UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE SELECCIÓN INDIRECTOS EN LA PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE TRÉBOL ROJO
(Trifolium Pratense L)

por

María José CUITIÑO de VEGA

TESIS presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Ingeniero Agrónomo (Orientación Agrícola-lechero).

MONTEVIDEO
URUGUAY
1999

Tesis aprobada por:

Director: _____

Ing. Agr. (M. Phil.) Mónica Rebuffo

_____

Ing. Agr. (Ph. D.) Tabaré Abadie

_____

Ing. Agr. (M. Sc.) Juan Carlos Millot

_____

Ing. Agr. (M. Sc.) Francisco A. Formoso

Fecha: _____

Autor: _____

Bach. María José Cuitiño de Vega

AGRADECIMIENTOS.

Se agradece la dedicación a las personas que de una u otra manera colaboraron en este ensayo.

A la Ing. Agr. Mónica Rebuffo por su incondicional apoyo, enseñanza y colaboración en la elaboración de este trabajo.

Al Ing. Agr. Tabaré Abadie por el permanente asesoramiento, orientación y amplia disposición para guiarme en diversas tareas.

A los Ing. Agr. Sergio Ceretta y Marcos Malosetti por su asesoramiento en el análisis estadístico.

A todo el personal de Forrajeras de INIA La Estanzuela, especialmente a la Sra. Alicia González por su colaboración en el trabajo tanto de campo como de laboratorio.

A Graciela Vila y Alejandra Díaz por su entera disposición y colaboración en la búsqueda bibliográfica.

A la Ing. Agr. Martha Díaz por facilitarme el analizador de imágenes y el programa "IMAGEX", los cuales permitieron obtener mayor precisión de las mediciones.

A la Dirección del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria y a la Estación Experimental La Estanzuela, por permitir y brindarme los materiales necesarios para la realización de esta tesis.

Finalmente a todas aquellas personas que me apoyaron e incentivaron en la realización de este ensayo.

TABLA DE CONTENIDO.

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN II
AGRADECIMIENTOS..... III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES..... IV- V

1. INTRODUCCIÓN..... 1

2. REVISIÓN BIBIOGRÁFICA..... 3

2.1. RENDIMIENTO DE SEMILLA..... 3
2.2. COMPONENTES DE RENDIMIENTO 4
2.2.1. Número de inflorescencias por unidad de superficie 4
2.2.2. Número de flores por inflorescencias..... 5
2.2.3. Porcentaje de cuajado (fertilidad) 6
2.2.4. Número de semillas por inflorescencia..... 6
2.2.5. Peso de 1000 semillas..... 7
2.3. PRINCIPALES FACTORES QUE INCIDEN EN EL RENDIMIENTO 8
2.3.1. Tamaño de la corola 8
2.3.1.1. Longitud de la corola..... 8
2.3.1.2. Diámetro de corola 10
2.3.2. Insectos polinizadores..... 10
2.3.3. Condiciones ambientales 12
2.4. CORRELACIONES ENTRE LAS DIFERENTES VARIABLES 14

3. MATERIALES Y MÉTODOS 17

3.1. DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO 17
3.2. DETERMINACIONES REALIZADAS 17
3.3. ESTRUCTURA GENÉTICA DE LOS TRATAMIENTOS 18
3.4. CARACTERIZACIÓN AGROCLIMÁTICA 19
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO 20

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 21

4.1. COMPARACIÓN DE MEDIAS 21
4.1.1. Precocidad de floración..... 21
4.1.2. Componentes de rendimiento..... 22
4.1.3. Características florales..... 24
4.2. CORRELACIONES 25
4.3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES 30

5. CONCLUSIONES..... 33

6. RESUMEN 35

7. SUMMARY 36

8. BIBLIOGRAFÍA 37

9. ANEXOS 42

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.

Cuadro Nº Página

1. Heliofanía relativa (%), precipitaciones (mm) y temperaturas medias (º C) ocurridas durante el período de floración y semillazón (diciembre 1997-febrero 1998) en comparación con el promedio de la serie histórica (1965-1998) 19

2. Precocidad de floración, rendimiento por planta (g), rendimiento por inflorescencia (mg), y número de flores por inflorescencia promedios para las distintas poblaciones y testigos 21

3. Peso por flor (mg), longitud de la flor y la corola (mm), y diámetro de corola (mm), promedios para las distintas poblaciones y testigos 24

4. Correlaciones fenotípicas entre componentes de rendimiento y características florales para las diferentes progenies y testigos 25

5. Asociación entre variables e incidencia de los componentes de la varianza total 32

Figura Nº

1. Rango de dispersión de la precocidad de floración para las distintas poblaciones y testigos..... 22

2. Relación entre rendimiento por planta y rendimiento por inflorescencia para las distintas poblaciones y testigos 26

3. Relación entre precocidad de floración y rendimiento por planta según el origen de las poblaciones y testigos 26

4. Relación entre precocidad de floración y rendimiento por inflorescencia para las distintas poblaciones y testigos 27

5. Relación entre precocidad de floración y número de flores por inflorescencia para las diferentes poblaciones 29

6. Relación entre longitud de la flor y longitud de la corola para las diferentes poblaciones y testigos 29

7. Relación entre longitud de la flor y su peso para las diferentes progenies y testigos 30

8. Análisis de componentes principales y distribución de las poblaciones . 31

A mis padres y hermanos

1. INTRODUCCION.

La producción forrajera en Uruguay es de gran relevancia, ya que constituye la base alimenticia de la producción agropecuaria. El componente esencial de las pasturas está constituido por las leguminosas, siendo el trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) una forrajera de ciclo invernal, la cual ha demostrado ser muy productiva, estableciéndose rápidamente y ofreciendo muy buenos rendimientos desde el año de siembra. Esto justifica su inclusión en sistemas intensivos de producción, principalmente en los agrícolas-lecheros, realizándose su implantación en forma asociada (García *et al*, 1991). Esta especie es característica de regiones húmedas con temperaturas moderadas a frescas, y adaptada a un amplio rango de acidez de suelo, encontrándose en el presente difundida en la mayoría de las regiones templadas del mundo (Fergus y Hollowell, 1960).

La escasa persistencia del trébol rojo es un problema universal que incide fuertemente en la producción de forraje; comportándose en Uruguay como una especie bianual. Entre las posibles causas de la baja persistencia se destacan las enfermedades de raíz y corona (Fergus y Hollowell, 1960). Por lo tanto, debido a que se trata de una especie que presenta alta incidencia de enfermedades, la búsqueda de nuevas variedades debería dirigirse hacia el factor que minimice sus efectos; determinando una mayor persistencia y por ende un período de amortización más prolongado.

Los rendimientos promedios de semilla limpia de especies forrajeras que se obtienen comercialmente son bajos en relación al potencial de las especies (García *et al*, 1991). A su vez el uso del cultivo acompañante está relacionado con menores rendimientos de semilla. A pesar de ello, se trata de una especie con muy buenas posibilidades de producción de semilla, dado que se dispone de variedades de muy buen potencial productivo que ofrecen perspectivas muy interesantes para formar parte de rotaciones, con todas las ventajas que supone la inclusión de una leguminosa en dichos sistemas de producción (Carámbula, 1981).

Dadas las dificultades para lograr altos rendimientos de semilla, identificar los principales factores que inciden en dicha producción es de importancia. Es así que Stoddart (1959) y Vavilov *et al* (1977), identificaron como responsables de los bajos rendimientos la insuficiencia de agentes polinizadores, y las condiciones ambientales desfavorables durante períodos críticos, mientras Hawkins (1965) señaló además de los componentes de rendimiento, las pérdidas en la cosecha. En Uruguay, el manejo previo al cierre, las fechas de cierre tardías y el número de colmenas, fueron identificados como los factores determinantes de los bajos rendimientos de semilla obtenidos en trébol rojo (García *et al*, 1991). De acuerdo a una encuesta realizada a productores semilleristas, además de los factores antes mencionados, tanto los factores climáticos como el enmalezamiento cobran importancia.

El programa de mejoramiento genético de trébol rojo llevado a cabo en INIA, tiene como principal objetivo la obtención de materiales de mayor persistencia que Estanzuela 116, con buen crecimiento invernal y producción de semilla similar a éste. A pesar de su potencial importancia, no se ha cuantificado la relación entre parámetros directos e indirectos de producción de semilla dentro del programa de mejoramiento genético. Dentro de este contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la relación entre algunos parámetros de selección indirectos asociados con la producción de semilla de las progenies de trébol rojo, potenciando de esta manera su selección genética en función de los mismos. Se consideraron parámetros de selección indirectos a los componentes de rendimiento y a las características florales tales como rendimiento de semilla por planta y por inflorescencia, largo de flor y corola, diámetro de corola, número de flores por inflorescencia y peso de la flor.

2. REVISIÓN.

2.1. RENDIMIENTO DE SEMILLA.

La semilla es el insumo más importante de una pastura, ya que no sólo permite su instalación sino que es el vehículo del mejoramiento genético. La producción de semillas de especies forrajeras en Uruguay ha ido evolucionando; primero autoabasteciendo el mercado interno, luego exportando excedentes, y actualmente procurando insertarse en el mundo como productores semilleristas.

Los resultados obtenidos en diferentes partes del mundo confirman el potencial de producción de semilla de la especie. Rincker *et al* (1977) concluyeron que más del 90 % de la producción de semilla de trébol rojo de U.S.A se concentra en dos regiones del país, oeste y centro húmedas, ocupando la producción de semilla en esta última un papel secundario. Los rendimientos de semilla promedian entre 335 y 927 kg/ha anualmente en las regiones áridas irrigadas de los Estados de la Costa Pacífica cuando condiciones climáticas favorables son combinadas con las mejores prácticas de manejo (Rincker *et al*, 1977-1985; Fergus y Hollowell, 1960). En las zonas centro-húmedas rendimientos de semilla de tan solo 52,7 kg/ha fueron obtenidos durante un período de diez años (1937-1946 inclusive); alcanzando raramente los rendimientos promedios 135 kg/ha (Wilsie, 1949; Rincker *et al*, 1977). Condiciones de días fríos y húmedos ayudan a explicar estos bajos rendimientos promedios de trébol rojo. En Nueva Zelandia, Gurr (1974) cita rendimientos promedios de 6 años y 2 localidades de 216 kg/ha, siendo bajos en relación a los países del hemisferio norte, especialmente en latitudes altas. La explicación de ello es que en estas latitudes durante el período de floración existe casi continuamente luz del día, por lo cual los polinizadores pueden y trabajan durante un período muy prolongado, siendo la eficiencia de polinización máxima. En la Isla Sur, particularmente en la región de Mackenzie (Nueva Zelandia), dada su posición geográfica las condiciones ambientales se aproximan a las citadas con anterioridad, registrándose rendimientos de hasta 1300 kg/ha.

En Uruguay los semilleristas usualmente elevan la rentabilidad de su sistema de producción mediante una utilización mixta semillero-pastura (Carámbula, 1981), obteniéndose comercialmente bajo éste sistema de utilización rendimientos promedios de semilla limpia del entorno de 118 kg/ha (García *et al*, 1991). Si bien estos rendimientos son bajos en relación a los rendimientos logrados internacionalmente, el 23 % de los productores semilleristas normalmente obtienen rendimientos 60 % superiores al promedio. Esto sugiere que mediante la tecnología disponible es factible aumentar los rendimientos y aproximarnos al potencial de la especie.

Dentro de las distintas variedades de trébol rojo la que ocupa mayor área de siembra en nuestro país es Estanzuela 116. Dicha variedad pertenece al grupo de los materiales de floración más temprana, es de porte semierecto, sin latencia invernal y de comportamiento bianual (García y Rebuffo, 1991). Buscando materiales de mayor persistencia han sido evaluados materiales de diversas procedencias, destacándose las

variedades Redman, Kenland y Arlington todas de origen americano. Evaluaciones realizadas en La Estanzuela permiten caracterizar dichas variedades de floración intermedia, rendimientos de forraje similares a los de Estanzuela 116 y un hábito más postrado. Mandl (1972) evaluando diversos materiales constató diferencias estacionales entre éstos en rendimientos de semilla, siendo los rendimientos para la variedad Kenland 51 % inferiores respecto a Estanzuela 116 para la primera cosecha y 22 % superiores respecto a éste para la segunda cosecha.

2.2. COMPONENTES DE RENDIMIENTO.

La brecha existente tanto entre la producción de semilla nacional y la internacional como entre la obtenida a nivel experimental y el promedio nacional, indica la presencia de factores limitantes en nuestro país. Para realizar un análisis detallado es necesario tener en cuenta que el rendimiento de semilla de las especies forrajeras puede ser considerado como el producto de la integración de los siguientes componentes:

2.2.1. Número de inflorescencias por unidad de superficie.
2.2.2. Número de flores por inflorescencia (tamaño de la inflorescencia).
2.2.3. Porcentaje de cuajado (fertilidad).
2.2.4. Número de semillas por inflorescencia.
2.2.5. Peso de mil semillas.

El peso relativo de los componentes morfológicos del rendimiento de semilla se encuentra determinado tanto por la presión ambiental como por la variedad, debiéndose favorecer mediante variables de manejo, el componente con mayor incidencia en la producción de semillas por unidad de superficie, dependiendo de la especie en cuestión y de las posibilidades de controlarlos (Carámbula, 1981).

2.2.1. Número de inflorescencias por unidad de superficie.

Los rangos de rendimientos de semillas se encuentran determinados en primera instancia por la población de inflorescencias de la cual partamos, siendo mayor el número de inflorescencias/m^2 para el caso de materiales tetraploides. El máximo registrado corresponde al Estado de Washington (U.S.A), con una población superior a 1323 inflorescencias/m^2 (Rincker *et al*, 1985), mientras que bajo condiciones de días muy húmedos y fríos el rango determinado osciló entre 398-611 inflorescencias/m^2 (Wilsie, 1949; Clifford y Scott, 1989). Sin embargo poblaciones de hasta 79 inflorescencias/m^2 fueron observadas por Christie y Choo (1990).

