



Bullitta, Simonetta Maria; Roggero, Pier Paolo; Viegi, Lucia; Veronesi, Fabio (1989) *Trifolium nigrescens* Viv. subsp. *nigrescens*, leguminosa foraggera utilizzabile nel miglioramento dei pascoli in Sardegna: 1. Prime acquisizioni, su popolazioni naturali sarde. Rivista di agronomia, Vol. 23 (3), p. 289-296. ISSN 0035-6034.

<http://eprints.uniss.it/4635/>

RIVISTA DI

AGRONOMIA

ANNO XXIII - N. 3 - LUGLIO-SETTEMBRE 1989



Consiglio Direttivo:

SALVATORE FOTI - Presidente
GIUSEPPE RIVOIRA - Vice Presidente
FRANCO LORENZETTI - Membro
FERDINANDO PIMPINI - Membro
ATTILIO LOVATO - Segretario tesoriere

© 1989 Edagricole S.p.A.

Direzione: Dipartimento di Agronomia e Produzione erbacee dell'Università di Firenze - Piazzale delle Cascine, 18 - 50144 Firenze - **Redazione, Pubblicità, Abbonamenti, Amministrazione:** Via Emilia Levante, 31 - 40139 Bologna - Tel. 051/49.22.11 (10 linee) - Telegrammi e Telex: EDAGRI 510336 Telefax (051) 493660. Cas. Post. 2157-40139 Bologna - Ufficio di Milano: 20133 - Via Bronzino 14 - Tel. 02/222.840-222.864 - Ufficio di Roma: 00187 - Via Boncompagni 73 - Tel. 06/461.098-482.72.40.

Direttore responsabile: Prof. Paolo Talamucci - Reg. Tribunale di Bologna n. 3236 del 12-12-1966 - In questo numero la pubblicità non supera il 70%. **Abbonamenti e prezzi Italia (c/c postale 366401):** Abbonamento annuo L. 48.000 - Un numero L. 13.000 - Arretrati: il doppio - Annate arretrate L. 68.000 - **Estero:** Abbonamento annuo L. 58.000 - Con spedizione via aerea L. 85.000 - **Rinnovo abbonamenti Italia:** Attendere l'avviso che l'Editore farà pervenire un mese prima della scadenza. In mancanza di comunicazioni dell'abbonato verrà inviato, alla scadenza, un c/assegno per l'importo dell'abbonamento annuo. Per Enti e Ditte che ne facciano richiesta l'avviso verrà inoltrato tramite preventivo **Escluso da IVA ai sensi dell'Art. 2 del D.P.R. 26/10/'72 nr. 633 mod. da L. 25/2/87 n° 67 art. 22.** La ricevuta di pagamento del conto corrente postale è documento idoneo e sufficiente ad ogni effetto contabile e pertanto *non si rilasciano fatture.*

Tutti i diritti sono riservati: nessuna parte di questa pubblicazione può essere riprodotta, memorizzata o trasmessa in nessun modo o forma, sia essa elettronica, elettrostatica, fotocopia, ciclostilata, senza il permesso scritto dell'Editore.

Questo giornale è associato alla



Stampato dalla TIBERGRAPH S.R.L. - Città di Castello (Perugia).

A cura della Società Italiana di Agronomia
col Contributo finanziario del Consiglio Nazionale delle Ricerche

Comitato scientifico e direttivo:

ANGELO CALIANDRO	MARIO MONOTTI
ANDREA CAVALLERO	ENRICO MOSCHINI
MAURO DEIDDA	PAOLO PARRINI
GIUSEPPE LA MALFA	FERDINANDO PIMPINI
RENZO LANDI	GIOVANNI TODERI
FRANCO LORENZETTI	GIANPIETRO VENTURI

Direttore responsabile: PAOLO TALAMUCCI

Segretario di redazione: ROBERTO ANDERLINI

SOMMARIO

- 213 Influenza delle opere di livellamento e scasso sull'erosione del suolo nella collina cesenate
Paolo Bazzoffi, Giancarlo Chisci e Daniele Missere
- 222 Influenza di pratiche agronomiche sull'infestazione potenziale di malerbe e sui residui di diserbanti nel terreno
Guido Baldoni, Pietro Catizone, Maria Taccheo Barbina e Claudio Spessotto
- 235 Attendibilità della media e dimensione del campionamento nell'analisi della flora reale
Antonio Berti e Giuliano Mosca
- 241 *Abutilon theophrasti* Medicus: accrescimento, fenologia della riproduzione e possibili ipotesi sulla sua strategia biologica
Maria Clara Zuin e Giuseppe Zanin
- 249 Selezione ricorrente in una varietà sintetica di mais (*Zea mays* L.) a base genetica stretta
Marco Bertolini, Giorgio V. Brandolini, Carlo Lorenzoni, Tommaso Maggiore e Mario Motto
- 255 Intercettazione della luce da parte di una coltura di mais (*Zea mays* L.) in funzione dell'investimento e della distanza tra le file
Marcello Guiducci e Armando Alberto Bianchi
- 263 Esperienze di concimazione azotata al mais (*Zea mays* L.): effetti della dose, del tipo di concime e dell'epoca di distribuzione
Maurizio Borin e Giovanni Sartori
- 270 Effetti della varietà e del substrato nella coltura di antere in orzo (*Hordeum vulgare* L.)
Massimo Vischi, Stefano Marchetti e Carla Pappalardo
- 274 Concimazione azotata del frumento (*Triticum aestivum* L.): I. Relazioni tra contenuto in azoto minerale nel terreno ed assorbimento da parte delle colture
Arnaldo Cervato, Claudio Piva e Pietro Antonio Bonardi
- 283 Effetto dell'investimento e della distanza fra le file sul comportamento (*Helianthus annuus* L.) morfologicamente diversi
Enio Campiglia, Roberto Paolini e Enrico Bonari
- 289 *Trifolium nigrescens* Viv. subsp. *nigrescens*, leguminosa foraggera utilizzabile nel miglioramento dei pascoli in Sardegna: I. Prime acquisizioni su popolazioni naturali sarde
Simonetta Bullitta, Pier Paolo Roggero, Lucia Viegi e Fabio Veronesi
- 297 Analisi della struttura epigea ed effetti della utilizzazione di graminacee foragere sottoposte a pascolamento continuo e a rotazione
Amedeo Reyneri

