als voorgaande; hoog bemestingsniveau <i>E. ditto; high fertilisation level</i>	4	11	13,7	0,69	7	5
1,92 m ² klonen <i>clones</i>	E. Als voorgaande; op verse grond, hoog bemestingsniveau <i>E. ditto; fresh soil, low fertilisation level</i>	4	7	23,3	0,86	4,3	3,7
1,92 m ² klonen <i>clones</i>	E. Als voorgaande; op verse grond, hoog bemestingsniveau <i>E. ditto; fresh soil, high fertilisation level</i>	4	7	24,6	0,74	5	3

Table 2. The random variation of the crude protein content, expressed in the standard deviation and the variation coefficients in various environments

Vervolg tabel 2 / table 2 continued

Object	Beschrijving	Aantal/number		Gem. ruw-eiwit geh. (%)	Stand. afwijking	Var.coëf. (%)	
		objecten	herhalingen			totaal	toeval
<i>treatment</i>	<i>description</i>	<i>treatments</i>	<i>replications</i>	<i>av. cr. prot. cont. (%)</i>	<i>stand. dev.</i>	<i>total</i>	<i>random</i>
5 m ² zaaisels	G. Gezaaid sept. '58; geoogst mei '59; uit paarsgewijze kruising (en reciprook) der 4 voorgaande klonen	12	3	11,6	0,66	5,8	5,7
<i>seedlings</i>	<i>G. sown Sept. '58; harv. May '59; from pair-crossings (and reciprocal) of 4 preceding clones</i>						
380 cm ² pot	I. Gekloonde I ₁ -planten na zelfbestuiving uit de 4 voorgaande klonen ontstaan; gepl. maart '59, geoogst mei '59; controle	1	5	29,2	1,17	—	4
<i>pot</i>	<i>I. I₁ clones after selfing from the 4 preceding clones; pl. March '59, harv. May '59. Control</i>						
380 cm ² -pot	I. Idem; I ₁ -serie 490	28	1	28,6	—	33	—
	<i>I. ditto; I₁ series 490</i>						
380 cm ² -pot	I. Idem; I ₁ -serie 616	45	1	28,8	—	27	—
	<i>I. ditto; I₁ series 616</i>						
380 cm ² -pot	I. Idem; I ₁ -serie 610	70	1	27,3	—	30	—
	<i>I. ditto; I₁ series 610</i>						
380 cm ² -pot	I. Idem; I ₁ -serie 629	89	1	28,1	—	33	—
	<i>I. ditto; I₁ series 629</i>						
10 m ² zaaisels	L. Uit massale proefkruising van de extreme I ₁ -klonen onderling; gezaaid aug. '61, geoogst okt. '61	6	6	23,6	2,60	11	11
<i>seedlings</i>	<i>L. from polycross of the extreme I₁ clones; sown Aug. '61, harv. Oct. '61</i>						
10 m ² zaaisels	M. Idem, geoogst april '62	6	6	23,2	0,70	5	3
<i>seedlings</i>	<i>M. ditto; harv. April '62</i>						
380 cm ² pot	M. Zelfde proef; alleen hooggech.	1	5	35,0	1,05	—	3
	<i>M. same trial; only high-content</i>						
380 cm ² pot	M. Idem; alleen laaggech.	1	5	32,0	1,32	—	4
	<i>M. ditto; only low-content</i>						

¹ Kapitalen verwijzen naar het proefplan in 4.2
Capitals refer to the experimental design in 4.2

Belangrijk ook is de vergelijking tussen veldproeven en potproeven. Ook daarvoor moeten we gebruik maken van de standaardafwijkingen. We kunnen alleen die potproeven gebruiken waarvan meer herhalingen bestaan (5).

Uit de vergelijking blijkt dat ondanks de bij de potproeven genomen voorzorgen (7.5) voor het homogeniseren van het milieu, de nauwkeurigheid daarbij toch niet groter is geweest dan bij een goed opgezette veldproef.

Verder blijkt ook dat een proef met zaaisels buiten niet onnauwkeuriger behoeft te zijn dan met klonen buiten.

Conclusies

Bij bepalingen van de systematische verschillen in eiwitgehalte tussen planten van Engels raaigras moet zeer nauwkeurig gewerkt worden omdat het toeval (zo men wil het milieu) een zeer grote invloed heeft op de variaties en de toevallige variaties de systematische wel totaal kunnen overspoelen.

De nauwkeurigheid van de proeven wordt niet beïnvloed door de absolute hoogte van het eiwitniveau in de planten, welk niveau hoog is onder optimale groeiomstandigheden. Een goed opgezette kloon-, of zaaiselproef in het veld, behoeft niet onder te doen voor een potproef, waarbij het milieu exacter kan worden geregeld.

Bij bepalingen van het eiwitgehalte in klonen of zaaisels in tenminste 3 herhalingen in kleine veldjes moet men er bij een 'waar' eiwitgehalte van bijv. 18% rekening mee houden, dat 5% van de waarnemingen minder dan 16% of meer dan 20% uitwijst.

5.2 Herhaling in de tijd

Hierbij kan onderscheid worden gemaakt tussen herhaling in een ander jaar, maar in dezelfde snede en herhaling in hetzelfde jaar in een andere snede.

Deze verschijnselen kunnen bestudeerd worden bij de oorspronkelijke klonen (4.2; A, C, E); bij de uit zelfbestuiving daaruit ontstane I_1 -klonen (4.2; I) en bij de uit recombinatie daarvan ontstane zaaisels (4.2; L en M).

Wat de kloonwaarden betreft kunnen die van 1953 vergeleken worden met die van 1955 en wel voor elk bemestingsniveau van 1955 afzonderlijk (4.2; A en C). De oogst viel in al deze gevallen in mei, in de vegetatieve toestand, dus in eenzelfde traject van de ontwikkelingscyclus. Ook in 1957 zijn de kloonwaarden nauwkeurig bepaald (4.2; E). Doordat principieel in vegetatieve toestand geoogst werd, ontbreken gegevens over de variabiliteit van het eiwitgehalte bij fysiologische veroudering.

Van de I_1 -klonen werden meer observaties gedurende de gehele groeiperiode gedaan en daarvan zijn dus ook van meer tijdstippen de eiwitgehalten bepaald. Hier zijn dus gegevens te vinden over de variabiliteit bij herhaling in een andere snede.

Tenslotte zijn er nog de zaaisels, ontstaan uit recombinatie der I_1 -klonen. Hierbij is het eiwitgehalte bepaald in najaar en voorjaar en zijn dus gegevens beschikbaar over de variabiliteit in verschillende seizoenen.

5.2.1 Ander jaar, zelfde snede

In 1955 werden 11 klonen, die in 1953 een extreme positie hadden ten aanzien van het eiwitgehalte, opnieuw onderzocht (4.2; C); ook nu weer in vegetatief stadium en op drie bemestingsniveaus. Een vraag van belang is nu, wat er overblijft van de oorspronkelijk gevonden verschillen.

Hiertoe zijn de correlaties bepaald van de kloonwaarden van ieder apart bemestingsniveau ten opzichte van die van 1953, met de volgende resultaten:

voor het laagste	bemestingsniveau	$r = 0,84 \pm 0,09$	$R_x = 0,88$	$R_y = 0,80$
voor het middelste	bemestingsniveau	$r = 0,40 \pm 0,25$	$R_x = 0,36$	$R_y = 0,44$
voor het hoogste	bemestingsniveau	$r = 0,50 \pm 0,23$	$R_x = 0,32$	$R_y = 0,80$

In 1953 werd wel evenveel bemesting gegeven als in 1955 (laag niveau) maar het is niet mogelijk betrouwbaar vast te stellen of het bemestingsniveau correspondeerde met het laagste in 1955.

Het is voldoende hier te constateren, dat de correlatie bij herhaling van de kloonanalyses in een ander jaar bij hetzelfde groeistadium goed kan zijn, maar onder andere omstandigheden ook zeer matig. Dit houdt in dat de relatieve maat van de eenmaal geconstateerde verschillen tussen twee klonen ook afhankelijk van de omstandigheden veranderen kan. Later komen we hierop terug.

In 1956 zijn uit de groep van 11 klonen op grond van de bepalingen van 1955 twee hooggehaltige en twee laaggehaltige gekozen die in 1957 in 11 herhalingen op de oorspronkelijke bemestingsniveaus en in 7 herhalingen op verse grond (waar eerder geen gras gestaan had) op het hoogste en op het laagste niveau werden bemonsterd (4.2; C, D en E). De twee hooggehaltige enerzijds en de twee laaggehaltige anderzijds waren genetisch betrouwbaar verschillend (zie hoofdstuk 6). De twee laaggehaltige zijn de nummers 490 en 610, de hooggehaltige 616 en 629. De volgende waarden werden gevonden (tabel 3).

Er wordt in 1957 een groot verschil in gehalte gevonden afhankelijk van de voorwaarde oude grond (waar eerder gras stond) of verse grond; dit verschil is veel groter dan wordt veroorzaakt door de bemestingstrap. Hierop komen we later terug.

Het gaat er hier echter om of de genetische verschillen tussen de no's 490 en 610 enerzijds en 616 en 629 anderzijds, die in 1955 werden gevonden, onder alle omstandigheden in 1957 kunnen worden teruggevonden.

Uit berekeningen blijkt dat in 1957 op oude grond een verschil van 1,1 betrouwbaar is; op verse grond een verschil van 1,3. Dit houdt in dat de verschillen tussen de no's 490 en 610 niet of nauwelijks betrouwbaar geacht kunnen worden. In het algemeen geldt dit ook voor de verschillen tussen de no's 616 en 629, met uitzondering van één plaats, nl. het middenbemestingsniveau van 1957 waarbij 629 betrouwbaar lager is dan 616 en in dat geval niet meer betrouwbaar verschilt van de no's 490 en 610.

We mogen dus zeggen dat bij herhaling in een ander jaar in een gelijk stadium de verschillen tussen hoog- en laaggehaltige klonen manifest blijven maar dat de verschillen relatief en absoluut niet constant zijn, ja onder zeer bepaalde omstandig-

heden blijkbaar kunnen verdwijnen. Wanneer later de vererving van het ruw-eiwitgehalte besproken wordt, moet deze constatering in gedachte worden gehouden. Deze komt immers hierop neer, dat het verschil in ruw-eiwitgehalte tussen twee genetisch verschillende planten, die geschikt zijn om als ouderpaar in een kruising te

Tabel 3. De ruw-eiwitgehalten van vier klonen (490, 610, 616, 629) in verschillende milieus in 1955 en 1957

Kloon clone	Percentage ruw-eiwit / percentage crude protein					
	1955	1957				
		op de bemestingsniveaus / at the fertilisation levels				
		hoog/high		middel/medium	laag/low	
	oude grond stale soil	verse grond fresh soil	oude grond stale soil	oude grond stale soil	verse grond fresh soil	
490	19,7	12,8	24,3	10,9	11,3	22,7
610	20,1	12,8	23,0	10,6	12,1	22,3
616	24,2	14,5	25,5	12,0	13,0	24,3
629	24,5	13,8	25,5	10,7	12,8	24,0

Table 3. Crude protein contents of four clones (490, 610, 616, 629) in various environments in the years 1955 and 1957

dienen, niet steeds gelijk behoeft te zijn, bovendien de waarde nul kan krijgen en mogelijk zelfs van teken kan veranderen.

Het mag ons dan ook niet verbazen dat de nakomelingschappen soms wel en soms geen verschillen laten zien die gecorreleerd zijn met die der ouderparen waaruit ze zijn gesproten, zoals dat bij COOPER (6) te zien is in de tweede snede.

5.2.2 Zelfde jaar, oudere snede

Bij de klonenproeven is er steeds voor gezorgd dat de geoogste planten in vegetatief stadium waren, zodat over de invloed van de veroudering bij herhaling op een ander tijdstip geen gegevens voorhanden zijn.

Bij de uit zelfbestuiving van de klonen ontstane I₁-klonen zijn wel gegevens aanwezig over de gehalten in de tweede snede. Hiervoor zijn klonen gebruikt die ten aanzien van het eiwitgehalte een extreme positie hadden, hetzij laag, hetzij hoog.

De gegevens kunnen als volgt worden samengevat (tabel 4):

Hoewel dus de groep laaggehaltige I₁-klonen in de eerste snede een betrouwbaar verschillend gehalte heeft van de groep hooggehaltige klonen is het verschil in de tweede snede nog maar nauwelijks betrouwbaar aanwezig.

We zien hier dus dat vaststaande gehalteverschillen in latere sneden de neiging

hebben te verdwijnen. Dit, samen met de verschijnselen hiervoor besproken, waarbij na herhaling in de tijd in dezelfde snede ook een gehalteverschil verdwijnen kan, wekt dus temeer de vrees, dat in geval voor een kruisingsprogram geniteurs gekozen worden, die niet langdurig in hun levensloop gevolgd zijn, de nakomelingschap ten

Tabel 4. De minimale, maximale en gemiddelde ruw-eiwitgehalten in de eerste en tweede snede van een laaggehaltige en hooggehaltige groep klonen

Groep group	Aantal klonen number of clones	Percentage ruw-eiwit / percentage crude protein					
		eerste snede/first cut			tweede snede/second cut		
		min.	max.	gem./av.	min.	max.	gem./av.
laaggehaltig low-content	7	20,5	25,8	23,1	18,8	27,4	24,6
hooggehaltig high-content	11	31,2	34,0	32,1	23,2	27,5	25,8

Table 4. The minimum, maximum and average crude protein contents in the first and the second cut of a low-content and a high-content group of clones

opzichte van het constateren van de erfelijkheid van een bepaald gehalte weleens teleurstellend zou kunnen zijn. De geniteursplanten immers kunnen gedurende de levenscyclus verschillend reageren. COOPER zag ook in de tweede snede de verschillen verdwijnen (hoofdstuk 3).

Met veroudering hebben we ook te maken in de zaaisels die ontstaan zijn uit de massale proefkruising der extreme I₁-klonen (4.2; K, L en M).

Uit de beschrijving der proeven (5.1) is te zien dat het hier gaat om de 10 m² zaaisels die voor het eerst geoogst werden in oktober 1961, daarna opnieuw in het voorjaar van 1962.

In het najaar was er geen enkel betrouwbaar gehalteverschil te constateren tussen de nakomelingschapsveldjes van de laaggehaltige I₁-klonen en van de hooggehaltige I₁-klonen. Er was toen een matige bemesting toegediend in verband met de komende winter. In het voorjaar echter werd een zeer hoge bemesting gegeven en toen kwamen de verwachte gehalteverschillen in de zaaisels wél voor de dag.

Hoewel hier seizoeninvloed natuurlijk gecombineerd is met bemestingsverschillen is het in dit verband niet van belang deze te analyseren.

Het gaat er alleen om dat opnieuw, nu in zaaisels, geconstateerd wordt dat genetische gehalteverschillen soms wel, soms niet op kunnen treden, kennelijk in afhankelijkheid van standplaats, veroudering en seizoeninvloed.

Conclusies

Bij herhaling in de tijd worden in een gelijk ontwikkelingsstadium meestal de gene-

tische verschillen opnieuw aangetroffen, maar er zijn blijkbaar omstandigheden waaronder ze niet kunnen worden vastgesteld.

Bij herhaling in een andere snede kunnen verschillen die in de eerste snede betrouwbaar optraden praktisch verdwenen zijn.

Deze constateringën gelden voor klonen, voor inteeltklonen en voor zaaisels die uit extreme inteeltklonen door massale proefkruising zijn ontstaan.

5.3 Invloed van verschillende bemestingstrappen

Voor de vaststelling hiervan zijn de gegevens beschikbaar, die verkregen zijn bij de bemonstering van de klonen op de banen, die op de betreffende bemestingsniveaus liggen (4.2; C en E). Voor deze bemestingsniveaus zijn resp. gekozen:

- a. laag niveau: 30 kg N, 33 kg P_2O_5 , 60 kg K_2O per ha
- b. midden niveau: 60 kg N, 66 kg P_2O_5 , 120 kg K_2O per ha
- c. hoog niveau: 90 kg N, 99 kg P_2O_5 , 180 kg K_2O per ha

Voorts kan ten aanzien van zaaisels in het veld, ontstaan na recombinatie (4.2; K) van I_1 -klonen, gebruik worden gemaakt van de gegevens die werden verkregen door de bemesting hiervan in het najaar met 30 kg N, 33 kg P_2O_5 en 60 kg K_2O per ha en in het voorjaar daarop volgend met 210 kg N, 210 kg P_2O_5 , 210 kg K_2O per ha (4.2; L en M). Hierbij is natuurlijk de bemestingsinvloed met de seizoeninvloed gecombineerd. In het najaar is met het oog op een te groot gevaar van uitvriezen een zeer matige bemesting toegediend, in het voorjaar een zeer hoge. Deze zaaisels zijn in het voorjaar ook in potten overgebracht, waarbij dezelfde bemesting is toegediend die gebruikt is voor de inteelt (I_1)-klonen (4.3; M), welke bemesting in N, P_2O_5 en K_2O per ha omgerekend nog hoger komt, nl. 320 kg N, 150 kg P_2O_5 , 500 kg K_2O /ha; zodat hieruit in dezelfde tijd en in dezelfde fase van ontwikkeling een conclusie kan worden getrokken uitsluitend ten aanzien van de bemestingsinvloed.

Daar de verschillen der genetische waarden van klonen t.a.v. het eiwitgehalte blijkens het voorgaande zo sterk variëren dat ze soms wel, soms nauwelijks of niet, waar te nemen zijn en daar deze klonen gebruikt moeten worden voor verervingsproeven is het voor een beter inzicht gewenst om de variabiliteit van een bepaalde kloon, waarvan het karakter is vastgesteld, nauwkeurig waar te nemen onder milieuomstandigheden, die die variabiliteit in de hand werken.

Bij de in deze studie beschreven proeven zijn daarvoor de observatie en analyse van de klonen op verschillende bemestingsniveaus met eventuele nevenbanen in 1955 en 1957 (4.2; C en E) het meest geschikt.

De proef komt hierop neer, dat in 1955 11 klonen in vier herhalingen per bemestingsniveau voorkwamen, welke vier herhalingen samengevat werden tot één monster voor de analyse. De bemestingsverschillen bleken geen significante invloed op het niveau van het eiwitgehalte uit te oefenen. Het algemeen gemiddeld eiwitgehalte in

de droge-stof per bemestingsniveau was resp. laag niveau 21,7; middelmatig niveau 21,2; hoog niveau 21,3.

Hoewel uit deze proef (zie hoofdstuk 6) significante verschillen t.a.v. de genetische waarden der klonen naar voren kwamen, waardoor de twee laaggehaltige klonen 490 en 610 en de twee hooggehaltige 616 en 629 werden uitgekozen, die bij later onderzoek bijna steeds deze posities manifesteerden, werd op deze wijze geen inzicht verkregen over de variabiliteit van de klonen zelf.

Daarom is toen volgens het procédé, beschreven onder 4.2; E, een plantschema gevolgd waarbij op elk der bemestingsbanen (= bemestingsniveaus) ieder der vier klonen (490, 610, 616 en 629) 11 maal voorkwam gerepresenteerd door telkens 6 individuen, die samen een monster vormden. De verdeling der klonen was willekeurig. De individuen der klonen waren volledig omgeven door planten van het ras Engels raaigras Heidemij, die per groep van 6 ook telkens aangrenzend bemonsterd werden.

Op deze wijze werden per bemestingsbaan 11 afzonderlijke monsters voor elke kloon en 44 Heidemijmonsters verkregen over een totale baanlengte van 70 meter en 40 cm.

Omdat bij deze aanleg het gehalte in een individu van een kloon beïnvloed zou kunnen worden door een aangrenzende plant van Heidemij zijn naast twee hoofdbemestingsbanen van 70 meter, zg. nevenbanen aangelegd waar dezelfde bemesting werd toegediend als op de hoofdbaan, maar waarbij de individuen van een kloon aaneengesloten, niet afgewisseld door Heidemijplanten werden uitgeplant. Deze waren wel aanwezig maar uitgeplant in aangrenzende gesloten rijen.

Op de nevenbanen zijn per kloon 7 monsters genomen en van Heidemij 28. Hoewel de opzet van deze nevenbanen het al of niet afwisselend groeien met Heidemijplanten was, was de ongewilde factor van een verschillende voorvrucht erbij ingeslopen. Immers de hoofdbanen waren reeds in 1955 aangelegd en de Heidemijplanten stonden er reeds twee jaar toen de 11 oorspronkelijke klonen in viervoud in 1957 verwisseld werden voor de 4 (490, 610, 616 en 629) in elfvoud (4.2; E). Maar de nevenbanen kwamen op verse grond waar het jaar tevoren aardappelen en daarvoor rogge waren geteeld.

Later zullen we op de consequenties hiervan nader terugkomen. De analysegegevens der bemonstering van de klonen en van Heidemij kunnen op verschillende wijzen worden samengevat of beschreven:

1. door een topografische grafiek
2. door frequentiecurves van de eiwitgehalten
3. door gemiddelde waarden met bijbehorende standaardafwijkingen.

De topografische grafiek

In fig. 3 is de topografie afgebeeld van de hoofdbaan met het middelste bemestingsniveau. Op de horizontale as zijn de 11 achtereenvolgende blokken van de baan uitgezet; in ieder blok vinden we 8 plaatsen, 4 voor de klonen 490, 610, 616 en 629, en 4 voor de aangrenzende Heidemij-groepjes.

Fig. 3. Topografische grafiek over de modificatie van het ruw-eiwitgehalte bij telkens 4 klonen (490, 610, 616, 629) en een ras (Heidemij) per blok op een aaneengesloten baan van 11 blokken

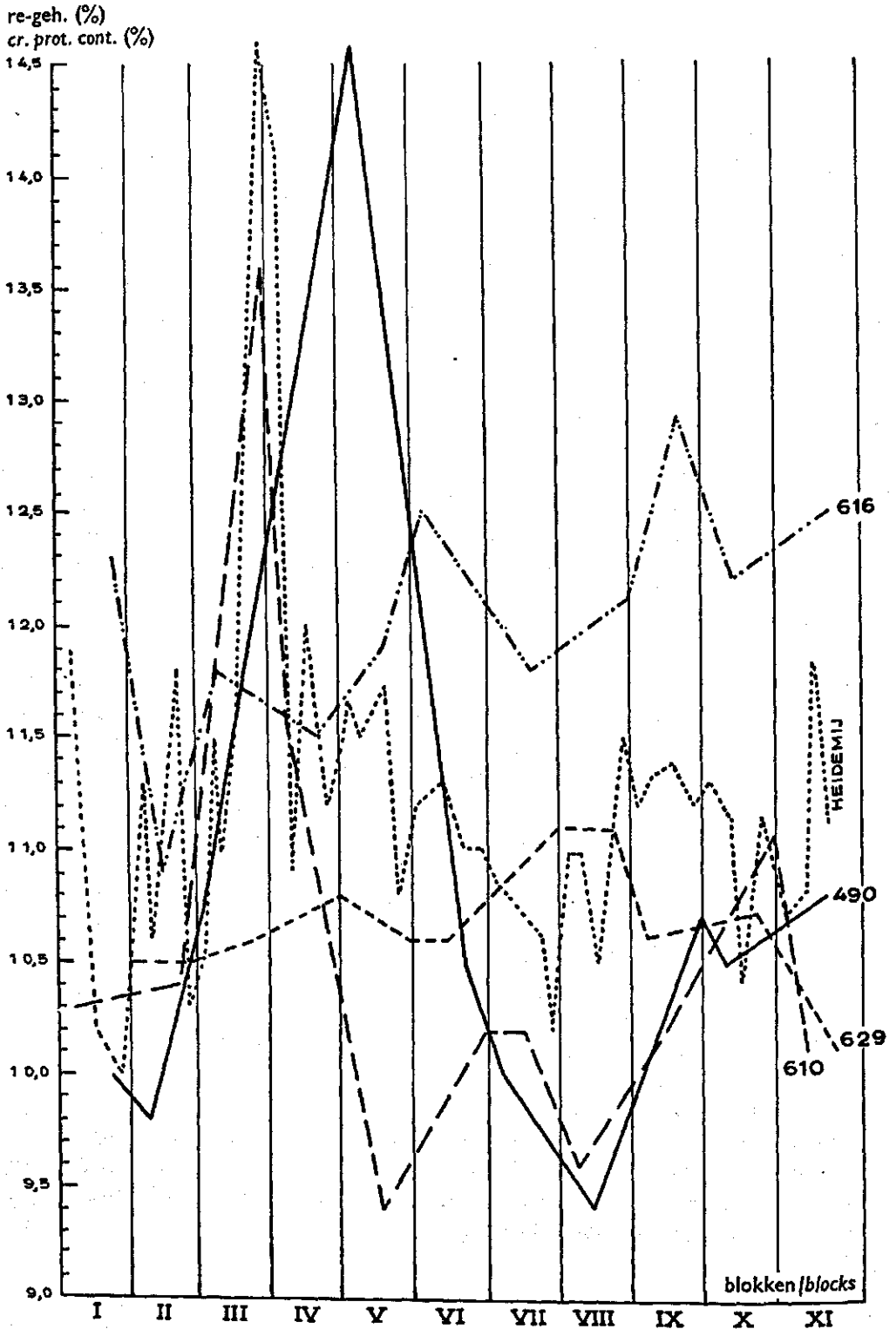


Fig. 3. Topographical graph representing the modification of the crude protein content of every 4 clones (490, 610, 616, 629) and a variety (Heidemij) per block at a serried strip of 11 blocks

Op de verticale as zijn de eiwitgehalten in de betreffende monsters uitgezet. De 11 punten die iedere kloon oplevert en de 44 punten voor Heidemij zijn verbonden.

Daar we bij de kloonmonsters te maken hebben met genetische identiteiten, mag het toch wel verbazing wekken dat de variabiliteit bij één bemestingstrap op een grond die op het oog gelijkmatig is en normaliter voor gewasproeven in een veredelingsbedrijf goed kan gebruikt worden, onder voorts gelijke omstandigheden en bij gelijktijdig in vegetatief stadium oogsten, zo grote vormen aanneemt. Hier wordt hetzelfde waargenomen wat BARBACKY (4) signaleerde bij zijn proeven met gerst.

Het blijkt dat binnen een dergelijke baan een kloon (490) gehalteverschillen kan opleveren van 9,4% tot 14,6% en desondanks betrouwbaar verschilt van een kloon (616) met gehalteverschillen van 10,9% tot 12,9%, die gemiddeld significant hogergehaltig is (zie hoofdstuk 6).

Wanneer men de linker helft van de grafiek bekijkt, schijnt het alsof daar een vruchtbaarheidsinvloed de gehalten boven het normale omhoog stoot, maar bij nauwkeurige bestudering blijkt dit niet juist te zijn. In blok V ligt het dieptepunt van kloon 610 slechts 80 cm van het hoogtepunt van kloon 480 en de Heidemijplanten die daartussen en daaromheen liggen reageren er nauwelijks op. We hebben hier te maken met strikt individuele reacties van de klonen op invloeden, die noch door het proefplan geïnduceerd, noch door kenbare omstandigheden opgeroepen worden. Voor een mogelijke verklaring zij verwezen naar 5.5.

Het beeld van fig. 3 kan op dezelfde wijze worden getoond voor de andere hoofd- en nevenbanen. In principe blijft de zaak gelijk.

Voor een selecteur die zich voorstelt te selecteren op een verborgen kwantitatieve eigenschap, zoals het eiwitgehalte en de daarmee verbonden verschijnselen (bijvoorbeeld de bakwaarde bij tarwe) en die werkt met vele objecten en slechts enkele herhalingen, zoals in een vroeg stadium van selectie vaak gebruikelijk is, zij fig. 3 een teken aan de wand.

Frequentiecurves van de eiwitgehalten

In fig. 4 werd gebruik gemaakt van een andere wijze van voorstellen, nl. door middel van frequentiecurves. Daar deze curves echter alleen zin hebben bij grotere aantallen waarnemingen is een frequentiecurve per baan niet erg betrouwbaar.

De baangemiddelden voor de eiwitgehalten zijn als volgt:

Hoofdbanen: laagniveau 12,3; middenniveau 11,1; hoogniveau 13,7

Nevenbanen: laagniveau 23,3; hoogniveau 24,6

Daar de gemiddelden in de hoofdbanen niet te veel uiteenlopen, zijn de kloongegevens over al deze banen tesamen in een frequentiecurve van eiwitgehalten verwerkt. Hetzelfde geldt voor de beide nevenbanen.

Op deze wijze kunnen frequentiecurves getekend worden voor de eiwitgehalten van de kloon 490 (apart voor hoofd- en nevenbanen), eveneens voor de klonen 610, 616 en 629 en voor het ras Engels raaigras Heidemij. Het resultaat ziet men in fig. 4.

Het is steeds enigszins riskant de gedaanten van frequentiecurves te commentariëren,

Fig. 4. Frequentie van de ruw-eiwitgehalten per kloon (490, 610, 616, 629), waargenomen in vele herhalingen resp. op hoofd- en nevenbanen en van de ruw-eiwitgehalten in de I_1 -populaties die uit zelfbestuiving van die klonen zijn ontstaan. Voorts de frequenties van de ruw-eiwitgehalten in monsters van telkens 6 planten van het ras Heidemij op hoofdbanen en nevenbanen

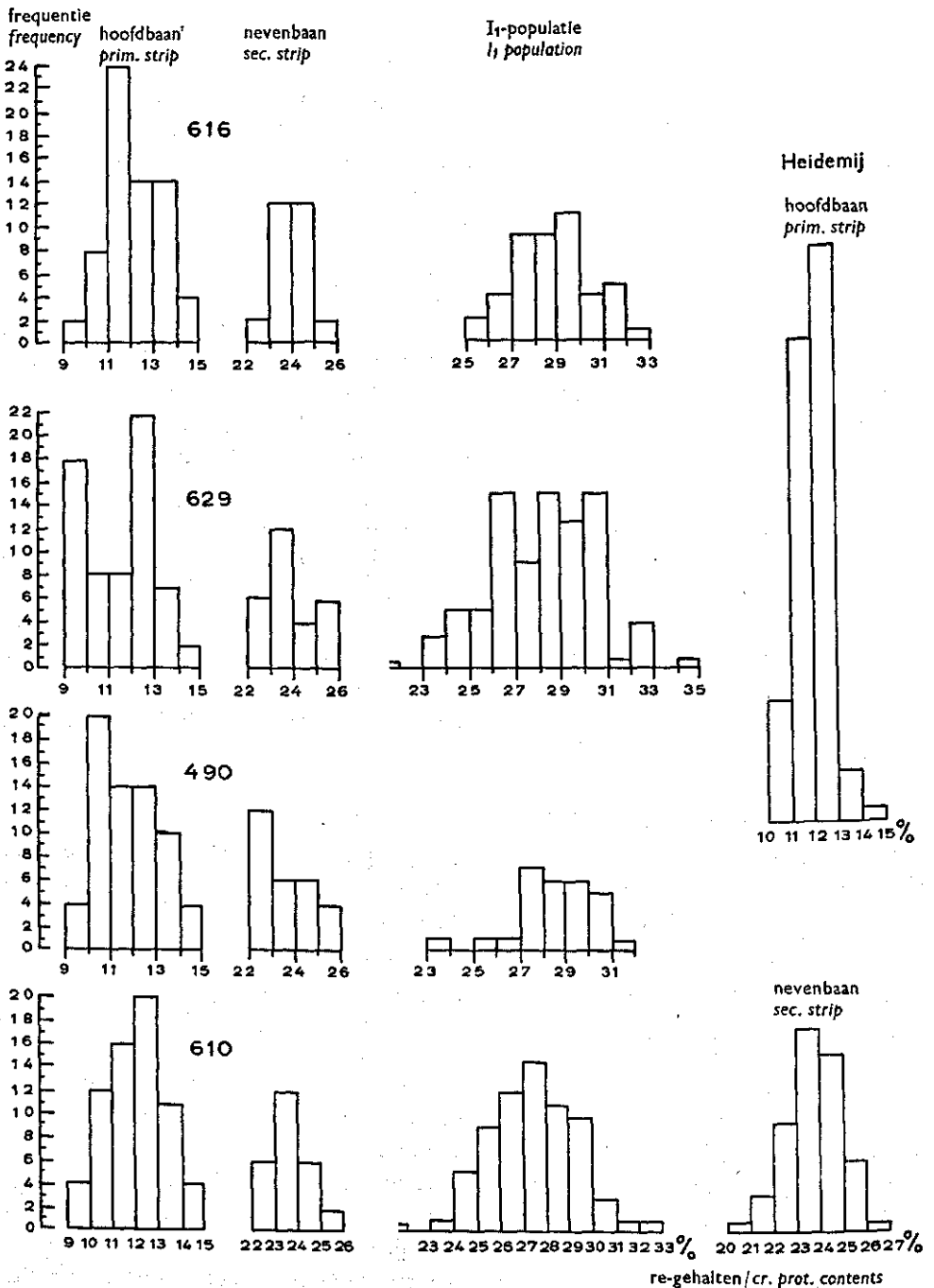


Fig. 4. Frequencies of the crude protein contents per clone (490, 610, 616, 629) in many replications on primary and secondary strips respectively and of the crude protein contents in the I_1 populations obtained by selfing from these clones. Further the frequencies of the crude protein contents in samples of 6 plants of the variety Heidemij on primary and secondary strips

want de mede door het toeval bepaalde verschillen in grootte-klassen kunnen de vorm van de curve een beeld geven dat meer suggereert dan er inzit, omdat ook dat beeld dan door het toeval wordt bepaald.

