

SONDERDRUCK

aus

LANDWIRTSCHAFTLICHE FORSCHUNG

zugleich Zeitschrift des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten

Herausgegeben von

H. Kick
Bonn

H.-J. Oslage
Braunschweig-Völkenrode

U. Ruge
Hamburg

F. Scheffer
Göttingen

E. Schlichting
Stuttgart-Hohenheim

L. Schmitt
Darmstadt

W. Wöhlbier
Stuttgart-Hohenheim

BAND 26 · HEFT 3
1973



J. D. SAUERLÄNDER'S VERLAG, FRANKFURT AM MAIN

Veränderungen von Kohlenhydratfraktionen in Blättern und Stengeln einiger Knaulgrassorten während des Wachstums*)

(Aus dem Institut für Grünlandlehre der Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan; Dir.: Prof. Dr. G. VOIGTLÄNDER)

Von W. KÜHBAUCH**)

Eingegangen am 26. 10. 1972

Einleitung

Die Veränderung löslicher Kohlenhydrate in Gräsern einschließlich Knaulgras (1) war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. In diesen Arbeiten, vorwiegend angelsächsischen Ursprungs, wurden schwerpunktmäßig die Einflüsse der Düngungsintensität (2), der Häufigkeit und Art der Schnittnutzung (1, 2) sowie der Jahreszeit auf die Veränderung dieser Stoffklasse (3) untersucht. Das Hauptinteresse galt dabei dem Fructosan als dem wichtigsten Reservepolysaccharid von Gräsern unserer Breiten (4, 5, 6), das bevorzugt in der Stengelbasis eingelagert wird (5, 7).

Obwohl die Bedeutung der wasserlöslichen Kohlenhydrate als Hauptenergieträger von Futtergräsern also längst bekannt ist, werden diese Inhaltsstoffe nicht oder nur aufgrund sehr unspezifischer Analysendaten zur Sortencharakteristik herangezogen. Diese Lücke scheint um so schwerwiegender, als gerade der Polymerisationsgrad von Reservekohlenhydraten sowohl in der direkten Futterverwertung als auch für jede Art von Konservierung große Bedeutung haben dürfte. In dieser Arbeit wird versucht, die Variabilität verschiedener Qualitäten wasserlöslicher Kohlenhydrate während des Wachstums in 4 Knaulgrassorten zu verfolgen.

Material und Methoden

a) Pflanzenmaterial

Knaulgras (*Dactylis glomerata*) der Sorten Holstenkamp, v. Kamekes, Baraula und NFG wurden im zweiten Aufwuchs am 23. 6. (1. Schnitt), 5. 7. (2. Schnitt), 14. 7. (3. Schnitt) und 23. 7. 1971 (4. Schnitt) aus dem Sortiment des hiesigen Versuchsfeldes geerntet. Dieser Zeitraum entsprach, mit Unterschieden zwischen den Sorten, dem Abschnitt des Schossens bis kurz vor Blühbeginn. Um tagesperiodische Schwankungen des Zuckergehaltes weitgehend auszugleichen, wurde stets zwischen 14 und 15 Uhr geerntet. Getrennt in Blatt- und Stengelanteile wurde die Pflanzensubstanz mit Flüssigstickstoff eingefroren und bis zur Gefriertrocknung bei -20°C aufbewahrt.

b) Quantitative Zuckerbestimmung

Die Extraktion des Pflanzenmaterials erfolgt in wäßrigen Lösungen mit fallender Alkoholkonzentration und in Wasser (8), die Klärung der Extrakte mit Kaliumferrocyanid (= Carrez I) und Zinkacetat (Carrez II) nach SCHOORL u. a. (9), die Zuckerbestimmung mittels eines kolorimetrischen Verfahrens nach NELSON (10) in der Modifikation von SOMOGYI (11).

*) Für die Mitarbeit bei der Untersuchung des Pflanzenmaterials danke ich Frau B. GLASOW.

***) Dr. W. KÜHBAUCH, 8050 Freising-Weihenstephan.

Es wird wie folgt verfahren: 300 mg pulverisiertes Pflanzenmaterial werden in 100-ml-PVC-Schraubflaschen eingewogen und der Reihe nach mit jeweils 50 ml 95, 85, 60, 40 und 20% Äthanol und mit Wasser 45 Minuten im Schüttelapparat extrahiert. Jede dieser 6 Fraktionen wird unmittelbar nach der Extraktion über Papierfilter „Ederol Nr. 14“ in einen Rundkolben abgesaugt, der Rückstand mit jeweils der nächst niedrigeren Alkoholkonzentration wieder in die PVC-Schraubflasche gespült und erneut 45 Minuten geschüttelt. Das Filtrat wird im Rotationsverdampfer bei etwa 60° C von Alkohol befreit und mit entsprechenden Mengen Wasser ergänzt.

