

INVESTIGACIONES

FITOMEJORAMIENTO DE TEBOL ROSADO (*Trifolium pratense* L.) I. EVALUACION CLONAL DE UN BLOQUE DE POLICRUZAMIENTO¹

Red clover (*Trifolium pratense* L.) breeding. I. Clonal evaluation of a polycrossing

Fernando Ortega K.², Rafael Galdames G.² y Alfonso Aguilera P.²

SUMMARY

The experiment was carried out at Carillanca Experimental Station (INIA), Temuco, Chile and it corresponds to the first step of a red clover (*Trifolium pratense* L.) breeding project. The aim of the project is to release cultivars with better persistency than the national cultivar Quiñequeli. A polycross and progeny test are performed. In the present paper information from two seasons of evaluation (1989/90 and 1990/91) of the polycrossing is given, emphasizing in the sanitary performance.

The leaf disease of higher severity was powdery mildew (*Erysiphe trifolii* Grev.). Powdery mildew average severity was 33 and 18% for the first and second seasons, respectively, and there were positive correlations ($r = 0,72$; $P \leq 0,01$) between its severity in the two seasons. However, for the recorded severities, it didn't have significant correlations ($P > 0,05$) with mortality, seed yield or forage yield.

Average mortality at the end of the first and second seasons was 27 and 40%, respectively. It was positively correlated ($P \leq 0,01$) with virus severity and was closely related to root damage by the clover borer, *Hylastinus obscurus* (M.) (Coleoptera: Scolytidae), associated to other insects and crown rot. Seven of the 55 evaluated plants had final mortality lower than 10 % and low severity of PM and viruses.

There was a positive correlation ($r = 0,45$; $P \leq 0,01$) between the beginning time of flowering and the number of internodes of the main stem. This suggests the possibility of estimating the flowering precocity by evaluating the number of internodes.

Key words: *Trifolium pratense* L., red clover, cultivars, breeding, persistency.

INTRODUCCION

El trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) es una leguminosa forrajera perenne de vida corta (Gillett, 1985). En Chile, tradicionalmente ha constituido la pradera monófito de mayor superficie sembrada (INE, 1982).

El cultivar Quiñequeli, desarrollado por INIA entre 1957 y 1962, ha sido hasta la fecha de mejor comportamiento para todo el país (Avenidaño, 1965; Ortega y otros, 1991; Soto y otros, 1992). Sin embargo, una aparente pérdida de su identidad genética o el ataque de algunas plagas y enfermedades han determinado la necesidad de iniciar un programa

de mejoramiento de trébol rosado con el objetivo primordial de incrementar su persistencia (Ortega y otros, 1991). Para esto se ha planteado una metodología que contempla realizar un bloque de polycruzamiento y la evaluación de las progenies producidas.

En el presente trabajo se analiza la información recopilada durante dos años de evaluación del bloque de polycruzamiento (1989/90 y 1990/91). Los objetivos de esta etapa fueron:

- Cruzar las plantas madres y cosechar la semilla que se utilizará para sembrar el test de progenie.
- Evaluar clonalmente las plantas con las que se inicia el proyecto de mejoramiento, poniendo énfasis en el comportamiento fitosanitario.

¹Recepción de originales: 4 de enero de 1993.

²Estación Experimental Carillanca (INIA), Casilla 58-D, Temuco, Chile.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo se realizó en la Estación Experimental Carillanca (INIA, Temuco), ubicada a 38° 41' lat. S y 72° 25' long. O. En la Figura 1 se detalla el método de mejoramiento utilizado. Este comenzó con la polinización abierta de las plantas madres en el bloque de policruzamiento. Posteriormente se cosechó, en forma separada, la semilla de cada una de las plantas madres; semilla que se utilizará para sembrar el test de progenie. El test de progenie se evaluará durante tres años y permitirá seleccionar las plantas madres con mayor capacidad combinatoria general (método genotípico) o, alternativamente, aquellas progenies de mejor comportamiento (método genofenotípico). Para obtener la primera generación del sintético (Syn 1) se cruzarán las plantas madres seleccionadas (método genotípico) o, en su defecto, las mejores plantas provenientes de las mejores progenies. Posteriormente se realizarán sucesivas multiplicaciones para obtener las generaciones avanzadas y comerciales de el(los) sintético(s).