Maar bij vergelijking van deze frequentiecurves (die wat betreft hoofd- en nevenbanen een eigen karakter lijken te hebben) met de frequentiecurves van de eiwitgehalten die later zullen worden besproken (gevonden in de I_1 -klonen die door zelfbestuiving uit de klonen 490, 610, 616 en 629 zijn ontstaan), is de overeenkomst zo treffend dat het wel de moeite waard is aan de vorm nadere aandacht te schenken.

Hoewel de frequentiecurves van de I_1 -nakomelingschappen hier niet nader worden besproken, zijn ze wel in fig. 4 opgenomen om deze overeenkomst te tonen en daardoor steun te verlenen aan de hier gehuldigde opvatting dat de vorm van de frequentiecurves van hoofd- en nevenbanen individueel karakteristiek is.

Van Heidemij komen geen I_1 -planten voor. Er zijn hiervan dus slechts twee frequentiecurves, die ongeveer het beeld van de normale verdelingskromme hebben. Hetzelfde geldt voor de drie bij de klonen 610 en 616 behorende curves. Anders komt het te liggen bij de klonen 490 en 629.

Bij kloon 490 zien we een naar links afgeknotte figuur, zowel bij de hoofdbanen als bij de nevenbanen en de groep I_1 -nakomelingen. Deze laaggehaltige kloon schijnt dus naar de kant van de lage toevalsvariaties een zekere drempelwaarde te bezitten.

Dergelijke drempelwaarden, die dus aan een bepaalde zijde van de curve een opstuwung van de frequenties te zien geven zijn vaak fysiologisch verklaarbaar, doordat te verwachten extreme variaties volgens toeval niet levensvatbaar zijn.

In dit verband van het ontbreken van zeer laaggehaltige toevalsvariaties bij de genetisch laaggehaltige kloon 490 zou gedacht kunnen worden aan het minimumgehalte aan eiwit dat in een plant aanwezig moet zijn, wil zij nog kunnen groeien.

Bij kloon 629 treffen we een ander beeld. Overtuigend op de hoofdbanen, iets minder overtuigend op de nevenbanen en in de groep I_1 -nakomelingen, is echter de meer-toppigheid wel aanwijsbaar, die op een dualistisch karakter duidt. Op dit karakter wordt later opnieuw de aandacht gevestigd.

Uit deze frequentiecurves die dus in twee gevallen van de normale verdelingscurve afwijken, blijkt dat twee klonen nl. 490 en 629 op karakteristieke wijze met hun eiwitgehalten op het toeval reageren.

En uit de vergelijking van de curves van de klonen zelf en van hun I_1 -nakomelingen blijkt dat deze karakteristieke wijze ook erfelijk overgedragen wordt. Hierop wordt later teruggekomen.

Gemiddelde waarden met bijbehorende standaardafwijkingen

De derde wijze van beschouwen is die van de gemiddelde kloon-waarden met bijbehorende standaardafwijkingen (zie tabel 5).

De standaardafwijkingen zijn berekend per object met correctie voor de plaats-

verschillen. Hiertoe is ons door de vriendelijke medewerking van de heer KEULS een formule aan de hand gedaan die er als volgt uitziet:

$$\frac{1}{10} \left\{ \sum_{j=1}^n (x_{ij} - x_i)^2 - 2 \sum_{j=1}^n (x_{ij} x_{j.} - x_i x_{.j}) + \sum_{j=1}^n (x_{j.} - x_{..})^2 \right\}$$

De symbolen hebben hierin de volgende betekenis:

x_{ij} is de individuele waarneming	x_i is het objectgemiddelde voor een bepaalde serie blokken, bijvoorbeeld de blokken van een bepaalde baan (= bemestingsniveau)
$x_{.j}$ is het blokgemiddelde voor ieder blok binnen die serie	$x_{..}$ is het algemeen gemiddelde van alle waarnemingen

Daar er per hoofdbemestingsniveau 11 blokken zijn (één blok bestaande uit 4 klonen en 4 groepen Heidemijplanten) zijn er 10 vrijheidsgraden.

Voor de nevenbanen zijn er per bemestingsniveau 7 blokken en daar kan dezelfde formule gebruikt worden, maar dan met 6 graden van vrijheid.

Tabel 5. De gemiddelde ruw-eiwitgehalten van vier klonen en een ras op hoofd- en nevenbanen bij verschillende bemestingsniveaus

Kloon of ras <i>clone or variety</i>	Gem. ruw-eiwitgehalte in de droge-stof (%) <i>average crude protein content in dry matter (%)</i>	Aantal herhalingen <i>number of replications</i>	Standaardafwijking <i>standard deviation</i>
LAAG BEMESTINGSNIVEAU, HOOFDBAAN / low fertilisation level, primary strip			
490	11,3	11	0,13
610	12,1	11	0,52
616	13,0	11	0,08
629	12,8	11	0,58
Heidemij	12,1	44	0,36
gehele baan/ <i>entire strip</i>	12,3	—	—

De variatiecoëfficiënt is 6 %. De verschillen tussen de standaardafwijkingen van de klonen 490 en 616 enerzijds en 610 en 629 anderzijds zijn betrouwbaar.
The variation coefficient is 6 %. The differences between the standard deviations of the clones 490 and 616, and 610 and 629, are significant.

MIDDELSTE BEMESTINGSNIVEAU, HOOFDBAAN / medium fertilisation level, primary strip			
490	10,9	11	1,69
610	10,6	11	0,93
616	12,0	11	0,48
629	10,7	11	0,27
Heidemij	11,2	44	1,78
gehele baan/ <i>entire strip</i>	11,1	—	—

De variatiecoëfficiënt is 8 %. De verschillen tussen de standaardafwijkingen van de klonen 616 en 629 enerzijds en 490 en 610 anderzijds en met Heidemij zijn betrouwbaar.

Vervolg tabel 5 / table 5 continued

Kloon of ras <i>clone or variety</i>	Gem. ruw-eiwitgehalte in de droge stof (%) <i>average crude protein content in dry matter (%)</i>	Aantal herhalingen <i>number of replications</i>	Standaardafwijking <i>standard deviation</i>
HOOG BEMESTINGSNIVEAU, HOOFDBAAN / high fertilisation level, primary strip			
490	12,8	11	1,16
610	12,8	11	0,63
616	14,5	11	0,42
629	13,8	11	0,32
Heidemij	12,7	44	0,19
gehele baan/ <i>entire strip</i>	13,7	—	—
De variatiecoëfficiënt is 5 %. De verschillen tussen de standaardafwijkingen van de klonen 616, 629 en Heidemij ten opzichte van die van 490 zijn betrouwbaar.			
LAAG BEMESTINGSNIVEAU, NEVENBAAN / low fertilisation level, secondary strip			
490	22,7	7	0,08
610	22,3	7	0,32
616	24,3	7	0,07
629	24,0	7	0,48
Heidemij	23,0	28	0,43
gehele baan/ <i>entire strip</i>	23,3	—	—
De variatiecoëfficiënt is 3,7 %. De verschillen tussen de standaardafwijkingen van de klonen 490 en 616 enerzijds en de overige klonen en Heidemij zijn betrouwbaar.			
HOOGSTE BEMESTINGSNIVEAU, NEVENBAAN / highest fertilisation level, secondary strip			
490	24,3	7	0,30
610	23,0	7	0,58
616	25,5	7	0,73
629	25,5	7	0,50
Heidemij	24,6	28	0,71
gehele baan/ <i>entire strip</i>	24,6	—	—
De variatiecoëfficiënt is 3,3 %. De verschillen in de standaardafwijkingen tussen kloon 490 en kloon 616 kunnen betrouwbaar worden geacht, eveneens de verschillen tussen de kloon 490 en Heidemij.			

Table 5. The average crude protein contents of four clones and one variety at various fertilisation levels

Voor de betrouwbaarheid der verschillen tussen de gemiddelde kloonwaarden kan het volgende overzicht worden opgesteld (+ vrij betrouwbaar, R 0,05 — onbetrouwbaar).

verschil	laagste bemestingsniv.		middelste bemestingsniveau	hoogste bemestingsniv.	
	hoofdbaan	nevenbaan		hoofdbaan	nevenbaan
616-490	+	+	+	+	+
616-610	+	+	+	+	+
629-490	+	+	—	+	+
629-610	+	+	—	+	+
616-629	—	—	+	+	—
490-610	+	+	—	—	+

Hieruit blijkt dat het verschil tussen de hooggehaltige kloon 616 en de laaggehaltige 490 altijd aanwezig is, evenals het verschil tussen de kloon 616 en de laaggehaltige 610.

Het verschil tussen de beide laaggehaltige klonen 490 en 610 is nauwelijks vast te stellen; evenmin het verschil tussen de beide hooggehaltige klonen 629 en 616. Het verschil tussen de hooggehaltige kloon 629 en de beide laaggehaltige 490 en 610 is steeds aanwezig met uitzondering van het middelste bemestingsniveau, waar kloon 629 plotseling terugvalt tot hetzelfde peil als dat van de klonen 490 en 610.

Hierin komt het dualistische karakter van de kloon 629 tot uiting, dat reeds aangetroffen werd in de frequentiecurves van fig. 4. Uit tabel 5 blijkt dat het monster Heidemij steeds ongeveer intermediair ligt tussen de hooggehaltige en de laaggehaltige klonen.

Aan de hand van de standaardafwijkingen kan het gedrag van elke kloon op iedere baan of nevenbaan worden bekeken.

In het algemeen heeft kloon 616 een kleine standaardafwijking. Deze kloon die constant hooggehaltig is, heeft dus een rustig gedrag t.a.v. het milieu, laat er zich weinig door beïnvloeden en toont dit gedrag ook in een normale frequentieverdeling.

De hooggehaltige kloon 629 met zijn dualistisch karakter, wat blijkt uit de frequentieverdeling en uit het plotseling laaggehaltig worden op het middelste bemestingsniveau, heeft eveneens een vrij kleine standaardafwijking. Dit betekent dat de kloon zijn positie duidelijk kiest, ook in het geval de kloon in een bepaald milieu zijn gedragspatroon wijzigt en van hooggehaltig laaggehaltig wordt. De kloon is daar dan ook zeer betrouwbaar laaggehaltig.

Meer afhankelijk van de milieu-invloeden zijn de klonen 490 en 610, waarbij vooral 490 zeer abrupt op bepaalde invloeden blijkt te kunnen reageren.

Opvallend is dat een monster van telkens zes verschillende planten uit het ras Heidemij, dat op 80 klonen berustte, een standaardafwijking vertoont die zich in het algemeen niet opvallend onderscheidt van die der genetisch uniforme klonen.

Dat betekent dat men met een zo klein monster uit een vrij heterogeen ras t.o.v. de eiwitgehalten even betrouwbaar kan werken als met een kloon. Dat komt ook omdat de milieu-invloeden ver over de genetische invloeden heen grijpen.

Uit dit alles blijkt dat de reactie van een kloon op het milieu t.o.v. het eiwitgehalte individueel bepaald is.

Sommige klonen zijn betrekkelijk indifferent, andere worden er heftig door beroerd en, blijkbaar onafhankelijk hiervan, is de eigenschap om nu eens als hooggehaltig, daarna weer als laaggehaltig te reageren (kloon 629). Voor alle klonen geldt dat de milieu-variabiliteit ver over de genetische heen golft.

Wanneer alle gegevens waarop bovenstaande besprekingen gefundeerd zijn, niet worden gebaseerd op eiwitgehalten in de droge-stof, maar op die in de verse-stof verandert dit niets aan de conclusie.

De invloed van de bemesting

Men kan zich bij dit alles nu terecht afvragen: wat is eigenlijk de rol van de toegepaste bemesting? Er zijn immers in het bovenstaande talrijke variaties van de klonen

Fig. 5. De laaggehaltige moederplant 490

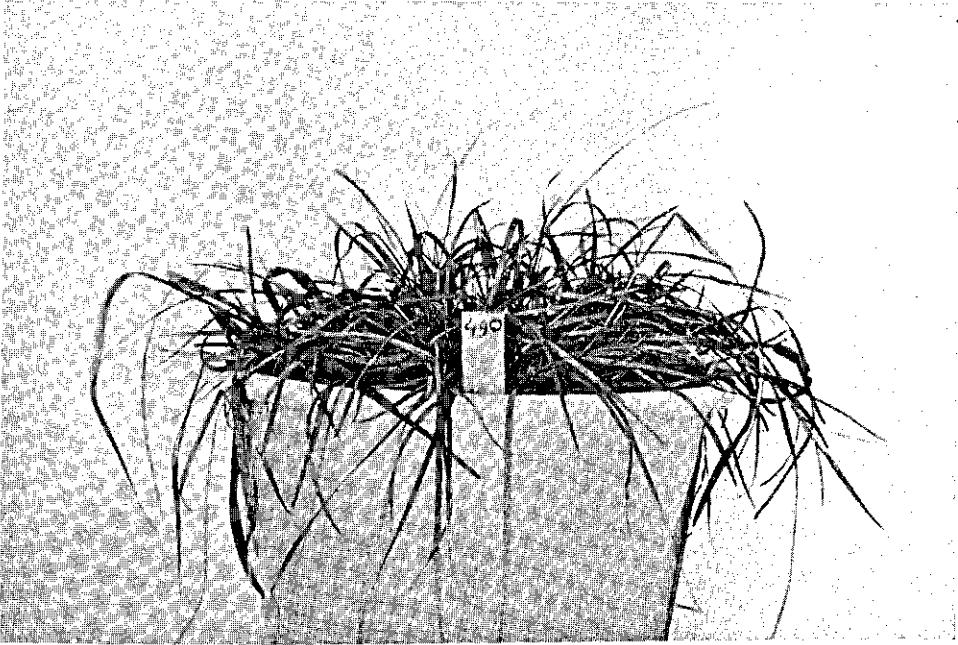


Fig. 5. The low-content mother plant 490

Fig. 6. De laaggehaltige moederplant 610

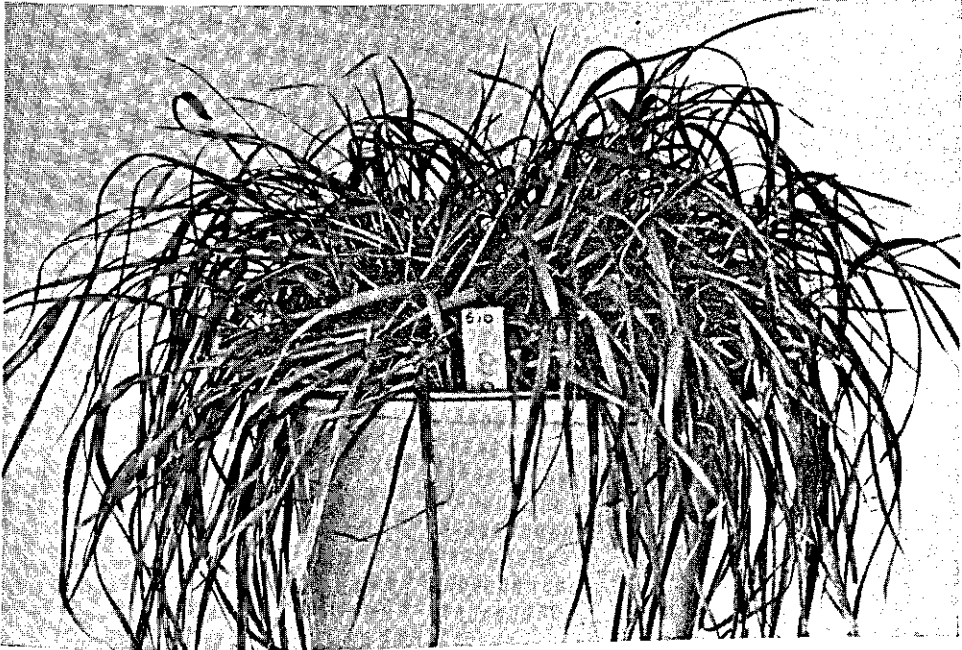


Fig. 6. The low-content mother plant 610

Fig. 7. De hooggehaltige moederplant 616

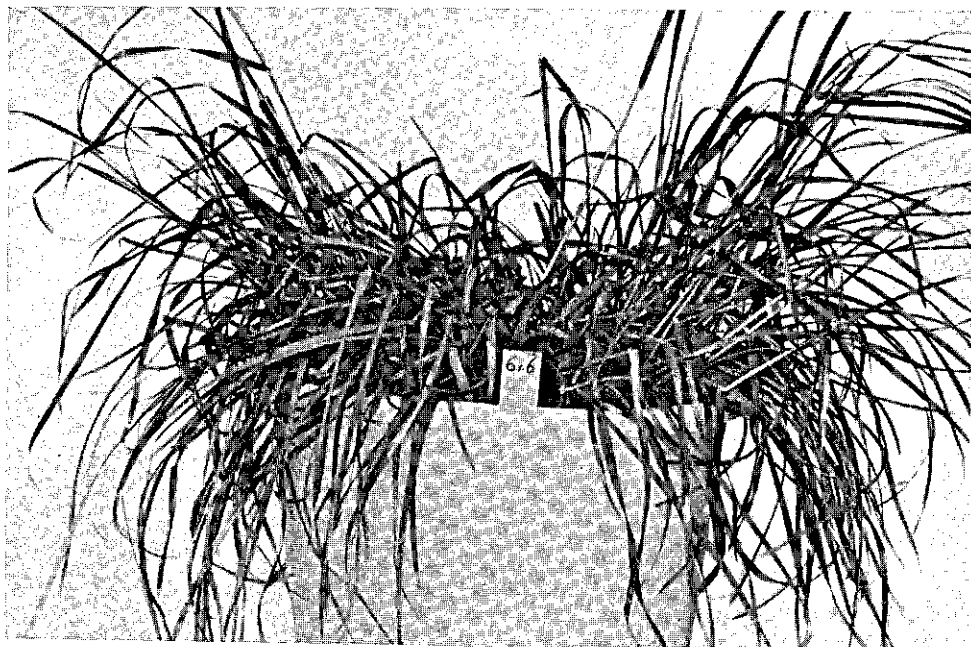


Fig. 7. The high-content mother plant 616

Fig. 8. De hooggehaltige moederplant 629

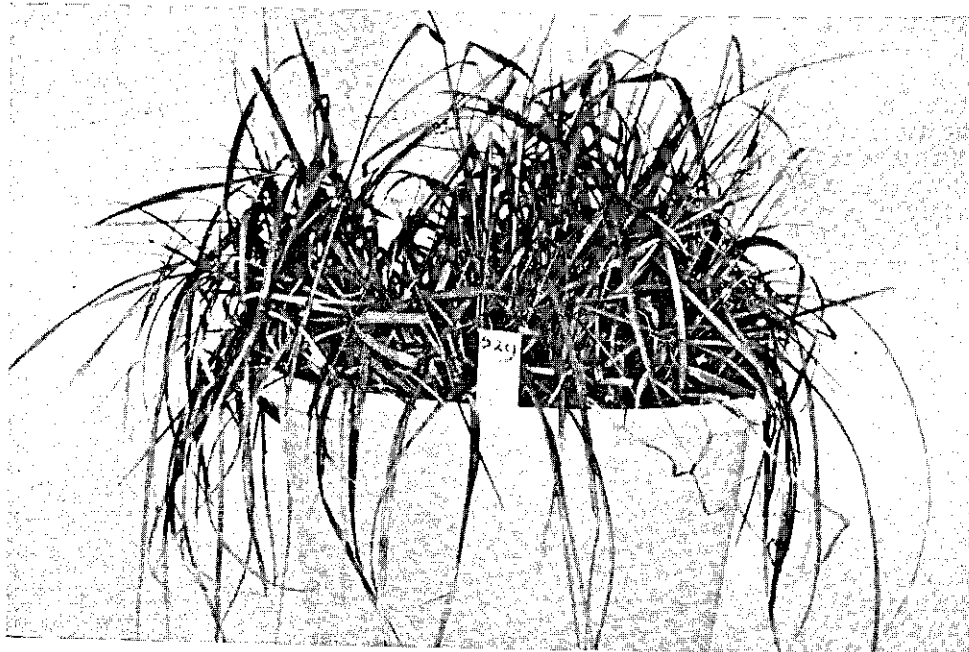


Fig. 8. The high-content mother plant 629

getoond op de hoofd- en nevenbanen van de verschillende bemestingsniveaus, maar het is nog niet duidelijk of de milieu-invloeden die al deze veranderingen induceren nu wel door de bemesting veroorzaakt zijn.

Met name is het niet erg begrijpelijk waarom kloon 629, die het blijkbaar in zijn aard heeft nu een systematisch betrouwbaar hooggehaltig te zijn en dan weer systematisch betrouwbaar laaggehaltig, deze laaggehaltige verschijningsvorm nu juist demonstreert op het middelste bemestingsniveau.

In 1955 waren bij de eenvoudige proef (zie 4.2; C en hoofdstuk 6) de bemestingsverschillen wat betreft de gemiddelde eiwitgehalten van de banen in het geheel niet significant.

Wanneer we voor die proef, waaraan nog 11 klonen deelnamen, de correlaties der eiwitgehalten in de verschillende banen bepalen, kan het volgende overzicht worden gegeven:

laag	bemestingsniveau t.o.v. midden	$r = 0,87 \pm 0,08$	$R_x = 0,72$	$R_y = 0,92$
laag	bemestingsniveau t.o.v. hoog	$r = 0,77 \pm 0,12$	$R_x = 0,50$	$R_y = 1,21$
midden	bemestingsniveau t.o.v. hoog	$r = 0,46 \pm 0,24$	$R_x = 0,30$	$R_y = 0,56$

Wanneer de toegepaste bemestingen inderdaad vruchtbaarheidsverschillen in de bedoelde richting gegeven hebben (waarop de klonen met de gehalten reageren) is dit niet erg verklaarbaar. Een correlatie van 1,00 mag niet worden verwacht omdat, zoals we hiervoor zagen, de klonen individueel verschillend op gewijzigde milieu-omstandigheden reageren, en er steeds toevallige foutenbronnen verschijnen.

Maar dan zou wel verwacht moeten worden dat naarmate de milieus meer van elkaar verschillen de correlatiecoëfficiënten lager worden. Dat is niet het geval. Wanneer nu de gemiddelde eiwitgehalten der bemestingsniveaus, die wel significant verschillen, in de beschouwing worden betrokken, kan de volgende opstelling worden gegeven:

laag	bemestingsniveau hoofdbaan	12,3
midden	bemestingsniveau hoofdbaan	11,1
hoogste	bemestingsniveau hoofdbaan	13,7
laag	bemestingsniveau nevenbaan	23,3
hoog	bemestingsniveau nevenbaan	24,6

Hier is geen duidelijk positief verband te bekennen tussen bemesting en gemiddelde gehalteverschillen. Evenmin als in 1955 is het hier gelukt om door de bemestingsstrappen daarmee corresponderende hoogteverschillen in eiwitgehalte te veroorzaken.

Het gaat te ver, te zeggen dat de bemestingsstrappen geen milieuverschillen hebben opgeroepen, maar deze kunnen niet als zodanig worden herkend. Het is daarom niet mogelijk de geconstateerde gedragingen van de verschillende klonen rechtstreeks in verband te brengen met de bemesting en alleen de vage term 'milieu-invloed', op welke wijze dan ook ontstaan, is op zijn plaats.

We komen verder wanneer de milieus in 1957 gerangschikt worden volgens gemiddelde eiwitgehalten:

hoog	bemestingsniveau nevenbaan	24,6
laag	bemestingsniveau nevenbaan	23,3
hoog	bemestingsniveau hoofdbaan	13,7
laag	bemestingsniveau hoofdbaan	12,3
midden	bemestingsniveau hoofdbaan	11,1

In 1953 werd een gemiddeld gehalte over alle klonen van 13,2% (zie tabel 2) gevonden; in 1955 niet-significante verschillen tussen de drie niveaus, hoofdbanen van resp. 21,3%, 21,7% en 21,2% (tabel 7). Er is geen lager gemiddeld eiwitniveau dan 11,1 (in 1957 in de hoofdbaan van het middelste bemestingsniveau) en juist daar wordt de systematisch hooggehaltige kloon 629 betrouwbaar laaggehaltig.

Het is onjuist de milieu-classificatie volgens gemiddeld eiwitgehalte met een vruchtbaarheid-classificatie gelijk te stellen, zoals men met een milieu-classificatie volgens bemestingstrap geneigd zou zijn te doen.

Evenals een hoog eiwitgehalte op remmingen kan wijzen, zou een laag eiwitgehalte op stimulerende, groeibevorderende, dus vruchtbaarheidsfactoren kunnen berusten.

Hierop wordt nader teruggekomen.

Hoe we het gemiddeld eiwitgehalte ook willen interpreteren, de rangschikking van de hoofdbanen die hierop wordt gegrond, wordt dan 'midden, laag, hoog'.

Als deze volgorde ook voor 1955 aangehouden wordt, aannemende dat de milieus der banen beïnvloed worden door dieper liggende oorzaken waarop de toegepaste bemestingen geen wezenlijke invloed hebben gehad, dan kunnen de correlaties tussen de klonen in 1955 in de volgorde 'midden, laag, hoog' aldus genoteerd worden:

laag t.o.v. midden: $r = 0,87$; laag t.o.v. hoog: $r = 0,77$; midden t.o.v. hoog: $0,46$

Dit nu lijkt heel wat plausibeler. De aanneming dat er wel een volgorde van milieuverschillen is, zich uitende in gemiddelde eiwitgehalten van midden, laag naar hoog, is dus wel acceptabel en er kan aan toegevoegd worden, dat de invloed der bemestingstrappen blijkbaar niet zodanig is geweest, dat deze rangorde verbroken werd.

Er zijn tijdens het onderhavige onderzoek nog enkele gegevens beschikbaar gekomen van bemestingsinvloeden bij de zaaisels, ontstaan uit de massale proefkruisingen der extreme I_1 -planten (zie 4.2; L en M). Volgens tabel 2 waren bij de oogst in oktober 1961, nadat in augustus voorafgaand gezaaid was, de totale variatiecoëfficiënten de toevalscoefficiënt gelijk. Er waren dan ook geen objectverschillen aantoonbaar. In het volgende voorjaar april waren (na toediening van de op blz. 40 genoemde veel zwaardere bemesting dan in augustus) wel objectverschillen t.o.v. het eiwitgehalte te vinden.

Daar eerder aangetoond is (5.2) dat bij een ander groeistadium gehalteverschillen kunnen verdwijnen, resp. aanwezig zijn, is het in dit geval, waar seizoeninvloed gecombineerd is met bemestingsinvloed, niet te bewijzen dat de hogere bemes-

ting de aanleiding is geweest van de nu wel waarneembare gehalteverschillen.

Maar in april zijn de zaaisels gedeeltelijk overgebracht in potten onder dezelfde omstandigheden waaronder de I₁-planten in potten hadden gestaan (zie 4.2; M en 5.3) hetgeen in feite een nog grotere bemesting betekende, maar nu in dezelfde tijd en bij dezelfde fase van ontwikkeling.

Uit deze vergelijking kan dus de regelrechte bemestingsinvloed gemeten worden. Tabel 2 (de drie laatste proeven) laat zien dat het gemiddeld eiwitgehalte in de potten (35 % voor de hooggehaltige groep en 32 % voor de laaggehaltige groep) aanzienlijk hoger ligt dan bij de proef met de zaaisels in het veld (gemiddeld 23,2 %).

De invloed van een extreem hoge bemesting is dus in het gehalte waarneembaar zoals MULDER o.a. dat in het algemeen ook vaststelde (zie ook 2.3.1). Men vindt het ook in dit materiaal terug.

Ook op dit hoge niveau blijkt het systematische verschil dat op lager niveau tussen de hoog- en laaggehaltige groepen werd vastgesteld, zich te manifesteren. De verschillen tussen 35,0 % en 32 % zijn namelijk zeer betrouwbaar. Men krijgt uit deze proeven de indruk dat de systematische verschillen in eiwitgehalte in de nakomelingschappen, die blijkbaar overgeërfd zijn, zich alleen manifesteren bij zeer hoge kunstmesttoediening en dat dit bij lage toediening niet het geval is; waarbij de aantekening moet worden gemaakt dat ook de seizoeninvloed een rol gespeeld kan hebben.

Men kan echter wel zeggen, dat in de praktijk in het najaar nooit een zo hoge bemesting wordt gegeven als in het voorjaar of als extreem in de potten, zodat de theoretische mogelijkheid van het aan de dag treden der gehalteverschillen in de nakomelingschappen eventueel van geringe praktische betekenis zal zijn.

Conclusies

De milieuvariatie golft ver over de genetische gehalteverschillen der klonen heen. Zeer grote toevallige verschillen worden in een ogenschijnlijk gelijkmatig veld onder zoveel mogelijk gelijke omstandigheden op geringe plantafstand aangetroffen.

De reacties der klonen zijn zeer individueel. Sommige klonen zijn zeer gevoelig voor toevallige milieu-invloeden, anderen reageren daar veel rustiger op. De karakteristieke wijze van reactie op het milieu openbaart zich in de vorm der frequentiecurves, welke karakteristiek erfelijk blijkt te zijn. Er komen normale, afgeknotte en meer-toppige frequentiecurves voor.

De laaggehaltige klonen 490 en 610 blijven onder macro- en micro-invloeden, ondanks de zeer verschillende reactie op het milieu, laaggehaltig. De hooggehaltige kloon 616 blijft evenzo hooggehaltig. De in het algemeen hooggehaltige kloon 629 is bij een bepaald milieu betrouwbaar laaggehaltig, verder steeds betrouwbaar hooggehaltig.

Dit bepaalde milieu blijkt het milieu te zijn met het laagste gemiddelde eiwitgehaltoniveau. Dit niveau correspondeert niet met het laagste bemestingsniveau, evenmin met het hoogste.

Het gedrag der klonen kan correlatief gezien worden met de milieu-rangschikking volgens gemiddeld eiwitgehalte. Deze rangschikking wordt niet duidelijk veroorzaakt door de bemestingstrappen.

Een monster van zes planten uit een betrekkelijk heterozygoot ras als Heidemij (rustende op 80 klonen) is vrijwel steeds intermediair in eiwitgehalte. Met een dergelijk monster kan in bovenbeschreven proeven even betrouwbaar worden gewerkt als met een kloon.

Gehalteverschillen in speciaal daarvoor gekweekte rassen zullen vermoedelijk in het voorjaar onder gunstige omstandigheden wel manifest zijn, maar het is zeer de vraag of ze ook in de tweede snede en in het najaar te voorschijn treden. Daarmee vervalt dan een groot gedeelte van hun betekenis.

5.4 Veldproeven in vergelijking met potproeven

Toen uit de topografische grafieken, zoals bijv. uit fig. 3, bleek dat een ogenschijnlijk homogeen milieu in het veld ten aanzien van de eiwitgehalten zo grote toevalafwijkingen van het gemiddelde kon bewerken, is overwogen de I_1 -klonen niet meer in het veld te toetsen maar in potten, waar men het milieu misschien beter in de hand heeft.