Diese wässerigen Extrakte werden in einen 100-ml-Meßkolben überspült, mit 5 ml Carrez I und 5 ml Carrez II versetzt und zur Marke aufgefüllt. Nach kräftigem Schütteln und 30 Minuten Wartezeit wird filtriert. 1 ml des Filtrats wird zur Hydrolyse mit 1 ml 1 N HCL versetzt und 5 Minuten bei etwa 70° C im Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Hydrolysat mit 1 ml äquivalenter Menge NaOH neutralisiert. Nach Zugabe von 3 ml Kupferreagens, beschrieben bei SOMOGYI (11), wird das Kupfersalz 10 Minuten im kochenden Wasserbad reduziert und nach sofortigem Abkühlen das bei NELSON (10) beschriebene Arsen-Molybdat-Reagens dazugegeben. Je nach Zuckerkonzentration entwickelt sich ein gelbgrüner bis tiefblauer Farbkomplex, der bei 520 nm ein Absorptionsmaximum besitzt. Nach Auffüllen auf ein konstantes Meßvolumen wird fotometriert. Die oben angegebenen Mengen sowohl des Filtrats als auch der zugesetzten Reagenzien können beliebig verändert werden, wenn die Menge des neutralisierten Hydrolysates stets mit ebensoviel Kupferreagens bzw. Arsen-Molybdat-Reagens versetzt wird.

Die tatsächlichen Zuckergehalte werden einer mit Fructose als Standard erstellten Eichkurve entnommen. Da sich die Eichkurve bei hohen Zuckermengen asymptotisch dem Transmissionswert $T = 0\%$ nähert, empfiehlt es sich, einen Transmissionswert von $T = 30\%$ nicht zu unterschreiten. Am günstigsten erscheint der nahezu lineare Meßbereich zwischen $T = 100\%$ und $T = 60\%$.

Der Molybdänblaukomplex, dessen Zusammensetzung bei Woods u. a. (12) diskutiert ist, bleibt mehr als 24 Stunden unverändert. Überschuß an Zinkacetat (bis 0,3 ml im Filtrat liegen Untersuchungen vor) verändert nicht die Lage des Absorptionsmaximums und beeinflusst unwesentlich die optische Dichte des Farbkomplexes. Dagegen ist Überschuß an Kaliumferrocyanid unbedingt zu vermeiden. Die Meßgenauigkeit der Methode wurde in dem Meßbereich zwischen $T = 60\%$ und $T = 100\%$ nach einem von RENNER (13) beschriebenen Rechengang bestimmt; sie betrug $T = \pm 0,72 (\%)$.

c) Qualitative Zuckerbestimmung

500 mg pulverisiertes Pflanzenmaterial werden wie oben extrahiert, im Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt und mit 1 oder 2 ml Wasser und etwa der doppelten Menge Chloroform aufgenommen. Die Trennung der Chloroform- von der Wasserphase erfolgt durch zehnmütiges Zentrifugieren bei etwa 2000 g. Der überstehende wässrige Zuckerextrakt wird abgehoben und davon 6 bis 8 Mikroliter (mm^3) auf cellulosebeschichtete Dünnschichtplatten aufgetragen. Nach dreimaligem Lauf in Ameisensäure:Butanol: Methyläthylketon: Wasser = 15:40:30:15 (V/V) werden die aufgetrennten Zucker mit Benzidin-Trichloressigsäure besprüht und bis zum Erscheinen der gelb bis braun gefärbten Flecken bei 110° C nachbehandelt. Das chromatographische Verfahren stützt sich auf Vorschriften von VOMHOF u. a. (14) und STAHL (15). Die Identität der verschiedenen Zucker wurde festgestellt mit Vergleichspräparaten und der bei KÜHNBAUCH (16) beschriebenen präparativen DC mit anschließender enzymatischer Untersuchung der aus Celluloseschichten extrahierten Zucker.

