

COMPARACIÓN DE ECOTIPOS AUTÓCTONOS DE TRÉBOL SUBTERRÁNEO PROCEDENTES DE LA ZONA OESTE DE CASTILLA Y LEÓN CON VARIEDADES COMERCIALES

M. C. CRESPO MARTÍNEZ y S. A. CORDERO CASTAÑO

Servicio de Investigación, Desarrollo y Tecnología Agraria de la Junta de Castilla y León.

Centro de Investigación del Toro de Lidia.

Apartado Oficial. 37008 Salamanca (España)

RESUMEN

Se ha estudiado el comportamiento de 196 ecotipos autóctonos de trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.) recogidos en la zona oeste de Castilla-León, principalmente en lo que se refiere a la producción de semilla y los parámetros que la afectan, comparando los resultados con los obtenidos sobre ecotipos procedentes de otras regiones españolas y una colección de cultivares extranjeros. Se ha encontrado que los ecotipos autóctonos presentan generalmente poco crecimiento invernal, buena resistencia al frío, hábito de crecimiento rastrero y denso, y elevado contenido de semillas duras en el momento de la maduración. La producción de semillas y el tamaño de las mismas es inferior al de los cultivares comerciales. Se discute la significación ecológica de los resultados y, dada la variabilidad observada para todos los caracteres, se han podido seleccionar nueve ecotipos que parecen presentar buenas características agronómicas para ser incluidos en posteriores trabajos de evaluación en sistemas de pastoreo.

Palabras clave: Recursos fitogenéticos, leguminosas pratenses, selección de especies, mejora de pastos, introducción de especies.

INTRODUCCIÓN

La recuperación para pastos de terrenos marginales para la producción de cereales, así como la mejora de la productividad de zonas de pastos degradadas, hacen conveniente en muchos casos la introducción de especies pascícolas, ya que la repoblación natural se lleva a cabo de forma lenta y poco satisfactoria. La mejora de un pasto mediante introducción de especies y fertilización fosfórica permite sistemas de producción que duplican al menos la carga ganadera debido a la mayor oferta de pasto, y también mejorar la productividad del animal al aumentar el contenido proteico del alimento y la ingestión voluntaria (Olea *et al.*, 1988 y 1991).

Desde el punto de vista económico, un pasto de larga duración sembrado y fertilizado es más interesante que un pasto natural fertilizado ya que el incremento de productividad compensa largamente el gasto adicional de semilla y las operaciones de preparación del suelo y de siembra (Crespo, 1997), pero para ello es preciso asegurar que los cultivares sembrados pueden persistir cuando están sujetos a la dinámica impuesta por las variaciones climáticas, edáficas y biológicas.

El problema de la introducción de especies pascícolas en la zona oeste de la Región de Castilla y León ya ha sido abordado con anterioridad en este Departamento (Cordero y Crespo, 1985) y dentro de la especie *Trifolium subterraneum* se ha comprobado que los ecotipos de ciclo medio y corto seleccionados en Australia, y que se consideran los más adecuados para Extremadura y Andalucía, pocas veces han permitido desarrollar su potencial productivo. Generalmente, el trébol ha dejado de ser en uno o dos años el principal componente entre las especies del pasto. En otras ocasiones se mantiene presente pero sin que su capacidad productiva compense económicamente el coste de implantación. Sin embargo, el trébol subterráneo crece espontáneamente sobre la mayor parte de la superficie de pastos naturales de Avila, Salamanca y Zamora, y en algunas ocasiones es la especie predominante.

Si es fundamental para el éxito de una especie anual producir suficiente semilla para persistir, en el caso del trébol subterráneo la necesidad de una producción alta de semilla es aún mayor, puesto que ésta debe servir de alimento al ganado durante los meses de verano. También es necesario que actúen eficazmente los mecanismos encargados de impedir que estas semillas germinen cuando las condiciones exteriores son desfavorables para el establecimiento de las mismas, como puede ser después de una tormenta estival. En este sentido la latencia embrional juega su papel protector al principio de verano y durante pocas semanas (Quinlivan y Nicol, 1971), mientras que la protección a largo plazo se debe principalmente a la impermeabilidad de las semillas. Esta impermeabilidad descende a lo largo del verano debido a los cambios de temperatura, pero es preciso que cierto número de semillas la mantengan durante más de una estación de crecimiento para evitar que desaparezca la especie después de algún año en que las condiciones atmosféricas sean desfavorables para la producción de semilla.

Puesto que nuestras condiciones climáticas difieren de las australianas y extremeñas, para las que los cultivares actuales fueron seleccionadas, se hizo un estudio sobre 196 ecotipos autóctonos (Cordero y Crespo, 1986) observándose un rango de variabilidad desde ciclo medio (170 días desde siembra a floración que es el tipo de comportamiento de 'Woogenellup' en nuestras condiciones) hasta ciclos más largos (con un máximo de 220 días), que sobrepasan en varias semanas a los de ciclo más lar-

go entre los cultivares comerciales. Lógicamente, los ecotipos autóctonos tienen un ciclo adecuado, puesto que han persistido durante siglos, y los cultivares australianos no están perfectamente adaptados.

Conocido el tipo de ciclo y floración que necesita un trébol subterráneo para persistir en nuestras condiciones, se ha realizado un estudio sobre la productividad de estos ecotipos autóctonos, teniendo en cuenta la cantidad total de semilla producida y también su capacidad para formar semillas impermeables, la pérdida de impermeabilidad a lo largo de los meses de verano y la capacidad para enterrar los glomérulos. Este dato es también importante puesto que las semillas enterradas tienen mayor tamaño, mayor grado de impermeabilidad, mayor porcentaje de viabilidad (Quinlivan y Francis, 1971) y están situadas en mejores condiciones para su germinación y establecimiento, pero también es conveniente que los cultivares seleccionados puedan producir semilla sobre la superficie cuando no sea posible el enterrado por formación de costra en la superficie del suelo.

Este estudio de ecotipos autóctonos de trébol subterráneo se ha realizado con el objeto de seleccionar cultivares apropiados para esta Región, y por ello se ha prestado gran atención a todas las características de la producción de semilla relacionadas con la persistencia del ecotipo en el pasto a largo plazo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó con 196 ecotipos autóctonos procedentes de las provincias de Salamanca, Zamora y Avila que habían sido obtenidos mediante trasplante de cepellones en invierno y primavera, o con recogida de glomérulos en verano, y se sembraron en líneas para su multiplicación con el fin de conseguir suficiente semilla para este estudio. La localización geográfica de los lugares de procedencia de estas muestras, así como la descripción de clima y suelos, ha sido publicado anteriormente (Cordero y Crespo, 1986)

La clasificación botánica de las especies se hizo de acuerdo con el método de Katznelson y Morley (1966). El 95% de las muestras pertenecían a la subespecie *subterraneum*, y sólo se encontró una muestra perteneciente a la subespecie *yanninicum*.

El material recogido se estudió durante dos años consecutivos, 1980-81 y 1981-82 en tres localidades diferentes de la provincia de Salamanca: Pedraza de Alba (tierra parda degradada, pH = 5,5), San Morales (tierra parda sobre areniscas asociadas a Rotlehm, pH = 5,6) y Salamanca (sobre terreno aluvial, pH = 7,9). La clasificación de suelos está tomada de García Rodríguez (1966). La pluviometría media en estas zonas es

de 407 mm en Salamanca, 410 mm en San Morales y alrededor de 520 mm en Pedraza de Alba.