Al igual que lo publicado en la bibliografía internacional, en Uruguay poblaciones menores a 100 inflorescencias/m^2, pueden determinar rangos de rendimientos de semilla que oscilan entre 100 a 300 kg/ha y poblaciones del orden de 400 inflorescencias/m^2 rangos de mayor amplitud que varían de 100 a 500 kg/ha (Formoso, 1996). Dada la gran variabilidad de estos rendimientos es dable suponer

que existen otros factores de importancia determinantes de la producción de semilla. A su vez Mandl (1972) determinó una población de inflorescencias superior al rango citado por Formoso (1996), siendo éste de 783 inflorescencias/m^2. Cabe destacar que el número de inflorescencias por unidad de superficie determinado bajo nuestras condiciones es muy inferior al registrado a nivel internacional.

Existen diversos factores de importancia que inciden en el número de inflorescencias por unidad de superficie, entre los cuales se incluyen por ejemplo, medidas de manejo y tratamientos hormonales. En general las defoliaciones tardías previas al cierre determinan reducciones en la población de inflorescencias, mientras que los tratamientos de Alar 85 incrementan el número de éstas (Puri y Laidlaw, 1983). Otra variable de manejo de importancia a considerar para alcanzar una población de inflorescencias satisfactoria es la densidad de siembra; la cual debe ser manejada de tal forma de lograr 600 a 800 inflorescencias/m^2, para lo cual se recomienda una población de 150 a 200 plantas/m^2 (Guy y Gilliand, 1988). A su vez trabajos realizados en Francia por Fretault y Pouvreau, (1984), concluyeron que para expresar el potencial logrado con el número de inflorescencias hay que considerar que otros factores no sean limitantes.

2.2.2. Número de flores por inflorescencia (tamaño).

El tamaño de la inflorescencia, expresado como el número de flores por inflorescencia es el segundo componente de rendimiento de importancia, pues determina el número potencial de semillas que es posible alcanzar. Al igual que en la producción de semilla por inflorescencia existen disimilitudes entre los rangos reportados por los autores. Las inflorescencias del trébol rojo poseen promedialmente 125 flores (Taylor y Smith, 1979). Williams (1930) citado por Carámbula (1981), determinó que el tamaño de la inflorescencia oscila entre 55 y 275 flores con un promedio de 140 flores; variando el número de acuerdo con la posición de la inflorescencia en la planta. Condiciones de días muy húmedos y fríos determinaron un rango menor, variando éste desde 95 a 140 flores por inflorescencia (Wilsie, 1949; Clifford y Scott, 1989; Hawkins, 1965).

El tamaño de la inflorescencia se encuentra sujeto tanto a variaciones anuales como estacionales, así como a diferencias varietales. A modo de ejemplo, estudios realizados por Hawkins (1965) determinaron una interacción entre año y variedad significativa, mientras que Pammel *et al* (1911) citado por Bird (1944), observaron mayor número de flores por inflorescencia en la segunda cosecha respecto a la primera. A su vez efectos varietales fueron determinados por Christie y Choo (1990), oscilando el rango entre 66 y 107 flores por inflorescencia, mientras que un rango menor y más acotado, que oscila entre 70 y 98 flores por inflorescencia fue constatado por Mandl (1972), correspondiendo éste último a la variedad Estanzuela 116 y los valores más bajos a las variedades introducidas.

2.2.3. Porcentaje de cuajado (Fertilidad).

El rendimiento de semilla está determinado por el número de inflorescencias por unidad de superficie y del porcentaje de cuajado. Este último varía según la procedencia del grano de polen, obteniéndose los mayores porcentajes cuando el polen empleado proviene de otra inflorescencia de otra planta (Westgate *et al*, 1915).

La información internacional cita que el porcentaje de cuajado (fertilidad) en variedades de trébol rojo tetraploides es potencialmente menor respecto a los diploides, debido a que las irregularidades meióticas ocasionan mayor cantidad de abortos (Julen, 1956; Mackiewicz, 1965; citados por Clifford y Scott, 1989). Sin embargo trabajos de mejoramiento en tetraploides, muestran que los porcentajes de cuajado luego de transcurridos 2 ciclos de selección se incrementaron de 17,6 a 53,5 % (Mel'nikova, 1982).

Si bien la bibliografía es escasa, en Canadá el rango determinado para los materiales diploides osciló entre 20 y 35 % cuajado (Christie y Choo, 1990), mientras que a nivel nacional un rango mayor y más amplio comprendido entre 37,70 y 66,15 % de cuajado fue determinado para seis variedades, correspondiendo este último valor a la variedad Estanzuela 116 (Mandl, 1972).

2.2.4. Número de semillas por inflorescencia.

El número de semillas por inflorescencia cobra real importancia cuando el número de inflorescencias por unidad de superficie y el tamaño de la misma no son limitantes. Cabe destacar que para que este parámetro sea máximo, es necesaria una polinización eficiente.

Hollowell (1929) determinó que un promedio de 25 semillas por inflorescencia se consideraba suficiente para asegurar un rendimiento aceptable bajo condiciones de chacra. Por su parte Westgate *et al* (1915) para dos años (1911-1912) bajo condiciones normales de chacra en Iowa, obtuvieron aproximadamente 40 semillas por inflorescencia; mientras que rendimientos 30 % superiores a éste fueron registrados por Wexelsen (1935; citado por Bird, 1944). Cabe destacar que bajo condiciones de días fríos y húmedos, poco propicias para la producción de semillas, se obtuvieron rendimientos de hasta 65 semillas por inflorescencia (Wilsie, 1949), siendo los máximos rendimientos registrados del orden de 108 semillas por inflorescencia (Voronchikhina y Chetvertnykh, 1985). A su vez, Christie y Choo (1990) determinaron la existencia de efectos tanto varietales como estacionales, mientras que los efectos de los tratamientos químicos no fueron consistentes.

En Uruguay, Formoso (1996) obtuvo rendimientos que alcanzaron 358 kg/ha cuando el número de semillas por inflorescencia fue igual a 40, y 600 kg/ha cuando el mismo ascendió a 68 semillas por inflorescencia, mientras que Mandl (1972) determinó un rango más bajo que oscila de 28 a 65 semillas por inflorescencia. A su

vez bajo condiciones más húmedas y frescas que el promedio histórico, el rango determinado para un conjunto de progenies de trébol rojo osciló entre 4 y 35 semillas por inflorescencia (Luzardo y Parodi, 1998), siendo estos rendimientos muy inferiores a los alcanzados internacionalmente bajo condiciones similares.

Por otra parte, estudios comparativos realizados en Polonia por Tomaszewiski (1988-1989), concluyeron que los materiales diploides presentan rendimientos de semilla 30 a 60 % superiores respecto a los tetraploides; mientras que Fretault y Pouvreau, (1984) bajo condiciones de chacra, obtuvieron sólo un 20 % de superioridad en los rendimientos para los primeros materiales cuando la población de polinizadores no era limitante.

Un segundo factor a considerar que influye en el rendimiento, es el número de semillas por vaina. Esto fue determinado por Novoselova y Kositsyna-Pinegina (1982) quienes obtuvieron mediante varios ciclos de selección, un incremento en la producción de semilla por inflorescencia para materiales tetraploides de 73 a 91 %, de la cual un promedio de 16 % corresponde a las plantas que poseen 2 semillas por vaina.

2.2.5. Peso de 1000 semillas.

El último componente que incide en el rendimiento es el peso de 1000 semillas. Sin embargo, el mismo es de gran importancia si consideramos el nivel de ploidía de los materiales, ya que es quien establece las diferencias en rendimiento.

Las semillas de los materiales tetraploides son más pesadas que la de los diploides, oscilando el rango de peso de 1000 semillas para materiales tetraploides de 2,67 a 2,77 g (Sevecka, 1987 citado por Taylor y Quesenberry, 1996); mientras que Quesenberry *et al* (1991) en Washington (USA) obtuvieron valores inferiores, siendo el peso promedio igual a 2,37 g. Si bien éstos resultados benefician la emergencia en tetraploides respecto de los diploides, es meritorio destacar la necesidad de utilización de una densidad de siembra mayor.

Resultados obtenidos para los materiales diploides muestran un rango más amplio comprendido entre los valores 1,5 y 2,7 g (Christie y Choo, 1990; Artemenko, 1987; Taylor y Quesenberry, 1996). Es de destacar que diferencias tanto varietales como estacionales fueron observadas por Christie y Choo (1990). A modo de ejemplo, los valores más bajos fueron registrados bajo condiciones muy húmedas, obteniéndose pesos de hasta 1,48 g (Hawkins, 1965). En Uruguay, Mandl (1972) obtuvo un rango más acotado para dichos materiales que oscila entre 1,74 y 1, 98 g, el cual se asemeja al citado por Artemenko (1987).

2.3. PRINCIPALES FACTORES QUE INCIDEN EN EL RENDIMIENTO.

El porcentaje de cuajado es un indicador del potencial de rendimiento del cultivo. Tanto la longitud como el diámetro de la corola juegan un papel fundamental en tal fin, encontrándose el número y tipo de insectos polinizadores en función del tamaño de la flor. Indicadores del tamaño de la corola como ser la longitud y diámetro de la misma, determinan la accesibilidad a los nectarios por parte de los polinizadores. Por otra parte las condiciones climáticas tales como precipitaciones y temperatura, si bien son importantes pues inciden no sólo en las características florales sino también en la actividad de dichos insectos, son de carácter secundario.

2.4.1. Tamaño de la corola

2.4.1.1. Longitud de la corola.

La longitud del tubo de la corola es considerado de importancia en la polinización del trébol rojo, determinando por ende el porcentaje de semilla formada por inflorescencia. Su tamaño también determina cuando las abejas (Apis mellífera) pueden alcanzar el néctar dentro de la corola, y en caso contrario que clase de abejorros (*Bombus spp.*) es necesaria para polinizar los diferentes cultivares de trébol rojo (Hawkins, 1965).

Longitudes de corola muy extensas determinan que la polinización se restrinja únicamente a las especies de *Bombus* de lengua larga. Normalmente, la longitud de la corola es mayor en condiciones de suficiente humedad que bajo condiciones de sequía, en las zonas septentrionales que en las meridionales, y en los materiales tetraploides que en los diploides (Carámbula, 1981; Taylor y Quesenberry, 1996). Es así que dicha restricción se acentúa aún más en el caso de los poliploides.

Al reunir la información existente desde la década del `30 hasta la fecha, se observa un amplio espectro de mediciones, tanto entre como dentro de variedades. A nivel varietal, en el año 1930 Williams (citado por Carámbula, 1981), determinó un rango entre 7,5 mm y 12,4 mm de longitud, mientras que trabajos posteriores desarrollados por Christie y Choo (1990) determinaron diferencias a nivel varietal, siendo el rango más acotado. Por otra parte la evaluación varietal realizada por Mandl (1972) en la Estanzuela determinó longitudes entre 8,55 y 10,03 mm, siendo igual a 9,61 mm para la variedad nacional Estanzuela 116 y 9,22 mm para el cultivar Cotswold. Cabe resaltar que dentro de variedades, a nivel de plantas individuales, es dable esperar un rango más amplio, siendo ejemplo de ello la variación entre 7 y 11,5 mm establecida por Hawkins (1971).

La longitud de la corola está sujeta a variaciones tanto estacionales como anuales, observándose a su vez variaciones a nivel de la propia inflorescencia. A modo de ejemplo, una longitud del tubo promedio de 10 variedades americanas igual a

9,76 mm fue determinada para la primer cosecha, siendo igual a 8,5 mm para la segunda (Wilsie y Gilbert, 1940; Christie y Choo, 1990), mientras Hawkins (1971) observó variaciones anuales máximas del orden de 0,86 mm para dicha característica. A su vez variaciones de hasta 2 mm en el largo de corola fueron observadas al variar la posición de la flor en la inflorescencia (Westgate *et al*, 1915). Por tanto dado el peso que presentan tanto el momento y el año en que tiene lugar la floración, como la ubicación de las flores en la inflorescencia, es factible suponer que de no considerarse el componente genético-aditivo de los materiales sea enmascarado por efectos ambientales; no alcanzándose la expresión de su máximo potencial.

Una de las vías de incrementar los rendimientos de semilla es mediante mejoramiento genético. Las modificaciones florales que promueven las visitas por parte de los polinizadores al cultivo son de interés para los mejoradores, ya que contribuyen a incrementar el porcentaje de cuajado (Spiss y Gloral, 1991). Dentro de éstas se pueden citar el largo de corola, la altura y producción de néctar, tubos de corolas abiertos, coloraciones más intensas y fluorescentes, pétalos más grandes, perfumes más atrayentes, estructuras de los órganos reproductivos, incluyendo la utilización de formas tetraploides. La existencia de un alto grado de heredabilidad para los caracteres tales como largo de corola, nivel del néctar, visita de abejas y rendimiento de semilla por planta, indican que los mismos pueden ser modificados mediante mejoramiento (Bond y Fyfe, 1968). A pesar de la importancia que ello implica, diversas fuentes citan a la reducción de la corola como una desventaja desde el punto de vista de la producción de semilla. Es así que, mientras Wilsie y Gilbert (1940), Starling *et al* (1950), Kress *et al* (1959) y Damisch (1963) citados por Hawkins (1965) concluyeron que corolas más cortas no presentan ventajas para una mayor producción de semillas, Damisch (1963) citado por Hawkins (1965) considera el carácter corola corta como signo exterior de fertilidad reducida. En contraposición Hawkins (1965), bajo condiciones de exceso de humedad concluyó que aquellas variedades de trébol rojo cuyos tubos de corola eran superiores a 9,8 mm presentaban menor porcentaje de cuajado. Cabe agregar, que el mismo autor sostiene que en su programa de mejoramiento los intentos por seleccionar variedades de corola corta han llevado en esta especie a la pérdida de persistencia y vigor.

