

950
Page

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY
Facultad de Agronomía
Montevideo
Uruguay

ESTUDIO DE ALGUNOS ASPECTOS QUE AFECTAN
LA PRODUCCION DE SEMILLA EN TREFOL ROJO
(Trifolium pratense L.)

Francisco Mandl

Tesis presentada a la Facultad de Agronomía como requisito
parcial para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo

Noviembre de 1972

14 NOV 1974

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. Cadmo Rosell, por la orientación y conducción del presente trabajo.

Al Ing. Agr. Otto Pritsch, por sus sugerencias durante el trabajo de campo.

Al Ing. Agr. Milton Carámbula, por la corrección del original.

A los Sres. Oscar Díaz, Duilio Viazzi, Carlos Long e Icaro Novaretto, por su invalorable ayuda en la parte práctica de la tesis.

A la Dirección del Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", por permitir la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
1. Rendimiento en semilla y sus componentes	3
2. Polinizadores	5
3. Largo de corola	9
III. MATERIALES Y METODOS	14
1. Ubicación	14
2. Cultivares	14
3. Diseño	15
4. Parcela	15
5. Observaciones	15
5.1. Floración	15
5.2. Polinizadores	16
5.3. Largo de corola	16
5.4. Rendimiento	17
5.5. Cabezuelas por metro cuadrado	17
5.6. Flores por cabezuela	17
5.7. Semillas por cabezuela	18
5.8. Peso de mil semillas	18
IV. RESULTADOS	19
1. Número de cabezuelas	19

	Página
2. Rendimiento por cabezuela	22
2.1. Número de flores por cabezuela	22
2.2. Número de semillas por cabezuela	23
2.3. Porcentaje de formación de semilla	24
2.4. Incidencia de varios factores en el cuajado	25
2.4.1. Largo del tubo de la corola	25
2.4.2. Número de polinizadores	26
3. Peso de mil semillas	28
4. Rendimiento de semilla por hectárea	29
4.1. Cosecha año 1970/71	29
4.2. Cosecha año 1971/72	31
4.2.1. Primera cosecha	31
4.2.2. Segunda cosecha	32
4.2.3. Rendimiento total	33
5. Correlaciones entre diferentes caracteres	35
V. DISCUSION Y CONCLUSIONES	37
1. Número de cabezuelas	37
2. Rendimiento por cabezuela	38
3. Peso de mil semillas	40
4. Rendimiento de semilla por hectárea	41
4.1. Cosecha año 1970/71	41
4.2. Cosecha año 1971/72	43

VI. RESUMEN	44
VII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	46

I. INTRODUCCION

La producción forrajera del Uruguay puede ser incrementada a través de diferentes técnicas agronómicas, siendo una de ellas la instalación de praderas artificiales. Para esto se hace necesario un adecuado suministro de semillas de especies forrajeras, de probada adaptación a nuestras condiciones ecológicas.

Nuestro país es, en parte, dependiente del suministro de semillas provenientes del extranjero. Esto presenta una serie de desventajas ya que, en términos generales, dicha semilla no se encuentra disponible para el productor en el momento adecuado. También suele ocurrir que presente un bajo porcentaje de germinación o que su comportamiento no sea el más adecuado por tratarse de cultivares no adaptados a nuestro ambiente.

Entre otras especies, el trébol rojo (Trifolium pratense L.) ha demostrado ser una forrajera bianual muy productiva en las condiciones de algunas zonas del país. En primavera produce un gran volumen de forraje, el que representa más del 40 % de su producción total del año (Gardner et al, 1966).

Bajo condiciones favorables, esta especie se establece muy rápido y produce buena masa de forraje en su primer año. Esta característica compensa su corta vida y justifica su inclusión en mezclas para praderas permanentes (Carábula, 1969).

En el presente trabajo -realizado en el Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", La Estanzuela, Colonia, Uruguay, en 1970/71- se estudian algunos de los problemas existentes en la producción de semilla de diferentes cultivares de trébol rojo.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

1. RENDIMIENTO EN SEMILLA Y SUS COMPONENTES

El rendimiento en semilla de las especies leguminosas puede ser considerado como el resultado de la integración de los siguientes componentes:

- a. Número de cabezuelas por unidad de superficie.
- b. Número de flores por cabezuela.
- c. Porcentaje de formación de semilla.
- d. Peso de mil semillas.

Según Kising (1949), el primer requerimiento para un alto rendimiento en semilla es un alto número de inflorescencias, y Högborg (1966) observó en un mismo cultivo, con y sin corte, que el número de inflorescencias por unidad de superficie estuvo altamente correlacionado con el rendimiento de semilla.

Sin embargo, Hawkins (1956) entiende que el rendimiento potencial depende no sólo del número de cabezuelas por unidad de superficie, sino también del número de semillas por cabezuela. Este autor afirma que, de acuerdo a los datos examinados, parecería que el número de semillas por cabezuela está tan estrechamente correlacionado con el rendimiento por unidad de superficie, que es el principal factor que afecta el rendimiento de semilla.

Parecería evidente que el número de semillas por cabezuela depende

del tamaño de ésta (número de flores) y del porcentaje de cuajado de la misma. Con respecto al primer aspecto, Wilsie (1949), trabajando en chacras de productores, encontró una correlación significativa entre tamaño de cabezuela, expresado en número de flores, y cantidad de semilla formada por cabezuela. Según este autor, esto significa que, dentro de las limitaciones de las observaciones realizadas, las cabezuelas grandes producen más semilla que las cabezuelas pequeñas. Confirmando estas observaciones, Starling et al (1950) encontraron, en poblaciones segregantes derivadas de cruzamientos, que la única correlación significativa fue entre flores por cabezuela y porcentaje de semilla formada, la cual dio un valor de $r = + 0,339$.

A pesar de que Högborg (1966) observó que el número de flores parece ser más importante que el número de polinizadores, como factor determinante del rendimiento, es evidente que una polinización eficiente puede incrementar notablemente los rendimientos.

Esto sugiere que una buena polinización sería más deseable en cultivos compuestos por plantas con cabezuelas grandes, que si la mayoría de las plantas presentaran cabezuelas pequeñas.

Finalmente, Hawkins (1965), trabajando con ocho cultivares, señala que el número de cabezuelas en el cultivo, el número de semillas formadas por cabezuela y el tamaño de la semilla, están tan estrechamente ligados que las diferencias en rendimiento están indicadas por diferencias en alguno de estos caracteres. Sin embargo, este autor concluye que sus

estudios proporcionaron nuevas evidencias de la importancia del número de semillas por cabezuela en la estimación del rendimiento en semilla del trébol rojo.

2. POLINIZADORES

Picard (1967) sostiene que las posibilidades de obtener un número elevado de flores por unidad de superficie y las oportunidades de asegurarles una buena polinización constituyen dos elementos determinantes que deben ser combinados favorablemente para que conduzcan a un rendimiento elevado.

Según Starling et al (1950), Darwin en 1885 ya había demostrado que el cuajado en trébol rojo dependía de la polinización por insectos, y una evidencia interesante sobre la importancia de los insectos polinizadores en trébol rojo la constituyen las observaciones realizadas por Anderson y Wood (1944), quienes llegaron a que la cantidad de semilla formada por cabezuela fue de <1 en jaulas sin insectos, 37 semillas en campo abierto y 56 semillas en jaulas con abejas.

