

T. MENDIZABAL, J. PASTOR, A. MARTIN y S. OLIVER

Germinación y efecto de las bajas temperaturas sobre  
la nascencia, supervivencia y desarrollo del trébol  
subterráneo

Separata de la revista PASTOS correspondiente al vol. 3, núm. 2, año 1973

# Germinación y efecto de las bajas temperaturas sobre la nascencia, supervivencia y desarrollo del trébol subterráneo

T. MENDIZÁBAL, J. PASTOR, A. MARTÍN y S. OLIVER

Instituto de Edafología y Biología Vegetal (C.S.I.C.). Madrid

## RESUMEN

*Con el fin de conocer la influencia de los factores ambientales sobre la germinación y diferentes fases del ciclo de desarrollo del trébol subterráneo en un lugar de clima mediterráneo extremado (Madrid), se ha trabajado con siete cultivares australianos y ocho poblaciones autóctonas.*

*En las pruebas de germinación, las poblaciones españolas dieron porcentajes comprendidos entre el 31 y el 82 %. No se encontró diferencia apreciable en los porcentajes de germinación con la edad de la semilla a los dos años de su maduración. Se obtuvieron también los porcentajes de semillas germinadas después de sometidas a un proceso de escarificación, que hacemos sinónimas de «semillas duras»; cinco de las ocho poblaciones tuvieron un porcentaje igual o superior al 40 %.*

*Hemos evaluado el comportamiento de las poblaciones autóctonas y cultivares australianos, respecto a las bajas temperaturas, en dos ensayos al aire libre, considerando la nascencia, el porcentaje de plantas que prosperan y el porte de las mismas en las fases tempranas de crecimiento, bajo tres puntos de vista: a) comportamiento de las poblaciones y de los cultivares; b) comparación del material según el lugar de procedencia, y c) comparación a nivel subespecífico.*

*La respuesta de las plantas fue diferente en ambos ensayos. En el primero, sembrado a finales de otoño, el número de plantas que nacieron no alcanzó el 30 % y el número de plantas que prosperaron sólo llegó en un cultivar al 15 %, quedando en ocho cultivares y poblaciones por debajo del 5 %. En el segundo ensayo, sem-*

brado a finales de invierno, la gran mayoría de las plantas que nacieron lograron prosperar excepto en tres cultivares: Woogenellup, Clare y Dwalganup. El distinto comportamiento de las plantas en ambos ensayos se debió a las diferentes condiciones de temperatura, que fueron notablemente más bajas durante el primero.

El material australiano mostró una gran heterogeneidad en su respuesta al ambiente, en tanto que el material español dio una respuesta mucho más homogénea.

Asimismo, observamos la mayor adaptación al frío de la *ssp.* subterraneum frente a la *ssp.* brachycalycinum, a pesar de ser las poblaciones indígenas de esta última subespecie de las más septentrionales entre las recogidas por nosotros en todo el occidente de España.

Considerando el crecimiento relativo de los cultivares y poblaciones en el estadio de planta joven, se apreció un retraso mayor en el crecimiento en ocho de ellos a causa de las bajas temperaturas. No se observaron sensibles diferencias ni en cuanto al origen del material ni a nivel subespecífico.

Finalmente, hemos estudiado la influencia del frío sobre la época de floración de los cultivares australianos en siembras de principios de primavera y finales de invierno en dos años distintos. Los cultivares tempranos, así como el cultivar Clare, retrasaron su floración a causa de las bajas temperaturas; por el contrario, los otros cultivares de ciclo medio y tardío adelantaron su época de floración por el efecto inductivo de las bajas temperaturas. Dentro de estos últimos, los que mostraron mayores exigencias de frío fueron Mount Barker y Tallarook; este cultivar no floreció en el año 1969 por no cubrir sus exigencias en frío.

## INTRODUCCIÓN

El éxito tanto de la introducción como de la persistencia de las especies vegetales depende en parte del conocimiento de los principios ecológicos.

Para poder desarrollar la potencialidad de los pastizales seminaturales en ambientes mediterráneos de condiciones climáticas extremadas como son las de la meseta castellana, tiene gran importancia la recolección, selección y mejora de especies a partir de la flora indígena con el fin de disponer de semillas adaptadas a los diferentes habitats de dicha zona.

Con este objetivo hemos efectuado la recolección de semillas de especies anuales del género *Trifolium*, fundamentalmente de *Trifolium subterraneum* L., tanto por su valor agrícola como porque el estudio de las poblaciones autóctonas se ha hecho acuciante en nuestro país a causa de las introducciones de cultivares australianos que se vienen realizando desde 1953 y que se van a incrementar en los próximos años por disposiciones recientes encaminadas a aumentar la producción forrajera.

Son escasos los datos ecológicos sobre el trébol subterráneo, procedentes de la observación de los habitats naturales y del estudio de la flora en los diferentes países mediterráneos: RIVAS GODAY (34), PIRE SOLÍS (27),

MORLEY y col. (23), KATZNELSON y col. (14), (15) y (16) y BAJIC y MISCIC (4). La mayoría de la información publicada sobre la ecología y fisiología de esta especie se ha obtenido casi exclusivamente de un número reducido de cultivares australianos, cuyos lugares de origen se desconocen.

El trébol subterráneo, especie anual de invierno de la región mediterránea, germina con las lluvias de otoño en cualquier fecha, desde septiembre a diciembre, según la localidad y la latitud.

Factores de indudable importancia en la implantación de leguminosas anuales son la cantidad y distribución de las lluvias de otoño y el régimen de temperaturas. Cuando las lluvias de otoño son tardías, el trébol subterráneo tiene que soportar bajas temperaturas durante la germinación y primeras fases de desarrollo, llegando pronto el período de parada invernal. Las condiciones son mucho más favorables en los años de lluvias tempranas de otoño, ya que las plantas logran implantarse antes de la llegada de los fríos invernales, siendo más abundantes los tréboles y, en general, las leguminosas espontáneas que cuando la estación otoñal es seca y las lluvias tardías.

Dentro del ciclo de desarrollo del trébol subterráneo, el período más sujeto a la influencia ambiental es el que va desde la época de siembra hasta la iniciación de la floración. DONALD (7), trabajando en Canberra (altitud 622 metros), de características climáticas que consideraba semejantes a las de la meseta castellana, y concretamente a las de Madrid, encontró, además, que las heladas durante la floración iniciada a finales de invierno eran aparentemente el factor principal que regía la producción de semillas. Así, en altitudes donde es probable que las heladas reduzcan la cantidad de semillas, las siembras muy tardías mejorarán considerablemente la perspectiva de una cosecha abundante en semillas. Aunque la fecha de germinación en los años sucesivos no es controlable, una buena cosecha inicial puede ser un factor útil en la implantación con éxito del trébol subterráneo.

En tales climas la floración tardía es un mecanismo adaptativo específico tan valioso en la supervivencia como lo es la floración temprana en regiones con una estación corta de precipitación, ya que el período de aridez es otro factor crítico que afecta a la producción de semillas.

Cuando las condiciones de humedad tienden a disminuir rápidamente en la primavera, la mayor producción de semillas se obtiene con cultivares tempranos, mientras que si se alargan las condiciones favorables en esta estación los cultivares de ciclo medio y los tardíos resultan mejores productores de semillas. En nuestro clima, en el que los meses de primavera y verano son de creciente aridez, el problema que ésta causa se presenta, según las localidades, más o menos tarde (PIRE SOLÍS) (27).

De todo lo expuesto se deduce que no sólo la germinación e implantación, sino también la producción de semillas, están estrechamente influenciadas por las condiciones climáticas.

Nuestro propósito ha ido encaminado a conocer el comportamiento del trébol subterráneo en un lugar de clima más extremado (Madrid) que los estudiados hasta el momento, para completar una serie de trabajos que han sido realizados por diversos investigadores sobre cultivares australianos dirigidos al conocimiento de la influencia de los factores am-

bientales sobre la germinación y diferentes fases del ciclo de desarrollo en otros lugares de clima mediterráneo. Asimismo, tomando estos cultivares como referencia, aportar información sobre algunas poblaciones españolas.

El trabajo constará de los apartados siguientes:

- I. Germinación.
- II. Evaluación del comportamiento de las poblaciones autóctonas y cultivares australianos respecto a las bajas temperaturas, considerando: la nascencia, el porcentaje de plantas que logran prosperar y porte de las plantas en las fases tempranas de crecimiento; y
- III. Floración e influencia del frío sobre la misma.