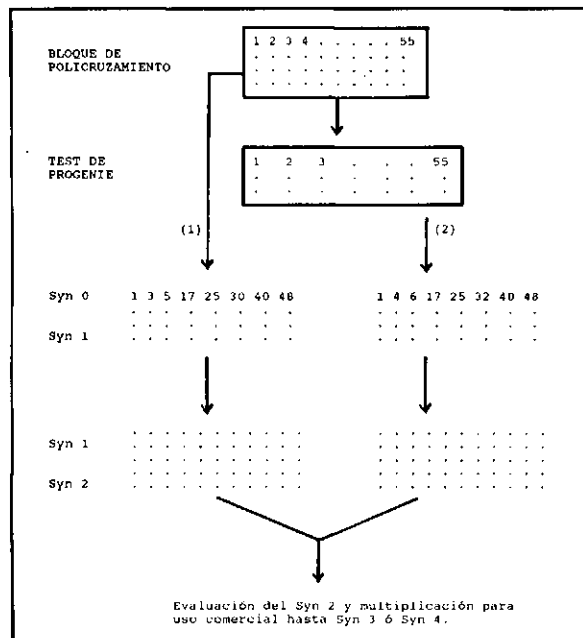


FIGURA 1. Método de mejoramiento genotípico (1) y genofenotípico (2) de trébol rosado.

FIGURE 1. Genotypic (1) and Geno-phenotypic (2) breeding method in red clover.

Para establecer el bloque de policruzamiento fueron seleccionadas 55 plantas madres provenientes de cultivares introducidos, germoplasma colectado entre la VI y IX regiones y familias de medios hermanos de Quiñequeli. En invierno de 1989, las plantas se propagaron vegetativamente en invernadero mediante cortes de corona y tallo, hasta obtener 10

clones por planta. Los clones fueron enraizados en bolsas individuales de polietileno; utilizando una mezcla de suelo (50% de tierra y 50% de arena) esterilizada con bromuro de metilo (620 g/2,5 m³ de suelo) y fertilizada con dosis equivalente a 30, 40 y 42 kg/ha de N, P y K, respectivamente.

Durante la fase de enraizamiento en invernadero se aplicó 5 cc/maceta de solución nutritiva consistente en: MnSO₄ x H₂O: 0,90 g/L; CuSO₄ x 5 H₂O: 0,62 g/L; (NH₄)₆ Mo₇O₂₄ x 4H₂O: 0,10 g/L; ZnCl₂: 0,50 g/L; y H₃BO₃: 0,80 g/L.

Antes del trasplante se inoculó cada planta con 2 cc de solución de *Rhizobium* cultivada en caldo lactosado.

En primavera (12.10.89), se organizó el bloque de policruzamiento. Los clones enraizados fueron transplantados a terreno, distantes a 1 m y distribuidos al azar con diez repeticiones. El bloque de policruzamiento se ubicó en un lugar aislado, de tal modo que no hubiera contaminación de polen procedente de plantas de trébol rosado ajenas al material seleccionado. La semilla se cosechó al término de la primera temporada (entre el 20.02.90 y el 11.03.90).

En la primera temporada (1989/90), se evaluaron las siguientes variables:

- Enfermedades foliares (%). El 04.01.90 se evaluó visualmente la severidad de oidio (*Erysiphe trifolii* Grev.); mancha foliar de *Stemphylium* (*Stemphylium sarciniforme* (Cav.) Wiltshire); septoriosis (*Septoria* sp); y virosis. Se utilizó una escala porcentual, donde 0% representó ausencia de síntomas y 100% la totalidad del follaje cubierto por la enfermedad.
- Rendimiento de semilla (g/clon). Se cosechó entre el 20.02.90 y el 08.05.91.