Se utilizaron dos colecciones para comparar: una formada por 24 ecotipos procedentes de otras regiones españolas y otra formada por cultivares y selecciones extranjeras, principalmente australianas, entre las que se encontraban: "Nungarin", "Northam A", "Dwalganup", "Geraldton", "Uniwager", "Daliak", "Seaton Park", "Dinninup", "Woogenellup", "Howard", "Bacchus March", "Dalkeith", "Mount Barker", "Nangella", y "Tallarook" de la subespecie, *subterraneum*; "Trikkala" y "Yarloop" de la subespecie *yanninicum* y "Clare", "White Seed" y "Owed Belif" que pertenecen a la subespecie *brachycalycinum*.

Se fertilizaron las parcelas con superfosfato, en dosis de 250 kg/ha, y se sembraron las muestras en líneas de 1,5 m de longitud con dos metros de separación entre ellas, ajustando la dosis para obtener entre 100 y 150 plantas por metro lineal. Las líneas fueron segadas con cortacésped antes del inicio de la floración para evitar un excesivo crecimiento vegetativo, ya que Rossiter (1961) ha encontrado que la siega antes de la floración en un pasto denso de trébol subterráneo aumenta la producción de semilla.

Los datos de crecimiento vegetativo en invierno y primavera, así como el de conformación de las plantas, son evaluaciones subjetivas que se han realizado en los tres campos antes mencionados. La precocidad de maduración se determinó observando cuándo prácticamente todas las hojas de las plantas adquirían color ocre.

La producción de semillas se determinó sólo en el campo de San Morales, en el año 1982, utilizando un extractor de muestras de 46 cm². Se tomaron dos muestras de cada tipo a 5 cm de la línea de siembra y se determinó el número de glomérulos por unidad de superficie y, también, el número de semillas después de la operación de trillado y limpieza a mano. Sobre estas semillas se hicieron las observaciones sobre impermeabilidad. Se obtuvo además el valor total de semilla producida por la línea tras su trilla y limpieza con máquina microtrilladora y sobre ellas se midió el peso de 1000 semillas.

Para el estudio de la capacidad de producir semillas cuando no es posible el enterrado, y para valorar la correlación entre capacidad de enterrar y otros parámetros, se colocaron tablas ligeramente cubiertas de arena fina y se estudió el comportamiento de los glomérulos situados sobre ellas y fuera de ellas.

El test de germinación se realizó en estufa a 20°C colocando para cada uno de los tipos a analizar dos muestras de 100 semillas en cajas Petri. Para estudiar la calidad de las semillas duras, es decir, su resistencia a perder impermeabilidad, se sometieron éstas a fluctuaciones diarias de temperatura entre 10 y 40°C durante 30 días, repitiendo el test de germinación al final del tratamiento.

El análisis del contenido en estrógenos de las líneas más prometedoras se realizó en los laboratorios del Servicio de Investigación Agraria de la Junta de Extremadura.

Se utilizó un programa BMDP para el análisis de correlaciones entre los distintos parámetros, y para obtener los valores medios y desviaciones típicas de cada variable estudiada.

RESULTADOS

Matriz de correlaciones

Las correlaciones entre los diversos parámetros para cada una de las colecciones se indican en las tablas 1a, 1b, 1c.

Aunque en el estudio se han tenido en cuenta otros factores, como eficiencia de la floración y contenido en formononetina, genisteína y biocanina, así como el contenido total de estrógenos, no se incluyen para simplificar la exposición y porque las muestras tomadas para el análisis de estrógenos pertenecen a ecotipos seleccionados por mejor aspecto visual y dan lugar a una submuestra con media distinta de la que corresponde a la colección general.

Crecimiento vegetativo

Existe una latencia invernal más acentuada en los ecotipos autóctonos que en los procedentes de otros lugares. La mayor parte de los ecotipos autóctonos tienen un lento desarrollo inicial en primavera que va mejorando a lo largo del tiempo. Mientras que los cultivares y selecciones extranjeras alcanzan su mayor desarrollo vegetativo durante mayo y primeros días de junio, algunos autóctonos continúan creciendo hasta finales de junio.

Número de glomérulos

Los distintos ecotipos muestran cierta variación en la distribución de sus glomérulos. Algunos lo concentran cerca del cuello de la planta mientras otros los extienden más o menos homogéneamente en un amplio espacio.

TABLA 1A

Matriz de correlaciones de la colección de ecotipos de trébol subterráneo autóctono.*Correlation matrix for the collection of autochthonous ecotypes of subterranean clover.*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Nº de días a 1ª flor	Aspecto invierno	Aspecto primavera	Precocidad maduración	Nº glomérulos / u. s. *	Nº semillas / u. s.	Producción semillas / u. s.	Producción total de semillas	Peso de 1000 semillas	Capacidad de enterrar	% semillas duras inicial	% semillas duras final
1	1,00											
2	N.S.	1,00										
3	0,42	0,56	1,00									
4	i (-)	N.S.	i (-)	1,00								
5	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	1,00							
6	N.S.	N.S.	i (+)	N.S.	0,89	1,00						
7	N.S.	0,31	N.S.	N.S.	0,67	0,83	1,00					
8	N.S.	0,43	0,49	N.S.	N.S.	i (+)	0,37	1,00				
9	N.S.	0,41	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,60	0,43	1,00			
10	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	1,00		
	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	i (+)	N.S.	i (+)	i (+)	1,00	
12	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,51	1,00

* u. s. = 46 cm²

N.S. = Diferencias no significativas (P > 0,05)

i = Indicios

TABLA 1B

Matriz de correlaciones de la colección de ecotipos de trébol subterráneo procedente de otras regiones.*Correlation matrix for the collection of subterranean clover ecotypes from other regions.*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	N° de días a 1ª flor	Aspecto invierno	Aspecto primavera	Precocidad maduración	N° glomérulos / u.s. *	N° semillas / u. s.	Producción semillas / u.s.	Producción total de semillas	Peso de 1000 semillas	Capacidad de enterrar	% semillas duras inicial	% semillas duras final
1	1,00											
2	N.S.	1,00										
3	0,32	0,76	1,00									
4	- 0,35	N.S.	- 0,36	1,00								
5	N.S.	0,33	i (+)	i (-)	1,00							
6	N.S.	0,35	i (+)	- 0,37	0,94	1,00						
7	N.S.	0,49	i (+)	- 0,35	0,81	0,89	1,00					
8	0,31	0,51	0,76	i (-)	0,40	0,43	0,31	1,00				
9	N.S.	i (+)	N.S.	i (-)	i (+)	0,34	0,58	N.S.	1,00			
10	N.S.	0,40	0,48	N.S.	0,34	0,41	0,45	0,32	0,34	1,00		
11	N.S.	N.S.	N.S.	- 0,31	N.S.	N.S.	i (+)	N.S.	i (+)	N.S.	1,00	
12	- 0,43	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,36	N.S.	i (+)	0,45	0,50	1,00

• u.s. = 46 cm²

N.S. = No significativa (p > 0.05)

i = ind

TABLA 1C

Matriz de correlaciones de cultivares extranjeros de trébol subterráneo.*Correlation matrix for foreing cultivars of subterranean clover.*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Nº de días a 1ª flor	Aspecto invierno	Aspecto primavera	Precocidad maduración	Nº glomérulos / u.s. *	Nº semillas / u. s.	Producción semillas / u.s.	Produccion total de semillas	Peso de 1000 semillas	Capacidad de enterrar	% semillas duras inicial	% semillas duras final
1	1,00											
2	0,48	1,00										
3	0,68	0,71	1,00									
4	0,80	0,54	0,80	1,00								
5	- 0,31	i (-)	N.S.	N.S.	1,00							
6	i (-)	N.S.	N.S.	N.S.	0,95	1,00						
7	i (-)	- 0,34	i (-)	N.S.	0,78	0,83	1,00					
8	0,35	i (+)	0,57	0,47	N.S.	N.S.	N.S.	1,00				
9	i (+)	N.S.	N.S.	N.S.	- 0,43	- 0,40	N.S.	N.S.	1,00			
10	- 0,80	- 0,40	- 0,49	- 0,59	0,37	0,41	i (+)	N.S.	- 0,41	1,00		
11	N.S.	- 0,34	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,42	N.S.	0,45	N.S.	1,00	
12	N.S.	- 0,40	- 0,41	i (-)	i (+)	i (+)	0,36	N.S.	0,46	i (+)	0,73	1,00