Otra vía de mejoramiento ha sido la búsqueda de modificaciones florales profundas, siendo ejemplos de ellas las llamadas "corolas rasgadas o ausentes", características éstas principalmente asociadas con la esterilidad masculina (machoesterilidad). Goral y Spiss (1992) obtuvieron una correlación positiva ($r = 0,77$) y ($r = 0,69$) entre cuajado y largo de la corola y entre éste y el grado de desarrollo de las anteras respectivamente; correlacionándose negativamente con el largo de la partición en la corola ($r = - 0,64$) en una población derivada de un mutante con tubos de corolas abiertos. Resultados similares denotan la existencia de un tipo de corola rudimentaria, cuyas flores presentaron machoesterilidad y una reducción en la fertilidad femenina; además de ser poco atractivas para los polinizadores (Taylor y Snead, 1986).

Finalmente, Hawkins (1969) concluye que la selección de un cultivar de trébol rojo con mayor producción de néctar que permita una mayor accesibilidad para las abejas, sea la mejor solución para incrementar los rendimientos de semilla. Por su parte, Butler *et al* (1956) consideran que el método de mejoramiento más efectivo sería seleccionar el trébol rojo directamente por atracción hacia las abejas y por lo tanto, simultáneamente por todos aquellos factores responsables de dicha atracción. En este contexto la posibilidad de abundancia de polen, secreción de néctar, o concentración de éste, pueden tener más importancia en la determinación de la atracción de las variedades de trébol rojo hacia las abejas. Por su parte Grebennikov *et al* (1982), respecto a los materiales poliploides sugieren que los programas de mejoramiento deberían dirigirse hacia la selección de tetraploides con menor longitud de corola, de forma de minimizar las longitudes extremas presentadas por éstos.

Otra vía empleada en la reducción del largo de corola y por tanto de influencia en la producción de semilla, son los tratamientos químicos como Alar 85 entre otras. Trabajos realizados en Irlanda por Puri y Laidlaw (1983) obtuvieron reducciones de 18 % en el largo de corola, de 9,2 a 7,7 mm, manifestándose los efectos benéficos de ello sobre el porcentaje de cuajado sólo cuando las aplicaciones son realizadas temprano en el período de floración. No obstante, Christie y Choo (1990) concluyeron que no siempre una reducción en la longitud de la corola obtenida mediante tratamientos químicos se traduce en incrementos en rendimiento.

2.4.1.2. Diámetro de corola.

El diámetro es una característica morfológica de la flor de importancia, debido a la incidencia que ésta presenta en la polinización. Si bien no existe mucha información al respecto, Hawkins (1965) estudiando cultivares diploides y tetraploides obtuvo un rango que osciló entre 1,075 y 1,550 mm, mientras que Carámbula (1981) reportó que las corolas de trébol rojo presentaron un diámetro que oscila entre 1,6 a 2,5 mm. Por otra parte, al igual que para el largo de corola, en trabajos realizados en Irlanda, Puri y Laidlaw (1983) concluyeron que mediante tratamientos químicos de Alar 85, se logran reducciones de un 6 % en el diámetro de corola, siendo la longitud obtenida de 1,5 mm.

2.4.2. Insectos polinizadores.

El trébol rojo es una especie que requiere polinización cruzada entomófila. A modo de ejemplo Puri y Laidlaw (1990), evaluando los efectos de la polinización sobre el cuajado, determinaron un rango que varía de 82,5 a 95,0 % bajo condiciones naturales y solamente de 0 a 0,5 % en aislación, de ahí la importancia de éstos para la producción de semilla. Un factor primordial para alcanzar una polinización eficiente, es tener en cuenta que no exista al mismo tiempo disponibilidad de flores de otras especies más atractivas para las abejas, como lo es *Lotus corniculatus* entre otras,

pues la presencia de dichas especies competitivas implica disminuciones del rendimiento (Carámbula, 1981); ya que el poseer colmenas en la chacra o cerca de ella, no garantiza una buena eficiencia de polinización (Formoso, 1996).

Una de las barreras más importantes para lograr una mayor eficacia en el proceso de polinización con abejas es la inaccesibilidad de los insectos a los nectarios, como consecuencia de la ubicación de los mismos en la base de corolas muy largas y de su aparato bucal de lengua corta. Muchas abejas, ante la dificultad de obtener el néctar fácilmente, aprenden a robarlo mediante incisiones realizadas en la base de la corola, al igual que otras especies como *Bombus* de lengua corta, no realizándose la polinización. A ambas especies con tales características, se las consideran "*insectos negativos*", (Pedersen, 1935, citado por Bird, 1944), pudiéndose diferenciar a simple vista los mismos, mediante la posición adoptada al momento de realizada la colecta del néctar (Hawkins, 1961). Sin embargo, el mismo autor en 1961, no encontró evidencias de que el robo de néctar esté asociado a un bajo porcentaje de cuajado, y hasta observó en algún caso un efecto favorable del mismo, causado posiblemente por una mejora en la atracción de insectos hacia el cultivo.

Como se mencionó anteriormente una de las ineficiencias y principal limitante de las abejas como polinizadores es consecuencia de su aparato bucal. Carlisle (1955) citado por Hawkins (1965) observó dentro de las abejas melíferas de la región mediterránea longitudes de hasta 6,57 mm, mientras que una longitud de lengua de 11,1 mm fue reportada para *Bombus* de lengua larga por Stapel (1933) citado por Hawkins (1965), y Martin (1938) citado por Starling (1950); existiendo variaciones estacionales en la longitud de lengua de hasta 2 mm (Clifford y Scott, 1989). Comparando ambas especies se observa la importancia de los abejorros como eficientes polinizadores del trébol rojo.

A pesar de lo antes mencionado, las abejas pueden polinizar tan eficientemente como los abejorros (*Bombus*), siendo responsables del 82 % de la polinización de trébol rojo consecuencia de la alta población de insectos disponibles para dicha actividad (Free, 1965; y Dunham, 1939 citado por Starling, 1950). A su vez, investigaciones nacionales han demostrado que las abejas son polinizadores satisfactorios y, por consiguiente ocupan un lugar de primerísima importancia para elevar la productividad de los semilleros de trébol rojo (Corbella *et al*, 1995). Sin embargo en general, puede afirmarse que los abejorros (*Bombus*), son los insectos ideales para la polinización de esta leguminosa, pues debido a la anatomía de su aparato bucal de lengua larga, pueden alcanzar el néctar de las flores más fácilmente que las abejas. Dado que la población natural de abejorros es muy baja y muy difícil su domesticación y manejo, su presencia en los semilleros resulta en casi todos los casos insuficiente para polinizar dichos cultivos. Es así que Butler *et al* (1956) sugieren que para lograr incrementos en la polinización del trébol rojo, es preciso aumentar la población disponible de *Bombus* de lengua larga o la frecuencia de visitas efectivas de las abejas al cultivo.

Cabe resaltar que además de las diferencias en el aparato bucal existentes entre ambas especies, otras como ser el pico de actividad y las condiciones climáticas bajo las cuales la actividad de colecta se lleva a cabo, son de importancia en lo que a la producción de semilla respecta (Fusell, 1922). Esto es debido a que frente a condiciones adversas tales como alta nubosidad, bajas temperaturas, viento, rocío y precipitaciones entre otras, las abejas no trabajan, mientras que los abejorros lo hacen sin dificultad. Por otra parte, mientras el pico de actividad de estos últimos ocurre generalmente al atardecer, el de las abejas tiene lugar al mediodía.

Finalmente, sería necesario investigar cuando y en que medida una polinización deficiente es la principal causante de la obtención de bajos rendimientos en trébol rojo, pues en la mayoría de los trabajos reportados por la bibliografía no se ha evaluado la visita de polinizadores al cultivo, por tanto no necesariamente significa, como se ha asumido que sea inadecuadamente polinizado.

2.4.3. Condiciones ambientales.

Entre los factores que inciden en el rendimiento de semilla se pueden citar los climáticos, incluyendo en ellos a la incidencia de luz, el contenido de humedad durante los períodos de floración y formación de semilla, las precipitaciones y las temperaturas del aire, las cuales afectan también la longitud de los tallos (Vavilov *et al*, 1977).

Las exigencias fotoperiódicas dependen del lugar de origen de cada variedad. La luz es uno de los factores básicos que determina que los tallos vegetativos se transformen en reproductivos. Lambert (1968; citado por Carámbula, 1981) constató que la competencia por luz puede ser la limitante mayor para la producción de semillas, fundamentalmente a través de la disminución de inflorescencias. Es así que mediante medidas de manejo que disminuyan la masa vegetal, se lograrían rendimientos más satisfactorios.

El rendimiento de semilla no sólo depende de una eficiente polinización, sino también de la fertilización del óvulo por el grano de polen. Westgate *et al* (1915) citado por Bird (1944), encontraron que es común cierta infertilidad de los óvulos en trébol rojo, aparentemente asociada ésta con la humedad del suelo y condiciones atmosféricas. Por su parte Wexelsen (1940) citado por Bird (1944) determinó en un ensayo de trébol rojo constituido por 295 plantas, que solo algunas de ellas poseían menos del 80 % de polen normal; por lo que la presencia poco representativa de polen anormal determina que dicho efecto no sea tomado en cuenta. Respecto a la polinización, Westgate *et al* (1915) citado por Holowell (1929) concluyeron que ésta no tenía lugar cuando las flores estaban mojadas o húmedas; mientras que Williams (1925) citado por Hollowell (1929) asegura que la fertilización ocurre poco después de la inmersión en agua del grano de polen. En la mayoría de los casos a continuación de la fertilización de los óvulos y su posterior desarrollo, tiene lugar la mortalidad embrionaria, ocasionada no solo por las bajas temperaturas, alta humedad y deficientes polinizadores; sino principalmente por un inadecuado suministro de nutrientes

producto de una disrupción en la actividad del sistema vascular. Esta limitante podría ser levantada mediante la aplicación foliar de micronutrientes tales como B, Mo, Cu principalmente (Vavilov *et al*, 1977).

Las condiciones climáticas imperantes tanto durante el período de floración como en la polinización son de real importancia, pues no sólo determinan la actividad individual de los polinizadores, sino además modifican características morfológicas y químicas de las flores provocando una mayor o menor atracción del cultivo hacia los insectos. Días nublados y lluviosos durante el período de floración reducen el número de inflorescencias por unidad de área, interfieren en el desarrollo embrionario, retardan la actividad de polinización de las abejas, y reducen los niveles de cuajado como consecuencia de la falta de insectos (Hollowell, 1929; Sylven, 1935 citado por Bird, 1944). En contraposición, Sylven (1935) citado por Bird (1944) y Wilsie (1949) determinaron que días soleados y calmos combinados con una apropiada humedad atmosférica, constituyen las condiciones climáticas más favorables para la actividad de insectos polinizadores y el cuajado en trébol rojo. Además tanto la producción de néctar como la concentración de azúcares de éste se incrementan cuando los días son soleados, siendo más atraídos por ende los insectos polinizadores (Terâs, 1976). Consecuencia de lo anterior rendimientos superiores a 784,7 kg/ha fueron alcanzados mediante el control de insectos destructivos y maximización del número de insectos polinizadores (Fergus y Hollowell,1960). No obstante, períodos prolongados de calor conjuntamente con aire extremadamente seco durante la fase de floración, serían contraproducentes desde el punto de vista de la producción de semilla (Sylven, 1935; citado por Bird, 1944).

Williams (1925) citado por Hollowell (1929), constata que tanto la lluvia como la temperatura son responsables de los detrimentos obtenidos en el porcentaje de cuajado, aunque no pudo determinar si los efectos eran directos o indirectos. Las altas temperaturas poseen efectos más perjudiciales que las bajas temperaturas, tanto en el establecimiento, crecimiento como persistencia del semillero de trébol rojo. Sin embargo las primeras pueden tener un efecto benéfico sobre la eficiencia de los polinizadores, incrementando la población y su actividad individual. Otro efecto benéfico de las altas temperaturas, es el incremento en el número de inflorescencias, el número de semillas por inflorescencia producto de un mayor porcentaje de cuajado (68 %), y el peso de 1000 semillas (mayor temperatura, mayor peso; variable según el cultivar); siendo el mismo más favorable para el primer parámetro (Puri y Laidlaw, 1984). Finalmente, a pesar de ser los mayores perjuicios ocasionados por las altas temperaturas, la ocurrencia de bajas temperaturas tiene como consecuencia un incremento en el aborto de los granos de polen. Respecto a las características florales, solo la altura del néctar se vio afectada por la temperatura, siendo mayor a temperaturas más altas, quedando más fácilmente disponible para las abejas (Cook, 1974).

2.4. CORRELACIONES ENTRE LAS DIFERENTES VARIABLES.

El rendimiento de semilla está determinado por la interacción de un complejo de factores directos e indirectos. Se entiende por factores directos a los componentes de rendimiento propiamente dicho, siendo los factores indirectos los que benefician o perjudican a los anteriores. Por lo tanto es meritorio analizar las diferentes asociaciones entre éstos y como inciden en la producción de semilla.

El principal factor determinante del rendimiento de semilla es el número de inflorescencias por unidad de superficie (Kising, 1949; Fretault y Poureau, 1984). El tamaño de la inflorescencia se encuentra significativamente correlacionado con la producción de semilla, siendo dicha relación baja (r = 0,339; Wilsie, 1949; Starling *et al*, 1950). Sin embargo Hawkins (1965) determinó que el número de semillas por inflorescencia sería el componente del rendimiento mejor asociado a la producción de semillas, al igual que Mandl (1972) quien estableció un valor de r = 0,8424 entre ambos parámetros. Similar relación fue observada para el conjunto de progenies derivadas de Estanzuela 116 y cultivares americanos entre rendimiento por inflorescencia y rendimiento por parcela (r = 0,72; Luzardo y Parodi, 1998).

El manejo en trébol rojo debe ser dirigido hacia la formación del mayor número de inflorescencias de gran tamaño y con una polinización eficiente. El número de semillas por inflorescencia se encuentra negativamente correlacionado con el tamaño de la chacra, lo cual sugiere que una escasa polinización, podría causar bajos porcentajes de cuajado; encontrándose a su vez éste último negativamente correlacionado con el número de inflorescencias (Hawkins, 1958-1961).