Varios autores informan sobre la importancia de la polinización entomófila en la producción de semillas de trébol rojo. Kising (1949) sostiene que, si bien el número de inflorescencias es el primer requerimiento para un alto rendimiento en semillas, el segundo requerimiento es la polinización por insectos, y Mac Vicar et al (1952) afirman que el rendimiento de semilla en esta especie varía directamente con la actividad de

los polinizadores.

Por su parte, Hawkins (1959) halló que en ciertos casos los bajos rendimientos pueden estar asociados con ausencia de semilla en el cultivo a través de falta de polinización y posteriormente, el mismo autor (1961) agrega que existe una correlación significativa entre cuajado y número de polinizadores "positivos", considerando como tales a aquellos que no "roban" el néctar a través de un orificio efectuado en la base de la corola.

Sin embargo, en un trabajo anterior (Hawkins, 1956) había encontrado que solamente en un caso la correlación entre polinizadores "positivos" y cuajado fue significativa: esto ocurría en el período en que había pocos polinizadores "positivos". La ausencia de correlación durante otros períodos, probablemente indica que hubo más que suficientes polinizadores "positivos" para asegurar un máximo cuajado.

Según Mac Vicar et al (1952), una alta proporción de insectos polinizadores en trébol rojo está gobernada por diversos factores, a saber:

- a. Largo de la lengua del insecto polinizador.
- b. Largo del tubo de la corola.
- c. Altura de la columna de néctar en el tubo de la corola.
- d. Distancia real de alcance del insecto dentro de la flor individual.

La mayoría de los estudios realizados sobre insectos polinizadores

del trébol rojo muestran que las abejas y los Bombus son las dos especies más importantes. Sin embargo, en muchos casos los diferentes autores arriban a conclusiones contradictorias, en especial con respecto a la eficiencia de las abejas.

Hawkins (1965) expresa que si bien estos insectos pueden obtener polen del trébol rojo y en ocasiones pueden alcanzar el néctar, es escasa la evidencia de que aumenten el rendimiento de semilla de esta especie.

Butler et al (1956) afirman que las flores de trébol rojo fallan en atraer a las abejas, debido a que el largo de su corola no permite que las abejas, al tener lengua corta, alcancen los nectarios.

Sin embargo, Mac Vicar et al (1952) afirman que la abeja es un polinizador eficiente y marcadamente constante del trébol rojo y Braun et al (1953) concluyen, entre otras cosas, que cuanto mayor es el número de abejas polinizadoras, mayor es el rendimiento en semilla.

Otros autores, citados por Butler et al (1956), también han observado una estrecha correlación entre número de abejas por unidad de área y la subsecuente formación de semilla.

La importancia de Bombus como insecto polinizador del trébol rojo no es cuestionada.

Darwin (1885), citado por Starling et al (1950), indicó que los Bombus eran responsables de la mayor parte de la polinización y Butler et al (1956) sostienen que este insecto, al tener lengua larga, está

siempre más capacitado para este fin. Otros autores, citados por Bird (1944) y por Starling et al (1950), llegan a la misma conclusión.

Bird (1944) afirma que, para las condiciones de su estudio, el número de Bombus visitantes fue un factor de mucha más importancia en el cuajado, que el número de abejas visitantes o el número de flores por cabezuela, y Peterson et al (1960) expresan que las abejas fueron más importantes que los Bombus en la determinación de los rendimientos de semilla, aunque éstos fueron más eficientes que las primeras.

Si bien Butler et al (1956) sugieren que para obtener un incremento en la polinización del trébol rojo es necesario aumentar la población disponible de Bombus de lengua larga o la frecuencia con que las abejas hacen visitas efectivas al cultivo, Hawkins (1956, 1961) encontró una correlación muy estrecha (0,918) entre cuajado, expresado en semilla por cabezuela, y Bombus de lengua larga, mientras que el número de abejas no estuvo relacionado al cuajado.

De la bibliografía citada anteriormente, surge la idea de que ambos insectos, abejas y Bombus, parecen cumplir una misión importante, y así, para Kising (1949), los Bombus y las abejas son los dos únicos insectos que polinizan el trébol rojo, y de éstos, los Bombus son los más eficientes.

A continuación se presentan algunas de las conclusiones a las que arriban Palmer-Jones et al (1966):

- a. Las abejas y los Bombus son los únicos insectos de importancia como polinizadores.
- b. En muchos cultivos estudiados, las abejas parecieron ser más importantes que los Bombus.
- c. Los cultivos fueron polinizados tan eficientemente por las abejas, como por las dos especies más importantes de Bombus de lengua larga.

De acuerdo con Butler et al (1956), se debe investigar cuando una insuficiente polinización es una causa importante de los bajos rendimientos en trébol rojo, ya que el hecho de que el trébol rojo no sea frecuentemente visitado por abejas, no significa necesariamente, como se ha asumido algunas veces, que sea inadecuadamente polinizado. Los bajos rendimientos de semilla cosechada pueden ser debidos a muchas otras causas que a deficiencia de polinizadores.

3. LARGO DE COROLA

El largo de la corola ha sido citado por Mac Vicar et al (1952) como una de las condicionantes que afectan la polinización en trébol rojo. Parecería que cuando las corolas son cortas permiten a las abejas una más fácil accesibilidad al néctar y, por consiguiente, un mayor interés por parte de estos insectos en dicha leguminosa.

Akerberg (1941) observó que en las flores en que las abejas mejor

trabajaban, el largo del tubo de la corola era sorprendentemente más corto. Asimismo, Van Laere y Martens (1962) opinan que, siendo la corola del cultivar de trébol rojo *Violetta R.v.P.* de 7,8 mm de largo, las abejas encuentran dificultosa la recolección de néctar.

Sin embargo, Richmond (1932), citado por Starling et al (1950), halló que bajo las condiciones de su ensayo, el cuajado fue independiente del largo del tubo de la corola.

Por otro lado, Damisch (1964), trabajando con líneas mejoradas de trébol rojo con corola corta, encontró que cuando más corta fue la corola, más bajo fue el porcentaje de cuajado.

Como puede observarse, existen referencias que aportan datos conflictuales con referencia al efecto del largo de la corola.

Según Butler et al (1956), la gran disparidad entre el largo de la lengua de las abejas y el largo del tubo de la corola del trébol rojo, así como la virtual certeza de que este es el principal factor que limita la polinización del trébol rojo por abejas, ha llevado a la consideración de la posibilidad de resolver el problema de la polinización, no por selección de abejas con lengua larga, sino más bien por selección de plantas con tubo de corola corto.

En este sentido varios autores han realizado estudios comparativos de tipos de trébol rojo con diferente longitud de corola.

Armstrong y Jamieson (1940) llevaron a cabo un experimento con cier

tes cultivares y sus resultados proporcionan poca evidencia de que los cultivares de corola corta sean mejor polinizados que aquellos cultivares de corola larga.

Wilsie y Gilbert (1940) afirman que, contrariamente a lo esperado, el largo del tubo de la corola no pareció ser un factor de importancia, bajo las condiciones de su experimento.