Trifolium nigrescens Viv. subsp. *nigrescens*, leguminosa foraggera utilizzabile nel miglioramento dei pascoli in Sardegna: I. Prime acquisizioni su popolazioni naturali sarde (1)

Simonetta Bullitta, Pier Paolo Roggero, Lucia Viegi e Fabio Veronesi (2)

Riassunto

Allo scopo di iniziare la valutazione del germoplasma sardo di *Trifolium nigrescens* p.p., una delle leguminose foragere annuali più diffuse nei pascoli naturali dell'isola, nella tarda primavera 1987 tredici popolazioni naturali sono state raccolte in differenti aree della Sardegna. Le popolazioni sono state valutate, a Sassari, nel corso del 1987-88 per numero cromosomico, indici di fertilità per autofecondazione e libera impollinazione, peso di 1.000 semi, diametro della pianta a 90 giorni dalla semina, epoca di fioritura, lunghezza degli steli, numero di steli e peso secco della pianta alla raccolta. Tutte le popolazioni sono risultate diploidi ($2n=2x=16$), allogame, autoincompatibili, ad impollinazione entomofila e appartenenti alla specie *T. nigrescens* Viv. subsp. *nigrescens*.

La variabilità osservata per i caratteri agronomici in esame suggerisce la possibilità di ottenere risultati positivi con programmi di miglioramento genetico volti allo sviluppo di varietà di *T. nigrescens* da utilizzare nel miglioramento dei pascoli in aree marginali della Sardegna. Di notevole interesse è la variabilità tra le medie delle popolazioni messa in luce per il peso di 1.000 semi (tra 0,163 g e 0,307 g), l'epoca di fioritura (tra il 13 marzo e il 4 aprile) e la produzione di sostanza secca per pianta (tra 7,9 g e 17,9 g). L'analisi della regressione multipla e l'analisi dei "path coefficients" hanno evidenziato che la produzione di sostanza secca per pianta è fortemente influenzata dalla lunghezza media degli steli. Poiché la determinazione di questo secondo carattere è più rapida di quella relativa alla produzione di sostanza secca, almeno nelle prime fasi di valutazione del germoplasma di *T. nigrescens* sarebbe possibile aumentare il numero di accessioni studiate utilizzando la lunghezza media degli steli per valutare indirettamente le potenzialità produttive delle piante.

Parole chiave: *Trifolium nigrescens* Viv. subsp. *nigrescens*, germoplasma sardo, biologia riproduttiva, caratteri agronomici.

Summary

TRIFOLIUM NIGRESCENS VIV. SUBSP. NIGRESCENS, A LEGUMINOUS SPECIES FOR PASTURE IMPROVEMENT IN SARDINIA: I. PRELIMINARY RESULTS WITH NATURAL SARDINIAN POPULATIONS.

On the basis of a botanical survey of naturally established pastures in Sardinia (Italy), ball clover (*Trifolium nigrescens* p.p.) appeared to be one of the most widespread annual forage legumes. Thirteen natural populations collected in Sardinia in late spring 1987 were evaluated in 1987-88 at Sassari for chromosome number, fertility indexes, 1,000 seed weight, plant diameter 90 day after sowing (sowing date Oct 30, 1987), flowering time, average stem length, number of stems and dry matter yield per plant at harvest (harvesting date May 19, 1988). All the populations were diploid ($2n=2x=16$), allogamous, self-incompatible and belonged to *T. nigrescens* Viv. subsp. *nigrescens*.

The wide variability of the agronomic traits under study permits to obtain positive results with breeding programs aimed at developing ball clover varieties for pasture improvement in Sardinia. In particular, at population level 1,000 seed weight ranged from 0.163 g to 0.307 g, flowering time from Mar 13 to Apr 4 and dry matter yield per plant from 7.9 g to 17.9 g.

In conclusion, the multiple regression analysis and the path coefficients analysis showed that average stem length could be used to assess the dry matter potentialities of the plants in the evaluation of large germplasm collections of ball clover.

Key words: *Trifolium nigrescens* p.p., Sardinian germplasm, reproductive biology, agronomic traits.

(1) Ricerca condotta con il contributo del Centro di Studio del C.N.R. sul miglioramento della produttività dei pascoli di Sassari (Direttore Prof. Giuseppe Rivoira) e dell'Istituto di Agronomia generale e Coltivazioni erbacee dell'Università di Sassari (Direttore Prof. Pietro Bullitta).

(2) Rispettivamente: Ricercatori del C.N.R. presso il Centro di Studio sul miglioramento della produttività dei pascoli di Sassari i primi due Autori, Professore associato di Botanica generale presso l'Istituto di Botanica dell'Università di Sassari il terzo Autore e Professore associato di Miglioramento genetico delle piante agrarie presso l'Istituto di Agronomia generale e Coltivazioni erbacee dell'Università di Sassari il quarto Autore. Il lavoro è da attribuirsi in parti uguali ai diversi Autori.

Introduzione

Considerando che in Sardegna una superficie di circa 1,2 milioni di ettari è destinata a pascolo e prato-pascolo e fornisce la maggiore fonte di foraggio per oltre 4 milioni di capi ovini e caprini e oltre 350.000 capi bovini (ISTAT, 1987), il miglioramento dei pascoli è prioritario per l'economia dell'isola.

Tale miglioramento può venire realizzato con interventi di tipo puramente agronomico (recinzioni, spietramenti, concimazioni, decespugliamenti) e zootecnico (carico adeguato, pascolo turnato) oltre che con la risemina o la soprasedimentazione di essenze foraggere appetite dal bestiame e adattate all'ambiente, essenze la cui disponibilità crea una serie di problemi che interessano sia l'agronomo che il genetista agrario. A questo proposito la flora dei pascoli sardi è ricca di numerose specie interessanti dal punto di vista foraggero prevalentemente caratterizzate, dato il clima tipicamente mediterraneo (Rivoira, 1976) e la scarsa potenzialità agronomica della maggior parte dei terreni, da habitus di crescita annuale e capacità di autorisemina (Bullitta, 1980).