En la segunda temporada se decidió no evaluar mancha foliar de *Stemphylium* ni septoriosis porque en las evaluaciones de la temporada anterior se demostró que dichas enfermedades tenían poca relevancia. Asimismo, tampoco se evaluó rendimiento de semilla porque de acuerdo a los objetivos planteados y la metodología de mejoramiento utilizada se cosechó semilla sólo en la primera temporada. Esto permitió que en la segunda temporada se evaluara la fecha de inicio de floración y el número de internudos. Por otro lado, en la segunda temporada hubo mortalidad de clones, lo que permitió cuantificarla y además evaluar la incidencia de plagas. El detalle de las variables evaluadas en la segunda temporada (1990/91) es el siguiente:

- Mortalidad de clones (%) en dos fechas (30.11.90 y 08.05.91).
- Severidad de oidio (*Erysiphe trifolii* Grev.) y virosis (%) el 01.02.91.
- Incidencia de plagas el 14.03.91.
- Fecha de inicio de floración. Días a partir del 01.12.90 con último corte el 28.11.90.
- Número de internudos del tallo principal el 11.02.91.
- Rendimiento de materia seca (g/clon) el 11.02.91.

En las evaluaciones se consideró la totalidad de clones sobrevivientes; excepto para rendimiento de forraje donde se evaluaron tres clones por planta.

Se hace un análisis descriptivo de las variables y se estudian las correlaciones lineales simples entre ellas.

RESULTADOS Y DISCUSION

La enfermedad de mayor severidad fue oidio, detectándose bajos porcentajes de mancha foliar de *Stemphylium* y septoriosis. En la temporada 1989/90 la severidad de oidio fluctuó de 0 a 80%, con un promedio de 33,5%. En la temporada 1990/91 el rango varió de 0 a 73%, siendo el promedio de 18,5% (Cuadro 1). La menor severidad de oidio en la segunda temporada se puede atribuir a que en ésta el verano fue más lluvioso, aspecto que disminuye la presencia de la enfermedad (Leath, 1985).

En las dos temporadas se detectó un número importante de plantas con bajo ataque de oidio, menor a 10%, y las evaluaciones correspondientes estuvieron positiva y altamente correlacionadas

(Figura 2, Cuadro 2). Las correlaciones obtenidas se explican porque la resistencia a la mayor parte de las razas de oidio es dominante y comandada por un par de genes (Stavelly y Hanson, 1967).

La severidad de oidio no estuvo significativamente correlacionada con mortalidad de clones, rendimiento de semilla y rendimiento de forraje (Cuadro 2). Al respecto, Ortega y otros (1991) tampoco encontraron relación entre la incidencia de la enfermedad y rendimiento de forraje. Sin embargo, otros antecedentes bibliográficos señalan que ataques severos de oidio pueden reducir la calidad del forraje (Horsfall, citado por Leath, 1985).

La severidad promedio de virosis para las dos temporadas fue baja; sin embargo, el rango varió de 0 a 35% y 0 a 27% para cada temporada, respectivamente (Cuadro 1). La detección visual de las virosis es difícil puesto que, entre otros aspectos, su expresión en una planta no es permanente, lo que podría explicar la baja incidencia promedio detectada. La existencia de virosis fue confirmada en una muestra de la población a través de un análisis de RNA doble hebra (Guido Herrera M., INIA La Platina, datos no publicados), desconociéndose hasta la fecha exactamente a qué virus corresponde. Se obtuvo correlaciones altamente significativas y positivas entre virosis y mortalidad de plantas (Cuadro 2). Khan y otros; y Pratt, citados por Barnett y Diachum (1985), señalan que los virus son agentes causantes de mortalidad en tréboles. También reducen drásticamente la producción de semilla (Broda y Fiedorow, 1984; Goth y Wilcoxson, citados por Barnett y Diachum, 1985), lo que respaldaría las correlaciones significativas y negativas entre virosis y la variable mencionada.