## PARTE EXPERIMENTAL

### MATERIAL

Se ha trabajado en ocho poblaciones autóctonas y siete cultivares australianos de *Trifolium subterraneum* L., cuatro poblaciones nacionales y seis cultivares de la ssp. *subterraneum* y cuatro poblaciones nacionales y un cultivar australiano de la ssp. *brachycalycinum* Katzn. et Morley.

Los cultivares australianos fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Selección de Semillas y Plantas de Vivero. Las semillas de las poblaciones españolas se recogieron en sus habitats en el otoño de 1970, excepto la población *Santiago*, que se recolectó en el verano de este mismo año; se sometieron a un tratamiento de desinfección en atmósfera de sulfuro de carbono.

Las localidades de procedencia se detallan en la tabla 1, así como los cultivares australianos utilizados.

### MÉTODOS

*Germinación.*—En el laboratorio se realizaron dos pruebas de germinación: la primera, inmediatamente después de la recogida de otoño de 1970, donde se ensayaron la totalidad de las poblaciones nacionales y los cultivares australianos, y la segunda, dos años más tarde, otoño de 1972, en el que se ensayaron únicamente las poblaciones autóctonas.

Se pusieron a germinar 200 semillas de cada población en cápsulas Petri cubiertas interiormente con papel de filtro humedecido con agua destilada, a temperatura de 18° C y en la oscuridad. Se observó diariamente el incremento de semillas germinadas y se consideró que había finalizado el proceso cuando, durante cinco días, no ocurrió ninguna nueva germinación.

Las semillas no germinadas de la segunda prueba se secaron al aire durante veinticuatro horas, se escarificaron y se introdujeron nuevamente en cápsulas Petri en iguales condiciones que las citadas anteriormente.

TABLA 1

Poblaciones autóctonas y cultivares australianos de *Trifolium subterraneum* L.

Poblaciones autóctonas y lugar de origen	ssp.	CARACTERISTICAS DEL HABITAT			Cultivares australianos	ssp
		Descripción	Altitud (m)	Estaciones meteorológicas de referencia		
<b>AVILA:</b>						
Lanzahita ... ..	S	Prado húmedo, pendiente suave, exposición Sur ... ..	450	Candelada. F. el Rincón. Piedralaves. Pililla Chica.	Bacchus Marsh ... ..	S
<b>TOLEDO:</b>						
Santa Olalla ... ..	S	Prado llano ... ..	480	Cazalegas. Vivero	Dwalganup ... ..	S
Santa Olalla ... ..	B	Prado llano ... ..	480	Gerindote. F. Casanueva.	Geraldton ... ..	S
Monte Picaza ... ..	B	Pastizal, pendiente suave, expo- sición NO ... ..	675	Calera y Chozas.	Mount Barker ... ..	S
Río Fresnedoso ... ..	B	Prado húmedo, llano con árboles.	680	Villarejo de Montalbán.	Tallarook ... ..	S
Río Sangrera ... ..	B	Prado húmedo, llano con árboles.	690	Villarejo de Montalbán.	Woogenellup ... ..	S
<b>MADRID:</b>						
Dehesa de la Villa ... ..	S	Pastizal, pendiente suave, con árboles, exposición Sur ... ..	678	Madrid. Puerta de Hierro.	Clare ... ..	S
<b>LA CORUÑA:</b>						
Santiago ... ..	S	Pastizal, pendiente marcada, ex- posición NO ... ..	250	Santiago de Compostela.		

S (ssp. *subterraneum*); B (ssp. *brachycalycinum*).

*Ensayos al aire libre.*—Se llevaron a cabo dos ensayos en épocas distintas: el primero comenzó el 30 de noviembre de 1970, siendo su duración de tres meses; el segundo se inició el 26 de febrero de 1971 y se dio por terminado a medida que las poblaciones alcanzaban su madurez.

Los ensayos se realizaron en macetas de 27 centímetros de diámetro, colocadas al azar, con cuatro replicaciones por población. Previamente a la siembra en macetas, un elevado número de semillas se sometieron al proceso de germinación ya expuesto, para soslayar los problemas del letargo y dureza de las semillas existentes entre las poblaciones, y se sembraron solamente aquellas semillas que se encontraban en alguna de las fases de la germinación. Se sembraron 20 semillas por maceta; la profundidad de siembra fue aproximadamente de 1,5 centímetros.

El suelo de cultivo fue un suelo típico de pastizal de la zona Centro, procedente de la Dehesa de la Villa (Madrid), del que se tomó la capa superficial, unos 25 centímetros. Este suelo se clasificó de acuerdo con el triángulo de textura como franco-arcillo-arenoso.

Las experiencias se efectuaron en el C.S.I.C. de Madrid, altitud 690 metros. Se anotaron las temperaturas máxima y mínima durante dichos ensayos de los boletines diarios del Servicio Meteorológico Nacional (Observatorio del Retiro).

Se hicieron observaciones a intervalos regulares de una semana; en el primer ensayo se observó el inicio de la nascencia el 1 de febrero, y a partir de esta fecha se anotó el número de plantas nacidas y muertas hasta que el número de plantas nacidas se estacionó, fecha en que se dio por terminado el ensayo.

En el segundo ensayo el inicio de la nascencia de las diferentes poblaciones se observó el 17 de marzo; a partir de esta fecha se anotaron las plantas nacidas y muertas, como en el ensayo anterior. Se consideró terminado el período de nascencia aproximadamente el 20 de abril, ya que con posterioridad a esta fecha apenas varió el número de plantas en ninguna de las poblaciones.

Se estudió el porte de las plantas durante el ciclo vegetativo, a intervalos semanales. En las plantas jóvenes se evaluó el porte, dando valores de 1 a 3. Se halló el valor medio de las cuatro replicaciones de cada población y se ordenaron según su porte, de menor a mayor, en clases. En las dos primeras fechas de observación sólo pudieron apreciarse tres clases; en la tercera observación considerada, las diferencias eran más netas y se apreciaron cuatro clases. En la tabla 3 se dan las clases en las que se agruparon los portes de las poblaciones en las fechas 20 de abril (día en el que se comienza a ver diferencias claras de porte entre las poblaciones), 27 de abril y 3 de mayo.

Siguiendo el ciclo de desarrollo, se observó que el inicio de la floración tuvo lugar en la segunda quincena del mes de mayo; desde este instante se intensificó el ritmo de toma de datos con objeto de conocer el momento de la floración y fructificación de las diversas poblaciones.

## I. GERMINACIÓN

La regulación de la germinación es un proceso de gran importancia en leguminosas anuales de crecimiento invernal, ya que proporciona la única

forma de supervivencia de las especies de una estación a la siguiente y aun durante períodos más largos a través de épocas de sequía y años desfavorables.

La supervivencia del trébol subterráneo en el pastizal depende de dos mecanismos: el letargo o reposo de las semillas y la dureza de las semillas. El primero es transitorio, dura sólo algunos meses después de la maduración. La conservación de la especie a largo término depende esencialmente de las semillas duras, cuya existencia es de mayor significado adaptativo al medio.

KOLLER y col. (17), en una revisión de trabajos realizados sobre la germinación de las semillas, señalaron que las condiciones ambientales antes de la maduración pueden determinar el grado de letargo, si bien existen pocos estudios en los que se haya identificado el papel que desempeñan las variables ambientales (temperatura, fotoperíodo, etc.).

En las regiones de clima relativamente frío, donde pueden existir en el verano condiciones de humedad favorables para una germinación a destiempo, una posterior sequía trae como consecuencia la merma de la especie. En dichos lugares, el letargo de la semilla es un mecanismo necesario, no siéndolo en localidades donde las lluvias están ausentes en el verano.

El significado ecológico y agronómico del letargo en el trébol subterráneo fue estudiado por MORLEY (20) en Canberra, tratando de ver su eficacia en condiciones de campo y su relación con el habitat de origen; observó que el comportamiento de los cultivares respecto al reposo era distinto. GRANT LIPP y col. (11) y BALLARD (5) posteriormente han investigado sobre este punto, destacando que la conservación de las semillas de estación en estación se logra más bien por la dureza de las semillas que por el reposo fisiológico.

