

# CARACTERIZAÇÃO MORFOLOGICA E FISIOLÓGICA DAS FORMAS DIPLÓIDE E TETRAPLÓIDE DE *TRIFOLIUM RIOGRANDENSE* EM COMPARAÇÃO COM *TRIFOLIUM REPENS* E *TRIFOLIUM POLYMORPHUM*<sup>1</sup>

ELIANE HEINZ DE SOUZA<sup>2</sup>, NILTON RODRIGUES PAIM<sup>3</sup>, MARIA TERESA SCHIFINO<sup>4</sup> e  
JOÃO RIBOLDI<sup>5</sup>

RESUMO - O experimento foi conduzido a campo, na EEA/UFRGS, Guaíba, de março de 1983 a fevereiro de 1984 e foram avaliadas características morfológicas e fisiológicas das formas diplóide e tetraplóide de *Trifolium riograndense* Burkart, em comparação com *T. repens* L. e *T. polymorphum* Poir., num delineamento de blocos completos casualizados, com seis repetições. As variáveis estudadas foram: taxa de crescimento em diâmetro, em altura e dos estolhos, comprimento do pedúnculo floral, duração do período reprodutivo, número de flores por inflorescência, número de sementes por legume, produção de sementes por planta, percentagem de germinação, de proteína bruta e da digestibilidade *in vitro* da matéria seca. O trevo branco e *T. polymorphum* apresentaram, respectivamente, os maiores e menores valores, para a maioria das variáveis estudadas, ficando *T. riograndense* numa situação intermediária. As plantas 4x de *T. riograndense* foram superiores às 2x na taxa de crescimento em altura (período reprodutivo) e comprimento do pedúnculo floral, e inferiores nas taxas de crescimento em diâmetro (períodos vegetativo e reprodutivo) e dos estolhos, sendo que nas demais variáveis não houve diferenças significativas. Todas as espécies apresentaram uma boa qualidade de forragem, representada pelas percentagens de proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Termos para indexação: *Trifolium riograndense*, *Trifolium repens*, *Trifolium polymorphum*.

## MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF DIPLOID AND TETRAPLOID FORMS OF *TRIFOLIUM RIOGRANDENSE* IN COMPARISON WITH *TRIFOLIUM REPENS* AND *TRIFOLIUM POLYMORPHUM*

ABSTRACT - This experiment was conducted at the EEA/UFRGS, Guaíba, Rio Grande do Sul State, Brazil, from March 1983 to February 1984. Morphological and physiological characteristics of diploid and tetraploid forms of *Trifolium riograndense* Burkart were evaluated in comparison to *T. repens* L. and *T. polymorphum* Poir., using completely randomized blocks design with six replications. The rates of growth in diameter and height, rate of stolons growth length of floral peduncle, duration of reproductive period, number of flowers per inflorescence, number of seeds per legume, seed production per plant, germination percentage, percentage of CP and *in vitro* DM digestibility were evaluated. White clover and *T. polymorphum* presented the highest and lower values, respectively, for most of the analyzed variables, while *T. riograndense* was intermediary. The 4x plants of *T. riograndense* were superior to 2x ones in the rate of growth in height (reproductive period) and floral peduncle length and inferior in the rates of growth in diameter (vegetative and reproductive periods) and stolons growth. Regarding the other characteristics no significant differences between 2 x and 4 x plants were detected. All the species presented good forage quality measured by CP and *in vitro* DM digestibility percentages.

Index terms: *Trifolium riograndense*, *Trifolium repens*, *Trifolium polymorphum*.

## INTRODUÇÃO

Grande parte da economia do Rio Grande do Sul está baseada no desenvolvimento da Agropecuária. A produtividade do rebanho gaúcho é baixa, pois depende basicamente dos campos nativos, os quais ocupam 61% da área total do Estado. Tais campos são formados principalmente por gramíneas e leguminosas de crescimento primavera-estival havendo deficiência de alimentação disponível durante o período hibernar (Mohr dieck 1980, Barreto et al. 1980).

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 30 de abril de 1987.

Parte do trabalho do primeiro autor, para a obtenção do grau de Mestre em Agronomia, Depto. de Fitoecnia, Fac. de Agron. da UFRGS. Financiado pelo projeto FUNDATEC/FINEP - 54.830470-00.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., M.Sc., Fac. de Agron. da UFRGS, Bolsista da CAPES, Caixa Postal 776, CEP 90001 Porto Alegre, RS.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., Ph.D., Fac. de Agron. da UFRGS, Bolsista do CNPq, Porto Alegre, RS.