Nell'ambito delle leguminose, una specie frequentemente presente nei pascoli sardi è il *Trifolium nigrescens* p.p.. Dati preliminari a disposizione dell'Istituto di Agronomia generale e Coltivazioni erbacee dell'Università di Sassari indicano che tale specie è particolarmente interessante per la sua capacità di produzione foraggera in terreni caratterizzati da notevole marginalità dove altre leguminose foreggere annue autoriseminanti di maggiore potenzialità produttiva quali ad esempio il *Trifolium subterraneum* L. trovano difficoltà di insediamento.

Il *T. nigrescens*, distinto da Zohary (1970) in due sottospecie, *T. nigrescens* Viv. subsp. *nigrescens* e *T. nigrescens* Viv. subsp. *petrisavii* (Clem.) Holmboe, è nativo dell'area mediterraneo-orientale ed è stato descritto in Italia dove è diffuso nella penisola e nelle isole (Pignatti, 1982); i suoi habitat includono macchie di quercia, pascoli, terreni con roccia affiorante ed incolti (Gillett, 1985). Le accessioni di questa specie presentano generalmente numero cromosomico diploide $2n = 2x = 16$ (Brewbaker e Keim, 1953; Chen e Gibson, 1971; Zohary e Heller, 1984; Cleveland, 1985) anche se forme tetraploidi $2n = 4x = 32$ sono riportate in bibliografia (Duke, 1981; Zohary e Heller, 1984). Il numero cromosomico di materiali raccolti in Italia è indicato una sola volta, per la località di Paestum, come $2n = 16$ (Larsen, 1956).

Il *T. nigrescens* è un trifoglio annuale, allogamo ad impollinazione entomofila dotato di notevole capacità di autorisemina (Van Keuren e Hoveland, 1985) e di buona attività vegetativa invernale; la specie, considerata un "wild relative" del *Trifolium repens* L. (Brewbaker e Keim, l.c.; Evans, 1962; Hovin, 1962; Cleveland, l.c.), è dotata di un meccanismo di autoincompatibilità di tipo gametofitico monofattoriale (Brewbaker, 1955).

Dal punto di vista agronomico studi su questa specie sono stati condotti unicamente negli Stati Uniti, dove è considerata una delle 10 specie di interesse agronomico secondario appartenenti al genere *Trifolium* (Gillett, l.c.) ed è attualmente coltivata su limitate superfici negli stati Sud-orientali, in particolare Alabama e Louisiana, sia come essenza da pascolo che

come pianta miglioratrice (Hoveland, 1960; Zohary e Heller, l.c.; Taylor, 1985). Le stesse fonti bibliografiche sopra riportate indicano nel *T. nigrescens* una specie che si adatta a vari tipi di terreno, anche con pH elevati, dotata di buona capacità produttiva in foraggio in aree marginali ($25-75$ q ha^{-1} di sostanza secca), tollerante al pascolo, capace di insediarsi su terreni con forte pendenza, eccellente produttrice di seme ($200-600$ kg ha^{-1}) con elevata percentuale di semi duri (circa il 60%). Seminato a spaglio ($2-4$ kg ha^{-1} di seme) nel primo autunno, il *T. nigrescens* produce una copertura non molto densa nel primo anno ma destinata ad infittirsi a partire dall'anno successivo grazie alla sua forte capacità di risemina.

Nel complesso l'utilizzazione a pascolo di questa specie viene proposta, negli Stati Uniti Sud-orientali, da fine inverno a tutto maggio e, nell'ambito delle catene di foraggiamento, trova il suo posto dopo *Trifolium incarnatum* L. specie che ha una potenzialità produttiva simile al *T. nigrescens* (Griffin e Meche, 1980; Taylor *et al.*, 1981).

Purtroppo, come indicato in precedenza, ai riferimenti bibliografici Nord-americani non corrispondono analoghe informazioni provenienti dall'Europa mediterranea, dove pure questa specie potrebbe rivestire un certo interesse; scopo del presente lavoro è stato pertanto quello di iniziare la valutazione di accessioni di *T. nigrescens* reperite in Sardegna per definire il sistema riproduttivo nella regione in cui si opera e la variabilità per caratteri di interesse agronomico. Tali informazioni sono necessarie per valutare l'opportunità di procedere, con questa specie, nel lavoro di miglioramento genetico e, in caso affermativo, per mettere a punto i metodi di selezione più idonei allo scopo.

Materiali e metodi

Nella tarda primavera 1987 tredici popolazioni naturali di *T. nigrescens* p.p. sono state raccolte nelle località della Sardegna di cui alla figura 1 e tabella 1, secondo le procedure indicate da Hawkes (1980). Nel corso del 1987-88 le popolazioni sono state valu-

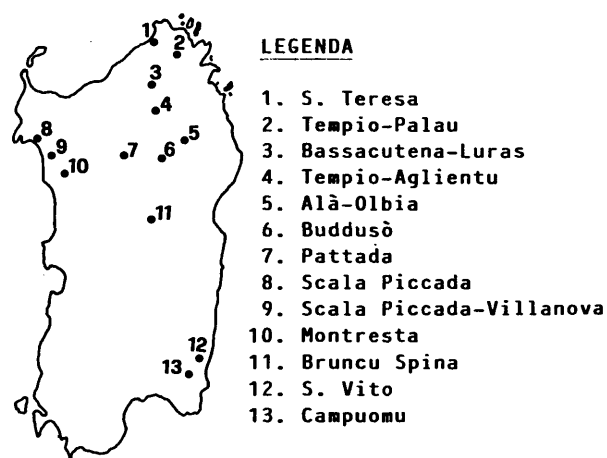


Fig. 1 - Siti di raccolta delle popolazioni.

Fig. 1 - Collection sites.