En el oeste de Australia, los hallazgos de QUINLIVAN (29) muestran que la regulación de la germinación en una leguminosa anual indígena de las regiones semiáridas *Swainsona canescens* se debe exclusivamente a la impermeabilidad del tegumento y no al letargo del embrión. Por otra parte, MOTT (24), estudiando la germinación de especies anuales de las regiones áridas, *Aristida contorta*, *Helipterum craspedioides* y *Helichrysum cassinianum*, sugirió que el control de la germinación estacional puede deberse en un principio al letargo de las semillas jóvenes y posteriormente a las exigencias térmicas. Asimismo, señaló que requerían una abundante precipitación, ya que la superficie de las semillas necesitaba permanecer húmeda durante algún tiempo antes de germinar.

La dureza de las semillas se debe a un engrosamiento suberizado e impermeable de las células de Malpighio. En ambientes favorables, con períodos amplios de maduración, las semillas poseen una capa más gruesa de suberina y, por consiguiente, tienen un contenido mayor de semillas duras.

El efecto del ambiente sobre la dureza de las semillas y la paulatina desaparición de la dureza fue estudiada en diferentes cultivares de trébol subterráneo por diversos autores.

QUINLIVAN y col. (31) indicaron que los cultivares poseían la cantidad máxima de semillas duras inmediatamente después de la madurez en el campo (recolección de finales de primavera, principios de verano);



encontraron variación significativa entre los cultivares y discutieron el valor agronómico de este hecho.

El ablandamiento de las semillas, según KOLLER y col. (17), se manifiesta como una disminución de las exigencias requeridas para la posterior germinación y puede tener lugar por diferentes caminos, según las especies. Entre los más frecuentes se encuentra la desecación a temperaturas algo elevadas, que pueden actuar bien incrementando la permeabilidad del tegumento a los gases o bien por reducción de su resistencia tensil, a la vez que se incrementa el potencial de absorción de agua por el embrión; otra vía es la erosión causada en los tegumentos impermeables al agua o pétreos por diferentes agentes que actúan en toda su superficie o solamente sobre las regiones más susceptibles a dicha erosión.

QUINLIVAN y col. (28), (30) y (31) observaron la disminución del contenido de semillas duras de los diferentes cultivares a lo largo de los meses de verano y otoño tanto en campo como en laboratorio. El ablandamiento de las semillas duras en campo es más rápido cuando los veranos son cálidos y en lugares donde la hierba da poca sombra protectora sobre los frutos. En algunos cultivares hubo una relación entre el ablandamiento de las semillas y la fluctuación diaria de la temperatura; un gran desarrollo de la parte aérea, si el prado no se pastaba, tenía como consecuencia una escasa germinación en otoño. El ablandamiento, al igual que el nivel residual de semillas duras en el otoño, era distinto según los cultivares.

DONALD (7) indicó que la mayor parte de las semillas de los cultivares de trébol subterráneo ablandan durante el primer verano; las semillas duras residuales en el otoño necesitan para germinar que transcurran dos o más veranos.

GLADSTONES (10) estudió los porcentajes de semillas blandas en 94 cultivares australianos, sometiéndolos a tratamientos de temperaturas alternantes durante seis y doce meses; en el primer período encontró pequeña disminución de la impermeabilidad en muchos cultivares, mientras que en el segundo período el ablandamiento de las semillas fue notable.

WILLIAMS y ELLIOT (citados por 31) estudiaron el porcentaje de semillas duras en *Trifolium hirtum* All., en California. El porcentaje de semillas duras decreció durante el verano de modo acusado en *T. incarnatum* L. y *T. subterraneum* L. Por contraste, en *T. hirtum* All. el nivel de semillas duras permaneció muy elevado (96 %) cuando las semillas procedían de las cabezuelas que aún se encontraban sobre la planta, descendiendo a un 50 % en las semillas procedentes de cabezuelas caídas en el suelo.

HARPER y col. (12), estudiando la germinación de *Trifolium repens* L. y *Trifolium fragiferum* L., al determinar los efectos de la temperatura en intervalos de 5°, comprendidos entre 5° y 35° sobre el porcentaje de germinación y el tiempo invertido en la misma, encontraron que las semillas de *T. repens* L. daban un mayor porcentaje de germinación que las de *T. fragiferum* L. para todas las temperaturas, lo que indicaba que esta última especie poseía una mayor proporción de semillas duras. Ambas especies germinaban más rápidamente a 25°. *T. repens* L. germinaba a ma-

yor velocidad que *T. fragiferum* L. a temperaturas bajas; el comportamiento a 35° era el contrario.

MURTAGH (25) estudió el efecto de la temperatura sobre la germinación de una leguminosa, *Glycinia javanica*, en las diferentes fases de la germinación. Una vez germinadas las semillas a 25°, las sometió a temperaturas de 37° y 45° durante tiempos variables. Encontró que las semillas eran sensibles a las temperaturas elevadas en las dos primeras fases de germinación, decreciendo esta sensibilidad en la tercera fase.

EVENARI (9), al estudiar los problemas fisiológicos de la germinación, señaló que para temperaturas muy bajas de 0° a 8° la germinación no es posible o es extremadamente lenta.

YOUNG y col. (36) estudiaron el efecto de la temperatura en intervalos de 5°, comprendidos entre 0,5° y 20°, sobre la germinación de 11 cultivares australianos de *Trifolium subterraneum* L. y establecieron cuatro grupos: I. *Woogenellup*, indiferente a la temperatura de germinación; II. Constituido por *Clare*, *Geraldton* y *Howard*, que presentaban un acusado descenso de la germinación a los 20°. El óptimo tenía lugar entre 5° y 10°; III. Formado por *Tallarook*, *Mount Barker*, *Bacchus Marsh* y *Yarloop*, cuya germinación se redujo a temperaturas bajas, presentando el óptimo a los 20°, y IV. Integrado por *Dwalganup*, que dio porcentajes pequeños de germinación por debajo de los 10°; una proporción elevada de sus semillas fracasaron en la germinación en todos los niveles de temperatura.

Actualmente, RAYMOND y YOUNG (33), (37) están llevando a cabo una serie de estudios sobre la influencia del microambiente del semillero, esencialmente temperatura y humedad en la germinación, implantación y crecimiento temprano de *Salsola*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las pruebas de germinación efectuadas hemos seguido el criterio dado por EVENARI (9), que consideró como «fin de la germinación» (cuarta fase) la penetración de la radícula a través de los tegumentos, hecho que se produce a la vez que comienza el alargamiento de las células radiculares; esta fase está ligada con el crecimiento. Hemos tenido en cuenta, además, el que la elongación de la radícula se mantuviera durante tres días, con el fin de conocer el número de semillas que logran prosperar; un criterio similar al nuestro ha sido seguido por MURTAGH (25).

El número de semillas de las poblaciones autóctonas y cultivares australianos de *Trifolium subterraneum* L. que logran prosperar, expresado en porcentajes, se da en la tabla 2.

TABLA 2

Porcentajes de germinación de las poblaciones autóctonas y cultivares australianos de *Trifolium subterraneum* L.

Poblaciones autóctonas	ssp.	GERMINADAS		Inviabiles
		Directamente	Con escarificación	
Río Fresnedoso ... ..	B	31	64	5
Santiago ... ..	S	32	63	5
Santa Olalla ... ..	S	39	54	7
Río Sangrera ... ..	B	49	69	2
Monte Picaza ... ..	B	53	36	11
Dehesa de la Villa ... ..	S	58	40	2
Santa Olalla ... ..	B	76	22	2
Lanzahita ... ..	S	82	13	5
<i>Cultivares australianos</i>				
Woogenellup ... ..	S	80		
Dwalganup ... ..	S	95		
Geraldton ... ..	S	95		
Bacchus Marsh ... ..	S	95		
Mount Barker ... ..	S	100		
Tallarook ... ..	S	100		
Clare ... ..	B	100		

S (ssp. *subterraneum*); B (ssp. *brachycalycinum*).

En las dos pruebas realizadas con las poblaciones autóctonas, en otoño de los años 1970 y 1972, comprobamos que no había variación apreciable en los porcentajes de germinación con la edad de la semilla a los dos años de su maduración, ya que los resultados obtenidos en las dos pruebas fueron prácticamente los mismos (oscilación inferior a 4 %). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por YOUNG y col. (36), quienes hicieron pruebas de germinación en otoño con semillas de cultivares australianos recolectados el verano anterior, que repitieron al año siguiente, no encontrando apenas diferencias en los porcentajes de germinación, incluso trabajando con cuatro intervalos de temperatura.

