

13145  
CPATC  
1985  
ex. 2  
FL-13145a

mentos

ISSN 0102 - 3101

03

DEZEMBRO/1985

**POLIMORFISMO CIANOGENICO EM TREVO BRANCO**  
*(Trifolium repens L.)*

Polimorfismo cianogênio em

1985

FL - 13145a



43427-2



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA - MA

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Centro Nacional de Pesquisa de Cão - CNPQ

DOCUMENTOS  
NÚMERO 03

ISSN - 0102 - 3101  
DEZEMBRO - 1985

POLIMORFISMO CIANOGENÍCO EM TREVO BRANCO  
(Trifolium repens L.)

Wilson Menezes Aragão



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA - MA  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA  
Centro Nacional de Pesquisa de Coco - CNPCo

Série Documentos

Pedidos desta publicação devem ser encaminhados a:

EDITOR: Comitê de Publicações do CNPCo  
ENDEREÇO: Av. Beira-Mar 3250 - Praia 13 de Julho  
Caixa Postal 44 - Tel. (079) 224-7111  
CEP. 49000 - Aracaju - Sergipe.

Tiragem: 500 exemplares.

Aragão, Wilson Menezes

Polimorfismo cianogênico em trevo branco  
(Trifolium repens L.). Aracaju, EMBRAPA/CNPCo, 1985.  
28p. (EMBRAPA - CNPCo. Documentos, 3)

1. Trifolium repens L. - Polimorfismo cianogênico  
2. Planta leguminosa - Toxidez 3. Ruminante - Intoxi-  
cação. I Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.  
Centro Nacional de Pesquisa de Coco, Aracaju, Se. II  
Título. III Série.

CDD. 633.3

## SUMÁRIO

	Pág.
1. Introdução.....	05
2. Mecanismo de Herança do Ácido Cianogênico.....	06
3. Identificação dos Fenótipos de Trevo Branco...	08
4. Determinação do Ácido Cianídrico.....	09
5. Cianogênese e Intoxicação de Ruminantes.....	12
6. Cianogênese e Seletividade de Trevo Branco por Herbívoro.....	13
7. Cianogênese, Persistência e Produtividade do Trevo Branco.....	17
8. Cianogênese e Características Morfo e fisiológicas de Trevo Branco.....	20
9. Referências.....	26



## POLIMORFISMO CIANOGENICO EM TREVO BRANCO

(Trifolium repens L.)

Wilson Menezes Aragão<sup>1</sup>

### INTRODUÇÃO

O trevo branco, importante leguminosa forrageira para a formação de pastagens consorciadas em regiões temperadas e subtropicais do mundo, é polimórfica para o caráter cianogênico.

A cianogênese consiste na liberação de ácido cianídrico que ocorre quando as folhas das espécies cianogênicas são danificadas (DAWSON, 1941).

Inicialmente a cianogênese em trevo branco atraiu a atenção de muitos pesquisadores, pela simples razão de que o ácido cianídrico poderia apresentar efeitos tóxicos em bovinos e ovinos em pastejo. Posteriormente foi observado que algumas características como seletividade por herbívoros, tolerância à seca, produtividade e características morfológicas e fisiológicas do trevo branco estavam associadas às suas propriedades cianogênicas.

Este trabalho objetiva dar informações gerais sobre a cianogênese em trevo branco.

---

<sup>1</sup>Engº Agrº., M.Sc., Pesquisador do CNPCo

## MECANISMO DE HERANÇA DO ÁCIDO CIANÍDRICO

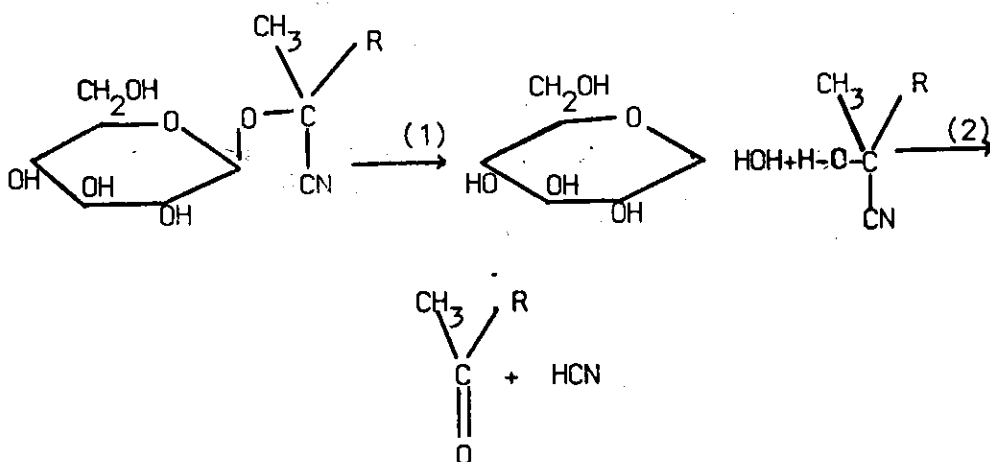
Os primeiros relatos sobre a cianogênese em trevo branco ocorreram no início do século XX. O fator determinante desse caráter é a constituição genética da planta.

O mecanismo de herança para a cianogênese em trevo branco é determinado por dois pares independentes dos gens - Ac-Li- (CORKILL, 1940 e 1942 e ATWOOD & SULLIVAN, 1943).