<sup>4</sup> Bióloga, Dr., Fac. de Agron. da UFRGS, Bolsista do CNPq, Porto Alegre, RS.

<sup>5</sup> Eng. - Agr., M.Sc., Depto. de Estatística da UFRGS, Bolsista do CNPq, Porto Alegre, RS.

Dentre as espécies nativas de produção hiberna, destaca-se *Trifolium riograndense* Burkart, que ocorre nas regiões fisiográficas do Planalto Médio, Campos de Cima da Serra, Encosta Inferior e Superior do Nordeste (Kappel 1967). É uma leguminosa perene, estolonífera, com folhas de pecíolos longos, pedúnculos florais axilares, eretos, maiores do que os pecíolos, inflorescências na forma de glomérulo, com 20-40 flores e fruto deiscente com 1-3 sementes (Kappel 1967).

Além de produzir quantidades razoáveis de forragem durante o período hiberna e suportar bem o pastejo, *T. riograndense* ocorre naturalmente em solos ácidos, com elevados teores de Al e Mn. Esta espécie foi estudada até o momento sob o ponto de vista taxonômico (Burkart 1939) e citogenético (Mohr dieck 1950, Schifino 1983, 1985). É uma espécie diplóide ( $2n = 16$ ). Plantas tetraplóides foram obtidas por Schifino (1985) e por Becker (1985).

*Trifolium polymorphum* Poir., outra espécie nativa, ocorre na região Central e Sul do Estado. Apesar de produzir pouca massa verde, é de importância, em virtude do seu crescimento hiberna (Kappel 1967). Também ocorre naturalmente na Argentina, Paraguai e Chile Central (Cabrera 1967, Burkart 1952). No RS apresenta comportamento anual, o que não ocorre nos outros países; é uma espécie estolonífera, com estolhos delgados e rasteiros, folhas com pecíolos de tamanho variável, flores cleistógamas subterrâneas e inflorescências casmógamas de coloração rosada, em número de 10-40 por inflorescência (Cabrera 1967, Kappel 1967). É uma espécie diplóide, com  $2n = 16$  cromossomos (Schifino 1985).

Dentre as leguminosas de maior valor nutritivo e amplamente distribuídas pelo mundo destaca-se o trevo branco (*Trifolium repens* L.), nativo da Europa, originário do leste do Mediterrâneo (Gibson & Hollowell 1966). É cosmopolita, ocorrendo em todas as regiões do mundo, com condições climáticas adequadas (temperadas e subtropicais). É uma espécie glabra, rasteira, estolonífera, sendo o estolho a unidade básica do seu crescimento (Thomas 1980). As folhas são trifolioladas, com pecíolos longos e glabros, em cuja base há um botão axilar, que pode permanecer dormente ou desenvolver-se em ramo estolonífero ou

ramo floral (Gibson & Hollowell 1966). Em geral, os folíolos apresentam uma mancha branca na forma de V, que varia em intensidade, tamanho, forma e posição, podendo não estar presente (Cabrera 1967, Gibson & Hollowell 1966). Os estolhos apresentam tamanho e comprimento dos entrenós variados estendendo-se em todas as direções, servindo como meio de propagação vegetativa. As inflorescências são semiglobosas, do tipo glomérulo (Cabrera 1967), com 20-150 flores (Gibson & Hollowell 1966) de coloração branca ou branco-rosada e formam legumes lineares, com 2-3 sementes (Kappel 1967). Tanto a produção de flores como a de folhas são intensamente influenciadas pelo ambiente (Beinhart 1963, Gibson & Hollowell 1966).

O trevo branco é uma espécie exigente quanto às condições de fertilidade do solo (Ahlgren 1956, Hollowell 1970) e nas condições do RS, tanto os níveis tóxicos de Al e Mn, como os baixos níveis de P dos solos são fatores que podem ser limitantes para o seu estabelecimento (Nabinger 1980). Seu valor nutritivo é alto. Normalmente os teores de proteína bruta (PB) variam de 20% a 30% (Smith 1962) e a digestibilidade é elevada durante todo o seu período de crescimento (Davies 1969).

A indução de poliploidia tem sido um dos passos iniciais de alguns programas de melhoramento, especialmente em forrageiras. A poliploidia foi um processo notável de variação cromossômica durante a evolução das plantas, e muitas culturas importantes são poliplóides (Brewbaker 1969, Stebbins 1957). Segundo Elliot (1967) os principais efeitos da poliploidia são o aumento no tamanho individual das células e, na maioria dos casos, os autopoliplóides ( $4x$ ) têm folhas mais grossas, flores maiores e em menor número, frutos maiores e hábitos de floração mais tardios que seus ancestrais diplóides ( $2x$ ). Em geral, os  $4x$  apresentam uma taxa de crescimento mais lenta do que os  $2x$  e uma redução no grau de fertilidade.