Al comparar los porcentajes de germinación a 18° de los cultivares australianos, que nos habían sido proporcionados por el Instituto Nacional de Selección de Semillas, cuya edad era superior a cinco años (tabla 2), con los datos obtenidos por YOUNG y col. (36) sobre estos mismos cultivares a la misma temperatura, encontramos grandes diferencias entre los porcentajes de germinación, siendo las más acusadas las de *Clare*, *Geraldton* y *Dwalganup*, en los que obtuvieron porcentajes de germinación de 50 %, 50 % y 45 %, respectivamente; las diferencias fueron menos acusadas en *Tallarook*, *Mount Barker* y *Bacchus Marsh*, que germinaron en un 75 %. *Woogenellup* es el único que no mostró diferencias: la germinación fue del 80 % en ambos casos.

El hecho de que la edad de la semilla al transcurrir periodos de varios años pueda afectar al porcentaje de germinación, en el sentido de dis-

minuir el número de semillas duras, unido a que los cultivares australianos son material seleccionado y comercializado, nos llevó a no comparar sus porcentajes de germinación con los de las poblaciones autóctonas.

Las poblaciones españolas dieron porcentajes de germinación comprendidas entre el 31 % y el 82 %. Las diferencias entre las poblaciones eran marcadas; podían establecerse tres grupos: *Río Fresnedoso*, *Santiago* y *Santa Olalla S* (31 %-39 %); *Río Sangrera*, *Monte Picaza* y *Dehesa de la Villa* (49 %-58 %); *Santa Olalla B* y *Lanzabita* (76 %, 82 %).

Estudiando la velocidad de germinación de las diferentes poblaciones encontramos que la mayoría de las semillas, en todas ellas, germinan dentro de los primeros días; tres de las poblaciones: *Dehesa de la Villa*, *Monte Picaza* y *Río Fresnedoso* presentaban manifiesta emergencia de la radícula en las primeras veinticuatro horas; esto no se observó en ninguna de las cinco poblaciones restantes, cuya germinación finalizó durante el segundo día.

Damos también en la tabla 2 los porcentajes de semillas germinadas después de sometidas a un proceso de escarificación, que hacemos sinónimas de «semillas duras», ya que las obtuvimos de las no germinadas directamente y que no habían fracasado en el proceso de germinación al que habían sido sometidas; cinco de las ocho poblaciones tuvieron un porcentaje igual o superior al 40 %. El número de semillas inviables fue pequeño, lo que da consistencia a los resultados obtenidos.

Así, pues, el contenido de semillas duras de las poblaciones de la zona Centro fue elevado; no obstante, en líneas generales fue menor que los porcentajes indicados por BUENDÍA (6) en ecotipos procedentes de Ciudad Real y Extremadura, que fueron del orden de un 70 % en campo, y del 45 al 85 % en el laboratorio a los treinta días. Esta divergencia podría explicarse debido a que dicho autor efectuó la recolección de las semillas a finales de primavera-principio de verano y nosotros las realizamos a finales de verano-principios de otoño, por lo que las semillas habían sufrido fluctuaciones de temperatura que contribuyeron a su ablandamiento.

## II. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LAS POBLACIONES AUTÓCTONAS Y CULTIVARES AUSTRALIANOS RESPECTO A LAS BAJAS TEMPERATURAS.

La diferencia en el comportamiento de los cultivares australianos, en cuanto al número de semillas que logran prosperar en campo, fue observada por DONALD (7) en Canberra, al igual que los diferentes porcentajes de implantación que dieron los cultivares en cuatro años sucesivos.

Generalmente la respuesta al frío está basada exclusivamente en los porcentajes de germinación o en el número de plantas que prosperan. Estos estudios deben incluir además el crecimiento temprano, ya que desde el punto de vista agrícola no sólo es necesario que la planta nazca y sobreviva, sino también que crezca con normalidad, MOCK y col. (19). Esto es de gran interés para la implantación con éxito de una especie, porque sus relaciones de competencia con las especies existentes en la localidad ocurren cuando las bajas temperaturas son el factor más importante en la restricción del crecimiento.

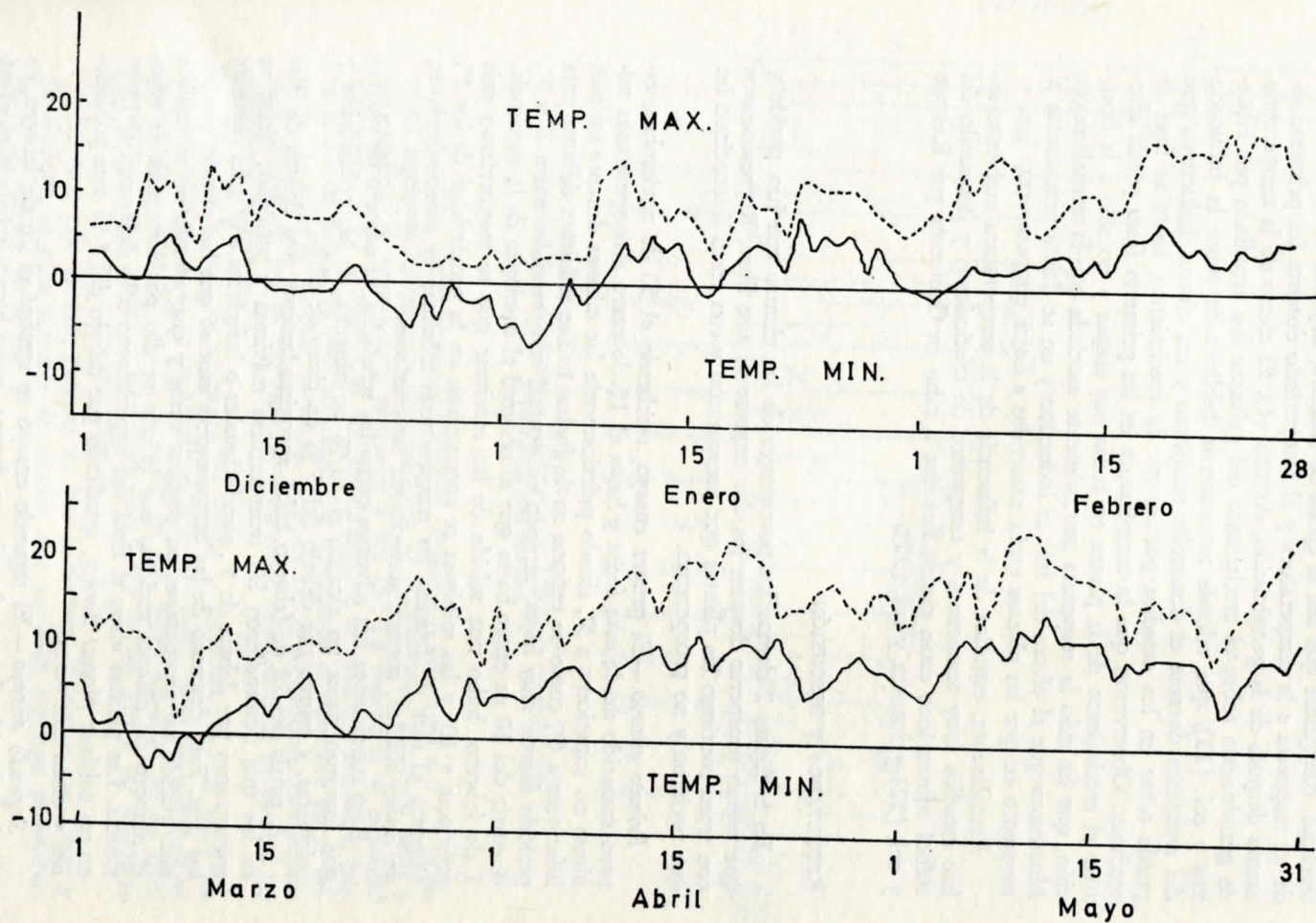


Figura 1.—Temperaturas máximas y mínimas diarias durante los dos ensayos

La duración de la época de crecimiento de un cultivar de trébol subterráneo, cualquiera que sea la época de siembra, depende en gran manera de su respuesta a la temperatura y al fotoperíodo durante las primeras semanas después de la germinación, AITKEN (1). El efecto de la temperatura de germinación sobre el crecimiento del guisante fue estudiado por HIGHKIN y col. (13), que además revisaron la bibliografía sobre la influencia del ambiente durante el desarrollo temprano y los efectos inductivos que puede tener en los estadios posteriores de crecimiento, hasta la fase de madurez. Observaron que la temperatura en las primeras fases puede afectar el crecimiento de la planta en todas sus etapas y no sólo a la floración, que ha sido la respuesta generalmente asociada con la vernalización. Mostraron que el efecto del frío es inductivo y no se limita únicamente al momento en que las plantas están sometidas a bajas temperaturas.