Starling et al (1950) estudiaron la relación entre el largo del tubo de la corola y la producción de semilla en dos cultivares de trébol rojo de corola larga y dos cultivares de corola corta. Aunque los cultivares difirieron significativamente en promedio en el largo del tubo de la corola, la corola corta no pareció incrementar la producción de semilla. Trabajando con poblaciones segregantes, derivadas de cruzamientos entre tales cultivares, ni el número de semillas por cabezuela, ni el porcentaje de cuajado, estuvieron significativamente correlacionados con el largo de la corola.

Hawkins (1965), trabajando con diferentes cultivares de trébol rojo, señala que el largo del tubo de la corola, el cual varía en los diferentes cultivares, fue de considerable importancia. No solamente determina cuando las abejas pueden alcanzar el néctar en la base de la flor, sino también qué clase de Bombus es necesaria para polinizar los diferentes cultivares de trébol rojo.

Aparte de que la selección de cultivares con corola corta no parece solucionar en forma clara los problemas de polinización en esta leguminosa

sa, Starling et al (1950) encontraron que la correlación entre peso promedio de planta y largo promedio del tubo de la corola de las poblaciones fue de $r = + 0,83$, lo que indicaría que los genes para largo del tubo de la corola estarían aparentemente asociados a los genes para la expresión general de vigor.

En este sentido, Damisch (1964) sostiene que la corola corta de algunas plantas fue considerada como un signo exterior de fertilidad reducida.

Asimismo, varios autores, citados por Hawkins (1965), llegaron a la conclusión de que los cultivares seleccionados por tubo de corola corto tienen características no deseables en cuanto a producción de forraje y rendimiento en semilla. Parecería que los intentos de seleccionar cultivares de corola corta han sido acompañados por un deterioro en la persistencia y el vigor.

Según Butler et al (1956), el método de mejoramiento más efectivo debe ser seleccionar el trébol rojo directamente por atracción hacia las abejas y, por lo tanto, simultáneamente por todos los factores responsables de esta atracción, y Wilsie y Gilbert (1940) años antes habían sugerido que la posibilidad de abundancia de polen, secreción de néctar, o concentración de néctar, pueden tener más importancia en la determinación de la atracción de las variedades de trébol rojo hacia las abejas.

Recientemente, Hawkins (1969) concluye que la selección de un cultivar de trébol rojo con más producción de néctar de manera que las abejas

puedan acceder a él, es considerada la mejor solución y produciría un incremento tanto en rendimiento de semilla como de miel.

Finalmente, Bond y Fyfe (1968) encontraron un alto grado de heredabilidad para altura del néctar, largo de corola, profundidad del néctar, visitas de abejas y rendimiento de semilla por planta.

III. MATERIALES Y METODOS

1. UBICACION

Este trabajo fue llevado a cabo en el Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", La Estanzuela, Colonia, Uruguay, durante el año agrícola 1970/71. El experimento fue instalado el 2 de julio de 1970, en una pradera parda sobre Libertad, la cual el año anterior había sido cultivada con lino. Se fertilizó con 300 k/há de superfosfato (21 % P_2O_5), antes de la siembra.

2. CULTIVARES

Se incluyeron los siguientes cultivares:

- 1) 'Estanzuela 116'
- 2) 'Kenland'
- 3) 'Montgomery'
- 4) 'Cotswold'
- 5) 'Essex'
- 6) 'Legris'
- 7) Mezcla 1:1 de 'Estanzuela 116' y 'Kenland'.

La razón de la inclusión de la mezcla de dos cultivares, está dada por la existencia de genes *S* de auto-esterilidad dentro de un mismo cultivar, de acuerdo a las observaciones de Bateman (1947).

3. DISEÑO

Los cultivares y la mezcla fueron distribuidos en bloques completos al azar, con cuatro repeticiones.

4. PARCELA

Cada parcela constó de nueve surcos de 4,00 m de largo, separados 0,45 m. La siembra se efectuó a razón de 4,5 k/há de semilla viable.

5. OBSERVACIONES

5.1. Floración

Durante el período de floración se realizaron censos del número de cabezuelas (frescas y secas) de manera de construir una curva de floración para cada cultivar. Para este fin, se marcaron dentro de cada parcela, dos cuadrados de 0,50 m² cada uno. En cada uno de ellos se llevó a cabo, periódicamente, el recuento de cabezuelas. A través de la suma de los recuentos de los dos cuadrados de cada parcela, se expresaron los resultados en número de cabezuelas por metro cuadrado y por parcela. Promediando los resultados de cada cultivar, en las cuatro repeticiones, se construyó la curva de floración.

Durante la época de floración se colocaron dos colmenas junto al ensayo.

5.2. Polinizadores

En los mismos cuadrados, descriptos anteriormente, se realizó el recuento de visitas de polinizadores en la época de floración. Las observaciones tuvieron lugar en aquellos días cuyas condiciones ambientales fueron consideradas propicias para tales visitas, esto es, días cálidos, despejados y sin viento.

Aproximadamente al mediodía y durante un minuto, se contabilizaron los insectos polinizadores, visitantes de cada cuadrado. Mediante la suma de ambas observaciones se obtuvo el número de polinizadores por metro cuadrado. A su vez, para cada parcela se promediaron los resultados de los distintos días de recuento.

Las especies que se tomaron en consideración fueron:

- 1) Abeja doméstica (Apis mellífera).
- 2) Guanguero (Bombus spp.).
- 3) Mangangá (Xylocopa spp.).

5.3. Largo de Corola

Se tomaron diez cabezuelas de cada parcela; de cada cabezuela se extrajeron diez flores individuales, de la zona correspondiente al ecuador de la inflorescencia. El largo de la corola fue medido desde la base del cáliz hasta la parte proximal de la boca de la corola, según la técnica de Lewis y Taylor (1967). Consecuentemente, el largo de corola

de cada parcela corresponde al promedio de cien flores individuales.

5.4. Rendimiento

De cada parcela se cosecharon dos muestras de 0,90 m² cada una; los resultados fueron expresados en k/há. El cultivar 'Estanzuela 116' y la mezcla fueron cosechados el 17 de febrero de 1971, los restantes cultivares el 13 de abril de 1971.

El ensayo fue continuado durante el año agrícola 1971/72, evaluándose solamente rendimiento en semilla.

Se realizaron dos cosechas: la primera el 7 de diciembre de 1971 y la segunda el 28 de febrero de 1972.

5.5. Cabezuelas por Metro Cuadrado

Dado que en el momento de la cosecha no fue posible muestrear el número de cabezuelas por metro cuadrado, debido al estado en que se encontraba el cultivo, se consideró como un posible estimador el número de cabezuelas existentes en el 100 % de floración, o sea, el pico de máxima producción de inflorescencias.

5.6. Flores por Cabezuela

De cada uno de los dos cuadrados marcados dentro de cada parcela, se tomaron 25 cabezuelas al azar, formándose una muestra de 50 cabe-

zuelas. De dichas inflorescencias se extrajeron las flores individuales, procediéndose a su recuento.

5.7. Semillas por Cabezuela

Las mismas flores recontadas anteriormente fueron trilladas, contabilizándose las semillas obtenidas.

5.8. Peso de Mil Semillas

Se tomó según las reglas del I.S.T.A. (1959), en la semilla que se pesó para evaluar el rendimiento.