Ergebnisse

Die quantitative Veränderung der Kohlenhydratfraktionen (KH % Tr) der untersuchten Knautgrassorten ist in Abbildung 2 bis 5 in Form von Säulen wiedergegeben. Die Kurvendarstellung zeigt die fortlaufende Addition des Gehaltes der Einzelfraktionen.

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, sind die Kohlenhydratfraktionen durch die Extrahierbarkeit mit Äthanol bzw. Wasser ihrer Qualität nach voneinander zu unterscheiden. Mit 95% Äthanol werden fast ausschließlich geringere Mengen Glucose, Fructose und Saccharose extrahiert, in einigen Fällen begleitet von Fructosanspuren. In der Fraktion 85 finden sich die größten Anteile Glucose und Fructose, vor allem aber Saccharose und praktisch kein Fructosan. Fraktion 60 enthält noch wenig Glucose, Fructose und Saccharose, aber auch schon beträchtliche Mengen Fructosan, welche am Startpunkt zurückbleiben bzw. unter diesen Versuchsbedingungen im Falle eines geringen Polymerisationsgrades (16) eine minimale Laufstrecke zeigen. In den Fraktionen 95 bis 60 tauchen vereinzelt Spuren von Ribose auf (auf der Abbildung nicht sichtbar). In den Fraktionen 40, 20 und 0 sind praktisch nur Fructosane und eventuell unter UV gerade noch bemerkbare Spuren von Mono- und Disacchariden nachweisbar.

Die hier gezeigten Qualitätsunterschiede zwischen den Fraktionen konnten mittels DC an allen Knaulgrassorten, Schnittzeitpunkten und Pflanzenteilen einheitlich beobachtet werden.

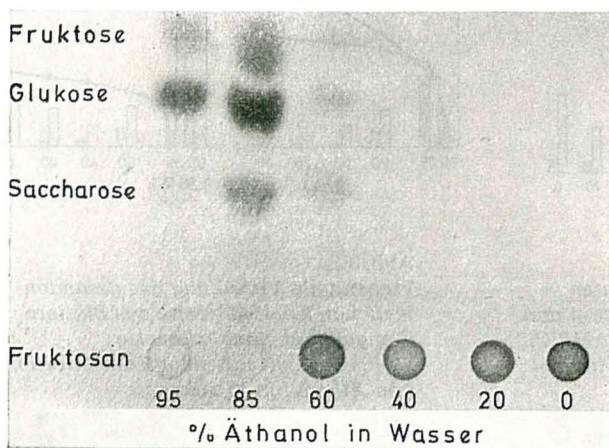


Abb. 1
Kohlenhydrate
aus Äthanol-Wasser-
Extrakten von Knaulgras
nach Trennung an
Cellulosedünnschicht

Bezieht man die Qualität der Zucker in die Betrachtung der quantitativen Analyse mit ein, so ergibt sich folgendes Bild: Alle Knaulgrassorten enthalten über die 4 Wachstumsstadien hinweg in den Stengeln wesentlich mehr Mono- und Disaccharide sowie polymere Fructose als in den Blättern. Die Unterschiede im Gesamtkohlenhydratgehalt zwischen den Pflanzenteilen werden mit fortschreitendem Wachstum sowohl absolut als auch relativ größer und zwar in einem Umfang, daß im 4. Schnitt — also noch vor der Blüte — die Stengelsubstanz der Sorten Holstenkamp und v. Kamekes etwa doppelt soviel, der Sorten NFG und Baraula das Drei- bzw. Vierfache an Zuckeranteilen liefert.

Dennoch steigt im Blatt der Sorten Holstenkamp und v. Kamekes die Summe des Zuckergehaltes aller Fraktionen mit zunehmender Reife bis zum letzten Erntetermin fast kontinuierlich an, bei Holstenkamp von 6,4 auf 9,6%, bei v. Kamekes von 5,5 auf 10,7%. Die vergleichsweise noch höheren Zuckergehalte in den Stengeln der Sorten Baraula und NFG werden durch ein Stagnieren des Blattzuckergehaltes bei etwa 6% (NFG) verursacht oder durch den Rückgang des Blattzuckergehaltes von 5,5 auf etwa 4% (Baraula).

*) Für die Unterstützung bei der fotografischen Aufnahme danke ich Herrn Dr. Ing. H.-C. BARTSCHERER aus dem physikalischen Institut der TU-München in Freising-Weißenstephan.