Actualmente, estudios de la influencia de la temperatura ambiente sobre estadios muy tempranos y tempranos de crecimiento y desarrollo del trébol subterráneo están siendo llevados a cabo en California por RAGUSE y col. (32) y SUMNER y col. (35).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

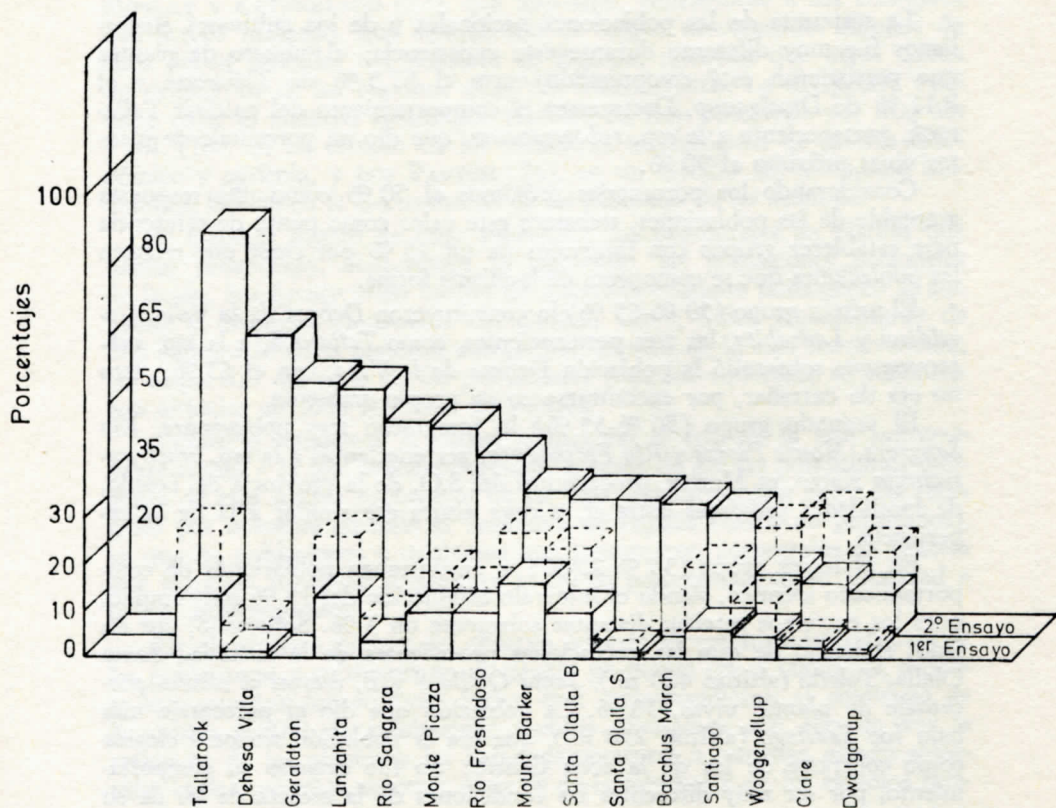
En la figura 2 damos los porcentajes de las plantas que han nacido y que logran prosperar durante los dos ensayos al aire libre. Representamos con trazo continuo las plantas que prosperaron y con trazo discontinuo las que nacieron y no prosperaron.

*Primer ensayo.*—El primer ensayo, sembrado el 30 de noviembre, estuvo sometido desde esta fecha y hasta el 10 de enero a temperaturas mínimas no superiores a 5°, siendo prácticamente las mismas durante un mes inferiores a 0°, como se expone en la figura 1. Las máximas durante este período fueron muy bajas, estando en general comprendidas entre 2° y 7°. A partir del 10 de enero hasta que se observó el comienzo de la nascencia, 1 de febrero, hubo una subida de las máximas que se mantuvieron más próximas a 10° y las mínimas se encontraron en la proximidad de los 5°. Durante el mes de febrero las temperaturas mínimas se mantuvieron en un orden similar, aunque aumentaron las máximas.

Bajo condiciones tan adversas como las señaladas, el número de plantas que lograron nacer no alcanzó el 30 % en ninguna de las poblaciones y cultivares, y estuvo por debajo del 5 % en cinco de ellos.

A partir del 28 de febrero hubo aproximadamente una decena de días en los que descendieron las temperaturas máximas y mínimas; éstas se encontraron por debajo de 5°, siendo iguales o inferiores a 0° gran parte de los días. Este descenso de las temperaturas motivó que las plantas que habían nacido no prosperaran en muchos casos y que además no aumentase el número de plantas nacidas, por lo que se dio por terminada la experiencia. Las plantas vivas al final del experimento sólo superaron el 15 % en un cultivar *Mount Barker*, quedando por debajo del 5 % tres poblaciones y cinco cultivares.

*Segundo ensayo.*—El segundo ensayo se sembró el 26 de febrero, estando sometido durante la primera decena, como hemos señalado en el pá-



**Figura 2.**—Porcentajes de las plantas que han nacido y que logran prosperar en poblaciones y cultivares de *Trifolium subterraneum* L. durante los dos ensayos

rafo anterior, a temperaturas mínimas próximas o inferiores a 0° C; la semana siguiente las temperaturas mínimas se mantuvieron bastante bajas y las máximas se encontraron próximas a los 10°. La nascencia se comenzó a observar el 17 de marzo, el número de plantas se continuó anotando hasta el 20 de abril. En este intervalo fue manifiesto el aumento en el número de plantas nacidas, mientras que en las observaciones posteriores esto no ocurrió, por lo que consideramos como número final de plantas las existentes en esta fecha.

Durante la segunda quincena de marzo y primeros días de abril las temperaturas mínimas se mantuvieron bastante bajas, pero las máximas se encontraron entre 10° y 15°; a partir de esta fecha hasta el 20 de abril las temperaturas mínimas estuvieron alrededor de los 10° y las máximas entre 15° y 20°, superándolos incluso.

Durante este ensayo, excepto en tres cultivares, *Woogenellup*, *Clare* y *Dwalganup*, la gran mayoría de plantas que nacieron lograron prosperar, según se expone en la fig. 2.

La respuesta de las poblaciones nacionales y de los cultivares australianos fue muy diferente durante esta experiencia; el número de plantas que persistieron está comprendido entre el 87,5 % de *Tallarook* y el 8,11 % de *Dwalganup*. Destacamos el comportamiento del cultivar *Tallarook*, perteneciente a la ssp. *subterraneum*, que dio un porcentaje de plantas vivas próximo al 90 %.

Considerando los porcentajes próximos al 50 % como una respuesta aceptable de las poblaciones, tomamos este valor como punto de referencia para establecer grupos con intervalos de un 15 % por creer que recogen las poblaciones que se comportan de la misma forma.

El primer grupo (50 %-65 %) lo constituyeron *Dehesa de la Villa*, *Geraldton* y *Lanzabita*, las tres pertenecientes, como *Tallarook*, a la ssp. *subterraneum*; sobresalió la población *Dehesa de la Villa*, con el 65 %; esto no era de extrañar, por encontrarse en su propio ambiente.

El segundo grupo (50 %-35 %) lo integraron tres poblaciones, *Río Sangrera*, *Monte Picaza* y *Río Fresnedoso*, pertenecientes a la ssp. *brachycalycinum* Katzn. et Morley, procedentes del S.O. de la provincia de Toledo, de localidades próximas entre sí, y cuya altura era similar a la de la experiencia.