En la mezcla de los cultivares 'Estanzuela lló' y 'Kenland', solamente se observó rendimiento y polinizadores. Las restantes observaciones no fueron realizadas por desconocerse la composición real de la mezcla una vez instalada, la cual inicialmente había sido sembrada en la proporción 1:1.

Se realizó el análisis de variancia de las distintas observaciones. Dentro de cada una de ellas, mediante prueba t, se llevó a cabo la comparación de medias de cultivares. Finalmente se efectuaron correlaciones entre las observaciones realizadas.

IV. RESULTADOS

1. NUMERO DE CABEZUELAS

Sólo se dispone de información de los cultivares 'Kenland', 'Montgomery', 'Cotswold', 'Essex' y 'Legris'.

Como consecuencia de las lluvias ocurridas a partir de mediados de diciembre (Figura 2), en el cultivar 'Estanzuela 116' y en la mezcla, tuvo lugar una segunda floración que no pudo ser recontada, por lo que no se estimó el número de cabezuelas por metro cuadrado (Figura 1).

El análisis de variancia muestra que las diferencias entre cultivares no son significativas.

Análisis de variancia para número de cabezuelas por m²

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	33565.9	1.64 N.S.
Cultivares	4	16201.3	0.79 N.S.
Error	12	20459.3	

C.V. = 18.01 %

N.S. = Diferencia no significativa.

* = Diferencia significativa al nivel 5 %.

** = Diferencia significativa al nivel 1 %.

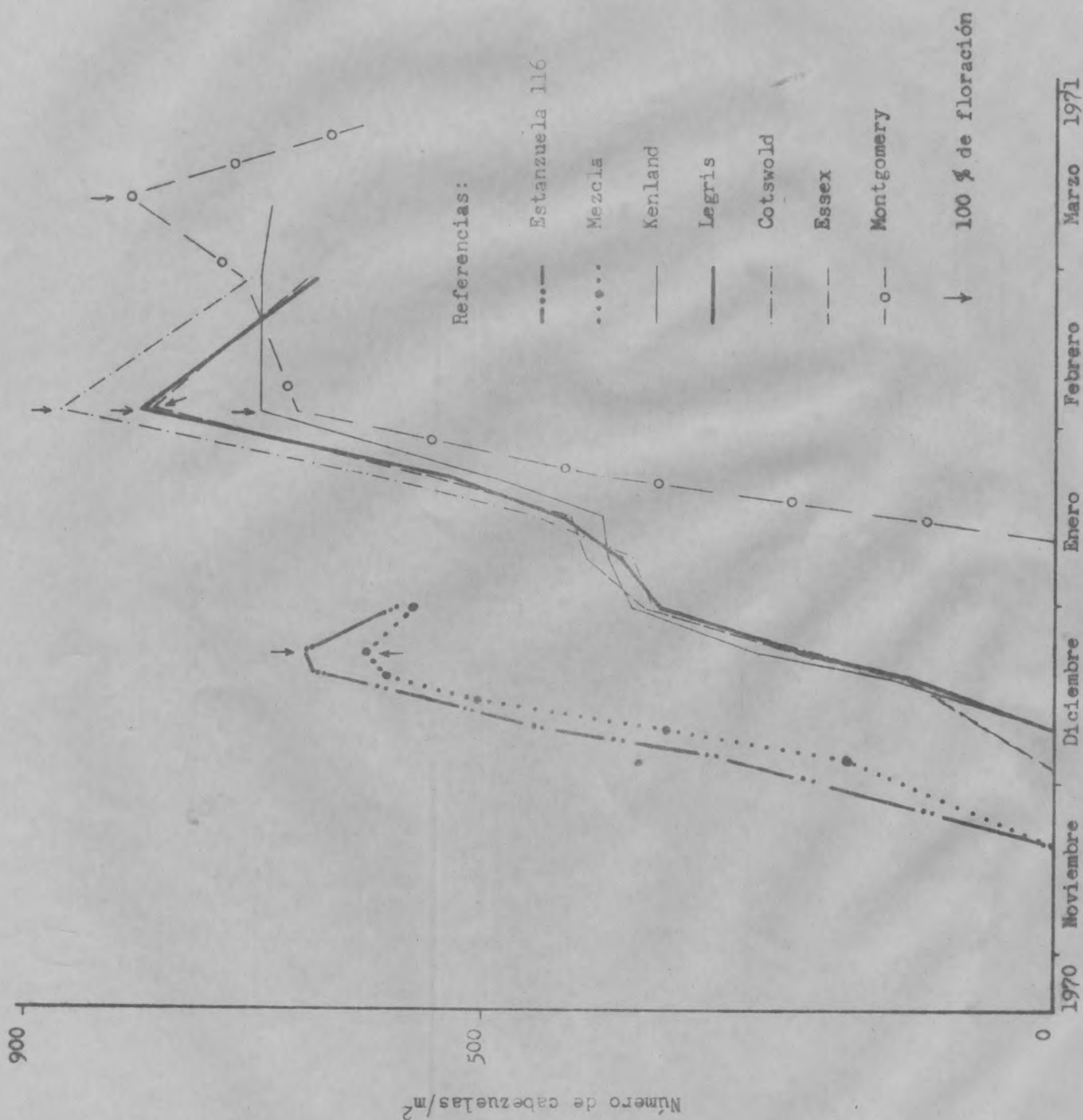


Figura 1. Evolución de la floración de seis cultivares de trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) y la mezcla de dos de ellos. La Estandzuela, 1970/71.