O aumento no tamanho e volume das células em plantas forrageiras é importante, já que pode levar a maior produção de forragem, o que é um dos objetivos principais do melhoramento. Alguns trabalhos têm demonstrado que é possível obter aumento no rendimento de matéria seca com cultivares  $4x$ , quando comparadas a seus parentes  $2x$

(Thomas 1969, Anderson 1971, Dunbier et al. 1975, Mc Bratney 1984).

Diversos trabalhos foram desenvolvidos visando comparar características morfológicas e fisiológicas, bem como desempenho agrônomico entre plantas 2x e 4x. Os resultados obtidos nas diversas culturas são muito variáveis. Em geral, observa-se superioridade das plantas 4x em várias características morfológicas, como as observadas em *T. hybridum* (Armstrong & Robertson 1960), *T. resupinatum* (Almeida & Carvalho 1960), *T. ambiguum* (Kannenberg & Elliott 1962), entre outros.

A poliploidia, muitas vezes, leva a um melhoramento da qualidade da forragem. Em cevada (*Hordeum vulgare*) observou-se teores mais altos em cinza, açúcar, proteína e lipídios em plantas 4x do que nas 2x (Smith 1946). Resultados semelhantes foram obtidos em centeio (*Secale cereale*) (Muntzing 1951), *T. resupinatum* (Almeida 1957) e *T. alexandrinum* (Almeida & Carvalho 1962).

Na maioria dos casos de indução de poliploidia observa-se uma diminuição na fertilidade. Em *Lolium rigidum* a autopoliploidia reduziu marcadamente a percentagem de flores férteis, de 68,2 nos 2x para 12,5 nos 4x e em *Medicago sativa* houve redução média de 20% no número de inflorescências (Hutton 1957). Redução na produção de sementes também foi verificada em *T. pratense* (Thomas 1969, Taylor 1983). A estabilização quanto a esta característica é possível, havendo entretanto grande variação entre as diferentes espécies.

Os principais objetivos deste trabalho, como um dos passos iniciais para posterior melhoramento genético, foram: obter informações sobre o desenvolvimento morfológico de *T. riograndense*, caracterizar seu desenvolvimento reprodutivo, comparar as características morfológicas e fisiológicas das formas diplóide e tetraplóide com as de *T. repens* e *T. polymorphum*.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo na Estação Experimental Agrônoma da UFRGS, em Guaíba, RS, durante o período de março de 1983 a fevereiro de 1984.

O solo da área experimental é do tipo Laterita hidromórfica, série Arroio dos Ratos. A correção do solo há havia sido realizada anteriormente (Dall' Agnol 1981).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, sendo o estudo feito em plantas individuais, com seis repetições.

O experimento constou de 23 tratamentos, sendo sete clones de *T. riograndense* 4x, cinco clones de *T. riograndense* 2x, cinco clones de *T. repens* e seis conjuntos de propágulos de *T. polymorphum*, por ser esta última espécie anual e não se dispor de plantas individualizadas para formação de clones.

Os clones foram obtidos através de propagação vegetativa, em casa de vegetação do Setor de Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia/UFRGS e levados ao campo no dia 30 de junho de 1983.

Foram coletadas informações quanto a taxa de crescimento em diâmetro e taxa de crescimento em altura. As plantas foram medidas periodicamente, em média a cada oito dias. Para uma melhor avaliação foram considerados dois períodos, sendo o primeiro período o estágio vegetativo e o segundo período o estágio reprodutivo. Para a determinação da taxa de crescimento dois dos estolhos, foram anelados por planta e medidos nos dias 16.09.83 e 20.10.83. Além disto, 2-3 inflorescências por planta foram coletadas e determinados os comprimentos dos pedúnculos florais. Outras informações coletadas foram: duração do período reprodutivo - dias entre a emissão do botão floral até a maturação da inflorescência, número de flores por inflorescência, número de sementes por legume, produção de sementes por planta e a percentagem de sementes germinadas, seguindo-se as regras para análise de sementes (Brasil. Ministério da Agricultura 1976). A percentagem de proteína bruta (PB) foi determinada através da técnica de Bremner & Keeney (1966) e a percentagem de digestibilidade *in vitro* da matéria seca pelo método de Tilley & Terry (1963). Para a análise dessas duas últimas variáveis coletou-se amostras das espécies e do tetraplóide induzido sem considerar os tratamentos. A determinação de proteína bruta e digestibilidade *in vitro* foi feita como um teste inicial, sem repetições, o que não permitiu análise estatística.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, segundo o modelo específico para o delineamento empregado. A comparação entre as médias dos tratamentos, quando detectadas diferenças significativas entre as mesmas pelo teste F, foi realizada através do teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade. As médias das espécies foram comparadas através de contrastes não ortogonais e as diferenças significativas tratadas pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados da taxa média de crescimento em diâmetro das espécies, nos dois períodos considerados. O trevo branco apresentou os maiores valores, o que já era esperado pelas próprias características de crescimen-