Nu alle resultaten bekend zijn, is het wenselijk in een terugblik te verifiëren of deze potproeven inderdaad tot een grotere nauwkeurigheid, m.a.w. tot een kleinere standaardafwijking hebben geleid. Daarvoor is een nieuwe beschouwing van tabel 2 nodig.

Uit de series der I_1 -klonen zelf, waar geen parallellen per object voorkomen, kunnen we de gezochte inzichten niet halen. Wel uit de controleproef (negende van onderen) waarbij van één object in potten vijf parallellen bestaan. De standaardafwijking blijkt daar met 1,17 groter dan waar ook in de veldproeven met de klonen op de diverse bemestingsniveaus. Dus wat dat betreft is er geen verbetering.

Nu kan men nog tegenwerpen dat hier normale klonen vergeleken worden met I_1 -klonen. Bij de laatste drie proeven echter zijn zaaisels in het veld en in potproeven vergeleken. De zaaisels zijn identiek, er is verschil in tijd van oogsten, noch in fase. Het enige verschil is de veldproef tegenover de potproef. En ook hier blijkt dat de nauwkeurigheid van de potproef, gezien de standaardafwijkingen, kleiner is dan die van de veldproef.

Conclusie

Onze determinatie van de oorzaak van de grote variabiliteit bij een bepaald schijnbaar homogeen milieu is blijkbaar niet juist. De ongelijke waterhuishouding en de minder exact bekende voedingssituatie van de veldproef die we aansprakelijk stelden voor de variabiliteit en die bij de potproef precies zijn geregeld, hebben dus niet de invloed gehad die we ervan verwachtten. De homogenisatie van de pot wordt blijkbaar teniet gedaan door andere factoren. Wellicht kunnen de onverwachte en plotselinge gehaltestijgingen die optreden wanneer een plant op grond komt waar eerder geen gras stond, de sleutel op deze kwestie vormen.

5.5 Verschil van voorvrucht

Reeds eerder werd er op gewezen (5.2.1) dat er merkwaardige eiwitgehalteverschillen kunnen ontstaan, eenvoudig doordat een plant groeit op verse grond. Hieronder wordt dus grond verstaan waar de voorvrucht niet gras was. Juist bij proeven met een overjarig gewas als Engels raaigras komt het herhaaldelijk voor dat een jaar eerder ook gras op hetzelfde veld stond.

Bij de beschouwing van het overzicht in tabel 2 zijn voor de constatering van de bedoelde gehalteverschillen het meest instructief de proeven met 1,92 m² klonen en wel met 4 objecten.

Het gaat hier dus om de verschillende bemestingsniveaus met nevenbanen (op verse grond). Wanneer de nevenbanen bemonsterd worden, ligt het eiwitgehalte gemiddeld ongeveer twee maal zo hoog als op de hoofdbanen. Duidelijk blijkt dit ook uit tabel 3.

Het gaat hierbij om eiwitgehalten in twee volkomen vergelijkbare objecten. Er is met de klonen niets anders gebeurd, dan dat een afgescheurd deel daarvan op verse grond terecht kwam, zij het dan in een enigszins ander plantverband (zie 4.2; E) Bij de oogst is er geen verschil in ontwikkelingsfase, noch in oogstdatum. Desondanks zijn de gehaltetijgingen die ontstaan door het simpele verplanten veel belangrijker dan die, welke toegeschreven moeten worden aan genetische verschillen, aan normale toevalsfactoren binnen een bepaald milieu, aan veroudering of aan bemestingsinvloeden.

Onder al deze omstandigheden worden nooit variaties van 100% aangetroffen (zie fig. 3 voor de toevalsschommelingen binnen één milieu; tabel 4 voor de veroudering en tabel 5 voor de bemestingsinvloeden).

Het heeft vrij lang geduurd vóór het duidelijk werd, waardoor verse grond een dergelijke grote invloed op het eiwitgehalte heeft. Theoretisch kan men natuurlijk ook nog aan het andere plantverband denken (zie 4.2; E), nl. aaneengesloten en afgewisseld met Heidemijplanten.

Om deze reden immers werden de nevenbanen eigenlijk aangelegd. Uitgaande van de gedachte dat buurplanten elkaar beconcurreren, zou men kunnen veronderstellen dat dit ook het geval is met de eiwitgehalten en dat er dus, afhankelijk van het feit of die buurplant een gelijksoortig kloondeel is of een totaal vreemde Heidemijplant, verschillen kunnen worden geconstateerd.

Vergelijking van alle proeven echter, zoals die voorkomen in tabel 2, brengt ons op een heel ander spoor.

Er zijn namelijk omstandigheden geweest, waarbij het gemiddeld eiwitgehalte tot ruim 20% of meer omhoog liep en andere omstandigheden waarbij het gehalte niet hoger kwam dan ongeveer 12%. En nu is het opvallend dat daar waar zaaisels of klonen in het tweede of in een later jaar na uitplanten bemonsterd waren of daar waar eerder reeds grasplanten hadden gestaan, het gehalte laag bleef en dat daar, waar zaaisels of klonen op verse grond in hetzelfde jaar van uitzaai of uitplanten werden bemonsterd, het gehalte hoog was. Tabel 6, afgeleid uit tabel 2 moge dit aantonen.

Er is slechts één uitzondering en dat zijn de zaaisels uit massale proefkruising, uitgezaaid in augustus 1961 en geoogst in april 1962. Deze hebben eveneens een hoog eiwitgehalte, maar hier werd ook een zeer hoge bemesting toegediend (zie 5.3).

Verder kan dus zeer duidelijk worden vastgesteld dat zaaisels of klonen in hetzelfde jaar van uitzaai of uitplant geoogst (mits daar eerder geen gras stond) veel hogere

Tabel 6. Gemiddelde ruw-eiwitgehalten van klonen in verschillende milieus

	Gemiddeld ruw-eiwitgehalte (%) average crude protein content (%)
Klonen; geplant april 1951, geoogst mei 1953 <i>clones; planted May 1951, harvested May 1953</i>	13,2
Zaaisels; gezaaid mei 1952, geoogst mei 1953 <i>seedlings; sown May 1952, harvested May 1953</i>	14,2
Klonen; geplant maart 1957 (op voorvrucht gras), geoogst mei 1957 <i>clones; planted March 1957 (grass as previous crop), harvested May 1957</i>	12,3
Klonen, idem <i>clones, ditto</i>	11,1
Klonen, idem <i>clones, ditto</i>	13,7
Zaaisels; gezaaid sept. 1958, geoogst mei 1959 <i>seedlings; sown Sept. 1958, harvested May 1959</i>	11,6
Klonen; nieuw geplant maart 1955, geoogst mei 1955 <i>clones; newly planted March 1955, harvested May 1955</i>	21,4
Klonen, idem 1957 <i>clones, ditto 1957</i>	23,3
Klonen, idem <i>clones, ditto</i>	24,6
I ₁ -klonen; nieuw geplant maart 1959, geoogst mei 1959 <i>I₁ clones; newly planted March 1959, harvested May 1959</i>	29,2
I ₁ -klonen, idem <i>I₁ clones, ditto</i>	28,6
I ₁ -klonen, idem <i>I₁ clones, ditto</i>	28,8
I ₁ -klonen, idem <i>I₁ clones, ditto</i>	27,3
I ₁ -klonen, idem <i>I₁ clones, ditto</i>	28,1
Zaaisels uit massale proefkruising; gezaaid aug. '61, geoogst okt. '61 <i>seedlings from poly cross; sown Aug. '61, harvested Oct. '61</i>	23,6
Zaaisels; in potten overgeplant in voorjaar '62, geoogst april '62 <i>seedlings; potted in spring '62, harvested April '62</i>	35,0
Zaaisels, idem <i>seedlings, ditto</i>	32,0

Table 6. Average crude protein contents of clones in various environments

eiwitgehalten vertonen dan zaaisels of klonen die ofwel in volgende jaren opnieuw worden bemonsterd, ofwel daar groeien waar vorige jaren ook reeds gras had gestaan.

Dit is merkwaardig. Alle opzettelijk teweeggebrachte invloeden hebben minder te betekenen dan het eenvoudig verplaatsen van een plant; de genetische verschillen vallen hierbij geheel in het niet.

Ze zijn weliswaar op ieder niveau te herkennen (zie 5.3) maar ze zijn relatief vrij onbelangrijk ten opzichte van wat op deze wijze kan worden bereikt.

Het andere plantverband dat op de nevenbanen in 1957 werd toegepast mag o.i. in het licht van het bovenstaande als niet-relevant worden beschouwd.

Nu rijst de vraag wat eigenlijk de oorzaak is van de grote gehalteverschillen die ontstaan door verplaatsen op verse grond. Een ogenblik is hierbij aan aaltjes gedacht, die zouden optreden wanneer de planten langer blijven staan of op grond komen waar eerder ook gras stond, maar een onderzoek van Oostenbrink (niet gepubliceerd) heeft deze gedachte niet kunnen bevestigen.

Een nauwkeurige observatie van de planten kan echter een verklaring geven die meer waarschijnlijk is. Bij het beschrijven van allerlei invloeden die zich (bij het hier bestudeerde gedrag van klonen en zaaisels) ten aanzien van het eiwitgehalte kunnen voordoen, is een belangrijke modificatiefactor niet in de beschouwingen betrokken.

Wanneer een plant namelijk wordt gekloond, dus gescheurd, zijn alle deelstukken niet even groot. Door zeer veel deelstukken te maken, wordt de toevallige invloed hiervan geëlimineerd, maar als men goed oplet, kan men zien dat het ene deelstuk veel voorspoediger groeit dan het andere.

Er is geen sprake van dat het in een ander ontwikkelingsstadium komt, maar het vormt een groter aantal spruiten en het vormt meer massa.

Overall nu waar zo'n deelstuk gunstiger groeiomstandigheden vindt, gaat het weelderiger groeien. Dat is dus daar waar het geen wortelconcurrentie heeft van buurplanten, die er reeds langer staan en wat dat betreft een voorsprong hebben; of daar waar eerder geen verwante planten stonden die de grond reeds eenzijdig hebben uitgeput, of m.a.w. overall waar het deelstuk terecht komt op wat wij genoemd hebben 'verse grond'.

Deze hernieuwde groei vindt zijn aanzet in een nieuwe aanzuiging van stikstof waardoor het gehalte aanmerkelijk stijgt. Vermoedelijk zal, wanneer deze stikstof geassimileerd is en tot verhoogde produktie aanleiding heeft gegeven, het gehalte weer dalen. In het vroege vegetatieve stadium echter, waarin bij al deze proeven geogost is, worden de hoge gehalten nog aangetroffen.

O.i. is dit de reden, waarom binnen een bepaald milieu op zeer korte afstand van elkaar nog zulke grote schommelingen in eiwitgehalte kunnen optreden, zoals dat uit fig. 3 blijkt en werd beschreven in 5.3.

Het gaat er dus om of een deelstukje van een kloon, binnen de mogelijkheden door het milieu bepaald, toevallig meer of minder gunstige omstandigheden heeft gevonden voor de spruitvorming.

De planten op de nevenbanen, waar dit verschijnsel het eerst werd bemerkt, zijn ook weelderiger van groei dan die op de hoofdbanen.

Hier blijkt dus een hoger eiwitgehalte met een verhoogde produktiviteit samen te gaan en het lijkt dat het ideaalbeeld van de selectie op hoog eiwitgehalte dus dubbel voordelig zal kunnen zijn, omdat daarbij een verhoogd gehalte en een verhoogde droge-stofproduktie dubbel resulteren in een nog grotere eiwitopbrengst.

Later zullen we zien dat deze opvatting te optimistisch is, maar in dit stadium moet gedacht worden aan de richtlijnen voor selectie op eiwit door SCHWANITZ en SCHWARZE (zie hoofdstuk 3).

Zij hebben duidelijk ingezien dat men naar een milieugegeven kan zoeken, waarbij hoge opbrengst en hoog eiwitgehalte fysiologisch te verenigen zijn, uitgaande van de gedachte dat de plant pas dan royaal met stikstof mag zijn, wanneer dit niet ten koste gaat van de produktie. Eerst wanneer de plant de stikstof niet meer gebruikt voor opbrengstverhoging kan een verhoging van eiwitgehalte optreden en dit omslagpunt wordt niet alleen bepaald door het milieu, maar ook door de genetische constitutie der plant. Aldus de opvattingen van SCHWANITZ en SCHWARZE.

Zo komen zij tot de volgende uitspraak (33): "Hoher Ertrag und hoher Eiweisgehalt lassen sich in einer Pflanze nur unter Aussenbedingungen vereinigen, die einen hohen Ertrag begünstigen, also bei günstiger Wasser- und Nährstoffversorgung. Demgemäss muss also die Züchtung unter solchen Aussenbedingungen vorgenommen werden."

SCHWANITZ en SCHWARZE denken voortdurend aan eiwitopbrengsten en dat is juist. Hoge gehalten op zichzelf zijn helemaal niet belangrijk. Pas wanneer de droge-stof- produktie bij dit hoge gehalte gelijk blijft of liever nog stijgt, wordt een en ander interessant.

In deze studie is de factor 'opbrengst' tot nu toe niet in het geding geweest, hoe belangrijk deze op zichzelf ook is. Daar nog zo weinig bekend was over de genetische eiwitgehalte-verschillen en hun reactie op het milieu was hier wel veel voor te zeggen.

Maar nu de vier uitgangsklonen, waarmee verder gewerkt zal worden om de vererving vast te stellen, van alle kanten bekeken zijn, kan de factor opbrengst voor zover deze met eiwitgehalte samenhangt niet langer onbesproken blijven.

In de volgende hoofdstukken zal hierover dus gesproken worden. Bij de twee hooggehaltige klonen 616 en 629 en de twee laaggehaltige klonen 490 en 610 kan de opbrengst ook in ogenschouw worden genomen, maar deze kan, gebaseerd op een zo klein aantal gegevens, geen conclusie toelaten die algemeen geldig is.

Volgens tabel 8 (hoofdstuk 6) is de ene laaggehaltige kloon 490 een zwakke groeier met lage produktie en de andere laaggehaltige kloon 610 een krachtige groeier met een flinke produktie; van de beide hooggehaltige klonen 616 en 629 kan alleen maar worden gezegd dat ze normaal groeien en normaal produceren.

Pas bij de proeven over de vererving waarbij veel meer genetisch verschillend materiaal zal ontstaan, heeft het zin correlaties vast te stellen tussen gehalteverschillen en produktiviteitsverschillen. Dan zal waarschijnlijk meer over de richtlijn van SCHWANITZ en SCHWARZE gezegd kunnen worden, maar intussen is het de moeite waard om aan de hand van de tot nu toe gedemonstreerde feiten na te gaan wat er geldig is in deze hoofdzakelijk op theoretische overwegingen gebaseerde richtlijn.

Wanneer zij nu schrijven dat hoge opbrengst en hoog eiwitgehalte zich alleen onder optimale voorwaarden laten combineren, dan moet gezegd worden dat dit voor alle materiaal op verse grond geplaatst inderdaad opgaat, zowel voor het genetisch hooggehaltig als laaggehaltig materiaal. We hebben hier dus te maken met een typische milieu-invloed, met een typisch fenotype.

Zo echter hebben SCHWANITZ en SCHWARZE het niet bedoeld. Zij hebben een genetische bepaaldheid gezocht, die zich alleen onder optimale omstandigheden laat

vangen. Vandaar hun raad dat men 'demgemäss' onder die omstandigheden moet selecteren. O.i. is hun hele betoog, zonder dat zij dit hebben vermoed, gebouwd op modificaties; en verliest daardoor het fundament.

Het blijkt immers dat zowel op het optimale niveau, als we het zo mogen noemen 'op de verse grond', als op het suboptimale niveau de genetisch eiwitgehalteverschillen in de klonen (hooggehaltig en laaggehaltig) in het algemeen blijven te constateren.

En wat de produktiviteit betreft, een kloon als nr. 490 die moeilijk groeit, ontwikkelt zich onder optimale omstandigheden wel absoluut beter, maar relatief toch zeker niet beter dan een kloon als nr. 610, die vlot groeit. En datzelfde geldt ook voor de beide hooggehaltige klonen 616 en 629.

De type-beschrijving die in tabel 8 van het groeitype wordt gegeven, geldt voor alle niveaus.

De selectie kan o.i. dan ook op alle niveaus, optimale en suboptimale, uitgevoerd worden. Het moet voor de praktijk natuurlijk van belang worden geacht, wanneer men bij die selectie hooggehalte aan hoge produktiviteit weet te paren.

Wat dat betreft hebben SCHWARZE en SCHWANITZ gelijk en verdienen klonen als nr. 616 en 629 de voorkeur boven 490. Of zij ook de voorkeur verdienen boven 610 is de vraag en kan hier niet worden beantwoord. Of verder de eigenschappen: hoge produktie en hoog ruw-eiwitgehalte genetisch bezien onafhankelijk van elkaar vererven is een vraag waarop SCHWARZE en SCHWANITZ geen antwoord geven. Deze kwestie zal in de loop van dit onderzoek verder besproken dienen te worden.

Conclusies

Het verplaatsen van een kloon naar grond waar eerder geen gras stond, kan het eiwitgehalte veel sterker doen stijgen dan vermoedelijk door genetische factoren, door bemesting of door faseverschuiving kunnen worden bereikt.

Dit is een kwestie van hernieuwde spruitvorming onder gunstiger levensomstandigheden.

Niet alleen het gehalte stijgt dus maar ook de totale produktie aan verse massa. Hierdoor kunnen vermoedelijk de grote toevalsvariaties in het gehalte worden verklaard, die bij gescheurde klonen in een ogenschijnlijk vrij homogeen milieu optreden.

SCHWANITZ en SCHWARZE hebben bij hun advies om onder optimale omstandigheden juist op hoog eiwitgehalte en hoge ruw-eiwitproduktiviteit te selecteren niet begrepen dat die combinatie daar door het milieu wordt opgeroepen en bij alle genotypen, bij hoog- en laaggehaltige optreedt.

6 De genetische variabiliteit

Het gaat hierbij om de vraag of er tussen klonen van Engels raaigras, die in dezelfde ontwikkelingsfase verkeren, gehalteverschillen worden aangetroffen die uitsluitend op het idiootype van de kloon kunnen worden teruggevoerd.

Bij alle voorgaand onderzoek over de variabiliteit tussen klonen, tussen constante genotypen dus, is gesproken van genetische verschillen wanneer bij de bestudeerde milieus, onder gelijke omstandigheden, bepaalde malen significante verschillen in eiwitgehalte voor de dag kwamen.

Er zijn dus langdurige (misschien wel blijvende) fenotypische verschillen tussen de klonen aanwezig, maar het is nog niet te zeggen, wat de precieze oorzaak of de aard van de verschillen is; of deze moeten worden gezocht in het genotype, het plasmotype, of dat er zoiets als blijvende modificatie of moederlijke nawerking in het geding is.

Gemakshalve en op het normale spraakgebruik aansluitend werd en wordt hier de term 'genetische verschillen' gebruikt.

Het is uit het voorgaande duidelijk dat het nodig zal zijn alle bekende toevalsfluctuaties die schuilen in het groeistadium, in de veroudering en in het milieu uit te schakelen.

In de proef kunnen dus slechts individuen worden opgenomen, waarvan op grond van de waarneming vaststaat dat ze in een gelijk ontwikkelingsstadium verkeren. Bij grassen immers, waar, zelfs binnen één selectie, zoveel overgangen zijn van vroeg-, later- en laat-bloeiende typen, zal ieder betoog over de genetische variatie zijn kracht verliezen wanneer niet op voorhand vaststaat dat deze niet gekoppeld is aan een verschil in schietdatum. Want het is uit de onderzoekingen van VAN DE SANDE BAKHUYZEN (31) en zijn opvolgers voldoende gebleken dat verschil in schietdatum, een verschil in kritische periode van de knik betekent en dan noodzakelijkerwijs een systematisch verschil oproept. Het is juist de bedoeling van dit variabiliteitsonderzoek te weten of er bij een gelijke kritische periode nog genetische ruw-eiwitgehalteverschillen bestaan. Of dit verschil wezenlijk is voor de vererving is een ander punt. Uit de onderzoekingen van COOPER in Aberysthwyth (hoofdstuk 3) zou men concluderen van niet.

Er zijn verschillende methoden beschreven om de juiste ontwikkelingsfase vast te stellen.

Zeer gedetailleerd is dit gedaan door KLEINENDORST en TEN HOVE (17) waarbij een duidelijk onderscheid wordt gemaakt tussen de stadia van aanleg der primaire,

secondaire en tertiaire primordia. Hiervoor zijn echter prepareernaalden en een binoculairmicroscop vereist. Voor werk in het veld met vele planten is deze methode niet bruikbaar. Daarom is voor het bepalen van de fysiologische gelijkheid van de te onderzoeken planten gebruik gemaakt van de schietdatum. Slechts planten die, al zijn ze ook alle afkomstig uit één weidetype en één selectie binnen dat type (Engels raaigras C.I.V.), een gelijke schietdatum hebben, d.w.z. waarvan op dezelfde dag drie aren zichtbaar zijn, worden als proefobject gebruikt en wel in vegetatief stadium. Mocht er dan, ongemerkt voor het oog, fase-overgang plaatsvinden, dan ligt deze ook voor deze objecten gelijk. Ter controle wordt gebruik gemaakt van de mogelijkheid die VAN DOBBEN heeft gevonden (2.2) om tegelijkertijd de ruw-eiwitgehalten te bepalen in de verse-stof en in de droge-stof. Bij divergentie der conclusies is de fase-overgang een feit geworden.

Op deze wijze zijn uit 300 klonen van de C.I.V.-selectie uit Engels raaigras (weidetype) 28 klonen uitgekozen die dezelfde fysiologische cyclus hebben, zodat niet het risico wordt gelopen, dat na veel onderzoek komt vast te staan dat de gehaltesverschillen verband houden met verschil in schietdatum (zie 4.2; A).

Wat de gelijke milieu-omstandigheden betreft, achteraf kennismemende van de wijze waarop COOPER zijn planten eenzelfde 'nutritional history' meegaf, geloven wij dat deze methode wel de meest perfecte is. Het is jammer dat hij niet zo scherp heeft gelet op de gelijke fysiologische ouderdom van de planten.

Volgens COOPER (6) zijn er significante verschillen tussen de genotypen, maar er kon bij diens proeven nog twijfel rijzen of de ontwikkelingsfasen van deze typen wel gelijk waren.

Over het feit dat de verschillen niet zijn veroorzaakt door verschillen in voedingsniveau behoeft geen twijfel te bestaan.

Bij onze eigen proeven zijn de ontwikkelingsfasen eveneens gelijk, maar de verschillen in voedingsniveau kunnen alleen geëlimineerd worden door de nodige herhalingen.

Het resultaat van de bemonstering van de 28 gekozen klonen was dat de eiwitgehalten in de droge-stof varieerden van 10,9 tot 17,6% (gem. 13,2%) en in de zaaizels van 11,7% tot 20,8% (gem. 14,2%), eveneens in de droge-stof.

Er kan een verband getekend worden tussen het ruw-eiwitgehalte in de kloon en in de uit vrije bestuiving gewonnen nakomelingschap (fig. 9). De klonen die in deze grafiek een min of meer extreme positie hebben werden voor verdere selectie gebruikt. Uit de correlatieberekening ($r = 0,52$) immers blijkt dat verder selecteren zin heeft (7.2).

Het ging hierbij om elf klonen, die onderzocht zijn zoals bij 4.2; B werd vermeld. De resultaten van de bemonstering op ruw-eiwitgehalte, zowel in de droge- als in de verse-stof zijn als volgt: (tabel 7)

Uit een variantie-analyse met breedtetoets volgens KEULS (16) blijkt dat de bemestingsniveauverschillen niet significant zijn maar dat de objectverschillen dit wél zijn. Zeer betrouwbaar verschillen de laaggehaltige klonen 490 en 610 enerzijds, met gehalten in de droge-stof gemiddeld over de drie bemestingsniveaus van 19,7% en 20,1% (in de verse-stof 3,87% en 3,78%) en anderzijds de hooggehaltige klonen 616

en 629 met gehalten in de droge-stof gemiddeld over de drie bemestingsniveaus van 24,2 % en 24,5 % (in de verse-stof 4,83 % en 4,79 %). De variatiecoëfficiënt, nl. de standaardafwijking in procenten van het gemiddelde, is 5 %.

Tabel 7. De minimale, maximale en gemiddelde ruw-eiwitgehalten (in %) in droge- en verse-stof bij verschillende bemestingsniveaus

Bemestingsniveau fertilisation level	Droge stof/dry matter			Verse-stof/fresh matter		
	min.	max.	gem./av.	min.	max.	gem./av.
laag/low	18,4	25,2	21,7	3,74	4,93	4,29
midden/medium	19,4	25,2	21,2	2,79	4,77	4,09
hoog/high	18,9	23,8	21,3	3,81	4,87	4,26

Table 7. The minimum, maximum and average crude protein contents in dry and fresh matter at various fertilisation levels

Hieruit blijkt dat er betrouwbare verschillen in ruw-eiwitgehalten te vinden zijn tussen klonen van Engels raaigras wanneer milieu-invloeden, zowel van standplaats- als van faseverschillen, worden uitgeschakeld.

Relatief zijn deze verschillen in deze proef dus nogal groot, nl. vier op twintig of twintig ten honderd. Wat COOPER constateerde, kan dus worden bevestigd, zelfs wanneer men a priori uitgaat van een gelijke ontwikkelingsfase.

Voorzover in het vervolg gesproken wordt over twee genetisch laaggehaltige klonen worden de nummers 490 en 610 bedoeld en als hooggehaltige komen de nummers 616 en 629 te figureren. Toch is de wetenschap dat er dus genetische verschillen bestaan op zichzelf niet voldoende.

Zoals we in hoofdstuk 3 reeds hebben gezien bij het onderzoek naar de erfelijke overdracht van een hoog- of laaggehalte door COOPER en bij ons eigen onderzoek (zie 5.2) is het verschil soms wel aanwezig en soms niet.

Het ligt natuurlijk voor de hand om na te gaan hoe de kloongehalten van deze extreme klonen, waarvan de verschillen nu betrouwbaar vaststaan, bij de allereerste oriënterende bemonstering in 1953 waren.

Het blijkt dan dat deze gehalten in de reeks, die liep van 10,9 % tot 17,6 % er als volgt uitzagen: no. 490: 11,9 %; no. 610: 14,8 %; no. 629: 15,4 % en no. 616: 16,3 %. De rangorde was dus wel dezelfde maar de onderlinge afstanden lagen geheel anders, hetgeen natuurlijk niet verwonderlijk is, gezien de veel mindere betrouwbaarheid der toen gevonden gehalten.

Veel meer houvast heeft men aan de gehaltecijfers die uit het variabiliteitsonderzoek naar voren komen, nadat de 4 extreme klonen, de nrs. 490, 610, 616 en 629 zo sterk waren gedeeld dat in 1957 van iedere kloon per bemestingsniveau 11 herhalingen werden aangetroffen en nog eens 7 herhalingen per nevenbaan op verse grond (zie 4.2; E), waarbij van iedere herhaling een gehaltemonster bepaald is.

In detail zijn deze gegevens besproken onder 5.3. Recapitulerend is het de moeite

waard er op te wijzen dat in 6 van de 7 reeksen de hooggehaltige klonen hooggehaltig bleven en de laaggehaltige laaggehaltig; met één uitzondering waarbij een hooggehaltige kloon (no. 629) zeer betrouwbaar bij 11 herhalingen als laaggehaltig te voorschijn kwam.

Bij de proeven in 1957 bleken er duidelijk twee gehalteniveaus te bestaan, één niveau van ongeveer 12 à 13 %, zoals in 1953 en één niveau van ongeveer 23 à 24 %, zoals in 1955 (zie tabel 5). Bij het hoger niveau was het genetische verschil tussen de laaggehaltige en hooggehaltige klonen echter slechts relatief acht ten honderd in plaats van twintig ten honderd zoals in 1955. Bij het lager niveau was dit verschil ongeveer negen ten honderd.

Wanneer bovenstaande gegevens worden nagerekend aan de hand van gehalten in de verse-stof, in plaats van in de droge-stof, behoeven de conclusies niet gewijzigd te worden.

Karakterisering der geselecteerde laag- en hooggehaltige klonen

Daar de beide laaggehaltige klonen 490 en 610 en de beide hooggehaltige klonen 616 en 629 de bouwstenen vormen waarop ons verder onderzoek naar de vererving berust, is het wenselijk een karakterisering van deze klonen te geven aan de hand van het besprokene in de hoofdstukken 5 en 6 (zie ook de fig. 5, 6, 7 en 8).

Tabel 8. Karakteristieken van twee laaggehaltige (490, 610) en twee hooggehaltige klonen (616, 629)

	Kloon <i>clone</i> 490	Kloon <i>clone</i> 610	Kloon <i>clone</i> 616	Kloon <i>clone</i> 629
algemeen voorkomen <i>general appearance</i>	zwak <i>weak</i>	krachtig <i>vigorous</i>	normaal <i>normal</i>	normaal <i>normal</i>
bladrijckdom <i>foliage</i>	bladarm <i>deficient</i>	bladrijk <i>abundant</i>	tamelijk bladrijk <i>fairly abundant</i>	bladrijk <i>abundant</i>
uitstoeling <i>tillering</i>	zwak <i>weak</i>	krachtig <i>vigorous</i>	normaal <i>normal</i>	normaal <i>normal</i>
type <i>type</i>	liggend <i>prostrate</i>	half opgaand <i>semi-erect</i>	half opgaand <i>semi-erect</i>	half opgaand <i>semi-erect</i>
kleur	normaal	normaal	normaal	zeer donker groen <i>very dark green</i>
<i>colour</i>	<i>normal</i>	<i>normal</i>	<i>normal</i>	<i>very dark green</i>
ruw-eiwitgehalte <i>crude protein content</i>	laag <i>low</i>	laag <i>low</i>	hoog <i>high</i>	veelal hoog <i>usually high</i>
gevoeligheid milieu (standaardafwijking) <i>sensitivity to environment (standard deviation)</i>	zeer gevoelig <i>very sensitive</i>	gevoelig <i>sensitive</i>	niet gevoelig <i>insensitive</i>	niet gevoelig <i>insensitive</i>
toevalsfrequentieverdeling <i>random frequency distribution</i>	afgeknot <i>flattened</i>	normaal <i>normal</i>	normaal <i>normal</i>	meer-toppig <i>more peaks</i>
constantheid gehaltepositie <i>constancy of content range</i>	groot <i>high</i>	groot <i>high</i>	groot <i>high</i>	matig <i>moderate</i>

Table 8. Characteristics of two low-content (490, 610) and two high-content clones (616, 629)

Uit dit overzicht blijkt dat een kloon geanalyseerd kan worden t.a.v. tal van eigenschappen, die van belang kunnen zijn voor de geniteurswaarde: voor het overdragen van een bepaald genetisch niveau van ruw-eiwitgehalte, zodat een voorspelling over het gedrag voorlopig wel zeer moeilijk zal zijn.

Voorts blijkt dat verschillende karaktertrekken, die ogenschijnlijk verwant zijn, onafhankelijk van elkaar kunnen voorkomen. Zo zou men kunnen vermoeden dat een dualistisch karakter t.o.v. het ruw-eiwitgehalte, zoals dat aangetroffen wordt bij kloon 629, samengaat met een grote milieugevoeligheid (standaardafwijking). Dit nu blijkt niet zo te zijn. Omgekeerd bezit een kloon als 490 een grote milieugevoeligheid maar behoudt de constante gehaltepositie 'laag'.

Conclusies

Er bestaan genetische verschillen tussen de ruw-eiwitgehalten in planten van Engels raaigras die in dezelfde fase verkeren.

Deze verschillen zijn echter niet statisch, maar de relatieve maat ervan wisselt met de omstandigheden.

Er zijn blijkbaar omstandigheden waarbij het verschil tussen een genetisch hooggehaltig en een laaggehaltig individu wegvalt, althans niet kan worden vastgesteld.