* u.s = 46 cm²

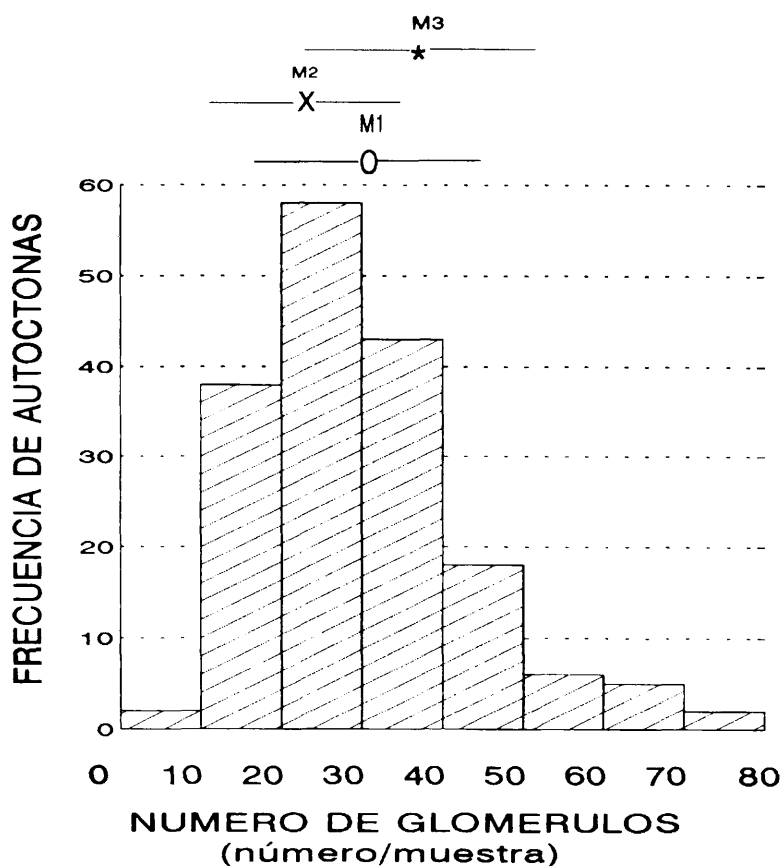
N.S. = No significativa (P > 0,05) i = indicios

El número de glomérulos encontrados en la muestra presentó una amplia gama de valores comprendidos entre 5 y 78; sin embargo, en más del 70 % de los ecotipos estuvo comprendido entre 10 y 40 glomérulos (Figura 1).

FIGURA 1

Numero de glomérulos: Distribución de frecuencias de ecotipos autóctonos con igual número de glomérulos observados en 46 cm².

Burr number: Frequency distribution of autochthonous ecotypes showing the same number of burrs in samples of 46 cm².



M1 = media y desviación típica de ecotipos autóctonos
M2 = medias y desv. típ. de ecotipos de otras regiones españolas
M3 = media y desv. típ. de las selecciones australianas estudiadas

Podría esperarse un descenso del tamaño de las semillas al elevarse el número de glomérulos como sucede en los cultivares extranjeros ($r = -0,43$) pero no se ha observado correlación con el tamaño de las semillas en la colección de ecotipos autóctonos. El número de glomérulos tiene correlación positiva con el número de semillas (coeficientes de correlación $r = 0,89$, $r = 0,94$ y $r = 0,95$ respectivamente, para los tres grupos de colecciones de tréboles: autóctonos, procedentes de otras regiones y australianos) y, por tanto, con el peso de semilla producida (coeficientes de correlación $0,67$; $0,81$ y $0,78$ para los mismos grupos).

La población de ecotipos autóctonos no difiere de las selecciones y cultivares extranjeros en cuanto al número de glomérulos producidos aunque el valor encontrado es ligeramente inferior al obtenido en selecciones australianas.

NÚMERO DE SEMILLAS

El valor medio del número de semillas producido por unidad de superficie de los ecotipos autóctonos es ligeramente inferior al de las colecciones australianas, como ya había ocurrido en el número de glomérulos (Figura 2).

Aunque la mayor parte de los ecotipos tienen valores comprendidos entre 30 y 100 semillas por muestra, la campana de distribución se alarga en valores crecientes de hasta 200 semillas, valores que sólo han sido superados por el cultivar 'Dinninup' entre los extranjeros.

El número de semillas por unidad de superficie de los ecotipos autóctonos no se correlaciona con la fecha de inicio de la floración, ni con la capacidad de enterrar, ni con el peso de 1000 semillas. Sólo lo hace con el peso de semilla producido por unidad de superficie ($r = 0,83$).

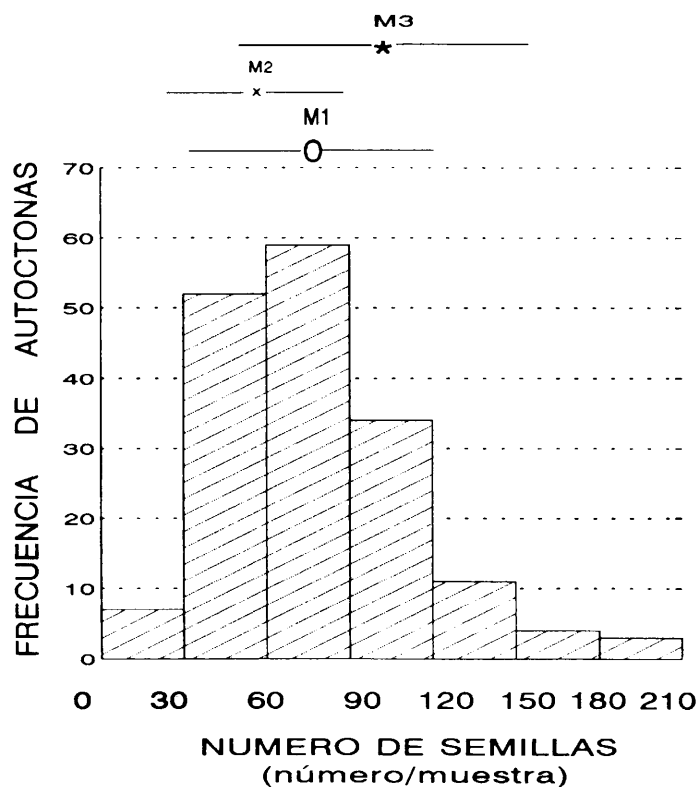
Producción de semilla

Entre los valores de producción de semilla obtenidos en las muestras y los valores totales de producción por línea existe una correlación positiva ($r = 0,37$ y $r = 0,31$) en las autóctonos y en la colección de otras regiones españolas, a pesar de la heterogeneidad encontrada entre los distintos ecotipos en distribución espacial que ya se ha mencionado. Sin embargo la heterogeneidad entre las variedades extranjeras es mayor, pues, por ejemplo, 'Woogenellup' y 'Geraldton' concentraron bastante las semillas próximas al cuello de la planta mientras 'Howard', 'White Seed' y 'Nangela' las distribuyeron bastante alejadas del cuello.

FIGURA 2

Número de semillas: Distribución de frecuencias de ecotipos autóctonos con igual número de semillas encontradas en 46 cm².

Seed number: Frequency distribution of autochthonous ecotypes showing the same number of seeds in samples of 46 cm².