TABELA 1. Taxa média de crescimento (cm/semana) em diâmetro, em altura e dos estolhos, das espécies estudadas considerando o primeiro período (estádio vegetativo) e o segundo período (estádio reprodutivo).

Espécies	Taxa de crescimento em diâmetro cm/semana		Taxa de crescimento em Altura cm/semana		Taxa de crescimento dos estolhos cm/semana
	Primeiro período	Segundo período	Primeiro período	Segundo período	
<i>T. repens</i>	2,46 a <sup>1</sup>	4,08 a	0,41 a	0,10 b	3,57 a
<i>T. riograndense-2x</i>	1,52 b	4,08 a	0,07 b	0,10 b	1,81 b
<i>T. riograndense-4x</i>	1,00 c	3,40 b	0,07 b	0,15 a	1,25 c
<i>T. polymorphum</i>	1,50 b	1,41 c	0,10 b	0,12 ab	0,71 d

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo F teste a 1%.

to da espécie, a qual é também bastante adaptada ao Rio Grande do Sul (Kappel 1967), além de já ter sofrido um longo processo de seleção e melhoramento. Quanto a *T. riograndense*, as plantas 2x apresentaram maior taxa de crescimento em diâmetro, nos dois períodos considerados, diferenças significativas em relação aos autotetraplóides. A menor taxa de crescimento das plantas 4x é esperado em decorrência da duplicação cromossômica (Elliott 1967, Levin 1983). Entretanto, isto nem sempre ocorre, como em *T. hybridum* (Armstrong & Robertson 1960), em que a taxa de crescimento foi aproximadamente a mesma nas plantas 2x e 4x. A baixa taxa de crescimento das plantas de *T. polymorphum*, principalmente no segundo período, deve-se ao fato de esta espécie ser de ciclo anual no RS (Kappel 1967) e após o florescimento haver diminuição do crescimento, entrando a planta em senescência.

A maior taxa de crescimento em altura (Tabela 1) das plantas 4x de *T. riograndense* em relação às 2x, no segundo período, pode ser em virtude do maior tamanho das células, decorrente da duplicação do número de cromossomos, o que pode levar a órgãos e, conseqüentemente, plantas maiores (Elliott 1967, Brewbaker 1969). Maior altura de plantas 4x em relação as 2x também foi verificada em outras espécies como *Agropyron cristatum* (Tai & Dewey 1966), centeio (Muntzing 1951), *T. hybridum* (Armstrong & Robertson 1960) e *T. pratense* (Anderson 1971, McBratney 1980). O isolamento das plantas, o ataque de lebres e o método de medição empregado, prejudicaram a boa caracterização desta variável.

A taxa de crescimento dos estolhos (Tabela 1) refletiu a tendência da taxa de crescimento em diâmetro nas diferentes espécies, o que era esperado, já que o crescimento dos estolhos leva ao crescimento em diâmetro das plantas.

Os resultados, quanto a taxa de crescimento em diâmetro, em altura, e dos estolhos considerando os tratamentos dentro das espécies, encontram-se na Tabela 2. *T. riograndense* 2x e 4x, e trevo branco, mostraram grande variabilidade intra-específica o que é uma característica altamente favorável para o melhoramento.

Quanto à caracterização reprodutiva (Tabela 3), o trevo branco mostrou-se superior às espécies nativas, com maiores valores para tamanho do pedúnculo floral, número de flores por inflorescência, número de sementes por legume e produção de sementes por planta.

As plantas 4x de *T. riograndense* apresentaram maior comprimento do pedúnculo floral quando comparadas com as 2x (Tabela 3).

Quanto a duração do período reprodutivo (Tabela 3), em *T. polymorphum* o tempo entre a emissão do botão floral até a maturação da inflorescência foi menor do que nas outras espécies, o que se explica por ser a primeira uma espécie anual, com um período de vida curto, ao contrário das outras duas, que são perenes. O trevo branco e *T. polymorphum* iniciaram o florescimento em meados de setembro e *T. riograndense* em outubro.