A produção de ácido cianídrico depende primariamente da presença dos glicosídeos linamarina e lotaustralina e de duas enzimas independentes. A partir de precursores originados do metabolismo das proteínas, uma enzima que é controlada pelo gen Ac dominante e não cianogênico, produz os glicosídeos, a enzima linamarase que é controlada pelo gen Li dominante e cianogênico provoca a hidrólise dos glicosídeos, formando ácido cianídrico (CORKILL, 1952). Dessa forma, segundo (CORKILL, 1940), as plantas de trevo branco são classificadas em quatro fenótipos distintos com relação ao caráter cianogênico:

- |                   |  |
|-------------------|--|
| Fenótipo Li-Ac-   | : apresentam os glicosídeos e as enzimas - plantas cianogênicas;               |
| Fenótipo liliAc-  | : apresentam apenas os glicosídeos - plantas não cianogênicas;                 |
| Fenótipo Li-acac  | : apresentam apenas as enzimas - plantas não cianogênicas;                     |
| Fenótipo liliacac | : não apresentam nem os glicosídeos nem as enzimas - plantas não cianogênicas. |

A reação para formação do ácido cianídrico é sumariada da seguinte forma (HUGUES, 1969).



Linamarina      R = CH<sub>3</sub>  
 Lotaustralina   R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

A reação 1 é catalizada pela enzima linamarase, enquanto a 2 é espontânea uma vez que os compostos formados são instáveis (COOP, 1940, citado por HUGUES, 1969).

A proporção de linamarina para lotaustralina é de 26% : 74% e 50% : 50% (BUTLER, 1965 citado por HUGUES, 1969).



## IDENTIFICAÇÃO DOS FENÓTIPOS DE TREVO BRANCO

Os fenótipos de trevo branco são facilmente identificados pelo teste do picrato alcalino, originalmente descrito por GUIGNARD e modificado por CORKILL, 1940:

- a) cinco ou mais folhas jovens e uma gota de tolueno são colocados em cada um de três tubos testes;
- b) Em um dos tubos se adicionam duas gotas de uma solução contendo 0,5% de linamarase; no segundo tubo também duas gotas de outra solução com 0,5% de glicosídeo e no terceiro não se adiciona nem enzima nem o glicosídeo;
- c) Os tubos são agitados para uma distribuição uniforme dos reagentes sobre as folhas;
- d) Coloca-se a tira do papel de picrato (1 x 10 cm) dentro de cada tubo, ficando uma das extremidades presa entre a rolha de borracha e a parede do tubo;
- e) Os tubos são levados a um incubidor a 37°C, por um período de 18 a 24 horas;
- f) A cor apresentada pelo papel de picrato é graduada numa escala arbitrária de 0 a 6. Quando não há liberação de ácido cianídrico o papel permanece amarelo. A mudança de cor do amarelo para o marron-escuro é proporcional à quantidade de ácido cianídrico liberado (MERVILLE et alli, citado por CORKILL, 1942).

Feito o teste, os grupos são identificados da seguinte maneira:

- a) Presença e/ou ausência da enzima - quando se adicionou o glicosídeo, e houve ou não a formação de ácido cianídrico;

- b) Presença e/ou ausência do glicosídeo - quando se adicionou a enzima e ocorreu ou não a formação do ácido cianídrico;
- c) Presença da enzima e do glicosídeo - quando no tubo que não foi adicionado esses reagentes ocorrer a formação de ácido cianídrico;
- d) A ausência da enzima e do glicosídeo - quando nos três tubos testes não houver a formação de ácido cianídrico.

### DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO CIANÍDRICO

O método empregado para determinação do ácido cianídrico em trevo branco é o estabelecido por BOYD et ali (1938) e modificado por SULLIVAN (1939).

Os procedimentos são os seguintes:

- a) Amostras de 10 g de folíolos verdes são colocadas em frascos de destilação e adicionados 300 ml de água destilada e 5 ml de clorofórmio;
- b) Durante o processo de destilação, o material destilado contendo ácido cianídrico é recolhido em frascos com 10 ml de hidróxido de potássio a 1%, deixando-se destilar aproximadamente 60 ml;
- c) O volume do destilado mais hidróxido de potássio a 1% é completado ao volume de 100 ml em balão volumétrico, pela adição de água destilada;
- d) Uma alíquota de 5 ml é então retirada e adicionados 5 ml de solução alcalina de picrato: a mistura é submetida a banho maria em água em ebulição, durante 5 minutos, para desenvolvimento da cor, que varia do amarelo ao marron-escuro dependendo da quantidade de ácido cianídrico;

- e) A amostra, logo após, é deixada resfriar à temperatura ambiente e transferida a um tubo de ensaio para a leitura no colorímetro, da percentagem de transmissão, ao comprimento de onda de 520  $\mu$ .
- f) A quantidade de ácido cianídrico em ppm é estimada pela comparação dos resultados com uma curva padrão estabelecida conforme o método de SULLIVAN (1939) descrito a seguir:
- 1) Dissolvem-se 1015 gramas de KCN a 95% em um litro de água destilada para dar uma solução contendo 0,4 mg de ácido cianídrico/ml;
  - 2) Colocam-se em tubos testes alíquotas de ácido cianídrico variando de 0,01 a 0,20 mg;
  - 3) Acrescentam-se 5 ml de solução de picrato alcalino (preparação de solução de picrato alcalino - dissolvem-se 25 gramas de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  e 5 gramas de ácido pícrico em um litro de água destilada), em cada tubo completando o volume para 10 ml com água destilada;
  - 4) A mistura é submetida a banho maria em água em ebulição, durante 5 minutos, para desenvolvimento da cor e em seguida é deixada a resfriar à temperatura ambiente;
  - 5) Para a construção da curva padrão (figura 1), levam-se os tubos ao colorímetro para leitura da percentagem de transmissão, no comprimento de onda de 520  $\mu$ .

