

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
SEMENTES



Dissertação

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE TRIGO, TRITICALE E CENTEIO
PELO TESTE DE FENOL**

Paulo Ernani Peres Ferreira

Pelotas

Rio Grande do Sul – Brasil

2019

Paulo Ernani Peres Ferreira

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE TRIGO, TRITICALE E CENTEIO
PELO TESTE DE FENOL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação da Profa. Dra. Lilian Vanussa Madruga de Tunes, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, para obtenção do título de Mestre Profissional em Ciências.

Pelotas, 2019

PAULO ERNANI PERES FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE TRIGO, TRITICALE E CENTEIO
PELO TESTE DE FENOL**

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do título de Mestre Profissional, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 13 de junho de 2019

BANCA EXAMINADORA:

Eng^a Agr^a Dra Lilian Vanussa Madruga de Tunes

Eng^o Agr^o Dr. Geri Eduardo Meneghello – UFPel

Eng^a Agr^a Dra. Andréa Bicca Nogueira Martins – UFPel

Eng^a Agr^a Dra. Daniele Brandstetter Rodrigues – UFPel

*Dedico este trabalho a minha esposa
Salette Berton Ferreira, ao meu filho
Thiago Berton Ferreira, a todos os
meus familiares pelo carinho,
compreensão e incentivo
desta minha jornada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, pois Ele é a razão da minha existência e por estar acima de tudo, iluminando e nos guiando em seu caminho.

À minha esposa, Salete Berton Ferreira, pelo amor e pelo incentivo para que eu não desistisse dos meus sonhos.

Ao meu querido filho, Thiago Berton Ferreira, pelo carinho e inspiração que me fazem continuar sempre.

Aos meus pais, pela minha existência e amor.

À minha família, pelo incentivo.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Agronomia Eliseu de Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas - UFPel.

Ao meu colega Alfredo do Nascimento Júnior, pela orientação e amizade.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

A todos, os mais sinceros agradecimentos.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Corte longitudinal de grão de trigo	24
Figura 2 - Organização das amostras para a realização do teste de fenol	35
Figura 3 - Amostras em água corrente por 16 a 20 horas	35
Figura 4 - Preparo das amostras com a crease posicionadas para baixo nas placas de Petri com papel filtro	36
Figura 5 - Capela com exaustão de gases para manuseio das amostras	36
Figura 6 - Colocação de fenol a 1% em amostra de centeio	37
Figura 7 - Amostras sob incubação de quatro horas, em temperatura Ambiente	37
Figura 8 - Amostra pronta para leitura da reação ao fenol, com escala comparativa no canto superior	38
Figura 9 - Amostra pronta para avaliação (à esquerda) e após com as sementes separadas conforme a intensidade da coloração ao fenol (à direita).....	38
Figura 10 - Cultivares e linhagens de trigo submetidas ao teste de coloração com fenol, com a respectiva média ponderada obtida a partir de três repetições de cada cultivar ou linhagem	47
Figura 11 - Cultivares e linhagens de triticales submetidas ao teste de coloração com fenol, com a respectiva média ponderada obtida a partir de três repetições de cada cultivar ou linhagem	51
Figura 12 - Cultivares e linhagens de centeio submetidas ao teste de coloração com fenol, com a respectiva média ponderada obtida a partir de três repetições de cada cultivar ou linhagem	54
Figura 13 - Distribuição numérica de 114 cultivares e linhagens de trigo, triticales e centeio de acordo com a classificação à reação ao teste de coloração por fenol	57

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Genealogia das 80 cultivares de trigo utilizadas no estudo....	30
Tabela 2 - Genealogia das 11 cultivares de centeio utilizadas no estudo	32
Tabela 3 - Genealogia das 23 cultivares de triticales utilizadas no estudo.	32
Tabela 4 - Cultivares e linhagens de trigo submetidas ao teste de coloração com fenol	40
Tabela 5 - Classificação das cultivares de trigo resultante da média aritmética das médias ponderadas das cultivares de trigo	48
Tabela 6 - Cultivares e linhagens de triticales submetidas ao teste de coloração com fenol	49
Tabela 7 - Classificação das cultivares de triticales resultante da média aritmética das médias ponderadas das cultivares de triticales	52
Tabela 8 - Cultivares e linhagens de centeio submetidas ao teste de coloração com fenol	53
Tabela 9 - Classificação das cultivares de centeio resultante da média aritmética das médias ponderadas das cultivares de centeio	55
Tabela 10 - Análise percentual e quantitativa de cultivares de trigo, triticales e centeio submetidas ao teste de coloração por fenol e sua distribuição em uma escala de amplitude	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOSA	Association of Official Seed Analysts
DHE	Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade
ISTA	International Seed Testing Association
LPC	Lei de Proteção de Cultivares
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
RAS	Regras de Análise de Sementes
SNPC	Serviço Nacional de Proteção de Cultivares
TUS	Taxa de Utilização de Sementes
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas
UPOV	Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales

RESUMO

FERREIRA, Paulo Ernani Peres **Caracterização de Cultivares de trigo, triticale e centeio pelo teste de fenol**. 61 f. Dissertação (Mestrado Profissional). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas - RS, 2019.

O teste bioquímico de coloração com fenol constitui uma das técnicas para exame de distinguibilidade e para identificação de cultivares de trigo, de triticale e de centeio, constituindo característica que pode integrar seus respectivos descritores. O objetivo com este trabalho foi caracterizar pela análise do teste de fenol, e a sua conseqüente reação de coloração de 80 cultivares de trigo, 23 de triticale e 11 de centeio. A metodologia empregada foi constituída pelas “Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, de homogeneidade e de estabilidade” (DHE) para triticale e para centeio, do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A caracterização das cultivares de trigo seguiram a diretriz TG/3/12 da Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales (UPOV). Os resultados do teste de fenol em trigo e em triticale evidenciaram a ocorrência de maior frequência de reações de coloração média (código 5), seguidas de tonalidades escuras (código 7) e posteriormente da cor clara (código 3). Para as cultivares de centeio ocorreram apenas colorações médias ou claras nas sementes. Respostas de coloração mais acentuadas na escala, com cores muito escuras (código 9) e cores ausentes ou muito claras (código 1), somente foram observadas em sementes de trigo e em baixa frequência, não acontecendo para as variedades de triticale e centeio. Constatou-se que o teste coloração com fenol é um método de baixo custo e fácil realização laboratorial, constituindo uma adequada ferramenta para a caracterização rápida de cultivares de trigo, triticale e centeio.

Palavras chaves: *Triticum aestivum*, x *Triticosecale*, *Secale cereale*, proteção de cultivares, identificação de cultivares.

ABSTRACT

FERREIRA, Paulo Ernani Peres, **Characterization of wheat, triticale and rye cultivars deploying the phenol test** 61 f. Dissertação (Mestrado Profissional). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas - RS, 2019.

The biochemical test of seeds by phenol staining is one of the techniques for differentiation, and identification of wheat, triticale and rye cultivars, that can be included as one of its respective descriptors. This work aimed at characterizing 80 cultivars of wheat, 23 cultivars of triticale and 11 cultivars of rye by means of the color reaction on phenol tests. The methodology was based on the "Instructions for conducting the tests of distinctness, uniformity and stability" for triticale and for rye of the Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), of the Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). However, for the wheat cultivars the guideline TG / 3/12 of the International Union for the Protection of Natural Varieties (UPOV) was deployed. The results of the phenol tests for wheat and triticale cultivars detected a higher frequency of medium colors (code 5), followed by dark colors (code 7) and, than by light colors (code 3). For the rye cultivars only medium or light colorations of the seeds were observed. More pronounced staining response, such as very dark colors (code 9) and absent coloration, or very light colors (code 1), were observed only in seeds of wheat cultivars, at low frequency. These later staining responses were not observed on seeds of triticale and rye cultivars. It was concluded that the phenol test is a low cost method, easy to perform in laboratory, and an adequate tool for rapid characterization of wheat, triticale and rye cultivars.