A indução de poliploidia em *T. riograndense* não retardou o florescimento, nem aumentou a duração do período reprodutivo nas plantas 4x em

TABELA 2. Taxa de crescimento (cm/semana) em diâmetro, em altura e dos estolhos, dos tratamentos, dentro de cada espécie, considerando primeiro período (estádio vegetativo) e o segundo período (estádio reprodutivo).

Espécies/tratamentos	Taxa de crescimento em diâmetro cm/semana		Taxa de crescimento em Altura cm/semana		Taxa de crescimento dos estolhos cm/semana
	Primeiro período	Segundo período	Primeiro período	Segundo período	
<i>T. riograndense-2x</i>					
319	0,86 b <sup>1</sup>	3,65 b	0,04 a	0,14 a	1,74 bc
323	2,04 a	4,76 a	0,11 a	0,07 a	2,76 a
333	0,68 b	3,77 b	0,07 a	0,12 a	1,29 c
343	2,29 b	4,47 ab	0,05 a	0,07 a	2,36 ab
354	1,72 a	3,71 b	0,08 a	0,11 a	0,90 c
<i>T. riograndense-4x</i>					
04	0,98 a	2,72 c	0,04 a	0,10 c	0,96 ab
33	0,90 a	3,53 ab	0,04 a	0,13 abc	1,84 a
39	0,58 a	3,03 bc	0,04 a	0,21 a	0,88 ab
41	1,32 a	3,97 a	0,10 a	0,12 bc	1,63 ab
52	1,14 a	3,67 ab	0,13 a	0,19 ab	0,90 ab
78	1,22 a	3,76 ab	0,09 a	0,18 abc	1,94 a
104	0,85 a	3,12 abc	0,06 a	0,13 abc	0,62 a
<i>T. repens</i>					
78-506	2,48 b	4,27 ab	0,50 a	0,07 b	2,72 b
78-507	1,42 c	3,58 b	0,27 b	0,13 ab	2,79 b
78-516	2,44 b	4,23 ab	0,52 ab	0,09 ab	3,49 b
78-517	2,20 bc	3,64 b	0,46 a	0,05 b	3,61 b
78-521	3,75 a	4,68 a	0,29 b	0,16 a	5,21 a
<i>T. polymorphum</i>					
19	1,55 a	1,50 a	0,05 a	0,13 a	0,50 a
20	2,16 a	1,82 a	0,12 a	0,13 a	0,55 a
21	0,87 a	1,25 a	0,12 a	0,12 a	0,61 a
22	1,52 a	1,04 a	0,09 a	0,12 a	0,58 a
23	1,26 a	1,52 a	0,10 a	0,16 a	0,18 a
24	1,64 a	1,32 a	0,10 a	0,08 a	0,83 a

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada espécie, não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

relação as 2x, (Tabela 3), ao contrário do que ocorre em muitas espécies (Levin 1983). Em cevada (Muntzing 1951) não houve diferença na época de maturação entre plantas 2x e 4x, o mesmo ocorrendo em *Lolium perenne* (Myers 1947).

Nas demais variáveis estudadas (Tabela 3): número de flores por inflorescência, número de sementes por legume, produção de sementes por planta e percentagem de sementes germinadas, não houve diferenças significativas entre as plantas 2x e 4x de *T. riograndense*. Estes resultados mostram que a indução da poliploidia em *T. riograndense* não levou a decréscimo na fertilidade, ao

contrário do que ocorre na maioria dos casos. A baixa fertilidade dos poliplóides, com diminuição da produção de sementes, pode limitar o seu uso na obtenção de variedades comerciais. Em *T. pratense* (Thomas 1969) as plantas 2x produziram 15,4 g/planta de sementes e as 4x somente 7,8 g/planta. Na mesma espécie, Taylor (1983) obteve resultados semelhantes. Em *T. hybridum* (Armstrong & Robertson 1960), porém o número médio de flores por inflorescência dos 4x foi maior do que nos 2x. Os resultados obtidos no presente trabalho são muito promissores, mostrando que, em *T. riograndense*, a indução de poliploidia não

influi negativamente sobre a fertilidade.

Os resultados para tratamento dentro das espécies, considerando as variáveis: pedúnculo floral, período reprodutivo, número de flores por inflorescência, número de sementes por legume, produ-

ção de sementes germinadas, encontram-se na Tabela 4. Grande variabilidade intra-específica foi observada em *T. riograndense* 2x e 4x e trevo branco. Em *T. polymorphum*, as diferenças intra-específicas não foram significativas.

TABELA 3. Resultados obtidos em diversas avaliações feitas nas espécies estudadas.