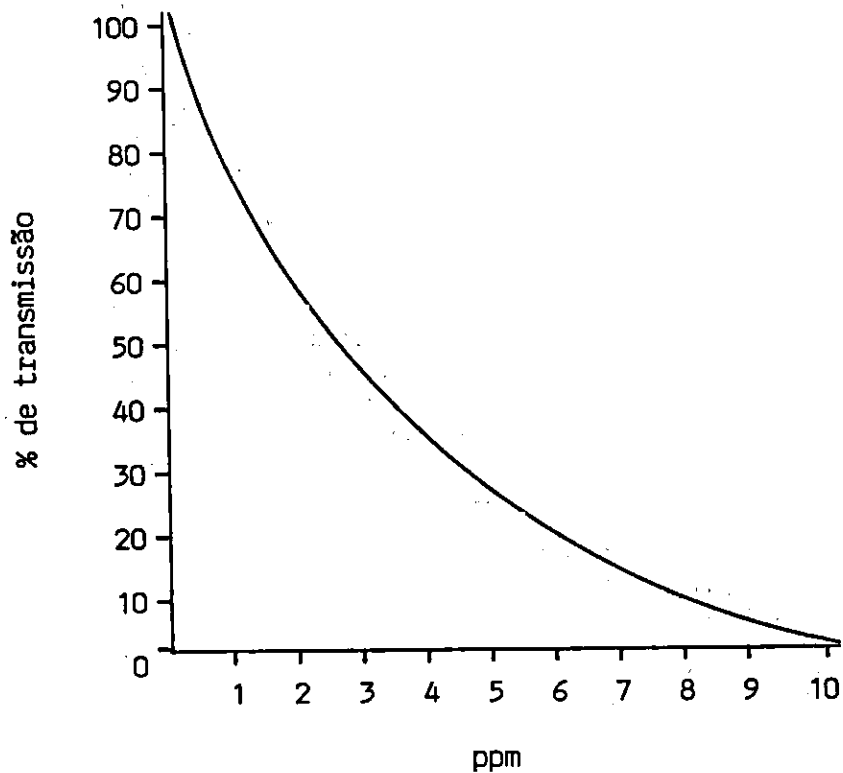


Figura 1. Curva Padrão para estimativa da produção de HCN ( $520 m_U$ )

## CIANOGENESE E INTOXICAÇÃO DE RUMINANTES

A cianogênese em trevo branco, inicialmente, atraiu a atenção de muitos pesquisadores, pela simples razão de que o ácido cianídrico poderia apresentar efeitos tóxicos em bovinos e ovinos em pastejo. Em algumas espécies cianogênicas há o perigo de intoxicação, quando as plantas são consumidas em quantidades suficientes pelos ruminantes ou então, quando possuem elevados teores de ácido cianídrico. Em trevo branco, entretanto, nenhuma evidência de toxicidade tem sido relatada (GIBSON & HOLLOWELL, 1966).

CORKILL (1952) testou com carneiros durante 21 meses um "stand" puro de uma linhagem de trevo branco com teor de ácido cianídrico mais alto que a linhagem certificada da Nova Zelândia - de teor já considerado alto - e não observou nenhum efeito deletério nos animais. COOP & BLAKLEY citado por DADAY (1955), consideraram que uma pastagem com 60% de trevo branco seria fatal para os animais se o teor de ácido cianídrico do trevo branco fosse de 0,09%. Como o teor de ácido cianídrico determinado na linhagem obtida por CORKILL (1952) foi de 0,035%, representando apenas 1/3 da dose considerada letal, dá uma margem de segurança muito grande para que os animais possam se alimentar em pastagens de trevo branco sem serem envenenados. CLARKE citado por CORKILL (1952) concluiu do seu experimento de pastejo, que não houve efeito da linhagem de trevo branco com alto teor de glicosídeo sobre a produção das ovelhas após 04 anos confinadas nas pastagens.

Apesar de não ter sido observado nenhum efeito letal, foi determinado em outros trabalhos que o ácido cianídrico provocou distúrbios gastro-intestinais, quando os animais ou órgãos isolados desses animais foram alimentados de trevo branco cianogênico. Pesquisadores, estudando o efeito do ácido cianídrico sobre intestino isolado de coelhos, concluíram que o suco das folhas de trevo branco causou a inibição da musculatura lisa (EVANS &

EVANS, 1948) e dos movimentos peristálticos (FERGUSON citado por CORKILL, 1952). EVANS & EVANS (1948), empregando em outro trabalho carneiros vivos, além de terem confirmado os resultados acima, determinaram também que houve uma paralisação do movimento ruminal. Consideraram que o agente inibidor foi o ácido cianídrico e sugerem que esse pode ser um fator de contribuição ao timpanismo dos ruminantes.

### CIANOGÊNESE E SELETIVIDADE DE TREVO BRANCO POR HERBÍVORO

Em 1930, ROBINSON citado por HUGUES (1969), discutiu a importância fisiológica dos compostos cianogênicos para as plantas sobre vários aspectos, entre os quais, que eles servem como substâncias protetoras das plantas contra animais herbívoros. Mais recentemente JONES, também citado por HUGUES (1969), enfatizou a importância da cianogênese como um mecanismo de defesa das plantas contra a depredação por certas espécies de animais.