TABELLA 1 - *Altitudine, precipitazioni, esposizione, matrice pedologica e pH del terreno relativi alle località di raccolta delle popolazioni naturali.*

TABLE 1 - *Altitude, rainfalls, exposure, parent material and soil pH relative to the collection sites.*

Provenienze	Altitudine (m s.l.m.)	Precipitazioni totali annue		Esposizione	Matrice pedologica del sito	pH	
		medie	anni di osservazione				
1. S. Teresa	80	769,5	34	piano	graniti	Lithic-Xerorthents ⁽¹⁾	5,5-6,8
2. Tempio-Palau	100	776,3	46	»	»	»	»
3. Bassacutena-Luras	515	876,3	46	»	»	»	»
4. Tempio-Aglientu	490	939,6	45	»	»	»	»
5. Alà-Olbia	650	1.054,0	30	»	»	»	»
6. Buddusò	690	970,5	33	»	»	»	»
7. Pattada	670	667,5	46	»	»	»	»
8. Scala Piccada	355	847,6	45	»	»	»	»
9. Scala Piccada-Villanova	400	1.006,0	45	SE 15°	eruttive	Lithic-Xerochrepts	6,0-6,5
10. Montresta	300	1.053,9	45	SO 5°	andesiti	Lithic-Xerorthents	»
11. Bruncu Spina	1.130	1.049,8	46	piano	graniti	Lithic Xerorthents + Lithic Halumbrepts	5,5-6,5
12. S. Vito	10	666,5	42	»	alluvioni	Typic-Xerofluvents	6,5-7
13. Campuomu	400	854,1	46	fondo valle	colluv.-graniti	Typic-Xerochrepts	6,3-6,7

(1) Classificazione secondo Soil Taxonomy, USDA Soil Conservation Service (1975).

tate a Sassari presso il Centro di Studio del C.N.R. sul miglioramento della produttività dei pascoli.

Il controllo del numero cromosomico somatico delle accessioni è stato effettuato nell'autunno 1987 su apici radicali ottenuti dalla germinazione di semi; gli apici, pretrattati con colchicina 3% per tre ore, fissati in alcool etilico assoluto-acido acetico (3:1) per una notte e conservati a 4°C, sono stati idrolizzati in HCl 1N a 60°C per 7 minuti, colorati con il reattivo di Schiff per 2 ore, trattati con pectinasi 5% per 2 ore e quindi schiacciati con aggiunta di orceina acetica. Per ciascuna accessione sono stati analizzati un minimo di 20 apici.

Contemporaneamente al controllo del numero cromosomico, 40 semi per popolazione sono stati scarificati e posti a germinare in capsule Petri il 30.10.1987; un totale di 20 plantule per popolazione sono state prese a caso, trapiantate in altrettanti vasi e poste in serra.

Sui materiali a disposizione sono stati rilevati i seguenti caratteri:

- diametro della proiezione sul terreno della porzione epigea della pianta (cm) a 90 giorni dalla semina (carattere che nel prosieguo del testo verrà indicato come diametro della pianta);
- epoca di fioritura espressa in giorni dalla semina;
- lunghezza media degli steli (cm), numero di steli e produzione di sostanza secca per pianta (g) alla raccolta effettuata il 19.5.1988.

Con le stesse piante è stata inoltre condotta una prova volta a stimare il grado di auto ed allofertilità per accessione e ad assumere altre indicazioni sulla biologia riproduttiva della specie. A tale scopo ad inizio fioritura una pianta per accessione è stata tolta dalla serra e posta in isolamento spaziale, in assenza di insetti pronubi; i fiori di dieci capolini per pianta sono stati autofecondati manualmente ed i rimanenti capolini sono stati lasciati intatti. Contemporaneamente,

te, i fiori di cinque capolini per ciascuna delle piante rimaste in serra sono stati autofecondati manualmente ed i capolini, dopo l'impollinazione, sono stati chiusi in sacchetti di garza a prova di insetto mentre i fiori di altri cinque capolini per pianta sono stati etichettati e lasciati esposti all'attività impollinatrice dei numerosi insetti pronubi (*Apis mellifera ligustica* Spinola) costantemente presenti in serra. Infine, durante la piena fioritura sono stati contati i fiori di cinque capolini per pianta sia per le piante presenti in serra che per quelle in isolamento spaziale. Nessun legume è stato prodotto per autofecondazione manuale e per isolamento spaziale; i legumi ottenuti per libera impollinazione sono stati raccolti e contati. Successivamente, è stata effettuata la sgranatura manuale determinando il numero di legumi per capolino, il numero di semi per legume ed il peso di quattro campioni di 1.000 semi per entrata. Il peso di 1.000 semi è stato determinato anche per i lotti di seme raccolti l'anno precedente nelle diverse località.

I dati ottenuti nel corso della prova sono stati sottoposti ad analisi della varianza ad una via; poiché scopo della ricerca era quello di avere indicazioni relative alla variabilità presente nel *T. nigrescens* in Sardegna, nel modello di analisi della varianza utilizzato la fonte di variazione "tra popolazioni" è stata considerata come *fattore random* per cui non sono state calcolate le Differenze Minime Significative.

L'analisi dei risultati è proseguita con la determinazione dei coefficienti di correlazione lineare (r) tra le altitudini e le precipitazioni delle aree di raccolta e le medie per popolazione dei caratteri presi in esame. Successivamente, partendo dall'equazione di regressione multipla che lega il peso di 1.000 semi prodotti in serra (variabile dipendente, Y) alle variabili indipendenti altitudini e precipitazioni delle aree di raccolta (X_1 e X_2 , rispettivamente), numero di fiori per capolino (X_3), numero di legumi per capolino

(X_4) e numero di semi per legume (X_5), è stata effettuata la scelta del gruppo migliore di variabili indipendenti per mezzo di una procedura di "backward elimination" (Draper e Smith, 1981) interrotta in corrispondenza del valore massimo del coefficiente di determinazione corretto \bar{R}^2 (Montgomery e Peck, 1982). Una seconda procedura di "backward elimination" analoga a quella sopra descritta è stata applicata partendo dall'equazione di regressione multipla che lega la produzione di sostanza secca per pianta (variabile indipendente, Y) alle variabili dipendenti altitudine e precipitazioni delle aree di raccolta (X_1 e X_2 rispettivamente), diametro delle piante a 90 giorni dalla semina (X_3), epoca di fioritura (X_4), lunghezza media degli steli (X_5) e numero degli steli (X_6). Infine, per ottenere indicazioni sugli effetti diretti ed indiretti esercitati dal diametro delle piante a 90 giorni dalla semina, dall'epoca di fioritura, dalla lunghezza e dal numero di steli sulla produzione di sostanza secca (il più importante dal punto di vista agronomico tra i caratteri esaminati) le correlazioni esistenti tra questi caratteri sono state analizzate con il metodo della analisi dei "path coefficients" (Wright, 1923; Li, 1956; Li, 1975).