CUADRO 1. Resumen de las variables evaluadas en dos temporadas del bloque de policruzamiento de trébol rosado

TABLE 1. Summary of the parameters evaluated in two seasons of the red clover polycross

| Variable | Temporada | Promedio | Mínimo | Máximo |
|--|-----------|----------|--------|--------|
| Severidad de oidio (%) | 1989/90 | 33,5 | 0,0 | 80,0 |
| | 1990/91 | 18,5 | 0,0 | 73,0 |
| Severidad de virosis (%) | 1989/90 | 1,6 | 0,0 | 35,0 |
| | 1990/91 | 3,0 | 0,0 | 27,0 |
| Mortalidad inicial (%) | 1990/91 | 27,2 | 0,0 | 100,0 |
| Mortalidad final (%) | 1990/91 | 40,4 | 0,0 | 100,0 |
| Inicio de floración (días) | 1990/91 | 47,7 | 36,3 | 59,8 |
| Nº internudos | 1990/91 | 8,7 | 7,0 | 10,5 |
| Rendimiento de forraje (g m.s./planta) | 1990/91 | 116,4 | 6,0 | 386,5 |
| Rendimiento de semilla (g/planta) | 1989/90 | 41,7 | 8,2 | 68,1 |

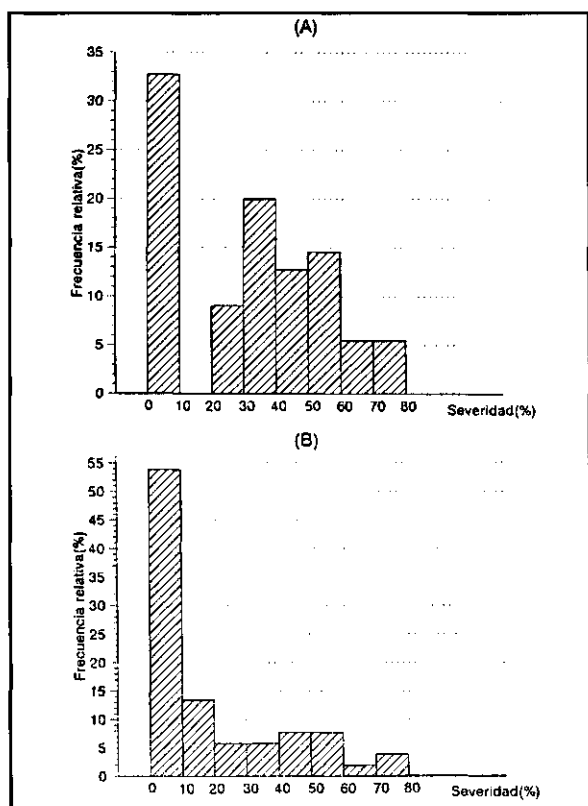


FIGURA 2. Severidad (%) de oidio (*Erysiphe trifolii* Grev.) en el bloque de policruzamiento de trébol rosado: A) Temporada 1989/90; B) Temporada 1990/91.

FIGURE 2. Powdery mildew (*Erysiphe trifolii* Grev.) severity (%) in the red clover polycross: A) Season 1989/90; B) Season 1990/91.

Con el objetivo de determinar la incidencia de insectos, fueron estudiadas 64 plantas muertas (Cuadro 3). En un 75% de éstas se detectó la presencia del perforador de la raíz del trébol, *Hylastinus obscurus* (M.) (Coleoptera: Scolytidae). Su presencia usualmente estuvo asociada a otros insectos y pudriciones de la corona. Otros insectos detectados fueron: el gusano blanco del fréjol, *Graphognathus leucoloma* (B.) (Coleoptera: Curculionidae) y el gusano blanco o San Juan verde, *Hylamorpha elegans* (B.) (Coleoptera: Scarabaeidae).

En relación a *Hylastinus*, Carrillo y Mundaca (1974) destacan la importancia del insecto y señalan que el perforador de la raíz está presente en más del 70% de las plantas en praderas de trébol rosado al término del segundo año. Burton y Morrison (1957), Carrillo y Mundaca (1974), Pruess y Weaver (1958), y Weaver (1954), indican que *Hylastinus obscurus* (M.) es un insecto que afecta seriamente la persistencia del trébol rosado, ya sea por su acción directa o porque facilita la entrada de enfermedades a la raíz y corona de la planta.