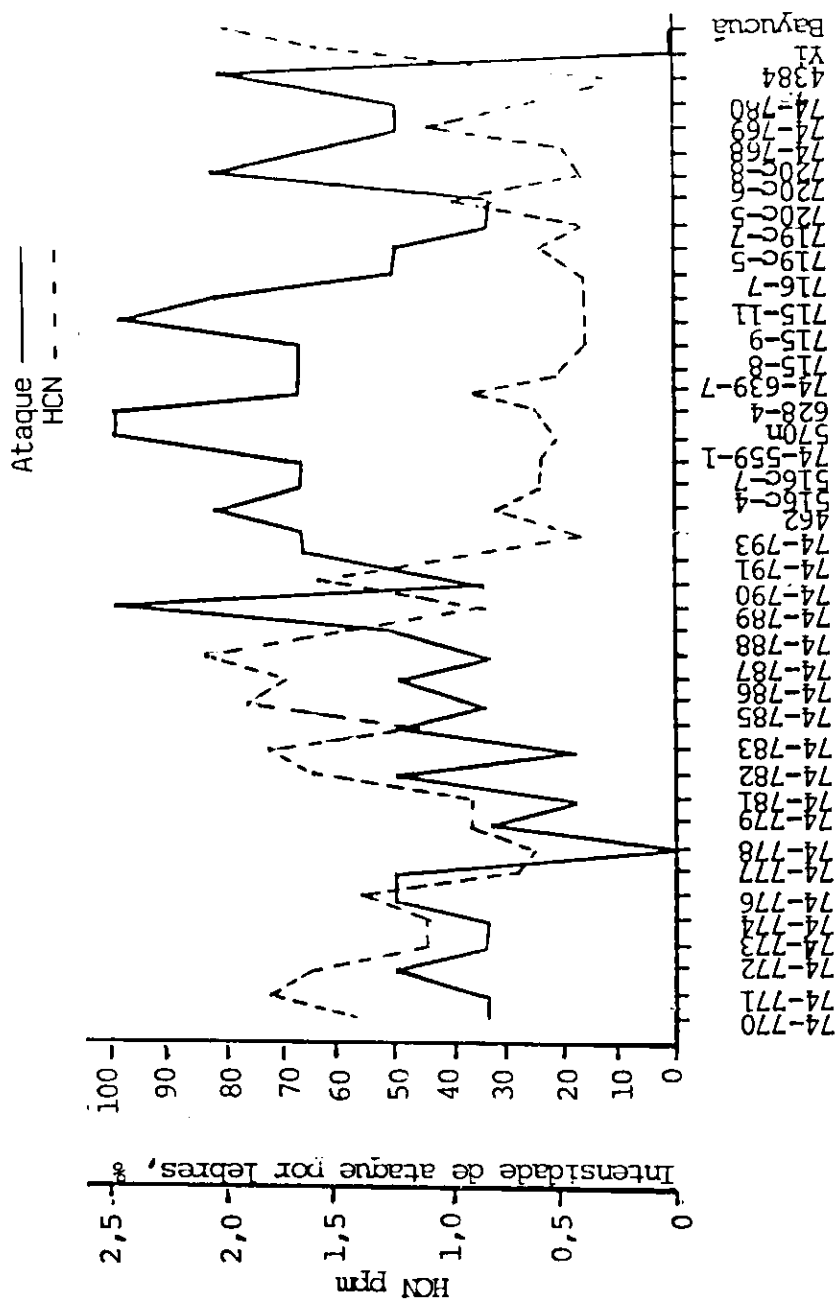
CORKILL (1952) desenvolveu uma linhagem de trevo branco - 0,035% de ácido cianídrico - com 49 a 82% mais alta em ácido cianídrico do que as linhagens certificadas da Nova Zelândia. Em um ensaio de palatabilidade, observou o comportamento de ovelhas quanto à preferência, incluindo esta linhagem altamente cianogênica, uma linhagem certificada da Nova Zelândia e uma linhagem não cianogênica. Durante o período experimental de 14 meses, não constatou nenhuma preferência das ovelhas por alguma das linhagens. Entretanto, verificou que coelhos que tiveram ocasionalmente acesso às parcelas do trevo branco, mostraram uma distinta preferência por plantas sem glicosídeos. PAIM et alii (1978) confirmaram esse resultado, em ensaio conduzido na Estação Experimental Agrônômica da UFRGS, com quarenta progênies de trevo branco originadas de blocos de policruzamento envolvendo os quatro possíveis fenótipos para a presença e/ou

ausência de glicosídeos associados à produção de ácido cianídrico e duas cultivares procedentes do Uruguai. Esses autores obtiveram uma correlação negativa ( $P < 0,01$ ,  $r = -0,58$ ) entre a produção de ácido cianídrico e o ataque de lebres (figura 2) que clandestinamente tiveram acesso à área experimental. A intensidade de ataque variou de 0 a 100. (tabela 1).

CORKILL (1952) também verificou em seu trabalho que as folhas das plantas não cianogênicas eram frequentemente danificadas por moluscos (*Agrionolimax* sp) quando estas plantas se encontravam cercadas por plantas com alto teor de ácido cianídrico. Concluiu que é possível que o estabelecimento de linhagens de trevo branco não cianogênico numa pastagem possa ser severamente retardado, quando existirem moluscos em grandes quantidades.

O papel dos moluscos na manutenção do polimorfismo cianogênico em trevo branco foi bem estudado no trabalho de CRAWFORD - SIDEBOTHAM (1972). Nesse trabalho, folhas de trevo branco cianogênico e não cianogênico foram colocadas à disposição de 13 espécies de moluscos. A estimativa da quantidade de folhas consumidas foi obtida pelo peso seco das fezes produzidas pelos animais. Os resultados suportaram a hipótese de que os animais exercem seletividade sobre o trevo branco não cianogênico e que o caráter cianogênico atua como um mecanismo de defesa contra os pequenos herbívoros. ANGSEESING & ANGSEESING (1973) e ANGSEESING (1974) - usando câmara com controle de alimentação - também obtiveram os mesmos resultados acima.

Já MILLER et alli (1975), em três experimentos com trevo branco sem controle de alimentação por pequenos herbívoros, concluíram que outro fator que não a seletividade por plantas não cianogênicas deve ser responsável pela alta frequência de plantas cianogênicas de trevo branco em climas quentes.