La relación entre la longitud del tubo de la corola y el rendimiento de semilla ha sido motivo de diversos estudios, siendo la mayoría de los resultados contradictorios. En la revisión realizada por Starling *et al* (1950), Armstrong y Jamieson (1940) sugirieron que existe evidencia de que las plantas de trébol rojo que poseen corola corta fueron superiores en producción de semilla respecto a aquellas con corolas intermedias a largas. A modo de ejemplo los rendimientos de semilla por planta obtenidos se incrementan en un 84 % al contrastar los materiales de corola corta con cultivares comunes (Lindhard, 1921 citado por Starling *et al,* 1950), mientras que Richmond (1932) y Armstrong y Jamieson (1940) citados por Starling *et al* (1950) concluyeron que el porcentaje de cuajado es independiente de la longitud del tubo de la corola. Similares resultados fueron obtenidos por Starling *et al* (1950), quienes trabajando con poblaciones segregantes derivadas de cruzamientos entre cultivares de corola corta y larga, observaron que ni el número de semillas por inflorescencia, ni el porcentaje de cuajado, estuvieron correlacionados con el largo de corola, aunque es necesario destacar que el valor promedio de longitud de corola registrado en este trabajo fue muy bajo (7,47 mm), y el rango manejado muy estrecho. Starling *et al* (1950) atribuyó la ausencia de asociación entre el largo de corola y el rendimiento de semilla a la pérdida general del vigor de las plantas, dado que obtuvo

una correlación positiva entre el tamaño de la planta y el largo de corola, siendo el valor de r = 0,83.

El rendimiento de semilla se encuentra correlacionado con el número y tipo de polinizadores, existiendo una menor atracción hacia los polinizadores por parte de longitudes de corolas largas (Hawkins, 1956, 1961, 1965). Las ventajas de la reducción en el largo de corola radica en que hace posible por parte de las abejas la colecta de néctar con mayor facilidad, incrementándose asi el porcentaje de cuajado (Lindhard, 1921 citado por Starling *et al*, 1950). A modo de ejemplo resultados obtenidos del cultivar Ottawa, cuyas corolas median 8,5 mm produjeron rendimientos 50 % superiores que la media poblacional; siendo los rendimientos obtenidos cuando las corolas superaron los 8,5 mm de longitud del orden del 52 % (Armstrong y Jamieson, 1940 citado por Starling *et al*, 1950). Sin embargo, Armstrong y Jamieson (1940, citado por Starling *et al*, 1950) no detectaron ninguna preferencia por parte de los polinizadores por las variedades de corola corta.

Las condiciones climáticas tienen una alta incidencia en el rendimiento de semilla afectando tanto a los componentes de rendimiento como a las características florales. La producción de semilla presenta una correlación positiva con la media diaria de temperatura del aire (r = 0,985), y una correlación negativa con el total de precipitaciones (r = - 0,976; Vavilov *et al*, 1977). En general, se podría suponer que la asociación positiva entre producción de semilla y temperatura es el resultado de los efectos benéficos que presentan los aumentos de la variable tanto sobre los componentes de rendimiento como sobre las características florales. Una explicación de ello es producto del incremento simultáneo en el número de inflorescencias y en el número de semillas por inflorescencia del orden de 68 % para el último parámetro como consecuencia de un mayor porcentaje de cuajado. Es de destacar la importancia de las reducciones ocasionadas en el tubo de la corola al incrementarse la temperatura debido al efecto directo que esta posee sobre la eficiencia en la actividad polinizadora, como resultado de la accesibilidad de los insectos a los nectarios (Thomas, 1961, citado por Puri y Laidlaw, 1984). A modo de ejemplo el mismo autor observó reducciones de 1 mm en las corolas al pasar de 10 a 20 °C. El porcentaje de cuajado aumentó 60 % al pasar de12 a 20 °C, traduciéndose los incrementos posteriores de temperaturas en porcentajes de cuajado cada vez menores, mientras que incrementos de menor magnitud fueron registrados para el peso de las semillas, siendo igual a 21 % cuando la temperatura asciende de 16 a 21 °C; aunque la magnitud del efecto tempertura varió según el cultivar (Puri y Laidlaw, 1984). Finalmente, Hollowell (1929) concluye que tanto el número de inflorescencias como el número de flores producidas deberían considerarse como una expresión del vigor de la planta, influenciada por el contenido de humedad del suelo.

Por lo tanto, dado el peso que poseen las condiciones climáticas tanto sobre los componentes de rendimiento como sobre las características morfológicas de la flor, son factores fundamentales en la determinación del rendimiento de semilla. La

producción de semilla no es afectada por un único factor, por ende en la medida que manejemos el conjunto de ellos como un todo, lograremos resultados satisfactorios.

3. MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1. DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO.

Este trabajo fue llevado a cabo en el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria "INIA, La Estanzuela" (Estación Experimental Alberto Boerger), Colonia, Uruguay durante el período 1997-1998. La siembra del ensayo se realizó en almácigas en invernáculo el 11 de julio de 1997. Posteriormente, el 24 de setiembre se realizó el transplante a campo, en microparcelas en forma de cuadrículas constituidas por 16 plantas distanciadas 0.30 m entre ellas y una separación de 0.80 m entre parcelas.

Se realizó un corte de limpieza y uniformización al mes de efectuado el transplante, y el control del enmalezamiento se realizó en forma manual. En el mes de diciembre se colocaron 2 colmenas de abejas a 20 metros del ensayo para asegurar la presencia de polinizadores en el mismo.

El experimento consta de 85 progenies y 4 tratamientos testigos. Para este trabajo particular se seleccionaron 21 progenies y 3 testigos, los cuales representan el rango de precocidad de floración del conjunto. El diseño experimental empleado fue bloques completos al azar con 2 repeticiones.

3.2. DETERMINACIONES REALIZADAS.

El 24 de diciembre de 1997 se evaluó la precocidad de floración de cada parcela mediante apreciación visual, empleando como criterio el grado de floración parcelaria. La escala utilizada oscila entre los valores 1 y 5; correspondiendo el valor 1 a las parcelas de floración más temprana (plena floración) y 5 a las de floración más tardía (estado vegetativo al momento de la evaluación).

Durante el período de floración se colectaron 2 inflorescencias normales por planta en plena floración, contabilizándose el número de flores/inflorescencia. Se consideran como inflorescencias normales a aquellas que no presentan alteraciones visibles, tales como daños de insectos, inflorescencias dobles, etc.

Se separaron 10 flores individuales por inflorescencia de la zona correspondiente al ecuador de las mismas, obteniéndose el peso fresco de éstas, y conservándose la muestra en el freezer en bolsas de celofán.

El largo de la flor, largo y diámetro de corola fueron medidos en tres flores de cada inflorescencia, llevándose a cabo las mediciones mediante el uso del analizador de imágenes y el programa "IMAGEX" desarrollado por Lamari, L. (University of Manitoba, Winnipeg, Canadá). Para determinar la longitud de la flor se midió la distancia entre la base del cáliz y el extremo superior del estandarte. La longitud de la

corola se midió desde la base del cáliz hasta la parte proximal de la boca de la corola según la técnica de Lewis y Taylor (1967). El diámetro de corola corresponde al diámetro mínimo observado, aproximadamente en el centro de la corola. Consecuentemente, las mediciones por parcela corresponden al promedio de 96 flores individuales.

Para la evaluación del rendimiento de semilla/inflorescencia se cosecharon en forma manual 10 inflorescencias maduras por planta que al momento de realizada la cosecha no presentaran alteraciones tales como indicios de desgrane, daño de insectos, inflorescencias dobles, etc. La cosecha total por planta se obtuvo cortando la totalidad de la planta con hoz a aproximadamente 5 cm de altura. El orden prioritario de cosecha se basó en los ciclos de floración de los distintos materiales involucrados. La trilla de las inflorescencias se realizó en forma manual empleándose para ello un fretacho, mientras que una trilladora experimental de bandas tipo Vogel fue empleada para trillar la totalidad de las plantas. El nivel de pérdida admitido fue 2 %. La limpieza de la semilla se realizó mediante zarandas y viento para uniformizar los lotes.

3.3. ESTRUCTURA GENÉTICA DE LOS TRATAMIENTOS.

Para una mayor comprensión de la estructura genética de los tratamientos es necesario considerar la evolución de los materiales. El programa de mejoramiento genético se inició en 1988, utilizando el método de selección recurrente combinada. Los materiales parentales utilizados fueron Estanzuela 116 (variedad nacional), Kenland, Kenstar y Redman (de procedencia americana), y la variedad Quiñequeli (de origen chileno). Estos materiales fueron sometidos a varios ciclos de selección realizándose hasta el cuarto ciclo selección a campo, en polinización abierta.

En 1995 se efectuó una primer inoculación con Fusarium en 17 progenies derivadas de Estanzuela 116, Redman y Kenland y una variedad testigo (Estanzuela 116). Se realizó selección masal por comportamiento sanitario y las plantas seleccionadas se cruzaron en una carpa de aislación.

En el año 1996 se ejecutó una segunda inoculación con Fusarium, en 10 variedades testigos y 134 progenies, de las cuales 12 corresponden a plantas procedentes de la inoculación de Fusarium de 1995. Las plantas seleccionadas por comportamiento sanitario en 1996, se polinizaron en carpas de aislación en 3 grupos de acuerdo a su origen genético. La población 1 corresponde a los materiales del cuarto ciclo de selección recurrente a campo y con 2 ciclos de selección masal por Fusarium en invernáculo. La misma estaba constituida por 55 plantas (originaria de Estanzuela 116, Kenland y Redman), evaluándose las progenies de las 14 plantas de mayor producción de semilla. La población 2 corresponde a las plantas del tercer y cuarto ciclo de selección recurrente a campo y un ciclo de selección masal por Fusarium originarias de las variedades Redman y Kenland. Se empleó el mismo criterio que para la población 1, pues de 140 plantas pertenecientes a la misma, se seleccionaron las 29 plantas de mayor rendimiento. Mientras que en la población 3

originaria de Estanzuela 116, se incluyó 139 plantas de las cuales se seleccionaron las 42 plantas más productivas.

A continuación se presenta un esbozo de la estructura genética de los tratamientos pertenecientes a este trabajo:

* **Población 1:** progenies 1 al 4.
  materiales parentales: Estanzuela 116, Redman y Kenland.

* **Población 2:** progenies 5 al 12.
  materiales parentales: Kenland y Redman.

* **Población 3:** progenies 13 al 21.
  materiales parentales: Estanzuela 116.

* **Testigos:** Estanzuela 116 (tratamientos 22 y 23).
  INIA Mizar (tratamiento 24).

3.4. CARACTERIZACIÓN AGROCLIMÁTICA.

Debido a que las condiciones climáticas afectan tanto los rendimientos como los componentes de rendimiento, especialmente durante los períodos de floración y semillazón (diciembre, enero, febrero), y considerando que las mismas pudieron afectar los resultados del ensayo es importante considerar la comparación de los promedios históricos de heliofanía, temperatura, y precipitaciones con los correspondientes al período en que se desarrolló el experimento (Cuadro 1).

Cuadro 1. Heliofanía relativa (%), precipitaciones (mm) y temperaturas medias (º C) ocurridas durante el período de floración y semillazón (diciembre 1997-febrero 1998) en comparación con el promedio de la serie histórica (1965-1998).

MES	Heliofanía relativa		Precipitaciones		Temperatura media	
	Años 97/98	Serie histórica	Años 97/98	Serie histórica	Años 97/98	Serie histórica
Diciembre	52,3	65,3	226,5	102,0	19,8	21,6
Enero	64,9	68,2	87,5	95,2	21,3	23,0
Febrero	52,1	67,1	73,4	113,2	20,3	22,0

Consecuencia de las mayores precipitaciones y la nubosidad bajo las cuales estuvo sometido el ensayo, tuvo lugar el rebrote y una segunda floración antes de la madurez de la primera semillazón, alcanzando todo el plantel una acumulación de biomasa muy alta (materia verde). Por otra parte las temperaturas medias registradas

para el ensayo en particular fueron inferiores en comparación con las medias históricas (Cuadro 1).

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se ejecutó el análisis de varianza de las ocho variables evaluadas, y un estudio de correlaciones fenotípicas entre las ocho variables y su significancia al 5%. Los mismos se llevaron a cabo a través del programa estadístico S.A.S. (Statistical Analysis System,1985).

El método utilizado para la comparación de medias de las poblaciones respecto a los testigos, fue el de Dunnett con un grado de significancia del 5 % (Montgomery, 1991).

Para determinar la estructura de las relaciones entre variables, se realizó el análisis de componentes principales, el cual constituye un método común de ordenación cuyo fin es utilizar simultáneamente la información de las ocho variables sin perder información. Para el análisis de componentes principales se utilizó el programa Statistica versión 5.0 (Statsoft). La principal función del análisis de componentes es explicar la varianza con una combinación lineal de las variables originales en donde, los sucesivos componentes principales, están calculados de manera de que no estén correlacionados y generalmente la mayor parte de la variación puede ser explicada por los primeros componentes (Crossa *et al*, 1995). Para un mayor entendimiento de la asociación entre las variables y los componentes principales se utilizó el análisis de correlación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Las condiciones climáticas bajo las que se desarrolló el ensayo, principalmente durante los períodos de floración y semillazón, potenciaron el desarrollo vegetativo por encima del reproductivo, principalmente en los materiales más tardíos. La excesiva acumulación de biomasa alcanzada por todo el plantel si bien refleja el vigor de las plantas, provocó el acame de las parcelas. Dicha acumulación de biomasa pudo haber perjudicado la polinización no sólo por la falta de acceso de los insectos a las flores, sino también por la generación de un microambiente más húmedo (Williams, 1925 citado por Hollowell, 1929).

4.1. COMPARACIÓN DE MEDIAS.

4.1.1. Precocidad de floración.

Las medias poblacionales para cada variable se compararon con los promedios de los cultivares testigos Estanzuela 116 e INIA Mizar. Mientras las poblaciones 1 y 3, presentaron mayor precocidad que los testigos, las progenies integrantes de la población 2, de procedencia americana presentaron promedialmente floraciones más tardías ($P<0,05$; Cuadro 2). Estos resultados coinciden con los obtenidos en la evaluación de cultivares en La Estanzuela donde las variedades de origen americano se caracterizaron por poseer latencia invernal y floraciones más tardías (García y Rebuffo, 1991). Es de destacar que en estudios que incluyen la totalidad de las progenies evaluadas en 1997, las diferencias en precocidad de floración respecto a los testigos sólo fueron significativas en los materiales americanos (Luzardo y Parodi, 1998).