7 Vererving van genetische verschillen

7.1 Opsporen van de vererving

Voor het nagaan van de vererving kunnen verschillende methoden gebruikt worden. Ieder handboek over erfelijkheidsleer of plantenveredeling kan hierover inlichtingen verschaffen.

Belangrijker is de vraag, welke methoden gebruikt zijn om de vererving van het ruw-eiwitgehalte in het algemeen en bij grassen in het bijzonder na te gaan.

Zoals uit voorgaande hoofdstukken reeds bleek, is de oogst uit de literatuur, wat dit betreft, niet groot.

Bij de zelfbestuivende granen en bij de maïsinteltlijnen, die ook als zelfbestuivers behandeld kunnen worden, is meestal de weg gevolgd van het herhaald uitzoeken van plus- en minvarianten in iedere nieuwe generatie. Het klassieke voorbeeld is dat van de maïs van Hopkins (zie ook hoofdstuk 3), waarbij tenslotte meer dan 50 generaties lang het werk is volgehouden. Uit het resultaat bleek dat er in beide richtingen, laag- en hoog-eiwitgehalte, gradueel vorderingen werden gemaakt, waaruit de vererving te voorschijn kwam. Uit dit onderzoek berekende Frey ook het aantal genen dat hierbij betrokken zou kunnen zijn (zie eveneens hoofdstuk 3).

Bij gerst werd op dezelfde wijze in 1933 gewerkt door BARBACKY (4) en opnieuw in recente onderzoekingen, gepubliceerd in 1960 door SCHOLZ (32).

Vooraf bij de laatste twee onderzoekingen wordt de nadruk gelegd op de geweldige spreiding die door het toeval kan ontstaan (BARBACKY, 4; SCHOLZ, 32). Daar het niet mogelijk is bij zeer grote aantallen met voldoende herhalingen te werken (SCHOLZ gaat uit van 25.000–30.000 lijnen, waar hij er in tweede instantie 5000–6000 uitsellecteert), kiest men in de eerste generaties uit de toevalscurve die men krijgt door alle individuele gegevens te rangschikken, de plus- en minusvarianten, daarbij het risico nemend van de toevalspreiding, om pas wanneer het materiaal op deze wijze aanzienlijk ingeperkt is, met voldoende herhalingen en standaarden te beginnen. Deze methode werd ook door ons gevolgd (zie 4.2; A, B, C en D).

Voor een kruisbestuivend gewas als Engels raaigras, waarbij men niet met herhaalde inteelt werken wil, moeten ook andere methoden worden gebruikt, waarvan we uit de literatuur er slechts twee kunnen releveren, die in de praktijk worden toegepast, namelijk de paarsgewijze kruising van individuele planten, die COOPER in Aberystwyth toepaste (zie hoofdstuk 3), en de vorming van één nateeltgeneratie door zelfbestuiving van de geselecteerde kloon, welke methode DE LOOSE (21) gebruikte om de vererving van gehalten (hier mineralen-gehalten) vast te stellen.

Het verder beschreven eigen onderzoek blijft niet tot één methode beperkt. Er is om de vererving na te gaan gepoogd gebruik te maken van vrije bestuiving, van zgn. topcross, van paarsgewijze kruising, van zelfbestuiving en van een massale proefkruising van de inteeltklonen.

7.2 Vrije bestuiving (zie 4.2; A)

De vrije bestuiving is de meest primitieve methode om iets van de vererving te weten te komen. Deze geeft dan ook de minst nauwkeurige informatie. Evenmin kan worden gezegd dat het een erg doelgerichte methode is.

Het selectieplan dat in 1952 was gerealiseerd om een grote hoeveelheid klonen op zichzelf en naar hun uit vrije bestuiving ontstane nakomelingschappen te beoordelen, was dan ook helemaal niet gericht op het nagaan van de vererving der eiwitgehalten. Toen er echter in den lande voor dit vraagstuk belangstelling bleek te bestaan, (zie 4.7) lag het voor de hand aan dit materiaal oriënterend onderzoek te doen. Zoals reeds (in hoofdstuk 6) werd beschreven, gebeurde dit alleen bij de 28 klonen die in dezelfde ontwikkelingsfase verkeerden.

Fig. 9. Het verband tussen de ruw-eiwitgehalten van de klonen en de daaruit volgens vrije bestuiving ontstane nakomelingschappen. De aangehouden objecten zijn onderstreept

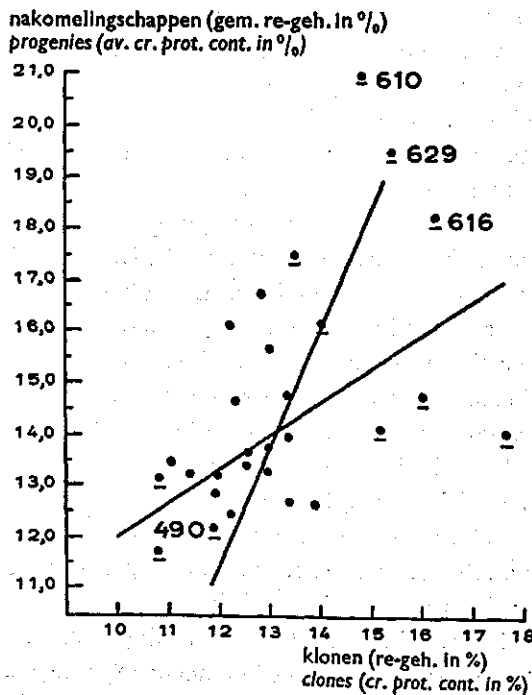


Fig. 9. The relation between the crude protein contents of the clones and their progenies after open pollination. The selected clone is underlined

In fig. 9 is het verband getekend tussen de ruw-eiwitgehalten in de klonen en het gemiddeld ruw-eiwitgehalte in de zaaisels uit de proef van 1953. De ruw-eiwitgehalten in de klonen variëren van 10,9% tot 17,6% in de droge-stof (gemiddeld 13,2%) en in de zaaisels van 11,7% tot 20,8% gemiddeld 14,2%), eveneens in de droge-stof. De correlatiecoëfficiënt is $0,52 \pm 0,14$. De regressiecoëfficiënt $R_x = 0,62$, de regressiecoëfficiënt $R_y = 0,42$.

Een variantie-analyse met bijbehorende breedtetoeets volgens KÈULS (16) leert dat de objectverschillen in de zaaisels wel significant zijn, maar dat dit met voldoende zekerheid alleen geldt voor de uitersten van de reeks, althans bij een overschrijdingskans van minder dan 1%.

Stelt men de eis iets minder zwaar, bijvoorbeeld bij een overschrijdingskans van minder dan 5%, dan zijn de gehalteverschillen van 19,4% en 12,3% ook nog reëel. Er kan hier geconstateerd worden dat er een zekere erfelijkheid van ruw-eiwitgehalten bestaat en dat het dan zin heeft verder te selecteren. Het toeval speelt bij zo'n eenvoudig bemonsteringsschema echter een veel te grote rol. De variatiecoëfficiënt is dan ook vrij groot, nl. 12%.

Het is van belang de bovengevonden correlatiecoëfficiënt te vergelijken met die van COOPER, de enige die wij bij een dergelijke proef in de literatuur hebben gevonden (hoofdstuk 3). COOPER vond in de eerste snede der nakomelingschappen 0,75. Deze correlatie is iets hoger en dat moet ook, omdat hij uitging van paarsgewijze kruising van de ouderplanten, waardoor het toevalselement een geringere rol speelde.

In fig. 9 zijn de 11 waarnemingen onderstreept die in de puntenzwerm een min of meer extreme positie innemen en die betrekking hebben op de 11 klonen, waarmee de proeven vervolgd zijn. Deze klonen kwamen nu in de blokkenproef in een topcross-schema (zie 4.2; C). De conclusie kan dan ook luiden dat een aantoonbare erfelijkheid bestaat t.a.v. genetisch verschillende ruw-eiwitgehalten in klonen. De correlatiecoëfficiënt is bij vrije bestuiving ongeveer 0,5.

7.3 Topcross (zie ook 4.2; C)

De topcross-methode, zo succesrijk gebleken in de maïsveredeling, is gedurende de laatste jaren bij tal van andere gewassen toegepast. Het gaat er dan om dat men lijnen of klonen met een bepaalde standaardvariëteit of -populatie als tester kruist om het combinatievermogen vast te stellen.

Op deze wijze krijgt men ook een inzicht in het verschil in erfelijke aanleg tussen verschillende lijnen of klonen, wanneer men deze toetst met dezelfde tester of partner.

Hoe isogener de partner is, die als topcross-tester fungeert, des te duidelijker is de informatie die over de erfelijke aanleg van de onderzochte individuen verkregen wordt. De partner zou eigenlijk ook in doorsnede over alle loci hypostatisch en recessief moeten zijn.

Bij de topcross-methode in dit onderzoek, zoals deze in 4.2; C is beschreven, was het de bedoeling om als tester gebruik te maken van planten uit het ras Engels raai-

gras Heidemij, en wel zodanig dat iedere afzonderlijke plant van een te onderzoeken kloon geheel omringd werd door planten van het ras Heidemij. Dit geschiedde door ze niet alleen in het plantschema in dezelfde rij af te wisselen met deze Heidemijplanten, maar ook door tussen de aldus gemengde rijen aaneengesloten rijen te planten van eveneens Heidemijplanten. Op deze wijze was ieder individu van een te onderzoeken kloon volledig omringd door 8 planten van het ras Heidemij.

Of Heidemij nu wel aan de voorwaarde van tester voldeed was niet bekend.

Een vooruitgang vergeleken met de vrije bestuiving was dat het stuifmeel van de partner voor alle te onderzoeken klonen gelijk was; althans theoretisch, want het zou nodig geweest zijn dat de planten van Heidemij niet willekeurig uit dat ras genomen waren, maar deelstukken waren van dezelfde kloon.

Dit nu was door het grote aantal planten dat voor het topcross-schema nodig bleek een onmogelijke opgaaf, zodat volstaan is met willekeurige planten uit een zaaisel. Dit is een onvolkomenheid, want er is geen onderzoek aan voorafgegaan, waaruit afgeleid kan worden dat telkens acht planten uit dat ras ten aanzien van de vererving van gehalte genetisch gemiddeld dezelfde samenstelling hebben.

Volgens 5.3 is later aangetoond dat een monster van 6 willekeurige planten hiervoor al voldoende is, maar dit was in dat stadium van de proeven nog niet bekend.

Dit bezwaar werd echter niet groot geacht, omdat verwacht werd dat de genetische verschillen tussen de 11 klonen, die volgens het plan in 4.2; B waren uitgekozen, als extremen zo groot zouden zijn dat deze er met deze topcross-partner wel uit zouden komen.

De uitslag van de proeven is echter juist omgekeerd geweest. Met een monster zelfs van 6 telkens individueel verschillende planten uit het ras Heidemij kan al even betrouwbaar worden gewerkt als met een kloon (zie 5.3) en dit komt doordat de milieu-invloeden ver over de genetische heen golven. Verder is aangetoond dat de genetische posities der klonen elkaar soms zeer dicht naderen en onder bepaalde omstandigheden samen kunnen vallen, terwijl de monsters Heidemij dan nog een intermediaire ligging hebben (zie ook 5.3).

Gezien deze ervaringen kan men van een topcross van de klonen met Heidemij dan ook nauwelijks resultaat verwachten en het topcross-schema om de vererving van de eiwitgehalten vast te stellen, werd gezien het vele noodzakelijke werk, niet aantrekkelijk geacht.

Zo kwam de volgende stap, namelijk de paarsgewijze kruising, waarmee COOPER in latere jaren succes oogstte, aan de orde.

De conclusie is dan ook dat de topcross-methode bij klonen wel kan worden toegepast met telkens een kleine groep planten uit een ras als tester, maar dan moeten deze testers genetisch goed bekend zijn.

7.4 Paarsgewijze kruising (zie 4.2; E)

Paarsgewijze kruising is alleen uitvoerbaar bij niet te veel klonen. Immers bij onze

twee hooggehaltige en twee laaggehaltige klonen zijn reeds zes kruisingsmogelijkheden voorhanden en wanneer het zaad afzonderlijk gehouden wordt, naar gelang het van de ene kruisingsouder of van de andere geoogst wordt, (wanneer men dus het verschil tussen de reciproke waarden wil leren kennen zoals bij dit onderzoek gebeurd is), heeft men al twaalf mogelijkheden voor onderzoek.

Voor het realiseren van de reciproke kruisingen werden de kruisingsouders om en om geplaatst in een lange rij zeer dicht naast elkaar, zodat de aren van de paren ter bevordering van een goede kruisbestuiving over elkaar heen kwamen te liggen. De kans op zelfbestuiving is hierbij uitermate gering. Bij gedwongen zelfbevruchting in een geïsoleerde kas (7.5) is vastgesteld dat het dagenlang duurt eer de plant met eigen stuifmeel genoeg neemt; in die tijd heeft de partner allang zijn kans gehad.

Van de nakomelingschappen werd de kiemkracht bepaald en het duizendkorrelgewicht, waarna hiermee rekening houdende, veldjes werden uitgezaaid op één plaats van 5 m² in drievoud, op een andere plaats van 10 m² in vijfvoud, tegen een hoeveelheid van 10 kg per ha bij een kiemkracht van 100 en een duizendkorrelgewicht van 1200 mg, zodat theoretisch een gelijk aantal kiemkrachtige zaden per eenheid van oppervlakte aan de bodem werd toevertrouwd.

Een normale praktijkbemesting werd gegeven en de opbrengst en de ruw-eiwitgehalten der veldjes werden bepaald.

Het is wenselijk behalve op de ruw-eiwitgehalten zelf, ook te letten op de eiwitproductie; deze hangt af van de droge-stofproductie der nakomelingschappen. Immers in 5.4 werd vermeld dat SCHWANITZ en SCHWARZE voortdurend de ruw-eiwitopbrengsten voor ogen hadden die h.i. zouden moeten resulteren uit hoge gehalten en hoge droge-stofopbrengsten. Deze zijn dan ook essentieel. Hoe theoretisch interessant de ruw-eiwitgehalten op zichzelf en in hun vererving ook zijn, wanneer daarbij niet wordt gelet op produktie blijft de behandeling enigszins steriel. Vandaar dat in 5.4 in het vooruitzicht werd gesteld dat de opbrengst mede in het geding gebracht zou worden. Bij de resultaten van de paarsgewijze kruising bestaat daar nu gelegenheid voor.

Zoals hiervoor in deze paragraaf werd beschreven, hebben twaalf nakomelingschappen uit de paarsgewijze kruising van de 4 moederklonen (de no's 490, 610, 616 en 629) met reciproke winning van het zaad ($n \times (n-1)$) tot het resultaat bijgedragen. De volgende combinaties komen voor: (zie tabel 9)

Met het gewonnen zaad werden in de laatste week van augustus 1958 twee proefvelden uitgezaaid, één op humusarme, leemhoudende, droge, zandgrond in Ottersum in drievoud op veldjes van 5 m² en één op humusrijke, vochtige, zandgrond in Veghel in vijfvoud op veldjes van 10 m² naar 10 kg zaaizaad per ha bij een kiemkracht van 100 en een duizendkorrelgewicht van 1200 mg.

Bemest werd naar 100 kg N, 100 kg P₂O₅ en 120 kg K₂O per ha, nauwkeurig per veldje afgewogen en toegediend. In Ottersum ontwikkelde zich het proefveld naar wens; in Veghel was de opkomst zeer onregelmatig.

Wat zijn nu de resultaten van de bemonstering der nakomelingschappen volgens ruw-eiwitgehalten in het voorjaar van 1959 in vegetatief stadium in Ottersum?

Gemiddeld over de drie parallellen werd het volgende resultaat verkregen (tabel 10): Een variantie-analyse met breedtetoeets volgens KEULS (16), die het meest geschikt is om de specifieke kruisingswaarde te bepalen, leert dat ten hoogste het verschil tussen de uitersten van de reeks enigszins betrouwbaar is; alle andere verschillen zijn het niet.

Tabel 9. *Paarsgewijze kruisingen (recht en reciproom) van twee laaggehaltige klonen met kiemkracht en duizendkorrelgewicht van de nakomelingschappen*

Nr. van de combinatie <i>No. of the combination</i>	Nr. van de klonen <i>No. of the clones</i>	Kiemkracht nakomelingschap <i>germination of the progeny</i>	Duizendkorrelgewicht nakomelingschap (mg) <i>seed weight progeny (mg)</i>
A	490 ¹ × 616	100	1020
B	610 × 629	100	1280
C	610 × 616	86	1320
D	490 × 616	92	1160
E	610 × 616	98	1260
F	610 × 629	100	1280
G	490 × 629	91	990
H	490 × 629	100	1160
J	610 × 490	100	1240
K	616 × 629	84	1180
L	616 × 629	98	1280
M	610 × 490	100	1010

¹ De kloon waarop het zaad werd gewonnen is gecursiveerd
The clone from which the seed was obtained is set in italics

Table 9. *Pair-crossings (direct and reciprocal) of two low-content and two high-content clones with germination figures and seed weight of the progenies*

Tabel 10. *Gemiddelde ruw-eiwitgehalten in de nakomelingschappen van paarsgewijze kruisingen*

Nr. van de combinaties <i>No. of the combinations</i>	Nr. van de klonen <i>No. of the clones</i>	Gemiddeld percentage ruw-eiwit <i>average percentage crude protein</i>
A	490 ¹ × 616	12,1
D & H	490 × 616 & 490 × 629	12,0
G & J	490 × 629 & 490 × 610	11,7
C, K, L & M	610 × 616, 616 × 629, 616 × 629, 610 × 490	11,6
B	610 × 629	11,3
E	616 × 610	11,2
F	610 × 629	11,0

¹ De kloon waarop het zaad werd gewonnen is gecursiveerd
The clone from which the seed was obtained is set in italics

Table 10. *Average crude protein contents in the progenies of pair-crossings*

Er bestaat ook een methode om de algemene kruisingswaarde van de klonen te bepalen in deze kruisingen, gebruikt als vader (bestuiver) of als moeder (zaaddraagster). Deze methode is beschreven door YATES (38). Volgens deze werkwijze worden de diagonaalsommen bepaald in een schema waarbij de betreffende klonen horizontaal en verticaal in dezelfde volgorde voorkomen (tabel 11; de letterwaarden staan voor gehalten c.q. andere data).

Tabel 11. Methode ter bepaling van de algemene kruisingswaarde van de klonen volgens YATES (36)

♀/♂	490	610	616	629
490	—	x	y	z
610	p	—	q	r
616	s	t	—	u
629	v	w	aa	—

Table 11. Method for determination of the general combining ability of the clones according to YATES (36)

Uit de diagonaalsommen wordt de algemene kruisingsgeschiktheid bepaald. Ook kunnen de diagonaalverschillen worden uitgerekend en daaruit komt het verschil in gedrag van een kloon als vader of als moeder te voorschijn.

Gezien het feit echter dat hier de YATES-analyse wordt toegepast op slechts 4 klonen in hun onderlinge betrekkingen, is het aantal vrijheidsgraden van de restwaarde slechts klein (2) en daarom kan men niet verwachten dat volkomen significante aanwijzingen worden verkregen.

De YATES-analyse, nu toegepast op de hiervoor gerangschikte nakomelinggegevens, geeft de aanwijzing dat de algemene kruisingsgeschiktheid voor hooggehalte het sterkst aanwezig is bij kloon 490 en het minst sterk bij kloon 610. Beide klonen zijn genetisch laaggehaltig. De gegevens van de diagonaalsommen immers waren de volgende:

kloon 490: 33,6; kloon 616: 30,5; kloon 629: 27,8; kloon 610: 25,3.

Het is dus helemaal niet gezegd dat de genetische waarde van de uitgangskloon doorslaggevend is voor het gehalte van de nakomelingschap.

Wanneer later door zelfbestuiving de I-populaties geanalyseerd worden (zie 7.5) en de middelwaarden worden bepaald, dan zal blijken dat voor de populaties die respectievelijk uit de klonen 490, 610, 616 en 629 ontstaan en die het genetisch potentieel dezer klonen laten zien, die middelwaarden nauwelijks verschillen; en dat uit dien hoofde feitelijk ook niet mag worden verwacht dat het genetisch gehalteverschil tussen de klonen alléén bepalend zal zijn voor de gehalten der nakomelingenschappen.

Aangezien op het proefveld te Ottersum van de vererving der gehalten zo weinig kon worden getoond, spreekt het vanzelf dat het proefveld te Veghel met de onregelmatigheden tijdens de opkomst in het geheel geen betrouwbare verschillen opleverde.

Ondanks het feit echter dat de betrouwbaarheid van de gehalteverschillen in Otter-

sum in de nakomelingveldjes slechts tussen de uitersten van de reeks, nl. A (490×616) = 12,1% en F (610×629) = 11,0% redelijk is (R 5%) en dat hier dus zou mogen worden gezegd dat de kruising van genetisch hooggehaltige met genetisch laaggehaltige klonen zowel hooggehaltige als laaggehaltige nakomelingschappen kan opleveren (hetgeen door de YATES-analyse wordt bevestigd) is er toch een te opvallende systematiek in de reeks om deze niet op te merken. Deze moet worden geschreven zoals in tabel 12 is aangegeven.

Tabel 12. Gemiddelde percentages ruw-eiwit in de nakomelingschappen van paarsgewijze kruisingen (anders gegroepeerd dan in tabel 10)

Nr. van de combinatie <i>No. of the combination</i>	Nr. van de klonen <i>No. of the clones</i>	Gemiddeld percentage ruw-eiwit <i>average percentage crude protein</i>
A	$490^1 \times 616$	12,1
D	490×616	12,0
H	490×629	12,0
G	490×629	11,7
J	490×610	11,7
M	490×610	11,6
C	610×616	11,6
L	616×629	11,6
K	616×629	11,6
B	629×610	11,3
E	610×616	11,2
F	629×610	11,0

¹ De kloon waarop het zaad werd gewonnen is gecursiveerd
The clone from which the seed was obtained is set in italics

Table 12. Average percentages crude protein in the progenies of pair-crossings

De reciproke waarden liggen dicht naast elkaar en dit vergroot de betrouwbaarheid, ook al faalt de wiskundige verificatie.

De conclusie volgens YATES dat kloon 490 de beste algemene kruisingsgeschiktheid heeft voor hooggehalte is met één oogopslag te zien, juist omdat deze eigenschap blijkbaar zo dominant is dat alle kruisingen waar 490 in participeert op één rijtje voorkomen. Voor de andere klonen is dit lang niet zo duidelijk. Ondanks onveranderlijk relatief laaggehalte oefent de kloon 490 in de paring met de drie andere klonen ten opzichte van hooggehalte toch blijkbaar een zeer positieve invloed uit.

Hoe staat het nu met de droge-stofproducties van de nakomelingschappen? Een indruk hiervan kan men verkrijgen uit tabel 13 waar de opbrengsten aan droge-stof naar de hoogte daarvan in de eerste snede te Ottersum in 1959 zijn gerangschikt.

Evenmin als bij de gehalten kan men de aanwijzingen uit de Yates-analyse vanwege het kleine aantal vrijheidsgraden van de restwaarde volkomen significant achten.

Uit de diagonaalsommen in Ottersum blijkt dus dat kloon 616 ondanks zijn genetisch hooggehalte en aantrekkelijk uiterlijk voor de produktie een slechte geniteur is, slechter zelfs dan kloon 490, die op uiterlijk zou worden verworpen.

Tabel 13. De opbrengsten (in g en volgens relatief gemiddelde) van de nakomelingschappen van paarsgewijze kruisingen bij verschillende sneden te Ottersum en Veghel in de jaren 1959 en 1960

		Ottersum						Veghel	
		1959		1959		1960		1959	
		eerste snede ² <i>first cut</i> ²	117,5 ⁴	tweede snede ² <i>second cut</i> ²	104,1 ⁴	eerste snede ² <i>first cut</i> ²	108,6 ⁴	eerste snede ² <i>first cut</i> ²	
H	490 × 629 ¹	2,30	117,5 ⁴	11,9	104,1 ⁴	14,7	108,6 ⁴	3,00	106,5 ⁴
B	629 × 610	2,21	112,9	11,7	102,4	13,7	101,2	2,92	103,6
F	629 × 610	2,14	109,3	11,9	104,1	13,4	99,0	2,92	103,6
E	610 × 616	2,13	108,8	11,5	100,6	14,3	105,6	2,93	103,9
J	490 × 610	2,03	103,7	12,1	105,9	14,3	105,6	3,13	111,1
G	490 × 629	1,96	100,1	11,3	98,9	14,1	104,1	2,56	90,9
D	490 × 616	1,95	99,6	11,4	99,7	13,3	98,2	2,88	102,2
K	616 × 629	1,89	96,5	11,0	96,2	13,0	96,0	2,74	97,0
L	616 × 629	1,80	91,9	10,7	93,6	12,6	93,4	2,78	98,7
M	490 × 610	1,76	89,9	11,5	100,6	14,0	103,4	2,35	83,4
A	490 × 616	1,70	86,8	10,6	92,7	12,4	91,6	2,64	93,8
C	610 × 616	1,63	83,2	11,6	101,4	12,7	93,8	2,95	104,7

¹ De kloon waarop het zaad werd gewonnen is gecursiveerd / *The clone from which the seed was obtained is set in italics*

² droge-stofgewicht / *dry matter weight*

³ vers-gewicht / *fresh weight*

⁴ relatief gemiddelde = 100 / *relative average = 100*

DIAGONAALSOMMEN (volgens de Yates-analyse / *diagonal totals (according to the Yates analysis)*)

kloon/clone 629	12,31	68,5	81,5	16,92
kloon/clone 610	11,90	70,3	82,4	17,20
kloon/clone 490	11,72	68,8	82,8	16,56
kloon/clone 616	11,11	66,8	78,3	16,92

DIAGONAALVERSCHILLEN (volgens de Yates-analyse) / *diagonal differences (according to the Yates analysis)*

kloon/clone 629	+ 1,07	+ 1,1	+ 0,7	+ 0,40
kloon/clone 610	— 0,47	+ 0,5	— 1,0	+ 0,80
kloon/clone 490	— 2,57	— 2,0	— 1,8	— 1,46
kloon/clone 616	+ 1,97	+ 0,4	+ 2,1	+ 0,26

Tabel 13. The yields (in g and relative average) of the progenies of pair-crossings of various cuts at Ottersum and Veghel in the years 1959 and 1960

Uit de diagonaalverschillen blijkt, dat kloon 490 aanmerkelijk minder is als moeder dan als vader.

Zekerheid over deze aanwijzingen kan men verkrijgen wanneer men de breedtetoeets van KEULS op deze gegevens toepast.

Men kan dan aantonen dat de aanwijzing dat kloon 616 een slechte geniteur is als betrouwbaar moet gelden (R 0,01), zij het dat dit op het proefveld te Veghel niet aangetoond kan worden.

De reciproke verschillen tussen A en D zijn vrij betrouwbaar ten gunste van D (R 0,05); de reciproke verschillen tussen G en H zijn betrouwbaar ten gunste van H (R 0,01); de reciproke verschillen tussen J en M zijn vrij betrouwbaar ten gunste van J.

Overal waar kloon 490 moeder is, ontstaat een duidelijke depressie t.a.v. de reciproke kruising. Dit stempelt de waarschijnlijkheid van de diagonaalverschillen tot zekerheid.

Nauwkeurige observatie van de opkomst van de nakomelingschappen leerde, dat die zaaisels waarvan 490 moeder was, later en trager opkwamen. Ongetwijfeld de oorzaak hiervan is dat de moederplant klein van stuk is en ook fijner zaad vormt. Dit blijkt ook uit de duizendkorrelgewichten. In de reciproke kruising is deze invloed niet aanwezig. De vertraging die daardoor in de opkomst ontstaat, werkt tot in het nieuwe seizoen door en wordt dan langzamerhand teniet gedaan.

Bij kloon 616 hebben we met zuiver genotypische kwaliteiten te maken en deze doen hun invloed steeds gelden.

De conclusie uit 7.2 was dat er van verschillen in klonen erfelijkheid aangetoond kan worden ten aanzien van het ruw-eiwitgehalte, maar dat deze correlatie vrij klein is (0,5). Dat deze correlatie niet absoluut is, kan zonder meer worden aangenomen omdat er steeds toevallige fouten in het onderzoek binnensluipen. Dit is echter niet de enige reden. Er werd reeds gevonden (zie hoofdstuk 6) dat de genetische verschillen tussen moederklonen soms kleiner worden of verdwijnen. Uit dien hoofde alleen reeds blijkt dat de vererving niet steeds positief kan worden waargenomen. Statistisch kan ons inzicht in deze materie niet verder worden verdiept. Daarom is het nuttig dat het in deze paragraaf mogelijk is gebleken door detailonderzoek aan enkele klonen die goed onderzocht zijn de waarde van het gehalte voor de vererving daarvan en de ermee verbonden produktiviteit te toetsen. Het is noodzakelijk dat die produktiviteit verder telkens belicht wordt.

De conclusies die we nu formuleren mogen vanwege het kleine aantal onderzochte klonen echter niet worden gegeneraliseerd. Desondanks is het interessant de gegevens te confronteren met de richtlijn van SCHWANITZ en SCHWARZE voor granen en te zien hoe deze, zoals in ons geval, uitkomt voor grassen.

Conclusies

Een laaggehaltige kloon als 490 vererft het best hooggehalte en een laaggehaltige kloon als 610 het best laaggehalte. Deze vererving is blijkbaar zeer complex en valt niet zo gemakkelijk te ontraadselen.

Wat de vererving van de produktiviteit betreft, is de hooggehaltige kloon 616 het minst attractief en zeker minder dan de laaggehaltige kloon 490. Als kloon echter is 616 veel produktiever dan kloon 490 (tabel 8). Kloon 610, die als kloon zeer produktief is (zij het laaggehaltig) vererft een laag eiwitgehalte en een normale produktiviteit.

Kloon 629 die als zodanig hooggehaltig is en produktief, vererft een laaggehalte en een vrij hoge produktiviteit. Voorspelling is dus moeilijk.

De intelligent doordachte richtlijn van SCHWANITZ en SCHWARZE bij granen, waarbij een hoog eiwitgehalte met een hoge opbrengst erfelijk gecombineerd dient te worden door selectie onder optimale voorwaarden, lijkt hier bij een praktijkvoorbeeld van grassen totaal te mislukken, vooral wanneer daarbij nog bedacht wordt, dat bij optimale voorwaarden de combinatie hooggehalte en hoge produktiviteit juist dikwijls voorkomt (5.5). Deze combinatie dreigt echter onder suboptimale omstandigheden, zoals die in het veld vaak optreden, te verdwijnen (5.3).

Volgens SCHWANITZ en SCHWARZE zouden we dus 616 en 629 tot kruisingsouders moeten kiezen. Uit de proef blijkt dat dit een ongunstige combinatie is, zowel wat betreft hoog eiwitgehalte in de nakomelingschap als wat betreft produktie.

Onze scepsis ten aanzien van deze langs theoretische weg verkregen richtlijn wordt dus versterkt en de gedachte dringt zich op dat slechts het experiment de gevraagde combinaties zal kunnen leveren.

Als bijkomende conclusie kan nog vermeld worden, dat een verschillende uitkomst bij reciproke kruisingen eenvoudig veroorzaakt kan worden door de zaadgrootte der moederplanten, welke invloed op de produktiviteit pas na vele maanden wordt uitgewist.

Daar de combinatie produktie en hooggehalte in dit materiaal niet voorkomt gaat de vraag naar het verband tussen hoog eiwitgehalte en produktiviteit, speciaal bij de vererving intrigeren. In het voorgaande werd aangetoond dat dit in individuele gevallen zeer gecompliceerd kan liggen. Welke verbanden aanwezig zijn, wanneer met grotere aantallen planten gewerkt wordt, kan blijken uit de gegevens van de zelfbestuiving van de uitgangsklonen, waar bij de extreme I_1 -planten de overdracht van de gehalten op de nakomelingschappen opnieuw zal worden bestudeerd.