## Cultivares e progênies

Figura 2. Relação entre produção de HCN e intensidade de ataque por lebres em trevo branco, *Trifolium repens* L.



TABELA - Ataque por lebres expresso em percentagem média de desfolhamento das cultivares e progênes de trevo branco, Trifolium repens L.

Progênes ou cultivares	Intensidade de ataque (%)*	Genótipos dos clones originais
74 - 778	0 a	Li - Ac -
Y1	0 a	
Bayucú	0 a	
74 - 781	17 ab	Li - Ac -
74 - 783	17 ab	Li - Ac -
74 - 770	33 abc	Li - Ac -
74 - 771	33 abc	Li - Ac -
74 - 773	33 abc	Li - Ac -
74 - 714	33 abc	Li - Ac -
74 - 779	33 abc	Li - Ac -
74 - 786	33 abc	Li - Ac -
74 - 788	33 abc	Li - Ac -
74 - 791	33 abc	Li - Ac -
720c - 5	33 abc	1111 Ac -
720c - 6	33 abc	1111 Ac -
74 - 772	50 abcd	Li - Ac -
74 - 776	50 abcd	Li - Ac -
74 - 777	50 abcd	Li - Ac -
74 - 782	50 abcd	Li - Ac -
74 - 785	50 abcd	Li - Ac -
74 - 787	50 abcd	Li - Ac -
74 - 789	50 abcd	Li - Ac -
719c - 5	50 abcd	1111 acac
719c - 7	50 abcd	1111 Ac -
74 - 769	50 abcd	Li - Ac -
74 - 780	50 abcd	1111 Ac -
74 - 793	67 bcd	Li - Ac -
462	67 bcd	Li - acac
516c - 1	67 bcd	1111 Ac -
74-559-1	67 bcd	1111 acac
74-639-7	67 bcd	Li - Ac -
715 - 8	67 bcd	Li - acac
715 - 9	67 bcd	1111 acac
74 - 768	67 bcd	Li - Ac -
516c - 4	83 cd	Li - acac
716 - 7	83 cd	1111 acac
720c - 8	83 cd	Li - acac
4384	83 cd	1111 Ac -
74 - 790	100 d	Li - Ac -
570 n	100 d	1111 acac
628 - 4	100 d	Li - acac
715 - 11	100 d	1111 Ac -

\* Média seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de DUNCAN a 5%.

## CIANOGENESE, PERSISTÊNCIA E PRODUTIVIDADE DO TREVO BRANCO

A presença do cianoglicosídeo e da enzima está associada com a adaptação fisiológica do trevo branco em climas quentes (DADAY, 1955 citado por GIBSON et alli, 1972).

A quantidade de ácido cianídrico nas folhas do trevo branco varia com: o estágio de maturidade da planta (GIBSON & HOLLOWELL, 1966), idade da folha (WILLIAMS, citado por HUGUES, 1969), altitude (DADAY, 1954a, 1954b), estação do ano (ASKEW, citado por HUGUES, 1969) e o suprimento de água no solo, (FOULDS & GRIME, 1972).

As freqüências de plantas cianogênicas e não cianogênicas em populações de trevo branco em diversas altitudes, foram estudadas por DADAY, (1954a, 1954b e 1954c). Os resultados obtidos evidenciaram uma contínua diminuição dos alelos dominantes partindo da região mediterrânea até o Nordeste Europeu e das baixas para as altas altitudes, com uma variação de 100 para 0% (tabela 2). Correlação significativa foi obtida entre a freqüência dos alelos dominantes e a temperatura média do mês de janeiro. Para cada decréscimo 1°F (-16,1°C) na temperatura média do mês de janeiro, resultava uma redução de 4,23% na freqüência dos glicosídeos e 3,15% na freqüência da enzima linamarase.

Tabela 2. Freqüência (%) de quatro fenótipos em populações de Trifolium repens L. provenientes de diferentes altitudes.

Localidades	Altitude em metro	AcLi	Acli	acLi	acli	Nº de plantas
Lausanne	580	70,65	15,22	10,87	3,26	184
Natens	700	28,00	53,00	2,00	17,00	100
Fiesch	1070	10,91	40,00	6,36	42,73	110
Alpage de Crausey	1400	1,11	12,22	4,45	82,22	90
Kreuz	1700	0,00	8,51	7,45	84,04	94
Gross Glocner	1950	0,00	0,00	4,04	95,96	99

Já a frequência de plantas cianogênicas versus não cianogênicas em diferentes condições de umidade do solo foi estudada por FOULDS & GRIME (1972). Esses autores concluíram que: em condições de seca severa, o fenótipo dominante excedeu ao fenótipo recessivo; já sob seca moderada, esses fenótipos não diferiram estatisticamente entre si; em condições de umidade, o fenótipo recessivo foi superior do dominante. Concluíram, ainda, que as plantas cianogênicas apresentaram baixa capacidade reprodutiva em todos os tratamentos e o efeito da deficiência de umidade inibiu completamente o florescimento dos fenótipos não cianogênicos.

Na Nova Zelândia os tipos agronômicos de trevo branco mais produtivos estão associados aos maiores teores de ácido cianídrico. Por isso, nos programas de melhoramentos de forrageiras daquele país, o trevo branco cianogênico tem maior importância do que o trevo branco não cianogênico.

DOAK (1933), em análises quantitativas de ácido cianídrico, obteve correlação significativa entre a produção de ácido cianídrico e alta produtividade e persistência do trevo branco. CORKILL (1952), determinando a diferença em produtividade entre plantas de trevo branco com e sem enzima e com e sem glicosídeo, evidenciou uma produção média superior das plantas com enzima (tabela 3) e muito superior das plantas com glicosídeo, (tabela 4), sendo estas diferenças, inclusive, altamente significativas em relação às das plantas sem glicosídeos.