Cuadro 2. Precocidad de floración, rendimiento por planta (g), rendimiento por inflorescencia (mg), y número de flores por inflorescencia, promedios para las distintas poblaciones y testigos.

Poblaciones	Prec.Floración	Rend/pl (g)	Rend/infl (mg)	N.flores/infl
1	2,1 *	3,40 *	59,16 ns	100,0 ns
2	4,2 *	1,38 ns	34,32 ns	88,9 ns
3	2,2 *	2,62 ns	58,74 ns	98,6 ns
Testigos	**3,0**	**1,85**	**38,90**	**90,9**

* significativamente ($P< 0,05$) diferente del testigo según el test de Dunnett.

El rango de dispersión en precocidad de floración de las distintas poblaciones, se muestra en la Figura 1. Aún cuando se considera escaso el número de observaciones integrantes de la población 1 es dable esperar que manifiesten mayor variación respecto a las otras dos poblaciones, dado que sus progenies son producto del cruzamiento de materiales de origen americano y nacional. Sin embargo, la población 3 correspondiente a los materiales derivados de Estanzuela 116 fue quien presentó mayor dispersión de los datos. Por otra parte la población 2 presentó una

floración más uniforme superando más del 90 % de las progenies que la integran el valor medio considerado para la escala de floración asignada, con excepción de la progenie 12 que fue muy precoz; superando notoriamente a las restantes poblaciones (Figura 1, Anexo 1).

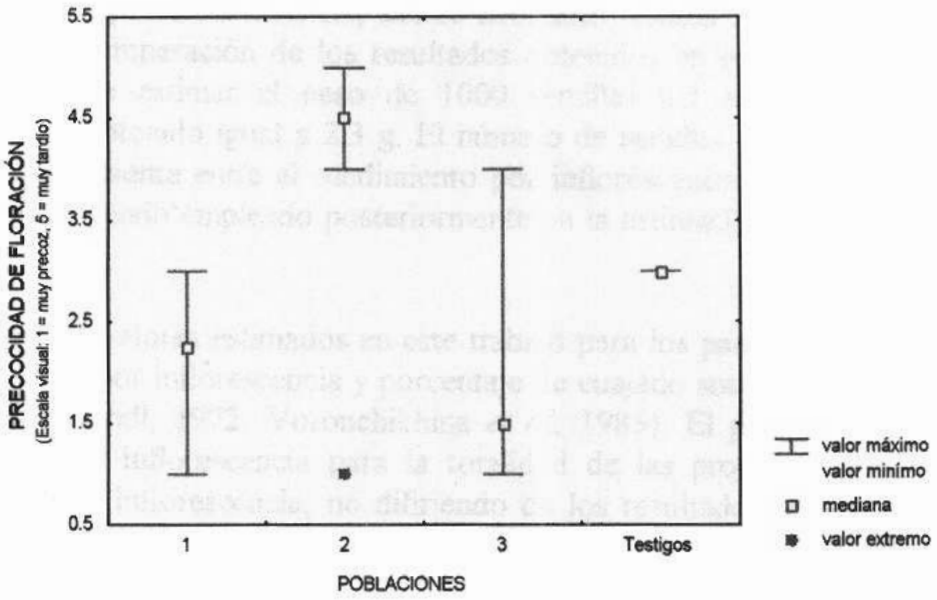

Figura 1. Rango de dispersión de la precocidad de floración para las distintas poblaciones y testigos.

4.1.2. Componentes de rendimiento.

Rendimientos por planta del orden del 84 % superior a los testigos fueron observados para la población 1 (P<0,05; Cuadro 2). Si bien existieron diferencias marcadas para las restantes poblaciones no fueron significativas, consecuencia del alto coeficiente de variación presentado por la variable (Anexo 1). Sin embargo, se observaron importantes diferencias entre progenies, determinando un rango 88 % superior y 72 % inferior respecto al rendimiento promedio (P< 0,05; Anexo 1).

El número de flores por inflorescencia es un componente determinante del rendimiento por inflorescencia. Si bien no se obtuvieron diferencias para ninguno de los materiales (Cuadro 2), el tamaño de la inflorescencia observado para la población originaria de Estanzuela 116 no difiere del citado por Mandl (1972) para el mismo cultivar. Por otra parte a nivel de progenies el rango registrado varía desde 79 a 130 flores por inflorescencia, correspondiendo a las progenies 5 y 10 respectivamente (P<0,01; Anexo 1).

Los rendimientos promedios por inflorescencia registrados si bien son producto de un muestreo de progenies, coinciden con los obtenidos por Luzardo y Parodi (1998). A nivel de progenies individuales se observó un amplio rango (P<0,05) que oscila entre 20,72 mg/inflorescencia para la progenie 5 (población 2) a

91,96 mg/inflorescencia para la progenie 20 (población 3, Anexo 1). Es de destacar que si bien las condiciones ambientales no fueron las óptimas para la producción de semilla, los materiales de floraciones tempranas originarios de Estanzuela 116, probablemente sufrieron los mayores perjuicios desde el punto de vista climático.

La bibliografía generalmente expresa los valores de rendimiento como número de semillas por inflorescencia, siendo necesario realizar la estimación de éste para la posterior comparación de los resultados obtenidos en este ensayo. Se evaluaron 20 plantas para estimar el peso de 1000 semillas del experimento; siendo el peso promedio obtenido igual a 2,3 g. El número de semillas por inflorescencia se calculó como el cociente entre el rendimiento por inflorescencia y el peso de 1000 semillas estimado, siendo empleado posteriormente en la estimación del porcentaje de cuajado (Anexo 1).

Los valores estimados en este trabajo para los parámetros tales como número de semillas por inflorescencia y porcentaje de cuajado son inferiores al potencial de la especie (Mandl, 1972; Voronchikhina *et al*, 1985). El promedio general fue de 21 semillas por inflorescencia para la totalidad de las progenies variando de 9 a 40 semillas por inflorescencia, no difiriendo de los resultados obtenidos por Luzardo y Parodi (1998). El rendimiento de semilla por inflorescencia más alto registrado por Mandl (1972) corresponde al cultivar Estanzuela 116, superando en un 75 % al obtenido en este ensayo para el mismo cultivar. Sin embargo Hollowell (1929) determinó que un promedio de 25 semillas por inflorescencia se consideraba suficiente para asegurar rendimientos por hectárea aceptables, siendo factible alcanzar resultados similares con los valores de semilla calculados para este ensayo. A pesar del promedio general estimado anteriormente, es necesario destacar que, el 54 % de las progenies presentaron valores de semilla por inflorescencia muy inferiores al mínimo referido por Hollowell (1929) para lograr rendimientos satisfactorios, correspondiendo generalmente a las progenies de la población 2.

Respecto al parámetro porcentaje de cuajado promedio, se obtuvo un rango entre 11,4 % y 41 % correspondientes a las progenies 5 y 20 (Anexo 1), siendo semejante al determinado por Christie y Choo (1990). Este último valor es comparable con el extremo inferior del rango observado por Mandl (1972). Cabe agregar que mientras el porcentaje de cuajado promedio del testigo Estanzuela 116 fue de 23 %, Mandl (1972) obtuvo un valor de 66 % para dicho cultivar. Los resultados obtenidos en este trabajo se atribuyen en gran parte a factores tales como el exceso de precipitaciones ocurridas durante los períodos críticos de floración y semillazón, ya que las precipitaciones ocurridas durante dicho lapso superaron en un 24,8 % a las precipitaciones promedio de la serie histórica (1965-1998; Cuadro 1). Abundante nubosidad y menores temperaturas, también pudieron haber ido en desmedro de los rendimientos, dado que las temperaturas registradas fueron un 8 % inferiores respecto al promedio histórico. Por ende la actividad de colecta de las abejas así como la polinización pudieron verse negativamente afectadas, causando detrimentos en el porcentaje de cuajado (Hollowell, 1929; Wilsie, 1949).

4.1.3. Características florales.

Algunos parámetros florales como ser peso de la flor, longitud de la flor y longitud y diámetro de corola fueron evaluados como factores de posible incidencia en el porcentaje de cuajado, no hallándose diferencias significativas para ninguno de los promedios de las tres poblaciones con respecto a los testigos (Cuadro 3). A pesar de no existir diferencias entre los promedios poblacionales, se detectaron diferencias significativas entre progenies para las variables peso floral ($P< 0,01$), longitud de la flor ($P<0,01$), y diámetro de corola ($P< 0,05$; Anexo 2).

Cuadro 3. Peso por flor (mg), longitud de la flor y la corola (mm), y diámetro de corola (mm), promedios para las distintas poblaciones y testigos.

Poblaciones	Peso/flor (mg)	Long. flor (mm)	Long. corola (mm)	Diámetro corola (mm)
1	0,739 ns	14,79 ns	10,95 ns	1,597 ns
2	0,696 ns	14,73 ns	11,12 ns	1,562 ns
3	0,766 ns	15,23 ns	11,41 ns	1,596 ns
Testigos	**7,622**	**15,06**	**11,40**	**1,587**

* significativamente ($P< 0,05$) diferente del testigo según el test de Dunnett.

La longitud de la corola es determinante en parte de los rendimientos de semilla alcanzables. Cabe resaltar que éste es el único parámetro que no presentó diferencias significativas tanto a nivel poblacional como de progenies, siendo las medidas obtenidas muy largas (Cuadro 3; Anexo 2). Esto último es de importancia pues restringe la polinización a los *Bombus* de lengua larga, siendo éstos los únicos capaces de polinizar dichas flores (Stapel, 1933 citado por Hawkins, 1965; y Martin, 1938 citado por Starling *et al*, 1950). Dado que este parámetro presenta variaciones anuales y estacionales, así como variaciones a nivel de la propia inflorescencia, es factible suponer que la expresión del componente genético-aditivo de los materiales pudo ser enmascarado por efectos ambientales (Hawkins, 1971; Wilsie, 1949; Christie y Choo, 1990).

Finalmente para el diámetro de corola, si bien no se hallaron diferencias significativas entre poblaciones, a nivel de progenies si existieron diferencias de importancia, presentando un rango muy amplio y similar al reportado por Hawkins (1965; Anexo 2).

La ausencia de significancia hallada para las variables anteriormente citadas mediante el test de Dunnett (Cuadro 2 y 3), puede ser atribuida al tamaño de muestra pequeño y al escaso número de repeticiones presentado por el ensayo. Es de destacar que para dichos parámetros existe una mayor precisión de los resultados que se refleja en los bajos coeficientes de variación obtenidos (Anexo 2).

4.2. CORRELACIONES.

Para el análisis de correlaciones se evaluaron las correlaciones fenotípicas entre los ocho parámetros y el grado de significancia de los mismos, en tanto que las varianzas aditivas así como las correlaciones genético-aditivas no fueron estudiadas dado el bajo número de casos existentes por población.

La precocidad de floración determinada por el ciclo de cada material es una característica a destacar, pues se encuentra estrechamente asociada con las variables de rendimiento de semilla. Esto se basa en la existencia de una correlación significativa y altamente negativa de r = -0,76 y r = -0,84 entre precocidad de floración y rendimiento por planta, y precocidad de floración y rendimiento por inflorescencia, respectivamente (Cuadro 4). Los resultados para el experimento en general, si bien mantienen la misma tendencia, presentaron correlaciones de menor magnitud (Luzardo y Parodi, 1998). Estas diferencias pueden ser debidas a que para el caso particular de este experimento, las progenies fueron seleccionadas de forma tal de cubrir todo el espectro de precocidad de floración. A su vez se debe tener en cuenta el escaso número de casos y repeticiones presentado por el ensayo, siendo ésto otro posible determinante de los resultados obtenidos.

Cuadro 4. Correlaciones fenotípicas entre los componentes de rendimiento y características florales para las diferentes progenies y testigos.

	Prec. Florac.	Rend/pl (g)	Rend/infl (g)	Número fl/infl	Peso/fl (g)	long.flor (mm)	long.cor (mm)	diámetro (mm)
Prec.Fl	1,00	-0,76	-0,84	-0,61	-0,58	-0,28	0,12	-0,35
Rend/pl	**-0,76**	1,00	**0,89**	0,48	0,27	0,02	-0,24	0,19
Rend/infl	**-0,84**	0,89	1,00	0,50	0,39	0,10	-0,27	0,30
fl/infl	**-0,61**	0,48	0,50	1,00	0,44	0,29	0,01	0,46
Peso/flor	-0,58	0,27	0,39	0,44	1,00	0,76	0,28	0,49
Long flor	-0,28	0,02	0,10	0,29	**0,76**	1,00	0,73	0,26
Long cor	0,12	-0,24	-0,27	0,01	0,28	**0,73**	1,00	-0,15
diámetro	-0,35	0,19	0,30	0,46	0,49	0,26	-0,15	1,00

significativo (P< 0,05) señalado con rojo.

Al graficar los parámetros de rendimiento con la precocidad de floración se observó una relación más estrecha para el rendimiento por inflorescencia (Figuras 2 y 3); superando a la obtenida por Luzardo y Parodi (1998). Las progenies de la población 2 se comportaron como tardías presentando bajos rendimientos tanto por planta como por inflorescencia; con la salvedad de la progenie 12 quien manifestó poseer similares características a las progenies originarias de Estanzuela 116 (Figura 2 y 3). Los mayores rendimientos fueron logrados por los materiales de floración más

temprana (población 3; Anexo 1), destacándose la progenie 20 con 92 mg/inflorescencia. No obstante, esta población también presentó rendimientos tan inferiores como los de la población 2; confirmando la gran dispersión de los datos. Por otra parte el comportamiento de las progenies de la población 1 fue intermedio, sin descender a valores tales como los alcanzados por los integrantes de la población 2, de origen americano.