La mortalidad promedio al inicio y término de la segunda temporada fue de 27,2 y 40,4%, respectivamente (Cuadro 1). Se observó un rango amplio (0 a 100%) entre plantas en la variable mencionada, detectándose alrededor de 35 y 25% de plantas con baja mortalidad (menor a 10%) al inicio y término de la segunda temporada, respectivamente (Figura 3). Ya se mencionó que la mortalidad estuvo significativa y positivamente correlacionada con la incidencia de virosis (Cuadro 2). También hubo una

CUADRO 2. Correlaciones entre las variables evaluadas en el bloque de policruzamiento de trébol rosado

TABLE 2. Correlations between the parameters evaluated in the red clover polycross

| Variable | Temporada 1989/90 | | | Temporada 1990/91 | | |
|---------------------|-------------------|---------|---------------|-------------------|---------------|------------------|
| | Oidio | Virosis | Rend. semilla | Mortal. inicial | Mortal. final | Inicio floración |
| Temporada 1989/90 | | | | | | |
| Oidio | - | | | | | |
| Virosis | | - | | | | |
| Rendimiento semilla | | -0,43** | - | | | |
| Temporada 1990/91 | | | | | | |
| Mortalidad inicial | | 0,49** | -0,31* | - | | |
| Mortalidad final | | 0,45** | -0,73** | 0,90** | - | |
| Virosis | | | -0,35** | | 0,36** | |
| Inicio floración | | | 0,47** | | | |
| Nº nudos | | | | | | 0,45** |
| Rendimiento forraje | | | | -0,36** | -0,42** | |

* y **Indican correlaciones significativas al 5 y 1%, respectivamente.

estrecha relación entre plantas muertas y la presencia de insectos; entre ellos, el de mayor importancia fue *Hylastinus obscurus* (M.) (Cuadro 3).

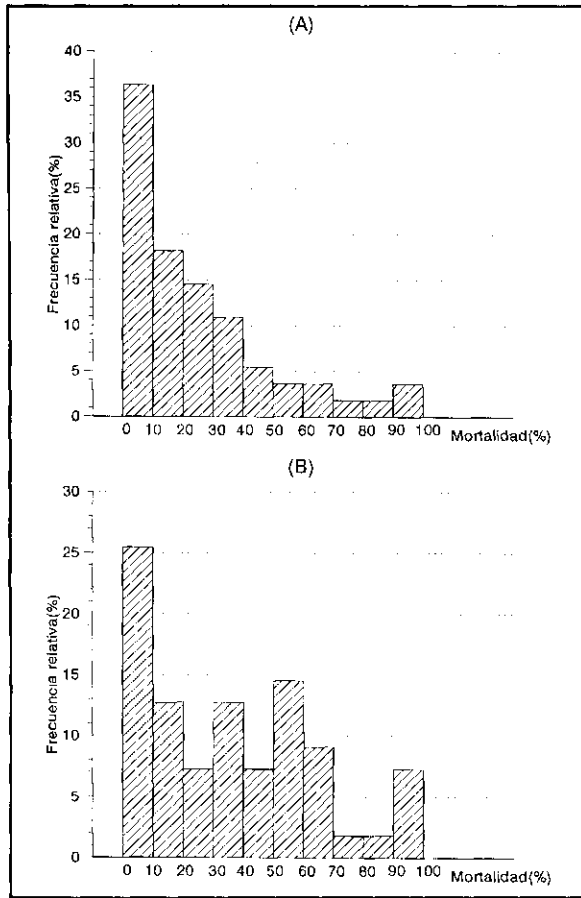


FIGURA 3. Mortalidad (%) en el bloque de policruzamiento de trébol rosado: A) Inicio temporada 1990/91; B) Término temporada 1990/91.

FIGURE 3. Mortality (%) in the red clover polycross: A) Beginning of season 1990/91; B) End of season 1990/91.