Risultati

Il *T. nigrescens* (tab. 1) è stato collezionato in siti caratterizzati da altitudini comprese tra 10 m s.l.m. (accessione n. 12) e oltre 1.100 m s.l.m. (accessione n. 11) e precipitazioni medie annue comprese tra 660-670 mm (accessioni n. 7 e 12) ed oltre 1.000 mm (accessioni n. 5, 9, 10 e 11); i terreni sui quali il *T. nigrescens* è stato individuato sono a pH subacido o acido; essi risultano in prevalenza caratterizzati da spessore minimo, ricchezza di scheletro e rischio di erosione (accessioni da 1 a 8, 10 e 11), tuttavia la specie è stata collezionata anche su terreni mediamente profondi (40-60 cm), più o meno dotati in scheletro (accessioni 9 e 13) e su terreni profondi (da 80 a 100

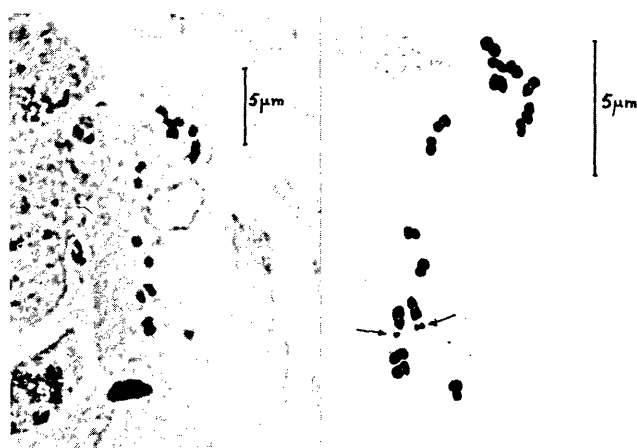


Fig. 2 - Metafase mitotica di *T. nigrescens* biotipo N. 3 (Bassacutena-Luras) con $2n = 2x = 16$ cromosomi; le frecce indicano la coppia di cromosomi satellitata.

Fig. 2 - Mitotic metaphase of *T. nigrescens* population N. 3 (Bassacutena-Luras) with $2n = 2x = 16$ chromosomes; arrows indicate the satellite chromosomes.

cm) ricchi in scheletro e con scarsi rischi di erosione (accessione 12).

Passando a considerare i risultati delle analisi condotte sulle accessioni a disposizione, il controllo del numero cromosomico ha messo in evidenza che tutte le popolazioni sono diploidi ($2n = 2x = 16$), con una coppia di cromosomi satellitata (fig. 2).

Nella tabella 2 sono riportati i risultati dell'analisi della varianza e l'intervallo di variazione delle medie per ciascuno dei caratteri presi in esame. I dati relativi al numero di legumi per capolino e di semi per legume si riferiscono ai prodotti della libera impollinazione poiché, come indicato nei Materiali e Metodi, non è stato mai prodotto seme per autofecondazione manuale e per isolamento spaziale. Dalla tabella è possibile notare come la fonte di va-

TABELLA 2 - Risultati dell'analisi della varianza e campi di variazione relativi ai caratteri esaminati.
TABLE 2 - Analysis of variance results and ranges of variability for the analysed traits.

Caratteri	Fonti di variazione				Campo di variazione	
	Tra popolazioni		Entro popolazioni (errore)		Min. (N. accessione) Max. (N. accessione)	
	G.L.	Quadrati medi	G.L.	Quadrati medi		
Fiori per capolino	12	102,04**	1.152	20,78	37,7 (12)	44,9 (3)
Legumi per capolino	12	86,39**	1.152	19,42	31,2 (2)	39,8 (5)
Semi per legume	12	6,69**	1.152	1,16	1,85 (6)	4,20 (13)
Peso 1.000 semi, campo (g)	12	0,005283**	39	0,000044	0,188 (7)	0,306 (6)
Peso 1.000 semi, serra (g)	12	0,005733**	39	0,000036	0,163 (8)	0,307 (11)
Diametro pianta (cm)	12	40,38**	238	10,15	10,0 (7)	14,2 (1)
Fioritura (giorni)	12	587,09**	227	70,20	135,1 (1)	157,2 (5)
Lunghezza steli (cm)	12	700,98**	220	109,38	51,0 (12)	88,9 (10)
Numero steli	12	255,27**	220	64,90	6,4 (3)	21,8 (10)
Produzione di sostanza secca per pianta (g)	12	147,50**	220	43,70	7,9 (12)	17,9 (10)

** significativo per $P \leq 0,01$.

riazione "tra popolazioni" sia risultata sempre altamente significativa, indicando la presenza di una notevole variabilità per tutti i caratteri oggetto di studio. Le caratteristiche morfologiche dei legumi, la presenza di più semi per legume ed il colore della corolla generalmente bianco fanno ritenere che tutte le popolazioni naturali studiate appartengano al *T. nigrescens* Viv. subsp. *nigrescens*.

I dati relativi alla produzione di seme per libera impollinazione, unitamente alla constatazione della mancata produzione di seme per autofecondazione e della presenza di numerosi insetti pronubi sui capolini delle piante in serra durante tutto il periodo di fioritura, confermano per le popolazioni sarde di *T. nigrescens* quanto riportato in bibliografia per la specie nel suo complesso (v. Introduzione) e cioè la presenza di un sistema riproduttivo tipico di una specie diploide autoincompatibile ad impollinazione entomofila.