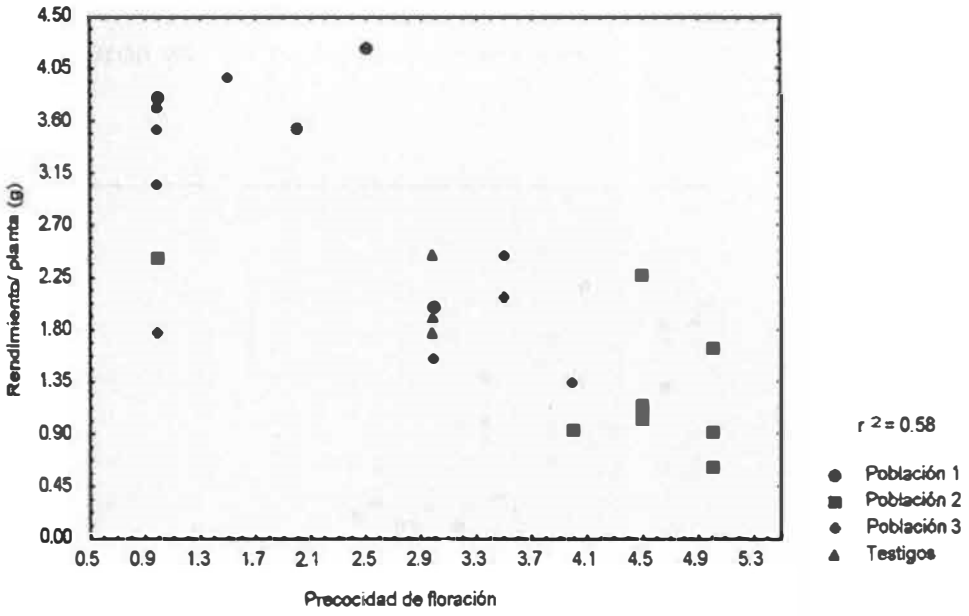

Figura 2. Relación entre precocidad de floración y rendimiento por planta según el origen de las poblaciones y testigos.

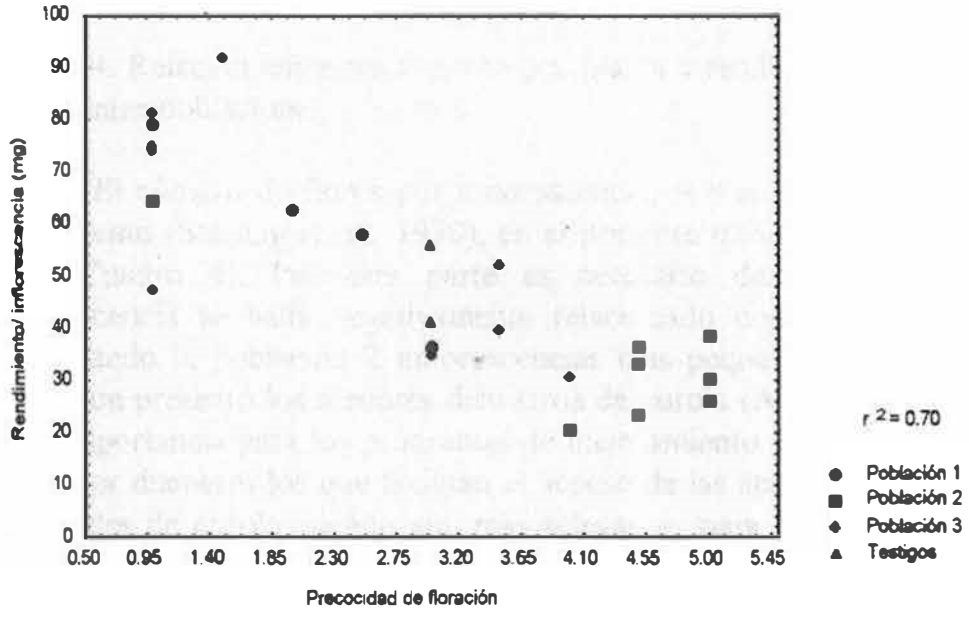

Figura 3. Relación entre precocidad de floración y rendimiento por inflorescencia para las distintas poblaciones y testigos.

El rendimiento por planta se encuentra estrechamente correlacionado con el rendimiento por inflorescencia (r = 0,89; Cuadro 4), superando los valores obtenidos por Mandl, (1972) y Luzardo y Parodi, (1998). Dicha relación, así como la dispersión de cada una de las poblaciones se observa claramente en la Figura 4. A su vez dado que ambos parámetros se encuentran estrechamente relacionados entre sí y con precocidad de floración (Cuadro 4), es dable suponer que el rendimiento de semilla se encuentra determinado principalmente por el rendimiento por inflorescencia, siendo los materiales de floraciones tardías los de menor rendimiento, mientras que los testigos presentaron un comportamiento intermedio.

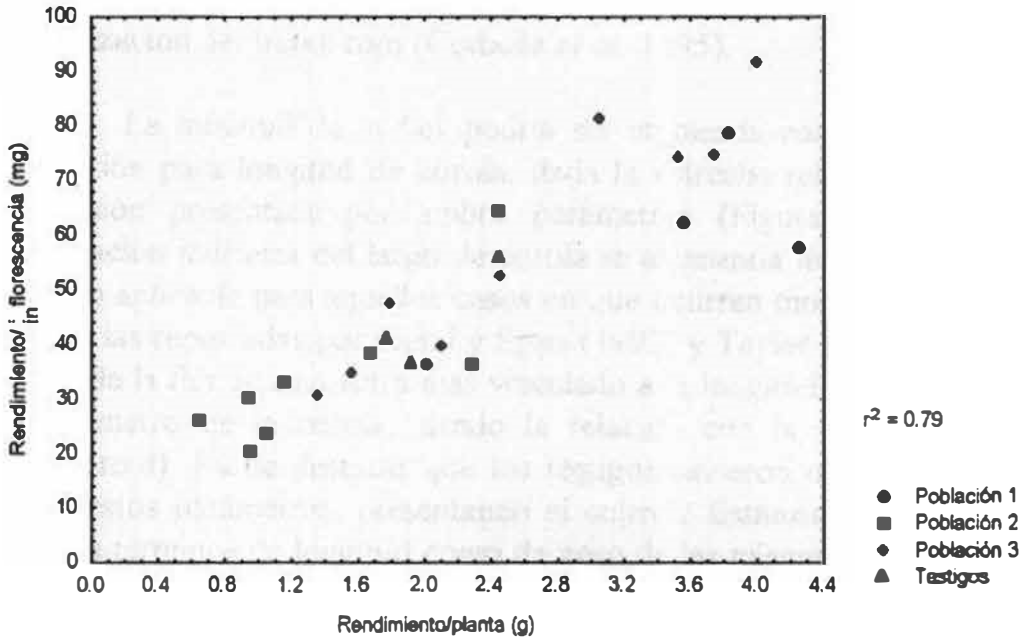

Figura 4. Relación entre rendimiento por planta y rendimiento por inflorescencia para las distintas poblaciones y testigos.

El número de flores por inflorescencia, si bien es un factor determinante del rendimiento (Starling *et al*, 1950), en el presente trabajo se halló levemente ligado a éste (Cuadro 4). Por otra parte es necesario destacar que el tamaño de la inflorescencia se halla negativamente relacionado con la precocidad de floración, presentando la población 2 inflorescencias más pequeñas (Figura 5). A su vez esta población presentó los menores diámetros de corola (Anexo 2). Este parámetro es de gran importancia para los programas de mejoramiento genético, por ser los cultivares de mayor diámetro los que facilitan el acceso de las abejas independientemente de las longitudes de corola; siendo aún más relevante para los materiales tetraploides. Es factible suponer que los menores rendimientos tanto por planta como por inflorescencia presentados por los materiales más tardíos, son explicados en parte por el menor número de flores por inflorescencia y los menores diámetros observados (Cuadro 4; Figura 5).

A pesar de no existir asociación entre el largo de corola y rendimiento, no deja de ser una variable de interés; dado que corolas más cortas posibilitarían con mayor facilidad la colecta de néctar por parte de las abejas. La falta de asociación puede ser consecuencia de la escasa variación entre progenies observada para el largo de corola (Anexo 2) y de que éstos valores superan los obtenidos por Mandl, (1972). Starling *et al* (1950), trabajando con un rango de longitudes de corola muy estrecho, tampoco pudo relacionar el rendimiento con el largo de corola, a pesar de que en su estudio utilizó materiales de corolas muy cortas. De acuerdo con lo citado por Carámbula (1981) las condiciones ambientales también pudieron estar incidiendo en éstos resultados, ya que la excesiva humedad durante los periodos críticos de definición del potencial, pudieron haber restringido a su vez la polinización a determinado grupo de polinizadores. Dado que aún no se han realizado trabajos de domesticación sobre polinizadores autóctonos, las abejas continúan contribuyendo, aunque en parte en la polinización del trébol rojo (Corbella *et al,* 1995).

La longitud de la flor podría ser empleada como un parámetro indirecto de selección para longitud de corola, dada la estrecha relación y el bajo coeficiente de variación presentada por ambos parámetros (Figura 6, Anexo 2). Mediante la evaluación indirecta del largo de corola se alcanzaría mayor practicidad y rapidez, no siendo aplicable para aquellos casos en que ocurren modificaciones florales profundas como las reportadas por Goral y Spiss (1992) y Taylor *et al* (1986). Por otra parte el peso de la flor se encuentra más vinculado a la longitud de la flor, y en menor medida al diámetro de la corola, siendo la relación con la longitud de corola muy baja (Cuadro 4). Es de destacar que los testigos tuvieron un comportamiento diferencial para estos parámetros, presentando el cultivar Estanzuela 116 un mayor tamaño de flor en términos de longitud como de peso de las mismas (Figura 7), correspondiendo los valores extremos a las progenies 14 (población 3) y 9 (población 2).

Finalmente si bien no se observó relación alguna entre las características florales evaluadas y el rendimiento de semilla, sería conveniente considerar la posible existencia e incidencia de otros parámetros florales que si pueden estar determinando los rendimientos, como ser la altura del néctar y concentración de éste (Têras, 1976). A su vez, de continuar con éste tipo de evaluación de mejoramiento en trébol rojo, se debería incluir materiales cuya variabilidad para los parámetros estudiados sean muy contrastantes, de tal forma que posibilite establecer a que se deben realmente las diferencias de rendimiento entre materiales.

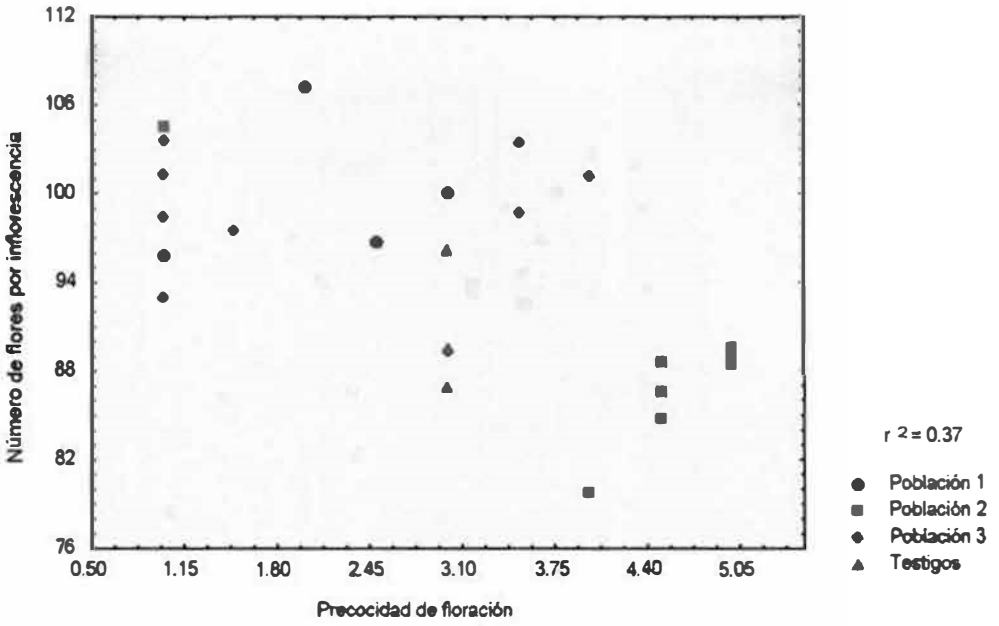

Figura 5. Relación entre precocidad de floración y número de flores por inflorescencia para las diferentes poblaciones y testigos.

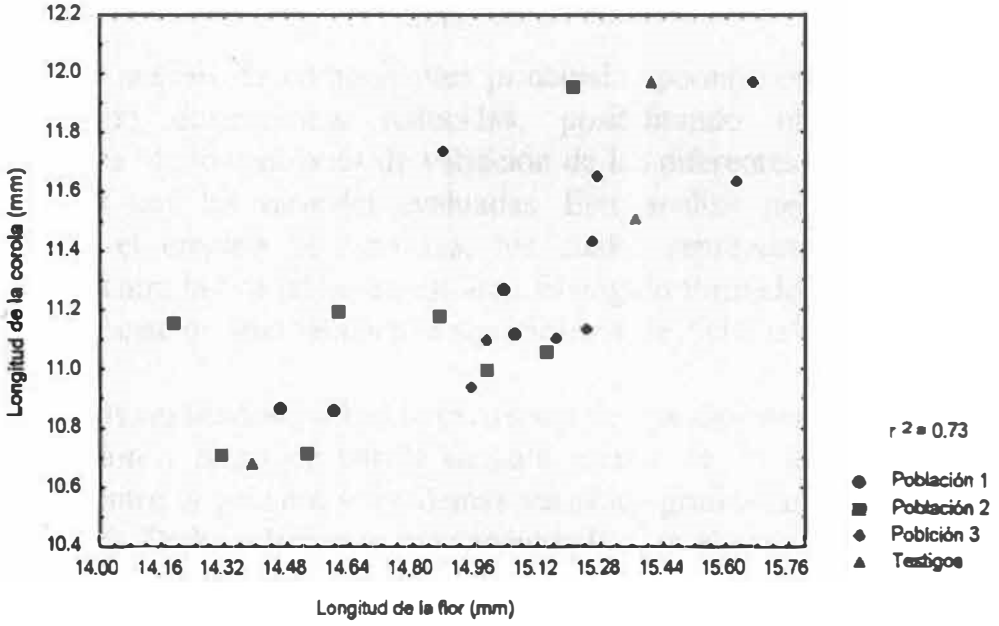

Figura 6. Relación entre longitud de la flor y longitud de la corola para las diferentes poblaciones y testigos.