M1 = media y desviación típica de ecotipos autóctonos
 M2 = medias y desv. típ. de ecotipos de otras regiones españolas
 M3 = media y desv. típ. de las selecciones australianas estudiadas

La producción de semilla por unidad de superficie se correlaciona con el tamaño de las semillas (peso de 1000 semillas) en los ecotipos autóctonos de la zona y en la colección procedente de otras regiones, obteniéndose mayor producción con semillas de mayor tamaño ($r = 0,60$ y $r = 0,58$); esta correlación no se verifica en las selecciones extranjeras debido a que algunos cultivares de pequeño tamaño de semillas como 'Dinnup' han resultado ser muy productivos, mientras otros con semillas de gran tamaño

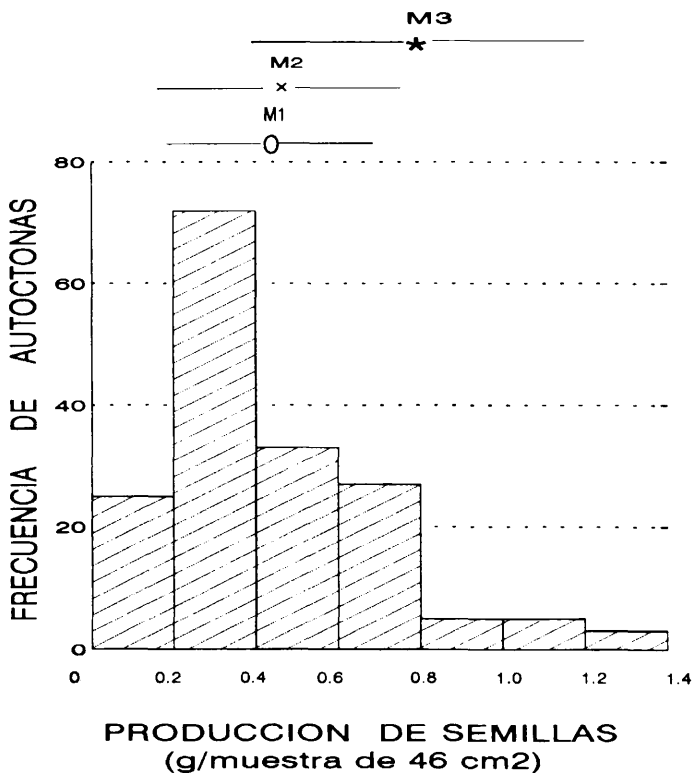
como "Owed Belif" e incluso "Bacchus Marsh" obtuvieron producciones muy bajas.

Los valores obtenidos en las muestras extraídas en los ecotipos autóctonos se encuentran entre 0,00 y 1,34 g. La producción total de las líneas de 1,5 m de longitud ha alcanzado valores de hasta 457 g (equivalente aprox. a 2100 kg/ha) aunque el valor medio es de 136,13 g, unos 600 kg/ha. Las campanas de frecuencias de valores encontrados en las muestras de 46 cm² y en el total de la línea se expresan en las Figuras 3a y 3b.

FIGURA 3A

Producción de semillas: Distribución de frecuencias de ecotipos autóctonos con igual producción de semilla en las muestras tomadas próximas al cuello de la planta.

Seed production: Frequency distribution of autochthonous ecotypes showing the same seed production in samples taken near the crown of the plant.



M1 = media y desviación típica de ecotipos autoctonos

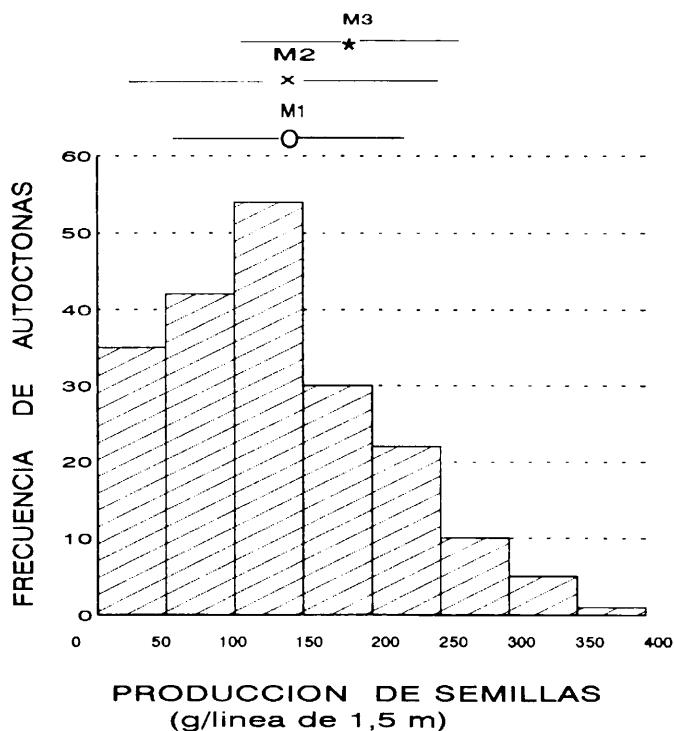
M2 = medias y desv. típ. de ecotipos de otras regiones españolas

M3 = media y desv. típ. de las selecciones australianas estudiadas

FIGURA 3B

Producción de semillas: Distribución de frecuencias de la producción total de semilla en las líneas sembradas con ecotipos autóctonos de trébol subterráneo.

Seed production: Frequency distribution of total seed production in lines sown to autochthonous ecotypes of subterranean clover.



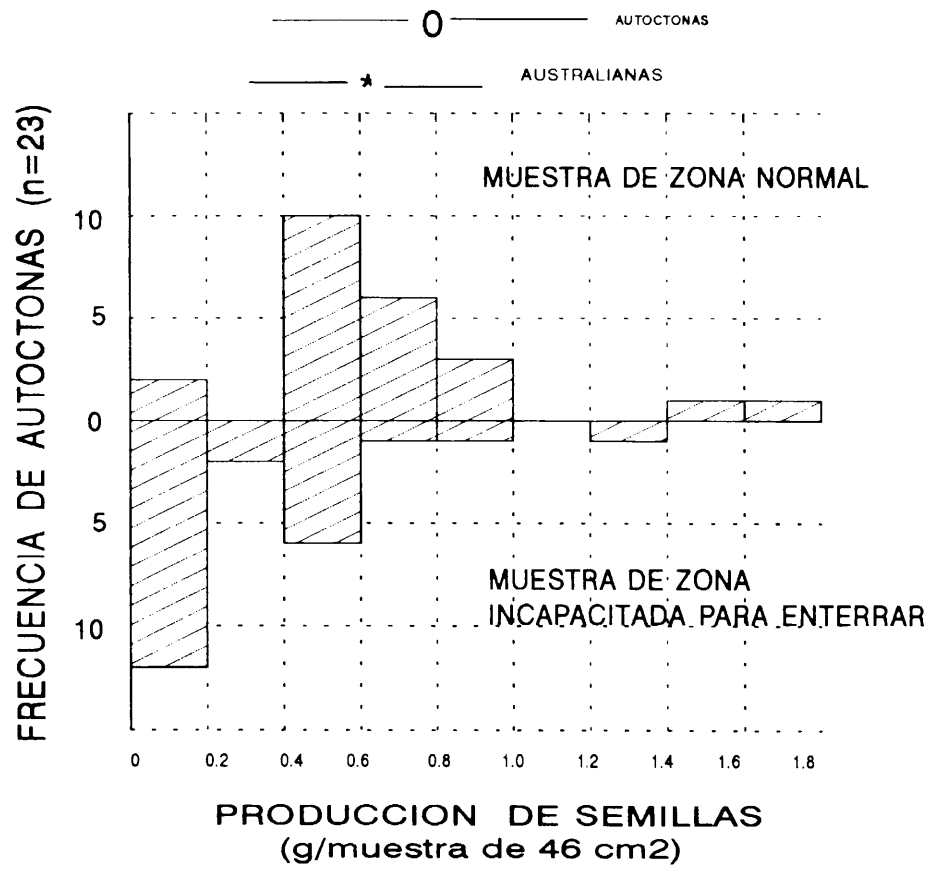
No es significativa la correlación entre producción total de semilla y longitud del ciclo vegetativo en los ecotipos autóctonos, pero sí se observa cierta tendencia ($r = 0,31$ y $r = 0,35$) en las producciones por línea de los ecotipos de otras regiones y cultivares extranjeros indicando mayor producción al alargarse el ciclo vegetativo. Los valores para el máximo de frecuencias de producción media de semilla son inferiores en la colección de autóctonos y en las selecciones que en los cultivares extranjeros

Cuando los glomérulos han podido enterrarse generalmente dieron mayor producción de semillas principalmente debido a un incremento del peso medio de las semillas (Figura 4).