Tabela 3. Peso verde médio (g) por planta em dois cortes de plantas com e sem enzima.

	V a r i e d a d e s	
	com enzima	sem enzima
Peso verde médio (g)	605,2	577,3

Tabela 4. Peso verde total e produção média por plantas em sete cortes de quatro linhagens de trevo branco.

Linhagens	Produção (g)	
	Total	Média/Planta
Glicosídeo livre	38,998	185,7
Pedigree	35,843	170,7
Linhagem natural certificada	25,456	121,1
Linhagem não certificada	11,061	52,7

PAIM (1976), testando 38 progênies de trevo branco em consorciação com gramíneas, não encontrou diferenças significativas na produção de matéria seca entre as progênies das plantas com e sem ácido cianídrico, apesar das cianogênicas apresentarem uma produção ligeiramente superior às das plantas não cianogênicas.

Já ATWOOD & SULLIVAN (1943) encontraram correlação negativa e não significativa ( $r = - 0,035$ ) entre a produção de ácido cianídrico e o vigor das plantas de trevo branco. Esses autores acham que não parece provável que a simples presença dos glicosídeos e das enzimas influenciem a produção e persistência do trevo branco. Pode parecer mais provável que as primeiras plantas introduzidas na Nova Zelândia foram homozigotas para o caráter cianogênico e que as mutações nestas plantas, causando a falta de enzimas ou glicosídeos, foram raras. ARAGAO (1978), testando 12 progênies de plantas cianogênicas e não cianogênicas e duas cultivares de trevo branco consorciadas com gramíneas, também obteve correlação negativa não significativa -  $r = - 0,21$  no experimento com azevem e  $r = - 0,22$  no experimento com pensacola - entre a produção de ácido cianídrico e o número de estolões vivos.

CIA NOGÊNESE E CARACTERÍSTICAS MORFO  
FISIOLÓGICAS DE TREVO BRANCO

Os tipos de trevo branco cianogênico e não cianogênico da Nova Zelândia se diferenciam com relação a diversas características. Os cianogênicos são persistentes, altamente produtivos, de grande duração, pecíolos longos e fortemente estoloníferos, enquanto os não cianogênicos são de curta duração, baixa produção e florescimento livre (CORKILL, 1952).

PAIM & DEAN (1975), avaliando 40 clones de trevo branco procedentes de populações naturais e material usado em programa de melhoramento, observaram que, com poucas exceções, as plantas cianogênicas apresentavam maior diâmetro, menor altura, maior comprimento de entrenós dos estolões, maior precocidade no início da floração e menor longevidade do que as plantas não cianogênicas (tabela 5).

Tabela 5. Extensão da variação das respostas dentro dos genótipos.

Caracteres	Genótipos			
	liliacac	Li-acac	liliAc-	Li-Ac-
Diâmetro das plantas (cm)	28,75- 62,25	44,00- 58,75	20,75- 62,50	28,62- 62,25
Altura das plantas (cm)	8,31- 17,25	8,75- 14,12	5,59- 16,25	3,69- 9,88
Comprimento dos entrenós dos estolões (cm)	1,51- 2,96	1,90- 3,10	1,24- 2,89	1,70- 4,04
Tempo de florescimento (dias)	66,80-133,40	50,40-117,20	17,50-117,00	17,50- 75,90
Longevidade (dias)	182,10-190,90	172,10-199,10	171,10-192,00	155,40-189,00
Produção de sementes (g/pl)	2,03- 18,36	2,89-20,30	0,22- 13,87	0,87- 16,60

PAIM et alli (1978) também obtiveram correlações significativas ( $P < 0,01$ ) positiva ( $r = 0,576$ ) para comprimento de entrenós e produção de ácido cianídrico (figura 3) e negativa ( $r = -0,635$ ) entre início de florescimento e produção de ácido cianídrico (figura 4). O comprimento médio de entrenós variou de 27 a 53 cm (tabela 6); enquanto o início do florescimento de 105 a 141 dias (tabela 7).