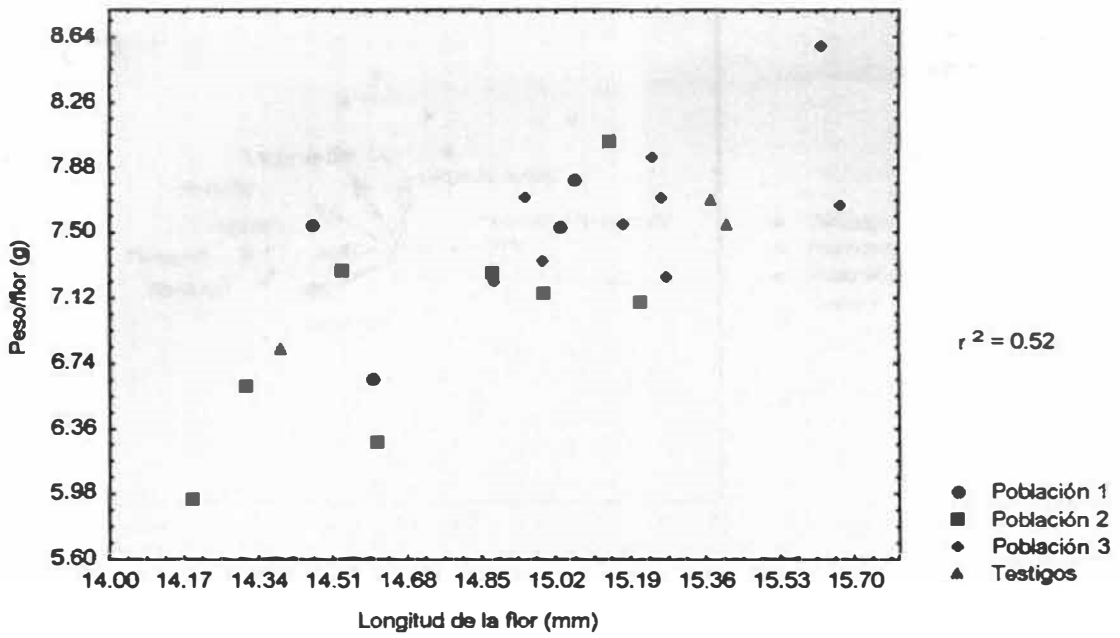

Figura 7. Relación entre longitud de la flor y su peso para las diferentes poblaciones y testigos.

4.3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.

El análisis de componentes principales permite ordenar la información en un espacio de dimensiones reducidas, posibilitando obtener una representación geométrica de los patrones de variación de las diferentes poblaciones en estudio y su asociación con las variables evaluadas. Este análisis permite presentar la variación mediante el empleo de vectores, los cuales representan el grado de asociación existente entre las variables en estudio. El ángulo formado por dos vectores explica no sólo la asociación sino también la significancia de dicha relación.

Los resultados indican la existencia de una asociación positiva entre precocidad de floración y largo de corola (ángulo menor de 90 grados; Figura 8), siendo la relación entre la primera y las demás variables graficadas negativa (ángulo mayor de 90 grados). Dicha relación es más acentuada para el caso de rendimiento por planta y rendimiento por inflorescencia, confirmando los resultados obtenidos por Luzardo y Parodi (1998). Cabe destacar que las variables son independientes cuando los vectores forman un ángulo recto.

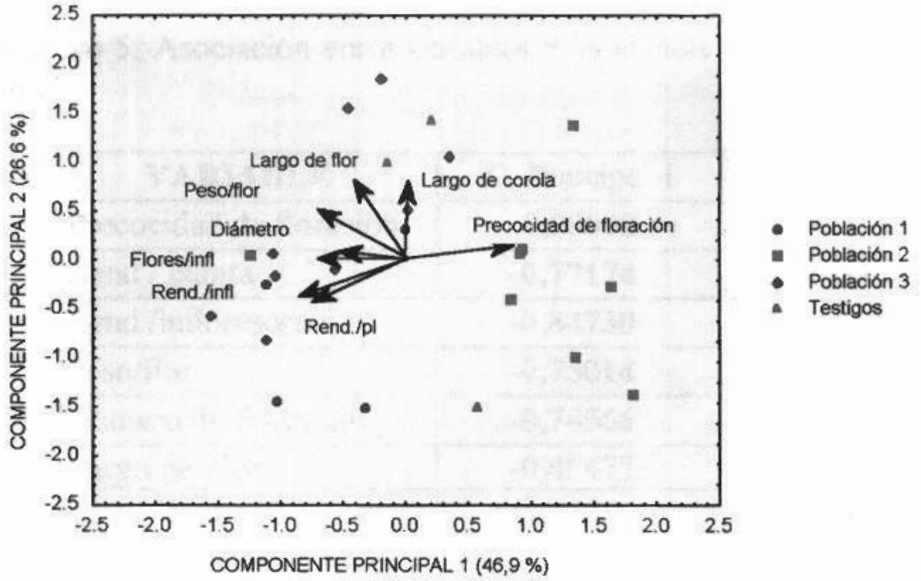

Figura 8. Análisis de componentes principales y distribución de las poblaciones.

Analizando los componentes principales, se puede apreciar que los dos primeros componentes principales explican el 73,8 % de la varianza total, siendo éstos componentes principales responsables de variaciones del 46,9 % y 26,9 % respectivamente (Cuadro 5). Dentro del componente principal 1 la precocidad de floración se asoció negativamente con las dos variables de rendimiento (rendimiento/planta y rendimiento/inflorescencia), peso/flor y con el número de flores por inflorescencia. Esto significa que aquellos materiales con floraciones más tardías presentaron menor tamaño de inflorescencia y por ende menores rendimientos de semilla. Por otra parte el componente principal 2 se halla explicado por el largo de flor y corola, siendo las progenies de la población 3 quienes presentaron las mayores longitudes. Sin embargo no debe olvidarse la escasa variación observada para éste último parámetro de longitud (Anexo 2).

Respecto a los parámetros de rendimiento, la población 1 fue la más favorecida, mientras que la población 2 más tardía, la que presentó menores rendimientos. Esta relación es explicada por la proximidad de las variables a las respectivas poblaciones, la cual es señalada por la dirección y magnitud de los vectores, siendo muy semejante a los resultados obtenidos por Luzardo y Parodi (1998). Finalmente para el largo y peso de flor se observaron características contrastantes entre la población 2 e INIA Mizar y la población 3 y Estanzuela 116, que presentaron flores de mayor tamaño.

Cuadro 5. Asociación entre variables e incidencia de los componentes en la varianza total.

VARIABLE	C. Principal 1	C. Principal 2	C. Principal 3
Precocidad de floración	**0,909622**	0,153662	0,164563
Rend / planta	**-0,771742**	-0,437952	-0,338798
Rend /inflorescencia	**-0,847304**	-0,385127	-0,236973
Peso/flor	**-0,730141**	0,516695	0,128142
Número de flores/infl.	**-0,745662**	0,016920	0,167846
Largo de flor	-0,454772	**0,854876**	-0,099817
Largo de corola	0,023411	**0,873546**	-0,356361
Diámetro de corola	-0,561339	0,081173	**0,766517**
Eigenvalues	3,752506	2,131572	0,967119
% total de la varianza	0,469063	0,266447	0,120890

5. CONCLUSIONES.

La precocidad de floración y el rendimiento por planta fueron los únicos parámetros que diferenciaron las poblaciones de los testigos. Estos resultados pueden ser explicados por el escaso número de casos y repeticiones incluidos en este ensayo.

La longitud de corola fue el único parámetro que no presentó diferencias a nivel de progenies. Se interpreta que ésto fue consecuencia del estrecho rango observado para este parámetro, lo cual no permitiría margen de selección.

Las correlaciones fenotípicas determinadas para el parámetro precocidad de floración fueron negativas entre éste y ambos parámetros de rendimiento, peso/flor y tamaño de inflorescencia. Los materiales de procedencia americana (Población 2) presentaron floraciones más tardías que los materiales testigos; por el contrario, los materiales más precoces (Población 3) poseen un mayor número de flores por inflorescencia y por ende mayor producción de semilla.

Dada la estrecha relación existente entre las variables de rendimiento, el rendimiento por inflorescencia podría ser utilizado como indicador del rendimiento por planta. A su vez, la longitud de la flor podría ser empleada como un carácter indirecto de selección para longitud de corola, dada la alta correlación y el bajo coeficiente de variación presentada por ambos parámetros, lográndose mayor practicidad y rapidez en la evaluación. Finalmente el peso de la flor se encuentra vinculado a la longitud de la flor y al diámetro de corola, siendo la relación con longitud de corola muy baja, lo que impediría utilizar el peso como indicador del largo de corola.

Ninguna asociación fue observada entre las características florales y la producción de semilla, probablemente debido a la escasa variación presentada por los primeros, en particular para la longitud de corola. Sin embargo es factible suponer, que los menores rendimientos tanto por planta como por inflorescencia presentados por los materiales más tardíos, son explicados en parte por los menores diámetros observados. Futuras investigaciones deberían estudiar otras características de interés, como por ejemplo producción de néctar, las cuales pueden contribuir a la explicación de las diferencias de rendimiento entre progenies.

Los resultados tampoco aportan luz sobre la controversia que existe en cuanto al efecto del largo de corola sobre el porcentaje de cuajado. Si bien las corolas largas probablemente hayan determinado una escasa atracción de las abejas hacia el trébol rojo, no se puede afirmar lo mismo para el caso de los abejorros. Hubiera sido de interés registrar simultáneamente con los parámetros aquí evaluados, el número y el tipo de visitas de polinizadores de modo de evidenciar la incidencia de la polinización en el porcentaje de cuajado.

Dado el peso que poseen las condiciones ambientales sobre los parámetros evaluados, y las variaciones tanto estacionales como anuales presentadas por aquellos

tales como la longitud de corola, sería necesario realizar la evaluación en más de un año, para más de una estación y en localidades diferentes.

Finalmente, el uso eficiente de la selección por producción de semilla sólo puede alcanzarse comprendiendo el conjunto de factores que afectan el rendimiento de semilla y la forma de manejarlos.

6. RESUMEN

En la Unidad experimental "Alberto Boerger" INIA La Estanzuela, se evaluaron progenies de trébol rojo con el objetivo de estudiar la relación entre los componentes de rendimiento y las características florales para identificar parámetros de selección indirectos por producción de semilla. Los parámetros evaluados fueron rendimiento de semilla por planta y por inflorescencia, número de flores por inflorescencia, largo de flor y corola, diámetro de corola, y peso de la flor. El ensayo estuvo constituido por variedades testigos (INIA Mizar y Estanzuela 116) y 21 progenies agrupadas según su origen genético; 4 progenies pertenecientes al cruzamiento de materiales americanos y Estanzuela 116 (Población 1), 8 progenies provenientes de cultivares americanos (Población 2), y 9 progenies originarias de Estanzuela 116 (Población 3). Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con 2 repeticiones.

Niveles de rendimientos por planta promedios del orden del 84 % superior a los testigos fueron observados para la población 1 ($P<0,05$), no encontrándose diferencias significativas para los restantes parámetros evaluados. Sin embargo, las progenies presentaron grandes diferencias para esas variables, con excepción de la longitud de corola.

Dada la estrecha relación entre rendimiento por planta y por inflorescencia ($r = 0,89$), este último puede ser empleado como un eficaz parámetro de selección indirecto para rendimiento por planta. La precocidad de floración se correlacionó negativamente con todos los componentes de rendimiento. Esta asociación fue mayor para el rendimiento por planta y por inflorescencia ($r = -0,76$; $r = -0,84$ respectivamente), siendo los materiales de floraciones tempranas los que presentaron mayor tamaño de inflorescencia ($r = -0,61$), y por ende mayor rendimiento.

Las características florales no se hallaron relacionadas a la producción de semilla. La longitud de corola fue el único parámetro que no presentó diferencias entre progenies. Se asume que dichos resultados son consecuencia de las extremas longitudes de corolas observadas ($\bar{x} = 11,25$ mm). Es de destacar que a pesar de no detectarse ninguna asociación entre los parámetros florales y el rendimiento, la longitud de la flor podría ser empleada como un parámetro indirecto de selección para longitud de corola, dada la estrecha relación presentada por ambos ($r = 0,73$).

7. SUMMARY.

At the "Alberto Boerger" Experimental Unit, INIA La Estanzuela, progenies of red clover were evaluated with the objective of identifying parameters of indirect selection for seed production by studying the relationship between the components of yield and flower characteristics. The characteristics evaluated were number of flowers per inflorescence, length of corolla tube, length of flower, number of flowers per inflorescence, and number of seeds per plant. This trial was designed with 2 control varieties (INIA Mizar and La Estanzuela 116), and 21 progenies grouped by genetic origin; 4 progenies resulted from crossing American material and La Estanzuela 116 (Population 1), 8 progenies were results of American varieties (Population 2), and 9 progenies were original of La Estanzuela 116 (Population 3). The experimental design used was a complete randomized block with 2 replications.

An average yield of 84 % above the control was observed for population 1 ($P< 0,05$), there were no significant differences for the rest of the parameters evaluated. However, the progenies presented big differences for these variables, with the exception of corolla length.

The high relationship between yield per plant and yield per inflorescence ($r = 0,89$) allows the latter to be used as an effective parameter for indirect selection of yield per plant. The earliness of flowering was negatively correlated with all other components of yield. This association was the best for yield per plant and yield per inflorescence ($r = - 0,76$; $r = - 0,84$ respectively). The early flowering material exhibited the biggest inflorescences ($r = - 0,61$) and therefore the highest yield.