7.5 Zelfbestuiving (zie ook 4.2; F)

Scherper nog dan de paarsgewijze kruising kan de zelfbestuiving van een plant uitsluitend geven over de vererving van bepaalde eigenschappen. Een plant uit een kruisbestuivend gewas als gras kan, als een van nature heterozygoot individu, worden opgevat als een F_1 ; door zelfbestuiving kunnen we het genetisch potentieel uit elkaar nemen. Door herhaalde zelfbestuiving zal zonder twijfel inteelt optreden met verlies van vitaliteit; in de eerste zelfbestuivingsgeneratie, de I_1 , echter is deze inteelt nog niet ernstig en de verschillende I_1 -planten kunnen door scheuring gemakkelijk worden vermeerderd en op deze wijze als bouwstenen voor een nieuw ras worden gebruikt.

Op grond van deze overwegingen is in 1957 van ieder van de 4 (hoog of laaggehaltige) extreme klonen door zelfbestuiving in geïsoleerde kassen zaad gewonnen. Voor deze methode, die meer succes geeft dan inhulling in zakken, ligt de fertiliteit tussen 20 en 30%.

De grasbloempjes blijven een week lang wijd openstaan, wachtend op de bevruchting, maar als dat niet het geval is, wordt de zelfincompatibiliteit opgeheven en sluiten ze hun kafjes dicht.

Het hieruit verkregen zaad werd uitgezaaid en hoewel verschillende kiemplanten geen bladgroen vormden, konden er in het voorjaar van 1958 van iedere kloon gemakkelijk honderd schijnbaar volwaardige I_1 -planten worden gevonden, die ook weer werden gekloond om ze beter te kunnen waarnemen.

De I_1 -nakomelingen van de twee hooggehaltige en de twee laaggehaltige klonen zijn om de uitwendig waarneembare kentekenen te kunnen correleren aan de eiwitgehalten beschreven naar de kenmerken: bladrijckdom, groeitype en tijd van doorschieten.

Van de I_1 -klonen moeten nu ook de eiwitgehalten worden bepaald. Hierbij stuiten we echter op een moeilijkheid. Bij de genetische variabiliteit (hoofdstuk 6) is de methode beschreven die nodig is om deze op te sporen. Consequent geredeneerd zou dit dus ook hebben moeten plaatsvinden voor het opzoeken van de genetische verschillen tussen de I_1 -klonen. Met 400 I_1 -planten, of liever 400 I_1 -klonen zou dit in het veld echter een te moeilijke opgave zijn geworden, met daarenboven teveel mogelijkheden voor fouten.

Er van uitgaande dat de grote toevalsvariabiliteit, die door veel herhalingen ontdekt moet worden, veroorzaakt wordt door milieu-invloeden die in het veld hoofdzakelijk aan onbekende factoren moeten worden toegeschreven, is voor de aanzienlijke hoeveelheid I_1 -planten overgegaan tot een andere proefopzet.

Door met potten te werken, waarbij de omstandigheden zo nauwkeurig mogelijk gelijk gemaakt worden, kan het milieu sterk worden gehomogeniseerd.

Hiertoe werden plastic potten gebruikt van 22 cm doorsnede en 21 cm hoog, zonder bodemgat, zodat geen heimelijk doorgroeiende wortels van de plant een schijnbeeld kunnen geven.

De grond waarmee de potten werden gevuld, werd zeer nauwkeurig gemengd en gezeefd. Per pot kwam 4 kg van deze grond, die op een watercapaciteit van 80% gehouden werd.

Iedere I_1 -plant, die reeds in vier stukken was gekloond, werd met een groot aantal spruitjes in de pot geplant. Nadat de spruitjes waren aangegroeid en een matje hadden gevormd, werden ze ter hoogte van de rand van de pot afgeknipt; op deze wijze was het begin voor allen gelijk.

Het is in verband met de bevindingen van VAN DOBBEN (zie ook 2.2) noodzakelijk dat de planten onder optimale omstandigheden groeien. Dit geldt zowel voor de watercapaciteit van de grond (80%) als voor de belichting, de temperatuur en de voeding.

Voor de belichting werd de natuurlijke belichting van de meimaand gekozen. De potten stonden dus buiten, maar konden beschermd worden tegen regenbuien door een plastic kap. Zij werden gerangschikt in een dubbele rij ruggelings tegen elkaar zodat ze alle, met uitzondering van de 4 eindpotten, in dezelfde positie verkeerden. Hinderlijke beschaduwning werd voorkomen. Voor de temperatuur werd geen bijzondere

regeling getroffen. De planten groeiden bij de natuurlijke dag- en nachttemperaturen van de meimaand.

Wat de voeding betreft, werd van de volgende berekening uitgegaan: Rekenende op 20 gram droge-stof in het gras op het tijdstip van het snijden van het monster, bij een eiwitgehalte in de droge-stof van ongeveer 30 %, bleek een toediening van 5 % zuiver stikstof, ofwel 1 gram per pot, nodig. Per pot wordt nu toegediend in opgeloste vorm per pipet 4 gram KNO_3 , waarin 0,56 gram N en 1,86 gram K_2O , 4 gram $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, waarin 0,68 gram N en 1,36 gram CaO en 1 gram $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ waarin 0,58 gram P_2O_5 ; voorts 1 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ waarin 0,16 gram MgO. In totaal ontvangt dan iedere pot 1,24 gram N; 1,86 gram K_2O ; 1,36 gram CaO; 0,58 gram P_2O_5 en 0,16 gram MgO. De stikstoftoediening is dus ruim voldoende. Aangezien de verhouding van de mineralen in Engels raaigras ongeveer is: 1,2 N : 1,5 K_2O : 0,3 CaO : 0,5 P_2O_5 : 0,09 MgO geven we dus overmaat CaO en MgO hetgeen verder geen bezwaar is (zie OTTEN en VEENSTRA, 26).

Al deze voorzorgen, die dus gericht zijn op het uitschakelen van onbekende milieu-invloeden, die in het veld niet beheerst kunnen worden, hebben de bedoeling dat de I_1 -klonen slechts in enkelvoud per pot worden bemonsterd.

Het is echter uit ervaring bekend dat ook de meest exacte pot-proef nog een toevalsfout heeft.

Om hiervan een schatting te verkrijgen, zijn van één inteeltkloon, waarvan ruim materiaal beschikbaar was, 5 potherhalingen gemaakt, die willekeurig over de proef werden verspreid.

De bedoeling van het maken van inteeltplanten door zelfbestuiving is nu tweërlei. De vererving kan worden nagegaan door de gehele I_1 -populatie, die bij zelfbestuiving uit één plant ontstaat, als totaliteit in zijn karakteristieken, te vergelijken met de eigenschappen van de moederplant, en dit wel in het bijzonder wat het ruw-eiwitgehalte betreft.

Maar ook kan de vererving worden nagegaan door uit de verdelingscurve van de ruw-eiwitgehalten van de I_1 -klonen, die tezamen de toevalsspreiding en de erfelijke spreiding aangeeft, de plus- en minusvarianten op de wijze van Hopkins (bij maïs) en SCHOLZ (bij gerst, zie 7.1) te kiezen in de hoop dat deze extremen niet alleen toevallig, maar ook genetisch extreem zijn.

Blijken deze extremen die eigenschap ook op de nakomelingschap over te dragen dan kan men dus van erfelijke gehalteverschillen in extreme richting spreken.

Ook wanneer de analyses op de I_1 -klonen slechts in enkelvoud zijn gemaakt, steunen ze elkaar toch doordat ze samen het universum vormen waaruit de verdelingscurve is opgebouwd.

Zo zijn van de klonen 490, 610, 616 en 629 door zelfbestuiving I_1 -populaties gemaakt, die in potten zijn opgetrokken en geanalyseerd. Oorspronkelijk bestond iedere I_1 -populatie uit ongeveer 100 planten. Alvorens deze populaties over te planten in potten, hetgeen in 1959 geschiedde, werden ze in 1958 gedurende een jaar in het veld geobserveerd, waarbij iedere I_1 -plant in 4 delen gescheurd was. Uit deze kloondelen zijn de spruitjes genomen waaruit in 1959 de potten werden gevuld. Niet alle mate-

riaal was hiervoor nodig en zo werd van iedere I₁-kloon een deel in de pot overgebracht, terwijl een ander deel ter verdere observatie en eventuele controle in het veld achterbleef. De observaties in het veld hebben geleid tot beschrijvingen, die later in verband gebracht zullen worden met de produktiviteit en het eiwitgehalte.

Toen de I₁-klonen enige tijd in de potten stonden, werden ze plotseling aangetast door een invasie van mijten (*Tarsonemus spirifex*) die vooral de groepen 490 en 610 teisterden. Deze mijten waren de oorzaak van een zeer onregelmatig groeitype met korte gedrongen en gebobbelde spruiten (zie verder LACKAMP, 20 en fig. 14). De mijten konden wel met chemische middelen worden bestreden, maar daar de reactie hiervan op het ruw-eiwitgehalte niet bekend was, werd het niet verantwoord geacht deze middelen toe te passen. De door mijten vervormde planten werden daarom verwijderd. Maar ook in de niet door mijten aangevallen series verdwenen planten kennelijk door verlies aan vitaliteit. Dit kon worden gecontroleerd omdat dit zowel in potten als in het veld bij dezelfde nummers gebeurde.

Hierdoor kwam een nieuw aspect naar voren. Tot dusver werd gesproken over de produktiviteit (die ons interesseert in verband met een genetisch laag- of hoog-eiwitgehalte) in de zin van de hoeveelheid blad en stengelmasa die een plant voortbrengt en die kan worden gewogen. Maar bij het wegvallen van planten door gebrek aan vitaliteit bleek dat niet uitsluitend bladarme planten uitvielen, maar ook bladrijke. Het werd dus van belang te onderzoeken in hoeverre bladproduktie en vitaliteit samenhangen. Want wanneer zou blijken dat genetisch hooggehaltige planten misschien wel een geringe produktiviteit hebben, maar daarentegen een hoge vitaliteit, dan zouden we ons daarover, gezien het lang niet altijd positieve effect van de vererving van de produktie, niet al te zeer behoeven te bekommeren. (Door jonge planten te oogsten, kan bladrijksdom synoniem geacht worden met hoge produktie). Wanneer echter bladarmoede, dus een geringe produktiviteit, gecorreleerd is met een geringe vitaliteit, zijn de gevolgen veel ernstiger.

Zo moet bij de inteeltplanten niet alleen aan de gehalten en de daarmee verbonden bladmasa (produktiviteit) aandacht worden geschonken, maar ook aan de vitaliteit.

De vraag naar de produktiviteit van genetisch hooggehaltige planten is overigens voor kruisbestuivende planten, zoals grassen, veel klemmender dan voor zelfbestuivende. Het is immers wel duidelijk dat uitzonderingen mogelijk zijn. Het hele streven van SCHWANITZ en SCHWARZE was er op gericht dergelijke fysiologische uitzonderingen te vinden. Maar bij een zelfbestuiver kan uit één uitzondering een geheel ras worden gebouwd, bij kruisbestuivers heeft men er vele nodig als basismateriaal.

Zo bleven per I₁-groep de volgende aantallen over: serie 629 : 88; serie 610 : 70; serie 616 : 45; serie 490 : 28.

In de bijlage zijn per I₁-kloon opgenomen het nummer, het vers gewicht bij het snijden, het droge-stofgehalte en resp. het ruw-eiwitgehalte in de droge-stof en in de verse-stof. Voorts zijn bijzondere opmerkingen gemaakt, wanneer daartoe aanleiding was. Immers bij de vergelijking van de I₁-klonen t.a.v. hun ruw-eiwitgehalte wordt een belangrijk principe verlaten dat in de aanvang gesteld is, nl. dat de te bemon-

Fig. 11. Frequentieverdeling van de ruw-eiwitgehalten in de I_1 -populaties van de moederklonen 610, 629, 616 en 490 (links) en het gemiddelde vers gewicht van de I_1 -klonen per eiwitgehalteklasse (rechts)

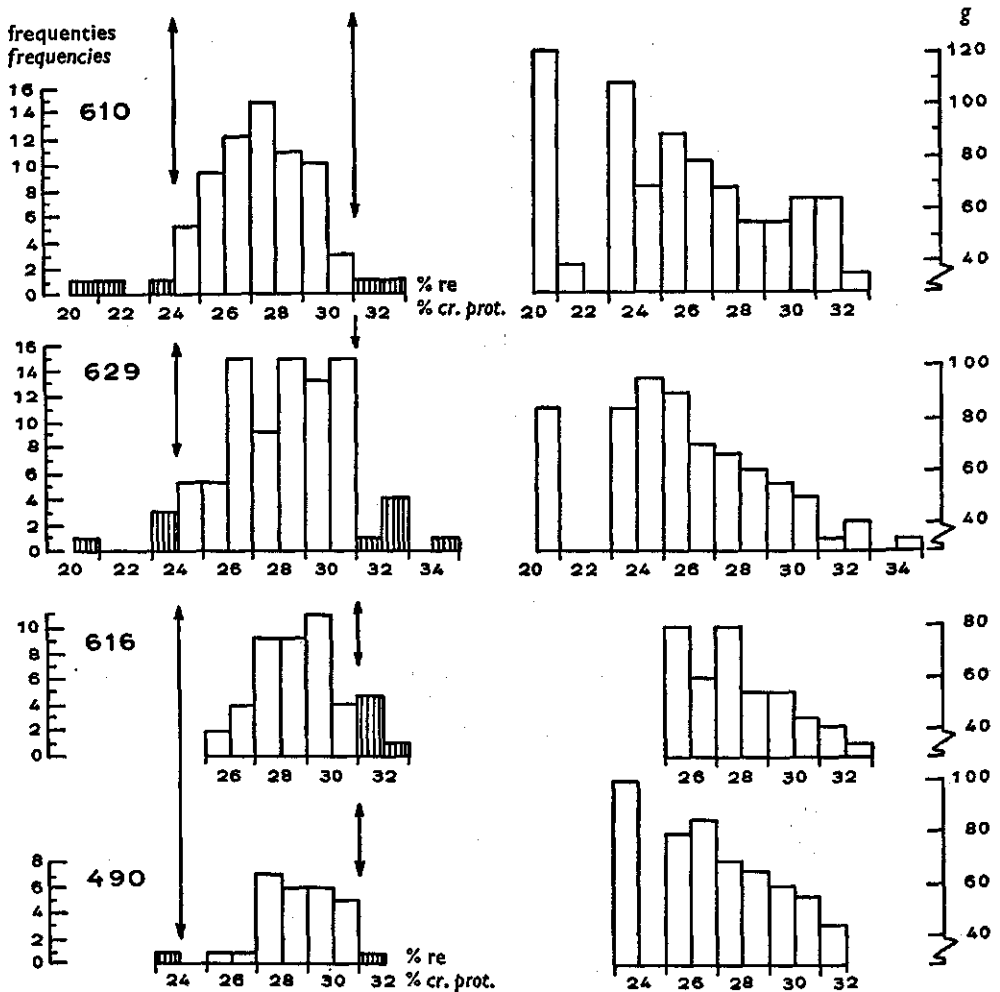


Fig. 11. Frequency distribution of the crude protein contents of the I_1 populations of the mother clones 610, 629, 616 and 490 (left) and the average fresh weight of the I_1 clones per protein content class (right)

Tabel 14. Minimale, maximale en gemiddelde ruw-eiwitgehalten in % per groep I_1 -klonen

I_1 -groep I_1 -group	minimum	maximum	middelwaarde average
490	23,9	31,3	28,6
610	20,7	32,0	27,3
616	25,6	32,3	28,8
629	20,5	34,0	28,1

Table 14. Minimum, maximum and average crude protein contents in % per group I_1 clones

De eerste indruk is dat de populaties, ontstaan uit de hooggehaltige klonen 629 en 616, niet of nauwelijks hogere waarden hebben dan de populaties ontstaan uit de laaggehaltige klonen 490 en 610.

De berekening van de middelwaarden kan deze indruk bevestigen (tabel 14).

De laaggehaltige kloon 490, die zo goed hooggehalte vererft, heeft dus een hoge middelwaarde en de laaggehaltige kloon 610, die laaggehalte vererft, heeft een lage middelwaarde in de I_1 -nakomelingschap. Deze analyse van het genetisch potentieel der moederklonen demonstreert dat de verwachting wel ijdel moest zijn, dat bij de paarsgewijze kruising van de moederklonen de kruising van naar gehalte genetisch gelijkgerichte planten een daarmee overeenkomstig effect zal vertonen (zie daarover eind paragraaf 7.4). De I_1 -generatie geeft een beter beeld dan de kloon zelf.

De kloonwaarde op zichzelf zegt als resultante van tal van genetische krachten die aanwezig zijn in een heterozygoot individu zoals in een grasplant, nog heel weinig over de verervingsmogelijkheden. Pas een genetische analyse van de te gebruiken moederplanten, zal meer zekerheid kunnen geven.

Dit is dus een nadere motivering van de conclusie die in 7.4 werd gegeven, waarin werd gesteld dat alleen het experiment uitsluitsel kan geven en niet de theoretische regel van SCHWANTZ en SCHWARZE.

Terloops moge er hierbij op worden gewezen, dat dit voor zelfbestuivers waarbij men met homozygoot materiaal werkt natuurlijk anders is.

Reeds in 5.3 werd er op gewezen, dat er een treffende overeenkomst is tussen de vorm van de frequentiecurves, zoals die werden gevonden in fig. 4 voor de reactie van het ruw-eiwitgehalte op het milieu bij de moederklonen in de hoofd- en nevenbanen van de bemestingsniveaus en de frequentiecurves uit fig. 11 waarin de reactie op een bepaald milieu van alle individuen die uit zelfbestuiving van deze moederklonen zijn ontstaan, tot uitdrukking wordt gebracht.

De frequentiecurves behorende bij de klonen 610 en 616 hebben de vorm van de normale verdelingscurves, de curves behorende bij de kloon 490 zijn naar links afgeknot of beter opgestuwd; de curves behorende bij de kloon 629 zijn meertoppig.

Er is dus een duidelijke overerving van de reactie op milieu.

Wanneer bedacht wordt dat een willekeurige kloon, die doorgaans uit vrije bestuiving is voortgekomen, door zelfbestuiving moet desintegreren in tal van genetisch verschillende individuen, is de vererving van deze karakteristiek merkwaardig. Zuiver genotypisch is deze niet goed te begrijpen. Of hier van plasmatische vererving gesproken mag worden, kan hier niet verder worden aangetoond.

Daar van iedere I_1 -kloon slechts één analyse bestaat, kan de genetische invloed niet van de toevallige milieu-invloed gescheiden worden. Dit was bij de proefopzet bekend. Door straks de extremen te kiezen voor de massale proefkruising hopen wij dat de genetische extremeit de toevallige extremeit overwint. Onze hoop dat het kunstmatig gehomogeniseerde milieu de toevalsfout tot een zeer kleine waarde zou terugdringen werd helaas niet bewaarheid (zie 5.4).

Gezien het feit, dat de wijze waarop het eiwitgehalte in de moederklonen door het

toeval wordt beïnvloed, zo sterk erfelijk blijkt te zijn, moeten we er rekening mee houden, dat in de frequentiecurves van fig. 11 de milieufactor veel sterker werkzaam blijkt te zijn dan het genotype van de I_1 -klonen.

Ook wanneer dus de extremen ter linkerzijde en ter rechterzijde worden gekozen, om daaruit door proefkruising laaggehaltige en hooggehaltige rassen te maken die pas het bewijs leveren dat er toch erfelijke invloeden in het spel zijn als ze inderdaad ontstaan, moeten we er rekening mee houden, dat het gehalte wel gedeeltelijk zal terugveren naar de middenpositie.

De bedoelde extremen, die voor de proefrassen gebruikt zullen worden, zijn te vinden in de gearceerde kolommen, resp. links en rechts van de loodrechte pijlen.

Oorspronkelijk lag het in de bedoeling alleen de laaggehaltige extremen van de laaggehaltige moederklonen in een laaggehaltig proefras op te nemen en alleen de hooggehaltige extremen van de hooggehaltige moederklonen in een hooggehaltig proefras. In dat geval echter zou het aantal aanmerkelijk beperkt worden en zouden de milieuextremen te sterk kunnen domineren. Ter voorkoming hiervan zijn alle laaggehaltige extremen enerzijds en alle hooggehaltige extremen anderzijds tezamen genomen.

Later is nagegaan of gebruikmaking van de eiwitgehalten in de verse-stof mogelijk tot een andere keus zou voeren, doch dit is met uitzondering van één I_1 -kloon, niet het geval.

Deze kloon, nl. nr. 610-96, heeft wel een laaggehalte in de droge-stof, maar een betrekkelijk hooggehalte in de verse-stof.

Daar we reeds verschillende malen op het feit zijn gestoten, dat een plant in de tweede snede in eiwitgehalte aanmerkelijk minder extreem is dan in de eerste snede, zijn de extreme I_1 -klonen opnieuw bemest met vier gram kaliumnitraat en vier gram calciumnitraat per pipet en is de tweede snede opnieuw geanalyseerd. Van de aldus verkregen gegevens wordt in tabel 15 een overzicht gegeven.

Reeds in 5.2.2 werd er op gewezen dat daar, waar het gehalteverschil tussen de hooggehaltige extreme en de laaggehaltige extreme I_1 -klonen in de eerste snede gemiddeld zeer betrouwbaar is (32,1% - 23,1%), dit verschil in de tweede snede nog naar nauwelijks is terug te vinden (25,8% - 24,6%).

Ook hier stoten we op het verschijnsel dat de vererving van het eiwitgehalte wel kan worden vastgesteld, maar dat de verschillen onder bepaalde omstandigheden dreigen te verdwijnen, dus nu weer bij de I_1 -klonen.

Daar bij de I_1 -klonen in de potten de kloongewichten nauwkeurig bekend zijn, bestaat er een goede gelegenheid om dieper in te gaan op de relatie ruw-eiwitgehalte en opbrengst. Eerder was dit mogelijk bij de moederklonen - en hierbij is het detailinzicht wel verdiept - maar statistisch bood het beperkte materiaal geen mogelijkheden. In de tabellen I, II, III, IV (zie bijlagen) zijn van 231 klonen zowel de gewichten als de eiwitgehalten bekend; dat materiaal leent zich dus voor een algemenere behandeling van het vraagstuk.

Bij het overzicht in tabel 15 valt op, dat de kloongewichten van de groep laag-

gehalte op een enkele uitzondering na (610-96, en dat is juist de plant met een hooggehalte in de verse-stof) veel hoger liggen dan die van de groep hooggehalte (gemiddeld 90 tegen 40 gram).

Tabel 15. Beschrijving, ruw-eiwitgehalte (in %) en oogsgewicht (in g) van laaggehaltige en hooggehaltige I₁-klonen

Beschrijving in het veld (1958) <i>field description (1958)</i>		Eerste snede/ <i>first cut</i>			Tweede snede/ <i>second cut</i>		
		toestand bij de oogst <i>heading at harvest</i>	gewicht verse st. in g <i>weight fresh m. in g</i>	ruw-eiwitgeh. <i>crude prot. cont.</i>	toestand bij de oogst <i>heading at harvest</i>	ruw-eiwitgeh. <i>crude prot. cont.</i>	
type	schieten <i>sprouting</i>						
GROEP LAAGGEHALTE / <i>group low-content</i>							
610 (12)	half opg.	laat	norm.	110	23,7	half gesch.	22,7
	¹ semi-erect	late				<i>h. headed</i>	
610 (22)	half opg.	vroeg	begin sch.	125	20,7	geh. gesch.	18,8
		<i>early</i>	<i>begin heading</i>			<i>compl. headed</i>	
610 (96)	half opg.	vrij vroeg	enkele aren	40	21,2	iets gesch.	—
		<i>fairly early</i>	<i>some ears</i>			<i>somewhat headed</i>	
629 (29) ¹	half opg.	laat	norm.	85	20,5	half gesch.	23,0
629 (44) ¹	liggend	laat	norm.	105	23,5	begin sch.	24,4
	<i>prostrate</i>					<i>begin heading</i>	
629 (86)	half opg.	laat	enkele aren	85	23,9	begin sch.	26,2
629 (94)	liggend	laat	norm.	70	23,4	begin sch.	25,6
490 (101)	half opg.	laat	compl. gesch.	100	23,9	—	—
			<i>headed</i>				
490 (99)	liggend	laat	norm.	80	25,8	iets gesch.	27,4
GROEP HOOGGEHALTE / <i>group high-content</i>							
610 (73)	half opg.	vroeg	norm.	65	31,9	iets gesch.	25,3
610 (85)	opgaand	vroeg	norm.	35	32,0	half gesch.	26,1
	<i>erect</i>						
629 (6)	half opg.	laat	norm.	35	32,4	iets gesch.	25,7
629 (9)	half opg.	vroeg	norm.	40	32,4	half gesch.	26,9
626 (21)	half opg.	vroeg	norm.	40	32,1	compl. gesch.	26,9
629 (31)	opgaand	vroeg	norm.	30	31,3	iets gesch.	—
629 (40)	half opg.	vroeg	norm.	30	34,0	begin sch.	24,6
629 (67)	half opg.	vroeg	norm.	45	32,1	begin sch.	25,1
616 (7)	half opg.	laat	norm.	35	31,0	niet gesch.	—
						<i>not headed</i>	
616 (14)	half opg.	laat	dor	40	31,7	niet gesch.	—
616 (35)	half opg.	laat	norm.	40	31,7	niet gesch.	25,5
616 (70)	half opg.	laat	norm.	30	32,3	niet gesch.	26,6
616 (71)	half opg.	vroeg	zeer donker	40	32,2	iets gesch.	23,2
			<i>very dark</i>				
490 (97)	liggend	laat	norm.	45	31,3	begin sch.	27,5

¹ meeldauwgevoelig / *mildew-sensitive*

Table 15. Description, crude protein content (in %) and yield (in g) of low-content and high-content I₁ clones

Dat dit verschijnsel symptomatisch is, moge blijken uit de rechterzijde van fig. 11, waar bij ieder interval van het eiwitgehalte in de I_1 -klonen het gemiddeld kloongewicht is aangegeven voor de groep die bij dit interval hoort. Door vergelijking met de naastgelegen frequentiecurves is te zien op hoeveel klonen dit gemiddeld gewicht betrekking heeft. Soms betreft dit slechts een enkele kloon, meestal echter heeft het betrekking op grotere groepen.

In het grotere geheel van alle I_1 -populaties echter is het duidelijk dat het gemiddeld kloongewicht regelmatig daalt in de richting van de hogere gehalten. Er is niet eens een optimum in de middengroep; integendeel, hoe groeizamer de kloon hoe lager gehalte.

Men krijgt uit deze grafiek bijna de indruk dat een hoger gehalte een degeneratieverschijnsel is.

En het is dus geen toevaligheid dat de groep laaggehaltige extremen zoveel meer gewicht heeft dan de groep hooggehaltige extremen. Ze vormen de uiteinden van een regelmatig afnemende reeks.

Hier is het punt genaderd, waarop gedomd werd in 7.4, nl. het falen van de richtlijn van SCHWANTZ en SCHWARZE door een mogelijk negatief verband tussen genetisch hooggehalte en produktiviteit.

Tot dusver is het nog mogelijk aan te nemen, dat de hoog- en laaggehaltige extreme I_1 -klonen toevalsextremen zijn, maar wanneer bij de massale proefkruisingen aangetoond kan worden dat ze inderdaad de gehalten erfelijk overdragen, zijn het dus genetische extremen en dan kan worden vastgesteld, dat de genetische hooggehaltige, waar SCHWARZE en SCHWANTZ naar zoeken, bij gras in dit materiaal eigenlijk voor het grootste deel degeneré's zijn.

Dat dit verband doorbroken kan worden, kan enigszins uit fig. 11 worden afgelezen, maar ook de moederklonen 629 en 490, waarvan de hooggehaltige 629 een goede groeier en de laaggehaltige 490 een slechte groeier is, bewijzen dit.

Maar voor kruisbestuivende gewassen heeft men een gevarieerd basismateriaal nodig en dan is het negatief verband tussen hooggehalte en produktie wel zeer bezwaarlijk. Een compromis, ergens in de middengroepen, zal dan wel het antwoord moeten zijn.

Uit de rechterzijde van fig. 11, waarbij zowel de kloongewichten als de eiwitgehalten bekend zijn, wordt ook een berekening mogelijk over de gemiddelde eiwitopbrengst per kloon in de verschillende I_1 -groepen per gehalte-interval.

De grafische uitbeelding hiervan in fig. 12a geeft de indruk dat er een afnemende tendens is naar de hogere gehalten en dat dit bij alle I_1 -groepen hetzelfde is, door welke moederkloon (490, 610, 616 of 629) deze ook werden voortgebracht.

Uit de puntenzwerm voor alle individuele klonen in fig. 12b is de regressielijn $y = px + q$ berekend. Deze heeft de volgende waarde: $y = -0,07x + 3,75$.

Er is dus een geringe helling naar rechts, zij het dat deze helling niet erg betrouwbaar is. Immers σ_p bedraagt 0,04.

Het is dus voorzichtiger te zeggen, dat het niet blijkt dat de hooggehaltige klonen meer eiwit produceren en dat ze waarschijnlijk zelfs wat minder voortbrengen dan

de laaggehaltige. Er hapert dus iets aan de verwerking van de stikstof bij de hooggehaltige.

Indien men deze gehalten betreft op de verse-stof krijgt men geen ander beeld dan wanneer deze op droge-stof zijn betrokken.

Fig. 12. Gemiddelde ruw-eiwitopbrengst van de I_1 -klonen per groep bij uiteenlopende eiwitgehalten (a) en het verband tussen het ruw-eiwitgehalte en de ruw-eiwitopbrengst bij alle I_1 -klonen (b)

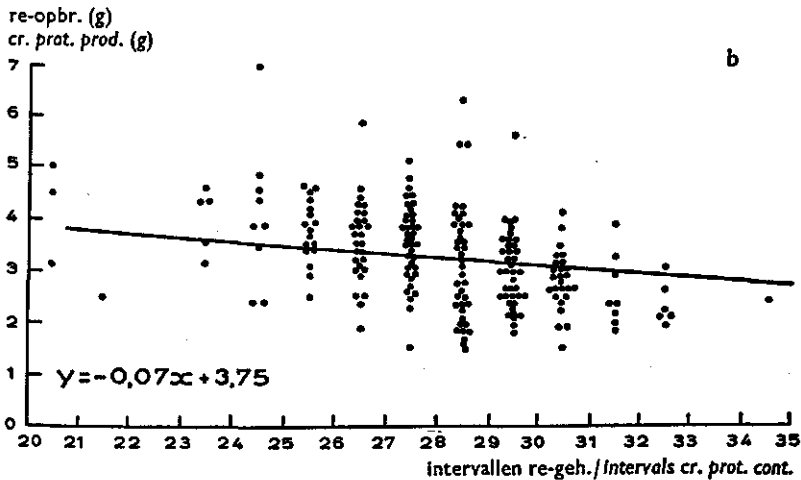
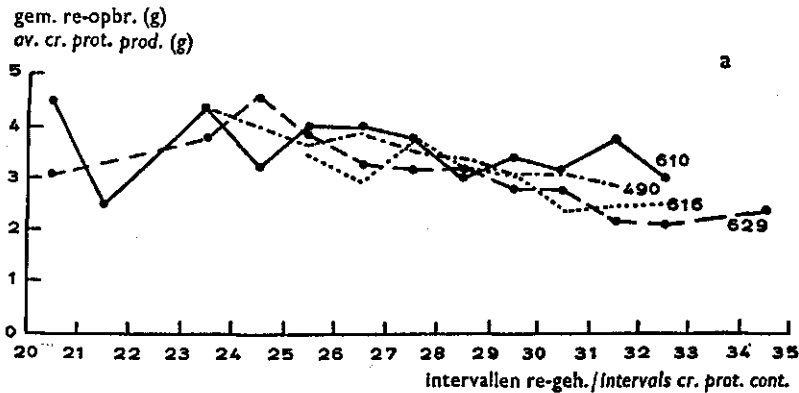


Fig. 12. The average crude protein production of the I_1 clones per group at various protein contents (a) and the relation between the crude protein content and the crude protein production of all I_1 clones (b)

Nu duidelijk vaststaat dat hogere eiwitgehalten bij deze I_1 -klonen gepaard gaan met afnemende bladproducties komt de vraag naar de vitaliteit aan de orde.