Per quanto concerne il peso di 1.000 semi, i valori ottenuti sono risultati costantemente inferiori, anche se dello stesso ordine di grandezza, a quello riferito da Gillett (l.c.) come caratteristico della specie (0,36 g), tuttavia l'ampia variabilità presente fa considerare possibile lo sviluppo di programmi di miglioramento genetico volti all'incremento del peso unitario del seme, carattere importante per una specie da utilizzare nel miglioramento dei pascoli in aree marginali.

L'intervallo di 22 giorni nell'epoca di fioritura tra l'accessione più precoce e quella più tardiva e la presenza di valori medi nella produzione di sostanza secca per pianta nettamente differenziati indicano anche per questi caratteri la possibilità di attuare con risultati positivi programmi di selezione all'interno del germoplasma sardo di *T. nigrescens*.

Nella tabella 3 sono riportati i coefficienti di correlazione lineare (r) tra le altitudini e le precipitazioni delle aree di raccolta e le medie delle popolazioni per i caratteri presi in esame. Di particolare interesse è la correlazione altamente significativa tra le due serie di dati relative al peso di 1.000 semi ($r=0,78$ **);

poiché i semi sono stati prodotti in situazioni notevolmente differenti dal punto di vista ambientale (siti di raccolta e serra, rispettivamente), questo carattere sembra sotto forte controllo genetico. Queste informazioni, sebbene preliminari, confermano la possibilità di ottenere risultati positivi qualora si decidesse di dare inizio ad un programma di miglioramento genetico volto all'incremento del peso del seme.

I risultati della tabella 3, mettendo in luce correlazioni altamente significative tra altitudine, precipitazioni, peso di 1.000 semi e fioritura, indicano inoltre che le pressioni selettive naturali che hanno operato negli ambienti della Sardegna in cui è stata effettuata la raccolta del germoplasma hanno portato alla formazione di biotipi differenti di *T. nigrescens*.

Le equazioni di regressione multipla ottenute utilizzando come variabili dipendenti il peso di 1.000 semi in serra e la produzione di sostanza secca per pianta ed i risultati delle procedure di "backward elimination" attuate per individuare i migliori gruppi di variabili indipendenti sono riportate nella tabella 4.

Per quanto riguarda il peso di 1.000 semi in serra, il migliore gruppo di variabili indipendenti è quello comprendente altitudini e precipitazioni delle aree di raccolta (X_1 e X_2) e numero di semi per legume (X_5). Ciò conferma ulteriormente l'influenza dell'ambiente di origine sul peso di 1.000 semi ed indica che qualora si voglia tentare di incrementare il peso del seme con interventi di miglioramento genetico, il carattere numero di semi per legume deve essere attentamente analizzato nonostante l'assenza, nei nostri risultati, di un coefficiente di correlazione lineare significativo ($r=-0,43$) con il peso di 1.000 semi in serra.

Passando a considerare la produzione di sostanza secca per pianta, il miglior gruppo di variabili indipendenti è in questo caso dato da altitudini e precipitazioni dei luoghi di raccolta (X_1 e X_2) e dalla lunghezza degli steli (X_5). Pertanto l'ambiente di origine non influenza unicamente il numero di legumi per capolino, il peso di 1.000 semi e la fioritura, come sembravano indicare i risultati relativi ai coefficienti di correlazione lineare ma anche, sebbene in

TABELLA 3 - Coefficienti di correlazione lineare (r) tra altitudine e precipitazioni delle località di raccolta e caratteri analizzati nel corso della prova (nella tabella vengono riportati unicamente i valori dei coefficienti risultati significativi).

TABLE 3 - Linear correlation coefficients (r) between altitude and rainfalls of the collection sites and the analysed traits (only the significant coefficients are reported in the table).

Caratteri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Altitudine						0,74**	0,66*		0,75*			
2. Precipitazioni				0,59*		0,66*	0,60*					
3. Fiori per capolino				0,76**								
4. Legumi per capolino												
5. Semi per legume												
6. Peso di 1.000 semi (campo)							0,78**					
7. Peso di 1.000 semi (serra)												
8. Diametro piante												
9. Fioritura												
10. Lunghezza steli										0,78**	0,93**	
11. Numero di steli												0,66*
12. Produzione s.s. pianta												

* significativo per $P \leq 0,05$; ** significativo per $P \leq 0,01$.

TABELLA 4 - *Equazioni di regressione multipla e procedure di "backward elimination"*.

TABLE 4 - Multiple regression equations and backward elimination procedures relative to: A (Y = 1000 seed weight, X₁ = altitude of collection sites, X₂ = rainfalls of collection sites, X₃ = flowers per head, X₄ = legumes per head, X₅ = seeds per legume); B (Y = dry matter yield per plant, X₁ = altitude of collection sites, X₂ = rainfalls of collection sites, X₃ = plant diameter at 90 days from sowing, X₄ = flowering time, X₅ = average stem length and X₆ = number of stems per plant at harvesting).