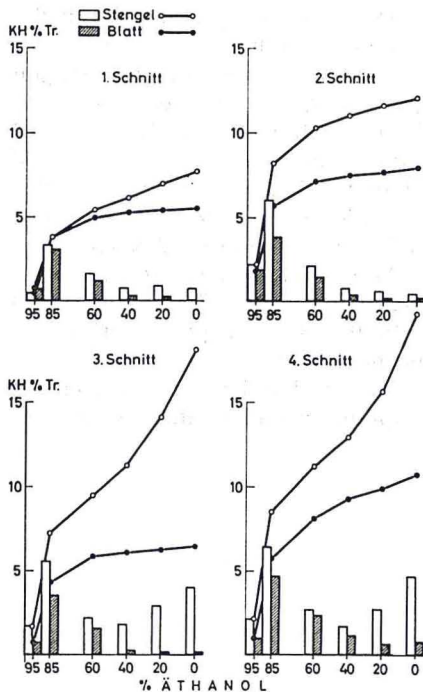


Abb. 2
 Prozentuale Verteilung der gesamten löslichen Kohlenhydrate aus Blättern und Stengeln der Knaulgrassorte v. KAMEKES mit fallender Konzentration von Äthanol in Wasser

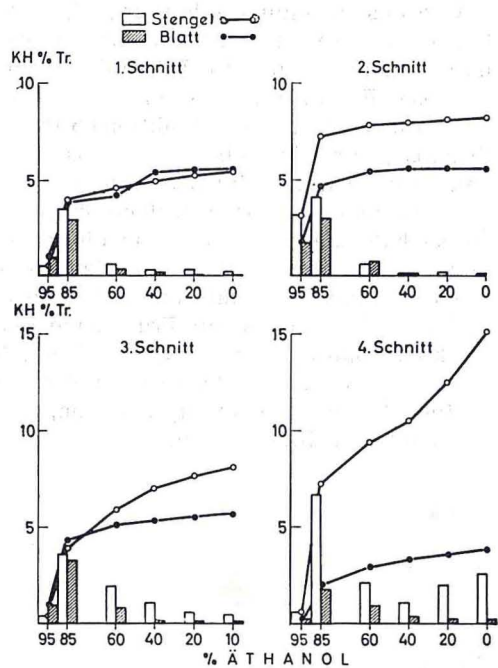


Abb. 3
 Prozentuale Verteilung der gesamten löslichen Kohlenhydrate aus Blättern und Stengeln der Knaulgrassorte BARAULA mit fallender Konzentration von Äthanol in Wasser

Die Zunahme des Gesamtzuckers im Verlauf des Wachstums entfällt bei allen Sorten fast ausschließlich auf die Fraktionen 60, 40, 20 und 0. Es wird also mit zunehmendem Alter der Pflanzen vorwiegend Fructosan gebildet. Bevorzugtes Speicherorgan dieser polymeren Kohlenhydrate ist der Stengel. Blätter reichern zwar ebenfalls Fructosane an, aber in einem vergleichsweise geringen Umfang. Außerdem werden im Stengel die Blattfructosane überwiegend in den Fraktionen 60 und 40 nachgewiesen, im Stengel dagegen zunehmend in den Fraktionen 40, 20 und 0. Es kommt damit ein qualitativer Unterschied der Blatt- und Stengelfructosane zum Vorschein, der anschließend diskutiert wird. Zum Zeitpunkt des 4. Schnittes stellen Fructosane, mit deutlichen Unterschieden in den Sorten, mehr als die Hälfte bis etwa zwei Drittel der gesamten Kohlenhydrate; der Rest wird wiederum überwiegend Saccharose sein, wie Fraktion 85 zeigt.

Betrachtet man schließlich den Einlagerungsrhythmus der Zucker, speziell der Fructosane, so stellen sich bemerkenswerte Sortenunterschiede heraus.

Holstenkamp zeigt, wie auch die anderen Sorten, einen Anstieg des Gesamtzuckers vom 1. bis zum 4. Schnitt, vor allem im Stengel. Die Einlagerungsphase für Reservekohlenhydrate, gekennzeichnet durch die Zunahme der Fructosanfraktionen 40, 20 und 0, wird allerdings erst im 4. Schnitt voll erreicht.