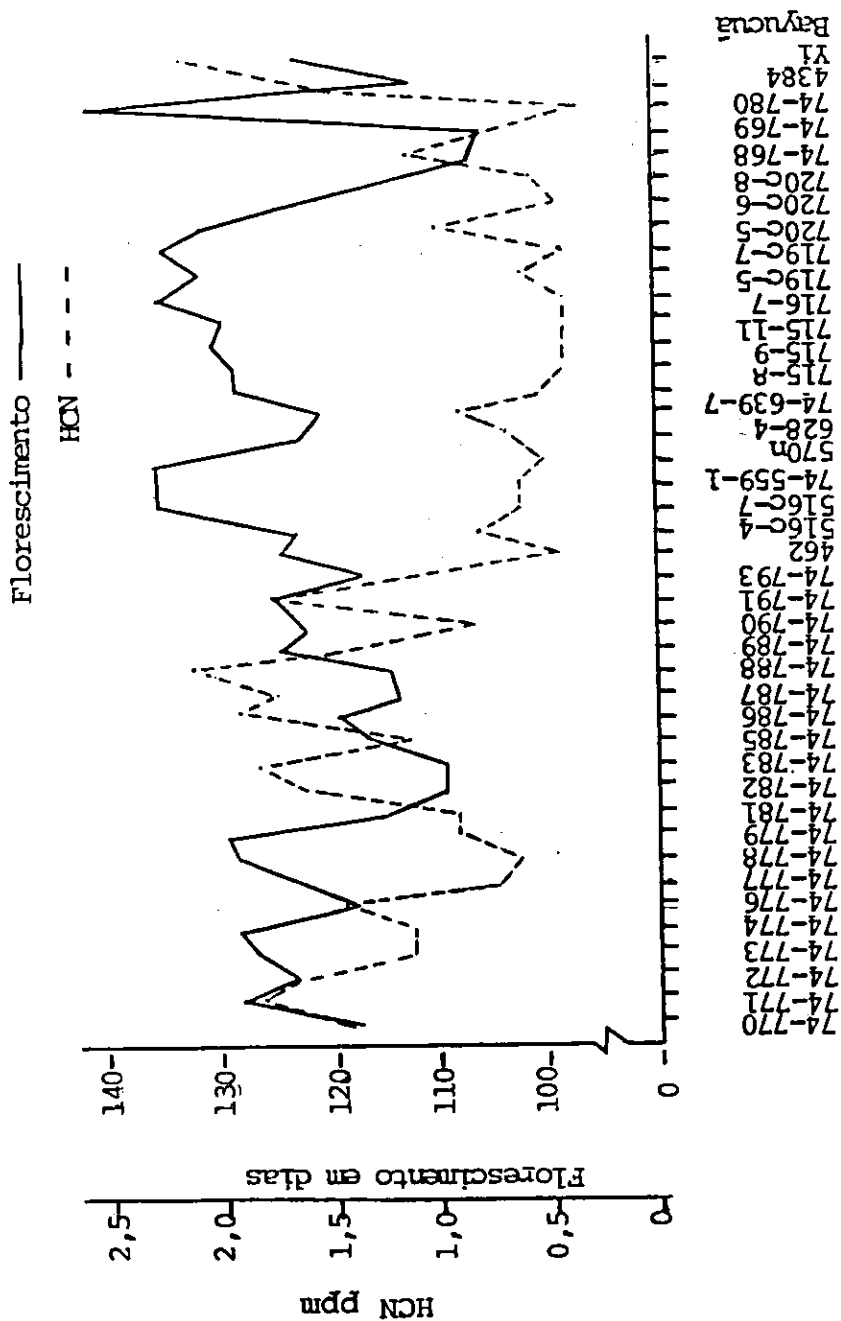


FIGURA 4. Relação entre produção de HCN e época de fluorescência de trevo branco.



TABELA 6 - Comprimento médio de entrenós de estolões das proçúes e cultivares de trevo branco, *Trifolium repens* L.

Proçúes ou cultivares	Comprimento de entrenós (cm)*	Genótipos dos clones originais
74 - 787	5,3 a	Li - Ac -
74 - 780	5,3 a	liii Ac -
74 - 793	5,2 a	Li - Ac -
Y1	5,2 a	
74 - 782	5,0 ab	Li - Ac -
74 - 783	5,0 ab	Li - Ac -
74 - 785	5,0 ab	Li - Ac -
74 - 776	4,8 abc	Li - Ac -
74 - 781	4,8 abc	Li - Ac -
Bayucúá	4,8 abc	
74 - 791	4,7 abcd	Li - Ac -
74 - 788	4,6 abcde	Li - Ac -
715 - 8	4,6 abcde	Li - acac
720c- 6	4,6 abcde	liii Ar -
74 - 784	4,5 abcde	Li - Ac -
74 - 789	4,5 abcde	Li - Ac -
74 - 790	4,4 abcdef	Li - Ac -
716 - 7	4,4 abcdef	liii acac
74 - 773	4,2 abcdef	Li - Ac -
74 - 639-7	4,2 abcdef	Li - Ac -
74 - 774	4,1 abcdef	Li - Ac -
74 - 777	4,1 abcdef	Li - Ac -
516c- 7	4,0 abcdef	liii Ac -
74 - 559-1	4,0 abcdef	liii acac
74 - 779	3,9 abcdef	Li - Ac -
74 - 770	3,8 abcdef	Li - Ac -
74 - 771	3,8 abcdef	Li - Ac -
74 - 778	3,8 abcdef	Li - Ac -
516c- 4	3,8 abcdef	liii Ac -
74 - 772	3,7 abcdef	Li - Ac -
74 - 768	3,7 abcdef	Li - Ac -
74 - 769	3,7 abcdef	Li - Ac -
628 - 4	3,6 abcdef	Li - acac
462	3,3 bcdef	Li - acac
715 - 9	3,3 bcdef	liii acac
715 - 11	3,3 bcdef	liii Ac -
570n	3,2 cdef	liii acac
719c- 7	3,2 cdef	liii Ac -
720c- 8	3,0 def	Li - acac
4384	3,0 def	liii Ac -
720c- 5	2,9 ef	liii Ac -
719c- 5	2,7 f	liii acac

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de DUNCAN a 5%.

TABELA 7 - Início do florescimento em dias após a sementeira de progênes e cultivares de trevo branco, Trifolium repens L.