CUADRO 3. Insectos asociados a plantas muertas en el bloque de policruzamiento de trébol rosado

TABLE 3. Insects associated to mortality of plants in the red clover polycross

| Insecto | Nº de plantas | Porcentaje de plantas |
|------------------------------------|---------------|-----------------------|
| <i>Hylastinus obscurus</i> (M.) | 48 | 75 |
| <i>Graphognatus leucoloma</i> (B.) | 17 | 27 |
| <i>Hylamorphia elegans</i> | 5 | 8 |
| Otros insectos | 20 | 31 |
| Total plantas | 64 | 100 |

Diversos autores señalan que la mortalidad de plantas en trébol rosado es causado por un "complejo" de factores bióticos y abióticos. Entre los factores bióticos destacan, además de los ya mencionados, la incidencia de hongos que atacan raíces y corona (Fusariosis y Verticilosis), la parte aérea de la planta (*Stemphylium*, *Phoma*), y el ataque de nematodos (Andersson y Kristiansson, 1989; Kendall y otros, 1962; Leath y Barnett, 1981; Matsuura y otros, 1985; Newton y Graham, 1960; Pulli, 1984; Skipp y Christensen, 1990). Entre los factores abióticos se encuentra la fertilidad de suelo, riego, fisiología y manejo de la pradera (Pulli, 1984). Por último, se ha detectado una necrosis interna de la corona a la cual aún no se le ha podido atribuir agente causante (Cressman, 1967; Graham y otros, 1960; Skipp y Christensen, 1990).

La mortalidad estuvo negativa y significativamente correlacionada con rendimiento de forraje (Cuadro 2). Esto indica que los clones sobrevivientes de las plantas con mayor mortalidad tuvieron menor rendimiento de forraje; lo que significaría que, a pesar de sobrevivir, su rendimiento se vio afectado por algunos de los factores bióticos y abióticos antes descritos.

En el mejoramiento de plantas forrajeras, en general, y en la creación de sintéticos, en particular, es muy importante conocer la fecha de floración de los materiales para seleccionar aquellos relativamente parecidos en esta característica (Cope y Taylor, 1985; Fehr, 1987). La medición de la fecha de floración demanda la evaluación diaria de los materiales; por esta razón, Hawkins (1953), buscó alguna forma indirecta de evaluarla y encontró que el número de internudos del tallo principal era un buen índice de la precocidad de floración. El objetivo de evaluar las dos variables y correlacionarlas fue comprobar si efectivamente éstas se encontraban estrechamente asociadas.

El número de internudos del tallo principal varió entre 7,0 y 10,5, siendo su promedio de 8,7. La fecha de inicio de floración fluctuó entre 36,3 y 59,8 días (contados a partir del 01.12.90) y su promedio fue de 47,7 días (Cuadro 1). La correlación obtenida entre las dos variables, fue positiva y significativa (Cuadro 2). Sin embargo, los valores de correlación son medios y bastante menores a los obtenidos por Hawkins (1953), lo que sugiere la necesidad de afinar las metodologías de evaluación de floración y recuento del número de internudos.

El rendimiento promedio de semilla alcanzó a 41,7 g/clon y se observó una variación entre 8,2 y 68,1 g (Cuadro 1). Los rendimientos bajos se explican, además de la variabilidad genética, en parte, por la

incidencia de virosis y por el ataque de otras enfermedades y plagas. También se observa que los materiales más precoces en floración tuvieron mayor rendimiento de semilla (Cuadro 2), hecho concordante con los resultados obtenidos por Taylor y otros (1966).

El rendimiento de forraje fluctuó entre 6,0 y 386,5 g/clon, obteniéndose un promedio de 116,4 g/clon (Cuadro 1). Esta variable sólo se correlacionó significativamente y en forma negativa con mortalidad de plantas (Cuadro 2).

En todas las variables estudiadas se observó una gran variabilidad entre genotipos. Esto indicaría que con métodos de mejoramiento apropiados se puede utilizar la porción genética de esta variabilidad para crear cultivares de trébol rosado. Cope y Taylor (1985) y Fehr (1987) señalan que el cruzamiento de plantas seleccionadas en base al comportamiento de sus progenies para formar sintéticos, es un método genotípico que permite mejorar especialmente características de baja heredabilidad, entre las que se encuentran persistencia y rendimiento. Sin embargo, la principal dificultad del método estriba en el mantenimiento de las plantas madres. Taylor

(1987) menciona como alternativa un método genotípico que no requiere mantener vivas las plantas madres (Figura 1).