A	
Y = peso di 1.000 semi in serra, X ₁ = altitudine, X ₂ = precipitazioni, X ₃ = fiori per capolino, X ₄ = legumi per capolino, X ₅ = semi per legume.	
Y = 7,08E-2 + 4,57E-5 X ₁ + 1,37E-4 X ₂ + 5,17E-3 X ₃ - 3,35E-3 X ₄ - 1,66E-2 X ₅ R ² = 0,6998 \bar{R}^2 = 0,4853	
"Backward elimination"	
passo 1: eliminata variabile X ₄	
Y = 6,68E-2 + 5,05E-5 X ₁ + 1,05E-4 X ₂ + 2,95E-3 X ₃ - 1,73E-2 X ₅ R ² = 0,6844 \bar{R}^2 = 0,5265	
passo 2: eliminata variabile X ₃	
Y = 0,17 + 5,76E-5 X ₁ + 1,17E-4 X ₂ - 1,86E-2 X ₅ R ² = 0,6495 \bar{R}^2 = 0,5326	
B	
Y = produzione di sostanza secca per pianta, X ₁ = altitudine, X ₂ = precipitazioni, X ₃ = diametro della pianta, X ₄ = epoca di fioritura, X ₅ = lunghezza steli e X ₆ = numero steli alla raccolta.	
Y = -5,07 + 1,45E-3 X ₁ - 3,9E-3 X ₂ + 0,14 X ₃ + 4,74E-2 X ₄ + 0,21 X ₅ - 1,84E-2 X ₆ R ² = 0,9105 \bar{R}^2 = 0,8210	
"Backward elimination"	
passo 1: eliminata variabile X ₆	
Y = -5,07 + 1,51E-3 X ₁ - 3,89E-3 X ₂ + 0,14 X ₃ + 4,82E-2 X ₄ + 0,21 X ₅ R ² = 0,9102 \bar{R}^2 = 0,846	
passo 2: eliminata variabile X ₃	
Y = -2,22 + 1,25E-3 X ₁ - 2,94E-3 X ₂ + 3,41E-2 X ₄ + 0,21 X ₅ R ² = 0,9058 \bar{R}^2 = 0,8586	
passo 3: eliminata variabile X ₄	
Y = 2,74 + 1,68E-3 X ₁ - 2,79E-3 X ₂ + 0,2 X ₅ R ² = 0,9022 \bar{R}^2 = 0,87	

modo indiretto, la produzione di sostanza secca per pianta. Tra i caratteri agronomici della pianta notevole importanza assume la lunghezza media degli steli.

I risultati della analisi dei "path coefficients" condotta utilizzando la produzione di sostanza secca come variabile dipendente sono riportati nella tabella 5. Dalla tabella è possibile notare come l'unico carattere dotato di un forte effetto diretto e positivo sulla produzione di sostanza secca sia la lunghezza media degli steli (1,01) mentre gli altri caratteri manifestano un effetto diretto quasi nullo (-0,03 per il diametro della pianta e -0,06 per il numero degli steli) o, comunque, limitato (0,11 per la fioritura). Passando a considerare gli effetti indiretti dei singoli caratteri sulla produzione di sostanza secca, il numero di steli ed il diametro della pianta a 90 giorni dalla semina esercitano notevoli influenze positive tramite la lunghezza media degli steli (0,78 e 0,41 rispettivamente). Gli altri effetti indiretti, in prevalenza negativi, sono di limitata entità con l'unica parziale eccezione della fioritura attraverso la lunghezza media degli steli (-0,18). I risultati della analisi dei "path coefficients" confermano quindi pienamente quelli relativi alla procedura di "backward elimination" e, in analogia a quanto riportato da Veronesi *et al.* (1983) per un'altra leguminosa foraggera interessante per il recupero delle aree marginali, il *Lotus corniculatus* L., indicano nella lunghezza media degli steli il carattere agronomico della pianta che riveste il maggiore interesse,

tra quelli esaminati, per i suoi effetti sulla produzione di sostanza secca per pianta.

Discussione e Conclusioni

Tutte le popolazioni naturali di *T. nigrescens* studiate sono risultate diploidi (2n = 2x = 16), allogame, autoincompatibili, ad impollinazione entomofila. La variabilità osservata per i caratteri agronomici presi in esame suggerisce la possibilità di ottenere risultati positivi con programmi di miglioramento genetico volti allo sviluppo di varietà di *T. nigrescens* da utilizzare nel miglioramento dei pascoli in aree marginali della Sardegna. È logico ritenere che la differenziazione delle singole accessioni sia la conseguenza della variabilità propria dei siti di raccolta, ampiamente diversificati per le caratteristiche pedologiche dei terreni, per le altitudini e per le precipitazioni.

Di notevole interesse è la variabilità messa in luce per il peso di 1.000 semi, l'epoca di fioritura e la produzione di sostanza secca per pianta. In particolare, avendo il peso del seme un effetto marcato nelle prime fasi di sviluppo della plantula, un suo aumento è auspicabile per incrementare la capacità di insediamento della specie quando seminata in ambienti marginali; a tale proposito è importante approfondire lo studio delle relazioni esistenti tra questo carattere ed il numero di semi per legume. La variabilità per l'e-

TABELLA 5 - Risultati dell'analisi delle correlazioni col metodo dei "path coefficients" (variabili indipendenti: diametro della pianta, epoca di fioritura, lunghezza media degli steli e numero di steli per pianta; variabile dipendente: produzione di sostanza secca per pianta).

TABLE 5 - Results of path coefficients analysis (independent variables: plant diameter, flowering time, average stem length and number of stems per plant; dependent variable: dry matter yield per plant).

	Diametro pianta vs prod. s.s. ($r=0,30$ n.s.)	Fioritura vs prod. s.s. ($r=-0,03$ n.s.)	Lung. media steli vs prod. s.s. ($r=0,93^{**}$)	N. steli vs prod. s.s. ($r=0,66^*$)
Effetto diretto	-0,03	0,11	1,01	-0,06
Effetto indiretto, via diametro pianta	---	0,01	-0,01	-0,01
Effetto indiretto, via fioritura	-0,05	---	-0,02	-0,05
Effetto indiretto, via lung. media steli	0,41	-0,18	---	0,78
Effetto indiretto, via N. steli	-0,03	0,03	-0,05	---

poca di fioritura, compresa tra il 13 marzo ed il 4 aprile, potrebbe essere sfruttata per la costituzione di varietà capaci di dare il massimo di produzione foraggera in momenti diversi della prima parte dell'anno nell'ambito di adatte catene di foraggiamento. Infine, per quanto concerne la produzione di sostanza secca per pianta, essa è risultata fortemente influenzata dalla lunghezza media degli steli. Poiché la determinazione di questo secondo carattere è più rapida di quella relativa alla produzione di sostanza secca per pianta, almeno nelle prime fasi di valutazione del germoplasma sarebbe possibile aumentare notevolmente il numero di accessioni studiate utilizzando la lunghezza media degli steli per valutare indirettamente la potenzialità produttiva delle piante.