Espécies	Pedúnculo floral cm	Período reprodutivo dias	Número flores/ inflorescência	Número sementes/ legume	Sementes/planta g	Porcentagem sementes germinadas
<i>T. repens</i>	13,8 a <sup>1</sup>	40,2 b	84,5 a	2,3 a	9,60 a	89,1 a
<i>T. riograndense-2x</i>	5,6 c	47,7 c	31,7 b	0,7 c	0,16 b	86,4 a
<i>T. riograndense-4x</i>	6,6 b	47,5 c	31,0 b	0,7 c	0,27 b	85,9 a
<i>T. polymorphum</i>	5,5 c	36,4 a	23,1 c	1,5 b	0,94 b	79,4 b

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo F teste a 1%.

TABELA 4. Resultados médios obtidos em diversas avaliações feitas nos tratamentos, dentro de cada espécie.

Espécies/tratamentos	Pedúnculo floral cm	Período reprodutivo dias	Número flores/ inflorescência	Número sementes/ legume	Sementes/planta g	Porcentagem sementes germinadas
<i>T. riograndense-2x</i>						
323	8,2 a <sup>1</sup>	49 ab	36,3 a	0,3 b	0,20 a	82,2 b
333	4,4 b	44 b	25,2 a	1,5 a	0,09 a	92,2 a
343	5,4 b	45 b	35,1 a	0,6 b	0,16 a	81,8 b
354	5,3 b	53 a	30,1 a	0,2 b	0,90 a	89,5 a
<i>T. riograndense-4x</i>						
04	7,5 ab	49 a	34,7 a	0,2 a	0,18 a	82,2 c
33	5,5 cd	45 ab	22,8 a	0,9 a	0,41 a	87,5 abc
39	6,7 bc	49 a	31,8 a	0,4 a	0,03 a	- *
41	6,3 bcd	49 a	34,1 a	0,9 a	0,47 a	82,2 c
52	8,8 a	40 b	26,1 a	0,7 a	0,12 a	83,5 bc
78	5,9 cd	51 a	30,9 a	0,7 a	0,23 a	89,0 ab
104	5,2 d	50 a	36,8 a	0,7 a	0,45 a	90,8 a
<i>T. repens</i>						
78-506	13,7 bc	41 a	94,4 b	2,7 ab	16,24 a	89,8 a
78-507	10,8 d	39 a	69,5 cd	1,8 cd	7,13 c	91,2 a
78-516	13,2 c	39 a	79,9 c	2,4 bc	12,71 b	89,8 a
78-517	15,0 b	39 a	118,6 a	1,2 d	9,56 c	87,0 a
78-521	16,5 a	43 a	60,2 d	3,3 a	2,35 d	87,8 a
<i>T. polymorphum</i>						
19	5,8 a	35 a	23,1 a	1,6 ab	0,77 a	- **
20	6,0 a	37 a	24,7 a	1,0 b	0,98 a	- **
21	5,3 a	34 a	24,7 a	1,3 ab	0,58 a	89,5 a
22	4,9 a	36 a	20,9 a	1,6 ab	0,63 a	80,5 b
23	5,3 a	40 a	22,7 a	1,8 ab	0,68 a	- **
24	5,7 a	36 a	22,9 a	1,9 a	2,03 a	68,2 c

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, dentro de cada espécie, não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

\* Não produziu quantidade suficiente de sementes.

\*\* Não foram determinadas, pois nesta espécie fez-se apenas uma amostragem de três plantas.

TABELA 5. Percentagem de proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), das espécies estudadas, em diferentes estádios de desenvolvimento.

Espécies	Estádio de desenvolvimento	% PB	% DIVMS
<i>T. riograndense-2x</i>	Vegetativo	16,50	60,71
	Início florescimento	17,69	74,01
<i>T. riograndense-4x</i>	Vegetativo	17,30	75,79
	Início florescimento	18,21	72,15
<i>T. repens</i>	Início do florescimento	17,34	84,58
	Pleno florescimento	19,07	77,93
<i>T. polymorphum</i>	Pleno florescimento	14,41	71,82

Os resultados obtidos em relação à percentagem de proteína bruta na matéria seca e digestibilidade *in vitro* da matéria seca, encontram-se na Tabela 5. As espécies estudadas apresentam um alto valor nutritivo, o que está de acordo com o descrito para o gênero *Trifolium* (Gibson & Hollowell 1966, Davies 1969). Quanto a *T. riograndense*, parece ter havido uma pequena melhoria na qualidade de forragem, com a duplicação do número de cromossomos. Também em *T. pratense* (McBratney 1984), *T. resupinatum* (Almeida & Carvalho 1960), *T. alexandrinum* (Almeida & Carvalho 1962) e em centeio (Muntzing 1951), as plantas 4x apresentaram um conteúdo mais alto de PB do que as 2x.