CONCLUSIONES

- La enfermedad foliar de mayor severidad fue oidio (*Erysiphe trifolii* Grev.). Sin embargo, para los niveles de ataque detectados, no hubo correlación significativa entre la enfermedad y mortalidad de clones, rendimiento de semilla y rendimiento de forraje.
- La mortalidad de plantas estuvo estrechamente ligada a la incidencia de virosis y a la presencia del perforador de la raíz del trébol rosado, *Hylastinus obscurus* (M.), asociado a otros insectos y pudriciones de la corona.
- Se obtuvo una correlación positiva y significativa entre la fecha de inicio de floración y el número de internudos del tallo principal. Esto sugiere la posibilidad de estimar indirectamente la precocidad de floración a través de la última variable mencionada.

RESUMEN

El trabajo se desarrolló en la Estación Experimental Carillanca (INIA), Temuco, Chile, y corresponde a la primera etapa de un proyecto de fitomejoramiento de trébol rosado (*Trifolium pratense* L.). El objetivo general del proyecto es crear cultivares de mejor persistencia, usando como referencia el cultivar nacional Quiñequeli. La metodología de mejoramiento contempla evaluar un bloque de policruzamiento y su test de progenie. El presente trabajo entrega la información obtenida en dos temporadas (1989/90 y 1990/91) de evaluación clonal del bloque de policruzamiento, poniendo énfasis en el comportamiento sanitario.

La enfermedad foliar de mayor severidad fue oidio (*Erysiphe trifolii* Grev.). La severidad promedio de oidio para la primera y segunda temporada fue de 33 y 18%, respectivamente, y se obtuvieron correlaciones positivas ($r = 0,72$; $P \leq 0,01$) entre las dos temporadas. Sin embargo, para los niveles detectados, la enfermedad no se correlacionó ($P > 0,05$) con mortalidad, rendimiento de semilla o rendimiento de forraje.

La mortalidad promedio al término de la primera y segunda temporada fue de 27 y 40%, respectivamente. Esta se correlacionó positivamente ($P \leq 0,01$) con la severidad de virus y estuvo estrechamente relacionada con el daño provocado por el perforador de la raíz del trébol, *Hylastinus obscurus* (M.) (Coleoptera: Scolytidae), asociado a otros insectos y pudriciones de la corona. Siete de las 55 plantas evaluadas presentaron mortalidad final de dos temporadas menor a 10% y baja incidencia de oidio y virosis.

Se obtuvo una correlación positiva ($r = 0,45$; $P \leq 0,01$) entre la fecha de inicio de floración y el número de internudos del tallo principal. Esto sugiere la posibilidad de estimar indirectamente la precocidad de floración a través de la última variable mencionada.

Palabras claves: *Trifolium pratense* L., trébol rosado, cultivares, fitomejoramiento, persistencia.