Het kloongewicht stelt een bepaald moment voor in de produktiviteitsbeweging. Vitaliteit is herhaalde produktiviteit.

Wanneer hooggehaltige klonen ondanks hun geringer kloongewicht toch een sterke vitaliteit bezitten, is alle hoop op het benutten van deze planten in veredelings-schema's nog niet vervlogen, omdat blijkens onze proeven (zie 7.4) de vererving van het ruw-eiwitgehalte niet absoluut gecorreleerd is aan het gehalte van de moederkloon.

De volgende algemene vraag kan dus worden geformuleerd: Is het plantgewicht ofwel de blad- en stengelmasse positief gecorreleerd met de vitaliteit?

Ter beantwoording van deze vraag zijn allereerst de observaties uit 1958 in het veld van de I₁-planten, vóór ze benut werden voor de potproeven, beschikbaar. De volgende beschrijvingskenmerken werden toen gebruikt (tabel 16).

Tabel 16. Telling van I₁-klonen per I₁-groep, ingedeeld naar bladmasse, type en schietdatum

	Groep/group			
	629	616	610	490
Totaal / total	97	93	96	103
BLADMASSA / foliage				
bladarm / deficient	23	35	5	17
vrij bladarm / fairly deficient	26	22	9	29
vrij bladrijk / fairly abundant	29	31	34	38
bladrijk / abundant	19	5	48	19
TYPE / type				
liggend / prostrate	29	12	4	35
half opgaand / semi-erect	59	79	79	63
opgaand / erect	9	2	13	5
SCHIEDATUM / date of heading				
laat / late	16	27	3	13
half-laai / half late	22	37	23	28
vroeg / early	59	29	70	62

Table 16. Count of I₁ clones per I₁ group, divided into foliage, type and date of heading

Wanneer deze gegevens in procenten worden uitgedrukt kan een grafische voorstelling een totaalbeeld geven. Dat nu is gebeurd in fig. 13, linkerzijde.

In dezelfde fig. 13 is aan de rechterzijde opnieuw de bladrijksdom weergegeven bij de potproeven in 1959. Toen behoefde niet meer te worden geschat, maar waren de juiste gewichten bekend. Er hebben toen minder planten meegedaan, ten eerste door de mijteninvasie en ten tweede door verlies aan vitaliteit.

Het minst interessant zijn de grafieken over het schieten en het type. Hoewel de klonen 629, 616, 610 en 490 een gelijke schietdatum hebben, vererft kloon 616 een overwegend latere schietdatum. Wat de overerving van het type betreft staan de klonen gelijk; overwegend wordt het halfopgaande type in de nakomelingschap teruggevonden.

Fig. 13. Procentuele verdeling volgens bladrijckdom, type en schietdatum in 1958 en volgens bladrijckdom in 1959 van de klonen der I_1 -populaties

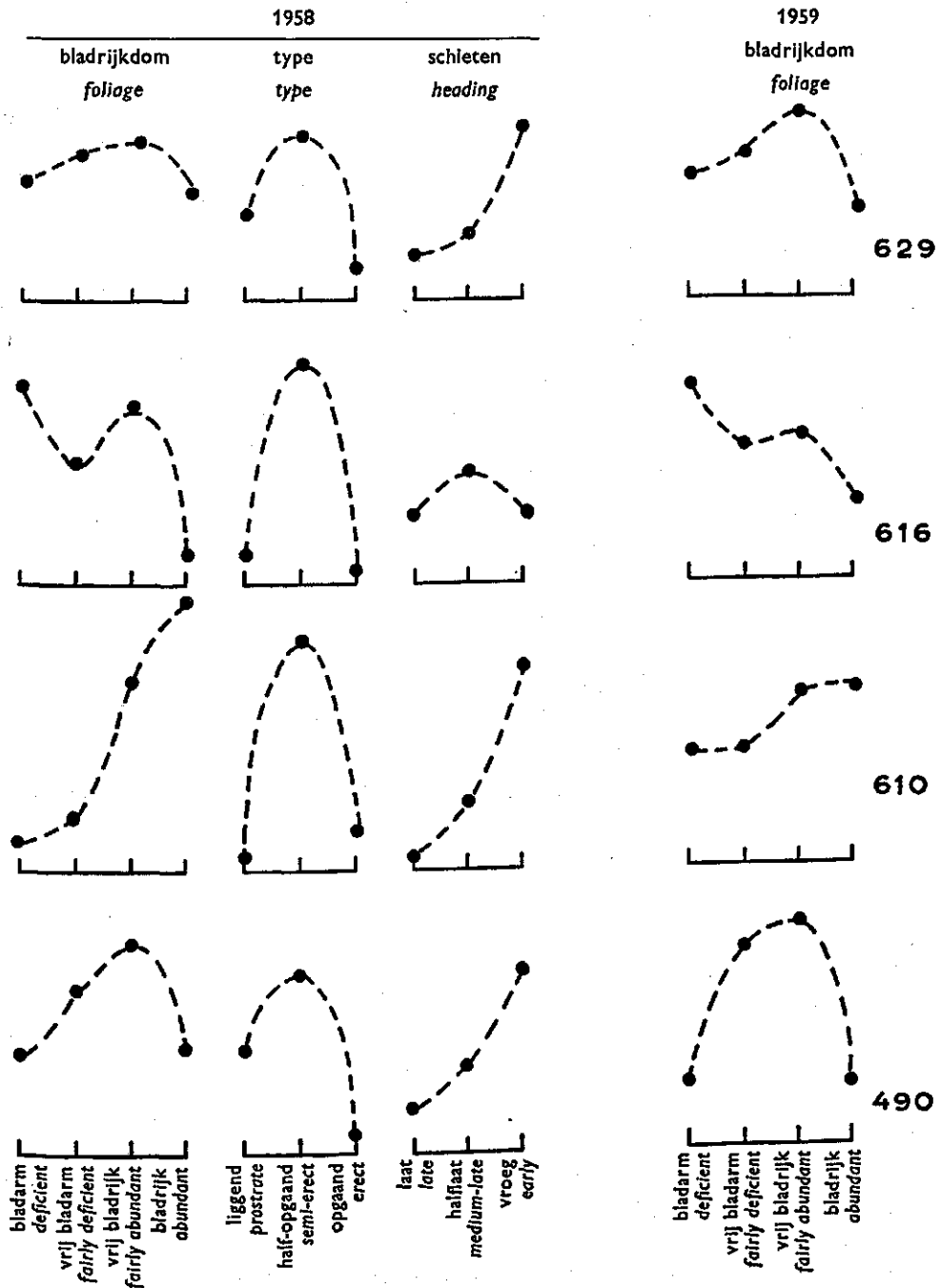


Fig. 13. Proportional distribution according to foliage, type and date of heading in 1958 and according to foliage in 1959 of the clones of the I_1 populations

Veel belangrijker zijn de grafieken over de bladrijksdom. Hier vindt men een kenmerkend onderscheid. De I_1 -populatie van kloon 610 is zeer bladrijk, die van kloon 616 daarentegen bladarm, de beide andere staan daar tussenin. Een jaar later wordt in de potten, ondanks het feit dat iedere groep kleiner is geworden, hetzelfde beeld aangetroffen.

In het algemeen zou men geneigd zijn een kloon als 490, die op zichzelf veel minder aantrekkelijk is dan kloon 616, op grond van de I_1 -populatie als geniteur de voorkeur te geven. Dat dit ook juist is, werd aangetoond bij de paarsgewijze kruisingen (7.4) waar de YATES-analyse kloon 616 aanwees als de kloon met de geringste aanleg tot vererving van produktiviteit.

Hier wordt de aanwijzing dus sterker, dat bladrijksdom en vitaliteit verwant zijn.

Meer aanwijzing kan worden verkregen uit het aantal klonen dat uit de proef verdwenen is. Een gedeelte van de klonen is verdwenen door mijtenaantasting (fig. 14) en er is geen reden aan te nemen, dat bij de aantasting door de parasieten een duidelijke voorkeur voor vitale of minder vitale of voor bladrijke en bladarme planten is opgetreden.

Bij de andere klonen die zijn uitgevallen bestaat deze mogelijkheid wel.

Bij de nakomelingen van 629 en 610 is geen aantasting door mijten opgetreden. Bij de groepen 490 en 616 daarentegen is een vrij groot aantal klonen uitgevallen ten gevolge van beschadiging door mijten (zie ook tabel 17).

Tabel 17. Percentage uitval door zwakte en door mijten in verschillende groepen I_1 -klonen

	Uitval / rejets (%)			
	629 geen mijten <i>no mites</i>	610 geen mijten <i>no mites</i>	616 mijten <i>mites</i>	490 mijten <i>mites</i>
bladarme klonen <i>plants deficient in foliage</i>	34	75	56	70
bladrijke klonen <i>plants abundant in foliage</i>	10	11	50	73

Table 17. Percentage rejets by weakness and mites in various groups I_1 clones

Uit dit overzicht blijkt dat relatief evenveel bladrijke als bladarme planten door mijten zijn aangetast. De planten die om andere redenen zijn uitgevallen, blijken echter overwegend bladarme planten te zijn.

De bladarme planten zijn dus gemiddeld minder vitaal dan de bladrijke. In dit verband is vitaliteit dus hetzelfde als persistentie.

Er blijken op de regel echter nogal wat individuele uitzonderingen voor te komen. We zouden ons er dus geen al te grote zorgen over behoeven te maken dat de groep hooggehaltige I_1 -planten zo weinig bladrijk is. Wanneer ze maar vitaal zijn en een hoge produktie vererven, zoals kloon 490, is er geen gevaar.

De rechterzijde van fig. 11 suggereert echter enigszins dat bij de hogere gehalte-groepen het verband tussen bladarmoede en lage vitaliteit wel eens absoluiter zou kunnen zijn. Deze suggestie nu is juist.

Terwille van de massale proefkruisingen moesten de extreme I₁-klonen verder worden vermeerderd. Toen bleek duidelijk hoeveel moeite de hooggehaltige daarbij veroorzaakten.

Gedurende de winter van 1959/60 zijn ze in een kas bijeengebracht. Fig. 15 geeft hiervan een duidelijk beeld. Op de achtergrond ligt de groep hooggehaltige, op de voorgrond de groep laaggehaltige. Het verschil in ontwikkeling is frappant. Tevoren werden ze na scheuring in potten vermeerderd. Het aantal potten dat met een bepaald nummer kon worden bezet geeft een maat voor de uitstoelingskracht, als volgt:

groep laaggehaltig	aantal potten	groep hooggehaltig	aantal potten
9 stuks	min. 4	14 stuks	min. 1
	max. 7		max. 5
	gem. 5		gem. 3

Deze cijfers geven duidelijk aan dat de laaggehaltige planten gemiddeld veel sterker uitstoelen. Bovendien bleek later, nadat ze zaad geschoten hadden voor de massale proefkruising, dat ze niets geleden hadden en voorspoedig verder groeiden, terwijl de hooggehaltige aan het einde van hun krachten waren en geleidelijk de strijd opgaven.

Er moet dus inderdaad worden vastgesteld, dat hoe extremer de hooggehaltige planten zijn, des te sterker bladarmoede en geringe vitaliteit gekoppeld zijn.

Men moet dus ook langs deze kant tot de slotsom komen dat hoog-eiwitgehalte sterk wijst op een degeneratieverschijnsel en dat, wanneer het toch gekoppeld moet worden aan hoge produktie en vitaliteit, het compromis gevonden zal moeten worden in de minder extreme planten. Aan de laaggehaltige kant echter is er hier geen enkele moeilijkheid.

Conclusies

De kloonwaarde geeft niet veel aanknopingspunten betreffende de vererving van het eiwitgehalte. Uit de analyse der I₁-nakomelingschappen kan beter een conclusie worden getrokken. De reactie van een bepaald milieu op het kloongehalte zou verklaard kunnen worden door plasmatische vererving, maar de gegevens laten niet toe aan deze opmerking meer dan hypothetische waarde toe te kennen.

Het gemiddelde plantgewicht daalt in de richting van de hogergehaltige klonen. Het optimum ligt geheel bij de laaggehaltige klonen.

De ruw-eiwitopbrengst van de hooggehaltige klonen is niet hoger, eerder lager dan die van de laaggehaltige klonen. Er is dus een duidelijke remming in de verwerking van de stikstof te bespeuren.

Wanneer men streeft naar hoge ruw-eiwitopbrengsten zal het compromis ergens in de middengehalten gevonden moeten worden.

Dit compromis is te noodzakelijker bij kruisbestuivende gewassen, waarbij men op een uitzondering op de regel geen ras kan bouwen.

Bladrijksdom is positief gecorreleerd aan vitaliteit bij inteeltklonen, de correlatie is niet absoluut. Een kloon met een bladrijke I₁-nakomelingschap is waarschijnlijk een goede geniteur. De extreem hooggehaltige I₁-klonen zijn bladarm en blijven bladarm, terwijl ze tevens een groot tekort hebben aan vitaliteit.

Alle verschijnselen wijzen erop dat genetisch hooggehalte in dit materiaal een degeneratieverschijnsel is.

Zelfbestuiving en paarsgewijze kruising voeren ten opzichte van gehaltevererving en produktiviteit tot dezelfde conclusies over de geniteurswaarde van een kloon; de gebruikswaarde van het fenotype van de kloon zelf is gering.

7.6 Massale proefkruising (zie ook 4.2; K)

De extreme I₁-klonen kunnen hun extreme plaats zowel in positieve als in negatieve richting (zoals die worden gevonden uit de verdelingscurve van de eiwitgehalten na zelfbestuiving van de twee hooggehaltige en de twee laaggehaltige moederplanten) te danken hebben aan hun natuur, maar ook aan de proeffout. Doordat per object slechts éénmaal werd beproefd, kon de scheiding tussen toevallige en systematische afwijkingen niet worden gevonden.

Wanneer echter de extreme I₁-klonen in groepen tezamen worden gebracht, gezamenlijk afbloeien en zo een nakomelingschap verwekken, is de invloed van een foutieve classificering van een enkele plant veel minder groot en zal deze het beeld van de vererving, wanneer de groep maar niet uit te weinig individuen bestaat, nauwelijks beïnvloeden.

Het gezamenlijk afbloeien kan niet beter geschieden dan in een massale proefkruising.

Hiervoor moeten de klonen die uitgekozen zijn om hieraan mee te doen opnieuw sterk door scheuring worden vermeerderd. Dit geschiedde in 1959 en 1960. De groep laaggehaltig werd bepaald op negen klonen (a t/m i) de groep hooggehaltig op veertien klonen (a t/m n).

De respectieve massale proefkruisingsschema's zagen er als volgt uit:

Laaggehaltig

a b c d e f g h i
 c f h a g b i d e
 e c g i b h a f d
 f g d a h e b i c
 c e h d i a f g b
 d i f c a g b c h
 e a f b g c h d i
 i h g f e d c b a
 d i e b f c a h g

Hooggehaltig

a b c d e f g h i j k l m n
 h d k m c j l n e b f i g a
 k n d l h g b j a i e m c f
 l e m j a n g i b k f c h d
 g j f k b h c m a i l d n e
 e k l f a m g n c h i b d j
 h j c g l d a i e k b n f m
 b d k a c e j h i f m g l n
 c l a j b d m g n i e k h f

Fig. 14. Kloon rechts aangetast door Tarsonemus spirifex

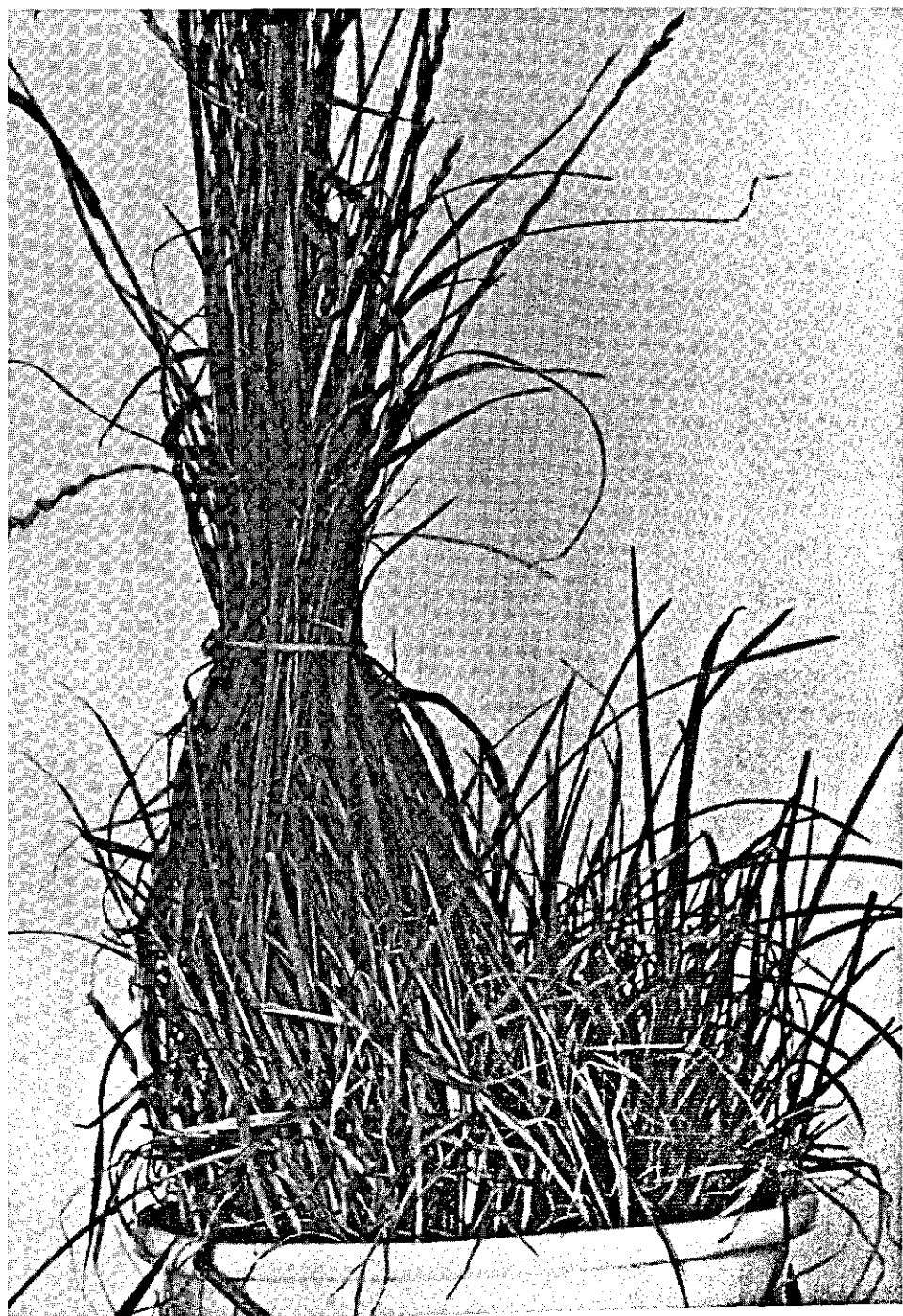


Fig. 14. Clone at the right infested by Tarsonemus spirifex

Fig. 15. Laaggehaltige (voorgrond) en hooggehaltige (achtergrond) I_1 -klonen



Fig. 15. Low-content (foreground) and high-content (background) I_1 clones

De zaadzetting in 1961 verliep volledig normaal. Er werd voldoende zaad geproduceerd om op 10 augustus 1961 een latijns vierkant te kunnen inzaaien. In vergelijking met nog andere objecten en een standaard (Engels raaigras Heidemij) kon nu worden nagegaan of de nakomelingschappen onderling inderdaad een betrouwbaar verschil in eiwitgehalte vertoonden en of er een erfelijke overdracht van eiwitgehalte plaatshad.

Die andere objecten bestonden uit de nakomelingschappen van drie klonen die waren geselecteerd uit de hooggehaltige, van drie klonen geselecteerd uit de laaggehaltige (een selectie waarvan de zin later besproken zal worden), van de klonen uit de middengroep en van stamzaad Heidemij zodat er dus in totaal zes objecten in het latijns vierkant voorkwamen.

Deze proef moet nu het bewijs leveren dat de hoog- en laaggehaltige extremen der I_1 -populaties, die zulke kenmerkende eigenaardigheden vertoonden, geen toevallige maar genetische extremen zijn, hetgeen door de enkelvoudige bepaling der individuele waarnemingen nog niet vaststaat.

Aangetoond moet dus worden dat de gehalten der extreme groepen erfelijk kunnen worden overgedragen waarvoor de massale proefkruising dienen kan.

Uit de groepen hooggehaltig en laaggehaltig zijn geselecteerde groepen gemaakt gebaseerd op drie klonen, omdat bij bestudering van alle gegevens die van de extreme I_1 -klonen beschikbaar waren, in meerdere of mindere mate aanwijzingen gevonden konden worden dat het toevalselement de extreme positie te sterk had bepaald. O.a. was dit het geval wat de bladrijksdom betreft.

Zo werden de volgende selecte groepen nog eens apart tot onderlinge bestuiving gebracht volgens het onderstaande schema:

	a b c b a c	
	b c a a c b	
laaggehaltige selecte groep	c a b c b a	hooggehaltige selecte groep
610-22, 610-96, 629-94	a b c a c b	610-73, 629-21, 629-40
	c a b b a c	
	b c a c b a	

De nakomelingschappen van de selecties hoog- en laaggehalte werden ook nog in een potproef opgenomen (zie 4.2; M) welke potproef op dezelfde wijze werd ingericht als beschreven in 7.5.

De zaadzetting verliep normaal. Er werd voldoende zaad geproduceerd, ook van de selecties hoog- en laaggehalte.

Toen het zaad geoogst was, werden de klonen weer verzameld en teruggebracht in een kas. Morfologisch konden de hooggehaltige planten goed worden onderscheiden van de laaggehaltige planten, ze waren nl. steil, donkergroen, hoewel sterk verzwakt. De laaggehaltige waren liggend tot half-opgaand met overhangend blad en zeer vitaal. Als bouwstenen voor een ras bleken de hooggehaltige klonen na de zaadzetting waardeloos; de meeste gaven tenslotte de strijd op. Met de klonen van middelmatig of laaggehalte bestonden geen moeilijkheden.

Op 10 augustus 1961 werd het latijns vierkant ingezaaid met de objecten hooggehalte, selectie-hooggehalte, laaggehalte, selectie-laaggehalte, middengroep en stamzaad-Heidemij. De veldjes waren elk 10 m² groot; de hoeveelheid zaad per veldje bedroeg 50 gram. De bemesting bedroeg 30 kg N, 60 kg K₂O en 33 kg P₂O₅ per ha. Een zwaardere bemesting werd in het najaar te gevaarlijk geacht in verband met de te grote gevoeligheid van de planten in de winter. De duizendkorrelgewichten van de zaden uit de kruisingen van de inteeltklonen schommelen om de 1000 mg, terwijl dit voor Heidemij 1200 mg bedroeg.

De kiemkrachten van alle partijtjes lagen boven de 90 %.

Daar de ervaring was opgedaan dat kleiner zaad in het begin een depressief opbrengsteffect geeft (zie 7.4) werd hiermede nu rekening gehouden. Bij de opkomst bleek dan ook duidelijk dat Heidemij het eerst kiemde en op het oog reeds het gehele jaar 1961 een voorsprong behield. Gezien de ervaringen onder 7.4 beschreven, moet er dus rekening mee worden gehouden dat deze voorsprong vele maanden behouden blijft.

Overigens was het proefveld uitstekend egaal. Na enige tijd was er een opvallend verschil in uiterlijk tussen de veldjes. Het gras op de veldjes Heidemij was overhangend en lichtgroen, het gras op de veldjes laaggehalte en selectie-laaggehalte iets donkerder, maar toch duidelijk lichtgroen en overhangend, het gras op de veldjes hooggehalte en selectie-hooggehalte donkergroen en rechtopstaand en het gras op de veldjes middengehalte lag in kleur en type tussen hooggehalte en laaggehalte in.

Deze kleurverschillen bleven het volgende jaar hetzelfde. In de buurt lag een proefveld waarop onder anderen het Engelse vroege type S 24 en een van de laatste weidetypen Splendor voorkwamen. Daar zag men ook de kleurschakeringen, zij het dat deze lang niet zo groot waren als tussen hooggehalte en laaggehalte. Het is dus wel aardig dat men uitgaande van de idee niet op visuele kenmerken te selecteren tot een resultaat komt dat visueel veel grotere verschillen geeft dan wanneer men op het oog zou hebben geselecteerd.

De winter van 1961 op 1962 was niet streng. De laagste temperatuur, en dat slechts gedurende twee dagen, was — 13° C; de nawinter was echter koud en droog, waardoor verschillende Engels raaigrasbestanden nogal te lijden hadden. De hooggehaltige veldjes waren duidelijk minder tegen de winter bestand dan de laaggehaltige. Echte uitwintering kwam niet voor, maar de kleur was na de winter in de hooggehaltige veldjes, door de verdorring van de bovengrondse delen, bijna bruin.

Wanneer men de kleurverschillen tussen de hoog- en laaggehaltige veldjes door het blad op wit papier te leggen op de keper beschouwt, blijkt er helemaal geen kleurverschil te bestaan; het is slechts een kwestie van lichtterugkaatsing door een andere bladstand.

Het was in ieder geval duidelijk dat er een grote overeenkomst bestond tussen de habitus der inteeltklonen en de daaruit verkregen nakomelingschap.

Een verschil tussen de selecties uit de groepen hooggehalte en laaggehalte kon op het oog worden waargenomen.

Aangezien er een zo grote overeenkomst was tussen de morfologie der uitgangs-

planten en de nakomelingschappen, aangezien m.a.w. het type zo sterk bleek te vererven en aangezien de extreme I₁-klonen dus geen toevalsextremen maar genetische extremen bleken te zijn, konden we niet anders verwachten dan dat bij analyse zou blijken dat in de veldjes de bijbehorende hoge en lage gehalten zouden worden aangetroffen. De analyse leert echter het volgende (tabel 18)

Tabel 18. Opbrengsten (in g) en ruw-eiwitgehalten van nakomelingschappen van I₁-klonen op het veld (najaar 1961)

	Opbrengst droge-stof <i>yield</i> <i>dry matter</i>	Opbrengst ruw-eiwit <i>yield</i> <i>crude protein</i>	Ruw-eiwitgehalte in de droge-stof (%) <i>crude protein content</i> <i>in dry matter (%)</i>
A. hooggehalte <i>high-content</i>	876	212,3	24,3
B. selectie-hooggehalte <i>selection high-content</i>	925	219,8	23,9
E. middengroep <i>medium group</i>	981	227,5	23,5
C. laaggehalte <i>low-content</i>	1105	264,2	24,0
D. selectie-laaggehalte <i>selection low-content</i>	1137	259,6	23,0
F. Heidemij	1252	283,7	22,6
Variatie-coëfficiënt (%) <i>Variation coefficient</i>	9	12	9

Tabel 18. Yields (in g) and crude protein contents of progenies of I₁ clones in the field (Autumn 1961)

De conclusies uit de variantie-analyse met breedtetoeets (KEULS, 16) zijn de volgende:

	onbetrouwbaar	betrouwbaar	
		R 0,05	R 0,01
Opbrengst droge-stof	A - B	E - C	A - C
	C - D	B - C	A - D
	B - E	D - F	B - D
	A - E	C - F	B - F
			A - F

Dit resultaat kon op het oog geverifieerd worden. Laaggehalte of selectie-laaggehalte geeft dus betrouwbaar meer droge-stofopbrengst dan hooggehalte of selectie-hooggehalte. De selecties hebben geen winst opgeleverd; Heidemij blijft de kroon spannen.

Tussen de ruw-eiwitgehalten in de droge-stof is geen betrouwbaar verschil aantoonbaar. Als men de ruw-eiwitgehalten uitdrukt in de verse-stof bestaan er aanwijzingen van plausible gehalteverschillen, nl. hooggehalte 3,28%; selectie-hooggehalte 3,25%; middengroep 3,33%; laaggehalte 3,00%; selectie-laaggehalte 2,85%; Heidemij 2,91%. Bij wiskundige bewerking blijken deze verschillen nauwelijks betrouwbaar.

Gezien deze feiten is het duidelijk dat de ruw-eiwitopbrengsten in het gelid lopen met de droge-stofopbrengsten. De laaggehaltige groepen geven de hoogste ruw-eiwitopbrengsten.

Het is min of meer een verrassing, aangezien het type zeer duidelijk vererft, (welk type waarschijnlijk het gevolg is van de fysiologische structuur) dat die structuur zelf, althans ten aanzien van het ruw-eiwitgehalte dat we onderzoeken niet of nauwelijks vererft, tenminste niet aantoonbaar.

Overigens werd in dit geval in het najaar geanalyseerd en reeds eerder werd het verschijnsel gesignaleerd dat de genetische gehalteverschillen bij een gevorderd seizoen dreigen te verdwijnen (zie bijv. bij COOPER, hoofdstuk 3; bij het eigen kloononderzoek 5.3 en hoofdstuk 6; bij de tweede snede der I₁-planten, 5.2.2). Het lag dus voor de hand dat de analyse in het voorjaar van 1962 werd herhaald omdat dan de kans veel groter was dat de gehalteverschillen wel zouden worden getroffen. In het voorjaar van 1962 werd 210 kg N, 210 kg K₂O en 210 kg P₂O₅ per ha toegediend.

Daar de extreme I₁-klonen zijn geselecteerd in potten in een kunstmatig milieu, bestaat de kans dat de gehalteverschillen in de nakomelingschappen slechts in dit milieu te voorschijn komen.

Daarom zijn een twintigtal potten toebeleid als in 7.5 werd beschreven voor de I₁-klonen. In de ene helft is selectie-hooggehalte en in de andere helft selectie-laaggehalte uitgeplant. Deze potten zijn twee aan twee samengevoegd voor de monstername zodat de gegevens in vijfvoud vergeleken konden worden.

Hernieuwde analyse in het vegetatief stadium in het voorjaar van 1962 geeft het resultaat, zoals in tabel 19 is gegeven.

Tabel 19. Opbrengsten (in g) en ruw-eiwitgehalten van nakomelingschappen van I₁-klonen in het veld (voorjaar 1962)

	droge-stof opbrengsten <i>yield in dry matter</i>	ruw-eiwit opbrengsten <i>yield in crude protein</i>	ruw-eiwitgeh. droge-stof <i>crude prot. cont. dry matter</i>	ruw-eiwitgeh. verse-stof <i>crude prot. cont. fresh matter</i>
A. hooggehalte <i>high-content</i>	3627	864,2	23,9	3,11
B. selectie-hooggehalte <i>selection high-content</i>	3547	866,1	24,4	3,18
E. middengroep <i>medium group</i>	4003	920,6	23,0	3,01
C. laaggehalte <i>low-content</i>	4112	923,5	22,5	2,91
D. selectie-laaggehalte <i>selection low-content</i>	3883	866,9	22,3	2,82
F. Heidemij	4148	950,3	22,9	2,92
Variatie-coëfficiënt (%) <i>Variation coefficient</i>	5,8	6	3,1	3,3

Table 19. Yields (in g) and crude protein contents of progenies of I₁ clones in the field (Spring 1962)

De conclusies uit de variantie-analyse en breedtetoeets zijn de volgende:

	niet betrouwbaar	R 0,05	betrouwbaar	R 0,01
Droge-stofopbrengsten	C - F	B - D	A - C	
	A - B	A - D	B - C	
	C - D	A - E	B - E	
	C - E		B - F	
	D - E		A - F	
Eiwitgehalten	A - B	A - E	B - E	
	C - D	A - F	B - F	
	D - F		B - C	
			B - D	
		A - C		
		A - D		
Eiwitopbrengsten	overige	A - C	geen	
		B - C		
		A - F		
		B - F		

Onder woorden gebracht luiden deze conclusies als volgt:

De selecties hoog- of laaggehalte leveren wederom niets positiefs op ten opzichte van de grotere groepen hooggehalte of laaggehalte. De twijfel over verschillende I₁-planten, die in deze grotere groepen bij de onderlinge bestuiving werden opgenomen, was dus niet gerechtvaardigd.