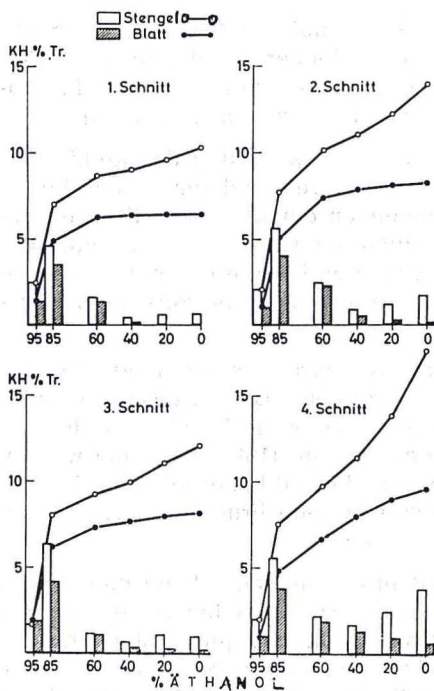


Abb. 4
 Prozentuale Verteilung der gesamten löslichen Kohlenhydrate aus Blättern und Stengeln der Knauigrassorte *HOLSTENKAMP* mit fallender Konzentration von Äthanol in Wasser

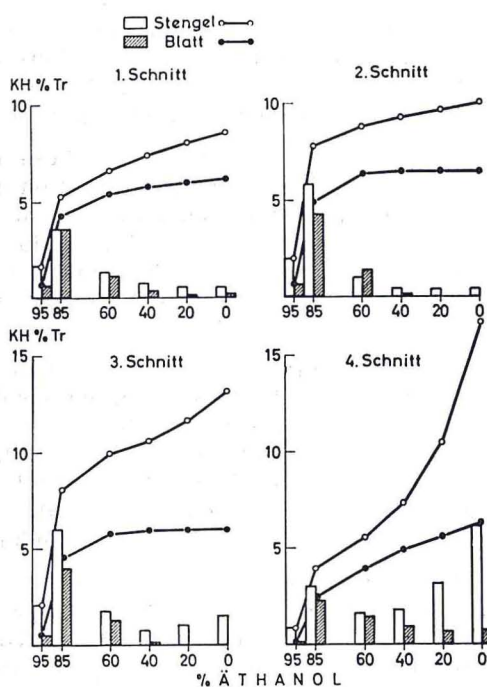


Abb. 5
 Prozentuale Verteilung der gesamten löslichen Kohlenhydrate aus Blättern und Stengeln der Knauigrassorte *NFG* mit fallender Konzentration von Äthanol in Wasser

Bei v. Kamekes fällt der kontinuierliche Kohlenhydratzuwachs bis zum 4. Schnitt auf, aber auch die Tatsache, daß die Einlagerungsphase im Stengel bereits zum 3. Schnitt erreicht ist, wie die starke Zunahme der Fructosanfraktionen zeigt. Dagegen nimmt das Blatt erst bis zum 4. Schnitt nennenswert an Fructosan zu.

Die Sorten Baraula und NFG können als ausgesprochene Einlagerungsspätzügler bezeichnet werden. Das Hauptaugenmerk gilt auch hier wieder dem bevorzugten Einlagerungsorgan für Reservekohlenhydrate, dem Stengel. Bis zum 3. Schnitt ändert sich bei Baraula, bis zum 2. Schnitt bei NFG die Summe der Kohlenhydrate nur unwesentlich. In beiden Sorten ergeben sich nicht einmal Qualitätsverschiebungen; Fructosan wird nicht oder kaum gebildet. Baraula beginnt erst bis zum 4. Schnittzeitpunkt, NFG bereits zum dritten, beträchtliche Mengen Fructosan einzulagern, und zwar zunehmend in der Reihenfolge der Fraktionen 40, 20 und 0.

Diskussion

Im Verlauf des Wachstums erhöht sich in den untersuchten Knauigrassorten der Anteil polymerer Fructoseverbindungen auf den zwei- bis dreifachen Wert der übrigen wasserlöslichen Kohlenhydrate. Dieser Stoffgruppe kommt daher für den Energie- und Futterwert besondere Bedeutung zu.

Fructosane sind löslich in Wasser, unlöslich in apolaren Lösungsmitteln (4). Mit wässrig-alkoholischen Extraktionslösungen fallender Alkoholkonzentration lassen sich daher der Reihe nach Mono- und Disaccharide und schließlich Fructosane mit zunehmender Kettenlänge grob voneinander trennen (17, 18, 19).