LITERATURA CITADA

- ANDERSSON, B. and KRISTIANSSON, U. 1989. Breeding for resistance to root rot in red clover. Proceedings of the XVI International Grassland Congress, Nice, Francia. p.: 363-364.
- AVENDAÑO T., RAUL. 1965. La variedad Quiñequeli y su evaluación con respecto a algunos tréboles rosados corrientes. Agricultura Técnica (Chile) 25: 167-171.
- BARNETT, O.W. and DIACHUN, S. 1985. Virus diseases of clovers. In: Taylor, N.L. (ed.). Clover Science and Technology. Agronomy Series 25:235-268.
- BRODA, Z. and FIEDOROW, Z. 1984. Inheritance of red clover (*Trifolium pratense* L.) resistance to bean yellow mosaic virus (Bymv). Genética Polónica 25 (3): 277-281.
- BURTON, C.D. and MORRISON, F.O. 1957. The distribution and importance of clover root borer (*Hylastinus obscurus* (Marsh) Coleoptera: Scolytidae) in Quebec. Canadian Journal of Plant Science 37: 26-33.
- CARRILLO LL., ROBERTO y MUNDACA B., NELLY. 1974. Biología de *Hylastinus obscurus* (Marsham); Coleoptera Scolytidae. Agricultura Técnica (Chile) 34: 29-35.
- COPE, W.A. and TAYLOR, N.L. 1985. Breeding and Genetics. In: Taylor, N.L. (ed.). Clover Science and Technology. Agronomy Series 25: 235-268.
- CRESSMAN, R.M. 1967. Internal Breakdown and Persistence of red clover. Crop Science 7: 357-361.
- FEHR, W.R. 1987. Principles of cultivar development. I. Theory and Technique. Macmillan Publishing Company, New York, EE.UU. 536 p.
- GILLETT, J.M. 1985. Taxonomy and Morphology. In: Taylor, N.L. (ed.). Clover Science and Technology. Agronomy Series 25: 205-233.
- GRAHAM, J.H.; RHYKERD, C.L. and NEWTON, R.C. 1960. Internal breakdown in crown of red clover. Plant Disease Reporter 44 (1): 59-61.
- HAWKINS, R.P. 1953. Investigations on local strains of herbage plants. II types of red clover and their identification. Journal of British Grassland Soc. 8: 213-238.
- INE-INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS, CHILE. 1982. Compendio Estadístico 1982. INE. Santiago, Chile. p.: 57.
- KENDALL, W.A.; STROUBE, W.H. and TAYLOR, N.L. 1962. Growth and persistence of several varieties of red clover at various temperature and moisture levels. Agronomy Journal 54:345-347.
- LEATH, K.T. and BARNETT, O.W. 1981. Viruses infecting red clover in Pennsylvania. Plant Disease 65 (12) : 1.016-1.017.
- LEATH, K.T. 1985. General diseases. In: Taylor, N.L. (ed.). Clover Science and Technology. Agronomy Series 25: 205-233.
- MATSUURA, M.; MATSUMOTO, N.; SAWAI, A.; GAU, M. and UEDA, S. 1985. Resistance of red clover cultivars to clover rot in pure and mixed stands with reference to breeding work. Proceedings of the XV International Grassland Congress, Kyoto, Japón. p.: 288-289.
- NEWTON, R.C. and GRAHAM, J.H. 1960. Incidence of root-feeding weevils, internal breakdown, and virus and their effect on longevity of red clover. Journal of Economic Entomology 53 (5): 865-867.
- ORTEGA K., FERNANDO, ROMERO Y., ORIELLA y GALDAMES G., RAFAEL. 1991. Evaluación de cultivares de trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) en la IX Región. Agricultura Técnica (Chile) 51: 138-144.
- PRUESS, K.P. and WEAVER, C.R. 1958. Estimation of red clover yield losses caused by the clover root borer. Journal of Economic Entomology 51 (4): 491-492.
- PULLI, S. 1984. Adaptation and persistence of red clover on finnish farms. Proceedings of the 10th general meeting of the European Grassland Federation, Noruega. p.: 297-301.
- SKIPP, R.A. and CHRISTENSEN, M.J. 1990. Selection for persistence in red clover; influence of root disease and stem nematode. New Zealand Journal of Agricultural Research 33 : 319-333.
- SOTO O., PATRICIO, FRANCE I., ANDRES, MARTINEZ R., GERMAN y CORTEZ A., MONICA 1992. Ensayo de variedades de trébol rosado (*Trifolium pratense* L.). Agricultura Técnica (Chile) 52: 48-53.
- STAVELY, J.R. and HANSON, E.W. 1967. Genetics of resistance to *Erysiphe polygoni* in *Trifolium pratense*. Phytopathology 57: 193-197.
- TAYLOR, N.L.; DADE, E. and GARRISON, C.S. 1966. Factors involved in seed production of red clover clones and their Polycross Progenies at two diverse locations. Crop Science 6: 535-538.
- TAYLOR, N.L. 1987. Forage legumes. In: Fehr, W.R. (ed.). Principles of cultivar development. II. Crop Species. Macmillan Publishing Company, New York, EE.UU. p.: 209-248.
- WEAVER, C.R. 1954. Root borer causes red clover to die after first harvest year. Ohio farm and home research, EE.UU. Vol 39 (289). p.: 57.