Laaggehalte brengt ruim 10% meer droge-stof op dan hooggehalte en heeft hierbij Heidemij ingehaald. De schadelijke invloed van het kleinere zaad is dus niet meer aanwezig (zie ook 7.4).

Wat de ruw-eiwitopbrengsten betreft, blijkt laaggehalte ongeveer 6% meer opbrengst te geven dan hooggehalte.

De ruw-eiwitgehalte-verschillen tussen hooggehalte en laaggehalte zijn relatief ongeveer 8%. Heidemij ligt ongeveer intermediair, net als de middengroep.

De middengroep ligt in droge-stofopbrengst veel meer naar de kant van de laaggehaltige groep dan naar die van de hooggehaltige. De verschillen met de laatste zijn wel betrouwbaar, maar die met de eerste niet. Men kan dus eigenlijk niet zeggen dat de middengroep intermediair is.

Wanneer dat zekerder was, zou men een middel hebben om een populatie door middel van eiwitgehalte-onderzoek in een productief en een minder productief deel te splitsen. De kans blijft echter groot, dat men dan wel een (klein) inproductief deel uit de hooggehaltige afsplitst, maar in totaal toch weinig vorderingen maakt.

De eiwitgehalte-verschillen zijn duidelijk geworden volgens de verwachting. De vererving is vastgesteld en de geselecteerde hoog- en laaggehaltige extremen zijn geen toevalsextremen geweest, maar genetische extremen. De conclusies uit 7.5 gelden

voor genetisch laag- en hooggehaltige I₁-klonen. Het bewijs, waarvan gesproken werd in het begin van 7.5, is geleverd. Met het gehalte wordt ook het type erfelijk overgedragen. De gehalteverschillen zijn niet zo groot tussen beide groepen als tussen de I₁-extremen, maar dit lag in de lijn der verwachting (zie 7.5).

Daar de totale eiwitopbrengsten nog steeds ten gunste van laaggehalte liggen, is het de vraag wat er gebeurt wanneer in een kunstmatige omgeving het milieu ongeveer optimaal wordt gemaakt. De potproeven geven het volgende resultaat (tabel 20):

Tabel 20. Opbrengsten (in g) en ruw-eiwitgehalten (in %) van nakomelingschappen van I₁-klonen in potproeven

	opbrengsten/yields		ruw-eiwitgeh./crude protein contents	
	droge-stof dry matter	ruw-eiwit crude prot.	droge-stof dry matter	verse-stof fresh matter
selectie-hooggehalte selection high-content	19,2	6,72	35,0	5,06
selectie-laaggehalte selection low-content	21,0	6,77	32,0	4,65

Table 20. Yields (in g) and crude protein contents (in %) of progenies of I₁ clones in pot trials

Vergeleken met de veldproef in dezelfde objecten, resp. B en D, is er geen wijziging wat betreft de droge-stofopbrengsten. Selectie-laaggehalte blijft het hoogste. Ten aanzien van de totaal-eiwitopbrengsten is er een nivellering, maar verschil bij de veldproef was er bij B en D evenmin.

We kunnen dus niet zeggen dat het de hooggehaltige groep, ook niet bij vrijwel optimale omstandigheden, gemakkelijk zal lukken, de laaggehaltige groep in totaal-ruw-eiwitproductie te overwinnen.

Bij deze potproef werd nog eens nauwkeurig nagegaan of er verschil in schietdatum bestaat tussen selectie-hooggehalte en selectie-laaggehalte. Dit verschil bleek zeer klein, en was ten hoogste één dag ten gunste van selectie-laaggehalte.

In de potproef is tevens nagegaan (na een aanvullende bemesting in de tweede, derde en vierde snede) of er een keerpunt bestaat waarbij de opbrengst ten gunste van selectie-hooggehalte komt te liggen, zodat er dan tenminste een verschil in groei-ritme met selectie-laaggehalte vastgesteld zou kunnen worden; zoals echter uit tabel 21 blijkt, heeft dit punt zich nooit voorgedaan.

Tabel 21. Verse-stofopbrengst van selectie-hooggehalte en selectie-laaggehalte in verschillende sneden

Opbrengst yield	selectie-hooggehalte selection high-content	selectie-laaggehalte selection low-content
2° snede/cut	158	183
3° snede/cut	89	106
4° snede/cut	65	78

Table 21. Fresh matter yields of selection high-content and selection low-content in different cuts

Conclusies

De uitgesproken type-onderscheidingen tussen hooggehaltige en laaggehaltige I₁-planten, als bladstand, kleur en groeikracht blijken erfelijk te kunnen worden overgedragen. Daarmee blijken de extreme I₁-planten genetische extremen.

Ten aanzien van het gehalte werden in het najaar geen verschillen geconstateerd, in het voorjaar wel.

De laaggehaltige planten blijken echter het produktiefst en overwinnen hiermee onder alle omstandigheden, ook wat betreft de totale eiwitproduktie.

Bij een optimaal milieu dat in de praktijk wel zelden verwezenlijkt zal worden, slagen de hooggehaltige planten er, wat totale eiwitopbrengst betreft, evenmin in de laaggehaltige te overtreffen, en de totale droge-stofproduktie blijft lager liggen.

Door selectie op gehalte krijgt men rassen die visueel sterk contrasteren. Hooggehaltige rassen zijn ook minder tegen koude bestand. De conclusies uit 7.5 gelden voor genetische extremen in dit materiaal. Genetisch extreem hooggehaltige planten zijn voor zichzelf en voor hun nakomelingschap feitelijk degeneré's; zelfs een verschil in groeiritme, dat nog in hun voordeel zou kunnen pleiten, bestaat niet.

Samenvatting en discussie

Uit de jaren na de laatste wereldoorlog dateert in het kader van problemen ter verbetering van de kwaliteit ook in Nederland, de vraag naar de mogelijkheid van vergroting van het eiwitgehalte in voedergewassen langs selectieve weg. Een voorbeeld hiervan is het pogen om het eiwitgehalte in Engels raaigras, zijnde de voorname soort uit de Nederlandse goede graslanden te verhogen.

De bedoeling is natuurlijk dat als gevolg van dit verhoogde gehalte de totale netto voederwaarde-opbrengst zo mogelijk groter wordt, anders is het effect niet de moeite waard.

In het voorgaande onderzoek is getracht een antwoord te vinden op de vraag of in bepaald materiaal van Engels raaigras, verzameld uit oude graslanden, genetische variabiliteit van het ruw-eiwitgehalte aanwezig is, die voor de praktijk van belang zou kunnen zijn.

De totale variatie van het eiwitgehalte is zeer groot, vooral ten gevolge van milieu-invloeden, van modificaties dus. Het uitschakelen hiervan is een eerste vereiste om de genetische variatie te kunnen vinden. Dit is natuurlijk mogelijk, maar vraagt veel onderzoek, omdat sommige milieu-invloeden niet onmiddellijk als zodanig onderkend kunnen worden. Wanneer het milieu zo constant mogelijk gehouden wordt, zijn er nog verschillen die niet geëlimineerd worden, omdat ze tot het wezen van de plant behoren, tot het idiootype dus, die hier niet gerekend worden tot de genetische verschillen die wij willen leren kennen.

Wij bedoelen de verschillen in ruw-eiwitgehalte die veroorzaakt worden door verschillen in overgang van de vegetatieve naar de generatieve fase, resulterend in een verschil in schietdatum bij gelijke milieu-omstandigheden. Deze overgang is met het ongewapend oog niet gemakkelijk waarneembaar en wanneer vóór het zichtbaar schieten wordt geogst, is men zich van deze verschillen niet bewust.

Schakelt men deze verschillen niet uit, dan zal men zeker genetische verschillen in eiwitgehalte vinden, zelfs binnen een bepaald hooi- of weidetype, maar gecorreleerd aan de schietdatum. Immers het is bekend, dat hoe eerder een plant schiet, hoe sneller het eiwitgehalte daalt. Men zou dan door eiwitanalyse op een omslachtige wijze op schietdatum selecteren.

De vraag moet dus veel meer zijn of bij gelijke schietdatum nog genetische verschillen in eiwitgehalte overblijven. Juist door de laatste eis werd de hoeveelheid materiaal waarmee het onderzoek werd begonnen, aanmerkelijk beperkt.

Het onderzoek werd begonnen met 300 klonen, waaruit slechts 28 klonen met gelijke schietdatum konden worden geselecteerd.

Voor zover in dit materiaal geldig moet worden gezegd, dat inderdaad genetische verschillen in eiwitgehalte bij gelijke schietdatum bestaan, maar dat deze klein zijn (orde van grootte 10% relatief) en bovendien door de interactie met het milieu lang niet altijd waarneembaar.

Vooraf in de nazomer zijn de verschillen moeilijk aantoonbaar. Dat is dus in de tweede of latere snede. COOPER (6) in Aberysthwyth vond in de eerste snede wel grotere genetische verschillen, hoewel er onzekerheid over bestaat of de invloed van uiteenlopende schiettijden in zijn onderzoek voldoende was uitgeschakeld.

Maar ook hij constateerde veel minder duidelijke verschillen in de nazomer. Er is dus aanleiding te veronderstellen dat er een vernalisatie-impuls nodig is om de genetische verschillen voor de dag te doen treden.

Het is geen wonder dat de milieuvariabiliteit in gehalte, waarvan door de stikstofbestedingstechniek reeds zoveel bekend is, de genetische variatie totaal kan overspoelen. Daar van deze milieuvariabiliteit bij gemengd grasland of bij populaties van een bepaald ras wel veel bekend is, maar veel minder bij genetische eenheden als klonen, is veel werk besteed aan de milieuvariëaties die een bepaalde kloon ten aanzien van het eiwitgehalte kan ondergaan.

Het is gebleken dat niet iedere kloon hier even gevoelig voor is. De reactie op milieu is erfelijk, hetgeen misschien op plasmatische vererving wijst, daar dit anders bij heterozygoot materiaal en een eigenschap als gehalte (die waarschijnlijk evenals alle kwantitatieve eigenschappen op vele factoren berust), niet erg begrijpelijk is. Daardoor is er een sterke interactie van de genetische kloonverschillen met het milieu.

Vooraf door eenvoudig verplanten op verse grond kan het gehalte onder vergelijkbare omstandigheden tot het dubbele stijgen. Dit is waarschijnlijk een kwestie van sterkere spruitvorming in een gunstiger milieu. Hierdoor kunnen vermoedelijk ook de grote verschillen tussen de individuen van een zelfde kloon op korte afstand van elkaar in een bepaald milieu verklaard worden.

In een gunstiger milieu nu werden hoge-opbrengst en hooggehalte zeer gelukkig gecombineerd tot zeer hoge ruw-eiwitopbrengsten, maar dit gold zowel voor de klonen met genetisch laag, als voor die met genetisch hoog gehalte.

Het bleek mogelijk de genetische gehalteverschillen zowel onder suboptimale, onder optimale, als onder maximale omstandigheden aan te tonen. Bij de voortgang van het onderzoek kwam naar voren dat de genetisch hooggehaltige klonen in dit materiaal over het algemeen slechte groeiers waren. Dit bleek zowel onder suboptimale als onder optimale omstandigheden het geval te zijn.

SCHWANITZ en SCHWARZE (33) hebben destijds een richtlijn geponeerd voor het selecteren op hoge eiwitgehalten, gecombineerd met hoge eiwitopbrengsten voor granen. Zij stellen dat men deze selectie onder optimale omstandigheden moet uitvoeren, daar anders de genetische mogelijkheden niet tot uiting komen.

Wanneer deze richtlijn hier voor grassen wordt getoetst, moet gezegd worden dat inderdaad onder optimale omstandigheden hooggehalte en hoge-productie gecom-

bineerd waren, maar dat de selectie dan geen ander resultaat had dan bij een sub-optimaal milieu.

In ons onderzoek is echter één kloon aangetroffen, die meestal hooggehaltig was, maar in een milieu dat gemiddeld geen hoge gehalten toeliet, betrouwbaar laaggehaltig. Deze kloon had de beste algemene combinatie-geschiktheid voor totale produktie in paarsgewijze kruisingen, maar erfde hooggehalte niet bij voorkeur over.

Zou men een dergelijke kloon dus willen benutten in een veredelingsprogram, en daar is reden voor, dan moet hij beproefd worden zowel onder optimale, als onder suboptimale omstandigheden.

Hiermee is nog niets gezegd ten nadele van de stellingen van SCHWANITZ en SCHWARZE want bij granen, waar het gaat om de korrel, die een reserve-orgaan is, kunnen heel andere wetten gelden dan bij grassen waar, zoals ALBERDA terecht opmerkt, het gehele assimilatie-apparaat tevens de oogst uitmaakt.

Bij het paarsgewijs kruisen van twee hooggehaltige en twee laaggehaltige klonen is gebleken dat de beste algemene combinatiegeschiktheid voor hooggehalte gevonden werd bij een laaggehaltige kloon, en wanneer de richtlijn van SCHWANITZ en SCHWARZE hier beproefd werd, bleek dat de theoretisch beste combinatie voor hooggehalte helemaal geen gunstig resultaat gaf.

In dit materiaal kwam de combinatie hoge-produktie met hooggehalte niet voor. Toen de klonen werden zelfbestoven, waardoor I_1 -populaties ontstonden bleek dat de middelwaarden dezer populaties een veel betere aanwijzing gaven voor de erfelijke waarde der moederkloon. Dit gold zowel ten aanzien van het ruw-eiwitgehalte als ten aanzien van de produktiviteit.

Hier zou men dus moeten zeggen dat de gebruikswaarde van het fenotype van de moederkloon minder is dan die van het gemiddelde van de I_1 -populatie voor vererving. Om tot verdere spreiding in het materiaal te komen zijn de I_1 -planten om ze beter te kunnen waarnemen, gekloond en verder bestudeerd en hieruit zijn recombinaties gemaakt door gezamenlijk afbloeien van de extreem hooggehaltige en de extreem laaggehaltige klonen. In deze ruim 200 I_1 -klonen is gebleken dat de bladproduktie positief gecorreleerd was met de vitaliteit. Zo waren de hooggehaltige I_1 -klonen slechte producenten en ze waren moeilijk in leven te houden, vooral wanneer ze zaad hadden geschoten. Er zijn nog al wat uitzonderingen op deze regel, maar de extreem hooggehaltige planten bleken zo weinig vitaal, dat de hoop opgegeven moest worden om in dit materiaal cumulatief door te werken. Zij zijn op zich zelf al vrijwel waarde-loos als stamklonen.

Bij deze hooggehaltige planten is de produktie genetisch geremd. Alle verschijnselen wijzen erop dat hier het hoge gehalte feitelijk een degeneratieverschijnsel is.

Het is toch wel gelukt door gezamenlijk afbloeien van de hooggehaltige enerzijds en de laaggehaltige anderzijds, nakomelingschappen te kweken met hooggehalte en met laaggehalte, maar daarna is men wat de hooggehaltige betreft op nabouw aangewezen.

In deze nakomelingschappen worden weer ongeveer de gehalteverschillen teruggevonden die tussen de oorspronkelijke moederklonen bestonden. Bij de paarsgewijze kruisingen waren deze verloren geraakt in de nakomelingschap.

De geringe vitaliteit van de I₁-planten met een genetisch hoog ruw-eiwitgehalte doet de vraag opkomen of onder de fenotypisch negatieve correlatie tussen eiwit en koolhydraten, die in de literatuur bij graslandonderzoek gevonden wordt (ALBERDA, 1, 2, 3 en DE ROO, 30) ook een genetisch negatieve correlatie verborgen ligt.

ALBERDA (3) immers vond dat een hoge koolhydraatspiegel juist een voorwaarde is voor een hernieuwde aanzet tot groei. Wanneer genetisch hoog eiwitgehalte gecorreleerd is met genetisch laag koolhydraatgehalte zou de plant blijvend gehandicapt zijn in haar produktiviteit.

Welnu de hooggehaltige en de laaggehaltige nakomelingschappen zijn geanalyseerd in een latijns vierkant, waar de gehalten en de opbrengsten werden vastgesteld per veldje, dus in zesvoud. De resultaten waren als volgt:

suiker na inversie:	hooggehalte	9,7	9,7	11,0	12,0	10,4	11,6
	laaggehalte	10,7	11,4	11,5	12,8	12,7	13,3

Daarna is een analyse gemaakt van de mengmonsters uit veldproef en potproef van de objecten met hooggehalte en met laaggehalte met de volgende uitslag:

	VELD		POT	
	hooggehalte	laaggehalte	hooggehalte	laaggehalte
ruw-eiwit	21,9	20,2	35,0	32,0
ruwe celstof	21,6	20,2	19,8	21,4
overige koolhydraten	45,1	48,2	35,2	35,9
as	11,4	11,4	10,0	10,7

Hier kan dus wel vastgesteld worden dat de negatieve correlatie tussen koolhydraten en eiwit genetisch ook bestaat. Hierdoor lijkt het niet aanlokkelijk in de richting van hooggehalte eiwit door te selecteren.

Men kan natuurlijk stellen dat deze negatieve correlatie maar doorbroken moet worden. Afgezien van het feit dat deze mogelijkheid natuurlijk steeds aanwezig blijft, moet toch wel gezegd worden dat die opgave niet zo aanlokkelijk is.

Voor het vinden van de uitzondering zal veel moeite moeten worden gedaan, gezien de grote modificeerbaarheid van het eiwitgehalte en het werk is betrekkelijk kostbaar. Maar vooral omdat men met één uitzondering niet kan volstaan.

Bij een kruisbestuivend gewas als Engels raaigras moet men de beschikking hebben over een groot aantal van dergelijke klonen, in de eerste plaats omdat men de gunstigste combinatie ten aanzien van overige eigenschappen nog zal moeten vinden, en in de tweede plaats omdat een te klein aantal gevaren voor inteelt degeneratie meebrengt.

Als voornaamste bezwaar komt echter naar voren dat de proeven aanleiding geven tot de gedachte, dat een hoog genetisch eiwitgehalte niet alleen gecorreleerd is met een lage produktiviteit, maar dat het er tevens de oorzaak van is.

Bovendien zal toch fysiologisch de mogelijkheid van cumulatief doorwerken gegeven moeten zijn, anders is de in eerste instantie gerealiseerde stap te weinig waardevol voor de praktijk.

Men zou, afstappende van de idee van het hoge genetische eiwitgehalte en zich weer richtende op produktie van droge-stof kunnen veronderstellen dat selectie op laag eiwitgehalte, gecorreleerd met hoog koolhydraatgehalte en produktiviteit, meer effect zou moeten hebben.

Het is echter de vraag of hier wél cumulatief gewerkt kan worden. Bij de frequentiecurves van de eiwitgehalten troffen we er één aan, die naar de kant van de lagere gehalten afgeknot is; wat suggereert dat daar ook een barrière bestaat, hetgeen ook wel voor de hand ligt.

Bovendien deelde ALBERDA mede dat sommig Engels materiaal, dat geselecteerd was op hoog suikergehalte, ook slecht groeide.

Het blijft echter nog onbegrijpelijk waarom een plant wel zeer grote amplitudes oplevert wanneer het om fenotypisch hoge en lage gehalten gaat, zowel van eiwit en van koolhydraten, en waarom dit genotypisch niet zou kunnen.

Bovendien is het niet duidelijk waarom in de tweede snede of in het naseizoen de kenmerkende gehalteverschillen verdwijnen.

Teneinde deze verschillende aspecten onder één gezichtspunt te vatten, hetgeen dan hypothetisch moet gebeuren, is het goed uit te gaan van een model van een hooggehaltig type en een laaggehaltig type.

Om de voorstelling niet te gecompliceerd te maken wordt aangenomen dat het ruwe-celstofgehalte nauwelijks wordt beïnvloed door selectie op hoog eiwitgehalte.

De gegevens van blz. 99 geven aanleiding om dit aan te nemen. Ook het onderzoek van DE ROO (30) wijst in deze richting. Hij vond nl. een sterke negatieve correlatie tussen oplosbare koolhydraten en ruw-eiwit, evenals bij ons onderzoek, maar slechts een zwakke negatieve correlatie tussen oplosbare koolhydraten en ruwe celstof.

Ook ten aanzien van het asgehalte wordt aangenomen dat dit niet sterk wordt beïnvloed door de selectie, waarvoor reden is bij het beschouwen van de gegevens op blz. 99, hoewel die van DE ROO dit enigszins twijfelachtig maken. Deze variaties waren echter te klein om het totaalbeeld belangrijk te kunnen beïnvloeden.

Verder wordt op basis van de verkregen resultaten uitgegaan van de stelling dat de totale stikstof-opname en dus de totale eiwitproduktie bij de laag- en hooggehaltige klonen weinig verschilt en de droge-stofproduktie dus lager is bij een hooggehalte.

Wanneer thans een abstract en schematisch model wordt geschreven van een plant met genetisch laag eiwitgehalte en een plant met genetisch hoog eiwitgehalte ontstaat het volgende beeld:

	<i>Laag eiwitgehalte</i>	<i>Hoog eiwitgehalte</i>
Produktie eiwit	A	A
Produktie ruwe celstof	B	b
Produktie overige koolhydraten	C	c
Produktie as	D	d
Produktie droge-stof	$A + B + C + D = P$	$A + b + c + d = p$
Gesteld is	$P > p$	

Hieruit volgt:

Percentage eiwit	$A/P \times 100$	$<$	$A/p \times 100$
Percentage ruwe celstof	$B/P \times 100$	$=$	$b/p \times 100$
Percentage overige koolhydraten	$C/P \times 100$		$c/p \times 100$
Percentage as	$D/P \times 100$	$=$	$d/p \times 100$

Daar de produktie van de overige koolhydraten aldus geschreven kan worden:

$$P - (A + B + D) \quad \text{en} \quad p - (A + b + d)$$

is het percentage overige koolhydraten als volgt:

$$\frac{P - \left(A + \frac{bP}{P} + \frac{dP}{P} \right)}{P} \times 100 \quad \text{en} \quad \frac{p - (A + b + d)}{p} \times 100$$

of anders geschreven:

$$\left(1 - \frac{b}{p} - \frac{d}{p} - \frac{A}{P} \right) \times 100 \quad \text{en} \quad \left(1 - \frac{b}{p} - \frac{d}{p} - \frac{A}{p} \right) \times 100$$

Daar nu $A/P < A/p$ volgt

$$\left(1 - \frac{b}{p} - \frac{d}{p} - \frac{A}{P} \right) \times 100 > \left(1 - \frac{b}{p} - \frac{d}{p} - \frac{A}{p} \right) \times 100$$

of met andere woorden:

Het percentage overige koolhydraten $C/P > c/p$

Fysiologisch is het begrijpelijk, dat men echter niet steeds cumulatief kan doorselecteren op hoog of laag eiwitgehalte. Er moet een barrière ontstaan bij hoog eiwitgehalte en minimaal koolhydraatgehalte en bij laag eiwitgehalte en maximaal koolhydraatgehalte.

Door het werk van ALBERDA en VAN DOBBEN is de wisselwerking van koolhydraat en eiwit in de plant heel wat verhelderd.

De negatieve correlatie is geen antagonisme waarbij de ene component de andere geheel weg zou kunnen stoten, maar een wederzijdse, oorzakelijke beïnvloeding.

Uit ons onderzoek is gebleken dat naar de kant van het hoge eiwitgehalte en het lage koolhydraatgehalte de barrière al gauw werd bereikt. Naar de kant van het lage eiwitgehalte en het hoge koolhydraatgehalte werd die barrière niet bereikt. Zij kondigde zich alleen aan door de naar die kant afgeknotte frequentiecurve van kloon 490.

Onderzoek van ALBERDA en DEL POZO (27) heeft bewezen dat een lager percentage koolhydraten onder bepaalde omstandigheden een zwakkere hergroei tengevolge heeft, zodat het waarschijnlijk is dat, wanneer zoiets genetisch is bepaald, dit op de duur tot nog sterker achterblijven van de groei leidt. Uit deze beschouwing zou kunnen volgen dat een genetisch verhoogd eiwitgehalte tot lagere produktie moet voeren.

Bij ons onderzoek was de totale stikstofopname van de hooggehaltige klonen niet hoger dan van de laaggehaltige; er zijn zelfs aanwijzingen dat deze enigszins lager was. Het is echter niet uitgesloten dat het bij selectie mogelijk is om klonen te selecteren waarbij een hoog eiwitgehalte bij een gelijke droge-stofproduktie met een hogere stikstofopname gepaard gaat.

Volgens het bovenstaand model leidt dat echter ook tot een lager koolhydraatgehalte. Ook hier kan dus de hergroei verzwakt worden bij de klonen met hoog eiwitgehalte.

Er kunnen echter ook omstandigheden optreden, dat de hoeveelheid oplosbare koolhydraten geen beperkende factor voor de hergroei vormt, zodat dit verschijnsel niet optreedt bijv. bij lange tussenpozen tussen twee sneden, armelijke stikstofvoorziening, veel licht, e.d.

ALBERDA vond bij ander materiaal aanwijzingen dat de aanleg tot vorming van een hoog gehalte aan oplosbare koolhydraten gepaard ging met een verlaagde produktiviteit.

Nu is echter selecteren op laag eiwitgehalte niet hetzelfde als selecteren op hoog koolhydraatgehalte en selecteren op laag koolhydraatgehalte niet hetzelfde als selecteren op hoog eiwitgehalte; daarvoor zijn de correlaties niet absoluut genoeg. Om de natuurlijke barrières te vinden zou dit allemaal moeten gebeuren dus zowel op laag eiwit- als op hoog eiwit-, en zowel op hoog koolhydraat- als op laag koolhydraatgehalte.

Voorlopig is onze gedachte dus de volgende:

Fenotypisch hoge en lage gehalten bij een bepaald genotype en genotypisch hoge en lage gehalten bij verschillende genotypen zijn fysiologisch niet zonder meer vergelijkbaar. Wij komen veel meer tot de volgende idee. De genetisch extreem hoog- of laaggehaltige individuen hebben ook die grote fenotypische amplituden. Dat is genoeg gebleken. Het verschil met normale planten is alleen, dat het epicentrum van waaruit de slingerbeweging gemaakt wordt wat meer naar rechts of naar links ligt, waardoor de slinger eerder tegen de wand botst en het mechanisme een klap krijgt.

De indruk bestaat dat bij het onderzochte materiaal, nl. een weidetype, bij de proefomstandigheden het epicentrum wel iets verschoven kan worden naar de kant van de lage eiwitgehalten, misschien nog met enig voordeel, maar dat zal niet veel zijn.

Om het werk van ALBERDA in beeldspraak te beschrijven: Juist die grote amplitude die vanuit het normale middelpunt mogelijk is, is noodzakelijk voor de veerkracht van de plant bij alle mogelijke groeiomstandigheden.

Verschuiving van dat middelpunt kan afbreuk doen aan de mogelijkheden voor optimale produktie.

Nader onderzoek zal moeten uitwijzen of hetgeen hier gevonden is een algemene geldigheid heeft. De resultaten van dit beperkte onderzoek wijzen in de richting dat het streven naar hogere genetische gehalten wel eens in strijd zou kunnen komen met de fysiologische eisen van de plant.

En de veel gehoorde opmerking, dat de opbrengstverlagingen, die het gevolg zijn van de veredeling op hoog- of laaggehalte, alléén veroorzaakt zijn doordat men er niet op gelet heeft, zou wel eens gemaakt kunnen zijn door gebrek aan inzicht in de fysiologie van de plant. Men kan geen correlaties verbreken die levensnoodzakelijk verbonden zijn.

Tenslotte resteert nog de vraag waarom de genetische verschillen van gehalte in het naseizoen of in de tweede snede verdwijnen, of binnen de waarnemingsfouten vallen.

Wij nemen aan dat ze niet verdwenen zijn, maar aan de waarneming ontsnappen. In het voorjaar verkeert de plant door de vernalisatie-impuls in de grootste spanning en heeft de grootste spankracht. Dan is ook de groeisnelheid het grootst; in die spanning wijkt alles tot de potentieel verste afstand uiteen, ook de afwijking ten opzichte van het normale epicentrum. Die afwijking is dan nominaal nog betrekkelijk klein.

Het vraagt nauwkeurig onderzoek om deze te ontdekken. In het naseizoen als alle spanningen verminderen, is die afwijking niet meer waarneembaar. Alle habituskenmerken wijzen er echter op dat de genetisch afwijkende planten afwijkend gebleven zijn. Het zou wel vreemd zijn dat de inwendige afwijkingen dan niet meer zouden voorkomen. Men merkt ze met onze methoden alleen niet meer op.

In de fysiologische conceptie van SCHWANITZ en SCHWARZE zou een produktieve van nature hooggehaltige plant pas bij optimale produktie de overmaat stikstof gebruiken tot verhoging van het gehalte. Eerst zou de stikstof geheel aan de groei ten goede komen, zodat van een verhoogd gehalte niets te bespeuren is.

In het hier bestudeerde materiaal is een hooggehaltige plant echter van meet af hooggehaltig en blijft dat onder zeer veel omstandigheden, zowel optimaal als sub-optimaal. Voor een laaggehaltige plant is dat hetzelfde.

Nu dit zo ligt is het duidelijk dat (wil men bij selectie in de richting van hooggehalte, indien mogelijk, succes hebben) het niet voldoende is te letten op eiwitgehalte, maar tevens van het eerste begin af op totale eiwitproduktie en totale droge-stofproduktie. Door selectie op gehalte alleen kan men in een gevaarlijk slop komen.

Summary and discussion

The possibility of selectively increasing the protein content of fodder crops is a question that has also arisen in the Netherlands during the post-war period in connection with problems of quality improvement. One example of this is the attempt to increase the protein content of perennial rye grass, this being the most important species of good-quality Dutch grasslands.

The manifest purpose is to increase the total nett nutritive value as much as possible by means of this increased content, as otherwise the effect would not be worthwhile.

In the above study an attempt has been made to solve the problem as to whether certain components of perennial rye grass collected from old grassland exhibit genetic variability of crude protein content that might be of practical significance.

The total variation in the protein content is extremely great, especially as a result of environmental influences, viz. modifications, and its elimination is a prerequisite for discovering the genetic variation. Obviously this can be done, but it entails a great deal of research as there are some environmental influences that are not readily identified as such. When the environment is kept as constant as possible there are still differences that cannot be eliminated because they are an integral part of the plant and hence of the idio-type, but are not here considered as the genetic difference we were seeking to discover.

What we have in mind are the differences in protein content due to differences in the transition from the vegetative to the generative phase, resulting in a difference in heading date under identical environmental conditions. This transition is difficult to observe with the naked eye, and these differences are not perceived when the crop is harvested prior to visible heading.

Consequently if these differences are not eliminated certain genetic differences will certainly be found in protein content, even within one particular hay or pasture type, but they will be correlated to the heading date. It is a well-known fact that the earlier the heading date the more rapid is the decline in protein content. It would therefore be possible to make a laborious selection according to heading date on the basis of protein analysis.

Hence it would be preferable to formulate the problem as follows: Are there still genetic differences in protein content when the heading dates are identical? It was the latter requirement that considerably reduced the amount of material with which the investigation began. It started with 300 clones from which it was only possible to select 28 with identical heading dates.

As far as this material is concerned it is true to state that there are genetic differences in protein content when the heading dates are identical, but that these are small (of the relative order of 10%) and owing to the interaction with the environment are by no means all observable.

The differences are especially difficult to establish in autumn, i.e. in the second or subsequent cut. COOPER (6) at Aberystwyth found greater genetic differences in the first cut, although it is not certain whether the effect of varying heading times was sufficiently eliminated in his investigation. But he also found far fewer marked differences in the autumn, so that there is reason to believe that a vernalisation impulse is required in order to reveal the genetic differences.

It is not surprising that environmental variability of content, about which so much information has already been obtained by nitrogen fertilisation technique, is capable of swamping the genetic variation. Since a good deal is known about this environmental variability in mixed grassland or populations of a particular variety, but to a far less extent in such genetic units as clones, much attention was paid to the environmental variations in protein content to which a particular clone is subject.

It was found that not all clones are equally sensitive in this respect. Response to environment is a hereditary factor, which may indicate that inheritance is via plasmagenes, as otherwise this would be difficult to understand in heterozygotic material and a property such as content which, like all quantitative properties, is probably based on numerous factors. As a result there is a marked interaction of the genetic differences among clones and the environment.