SCHLUBACH u. a. (4) verwendete diese Tatsache zur Isolierung des Reinformfructosans aus verschiedenen Grasarten. Von einigen hier verwendeten Proben liegen für alle Fraktionen Molekulargewichtsbestimmungen der Blatt- und Stengelfructosane aus unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Knäulgrassorten vor (16). Anhand dieser Ergebnisse können die hier bestimmten Fructosane in den Fraktionen mit zunehmendem Wasseranteil als solche relativ höheren Polymerisationsgrades angesehen werden.

Der Stengel erweist sich in allen Knäulgrassorten durch die bevorzugte Fructosanaufnahme als das Hauptreserveorgan der Knäulgräser. Diese Konsequenz wird noch deutlicher, wenn man die Kettenlänge der Fructosane beachtet, welche in den Fraktionen von 60 bis 0% Äthanol deutlich ansteigt (16). Im Stengel werden mit fortschreitender Entwicklung der Pflanzen zunehmend höherpolymere Fructosane eingelagert, während im Blatt die ohnehin geringe Fructosananreicherung überwiegend von kurzkettigen Verbindungen stammt.

Im Hinblick auf die Maximierung des Kohlenhydratertrages kann daher wohl ohne Ausnahme bei allen Sorten der Stengel als Zuchtziel bevorzugt werden. Dafür spricht auch die Beobachtung von SIMON (20), daß junge stengelreiche Knäulgräser gegenüber blattreichen von Schafen eindeutig bevorzugt wurden. Sortenunterschiede ergeben sich aus der Bereitschaft, Reservepolysaccharide zu bilden. Bei den Sorten Baraula und NFG würde man zum Zeitpunkt des 3. bzw. 2. Schnittes beträchtliche Mengen Kohlenhydrate in diesem Versuchsjahr nicht geerntet haben, während Holstenkamp und v. Kamekes zum selben Zeitpunkt bereits größere Mengen Reservepolysaccharide eingelagert hatten. Im Falle der spätreifen Sorte Baraula ist diese Gefahr möglicherweise noch gering einzuschätzen; wahrscheinlich hängt die zögernde Anreicherung von Polysacchariden mit der späten Reifeentwicklung dieser Sorte zusammen, wenngleich die ebenfalls späte Sorte Holstenkamp schon früher Fructosane anreichert. Die frühe bis mittelfrühe Sorte NFG könnte dagegen, je nach Art der Nutzung, dazu verleiten, noch vor Erreichen der Haupteinlagerungsphase die Ernte vorzunehmen. Der zum Teil sprunghafte Anstieg der Reservepolysaccharide in den Sorten NFG und Baraula zeigt, daß es wirtschaftlich keineswegs unbedeutend sein kann, den Einlagerungsrhythmus der verschiedenen Sorten zu kennen und im konkreten Fall den Kohlenhydratsprung, wie er sich bei NFG und Baraula zeigt, möglicherweise abzuwarten. Die Tatsache, daß sich mit fortschreitender Reife auch die Kettenlängen der Fructosane verändern, berührt meines Erachtens ganz wesentliche Fragen jeder Art von Futterkonservierung. Darüber wird an anderer Stelle (16) diskutiert.

Zusammenfassung

In gefriergetrocknetem Blatt- und Stengelmaterial einiger Knäulgrassorten wurde die Veränderung der Kohlenhydratfraktionen während des Wachstums untersucht.

1. Mit fortschreitendem Alter werden in allen Knäulgrassorten verstärkt Kohlenhydrate vom Typ polymerer Fructose eingelagert. Mono- und Disaccharide erfahren eine vergleichsweise geringe Veränderung.

2. Bevorzugtes Einlagerungsorgan für Kohlenhydrate ist der Stengel. Dieser Sachverhalt wird dadurch bekräftigt, daß dort vorwiegend höherpolymere Fructosane eingelagert werden, während im Blatt nur geringe Mengen meist kurzkettiger Fructosane nachzuweisen sind.
3. Der Einlagerungsrhythmus für Reservopolysaccharide läuft offenbar nicht parallel mit der Reifeentwicklung. Die Sortenunterschiede sind innerhalb vergleichbarer Reifegruppen beträchtlich; sowohl kontinuierliche als auch sprunghafte Anreicherung der Polyfructosane ist zu beobachten.