The flower characteristics do not exhibit a relationship with the production of seed. The corolla length was the only parameter that presented no significant differences between progenies, we assume this result is the consequence of the extremely long corolla tubes observed ($\bar{x} = 11,25$ mm). Even though there is no association between floral characteristics and yield, the length of flower can be use as an indirect parameter for determining corolla tube length due to the high correlation exhibited between them ($r = 0,73$).

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. ARTEMENKO, M.I. and TANASEVICH, I.E. 1987. A ternopol´ red clover. Selektsiya i Semenovodstvo, USSR 1: 35-36. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1987-1989.

2. BIRD, J.N. 1944. Seed setting in red clover. Journal of the American Society of Agronomy. 36(4): 346-357.

3. BOND, D.A. and FYFE, J.L. 1968. Corolla tube length and nectar height of F1 red clover plants (*Trifolium pratense*) and their see yield following honey-bee pollination. Journal of Agricultural Science (Cambridge) 70 (1): 5-10.

4. BUTLER, C.G.; FREE, J.B. and SIMPSON, J. 1956. Some problems of red clover seed pollination. Annals of Applied Biology 44 (4): 664-669.

5. CARÁMBULA, M. 1981. Producción de semillas de plantas forrajeras. Montevideo, Hemisferio Sur. 518 p.

6. CHRISTIE, B.R. and CHOO, T.M. 1990. Effects of harvest time and Alar- 85 on seed yield production of red clover. Canadian Journal Plant Science 70: 869- 871.

7. CLIFFORD, P.T.P. and SCOTT, D. 1989. Inflorescence, bumblebee, and climate interactions in seed crops of a tetraploid red clover (*Trifolium pratense* L.). Journal of Applied Seed Production 7 (39): 38-45.

8. COOK, V.A. 1974. Pollination in North Otago. New Zealand Journal of Agriculture. 128 (1): 32-33.

9. CORBELLA, E.; PIERONI, S.; VISCA, J.; ALEMÁN, R. 1995. Manejo de colonias de abejas melíferas en la polinización de trébol rojo. INIA. Serie técnica N° 52. 12 p.

10. CROSSA, J.; DeLACY, I. H. and TABA, S. 1995. The use of multivariate methods in developing a core collection. In Core collections of plant genetic resources. Ed.T. Hodgkin, A.H.D. Brown, T.J.L. van Hintum, E.A.V. Morales. Chichester, Wiley. pp. 77-89.

11. FERGUS, E.N.; HOLLOWELL, E.A. 1960. Red clover. Advances in Agronomy. 12: 365-436.

12. FORMOSO, F.A. 1996. Producción de semilla de especies forrajeras. In Producción y manejo de pasturas. Ed. Risso, D.F; Berretta, E.J; Morón, A. Montevideo. Serie técnica N° 80. pp. 85-92.

13. FREE, J.B. 1965. The ability of bumblebees and honeybees to pollinate red clover. Journal of Applied Ecology. 2: 289-294.

14. FRETAULT, B. and POUVREAU, A. 1984. Population dynamics of bumble bees on red clover crops. Effect on seed yield. Compte rendu du Ve symposium international sur la pollinisation, Versailles (France). 27: 317-322. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1984-1986.

15. FUSELL, M. 1992. Diurnal patterns of bee activity, flowering, and nectar reward per flower in tetraploid red clover. New Zealand Journal of Agricultural Research. 2: 151-156.

16. GARCÍA J.; REBUFFO, M.; FORMOSO, F. y ASTOR, D. 1991. Producción de semillas forrajeras; tecnologías en uso. Montevideo, INIA. Serie técnica N° 2. 40 p.

17. GARCÍA J.; REBUFFO, M. 1991. Importancia del ciclo de las forrajeras en los sistemas intensivos. In Pasturas y producción animal en áreas de ganadería intensiva. Ed. Restaino, E. e Indarte, E. Montevideo. INIA. Serie técnica N° 15. p. 9-15.

18. GORAL, H. and SPISS, L. 1992. Characteristics of red clover forms with a short corolla tube. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roslin 27 (183): 209-217. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1993- July 1995.

19. GREBENNIKOV, V.S.; GREBENNIKOV, S.V., and DOLGOV, L.A. 1982. Pollination of clover by bumble bees in relation to the depth of the floral tube. Soviet Agricultural Science 6: 44-46. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1984-1986.

20. GURR, L. 1974. The role of bumblebees as pollinators of red clover and lucerne in New Zeland: a review and prospect. Proceedings of the New Zealand Grassland Association Conference 36 (1): 111-122.

21. GUY, R. and GILLIAND, H. 1988. The production of red clover seed in the French speaking part of Switzerland. Revue Suisse d´ Agriculture 20:5-9.

22. HAWKINS, R.P. 1956. A preliminary survey of red clover seed production. Annals of Applied Biology 44 (4): 657-664.

23. HAWKINS, R.P. 1961. Observations on the pollination of red clover by bees. I. The yield of seed in relation to the numbers and kinds of pollinators. Annals of Applied Biology 49 (1): 55-65.

24. HAWKINS, R.P. 1965. Factors affecting the yield of seed produced by different varieties of red clover. Journal of Agricultural Science (Cambridge) 65(2): 245-253.

25. HAWKINS, R.P. 1969. Length of tongue in a honey bee in relation to the pollination of red clover. Journal of agricultural science (Cambridge) 73 (3): 489-493.

26. HAWKINS, R.P. 1971. Selection for height of nectar in the corolla tube of English singlecut red clover. Journal of Agricultural Science (Cambridge) 77: 347-350.

27. HOLLOWELL, E.A. 1929. Influence of Atmospheric and soil moisture upon seed setting in red clover. Journal of Agricultural Research 39 (4): 229-247.

28. KISING, W. 1949. Seed production of red clover with particular reference to seed setting. J. Landw. 91:65-119. Tomado de: Herbage Abstracts 20 (3): 145. 1950.

29. LUZARDO, S. y PARODI, M. 1998. Selección por producción de semilla en mejoramiento genético de trébol rojo (*Trifolium pratense* L.). Tesis Ing.Agr. Montevideo, Uru., Facultad de Agronomía. 42 p.

30. MANDL, F. 1972. Estudio de algunos aspectos que afectan la producción de semilla en trébol rojo (*Trifolium pratense L.*). Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uru., Facultad de Agronomía. 45 p.

31. MEL`NIKOVA, T.E. 1982. Efficacy of selection among tetraploids of Trifolium pratense in early generations. Selektsiva i Semenovodstvo, USSR N° 6, 25:25. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1984-1986.

32. MONTGOMERY, D.C. 1991. Design and analysis of experiment. 3. ed. Wiley, New York. 649 p.

33. NOVOSELOVA, A.S. and KOSITSYNA-PINEGINA, E.A. 1982. Two-seeded pods- a factors in increasing the seed yield of Trifolium pratense. Doklady Vsesoyuznoi Ordena enina i Ordena Trudovogo Krasnogo Znameni Akademii Sel`skokhozyaistvennykh Nauk Imeni. N° 9: 22-23 Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1984- 1986.

34. PURI, K.P. and LAIDLAW, A.S. 1983. The effects of cutting in spring and application of Alar on red clover (*Trifolium pratense* L.) seed production. Journal of Applied Seed Production. 1: 12-18.

35. PURI, K.P. and LAIDLAW, A.S. 1984. The effect of temperature on components of seed yield and on hard seeddness in three cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.). Journal of Applied seed production 2: 18-23.

36. PURI, K.P. and LAIDLAW, A.S. 1990. Effect of mechanical pollination on seed setting of red clover. Indian Journal of Ecology 17: 65-66. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1993- July 1995.

37. RINCKER, C.M.; DEAN, J.G.; GARRISON, C.S.; MAY, R.G. 1977. Influence of environment and clipping on the seed-yield potencial of three red clover cultivars. Crop Science 17: 58-60.

38. SPISS, L. and GORAL, H. 1989. A new mutant with open corolla tube in red clover. In International Grassland Congress. (16a., 1989, Nice, France). Versailles, Association Francaise pour la production Fourragere. p. 419-420.

39. SPISS, L. and GORAL, H. 1991. Modification of the corolla in red clover. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im 31: 106-108. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1993- July 1995.

40. STARLING, T.M.; WILSIE, C.P. and GILBERT, N.W. 1950. Corolla tube length studies in red clover. Agronomy Journal 42 (1): 1-8.

41. STEEL, R.G.D. and TORRIE, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics; a biometrical approach. 2. ed. New York, Mac Graw-Hill. 633 p.

42. STODDART, J.L. 1960. Factors affecting seed production of late-flowering red clover. Welsh Plant Breeding Station. Welsh plant breeding. Station (UK). Report for 1961. p. 94-98.

43. TAYLOR, N.L. and SMITH, R.R. 1979. Red clover breeding and genetics. Advances in Agronomy 31. 125-154.

44. TAYLOR, N.L. and SNEAD, L.D. 1986. Inheritance of rudimentary corolla in red clover. The Journal of Heredity 77:371- 372.

45. TAYLOR, N.L. and QUESENBERRY, K.H. 1996. Red Clover Science. Dordrecht, Kluver. 228 p.

46. TERÂS, I. 1976. Bumblebees, Bombus Latr. (Hymenóptera, Apidae), on red clover in south Savo, Finland. Annals Agricultrae Fenniae 15: 116-117.

47. TOMASZEWSKI-JUNIOR, Z. Comparison of seed production in diploid and tetraploid varieties and lines of red clover (*Trifolium pratense* L.). Biuletyn

Instytutu Hodowli i Aklimatyzacli Roslin 169: 3-11. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1990- 1991.

48. VAVILOV, P.P.; KABYSH, V.A.; PUNTNIKOV,, L.I. and ORLOVA, V.S. 1977. Factors responsible for the low seed productivity of red clover and ways to increase it. Soviet Agricultural Science 10:7-9.

49. VORONCHIKHINA, A. P. and CHETVERTNYKH, L. M. 1985. Producing initial material for breeding red clover for seed yield. Sozdanie nov. sortov mnogolet. trav i tekhnol. ikh vozdel. na sev. -zap. Leningrad, RSFSR. p. 48-51. Tomado de: CAB Abstracts on Cd 1987-1989.

50. WEXELSEN, H. 1935. Investigations on the pollination of red clover. Nordisk. Jordbrugsforskn., 17: 478- 488. Citado por BIRD, J.N. 1944. Seed setting in red clover. Journal of the American Society of Agronomy. 36(4): 346-357.

51. WESTGATE, J.M.; COE, H.S.; in collaboration with WIANCKO, A.T.; ROBBINS. F.E.; HUGHES, H.D.; PAMMEL, L.H.; and MARTIN J.N. 1915. Red clover seed production: pollination studies. United States Department of Agriculture. Bulletin N° 289. p. 1-27.

52. WILSIE, C.P. and GILBERT, N.W. 1940. Preliminary results on seed setting in red clover strains. Journal of the American Society of Agronomy 32 (3): 231-234.

53. WILSIE, C.P. 1949. Producing alfalfa and red clover seed in Iowa. Agronomy Journal 41(12): 545-550.

9.ANEXO

ANEXO NÚMERO 1. Precocidad de floración, rendimiento por planta (g) y por inflorescencia (mg), y número de flores por inflorescencia para la totalidad de las progenies y testigos.

Flia	Prec. Florac.	Rend./pl (g)	Rend./infl (mg)	N.flores /infl
1	2	3,550	62,74	107,25
2	1	3,820	79,19	95,95
3	2,5	4,240	58,17	96,81
4	3	2,005	36,56	100,13
5	4	0,950	20,72	78,83
6	3,5	1,040	23,83	88,67
7	5	0,930	30,55	89,06
8	5	0,630	26,14	88,50
9	3,5	2,270	36,61	82,80
10	5	1,660	38,74	130,05
11	3,5	1,155	33,35	88,62
12	1	2,435	64,60	104,55
13	1	1,785	47,85	103,67
14	3	1,560	35,02	89,44
15	1	3,525	74,36	92,97
16	1	3,730	74,92	101,36
17	1	3,050	81,49	98,54
18	3,5	2,095	39,86	103,55
19	3,5	2,455	52,52	98,86
20	1,5	3,995	91,96	97,47
21	4	1,350	30,73	101,25
22	3	1,925	36,51	94,82
23	3	2,445	56,07	84,35
24	3	1,780	41,26	96,15
prom.	**3,06**	**2,266**	**48,906**	**96,402**
Desvío	**1,454**	**1,0776**	**20,314**	**10,285**
C.V%	**47**	**48**	**42**	**11**
MSD(5%)	***1,10***	***1,325***	***25,65***	***15,27***
N.sign.	***	***	***	*
1/1000				

ANEXO NÚMERO 2. Peso por flor (g), longitud de la flor y corola (mm), y diámetro de corola (mm).

Flia	Peso/flor (g)	Long. flor (mm)	Long.corola (mm)	Diámetro corola (mm)
1	7,81	15,06	11,12	1,595
2	7,55	14,46	10,87	1,625
3	6,66	14,60	10,86	1,600
4	7,53	15,03	11,27	1,570
5	7,11	15,21	11,96	1,520
6	7,30	14,53	10,72	1,675
7	6,62	14,31	10,71	1,595
8	6,28	14,61	11,20	1,545
9	5,95	14,19	11,16	1,415
10	7,47	14,87	11,18	1,525
11	7,15	14,99	11,00	1,580
12	8,03	15,14	11,06	1,645
13	7,33	14,99	11,10	1,620
14	8,58	15,63	11,64	1,595
15	7,94	15,24	11,14	1,570
16	7,71	14,95	10,94	1,555
17	7,70	15,26	11,43	1,550
18	7,22	14,88	11,74	1,600
19	7,66	15,67	11,97	1,605
20	7,55	15,17	11,11	1,700
21	7,25	15,27	11,65	1,575
22	7,55	15,41	11,97	1,570
23	6,83	14,39	10,68	1,530
24	7,69	15,37	11,51	1,605
prom.	**7,354**	**14,968**	**11,250**	**1,582**
Desvio	**0,578**	**0,406**	**0,399**	**0,056**
C.V%	**8**	**3**	**4**	**4**
DMS(5%)	**1,08872**	**0,7624**		**0,09439**
N.sign.	*	*	**N.S**	***
1/1000				