Progênes ou cultivares	Início do florescimento (dias) *	Genótipos dos clones originais
74 - 780	105 a	1111 Ac -
74 - 769	106 ab	11 - Ac -
74 - 782	109 abc	11 - Ac -
74 - 783	109 abc	11 - Ac -
Y1	112 abcd	
74 - 787	114 abode	11 - Ac -
74 - 781	114 abcde	11 - Ac -
74 - 786	114 abcde	11 - Ac -
74 - 768	114 abcde	11 - Ac -
74 - 785	116 abcdef	11 - Ac -
74 - 793	117 abcdef	11 - Ac -
74 - 770	117 abcdef	11 - Ac -
74 - 776	117 abcdef	11 - Ac -
74 - 786	119 abcdefg	11 - Ac -
74 - 763-7	120 abcdefgh	11 - Ac -
74 - 790	121 cdefgh	11 - Ac -
74 - 772	122 cdefgh	11 - Ac -
516c- 4	122 cdefgh	11 - acac
628- 4	122 cdefgh	11 - acac
Bayucudá	122 cdefgh	
74 - 777	123 cdefgh	11 - Ac -
720c- 8	123 cdefgh	11 - acac
74 - 789	124 defgh	11 - Ac -
74 - 791	124 defgh	11 - Ac -
462	124 defgh	11 - acac
74 - 773	126 defgh	11 - Ac -
74 - 771	128 efghi	11 - Ac -
74 - 774	128 efghi	11 - Ac -
74 - 778	128 efghi	11 - Ac -
715- 8	128 efghi	11 - acac
715- 9	128 efghi	1111 acac
74 - 779	129 efghi	11 - Ac -
716- 7	129 efghi	1111 acac
715- 11	130 fghi	1111 Ac -
720c- 6	130 fghi	1111 Ac -
718c- 7	131 fghi	1111 Ac -
720c- 5	134 ghi	1111 Ac -
516c- 7	135 hi	1111 Ac -
74 - 559-1	135 hi	1111 acac
570n	135 hi	1111 acac
719c- 5	135 hi	1111 acac
4384	141 i	1111 Ac -

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de DUNCAN a 5%.

## REFERÊNCIAS

- ANGSEESING, J.P.A. & ANGSEESING, W.J. Field observations on cyanogenesis polymorfism in Trifolium repens L. Heredity, 31: 276-82, 1973.
- ANGSEESING, J.P.A. Selective eating of acyanogenic form of Trifolium repens L. Heredity, 32: 73-83, 1974.
- ARAGAO, W.M. Teste de progênies de plantas cianogênicas não cianogênicas e cultivares de trevo branco Trifolium repens L., consorciadas com gramíneas. 114 p. Faculdade de Agronomia, UFRS, Porto Alegre, 1978. (Inédito).
- ATWOOD, S.S. & SULLIVAN, J.T. Inheritance of a cyanogenetic glucoside and its hidrolysing enzyme in Trifolium repens L. Jornal of Heredity, 34: 311-20, 1943.
- BOYD, F.T.; AAMODT, O.S.; BOHSTEDT, G. & TROUG, E. Sudangrass management for control of cyanide poisoning. Jornal of the American Society of Agronomy, 30: 569-82, 1938.
- CORKILL, L. Cyanogenesis in white clover (Trifolium repens L.). I. Cyanogenesis in single plants. New Zealand Journal of Science and Technology, 22: 65B-7B, 1940.
- CORKILL, L. Cyanogenesis in white clover (Trifolium repens L.). V. The inheritance of cyanogenesis. New Zealand Journal of Science and Technology, 23: 178 B-93 B., 1942.
- CORKILL, L. cyanogenesis in white clover (Trifolium repens L.). VI. Experiments with high - glucoside - free strains. New Zealand Journal of Science and Technology, 34: 1-16, 1952.
- CRAWFORD - SIDEBOTHAM, T.J. The role of slugs and snails in the maintenance of the cyanogenesis polymorphisms of Lotus corniculatus and Trifolium repens L. Heredity, 28: 405-11, 1972.

- DADAY, H. Gene Frequencies in strains of Trifolium repens L. Nature, 154: 521, 1954.
- DADAY, H. Gene frequencies in wild populations of Trifolium repens L. I. Distribution by latitude. Heredity, 8: 61-78, 1954.
- DADAY, H. Gene frequencies in wild populations of Trifolium repens L. II. Distribution by altitude. Heredity, 8: 377-84, 1954.
- DAWSON, C.D.R. Tetrasomic inheritance in Lotus corniculatus L. Journal of Genetics Canada, 42: 49-72, 1941.
- DOAK, B.W. A chemical methods for the determination of type in white clover. New Zealand Journal of Science and Technology, 14: 359-65, 1933.
- EVANS, E.T.R. & EVANS, E.M. Studies on the biochemistry of pasture plants. 2. The pharmacological properties of certain pasture plants juices, and their possible significance in the aetiology of some disorders of the grazing animal. Journal of the British Grassland Society, 3: 249-61, 1948.
- FOULDS, E. & GRIME, J.P. Response of cyanogenic and acyanogenic phenotypes of Trifolium repens L. to soil moisture supply. Heredity, 28: 181-7, 1972.
- GIBSON, P.B. & HOLLOWELL, E.A. White clover. Washington, D.C., USDA, 1966. 33p. (Agricultura Handbooks, 314).
- HUGUES, M.A. Cyanogenesis in white clover. In: LOWE, M. White clover research. Reading, British Grassland, 1969. p.123-31. (Occasional Symposium, 6).
- MILLER, J.D.; GIBSON, P.B.; COPE, W.A. & KNIGHT, W.E. Herbivore feeding on cyanogenic and a cyanocenic white clover seedlings. Crop Science, 15: 90-1, 1975.
- PAIM, N.R. Performance of cyanogenic and acyanogenic plants and progenies of Trifolium repens L. 85f. Gainesville University of Florida, USA, 1976. (inérito)

- PAIM, N.R. & DEAN, C.E. Characteristics of cyanogenic and acyanogenic white clover plants. Soil and Crop Science Society Florida, 35: 18-21, 1975.
- PAIM, N.R.; ARAGÃO, W.M. & MARKUS, R. Características de progenies e cultivares de trevo branco. Agronomia Sulriograndense, 14 (2): 311-27, 1978.
- SULLIVAN, J.T. Determination of hydrocyanic acid by picric acid method and KWSZ photometer. Journal of the Association Official Agricultural Chemistry, 22: 781-4, 1939.