En el tercer grupo (35 %-20 %) se encontraban poblaciones de comportamiento idéntico, siendo el intervalo establecido del 15 % muy amplio, pues los extremos estaban distantes solamente un 5 %. Sobresalió, por un lado, el hecho de que las poblaciones procedentes de la localidad Santa Olalla, Toledo (altitud 480 m.), *Santa Olalla S y B*, dieron el mismo porcentaje de plantas vivas, 30 %. La población que dio el porcentaje más bajo fue *Santiago* (altitud 250 m.), que era la población nacional elegida como contraste de las de la zona Centro; no fue extraño su comportamiento, por ser muy diferentes las condiciones de la meseta de las de su habitat de origen.

El cuarto grupo (< 20 %) lo constituyeron tres cultivares australianos *Wooغنellup*, *Clare* y *Dwalganup*. Existió, como en el anterior grupo, gran homogeneidad en su comportamiento; la distancia entre los extremos fue igualmente de un 5 %. Merece destacar en este grupo la diferencia existente entre las plantas que nacen y las que logran prosperar, al contrario de lo que sucedía en las otras poblaciones, en que esta diferencia era despreciable. El porcentaje de las que murieron fue del 10 % en *Wooغنellup* y *Dwalganup* y del 15 % en *Clare*.

A la vista de estos resultados, al comparar según el lugar de procedencia, Australia y España, los porcentajes de las plantas que habían prosperado, observamos que el material australiano mostró una gran heterogeneidad en su respuesta al ambiente; los valores extremos se encontraron a una distancia de un 80 %. En tanto que el material español dio una respuesta más homogénea: los extremos estaban en un intervalo del 40 %, si prescindimos de la población *Santiago*, la más contrastante, y de la *Dehesa de la Villa*, por encontrarse en su propio ambiente; las otras seis poblaciones procedentes del sur de Avila y de Toledo se encontraban comprendidas en un intercalo del 24 %; las cinco poblaciones de la provincia de Toledo estaban dentro de un intervalo del 16 %.

La disparidad en sus respuestas al ambiente de los cultivares australianos frente a las poblaciones nacionales concuerdan con lo señalado por



MORLEY y KATZNELSON (23), que indicaron, refiriéndose a los cultivares que hemos utilizado, que aunque son de origen desconocido, algunos de ellos deben proceder del noroeste de Europa, mientras que otros deben ser originarios de las regiones secas del Mediterráneo. La divergencia existente entre el material australiano también ha sido observada por MARTÍN y col. (18), en un estudio de los caracteres morfológicos de interés taxonómico y agrícola, y por PASTOR (26), en un estudio de taxonomía bioquímica, basado en la electroforesis de las proteínas de las semillas.

Al estudiar dentro de cada subespecie los porcentajes de plantas que habían prosperado, observamos lo siguiente: las poblaciones nacionales de la ssp. *brachycalycinum* fueron de respuesta bastante homogéneo al ambiente y divergían claramente del cultivar *Clare*, único representante de esta subespecie en el material australiano. Dentro de la ssp. *subterraneum*, las respuestas del total de las poblaciones y de los cultivares se encontraban situadas en toda la escala de valores.

Asimismo señalamos la mayor adaptación al frío de la ssp. *subterraneum* frente a la ssp. *brachycalycinum*, a pesar de ser las poblaciones indígenas de esta última subespecie de las más septentrionales entre las recogidas por nosotros en todo el occidente de España (datos no publicados), ya que las poblaciones y cultivares que presentaron porcentajes de plantas que lograban prosperar superiores al 50 % pertenecían en su totalidad a la ssp. *subterraneum*.

En el segundo ensayo se observó además el crecimiento relativo de las poblaciones y cultivares en el estadio de planta joven (tabla 3), durante tres semanas consecutivas, fechas que correspondieron al comienzo de la «etapa central de crecimiento rápido». Tratamos con ello de ver la respuesta de las plantas a las bajas temperaturas a que han estado sometidas en las primeras semanas después de la siembra y en los estadios tempranos.

TABLA 3

Clases en las que se agruparon los portes de las plantas jóvenes de poblaciones nacionales y cultivares de *T. subterraneum* L. en distintas fechas de su ciclo de desarrollo

Poblaciones nacionales y cultivares	ssp.	20 abril	27 abril	3 mayo
Lanzahita ... ..	S	++	++	++
Clare ... ..	B	++	++	++
Río Fresnedoso ... ..	B	++	+++	++++
Tallarook ... ..	S	++	+++	++++
Wooenellup ... ..	S	++	+++	++++
Santiago ... ..	S	+	++	++
Bacchus Marsh ... ..	S		+++	+++
Dehesa de la Villa ... ..	S	+	+	++
Río Sangrera ... ..	B	++	++	++++
Monte Picaza ... ..	B	+++	+++	++++
Geraldton ... ..	S	++	++	+++
Mount Barker ... ..	S	+++	+++	++++
Dwalganup ... ..	S	+	+	+++

S (ssp. *subterraneum*); B (ssp. *brachycalycinum*).

En cada fecha de observación hemos representado con un número diferente de signos +, de uno a cuatro, las clases resultantes de reunir a las poblaciones y cultivares que presentaron un porte similar (+ las de menor porte, ++ las de porte intermedio y +++ o ++++ las de mayor porte). Esta evaluación se realizó tomando como punto de referencia los portes de las poblaciones *Santa Olalla S* y *B*, más pequeña y más grande respectivamente durante todas y cada una de las observaciones.

Las clases, pese a designarse de igual forma durante las tres observaciones, no representaban valores absolutos, sino relativos, ya que llevaban implícito el crecimiento experimentado por las plantas de una a otra fecha, como consecuencia de estar referidas no a patrones estáticos, sino a dos patrones dinámicos como son los portes de las plantas de las dos poblaciones consideradas en el periodo de crecimiento.

Según su comportamiento, se establecieron cuatro grupos. El crecimiento de las plantas pertenecientes a los grupos 1.º y 2.º parecía menos afectado por la temperatura, en tanto que en los grupos 3.º y 4.º el crecimiento de las plantas estuvo frenado todavía, durante la primera semana o durante las dos semanas consideradas respectivamente.

El grupo 1.º lo constituyeron *Lanzahita* y *Clare*, cuyo crecimiento en la etapa fue considerado muy uniforme.

Las plantas del 2.º grupo, formado por *Tallarook*, *Río Fresnedoso* y *Woogenellup*, experimentaron un aumento notable durante las dos semanas de observación.

En el grupo 3.º, integrado por *Bacchus Marsh* y *Santiago*, las plantas experimentaron un aumento durante la primera semana de observación, comportándose posteriormente como las del grupo 1.º

El grupo 4.º reunió las poblaciones y cultivares que se han visto más afectados por la temperatura, en el sentido de que no se observó aumento notable en el crecimiento hasta después de la segunda semana considerada; éstas fueron *Debesa de la Villa*, *Geraldton*, *Dwalganup*, *Río Sangrera*, *Monte Picaza* y *Mount Barker*.

No se observaron diferencias apreciables ni en cuanto al origen del material ni a nivel subespecífico. Si bien de los trece cultivares y poblaciones estudiados, ocho sufrieron un retraso mayor en su crecimiento, a causa de las bajas temperaturas, que los cinco restantes.

### III. FLORACIÓN E INFLUENCIA DEL FRÍO SOBRE LA MISMA

Los cultivares de *T. subterraneum* L. tienen un comportamiento respecto a la floración altamente plástico; el intervalo entre el inicio de la floración de *Dwalganup*, cultivar temprano, y *Tallarook*, cultivar tardío, varía de tres semanas en Lancelton (Tasmania) a más de cuatro meses en Lismore (Nueva Gales del Sur), MORLEY y DAVERN (21). En Melbourne (Victoria) puede variar desde dos meses en siembras de principio de invierno a ocho meses en siembras de principio de primavera, AITKEN (2).

En siembras escalonadas desde principio de otoño a principios de invierno, en cuatro años sucesivos, DONALD (7), en Canberra (Nueva Gales del Sur), encontró que el inicio de la floración entre *Dwalganup* y *Tallarook* variaba un mes aproximadamente.

PIRE SOLIS (27), en las proximidades de Madrid, en siembras de otoño, observó que el inicio de la floración de los cultivares anteriormente citados tuvo lugar en el intervalo de veinte días.