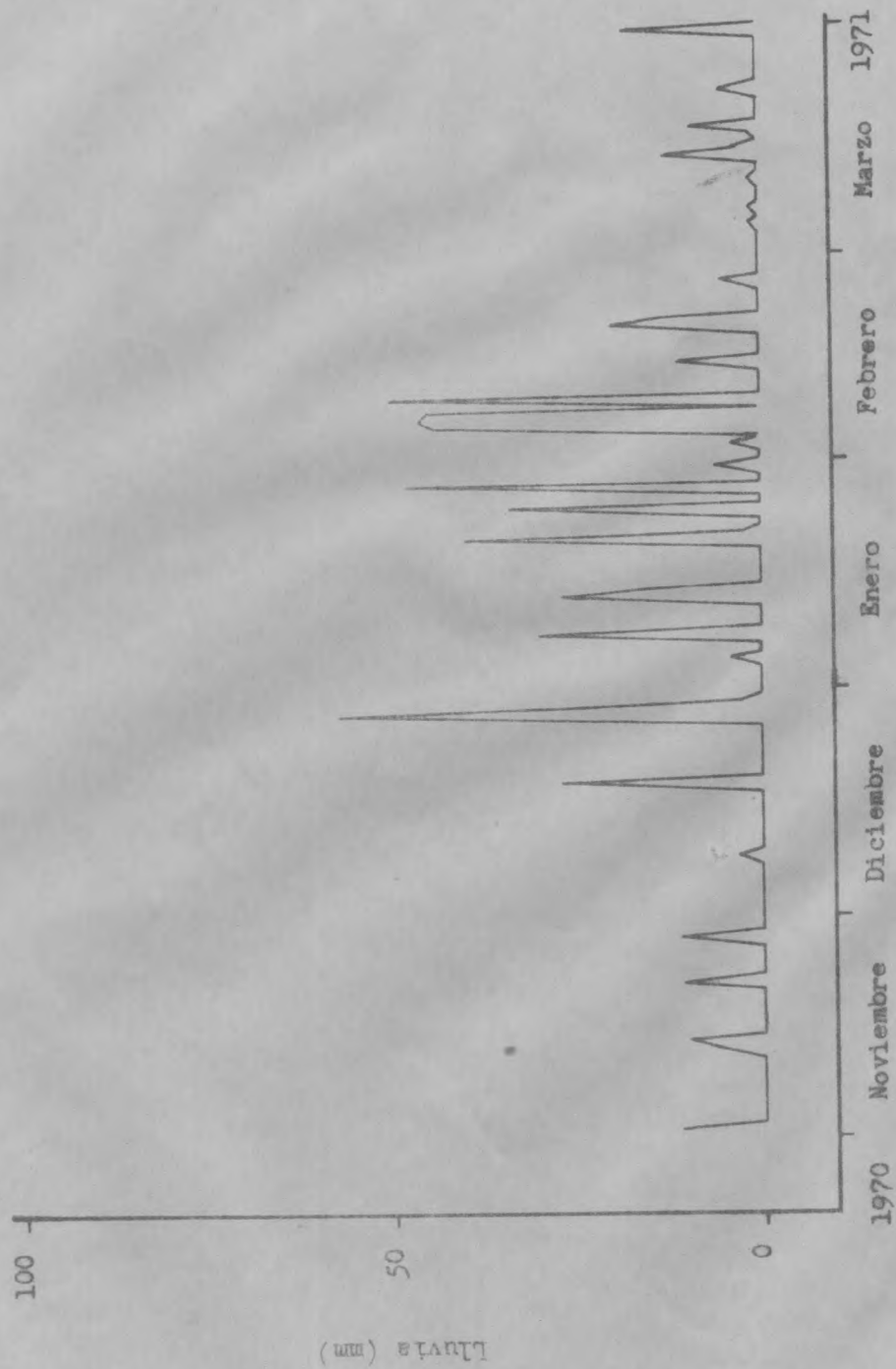


Figura 2. Lluvias registradas (en mm) en el Parque Agroclimático de La Estanzuela en el período nov./70 a mar./71. La Estanzuela 1970/71.

Comparación de medias por prueba t

Cotswold	871.85	D.M.S. (0.05) = 220.39 cabezuelas
Montgomery	812.17	
Legris	799.38	
Essex	791.52	
Kenland	695.13	

D.M.S. (0.05) = Diferencia mínima significativa al nivel 5 %.

Tratamientos unidos por una misma línea no difieren significativamente.

2. RENDIMIENTO POR CABEZUELA

2.1. Número de Flores por Cabezuela

Existen diferencias altamente significativas, según se desprende del análisis de variancia. En la comparación de medias se aprecia que estas diferencias significativas están basadas fundamentalmente en la superioridad del cultivar 'Estanzuela 116'. Entre los restantes cultivos no existen diferencias significativas.

Análisis de variancia para número de flores por cabazuela

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	15.4212	0.53 N.S.
Cultivares	5	402.3577	13.75**
Error	15	29.2675	

C.V. = 6.90 %

Comparación de medias por prueba t

Estanzuela 116	98.25	D.M.S. (0.05) = 8.15 flores
Cotswold	76.99	
Montgomery	76.30	
Kenland	75.55	
Essex	72.83	
Legris	70.43	

2.2. Número de Semillas por Cabezuela

El análisis de variancia señala diferencias altamente significativas y la comparación de medias muestra una clara superioridad del cultivar 'Estanzuela 116'. Dentro de los restantes cultivares se puede señalar una cierta superioridad de 'Montgomery' sobre 'Kenland'.

Análisis de variancia para número de semillas por cabezuela

F.V.	O.L.	C.H.	F.c.
Bloques	3	82.22	4.2*
Cultivares	5	776.81	39.7**
Error	15	19.56	

C.V. = 11.98 %

Comparación de medias por prueba t

Estanzuela 116	64.94
Montgomery	35.44
Lagris	31.96
Gotswold	30.77
Essex	29.84
Kenland	28.48

$$D.M.S.(0.05) = 6.66 \text{ semillas}$$

2.3. Porcentaje de Formación de Semilla

Este valor resulta del cociente entre el número de semillas por cabezuela y el número de flores por cabezuela, expresado en porcentaje. Dicho porcentaje sigue las mismas tendencias que sus componentes.

Análisis de variancia para porcentaje de formación de semilla

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	110.5664	3.25 N.S.
Cultivares	5	431.1055	12.68**
Error	15	33.9785	

C.V. = 12.64 %

Comparación de medias por prueba t

Estanzuela 116	66.15	B.M.S. (0.05) = 8.73 %
Montgomery	46.41	
Legrís	45.56	
Essex	41.19	
Cotswold	39.64	
Kenland	37.70	

2.4. Incidencia de Varios Factores en el Guajado

2.4.1. Largo del Tubo de la Corola

Del análisis de variancia surge que las diferencias entre los seis cultivares son altamente significativas. La comparación de medias revela que dentro de las agrupaciones de cultivares 'Kenland' y

'Montgomery', 'Montgomery' y 'Estanzuela 116', y 'Cotswold' y 'Legris' no hay diferencias significativas.

Análisis de variancia para largo del tubo de la corola

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	0.0654	1.37 N.S.
Cultivares	5	1.1341	23.73**
Error	15	0.0478	

C.V. = 2.32 %

Comparación de medias por prueba t

Kenland	10.03	]	.
Montgomery	9.84		
Estanzuela 116	9.61		
Cotswold	9.22		
Legris	9.22		
Essex	8.55		

2.4.2. Número de Polinizadores

Las abejas domésticas fueron los únicos polinizadores con tabilizados durante las observaciones. También fueron observados en ho-

ras de trabajo, visitando flores, otros Himenópteros tales como Bombus spp. (guanguero o mangangá picazo) y Xylocopa spp. (mangangá), aunque no coincidieron con el muestreo.

Consecuentemente, el número de polinizadores por unidad de superficie puede ser considerado, en la práctica, como número de abejas por unidad de superficie.

No se poseen datos del cultivar "Montgomery", a causa de su floración tardía, cuyos muestreos coincidieron con condiciones ambientales desfavorables para la actividad de los polinizadores.

Dado que los valores obtenidos en los diferentes días de recuento fueron bajos, con un rango de 0 a 9 abejas, se consideró que los mismos seguían la distribución de Poisson. Por lo tanto, fue necesario llevarlos a la distribución normal para poder analizarlos en forma corriente. Para esto se utilizó la fórmula $\sqrt{x + 1}$, donde x es el valor observado, de acuerdo con LeClerc et al (1962).

No se encontraron diferencias significativas entre cultivares.

Análisis de variancia para número de polinizadores por m²

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	0.1582	2.05 N.S.
Cultivares	5	0.0787	1.02 N.S.
Error	15	0.0773	

C.V. = 17.88 %

Comparación de medias por prueba t

Legrís	1.71	D.M.S. (0.05) = 0.42 abejas
Essex	1.64	
Kenland	1.63	
Estanzuela 116	1.57	
Cotswold	1.45	
Mezcla	1.33	

3. PESO DE MIL SEMILLAS

Las diferencias encontradas entre los tratamientos son altamente significativas, según se observa en el análisis de variancia. De acuerdo con la comparación de medias, entre los cultivares 'Estanzuela 116' y 'Kenland', 'Kenland' y 'Legrís', y 'Legrís', 'Essex' y 'Cotswold', no existen diferencias significativas.