FIGURA 4

Influencia del enterrado en la producción de semillas: Distribución de frecuencias de producción de semilla por los ecotipos autóctonos de trébol subterráneo encontrada en las muestras tomadas en zonas donde era posible el enterrado de las semillas (parte superior), y donde se evitó el enterrado (parte inferior).

Influence of burr burial on seed production: Frequency distribution of seed production by the autochthonous ecotypes of subterranean clover found in samples taken where burr burial burr possible (top side) and where wsa burial was prevented (botton side).



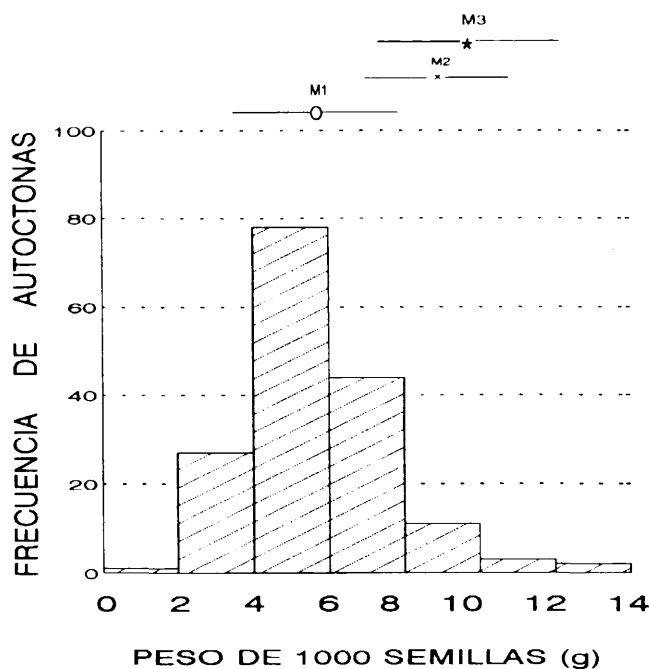
Tamaño de las semillas.

El dato que se utiliza para estudiar el tamaño de las semillas es el peso de una muestra de 1000 semillas. En la Figura 5 se observa que el tamaño medio de las semillas de los ecotipos autóctonos es, generalmente, inferior al de los comerciales, como es lógico esperar ya que el tamaño de las semillas ha sido uno de los criterios utilizados para su selección. Sin embargo, sobre la campana de frecuencias se observa que existen ecotipos con tamaño aceptable de semillas y, al tener algunos alta producción de semillas, podrían ser utilizados en una selección en futuros programas de mejora.

FIGURA 5

Peso de 1000 semillas: Distribución de frecuencias de ecotipos autóctonos con el mismo valor para el peso de 1000 semillas.

Weight of 1000 seeds: Frequency distribution of autochthonous ecotypes with the same value for 1000 seed weight.



M1 = media y desviación típica de ecotipos autoctonos
 M2 = medias y desv. típ. de ecotipos de otras regiones españolas
 M3 = media y desv. típ. de las selecciones australianas estudiadas

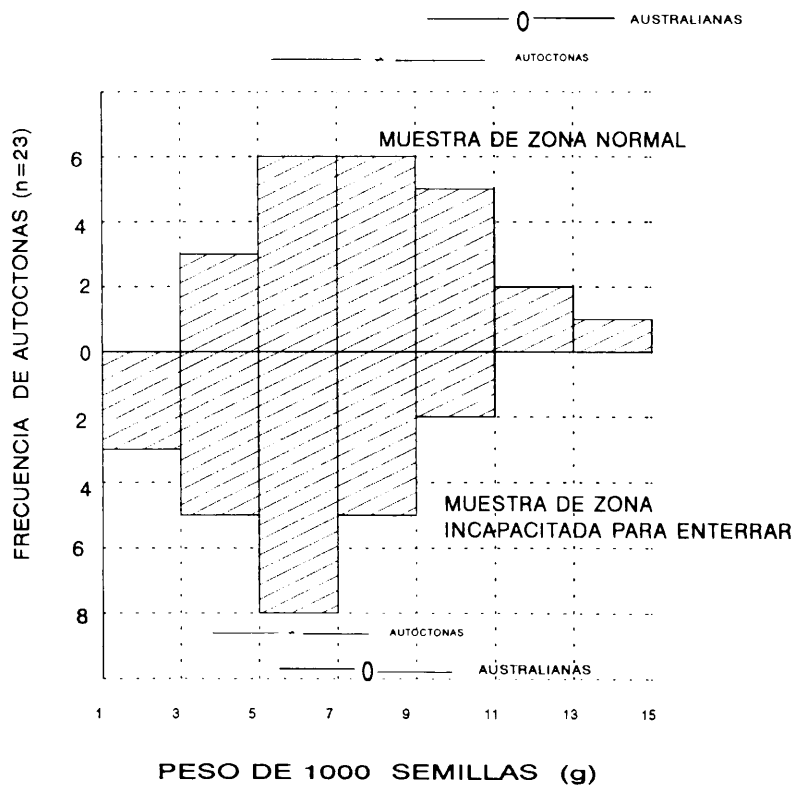
Existe una fuerte correlación positiva entre la producción de semilla enterrada y el peso de 1000 semillas enterradas y, análogamente, con las no enterradas.

El peso medio de las semillas de los ecotipos autóctonos fue de 7,94 mg, superior al de las semillas de glomérulos a los que no se les permitió el enterrado, que alcanzó un valor de 5,85 mg. En las selecciones extranjeras estos valores fueron de 11,60 y 7,89 mg respectivamente (Figura 6).

FIGURA 6

Influencia del enterrado en el peso de 1000 semillas : Distribución de frecuencias de ecotipos autóctonos con el mismo valor para el peso de 1000 semillas procedentes de zonas con posibilidad para el enterrado (parte superior), y de zonas donde se evitó el enterrado de las mismas (zona inferior).

Influence of burr burial on 1000 seed weight : Frequency distribution of autochthonous ecotypes with the same value of 1000 seed weight for seeds taken where burr burial was possible (top side), and where burr burial was prevented (bottom side).



El mayor tamaño de las semillas está correlacionado con el porcentaje de semillas duras (Tabla 1b), pero esta correlación no tiene lugar en semillas de glomérulos a los que se ha impedido el enterrado. Tras el tratamiento con alternancia de temperaturas se invierten las correlaciones (Tabla 2b) indicando una más alta pérdida de dureza de las semillas grandes por efecto de ese tratamiento.

TABLA 2A

Correlaciones obtenidas entre el contenido inicial de semillas duras y la longitud del ciclo, la producción y el peso de las semillas.