Sulla base dei risultati ottenuti è stato deciso di proseguire il lavoro con l'esecuzione di una nuova e più ampia collezione di germoplasma su tutto il territorio della Sardegna; in questa fase particolare importanza viene data al tentativo di individuare accessioni di *T. nigrescens* adattate a terreni subalcalini e alcalini. A partire dai materiali a disposizione, osservati a piante spaziate, saranno individuate le popolazioni naturali migliori che, riprodotte in isolamento, verranno ulteriormente valutate in semina fitta per avere indicazioni agronomicamente attendibili sulla base delle quali decidere circa l'opportunità di dare inizio ad un programma di miglioramento genetico.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano i Prof.ri Pietro Bullitta e Giuseppe Rivoira, dell'Università di Sassari ed il Prof. Franco Lorenzetti, dell'Università di Perugia, per la proficua discussione ed i suggerimenti sul soggetto del presente lavoro, il Dott. Salvatore Madrau, dell'Università di Sassari, per le informazioni relative alla pedologia dei terreni delle aree di raccolta delle popolazioni riportate nella tabella 1, il Dott. Claudio Porqueddu, Collaboratore esterno del Centro di Studio del C.N.R. sul miglioramento della produttività dei pascoli di Sassari, per l'aiuto fornito durante la raccolta del germoplasma ed i Sig.ri Salvatore Nieddu e Piero Saba, del Centro di Studio del C.N.R. sul miglioramento della produttività dei pascoli di Sassari, per la collaborazione tecnica prestata nel corso dello svolgimento della ricerca.

Ricevuto il 18.2.1989.

Bibliografia

- BREWBAKER, J.L., 1955. *Studies of oppositional allelism in Trifolium nigrescens*. Hereditas, 41: 367-375.
- BREWBAKER, J.L., KEIM, W.F., 1953. *A interspecific hybrid in Trifolium (4n T. repens × 4n T. nigrescens)*. Am. Nat. 77: 323-326.
- BULLITTA, P., 1980. *Pascoli della Sardegna*. L'Italia Agricola, 117: 109-118.
- CHEN, C.C., e GIBSON, P.B., 1971. *Karyotypes of fifteen Trifolium species in section Amoria*. Crop. Sci., 11: 441-445.
- CLEVELAND, R.W., 1985. *Reproductive cycle and cytogenetics*. In: Taylor, N.L. (ed), Clover Science and Technology. ASA, Madison, USA: 71-110.
- DRAPER, N. e SMITH, H., 1981. *Applied regression analysis*. 2nd edition. Wiley and Sons, New York, p. 504.
- DUKE, J.A., 1981. *Handbook of legumes of world economic importance*. Plenum Press, New York and London: 249-251.
- EVANS, A.M., 1962. *Species hybridization in Trifolium*. Euphytica, 11: 164-176.
- GILLET, J.M., 1985. *Taxonomy and morphology*. In: Taylor, N.L. (ed.), Clover Science and Technology. ASA, Madison, USA: 7-69.
- GRIFFIN, J.L. e MECHE, G.A., 1980. *Comparison of clover species and varieties for forage production*. Ann. Prog. Rep., Rice Exp. Stn., Crowley, Louisiana: 385-388.
- HAWKES, J.G., 1980. *Crop genetic resources field collection manual*. IBPGR and Eucarpia, p. 37.
- HOVELAND, C.S., 1960. *Ball clover*. Auburn Univ. (AL) Agric. Exp. Stn. Leaflet. 64.
- HOVIN, A.W., 1962. *Interspecific hybridization between Trifolium repens L. and T. nigrescens Viv. and analysis of hybrid meiosis*. Crop. Sci., 2: 251-254.
- ISTAT, 1987. *Compendio statistico italiano*, p. 591.
- LARSEN, K., 1956. *Chromosome studies in some mediterranean and South european flowering plants*. Bot. Notiser, 109: 293-307.
- LI, C.C., 1956. *The concept of path coefficients and its impact on population genetics*. Biometrics, 12: 190-210.
- LI, C.C., 1975. *Path analysis - A primer*. Boxwood Press, Pacific Grove, USA, p. 631.
- MONTGOMERY, D.C. e PECK, E.A., 1982. *Linear regression analysis*. Wiley and Sons, New York, p. 504.
- PIGNATTI, S., 1982. *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna, vol. I: 727-728.
- RIVOIRA, G., 1976. *Foraggicoltura asciutta in ambiente mediterraneo*. Riv. Agron., 10: 3-22.
- TAYLOR, N.L., 1985. *Clovers around the world*. In: Taylor, N.L. (ed.), Clover Science and Technology. ASA, Madison, USA: 2-6.
- TAYLOR, R.W., GRIFFIN, J.L. e MECHE, G.A., 1981. *Eva-*

- luation of annual clovers and red clovers for forage production in southwest Louisiana. Ann. Prog. Rep., Rice Exp. Stn., Crowley, Louisiana: 388-393.*
- USDA, SOIL CONSERVATION SERVICE, 1975. *Soil taxonomy. Agriculture Handbook N. 436, p. 754.*
- VAN KEUREN, R.W. e HOVELLAND, C.S., 1985. *Clover management and utilization. In: Taylor, N.L. (ed.), Clover Science and Technology. ASA. Madison, USA: 326-354.*
- VERONESI, F., NEGRI, V. e SMITH, R.R., 1983. *Il miglioramento genetico del Lotus corniculatus L.: 2. Caratterizzazione morfologica e produttiva di ecotipi adattati all'Italia centrale. Riv. Agron., 17: 472-478.*
- WRIGHT, S., 1923. *Theory of path coefficients. Genetics, 8: 239-235.*
- ZOHARY, M., 1970. *Trifolium L. In: Davis, P.H. (ed.), Flora of Turkey and the East aegean islands. Edimburgh Univ. Press, Edinburgh: 384-448.*
- ZOHARY, M. e HELLER, D., 1984. *The genus Trifolium. Isr. Acad. Sci. and Humanities: 155-156.*