Summary

KÜHBAUCH, W.: *Veränderungen von Kohlehydratfraktionen in Blättern und Stengeln einiger Knaulgrassorten während des Wachstums. (Change of carbohydrate groups in leaf blades and stems of some varieties of cocksfoot while growth.)*

Landwirtsch. Forsch. **26**, 1973

In freeze dried leaf blades and stems of some varieties of cocksfoot change in carbohydrates was investigated while growth.

1. Proceeding growth causes increased contents of carbohydrates of the type of polymerized fructose in all varieties of cocksfoot.

2. The stem is the main region of carbohydrate storage. This fact is confirmed because there are stored fructosans of higher degree of polymerisation mainly, while in leaf blades only small amounts of short-chain fructosan are traceable.

3. Apparently rhythm of storage of polymerized carbohydrates goes not in parallel with the proceeding of growth. Differences are important within varieties of cocksfoot belonging to similar group of maturity. As well steady as jumping accumulation of polyfructosan was observed.

Résumé

KÜHBAUCH, W.: *Veränderungen von Kohlehydratfraktionen in Blättern und Stengeln einiger Knaulgrassorten während des Wachstums. (Modification des fractions glucidiques des feuilles et des tiges de quelques variétés de dactyle au cours de la croissance.)*

Landwirtsch. Forsch. **26**, 1973

On a étudié la variation au cours de la croissance des fractions glucidiques sur feuilles et des tiges lyophilisées de quelques variétés de dactyle.

1. Avec l'âge, des hydrates de carbone, du type des polymères du fructose, s'accumulent de plus en plus pour toutes les espèces de dactyle. En comparaison, les mono et disaccharides présentent une variation faible.

2. L'organe d'accumulation des hydrates de carbone préférentiel est la tige. Ce comportement est renforcé du fait que c'est là où s'accumulent en prédominance des fructoses hautement polymérisées, tandis que dans la feuille, on ne peut mettre en évidence que de petites quantités de fructosanes, la plupart du temps à faible degré de polymérisation.

3. Le rythme de l'accumulation des polysaccharides de réserve n'est visiblement pas en parallélisme avec l'évolution de la maturation. Les différences variétales sont considérables à l'intérieur de groupes de maturité comparables. On peut observer un enrichissement en polyfructosanes, aussi bien par accroissement continu que par accroissement brusque.

Schrifttum

1. REYNOLDS, J. H.: Crop Sci. **9**, 720—722, 1969
2. NOWAKOWSKI, T. Z.: J. Agric. Sci. **59**, 387—392, 1962
3. WAITE, R. u. J. BOYD: J. Sci. Food Agric. **4**, 197—204, 1953
4. SCHLUBACH, H. u. K. HOLZER: Liebigs Annalen der Chemie **587**, 111—124, 1954
5. MC ILROY, R. J.: Herbage Abstracts **37**, 79—87, 1967
6. CUGNAC, A. de: Anns. Sci. nat. Ser. A **13** (1), 1931; zit. n. Nr. 17
7. SMITH, D.: Crop Sci. **8**, 331—334, 1968
8. ARCHBOLD, H. K.: New Phytologist **39**, 185—219, 1940
9. SCHOORL, N. u. K. LUFF; in NEHRING, K.: Agrikulturchemische Untersuchungsmethoden für Dünge- und Futtermittel, Boden und Milch. Verlag P. Parey 1960
10. NELSON, N.: J. Biol. Chem. **153**, 375—380, 1944
11. SOMOGYI, M.: J. Biol. Chem. **195**, 19—23, 1952
12. WOODS, J. T. u. a.: Ind. and Eng. Chem., Anal. Ed. **13**, 760—764, 1941
13. RENNER, E.: Mathematisch-statistische Methoden in der praktischen Anwendung. Verlag P. Parey 1970
14. VOMHOF, D. W. u. M. G. MELLON: J. Chromatog. **21**, 335—337, 1966
15. STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie, Verlag Springer Berlin-Heidelberg-New York 1967
16. KÜHBAUCH, W.: Landwirtsch. Forsch. **26**, 173—181, 1973
17. SMITH, D.: Crop Sci. **7**, 62—67, 1967
18. SMITH, D. u. R. D. GROTELUESCHEN: Crop Sci. **6**, 263—266, 1966
19. GROTELUESCHEN, R. D. u. D. SMITH: Crop Sci. **8**, 210—212, 1968
20. SIMON, U.: Vortrag Tagung AG der Dt. Grünlandinstitute Steinach b. Straubing v. 1.—3. Juni 1972