Correlation found between initial content of hard seeds and maturity grading, seed production and weight of the seeds.

	Normal *		Sin enterrar **	
	Autóctonas	Otras	Autóctonas	Otras
Número de días a primera flor	0,24	N.S.	N.S.	N.S.
Producción de semilla normal *	0,43	N.S.	N.S.	N.S.
Producción de semilla sin enterrar **	0,25	N.S.	N.S.	N.S.
Peso de 1000 semillas normales	0,40	0,35	N.S.	N.S.
Peso de 1000 semillas sin enterrar	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

TABLA 2B

Correlaciones entre el contenido de semillas duras tras el tratamiento de alternancia de temperaturas y la longitud del ciclo, la producción y el peso de las semillas.

Correlations between hard seed content after the treatment of fluctuation of temperatures and maturity grading, seed production and weight of the seeds.

	Normal *		Sin enterrar **	
	Autóctonas	Otras	Autóctonas	Otras
Número de días a primera flor	N.S.	N.S.	N.S.	-0,33
Producción de semilla normal *	N.S.	-0,25	-0,34	-0,45
Producción de semilla sin enterrar **	- 0,33	N.S.	-0,28	-0,28
Peso de 1000 semillas normales	N.S.	N.S.	-0,29	-0,28
Peso de 1000 semillas sin enterrar	N.S.	-0,44	-0,47	-0,69

* Normal: Semilla procedente de muestras tomadas donde los glomérulos tenían oportunidad de enterrarse normalmente. ** Sin enterrar: Semilla procedente de muestras tomadas en la zona donde se impedía el enterrado de los glomérulos.

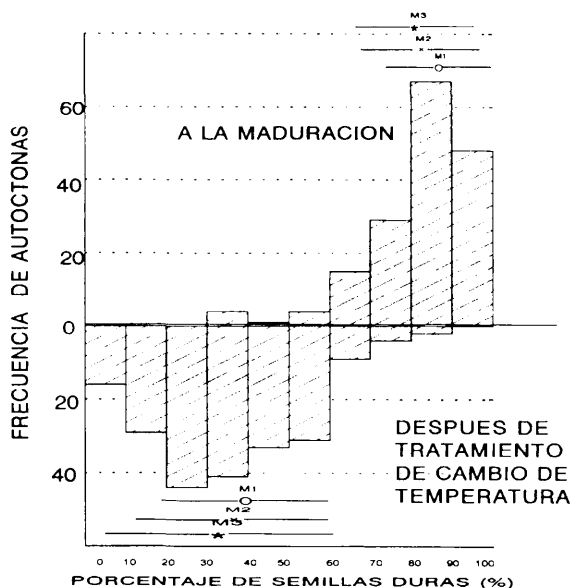
SEMILLAS DURAS

En los porcentajes de semillas duras de la colección abundan los valores superiores al 80 % al momento de la maduración (Figura 7), pero tras el tratamiento con fluctuaciones de temperatura existe una pérdida de impermeabilidad considerable en gran parte de los ecotipos. En la colección de autóctonos se aprecian indicios de que los ecotipos más tardíos tienen mayor dureza seminal ($r = -0,24$).

FIGURA 7

Impermeabilidad de las semillas: Distribución de frecuencias de ecotipos autóctonos que mostraron el mismo porcentaje de semillas duras antes, y después de ser sometidas a un tratamiento de fluctuaciones de temperatura.

Hardseededness: Frequency distribution of autochthonous ecotypes showing the same percentage of hard seeds, before and after having being subject to alternative temperatures.



M1 = media y desviación típica de ecotipos autoctonos
 M2 = medias y desv. tip. de ecotipos de otras regiones españolas
 M3 = media y desv. tip. de las selecciones australianas estudiadas

Entre los cultivares comerciales cabe destacar la pérdida total de impermeabilidad del cv. 'Bacchus Marsh' tras el tratamiento y el valor bajísimo de 'Trikkala', que

pueden ser un grave inconveniente algunos años en nuestras condiciones. 'Woogenellup' mantiene sólo un 17 % de semillas duras, lo que puede estar en el límite de lo admisible. 'Dinninup' y 'Geraldton' tienen valores muy altos de impermeabilidad al final del tratamiento lo que puede dar lugar también a problemas por el otro extremo.

En una muestra reducida de la colección de autóctonos (23 ecotipos) y 12 muestras procedentes de cultivares comerciales y selecciones de otras regiones se comparó el porcentaje de semillas duras entre las procedentes de glomérulos formándose normalmente y las procedentes de aquellos glomérulos a los que no les permitió el enterrado. Este estudio se repitió después de haber sometido todas estas semillas a tratamiento de variación de temperaturas. Las correlaciones observadas entre los valores encontrados y las longitudes de ciclo, producción de semilla y peso de las semillas se expresan en las tablas 2a y 2b. En ellas cabe destacar la tendencia a incrementar el porcentaje de semillas duras en los ecotipos de menor producción de semilla, y la mayor pérdida de impermeabilidad de las semillas grandes tras el tratamiento.

Precocidad de maduración

Con este dato se pretende conocer la variabilidad relativa entre los distintos ecotipos en cuanto a la precocidad de desecación total de la planta, que se supone relacionada con la velocidad de desarrollo de las semillas.

En la colección de autóctonos aparece toda una gama de comportamientos, que van desde las que siendo precoces para iniciar la floración tienen un período de floración muy largo y se mantienen verdes incluso después de emitir las últimas flores, al tipo contrario, entre las que inician la floración muy tarde y maduran y secan precozmente. Similar variabilidad se ha comprobado en los cultivares comerciales. Entre éstas cabe destacar que, incluso en las de floración más temprana, 'Nungarin', 'Northam A' y 'Geraldton' maduran rápidamente con escaso desarrollo de la planta debido al frío y no rebrotan cuando el lapso entre lluvias es grande; en cambio 'Dalkeith', 'Daliak' y 'Seaton Park' se mantienen verdes por más tiempo y se recuperan fácilmente al llegar nuevas precipitaciones.

Aunque en los dos años en que se han tomado los datos, la primavera tuvo una prolongación suficiente como para no considerar los efectos de este comportamiento sobre otros resultados (por ejemplo, la producción de semilla ya que los que maduran con lentitud tuvieron la ventaja de la primavera alargada) cabe resaltar que los cultivares comerciales y selecciones extranjeras de ciclo vegetativo corto muestran cortos períodos de floración y maduración.

También se observa que el aspecto vegetativo de invierno e inicio de la primavera tiene relación con la rapidez de maduración posterior en los cultivares extranjeros. Los cultivares con peor desarrollo invernal tienen más rápida maduración.

Capacidad de enterrar los glomérulos

El terreno utilizado en nuestro estudio tenía un alto contenido de arena fina, idóneo para conseguir una buena penetración de glomérulos, permitiendo así una valoración subjetiva de la tendencia natural de los distintos ecotipos a enterrar sus glomérulos.

Los ecotipos autóctonos parecen tener gran variabilidad de capacidad para el enterrado. En los cultivares extranjeros se observa mayor capacidad de enterrado en los cultivares precoces.

Al impedir el enterrado de glomérulos, se produjo un descenso en el peso medio de semilla producida por unidad de superficie en los ecotipos autóctonos de 0,65 g a 0,33 g y en los cultivares extranjeros de 0,85 g a 0,60 g, debido principalmente a un descenso del tamaño de las semillas (Figura 6).