Análisis de variancia para peso de mil semillas

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	0.0028	0.90 N.S.
Cultivares	5	0.0290	9.35**
Error	15	0.0031	

C.V. = 3.02 %

Comparación de medias por prueba t

Estanzuela 116	1.979	]]]]]]]
Kenland	1.948	
Legrís	1.884	
Essex	1.852	
Cotswold	1.838	
Montgomery	1.740	
D.M.S. (0.05) = 0.084 g		

4. RENDIMIENTO DE SEMILLA POR HECTAREA

4.1. Cosecha año 1970/71

El rendimiento de semilla presenta diferencias altamente significativas. En la comparación de medias se aprecia que entre el cultivar 'Estanzuela 116' y la mezcla, entre 'Kenland' y 'Legrís', y entre

'Legris', 'Cotswold', 'Essex' y 'Montgomery', las diferencias no son significativas.

Análisis de variancia para rendimiento de semilla del año 1970/71

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	85.7228	0.06 N.S.
Cultivares	6	32245.7464	20.93**
Error	18	1540.5034	

C.V. = 27.03 %

Comparación de medias por prueba t

Estanzuela 116	281.5	D.M.S. (0.05) = 58.3 k/há
Mezcla	253.4	
Kenland	157.5	
Legris	102.6	
Cotswold	84.0	
Essex	81.6	
Montgomery	53.9	

4.2. Cosecha año 1971/72

4.2.1. Primera Cosecha

Según revela el análisis de variancia, las diferencias existentes son altamente significativas. La comparación de medias indica que el cultivar 'Estanzuela 116' es significativamente superior a la mezcla y ésta al cultivar 'Kenland', les siguen los cultivares 'Legris', 'Essex', 'Cotswold' y 'Montgomery', los cuales no difieren significativamente entre sí.

Análisis de variancia para rendimiento de semilla de la primera cosecha del año 1971/72

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	779.4642	1.40 N.S.
Cultivares	6	42166.3690	75.67**
Error	18	557.2420	

C.V. = 18.80 %

Comparación de medias por prueba t

Estanzuela 116	297.5	D.M.S. (0.05) = 35.1 k/há
Mezcla	228.7	
Kenland	146.2	
Legrís	68.7	
Essex	58.7	
Cotswold	45.0	
Montgomery	33.7	

4.2.2. Segunda Cosecha

Las diferencias son altamente significativas, mostrando la comparación de medias que entre los cultivares 'Kenland', 'Estanzuela 116' y la mezcla, entre 'Legrís' y 'Cotswold', y entre 'Cotswold', 'Essex' y 'Montgomery', no hay diferencias significativas.

Análisis de variancia para rendimiento de semilla
de la segunda cosecha del año 1971/72

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	4251.9651	5.27**
Cultivares	6	29633.7390	36.74**
Error	18	806.6587	

C.V. = 25.59 %

Comparación de medias por prueba t

Kenland	225.7
Mezcla	191.2
Estanzuela 116	184.1
Legrís	77.3
Cotswold	38.0
Essex	33.2
Montgomery	27.3

$$D.M.S. (0.05) = 42.2 \text{ k/há}$$

4.2.3. Rendimiento Total

El rendimiento total resulta de la suma de la primera y segunda cosecha. Del mismo modo que para ambas cosechas, el análisis de variancia revela que las diferencias son altamente significativas. De la comparación de medias surge que las diferencias entre el cultivar 'Estanzuela 116' y la mezcla, y entre ésta y el cultivar 'Kenland', no son significativas; tampoco lo son entre los cultivares 'Legrís', 'Essex' y 'Cotswold', y entre 'Essex', 'Cotswold' y 'Montgomery'.

Análisis de variancia para rendimiento total de semilla del año 1971/72

F.V.	G.L.	C.M.	F.c.
Bloques	3	6179.2984	3.43
Cultivares	6	130327.7866	72.43**
Error	18	1799.2698	

C.V. = 17.93 %

Comparación de medias por prueba t

Estanzuela 116	481.6	]	D.M.S. (0.05) = 63.0 k/há
Mezcla	420.0		
Kenland	371.9		
Legris	146.0	]	
Essex	91.9		
Cotswold	83.0		
Montgomery	61.1		

5. CORRELACIONES ENTRE DIFERENTES CARACTERES

Entre las distintas observaciones realizadas se efectuaron las siguientes correlaciones, en base a los promedios de cada cultivar y al de la mezcla.

	Rendimiento total	
Número de cabezuelas/m ²	-0.7869 N.S.	(2)
Número de semillas/cabezuela	0.8424*	(1)
Peso de mil semillas	0.8633*	(1)
	Número de semillas/cabezuela	
Número de cabezuelas/m ²	0.4738 N.S.	(2)
Número de flores/cabezuela	0.9599**	(1)
Porcentaje de formación de semilla	0.9807**	(1)
Largo de corola	0.2135 N.S.	(1)
Número de polinizadores/m ²	-0.1648 N.S.	(3)
Peso de mil semillas	0.4795 N.S.	(1)
	Porcentaje de formación de semilla	
Número de flores/cabezuela	0.8874*	(1)
Largo de corola	0.1621 N.S.	(1)
Número de polinizadores/m ²	-0.0310 N.S.	(3)
(3)	-0.0664 N.S.	Largo de corola

(1) = Abarca los cultivares 'Estanzuela 116', 'Kenland', 'Montgomery',
'Cotswold', 'Essex' y 'Legris'.

(2) = Abarca los cultivares 'Kenland', 'Montgomery', 'Cotswold', 'Essex'
y 'Legris'.

(3) = Abarca los cultivares 'Estanzuela 116', 'Kenland', 'Cotswold',
'Essex' y 'Legris'.

N.S. = Diferencia no significativa.

* = Diferencia significativa al nivel 5 %.

** = Diferencia significativa al nivel 1 %.

V. DISCUSION Y CONCLUSIONES

1. NUMERO DE CABEZUELAS

La información disponible indica que no existen diferencias significativas entre los cultivares 'Cotswold', 'Montgomery', 'Legris', 'Essex' y 'Kenland', en número de cabezuelas por unidad de superficie. Sin embargo, como se precisó anteriormente, el número de cabezuelas no fue determinado directamente en el momento de la cosecha, sino que fue estimado a través del número de cabezuelas, frescas y secas, existentes en el 100 % de floración. Luego de este pico, dicho número disminuye debido a que algunas cabezuelas se rompen o caen al suelo, como puede observarse en la Figura 1. Pero la pendiente con que decrece la curva de floración luego de obtenido el punto más alto, no es igual para todos los cultivares, lo que hace que esta forma de estimar el número de cabezuelas sea de dudosa validez.

Parecería que los datos obtenidos no fueran lo suficientemente confiables como para afirmar que no existen diferencias en este carácter. Por otra parte, no se dispone de información del cultivar 'Estanzuela 116' y de la mezcla de los cultivares 'Estanzuela 116' y 'Kenland', los cuales son certificados actualmente por este Centro y son los más adaptados a las condiciones de nuestro país.