### CONCLUSÕES

1. Dentre as espécies estudadas, o trevo branco foi a que apresentou, de forma geral, os maiores valores para as variáveis estudadas, confirmando o seu bom desempenho como leguminosa forrageira.

2. *T. polymorphum* foi a espécie que apresentou os menores valores para as variáveis estudadas, mostrando ser, atualmente, de pequena contribuição para a forragicultura do Estado.

3. *T. riograndense* comportou-se como uma espécie intermediária entre as demais, sendo inferior à cultivada (trevo branco) e superior à outra nativa (*T. polymorphum*).

4. *T. riograndense* respondeu satisfatoriamente à indução da poliploidia. As plantas 4x foram significativamente superiores às 2x em relação a

taxa de crescimento em altura, durante o período reprodutivo, e comprimento do pedúnculo floral. Somente foram inferiores quanto à taxa de crescimento em diâmetro, nos dois períodos considerados, e taxa de crescimento dos estolhos, sendo que nas demais variáveis não houve diferenças significativas entre as plantas 2x e 4x.

5. A viabilidade das plantas 4x de *T. riograndense* ficou evidenciada, principalmente, pelos resultados obtidos em relação à produção de sementes, que não diferiu significativamente das plantas 2x, o que não ocorre na maioria dos casos de indução recente de poliploidia.

6. As perspectivas do uso de plantas 4x de *T. riograndense* para o melhoramento são muito boas. No entanto, é necessário estudar-se mais esta espécie, para conhecer melhor seu desempenho, e trabalhos de seleção deverão ser conduzidos.

### REFERÊNCIAS

- AHLGREN, G.H. White clover. In: AHLGREN, G.H. *Forage crops*. 2.ed. New York, McGraw-Hill, 1956. p.94-105.
- ALMEIDA, J.L.F. de. Trevos autotetraplóides. I. O caso de *Trifolium resupinatum* L. ssp. *suaveolens* (Willd.). *Dinsm. Agron. Lusit.*, 19(2):127-48, 1957.
- ALMEIDA, J.L.F. de & CARVALHO, H.P. de. Trevos autotetraplóides. II. A polinização e o melhoramento de *Trifolium resupinatum* L. ssp. *suaveolens* (Willd.) *Dinsm. Agron. Lusit.*, 22(4):287-308, 1960.
- ALMEIDA, J.L.F. de & CARVALHO, H.P. de. Trevos autotetraplóides. III. O caso de *Trifolium alexandrinum* L. *Agron. Lusit.*, 24(1):45-74, 1962.
- ANDERSON, L.B. A study of some seedling characters and the effects of seedlings competition in diploid and tetraploid red clover (*Trifolium pratense* L.). *J. Agric. Res.*, 14:563-71, 1971.