AITKEN (1, 3) encontró que, en los cultivares estudiados de *Trifolium subterraneum* L. y en *Medicago tribuloides* Ders., las temperaturas bajas y los fotoperíodos largos aceleran la iniciación a la floración. Los cultivares tardíos pueden no florecer cuando no han estado sometidos a un período suficiente de temperaturas bajas. Los cultivares tempranos florecen antes porque no necesitan de un período de frío tan largo o de temperaturas tan bajas como los tardíos.

EVANS (8), estudiando la iniciación de la floración en *Trifolium subterraneum* L., señaló que parece estar controlada por tres procesos parciales que interactúan entre sí, dos sinérgicos e inductores y otro inhibidor. Los dos primeros son probablemente independientes de la luz, uno favorecido por las temperaturas altas y otro por las temperaturas bajas. El proceso inhibitorio tiene lugar durante el período de oscuridad diario y está favorecido por las temperaturas altas. La respuesta de los cultivares a estos procesos fue diferente. Estos estudios fueron ampliados por MORLEY y EVANS (22), en Canberra, en condiciones de campo.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 4 damos la relación de las poblaciones y cultivares agrupados según su época de floración y fructificación. Hemos utilizado las mismas denominaciones con que se designan las épocas de floración de los cultivares en Australia.

Las poblaciones y cultivares «tempranos» florecieron aproximadamente en los días finales del mes de mayo y primera semana de junio; los «tempranos-medios» florecieron en la segunda semana del mes de junio; los «medios-tardíos» lo hicieron en la tercera semana de junio y, finalmente, el «muy tardío» floreció en la primera semana de julio.

En general, las fechas del comienzo de fructificación, para los grupos antes citados, fueron aproximadamente quince días más tarde que las de floración, aunque las poblaciones y cultivares no quedaron incluidos en los mismos grupos, ya que en algunos de ellos no se observó el inicio de fructificación hasta que transcurrieron tres semanas. QUINLIVAN y col. (30) señalaron que la fecha de floración-avanzada o comienzo de fructificación indicaba mejor el carácter temprano o tardío de las poblaciones que el inicio de la floración, que se había venido considerando con este fin por diferentes autores, ya que el período de duración de la fase de floración es muy diferente según los cultivares.

Si comparamos las fechas de floración de los cultivares australianos en las condiciones de Madrid en dos experiencias sembradas a principios de primavera, el año 1969 (datos no publicados), y finales de invierno, el año 1971, observamos que este último año los cultivares tempranos *Dwalganup* y *Geraldton* retrasaron su floración ocho o nueve días y *Clare* sufrió un retraso de doce días respecto a las fechas de floración del año 1969. Los retrasos de los cultivares tempranos se explican debido a que después del período de inducción de la floración por bajas tempera-

TABLA 4

Relación de las poblaciones y cultivares de *Trifolium subterraneum* L., agrupados según su época de floración y fructificación

Fase del ciclo	Tempranos		Tempranos - medios		Medios - tardíos		Muy tardíos	
	S	B	S	B	B	S	S	B
<i>Floración.</i>	Dehesa Villa. Santa Olalla. Dwalganup. Geraldton. Woogenellup.	Santa Olalla.	Lanzahita.	Monte Picaza. Río Fresnedoso.	Bacchus Marsh. Mount Barker. Tallarook.	Río Sangrera. Clare.	Santiago.	—
<i>Fructificación.</i>	Geraldton. Dwalganup. Woogenellup.	—	Santa Olalla. Lanzahita. Dehesa Villa.	Santa Olalla.	Bacchus Marsh. Mount Barker. Tallarook.	Monte Picaza. Río Sangrera. Río Fresnedoso. Clare.	Santiago.	—

S (ssp. *subterraneum*); B (ssp. *brachycalycinum*).

turas requieren un régimen de temperaturas relativamente altas, y en el año 1971 este período no comenzó hasta aproximadamente el día 10 de abril, figura 1.

El retraso del cultivar *Clare*, citado en Australia como de ciclo medio, se debió a que respecto a la inducción de la floración por las bajas temperaturas se comporta de modo parecido a los cultivares tempranos, diferenciándose de los cultivares *Bacchus Marsh*, *Mount Barker* y *Tallarook* de ciclo medio y tardío. MORLEY y EVANS (22) señalaron en Canberra para *Clare* un comportamiento similar; además indicaron que dejaba incluso de florecer por la acción de las temperaturas muy bajas.

Comparando las fechas de floración de *Bacchus Marsh* y *Woogenellup* en los dos años, vemos que en el año 1971 han adelantado su época de floración en cinco y trece días, respectivamente, lo que nos indica que necesitan inducción por bajas temperaturas, al igual que lo que sucede con los cultivares más tardíos; de los dos, el cultivar *Woogenellup* presentó una mayor sensibilidad a la inducción por el frío.

*Mount Barker* adelantó en 1971 su fecha de floración veintidós días respecto a 1969. Esto puede explicarse por dos razones: una, el frío sufrido durante 1971 tuvo un efecto de aceleración; y otra, la carencia de frío durante 1969 retrasó su floración hasta que la duración del fotoperíodo compensó la falta de frío.

*Tallarook* adelantó su floración en 1971 por la inducción de las temperaturas bajas a que estuvo sometido, mientras que en el año 1969 no cubrió sus exigencias de frío y como consecuencia no floreció.

El año 1969, simultáneamente con el experimento de campo se realizó un experimento en invernadero; con un fotoperíodo de dieciséis horas, los cultivares *Dwalganup*, *Geraldton* y *Clare* se comportaron como en la experiencia de campo; *Woogenellup* retrasó su floración en el invernadero un mes con respecto al campo, y los restantes cultivares, *Bacchus Marsh*, *Mount Barker* y *Tallarook*, no florecieron. La experiencia de invernadero apoya lo expuesto respecto a las exigencias en frío para la floración de los distintos cultivares en el campo.

Observamos que la distancia entre las épocas de floración de los cultivares tempranos *Dwalganup* y *Geraldton* y el medio-tardío *Mount Barker* fue de treinta y ocho días en 1969, lo que está de acuerdo con los datos de DONALD (7) en Canberra. En tanto que en 1971 estas distancias se acortaron en diez y once días, respectivamente, como consecuencia de las bajas temperaturas que soportaron.