Contenido en estrógenos

Se observa gran variabilidad entre los distintos ecotipos. Una gran parte de los ecotipos autóctonos analizados no tienen cantidades apreciables de formononetina y sólo tres ecotipos de los 72 analizados tienen contenidos que están alrededor o sobrepasan el nivel del 0,3 % de formononetina, nivel que los australianos (Marshall, 1973) consideran como barrera entre los de bajo y moderado contenido (alto contenido corresponde a valores superiores al 0,8 %). Los cultivares comerciales también muestran valores de formononetina inferiores a lo esperado y, así, 'Howard' y 'Dinninup' que suelen alcanzar porcentajes superiores a 0,8 han tenido en nuestras condiciones 0,13 y 0,29 respectivamente, lo que parece concordar con las observaciones de Gómez *et al.* (1979).

Conformación de las plantas

Si bien el tipo de desarrollo de la planta en las fases iniciales es muy similar para todos los ecotipos, la conformación estructural de las plantas durante la floración tiene gran variabilidad y es un carácter que puede tener gran importancia en la elección de variedades con vista a la persistencia de la planta según el tipo de aprovechamiento a que sea sometida.

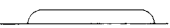
Aunque se observa una gama continua de formas, se pueden considerar cinco tipos distintos señalados en la Figura 8. El tipo 1, de gran frecuencia, emite brotes largos desprovistos de hojas. Los tipos 2 y 3 emiten numerosas ramificaciones relativamente cortas pero muy densas en hojas que dan una fuerte protección a las flores y mantienen bien la humedad del terreno bajo ellas por lo que podrían ser interesantes para aprovechamiento intensivo con ganado ovino. Los de tipo 4 tienen un desarrollo aceptable en altura y extensión (a este tipo pertenecen la mayoría de cultivares australianos) y entre los autóctonos se encuentran algunos que podrían ser seleccionados para aprovechamiento por ganado bovino y ovino. Al tipo 5 pertenecen mayormente los ecotipos de la subespecie *brachycalycinum*; Suelen tener una zona central relativamente más densa y mas largas ramificaciones, que si bien las puede convertir en buenas invasoras, difícilmente esto podrá ocurrir en condiciones normales de pastoreo.

FIGURA 8

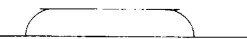
Tipos de conformación estructural observados en los ecotipos autóctonos.

Types of plant shape found in autochthonous ecotypes.

Tipo 1 (75 ecotipos)



Tipo 3 (34 ecotipos)



Tipo 2 (36 ecotipos)



Tipo 4 (30 ecotipos)



Tipo 5 (18 ecotipos)



DISCUSIÓN

La producción de semilla es un dato de gran relevancia a tener en cuenta en un programa de selección, ya que por sí solo da idea de la adaptación al medio en que se estudia. También permite valorar su potencial como alimento en épocas de escasa producción herbácea.

Aunque una alta producción de semillas suele ser el fruto de una alta producción herbácea en condiciones óptimas para cada planta, no siempre las condiciones permiten que esta correlación sea positiva, sobre todo cuando el periodo vegetativo se encuentra limitado por uno cualquiera de los extremos, como ocurre en nuestro caso con algunos cultivares comerciales y ecotipos autóctonos, lo que hace difícil conseguir una correlación entre longitud del ciclo y producción de semilla.

La colección ha mostrado una amplia gama de valores con respecto a este carácter de producción de semilla, y ello nos hace razonar que la alta producción de semilla por si sola no es un índice válido para valorar la persistencia del trébol subterráneo, ya que aparte del manejo del ganado, otros factores como son el tamaño de las semillas, la capacidad de enterrado de los glomérulos, el porcentaje de semillas duras, la viabilidad de las semillas, etc., inciden sobre la persistencia de la especie en la pradera a lo largo de los años. Por ello se discutirá el efecto que algunos de estos factores pueden tener sobre el potencial de producción.

Dentro de la variabilidad de tamaños obtenidos, se observa mayor frecuencia de semillas de pequeño tamaño en nuestra colección de autóctonas, con valores medios inferiores a los obtenidos en las colecciones extranjeras y en otras regiones de climas más templados, resultados que están de acuerdo con las observaciones de Morley (1961).

El tamaño de las semillas juega un papel importante en el inicio de la estación, no sólo por el mayor vigor radicular de las plántulas, sino también por una más eficiente competitividad por luz frente a otras especies en las primeras fases de desarrollo. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que a igual peso de semilla producida las semillas más pequeñas pueden tener ventajas en competencia con otras en pastos de comunidades poco densas (Salisbury, 1942).

Por otra parte, Quinlivan (1978) señala que el tamaño de las semillas y su viabilidad dentro de la subespecie *subterraneum* están relacionados con el enterrado de los glomérulos sin definir exactamente en qué medida afecta la luz o el contacto mecánico y químico del glomérulo con el suelo. La mayor penetración de los glomérulos observada en los ciclos más precoces de las comerciales está de acuerdo con lo descrito por Francis *et al.* (1972) que explica que éstos han evolucionado en lugares de primaveras cortas donde los glomérulos necesitan de la protección del enterrado para su desarrollo normal (Yates, 1958). Sin embargo, la mayor frecuencia en nuestros ecotipos autóctonos corresponde a ciclos largos y, a diferencia de los cultivares comerciales de ciclo largo que muestran poca capacidad de enterrar, dentro de los ecotipos autóctonos se encuentra gran variabilidad de capacidad de enterrar dentro de cada uno de los diferentes ciclos. Ello parece indicar que en regiones frías de primavera larga como es

nuestro caso, la capacidad de enterrar no ha supuesto una barrera ecológica en su selección natural.

Parece ser que la humedad mantenida en el terreno y el ambiente fresco que permite alargar la primavera en nuestras condiciones, junto con la desecación final con la llegada del verano, da lugar a un alto contenido en semillas duras que defiende de la germinación en falso tras las tormentas de verano. Las considerables variaciones de temperatura disminuyen la impermeabilidad en la mayoría de los ecotipos dejando valores de semillas permeables muy aceptables para obtener una buena cobertura con las lluvias de final del verano. Las semillas que germinan a principios de septiembre e, incluso a finales de agosto, suelen sobrevivir con los rocíos aunque existan períodos relativamente largos hasta las siguientes lluvias.

Gladstones (1967) señala que los ecotipos tardíos tienden a poseer bajos porcentajes de impermeabilidad, pero también ha comprobado que se hereda la dureza seminal de los progenitores cuando se ha tratado de obtener por mutación variaciones en el ciclo de las plantas y sugiere que los caracteres de precocidad y dureza se deben más a la adaptación a los ambientes de procedencia que a motivos fisiológicos, lo que concuerda con nuestros resultados.

Algunas veces la primavera queda truncada en esta zona oeste de la Región de Castilla y León por una ola de calor prematura. Este fenómeno dejaría en ventaja a aquellos ecotipos que teniendo un ciclo vegetativo largo hasta inicio de floración emitiesen rápidamente gran cantidad de flores y la semilla madurase normalmente antes de llegar a ese final comprometido. Este es un factor a tener en cuenta en un programa de selección y, con tal fin, se han considerado estos datos, ya que al no producirse primavera corta durante la realización de este trabajo no se ha podido observar el efecto de la precocidad de maduración sobre otros caracteres como la producción de semilla en condiciones de primavera reducida.

El cultivar 'Woogenellup' es el único que ha mostrado cierto crecimiento invernal., y aunque cultivares como 'Tallarook' y 'Mount Barker' se adaptan relativamente bien a nuestras condiciones, algunas líneas autóctonas han mostrado mayor potencial productivo tanto en semillas como en materia seca. Algunos ecotipos de la subespecie *brachycalycinum* tienen mayor resistencia al frío que el cultivar Clare, aunque éste se recupera bastante bien cuando sobrevive. También son superiores algunas selecciones estudiadas como las obtenidas por el antiguo IFIE, CO-4 y BA-7 especialmente.