2. RENDIMIENTO POR CABEZUELA

Las observaciones realizadas revelan una significativa superioridad del cultivar 'Estanzuela 116' sobre los restantes cultivares, en número de semillas por cabezuela.

Este factor puede ser desglosado en número de flores por cabezuela y porcentaje de formación de semilla de las mismas. El análisis de los resultados de cada uno de dichos componentes muestra también diferencias significativas a favor del cultivar 'Estanzuela 116', no existiendo diferencias importantes entre los demás cultivares.

Se realizaron correlaciones entre cultivares, las cuales indican que número de semillas por cabezuela y número de flores por cabezuela, número de semillas por cabezuela y porcentaje de formación de semilla, y número de flores por cabezuela y porcentaje de formación de semilla, están correlacionados positivamente en forma significativa.

Paralelamente, en la información bibliográfica revisada se encontró que Hawkins (1965), trabajando con ocho cultivares, obtuvo una correlación de 0.8269** entre número de semillas por cabezuela y número de flores por cabezuela, en uno de los dos años estudiados.

Debe señalarse el hecho de que el mayor número de semillas por cabezuela del cultivar 'Estanzuela 116' estaría dado por un mayor número de flores por cabezuela y por un mayor porcentaje de formación de semilla. Estos dos componentes guardan relación directa entre sí, tal como se

aprecia al hacer la correlación correspondiente.

No se encontró correlación entre número de cabezuelas por metro cuadrado y número de semillas por cabezuela, aunque la validez de este resultado está sujeta a las mismas objeciones que el número de cabezuelas por metro cuadrado. Rapero, Hawkins (1965) observó una correlación de -0.9575^{**} entre número de cabezuelas en el cultivo y número de semillas por cabezuela, para ocho cultivares de trébol rojo, lo que significa que aquellos cultivares con mayor número de cabezuelas presentan menor número de semillas en las mismas.

También fueron estudiados algunos factores de posible incidencia en la formación de semilla o cuajado, como el largo del tubo de la corola y el número de polinizadores visitantes.

Con respecto al largo del tubo de la corola, se observaron diferencias significativas entre ciertos cultivares, presentando el 'Kenland' el tubo de corola más largo (10.03 mm) y el cultivar 'Essex' el más corto (8.55 mm), estando los demás comprendidos dentro de ese rango.

En cuanto a las visitas de polinizadores, en este caso de abejas, las diferencias no son significativas. Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que los resultados parcelarios son promedio de pocos días de recuento (cuatro o cinco, según los cultivares), a lo que debe agregarse la escasa precisión del método de evaluación de visitas utilizado. Por lo tanto, los valores obtenidos son poco confiables como indicadores de diferente atracción hacia las abejas, por parte de los distintos cultiva

res y de la mezcla.

Los resultados obtenidos para ambos factores interesan primerariamente en cuanto a sus relaciones con el cuajado. En este sentido, las correlaciones llevadas a cabo entre cultivares muestran que ni el largo del tubo de la corola, ni el número de abejas visitantes, están correlacionados con el número de semillas por cabezuela y el porcentaje de formación de semilla. Tampoco dichos factores están correlacionados entre sí.

La bibliografía consultada induce a suponer que las abejas son importantes en la formación de semilla. La información obtenida en este trabajo no permite reafirmar tal suposición, aunque debe tenerse presente lo dicho anteriormente, con respecto a la forma en que fueron evaluados los polinizadores, por lo que tampoco permite afirmar lo contrario. Por la misma razón, no puede tenerse en cuenta la correlación entre polinizadores y largo del tubo de la corola.

Estos resultados tampoco aportan luz sobre la controversia que existe en cuanto al efecto del largo del tubo de la corola sobre las visitas de polinizadores y en consecuencia sobre el cuajado.

3. PESO DE MIL SEMILLAS

Si bien las diferencias existentes entre ciertos cultivares son significativas, el peso de mil semillas no estuvo relacionado, entre cultivares, al número de semillas por cabezuela, según se desprende de la co-

rrelación obtenida, la cual no fue significativa. Por otro lado, Hawkins (1965), en un trabajo de dos años, obtuvo sendas correlaciones de -0.2583 N.S. y 0.8384^{**} , entre dichos caracteres, para ocho cultiva-
res.

4. RENDIMIENTO DE SEMILLA POR HECTAREA

4.1. Cosecha año 1970/71

Los resultados obtenidos revelan que los mayores rendimientos co-
rresponden al cultivar 'Estanzuela 116' y a la mezcla de éste y el culti-
var 'Kenland', superando significativamente a los restantes cultivares.
'Estanzuela 116' es un cultivar de origen local, mientras que el
'Kenland', usado en este ensayo, es de origen argentino, cultivándose
desde hace varios años en nuestro país. Ambos han demostrado estar adap-
tados a nuestro ambiente, desde el punto de vista de la producción de fo-
rraje (Gardner et al, 1966).

El cultivar 'Kenland' y el cultivar 'Legris' presentan un rendi-
miento intermedio; este último es de origen desconocido y de reciente in-
troducción.

Finalmente, los menores rendimientos en semilla fueron obtenidos
en los cultivares 'Cotswold', 'Essex' y 'Montgomery', respectivamente,
los cuales son todos originarios de Inglaterra y también de reciente in-
troducción al país.

Las correlaciones entre cultivares llevadas a cabo, se efectuaron con el objetivo de analizar la relación entre el rendimiento de semilla y sus componentes primarios más importantes, considerándose como tales al número de cabezuelas por metro cuadrado, número de semillas por cabezuela y peso de mil semillas.

Si bien el coeficiente de correlación entre rendimiento y número de cabezuelas por metro cuadrado fue bastante alto, no fue significativo, debiéndose tener en cuenta que dicha correlación abarca sólo cinco cultivares. Se insinúa, sin embargo, una tendencia que coincide con las observaciones de Hawkins (1965), quien con ocho cultivares encontró una correlación de -0.6671^* , lo que significa que los cultivares que rinden más presentan menor número de cabezuelas por unidad de superficie.

En cambio, el número de semillas por cabezuela y el peso de mil semillas estuvieron correlacionados con el rendimiento en forma positiva y significativa.

Hawkins (1965) también encontró sendos coeficientes de correlación de 0.7016^* y 0.7443^* entre rendimiento y número de semillas por cabezuela y entre rendimiento y peso de mil semillas, respectivamente.

En consecuencia, el mayor rendimiento del cultivar 'Estanzuela 116' sería parcialmente explicado por un mayor número de semillas por cabezuela y por un mayor peso de mil semillas.

En cuanto a la presencia de genes S de auto-esterilidad dentro

de un mismo cultivar y su posible incidencia sobre los rendimientos, los datos suministrados no permiten extraer conclusiones. El rendimiento de la mezcla ocupó una posición intermedia entre el cultivar 'Estanzuela 116' y el cultivar 'Kenland'.

Los resultados aportados corresponden a un solo año de trabajo, en el cual el cultivo, en general, fue afectado por las precipitaciones ocurridas, principalmente en el período de floración. Aparece clara, entonces, la necesidad de proseguir estos estudios para arribar a conclusiones más precisas. En este sentido y en base a la experiencia obtenida en este trabajo, se sugiere en ensayos futuros:

- a) Aumentar la precisión con que son evaluadas las visitas de los insectos polinizadores.
- b) Tratar de determinar directamente, en el momento de la cosecha, el número de cabezuelas por unidad de superficie.