- ARMSTRONG, J.M. & ROBERTSON, T.W. Studies of colchicine-induced tetraploids of *Trifolium hybridum* L. II. Comparison of characters in tetraploids and diploids. *Can. J. Genet. Cytol.*, 2:371-78, 1960.
- BARRETO, I.L.; VICENZI, M.; NABINGER, C. Melhoria e renovação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 5., Piracicaba, 1980. Anais. Campinas, 1980. p.28-63.
- BECKER, L.C.M. Indução de poliploidia e estudos sobre o modo de reprodução em *Trifolium riograndense* Burkart. Porto Alegre, UFRGS, 1985. 131p. Tese Mestrado.
- BEINHART, G. Effects of environment on meristematic development, leaf area and growth of white clover. *Crop Sci.*, 3:209-13, 1963.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para análise de sementes. Brasília, DNPV-DISEM, 1976. p.43-79.
- BREMNER, J.M. & KEENEY, D.R. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3-exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 30:577-82, 1966.
- BREWBAKER, J.L. Genética na agricultura. São Paulo, Polígono, 1969. 217p.
- BURKART, A. *Trifolium riograndense*, nov. spec., endemico en el sur del Brasil. *Darwiniana*, 3(2): 421-24, 1939.
- BURKART, A. Las leguminosas argentinas. Buenos Aires, ACME, 1952. p.344-9.
- CABRERA, A.L. Flora de la Provincia de Buenos Aires. Buenos Aires, INTA, 1967. p.570-79.
- DALL 'AGNOL, M. Avaliação de cultivares e progênies de policruzamento de trevo branco (*Trifolium repens* L.) consorciadas com gramíneas. Porto Alegre, UFRGS, 1981. 118p. Tese Mestrado.
- DAVIES, W.E. Herbage legumes; special considerations. In: OCASIONAL SYMPOSIUM, 6., 1969. White clover research; grass and forage breeding, British Grassland Society, 1969. p.21-7.
- DUNBIER, M.W.; ESKEW, D.L.; BINGHAM, E.T.; SCHRADER, L.E. Performance of genetically comparable diploid and tetraploid alfalfa: agronomic and physiological parameters. *Crop Sci.*, 15(2): 211-3, 1975.
- ELLIOTT, F.C. Mejoramiento de plantas. México, Continental, 1967. 474p.
- GIBSON, P.B. & HOLLOWELL, E.A. White clover. Washington, D.C., USDA, 1966. 33p. (Agriculture Handbook, 314)
- HOLLOWELL, E.A. El trebol ladino y otros treboles blancos. In: HUDGES, H.D.; HEATH, M.; METCALFE, D. eds. Forages. México, Continental, 1970. p.187-94.
- HUTTON, E.M. Some effects of induced autopolyploidy in white clover, barrel medic and wimmera ryegrass. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, 23:277-31, 1957.
- KANNENBERG, L.V. & ELLIOTT, F.C. Ploidy in *Trifolium ambiguum*, M. Bieb. in relation to some morphological and physiological characters. *Crop Sci.*, 2:378-81, 1962.
- KAPPEL, A. Os trevos; espécies do gênero *Trifolium*. Porto Alegre, Secretaria da Agricultura, 1967. 45p. (Boletim Técnico, 9)
- LEVIN, D.A. Polyploidy and novelty in flowering plants. *Am. Nat.*, 122(1):1-25, 1983.
- McBRATNEY, J. Comparison of diploid and tetraploid cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.) in microwards during primary growth under glasshouse conditions. *Rec. Agric. Res.*, 28:75-9, 1980.
- McBRATNEY, J. Productivity of red clover growth alone and with companion grasses; further studies. *Grass Forage Sci.*, 39:167-75, 1984.
- MOHRDIECK, K.H. Observações sobre o número de cromossomos no *Trifolium riograndense* Burkart. *R. Agron.*, Porto Alegre, 14:210-4, 1950.
- MOHRDIECK, K.H. Formações campestres do Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE PASTAGENS; de que pastagens necessitamos. Porto Alegre, 1980. Anais. Porto Alegre, FARSUL, 1980. p.18-27.
- MUNTZING, A. Cytogenetic properties and practical value of tetraploid rye. *Hereditas*, 37:1-34, 1951.
- MYERS, W.M. Cytology and genetics of forage grasses. *Bot. Rev.*, 13:319-421, 1947.
- NABINGER, C. Técnicas de melhoramento de pastagens naturais no Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE PASTAGENS; de que pastagens necessitamos. Porto Alegre, 1980. Anais. Porto Alegre, FARSUL, 1980. p.28-58.
- SCHIFINO, M.T. Chromosome numbers and meiotic behavior in five native brazilian forage legume species. *R. bras. Genét.*, 2:357-62, 1983.
- SCHIFINO, M.T. Estudos citogenéticos em *Trifolium riograndense* Burkart, *T. polymorphum* Poir. e *T. repens* L. indução de poliploidia, número cromossômico, cariótipo, comportamento meiótico. Porto Alegre, UFRGS, 1985. 255p. Tese Doutorado.
- SMITH, L. A comparison of the effects of heat and x-rays on dormant seed of cereals with special reference polyploidy. *J. Agric. Res.*, 73:137-58, 1946.
- SMITH, D. Ladino clover. In: ————. Forage management in the North. Debuque, Kendal/Hunt. 1962. p.113-6.
- STEBBINS, G.L. Genetics, evolution and plant breeding. *Indian J. Genet. Plant Breed.*, 17:129-41, 1957.
- TAI, W. & DEWEY, D.R. Morphology, cytology and fertility of diploid and colchicine-induced tetraploid crested wheatgrass. *Crop Sci.*, 6:223-26, 1966.
- TAYLOR, N.L. Registration of diploid and derived tetraploid red clover germoplasm. *Crop Sci.*, 23: 1226, 1983.
- THOMAS, H.L. Breeding potential for forage yield and seed yield in tetraploid versus diploid strains of red clover (*Trifolium pratense*). *Crop Sci.*, 9:365-6, 1969.

THOMAS, R.G. Growth of the white clover plant in relation in seed production. In: LANCASHIRE, J.A., ed. **Herbage seed production**; proceedings of a conference. Canterbury, New Zealand Grassland

Association, 1980. p.56-63.

TILLEY, J.M.T. & TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digest on forage crops. **J. Br. Grass. Soc.**, **18**:104-11, 1963.