A partir de los resultados de este trabajo se han seleccionado las siguientes líneas: **119** (recogida en la carretera de Salamanca a Alba de Tormes, km 10,8), **122** (Carretera de Salamanca a Zamora, km 20), **138** (Canillas), **139** (Alberguería de Argañán), **258**

(Vitigudino), **266** (Carretera a Sando), **271** (Cruce de carretera a Sequeros con carretera a Peña de Francia), **306** (San Muñoz) y **336** (Carretera de Alba de Tormes a Piedrahita).

Las líneas 138, 258 y 271 pertenecen a la subespecie *brachycalycinum* y las restantes son ssp. *subterraneum* (Katznelson y Morley, 1965). Todas ellas han mostrado capacidad para alcanzar una alta producción de semilla, resistencia a perder la impermeabilidad al estar sometidas a cambios de temperatura y buenas expectativas en cuanto a producción forrajera.

El bajo contenido estrogénico de los ecotipos autóctonos, sobre todo de formononetina que parece ser el principal responsable de la actividad estrogénica, contrasta con las conclusiones de Rossiter y Beck (1966) que sostienen que el frío puede aumentar el contenido en isoflavonas. Sin embargo, el trabajo de Gómez *et al.* (1979) comparando el contenido de estrógenos en plantas simultáneamente en dos ambientes distintos (Badajoz y Perth) sugieren que si bien la cantidad de estrógenos puede aumentar con el frío, al aumentar el espesor de las hojas y la fibra cuando las plantas crecen en ambientes fríos puede hacer disminuir el porcentaje de estrógenos respecto a materia seca.

CONCLUSIONES

El trébol subterráneo autóctono puede quedar definido según el estudio de las características anteriormente mencionadas como sigue:

- Tamaño de semilla similar o inferior a las más pequeñas de los cultivares comerciales.
- Latencia invernal casi total.
- Ciclo vegetativo largo comparable a 'Tallarook'.
- Elevado contenido de semillas duras a la maduración.
- Rápida caída de la impermeabilidad de las semillas por oscilaciones diarias de temperatura en verano.
- Hábito de crecimiento más rastrero y denso que los cultivares comerciales.
- Bajo contenido en formononetina en su materia seca.
- Producción de semilla generalmente más baja que en los cultivares comerciales, aunque algunas líneas los sobrepasan considerablemente.
- Amplias distribuciones de frecuencias en la eficiencia de la floración, en el número de glomérulos y en la velocidad de maduración de las semillas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se llevó a cabo gracias al proyecto: Introducción de especies pascícolas en zonas de secano del piso supramediterráneo de Castilla y León, financiado por el INIA.

Los autores quieren agradecer a los Duques de Alba y al Centro de Diagnóstico de Aldearrubia la cesión de terrenos para realizar los ensayos, al Departamento de Pastos y Forrajes del Servicio de Investigación Agraria de Extremadura su colaboración en el análisis de contenido en estrógenos y, también, la valiosa colaboración del personal auxiliar de este Departamento, principalmente Juan Hernández Peral y José Antonio Iglesias Gutiérrez.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORDERO, S.A.; CRESPO, M. C., 1985. El trébol subterráneo en Salamanca. Estudio de ecotipos autóctonos y de adaptación de cultivares foráneos. *Actas de la XXV Reunión Científica de la SEEP*, Tomo 2, B 5.
- CORDERO, S.A.; CRESPO, M. C., 1986. Estudio del trébol subterráneo en Salamanca. I. Clasificación botánica y fechas de floración. *Investigación Agraria, Produc. y Protec. Veget.*, **1** (3), 331-347
- CRESPO, D., 1997. Pastagens extensivas do sudoeste da Península Ibérica. Produzir mais conservando melhor. *Actas de la XXXVII Reunión Científica de la SEEP*, 163-182
- FRANCIS, C.M.; QUINLIVAN, B.J.; NICOL, H.I., 1972. Variation in burr burial ability in subterranean clover. *Aust. J. Agric. Res.*, **26**, 281-294.
- GARCIA RODRÍGUEZ, A., 1966. *Mapa de suelos de la provincia de Salamanca*. Publicaciones IOATO del C.S.I.C. de Salamanca
- GLADSTONES, J.S., 1967. Naturalized subterranean clover strains in Western Australia. A preliminary agronomic examination. *Aust. J. Agric. Res.*, **18**, 713-731.
- GÓMEZ, C.; RAMOS, A.; FRANCIS, C.M., 1979. Diferencias en tiempo de floración y contenido estrogénico en el trébol subterráneo en dos ambientes mediterráneos de España y Australia. *Anales INIA. Serie Producción Vegetal*, **10**, 59-66.
- KATZNELSON, J. ; MORLEY, F.H.W., 1966 A taxonomic revision of section *Calycomorphum* of the genus *Trifolium*. *Israel J. Bot.*, **14**, 112-154.
- MARSHALL, T., 1973. Clover disease. *J. Dept. Agric. W.A.*, **14**, 198-206.
- MORLEY, F.H.W., 1961. The inheritance and ecological significance of seed dormancy in subterranean clover. *Aust. J. Biol.*, **11**, 261-273.
- OLEA, L.; PAREDES, J.; VERDASCO, M.P., 1988. Necesidades de pasto (cantidad y calidad) para el ganado ovino en sistemas extensivos y condiciones semiáridas-mediterráneas. *Pastagens e Forragens*, **9** (2), 29-37
- OLEA, L.; PAREDES, J.; VERDASCO, M.P., 1990-1991. Características y producción de los pastos de las dehesas del S.O. de la Península Ibérica. *Pastos*, **20-21** (1-2), 131-156.
- QUINLIVAN, B.J., 1968. Seed coat impermeability in the common legume pasture species in Western Aus-

- tralia. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, **8**, 696-700.
- QUINLIVAN, B.J., 1978. *El trébol subterráneo en el sudoeste español*. Comunicaciones INIA. Serie Producción Vegetal. N° **19**.
- QUINLIVAN, B.J.; FRANCIS, C.M., 1971. The effect of burr burial on the seed of some early maturing subclover cultivars. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, **11**, 35-38.
- QUINLIVAN, B.J.; NICOL, H.J., 1971. Embryo dormancy in subterranean clover seed. I. Environmental control. *Aust. J. Agric. Res.*, **22**, 599-606.
- ROSSITER, R.C., 1961. The influence of defoliation on the components of seed yield in swards of subterranean clover. *Aust. J. Agric. Res.*, **12**, 821-831.
- ROSSITER, R.C., 1966. The success or failure of *Trifolium subterraneum* L. in a mediterranean environment. *Aust. J. Agric. Res.*, **17**, 425-446.
- ROSSITER, R.C. ; BECK, A.B., 1966. Physiological and ecological studies on the oestrogenic isoflavones in subterranean clover. I. Effect of temperature. *Aust. J. Agric. Res.*, **17**, 29-37.
- SALISBURY, E.J., 1942. *The reproductive capacity of plants*. Ed. G.Bell and sons. London.
- YATES, J.J., 1958. Seed setting in subterranean clover. II. Strain-environment interactions in simple plants. *Aust. J. Agric. Res.*, **9**, 754-766.

SUMMARY

The performance of 196 autochthonous ecotypes of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) collected from the west area of Castilla-León, regarding mainly to its seed production, was studied. The results were compared with those of ecotypes from other Spanish regions and several foreign cultivars. Autochthonous ecotypes showed, as a rule, no great winter growth, prostrate habit of growth, great percentage of hardseededness at maturity, and less production of seed, and seed size, than commercial varieties. The ecological significance of the results is discussed, and as a result of the variability found in the collection, nine ecotypes were chosen to be included in a future program of selection under grazing condition.

Key words: Plant genetic resources, pasture legumes, species selection, pasture improvement, species introduction.