Under comparable conditions the content can be doubled merely by transplanting to fresh soil. This is probable due to the intenser sprouting in a more favourable environment. This may also explain the great differences between individuals of the same clone at a short distance from each other in a particular environment.

We were fortunate in being able to combine a high yield and a high content in a favourable environment to obtain very high protein contents, but this applied both to clones with a genetically low and a genetically high content.

It proved possible to establish the genetical differences in content under sub-optimal, optimal and maximum conditions. As the investigation proceeded it was found that clones in this material having a genetically high content were usually poor growers. This proved to be the case both under sub-optimal and optimal conditions.

SCHWANITZ and SCHWARZE (33) devised a code for selecting cereals for high protein contents combined with high protein yields. They specify that the selection should be made under optimal conditions as otherwise the genetic potentialities are not brought out.

When this code is tested for grasses it is true that a high content and a high yield are combined under optimal conditions, but the selection produces the same result as in a sub-optimal environment.

But in our own investigation we encountered one clone that usually had a high content, but invariably had a low content in an environment that generally forbade

high contents. This clone had the best general combining ability for total production in pair-crossing, but did not preferentially inherit a high content.

Consequently should it be desired to use such a clone in a breeding programme (it would appear to be suitable for this purpose) it should be tested both under optimal and sub-optimal conditions.

This is not to belittle the SCHWANITZ and SCHWARZE theory, since in cereals, where the grain is a reserve organ, the laws applicable may be entirely different from those governing grasses in which, as ALBERDA rightly observed, the entire assimilation apparatus is identical with the harvest.

When two high-content and two low-content clones were pair-crossed it was found that the best general combining ability for high content was in a low-content clone, and when the SCHWANITZ and SCHWARZE theory was tested in this case it was found that the theoretically best combination for a high content gave no favourable result whatever.

The combination of high yield and high content did not occur in this material. When the clones were selfed, resulting in I_1 populations, it was found that the mean value of these populations was a far better index of the heritability of the mother clone. This was true of both the protein content and the productivity.

In this case it would appear that the phenotype of the mother clone has a lower heritability estimate than the mean of the I_1 population. In order to obtain a further spread in the material the I_1 plants were cloned for better observation and recombinations were made from the clones by simultaneous flowering of clones with extremely high and extremely low contents. In these 200 and more I_1 clones it was found that leaf correlation was positively correlated to vitality. Thus, I_1 clones with a high content were poor producers and difficult to keep alive, especially after they had seeded. There are a good number of exceptions to this rule, but plants with an extremely high-content were found to have so little viability that we must abandon our efforts at working through this material cumulatively. They are themselves more or less worthless as selection clones.

In these plants with a high-content, production is genetically inhibited. All symptoms indicate that in this case the high-content is actually a degeneration symptom.

But by simultaneous flowering of the high-content plants on the one hand and the low-content ones on the other we succeeded in establishing progenies with a high-content and a low-content; thereafter it was necessary to use second reproduction seed to obtain high-contents.

These progenies again exhibited approximately the same differences in content as existed between the original parent clones. In the pair-crossings these were lost in the progeny.

The poor viability of the I_1 plants having a genetically high protein content raises the question as to whether a genetically negative correlation also underlies the phenotypically negative correlation between protein and carbohydrates which, according to the literature, is found in grassland research (ALBERDA and DE ROO c.a.; 1, 2, 3 and 30).

In fact, ALBERDA (3) found that a high carbohydrate level is actually a prerequisite for growth initiation. If genetically high protein content is correlated to genetically low carbohydrate content the plant would be permanently handicapped as regards productivity.

The high-content and low-content progenies were therefore analysed in a latin square in which the contents and yields were established for each plot, i.e. six-fold. The results were as follows:

Sugar after inversion:	High-content	9.7	9.7	11.0	12.0	10.4	11.6
	Low-content	10.7	11.4	11.5	12.8	12.7	13.3

An analysis was then made of the mixed samples from the field and pot culture experiments of the high-content and low-content treatments, the results being as follows:

	FIELD		POT	
	High-content	Low-content	High-content	Low-content
crude protein	21.9	20.2	35.0	32.0
crude fibre	21.6	20.2	19.8	21.4
other carbohydrates	45.1	48.2	35.2	35.9
ash	11.4	11.4	10.0	10.7

Hence this also shows a genetic negative correlation between carbohydrates and protein.

It would therefore appear unattractive to continue to make selections in the direction of high protein content.

Of course one might suggest breaking down this negative correlation, and this possibility is obviously always present, but it must be admitted that this would not be an attractive operation.

It would be a very painstaking task to discover the exception, taking into account of the great modification capacity of the protein content, and the work would be comparatively costly. But in particular, a single exception would not be sufficient.

In a cross-pollinating plant such as rye grass one would need a large number of clones of this kind, firstly because we still have to discover the optimum combination with respect to other characters, and secondly because if the number is too small there is a risk of degeneration through in-breeding.

But the main drawback is that the experiments tend to suggest that a high genetic protein content is not only correlated to low productivity but is also its cause.

Moreover, from the physiological viewpoint it will also be necessary to permit cumulative, continuous selection, as otherwise the initial step forward will be of too little value in practice.

If we abandon the idea of the high genetic protein content and again take dry matter production as our basis, it is conceivable that selection for low protein content correlated to high carbohydrate content and productivity might have more effect.

It is a question, however, whether cumulative work would be possible in such a case. We encountered on protein content a frequency curve that was truncated in the direction of the lower contents, which obviously suggests that there is also a barrier here.

ALBERDA also reported that certain British material selected for high sugar content had a poor growth record.

But it is still incomprehensible why a plant exhibits very large amplitudes when phenotypically high and low contents of both protein and carbohydrates are concerned, and why this is genotypically impossible.

Moreover it is not clear why the characteristic differences in content disappear at the second cut or in the aftermath.

In order to consider these various aspects from a single viewpoint (this can only be done hypothetically) a model of a high-content type and a low-content type forms a convenient starting point.

To prevent the model becoming too complex it is assumed that the crude fibre content is scarcely affected by selection for high protein content.

The data given on page 107 warrant this assumption, and DE ROO's work also points in this direction as he discovered a high negative correlation between soluble carbohydrates and crude protein, as was the case in our own investigation, but only a weakly negative correlation between soluble carbohydrates and crude fibre.

It is also assumed that the ash content is not greatly influenced by selection (this is justified by inspection of the data on page 107) although DE ROO's data tend to cast some doubt on this. However, these variations were too slight to have any considerable effect on the overall picture.

The results obtained, also support the theory that the total nitrogen uptake, and hence the total protein production of the low- and high-content clones shows little difference, so that dry matter production is lower with a high content.

If we now make an abstract and diagrammatic model of a plant which has a genetically low protein content and one which has a genetically high protein content we obtain the following pattern:

	<i>Low protein content</i>	<i>High protein content</i>
Protein production	A	A
Crude fibre production	B	b
Production of remaining carbohydrates	C	c
Ash production	D	d
Dry matter production	$A + B + C + D = P$	$A + b + c + d = p$

Let us assume that
It follows that the

$$P > p$$

percentage protein	$A/P \times 100$	<	$A/p \times 100$
percentage crude fibre	$B/P \times 100$	=	$b/p \times 100$
percentage remaining carbohydrates	$C/P \times 100$		$c/p \times 100$
ash percentage	$D/P \times 100$	=	$d/p \times 100$

Since the production of the remaining carbohydrates can be written:

$$P - (A + B + D) \quad \text{and} \quad p - (A + b + d)$$

the percentage of the remaining carbohydrates is:

$$\frac{P - \left(A + \frac{bP}{P} + \frac{dP}{P} \right)}{P} \times 100 \quad \text{and} \quad \frac{p - (A + b + d)}{p} \times 100$$

or, written in another form,

$$\left(1 - \frac{b}{P} - \frac{d}{P} - \frac{A}{P} \right) \times 100 \quad \text{and} \quad \left(1 - \frac{b}{p} - \frac{d}{p} - \frac{A}{p} \right) \times 100$$

Since $A/P < A/p$

it follows that

$$\left(1 - \frac{b}{P} - \frac{d}{P} - \frac{A}{P} \right) \times 100 > \left(1 - \frac{b}{p} - \frac{d}{p} - \frac{A}{p} \right) \times 100$$

or in other words the percentage of the remaining carbohydrates

$$C/P > c/p$$

From the physiological viewpoint it is easy to understand why continued cumulative selection for high or low protein content is impossible. (A barrier must be formed at a high protein content and a minimum carbohydrate content, and at a low protein content and a maximum carbohydrate content). The work of ALBERDA and VAN DOBBEN (1, 2, 3 and 6 and 10) have thrown a good deal of light on the interaction carbohydrate and protein in the plant.

The negative correlation is not an antagonism in which one component could entirely supplant the other, but a mutual, causal effect.

Our investigation showed that the barrier is soon reached in the direction of high protein content and low carbohydrate content. This barrier was not reached in the direction of low protein content and high carbohydrate content and was only indicated by the frequency curve of clone 490 which is truncated in this direction.

Investigations undertaken by ALBERDA (cf. above) and DEL POZO (27) proved that under certain conditions a lower percentage of carbohydrates results in a weaker regrowth, so that when this kind of effect is determined genetically it will probably cause growth to be even more retarded. From this theory it might be inferred that a genetically increased protein content must result in lower production.

In our investigation the total nitrogen uptake of the high-content clones did not exceed that of the low-content clones, and there are even indications that it was

slightly lower. But it may not prove impossible to select clones, in selection work, in which a high protein content is accompanied by a higher nitrogen uptake, the dry matter production being unchanged.

But according to the above model this would result in a lower carbohydrate content, so that in this case also regrowth can be weakened in clones having a high protein content.

But circumstances may occur in which the amount of soluble carbohydrates does not constitute a limiting factor for regrowth, so that this phenomenon does not occur, for example, during long intervals between two cuts, with poor nitrogen supply, abundant light, etc.

There was other material in which ALBERDA found indications that the inherent capacity to form a high content of soluble carbohydrates went together with reduced productivity.

However, selecting for low protein content is not the same as selecting for high carbohydrate content, and selecting for low carbohydrate content is different from selecting for high protein content; the correlations are not absolute enough for this purpose. In order to discover the natural barriers it would be necessary to select for both low protein and high protein content, and for both high carbohydrate and low carbohydrate content.

Our provisional theory is therefore as follows:

Phenotypically high and low contents in a given genotype, and genotypically high and low contents in various genotypes do not admit of immediate physiological comparison. Rather it may be concluded that the genetically extremely high or low-content individuals also have these large phenotypical amplitudes. Of this there is sufficient evidence. The only difference from normal plants is that the epicentre from which the pendulum movement is made is situated rather more to the right or left, with the result that the pendulum collides earlier with the wall and the mechanism is given a shock.

Our impression is that in the material investigated, viz. a pasture type the epicentre may be somewhat shifted in the direction of low protein contents under the conditions of the experiment, possibly to some advantage, but the shift will not be very considerable.

ALBERDA'S work may be figuratively described as follows: The great amplitude possible from the normal centre is exactly what is required for the resilience of the plant under all possible conditions of growth. A shift from this centre may impair the potentialities of optimal production.

Further research is needed to ascertain whether the present findings are universally valid. The results of this limited investigation would seem to indicate that efforts obtaining higher genetic contents might occasionally come into conflict with the plant's physiological requirements. And the frequently heard observation to the effect that yield reductions due to selection for high or low content are only the result of taking insufficient precautions, might be equally applied to the lack of knowledge

of plant physiology. It is impossible to break correlations that are a vital part of the plant.

Finally, there remains the question why the genetic differences in content disappear in the aftermath or during the second cut, or are due to errors of observation.

Our assumption is that they do not disappear but escape observation. During spring the plant is in a state of maximum tension owing to the vernalisation impulse and has the highest elastic force. The growth rate is also at a maximum at this period and in this tension every factor deviates to the potentially farthest limit, the deviation from the normal epicentre also being the maximum. Nominally this deviation is still comparatively small.

A very careful investigation is needed* to discover it. During the aftermath, when all tensions decrease, the deviation is no longer observable. But all habit characters indicate that the genetically divergent plants continue to be divergent, and it would, in fact, be strange if these internal deviations no longer occurred. It is only that our methods fail to observe them.

According to the SCHWARZE and SCHWANITZ theory a productive and naturally high-content plant uses its surplus nitrogen to increase the content during optimum production. Initially the nitrogen is used for growth, so that there is no sign of any increase in content.

In the material studied in the present investigation, however, a high-content plant has a high content from the beginning and retains its high content under a wide variation of conditions, both optimum and sub-optimum. The same is true of a low-content plant.

This being so, it is obvious that in order to succeed, if possible, in the direction of high-content plants in selection work it is not sufficient to pay attention to protein content. Total protein production and total dry matter production should be considered from the beginning. Selection for content alone may lead to a dangerous blind alley.

Literatuur

- | | | |
|---|------|--|
| 1. ALBERDA, TH. | 1954 | De veranderingen in de koolhydratenreserves bij Engels raai-gras. Verslag C.I.L.O. p. 70 |
| 2. — | 1957 | Het gehalte aan oplosbare koolhydraten in zich vrij ontwik-kelende pollen van Engels raaigras. Jaarboek I.B.S. 1957, p. 79 |
| 3. — | 1959 | De periodiciteit in de grasproductie. Jaarboek I.B.S. 1959, p. 73 |
| 4. BARBACKY, S. | 1933 | Studies on barley III. Pam. Panstw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w. Pulawach |
| 5. BURG, P. F. J. VAN | 1962 | Interne stikstofbalans, produktie van droge-stof en veroudering bij gras. Proefschrift, Wageningen |
| 6. COOPER, J. P. | 1961 | Developmental genetics. Selection for nutritive value. Report of the Welsh Plant Breeding Station for 1961 |
| 7. CRIJNS, A. H. | 1952 | De teelt van voederaardappelen. <i>Landbouwk. Tijdschr.</i> , no. 64, 8/9 |
| 8. DAALLEN, C. K. VAN | 1928 | Bijdrage tot de kennis van de chemische en botanische samen-stelling van het hooi en van de invloed, welke enkele mest-stoffen daarop uitoefenen. Proefschrift. Wageningen |
| 9. DOBBEN, W. H. VAN | 1961 | Enige waarnemingen over de stikstofhuishouding van tarwe en maanzaad. Jaarboek I.B.S. 1961, p. 93 |
| 10. — | 1961 | De stikstofhuishouding van tarwe en maanzaad. Jaarboek I.B.S. 1961, p. 45 |
| 11. DIJKSTRA, N. D. | 1957 | De verteerbaarheid en voederwaarde van enkelvoudige gras-soorten en van gras van kunstweiden. Versl. Landb. Onderz. 63.1 |
| 12. FRANKENA, H. J. | 1936 | Voordrachten over moderne weidebouw. Rijkslandbouw-proefstation voor de Akker- en Weidebouw te Groningen |
| 13. — | 1939 | Kan late stikstofaanwending het eiwitgehalte van het gras verhogen? <i>Landbouwk. Tijdschr.</i> , jan. 1939 |
| 14. HERTZSCH, W. | 1959 | Die Gräser. Handbuch der Pflanzenzüchtung B IV. |
| 15. ITALLIE, TH. B. VAN | 1937 | De invloed van verschillende factoren op de chemische samen-stelling van gras. <i>Landbouwk. Tijdschr.</i> no. 49, p. 155 |
| 16. KEULS, M. | 1952 | The use of the studentized range in connection with an analysis of variance. <i>Euphytica</i> vol. 1, no. 2, p. 112 |
| 17. KLEINENDORST, A. en
H. J. TEN HOVE | 1957 | Onderzoek aan het groeipunt bij enkele grassen. Jaarboek I.B.S. 1957, p. 39 |
| 18. KRAMER, M. | — | Onze weidegrassen, p. 3 en 149 |
| 19. LACKAMP, J. W. | 1953 | Veredeling op voederwaarde. Voordracht Studiekring voor Plantenveredeling, 22 dec. 1953 |
| 20. — | 1960 | Mite attack in inbred plants of perennial ryegrass. <i>Euphytica</i> , vol. 9, no. 3, p. 323 |
| 21. LOOSE, R. DE | 1961 | De selectie van Engels raaigras weidetype R.v.P. op een meer evenwichtige mineralenverhouding. Mededeling Rijksstation voor veredeling der landbouwgewassen. Stencil |

22. MAKKINK, G. F. 1960 Het stikstofgehalte in gras in samenhang met de vochttoestand van de grond. Jaarboek I.B.S. 1960, p. 101
23. MAN, TH. J. DE 1942 De samenstelling van het graseiwit. *Landbouwk. Tijdschr.*, no. 54, p. 670
24. — 1944 De stikstofverdeling in *Lolium perenne*. *Landbouwk. Tijdschr.* no. 56, p. 684
25. MULDER, E. G. — Stikstofbemesting op grasland. Landb. bureau van de Ned. Stikstofmeststoffenindustrie
26. OTTEN, J. M. L. en 1951 Bemestingsleer, p. 254
G. VEENSTRA
27. POZO IBÁÑEZ, M. DEL 1963 The effect of cutting treatments on the dry matter production of *Lolium perenne* L. and *Dactylis glomerata* L. Versl. Landb. Onderz. 69.17
28. REINDERS, G. 1901 Handboek voor den Nederlandschen Landbouw en de Vee-
teelt, deel 2, p. 411
29. RODENGATE MARISSSEN, 1919 Bijzondere plantenteelt, derde druk, p. 105 en 106
J. Z. TEN
30. ROO, R. DE, L. VAN HEE 1938 Genotypische variaties in het gehalte aan oplosbare koolhydra-
ten, ruw-eiwit, ruw vezel, mineralen en droge-stof bij tetra-
ploid Engels raaigras. *Landbouwk. Tijdschr.* 16, no. 7/8, p. 1081
en M. HOFMAN
31. SANDE BAKHUIJZEN, 1938 Studies on wheat growth under constant conditions. Food Res.
H. L. VAN DE Inst. Stanf. Univ. Calif., Miscell. Publ. 8
32. SCHOLZ, F. 1960 Versuche zur züchterischen Steigerung des Eiweissgehaltes der
Gerste mit Hilfe der experimentellen Mutations auslösung.
Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles, vol. VI.
33. SCHWANTZ, F. en 1937 Die physiologischen Grundlagen für die Züchtung von ertrag-
und eiweissreichen Sorten bei unserer Getreidearten. Der
P. SCHWARZE Forschungsdienst B 84, p. 19 en 60
34. SCHWARZE, P. 1958 Eiweissproduktion und Pflanzenzüchtung B I, p. 339
35. TOXOPEUS, H. J. 1952 De kweker en de voeraardappel. *Landbouwk. Tijdschr.* no. 64, 8/9
36. WAGNER, P. 1910 Die Stickstoffdüngung der Wiesen. *Landw. Presse*, no. 6.8 en 11
37. WRANGELL, M. VON 1929 Aereboe-Hansen-Roemer, Handbuch der Landwirtschaft.
Bd. 2, p. 343
38. YATES 1947 *Heredity* vol I, part 3. Dec. 1947, p. 287
39. ZORN, W. 1930 Aereboe-Hansen-Roemer, Handbuch der Landwirtschaft.
Bd. 3, p. 340

BIJLAGE. De toestand en het vers gewicht bij het snijden, het droge-stofgehalte en het ruw-eiwitgehalte in droge- en verse-stof per I₁-kloon van de series 610, 616, 629 en 490

APPENDIX. *The condition and fresh weight at the time of cutting, the dry matter content and the contents of crude protein in dry and fresh matter per I₁ clone from the series 610, 616, 629 and 490*

no. I ₁ -kloon no. I ₁ clone	toestand bij het snijden condition at the time of cutting	vers gewicht bij het snijden (g) fresh weight after cutting (g)	Gehalte/content (%)		
			droge-stof dry matter	ruw-eiwit in droge-stof crude protein in dry matter	ruw-eiwit in verse-stof crude protein in fresh matter
SERIE 610 / series 610					
1	enkele aren zichtbaar <i>some ears visible</i>	30	15,9	24,4	3,88
2		65	18,2	27,6	5,03
4	begin van schieten <i>incipient heading</i>	75	20,9	27,6	5,76
5		45	21,5	27,4	5,90
7		55	18,2	27,7	5,04
8		60	18,1	27,1	4,90
9	iets geschoten <i>somewhat headed</i>	75	17,1	28,0	4,78
10		65	17,2	29,7	5,10
11		105	17,0	25,3	4,30
12		110	16,7	23,7	3,96
13		90	16,0	28,0	4,48
14		70	18,1	26,6	4,64
15	iets geschoten	90	18,8	25,1	4,75
16		40	24,4	24,7	6,03
18	iets verdorring <i>some withering</i>	40	23,9	27,6	6,60
19		35	21,0	28,9	6,06
20		50	20,2	25,2	5,08
21		80	18,6	27,4	5,09
22	begin van schieten	125	17,5	20,7	3,63
23		80	17,0	25,5	4,39
24		90	16,7	26,6	4,44
25		90	16,2	26,2	4,24
26		40	20,3	28,8	5,86
27		75	16,1	30,9	4,97
28		50	20,1	26,4	5,30
29		40	29,7	29,0	8,60
32		55	18,1	24,4	4,42
33		85	17,1	28,1	4,80
34		95	17,7	26,1	4,62
36		75	18,5	27,8	5,10
38		35	22,7	29,1	6,60
41	begin van schieten	50	19,1	28,5	5,44
42		40	21,3	28,2	6,00

no. I ₁ -kloon <i>no. I₁ clone</i>	toestand bij het snijden <i>condition at the time of cutting</i>	vers gewicht bij het snijden (g) <i>fresh weight after cutting (g)</i>	Gehalte/content (%)		
			droge-stof <i>dry matter</i>	ruw-eiwit in droge-stof <i>crude protein in dry matter</i>	ruw-eiwit in verse-stof <i>crude protein in fresh matter</i>
43	enige verdorring	75	20,9	27,1	5,66
45		70	17,3	26,5	4,58
46		105	15,2	25,0	3,80
47		105	16,0	27,7	4,44
48	enige verdorring	35	24,1	29,0	6,98
49	enige verdorring	70	22,8	26,6	6,06
57	begin van schieten	125	15,7	24,5	3,84
58		30	22,3	28,9	6,45
59		70	16,9	28,7	4,85
61		50	19,7	27,8	5,44
62		60	20,1	29,5	5,92
64		70	20,9	26,8	5,60
66		110	13,2	25,8	3,42
67		110	17,2	25,2	4,34
69	begin van schieten	75	18,1	29,4	5,32
71		75	19,5	27,4	5,34
72		100	18,5	25,4	4,65
73		65	18,6	31,9	5,94
75	begin van schieten	65	19,3	26,6	5,13
76		50	17,6	28,0	4,93
77		70	15,8	30,4	4,81
78		100	16,4	26,1	4,24
79	begin van schieten	90	17,7	27,4	4,84
80		40	22,0	27,5	6,06
81		45	19,7	29,9	5,88
82		45	21,2	28,7	6,08
83		85	16,9	26,2	4,45
84	enkele aren zichtbaar	60	19,8	25,8	5,12
85		35	26,5	32,0	8,48
86		100	18,0	24,8	4,46
88		35	23,1	29,8	6,88
90		70	18,1	29,3	5,30
91		70	17,1	29,3	5,00
92		90	24,5	26,5	6,48
94		50	19,6	30,3	5,94
95	iets geschoten	90	18,1	27,7	5,02
96	enige aren zichtbaar	40	29,7	21,2	6,27
SERIE 616 / series 616					
1		30	23,1	28,8	6,66
3		95	15,1	27,0	4,08
4		60	17,7	25,9	4,58
5		35	18,8	28,3	5,32

no. I ₁ -kloon no. I ₁ clone	toestand bij het snijden condition at the time of cutting	vers gewicht bij het snijden (g) fresh weight after cutting (g)	Gehalte/content (%)		
			droge-stof dry matter	ruw-eiwit in droge-stof crude protein in dry matter	ruw-eiwit in verse-stof crude protein in fresh matter
7		35	18,9	31,0	5,86
8		65	16,9	29,5	4,98
9		50	17,3	29,1	5,03
10	iets verdorring	60	21,1	28,7	6,06
11		50	17,0	29,1	4,95
14	iets verdorring	40	20,5	31,7	6,50
16		35	20,3	28,3	5,75
17	enige aren zichtbaar	50	19,2	27,7	5,32
21	begin van schieten	85	16,9	26,5	4,48
22		100	17,3	27,3	4,72
25		95	14,6	28,2	4,12
26		30	22,8	28,6	6,53
27		80	16,7	29,8	4,98
34		30	20,1	30,8	6,20
35		40	18,1	31,7	5,74
37	begin van schieten	45	20,4	28,7	5,85
39		50	17,7	30,8	5,45
41		100	17,0	25,6	4,36
42	een aar zichtbaar	40	18,3	29,2	5,34
43		50	17,2	30,7	5,27
44		65	28,8	29,9	8,60
45	begin van schieten	85	16,3	28,3	4,61
47	iets roestig	75	16,3	27,9	4,56
49		70	18,1	29,9	5,42
51		65	17,3	27,5	4,75
53	iets verdorring	60	19,4	26,3	5,10
55		65	28,9	28,7	8,30
57	iets verdorring	50	21,3	29,1	6,20
63		35	19,3	26,6	5,14
66		75	25,0	27,5	6,88
70		30	22,4	32,3	7,24
71	zeer donkergroen	40	17,1	31,2	5,34
73		35	21,1	31,5	6,64
74		65	19,6	26,4	5,17
75		80	13,2	27,3	3,61
79		45	19,5	29,5	5,75
82		35	19,8	30,7	4,07
84		35	20,6	29,3	6,04
89		105	15,6	27,0	4,22
91		70	16,6	29,9	4,96
92		80	16,3	27,7	4,52

no. I ₁ -kloon <i>no. I₁ clone</i>	toestand bij het snijden <i>condition at the time of cutting</i>	vers gewicht bij het snijden (g) <i>fresh weight after cutting (g)</i>	Gehalte/content (%)		
			droge-stof <i>dry matter</i>	ruw-eiwit in droge-stof <i>crude protein in dry matter</i>	ruw-eiwit in verse-stof <i>crude protein in fresh matter</i>
SERIE 629 / series 629					
2		85	16,8	26,8	4,51
3	iets geschoten	70	15,7	29,1	4,56
4		75	15,1	29,8	4,50
6		35	18,6	32,4	6,04
7	iets geschoten	35	26,0	30,8	8,02
8		55	15,4	30,2	4,65
9		40	16,4	32,4	5,32
10	iets geschoten	75	17,4	26,6	4,62
11		70	19,3	26,7	5,15
12	iets geschoten	80	17,4	26,2	4,56
13		50	19,1	26,2	5,00
14	iets geschoten	85	15,2	28,3	4,30
15		25	21,5	—	—
16		40	17,9	29,4	5,26
17		65	19,7	27,2	5,36
18	begin van schieten	65	17,5	28,2	4,94
19		50	17,1	30,7	5,25
20		45	21,1	30,5	6,44
21		40	16,3	32,1	5,24
22	iets geschoten	105	16,1	25,1	4,04
24		60	16,9	28,4	4,80
25	begin van schieten	40	19,4	30,4	5,90
26	iets geschoten	65	17,0	28,9	4,91
27	iets geschoten	80	18,0	25,2	4,54
28		50	18,4	26,1	4,80
29		85	18,4	20,5	3,77
30		50	17,1	29,5	5,05
31		30	20,6	31,3	6,45
32		55	15,7	29,6	4,64
33	begin van schieten	70	19,7	30,2	5,95
34		45	18,6	30,7	5,71
35		55	17,7	30,7	5,43
36		45	20,0	29,3	5,86
37		50	18,2	30,9	5,62
38		65	15,9	29,1	4,63
39		75	17,0	27,7	4,70
40		30	20,0	34,0	6,80
41		50	16,5	30,5	5,04
42	begin van schieten	55	17,6	28,1	4,95
43		50	16,8	29,5	4,96
44		105	19,5	23,5	4,58
45	iets geschoten	85	17,5	28,3	4,96

Gehalte/content (%)

no. I ₁ -kloon	toestand bij het snijden	vers gewicht bij het snijden (g)	droge-stof	ruw-eiwit in droge-stof	ruw-eiwit in verse-stof
no. I ₁ clone	condition at the time of cutting	fresh weight after cutting (g)	dry matter	crude protein in dry matter	crude protein in fresh matter
46		75	17,7	28,5	5,05
47		65	19,0	26,5	5,04
48		40	17,4	30,8	5,36
49		25	26,8	28,8	7,72
50		40	20,6	28,8	5,94
51		75	17,9	27,9	4,99
54		95	15,3	26,0	3,98
55		85	16,0	28,3	4,52
56		50	17,8	30,1	5,36
57		30	21,1	30,6	6,46
58		75	13,2	30,1	3,98
59	iets geschoten	85	16,8	28,3	4,75
60	iets geschoten	75	18,2	26,2	4,76
61	begin van schieten	95	17,7	26,3	4,65
62	iets geschoten	70	14,6	29,6	4,32
63	begin van schieten	85	16,6	27,5	4,55
64		40	17,5	29,1	5,10
65		115	17,0	24,8	4,22
66		55	18,7	30,3	5,66
67		45	19,0	32,1	6,10
68	begin van schieten	65	18,9	27,5	5,20
69		65	17,2	29,7	5,11
70	iets geschoten	60	18,7	27,0	5,05
72	iets geschoten	50	19,0	28,6	5,44
73	begin van schieten	80	19,3	24,4	4,71
74		90	17,0	24,9	4,24
75		60	19,2	27,3	5,24
76		40	21,7	29,4	6,36
77		70	19,7	26,2	5,20
78	begin van schieten	105	16,9	25,9	4,37
79		60	18,1	27,2	4,93
81	iets geschoten	100	28,6	24,6	7,04
82		75	17,9	26,1	4,67
83		80	18,0	25,1	4,52
84		80	17,9	26,1	4,67
85		45	21,6	28,0	6,05
86	iets geschoten	85	17,8	23,9	4,25
88	begin van schieten	80	16,7	26,5	4,42
89		30	22,7	29,4	6,38
90		90	16,7	24,3	4,06
91		78	17,7	27,0	4,78
92	begin van schieten	30	21,5	28,9	6,21

no. I ₁ -kloon <i>no. I₁ clone</i>	toestand bij het snijden <i>condition at the time of cutting</i>	vers gewicht bij het snijden (g) <i>fresh weight after cutting (g)</i>	Gehalte/content (%)		
			droge-stof <i>dry matter</i>	ruw-eiwit in droge-stof <i>crude protein in dry matter</i>	ruw-eiwit in verse-stof <i>crude protein in fresh matter</i>
93		75	18,1	25,9	4,68
94		70	19,8	23,4	4,64
96		85	17,1	26,9	4,44
97		50	17,6	28,9	5,07
SERIE 490 / <i>series 490</i>					
4		75	17,9	27,5	4,92
28		35	23,9	30,8	7,36
30		65	18,5	28,3	5,24
33		60	20,1	27,7	5,56
38		50	18,4	29,3	5,39
42		55	19,7	29,3	5,77
48		65	18,3	27,2	4,95
49		75	16,1	27,9	4,48
53		60	18,3	28,4	5,20
55		50	18,5	29,3	5,42
63		70	17,4	28,8	5,01
66		60	18,4	28,3	5,21
70		65	15,9	30,0	4,78
71		65	15,3	29,4	4,56
72	iets geschoten	50	18,9	27,8	5,25
74		70	17,1	29,3	5,02
77		45	18,9	30,6	5,78
81	iets geschoten	90	16,9	27,0	4,56
82		50	16,0	29,7	4,75
83		60	19,6	28,6	5,60
86		60	17,7	30,8	5,45
97		45	20,8	31,3	6,50
99		80	18,0	25,8	4,65
100		85	17,3	26,3	4,58
101	bijna geheel geschoten	100	18,5	23,9	4,47
102	iets geschoten	65	17,6	28,6	5,03
103		90	15,6	27,1	4,24
104		65	16,7	30,2	5,05