4.2. Cosecha año 1971/72

Los rendimientos de la primera y segunda cosecha, así como la suma de ambas, confirman la superioridad de los cultivares 'Estanzuela 116' y 'Kenland', adaptados a nuestras condiciones, y la de la mezcla de ambos, en la misma forma observada el año anterior.

VI. RESUMEN

Se estudian algunos aspectos que afectan la producción de semilla en seis cultivares de trébol rojo y la mezcla de dos de ellos.

El cultivar local 'Estanzuela 116' y la mezcla de éste y el cultivar 'Kenland' superaron en forma remarcable los rendimientos en semilla de los restantes cultivares. Los cultivares 'Kenland' y 'Legris' presentaron un rendimiento intermedio, siendo el primero de origen argentino y el segundo de origen desconocido. Los menores rendimientos fueron observados en los cultivares 'Cotswold', 'Essex' y 'Montgomery', siendo todos de origen inglés. Esto es confirmado por los resultados del año 1971/72.

El mayor rendimiento del cultivar local 'Estanzuela 116' es parcialmente explicado por un mayor número de semillas por cabezuela y por un mayor peso de mil semillas.

La información respecto al número de cabezuelas por unidad de superficie no es lo suficientemente confiable, ya que no fue determinada en el momento de la cosecha, sino que fue estimada a través del número de inflorescencias en el 100 % de floración.

A su vez, el mayor número de semillas por cabezuela estaría dado por un mayor número de flores por cabezuela y un mayor porcentaje de cuajado.

En cuanto a la posible incidencia sobre el cuajado, de factores tales como las visitas de insectos polinizadores y el largo del tubo de la corola, los resultados obtenidos no permiten extraer conclusiones.

En investigaciones futuras se sugiere aumentar la precisión con que son evaluadas las visitas de los insectos polinizadores y tratar de determinar directamente, en el momento de la cosecha, el número de cabezuelas por unidad de superficie.

VII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- AKERBERG, E. 1941. The fertilization of red clover. (En sueco).
Svensk. Frötidn. 10:143-146. (Original no consultado, compendiado
en Herb. Abstr. 13(1):18-19. 1943).
- ANDERSON, E.J. y WOOD, M. 1944. Honey bees and red clover pollination.
Am. Bee J. 84:156-157. (Original no consultado, compendiado en
Biol. Abstr. 18(7):12725. 1944).
- ARMSTRONG, J.M. y JAMIESON, C.A. 1940. Cross-pollination of red clover
by honey-bees. Scient. Agric. 20:574-585.
- BATEMAN, A.J. 1947. Number of S-alleles in a population. Nature 160:
337.
- BIRD, J.N. 1944. Seed setting in red clover. J. Am. Soc. Agron.
36(4):346-357.
- BOND, D.A. y FYFE, J.L. 1968. Corolla tube length and nectar height of
F₁ red clover plants (*Trifolium pratense*) and their seed yield
following honey-bee pollination. J. Agric. Sci. 70(1):5-10.
- BRAUN, E. et al. 1953. Studies in red clover seed production. II. Can.
J. agric. Sci. 33(5):437-447.
- BUTLER, C.G. et al. 1956. Some problems of red clover pollination.
Ann. appl. Biol. 44(4):664-669.
- CARAMBULA, M. 1969. Trébol rojo. Repartido del Curso de Forrajerías.
Paysandú, Uruguay, Est. Exp. "Dr. Mario Cassinoni". 5 p. (Mimeo
grafiado).
- DAMISCH, W. 1963. Effect of biological factors on seed setting in red
clover. (En alemán). Biol. Zbl. 82(3):303-341. (Original no con-
sultado, compendiado en Herb. Abstr. 34(1):37. 1964).
- GARDNER, A.L.; ALBURQUERQUE, R.E. y CENTENO, G.H. 1966. Comportamiento
de cinco variedades de *Trifolium repens* L. y de *Trifolium pratense*
L. bajo distintas frecuencias de pastoreo. La Estanzuela, Uruguay,
Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger". Boletín Téc-
nico No. 3. 28 p.
- HAWKINS, R.P. 1956. A preliminary survey of red clover seed
production. Ann. appl. Biol. 44(4):657-664.

- HAWKINS, R.P. 1959. Problems of red clover seed production. Natl. Inst. Agr. Botany J. 8:525-529. (Original no consultado, compendiado en Biol. Abstr. 36(8):25253. 1961).
- 1961. Observations on the pollination of red clover by bees. I. The yield of seed in relation to the numbers and kinds of pollinators. Ann. appl. Biol. 49(1):55-65.
- 1965. Factors affecting the yield of seed produced by different varieties of red clover. J. agric. Sci. 65(2):245-253.
- 1969. Length of tongue in a honey bee in relation to the pollination of red clover. J. agric. Sci. 73(3):489-493.
- HÖGBORG, E. 1966. Bumble bees and honey-bees as pollinators in diploid red clover. Inventory and trials in southeastern Sweden 1959-64. (En sueco). Lantbr Högsk. Meddn (A). 47-52. (Original no consultado, compendiado en Herb. Abstr. 36(4):251-252. 1966).
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 1959. International Rules of Seed Testing. Proc. int. Seed Test. Ass. 24(3).
- KISING, W. 1949. Seed production of red clover with particular reference to seed setting. (En alemán). J. Landw. 91:65-119. (Original no consultado, compendiado en Herb. Abstr. 20(3):145. 1950).
- LECLERC, E.L.; LEONARD, W.H. y CLARK, A.O. 1962. Field Plot Technique. 2nd. ed. Minneapolis, Burgess. pp. 339-340.
- LEWIS, T. y TAYLOR, L.R. 1967. Introduction to Experimental Ecology. New York. Academic Press. pp. 192-196.
- MAC VICAR, R.M. et al. 1952. Studies in red clover seed production. Scient. Agric. 32(2):67-80.
- PALMER-JONES, T.; FORSTER, I.W. y CLINCH, P.G. 1966. Observations on the pollination of Montgomery red clover (Trifolium pratense L.). N.Z. Jl. agric. Res. 9(3):738-747.
- PETERSON, A.G. et al. 1960. Pollination of red clover in Minnesota. J. econ. Ent. 53(4):546-550. (Original con consultado, compendiado en Herb. Abstr. 31(1):41. 1961).
- PICARD, J. 1967. Quelques aspects de la production de semences de trèfle violet. Fourrages 29:109-120.
- STARLING, T.M.; WILSIE, C.P. y GILBERT, N.W. 1950. Corolla tube length studies in Red Clover. Agron. J. 42(1):1-8.

VAN LAERE, O. y MARTENS, N. 1962. The importance of honey bees for seed production in red clover. (En francés). Rev. Agric., Brux. 15(11-12):1383-95. (Original no consultado, compendiado en Herb. Abstr. 33(3):177. 1963).

WILSIE, C.P. y GILBERT, N.W. 1940. Preliminary results on seed setting in red clover strains. J. Am. Soc. Agron. 32(3):231-234.

----- 1949. Producing alfalfa and red clover seed in Iowa. Agron. J. 41(12):545-550.