El material autóctono, estudiado conjuntamente con los cultivares australianos en el año 1971, es de esperar que haya sufrido también alteraciones en su época de floración por el régimen de temperaturas bajas de dicho año, pero por ser el primer año de estudio no podemos precisar más acerca de su comportamiento.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) AITKEN, Y., 1955a: *Flower initiation in pasture legumes. I. Factors affecting flower initiation in Trifolium subterraneum L.* Aust. J. Agric. Res., 6, 212-44.
- (2) AITKEN, Y., 1955b: *Flower initiation in pasture legumes. II. Geographical implications of cold temperature requirements of varieties of Trifolium subterraneum L.* Aust. J. Agric. Res., 6, 245-57.
- (3) AITKEN, Y., 1955c: *Flower initiation in pasture legumes. III. Flower initiation in Medicago tribuloides Desr. and other annual medics.* Aust. J. Agric. Res., 6, 258-64.
- (4) BAJIĆ, D., und MISIĆ, L. J., 1967: *Ein Beitrag zur Kenntnis der Artenverbreitung von Trifolium subterraneum L., deren Oekologie und Verteilung auf systematische Untereinheiten in Jugoslawien.* Rad. poljopriv.-sum. Fak. Univ. Saraj. 16, 177-84.
- (5) BALLARD, L. A. T., 1961: *Studies of dormancy in the seeds of subterranean clover (Trifolium subterraneum L.) II. The interaction of time, temperature and carbon dioxide during passage out of dormancy.* Aust. J. Biol. Sci. 14, 173-86.
- (6) BUENDÍA LÁZARO, F., 1966: *Semillas y plántulas de leguminosas pratenses españolas.* Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias. Madrid.
- (7) DONALD, C. M., 1959: *The production and life span of seed of subterranean clover (Trifolium subterraneum L.).* Aust. J. Agric. Res., 10, 771-87.
- (8) EVANS, L. T., 1959: *Flower initiation in Trifolium subterraneum L. I. Analysis of the partial processes involved.* Aust. J. Agric. Res., 10, 1-16.
- (9) EVENARI, M., 1957: *Les problèmes physiologiques de la germination.* Bull. Soc. Franç. Physiol. Vég. 3 (4), 105-24.
- (10) GLADSTONES, J. S., 1967: *Naturalized subterranean clover strains in western Australia: A preliminary agronomic examination.* Aust. J. Agric. Res., 18, 713-31.
- (11) GRANT LIPP, A. E., and BALLARD, L. A. T., 1959: *The breaking of seed dormancy of some legumes by carbon dioxide.* Aust. J. Agric. Res., 10, 495-99.
- (12) HARPER, J. L., and CLATWORTHY, J. N., 1963: *The comparative Biology of closely related species. VI. Analysis of the growth of Trifolium repens and T. fragiferum in pure and mixed populations.* J. Exp. Bot., 14, 172-90.
- (13) HIGHKIN, H. R., and LANG, 1966: *Residual effect of germination temperature on the growth of peas.* Planta (Berl.), 68, 94-98.
- (14) KATZNELSON, J., 1967: *Observations on the distribution and seed size of subterranean clover (Trifolium subterraneum L.) in Israel.* Israel J. Agric. Res., 17, 139-44.
- (15) KATZNELSON, J., 1970: *Edaphic factors in the distribution of subterranean clover in the Mediterranean region.* Proceedings of the XI International Grassland Congress, 192-96.
- (16) KATZNELSON, J., and MORLEY, F. H. W., 1965: *A taxonomic revision of sect. Calycomorpha of the genus Trifolium L. The geocarpic Species.* Israel J. Bot., 14, 112-34.
- (17) KOLLER, D.; MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A., and KLEIN, S., 1962: *Seed germination.* An. Rev. Plant. Physiol., 13, 437-64.
- (18) MARTIN, A.; PASTOR, J.; MENDIZÁBAL, T., y OLIVER, S., 1973: *Estudio comparativo de dos subespecies de Trifolium subterraneum L., basado en caracteres de interés taxonómico y agrícola.* Pastos, 3, 1.
- (19) MOCK, J. J., and EBERHART, S. A., 1972: *Cold tolerance in adapted maize populations.* Crop. Sci., 12, 466-69.

- (20) MORLEY, F. H. W., 1958: *The inheritance and ecological significance of seed dormancy in subterranean clover (Trifolium subterraneum L.)*. Aust. J. Biol. Res., 2, 261-74.
- (21) MORLEY, F. H. W., and DAVERN, C. J., 1956: *Flowering time in subterranean clover*. Aust. J. Biol. Res., 7, 388-400.
- (22) MORLEY, F. H. W., and EVANS, L. T., 1959: *Flower initiation in Trifolium subterraneum L. II: Limitations by vernalization, low temperatures, and photoperiod, in the field at Canberra*. Aust. J. Agric. Res., 10, 17-26.
- (23) MORLEY, F. H. W., and KATZNELSON, J., 1965: *Colonization in Australia by Trifolium subterraneum L. The genetics of colonizing species*. Edit. Acad. Press. Inc., New York.
- (24) MOTT, J. J., 1972: *Germination studies on some annual species from an arid region of Western Australia*. J. Ecol., 60, 293-304.
- (25) MURTAGH, G. J., 1970: *Effect of temperature on the germination of Glycine javanica*. Proceedings of the XI International Grassland Congress, 574-78.
- (26) PASTOR, J., 1972: *Estudio de las diferencias infraespecíficas de Trifolium subterraneum L. mediante electroforesis de proteínas*. Anal. Edaf. Agrobiol. XXXI, 791-800.
- (27) PIRE SOLÍS, J. M., 1964: *El trébol subterráneo en España*. Dirección General de Agricultura. Madrid.
- (28) QUINLIVAN, B. J., 1961: *The effect of constant and fluctuating temperatures on the permeability of the hard seeds of some legume species*. Aust. J. Agric. Res., 12, 1008-22.
- (29) QUINLIVAN, B. J., 1970: *The regulation of germination in Swainsona canescens*. Proceedings of the XI International Grassland Congress, 583-86.
- (30) QUINLIVAN, B. J.; FRANCIS, C. M., and POOLE, M. L.: *The certified strain of subterranean clover their origin, potential use and identification*. Bull. n.º 3.568. Department of Agriculture-Western Australia.
- (31) QUINLIVAN, B. J., and MILLINGTON, A. J., 1962: *The effect of a mediterranean summer environment on the permeability of hard seeds of subterranean clover*. Aust. J. Agric. Res., 13, 377-87.
- (32) RAGUSE, C. A.; FIANU, F. K., and MENKE, J. W., 1970: *Development of subterranean clover (Trifolium subterraneum L.) at very early stages*. Crop. Sci., 10, 723-24.
- (33) RAYMOND, A. E., and YOUNG, J. A., 1972: *Germination and establishment of Salsola in relation to seed bed environment. II: Seed distribution, germination and seedling growth of Salsola and microenvironmental monitoring of the seed bed*. Agron. J., 64, 219-24.
- (34) RIVAS GODAY, S., 1964: *Vegetación y flórua de la cuenca extremeña del Guadiana*. Publicaciones de la Excma. Dip. Prov. de Badajoz. Madrid.
- (35) SUMMER, D. C.; RAGUSE, C. A., and TAGGARD, K. L., 1972: *Effects of varying root/shoot temperatures on early growth of subterranean clover*. Crop. Sci., 12, 517-20.
- (36) YOUNG, J. A.; KAY, B. L., and EVANS, R. A., 1970: *Germination of cultivars of Trifolium subterraneum L.* Agron. J., 62, 638-41.
- (37) YOUNG, J. A., and RAYMOND, A. E., 1972: *Germination and establishment of Salsola in relation to seed bed environment. I: Temperature after ripening, and moisture relations of Salsola seeds as determined by laboratory studies*. Agron. J., 64, 214-18.

GERMINATION AND EFFECT OF LOW TEMPERATURES ON ESTABLISHMENT, EARLY GROWTH  
AND FLOWERING OF SUBTERRANEAN CLOVER

S U M M A R Y

Several experiments were carried out in Madrid (Spain), a location with extreme Mediterranean climate, with seven Australian cultivars and eight Spanish populations of subterranean clover. The main purpose was to know the influence of environmental factors on germination and on the different stages of the growth cycle.

The Spanish populations gave germination rates ranging from 31 % to 82 %. After two years of ripening, no significant difference was found in the germination rates with the age of seeds. We also obtained the rates of germination of seeds after a scarification process (we took these as «hard seeds»); five out of the eight Spanish population gave a rate equal to or higher than 40 %.

In two experiments carried out in open air, we made an evaluation of the behaviour of the Spanish populations and the Australian cultivars, with respect to low temperatures, observing nascency, percentage of plant that survived and their size during the early-growth period and paying also attention to: a) behaviour of Spanish populations and Australian cultivars, b) comparison of the material according to the country of origin, and c) comparison at infraspecific level.

The plants response was different for both experiments. In the first one, sown at the end of fall, the number of plants that were born was lower than 30 %, and the number of plants that survived was 15 % for only one cultivar, being inferior to 5 % for the rest of the plant material. In the second experiment, sown at the end of winter, the great majority of plants that were born survived, except for three cultivars: *Wooogenellup*, *Clare* and *Dwalganup*. The different behaviour of the plants in both experiments was mainly due to the different temperature conditions being the temperature remarkably lower during the first experiment.

The Australian material showed a great heterogeneity in its response to the environment; on the contrary, the Spanish material gave a much more homogeneous response.

It was observed that the ssp. *subterraneum* was better adapted to cold conditions than the ssp. *brachycalycinum*.

Then considering relative early-growth of cultivars and populations, a greater retarding effect in eight of them, due to the low temperatures, was observed. Differences due to the origin of the plant material and the infraspecific level were no significant.

We have also studied the influence of cold on the time of flowering of the Australian cultivars in sowings belonging to 2 different years (at the beginning of spring and at the end of winter). As a consequence of the low temperatures the early cultivars, as well as the cultivar *Clare*, retarded their flowering; on the contrary, the cultivars with medium and long growth cycles advanced their times of flowering because of the inductive effect of the low temperatures. Within these last cultivars, the ones that showed a greater requirement for cold were *Mount Barker* and *Tallarook*; *Tallarook* itself did not get flower in 1969 because its requirements for cold were not fulfilled.