Keywords: *Triticum aestivum*, *x Triticosecale*, *Secale cereale*, cultivar protection, identification of cultivars.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTAS DE TABELAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 – INTRODUÇÃO	12
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 - Importância econômica da semente	15
2.2 - Diferenciação de cultivares	16
2.3 - Descritores mínimos	18
2.3.1 - Caracteres morfológicos	19
2.3.2 - Caracteres fisiológicos e biológicos	20
2.3.3 - Caracteres genéticos	20
2.3.4 - Caracteres químicos	20
2.4 - Coloração com fenol ou teste de fenol	20
2.5 - Histórico do teste de fenol	21
2.6 - Mecanismos bioquímicos envolvidos no teste de fenol	24
2.7 - Estabilidade do teste	27
3 – MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 - Metodologia utilizada para determinação da reação ao fenol para cultivares de trigo	32
3.2 - Metodologia utilizada para determinação da reação ao fenol para cultivares de tritcale e centeio	33
3.3 - Descrição pormenorizado do teste de fenol	34
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 - Reação ao teste de fenol para cultivares de trigo	39
4.2 - Reação ao teste de fenol para cultivares de tritcale	49
4.3 - Reação ao teste de fenol para cultivares de centeio	53
4.4 - Discussão geral	55
5 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	59
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1 - INTRODUÇÃO

Considera-se como importante marco legal a promulgação da Lei federal n.º 9.456 (Lei de Proteção de Cultivares – LPC), de 25 de abril de 1997, bem como a sua regulamentação através do Decreto nº 2.366, de 5 de novembro do mesmo ano. Marquesan et al. (2010) salientam que o principal objetivo da legislação é resguardar o conhecimento científico, além de oferecer meios efetivos no sentido de preservar a competitividade das organizações dedicadas a atividades de pesquisa e ao desenvolvimento em sementes. Isso permite que instituições que realizem o melhoramento de plantas e a cobrança de royalties sobre a tecnologia protegida nas novas cultivares e que são disponibilizadas ao mercado. Portanto, há mais de vinte anos, quem registra um novo cultivar no Brasil tem seus direitos plenamente reconhecidos por meio da referida legislação.

No âmbito do estabelecimento legal e institucional, foi criado o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), que mantém o cadastro nacional de cultivares protegidos e que tem a competência para acatar os pedidos de proteção, bem como de assegurar direito à propriedade intelectual dos obtentores vegetais no Brasil.

Para a efetiva proteção é necessária a comprovação das características da cultivar de ser Distinta, Homogênea e Estável (DHE), além de ser novidade e possuir denominação própria. Tais premissas são fundamentais para a distinção entre as diversas variedades existentes de uma mesma espécie vegetal.

Conforme BRASIL (2010) a distinguibilidade entre cultivares é atestada comparando-se as cultivares por um conjunto de características definidas pelo órgão de proteção (SNPC) e divulgada por meio de publicação oficial (Diário Oficial da União). Este conjunto de características é chamado de descritores. A escolha das características que irá compor os descritores de cada espécie vegetal leva em consideração os traços morfológicos, fisiológicos ou moleculares mais marcantes e possíveis de serem passados a cada geração em que a cultivar é multiplicada.

Neste aspecto, o teste de coloração por fenol - como teste bioquímico de diferenciação de cultivares - é recomendado para a identificação de variedades

de trigo, triticales e centeios. O teste se baseia na reação de compostos presentes no pericarpo das sementes à solução química aplicada (fenol) e que, devido à resposta constante de cada variedade, serve para caracterização, distinguindo-se rápida e eficientemente cultivares por meio de colorações diferentes.

Atualmente o teste de fenol é exigido pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no processo de Proteção de Cultivares, como forma de caracterização nos ensaios de DHE (Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade), para as cultivares de triticales e centeios.

Para os Descritores em trigo, o teste de fenol não é exigido no Brasil, porém a UPOV (Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales), vem solicitando que o teste seja utilizado para melhor determinação dos materiais vegetais.

O presente trabalho realizou a caracterização e diferenciação de cultivares de trigo, triticales e centeios, com a aplicação do teste bioquímico de coloração de sementes por fenol, com a finalidade de fazer comparativo entre as cultivares, como forma de distinguilidade. Foi utilizada a metodologia detalhada nos descritores estabelecidos pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para triticales e centeios. Para cultivares de trigo foi utilizada a diretriz TG/3/12 da União Internacional para a Proteção das Obtensões Vegetais (UPOV - Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales).

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo o direito brasileiro, a definição de semente é esta consiste em “material de reprodução vegetal de qualquer gênero, espécie ou cultivar, proveniente de reprodução sexuada ou assexuada, que tenha finalidade específica de semeadura” (BRASIL, 2003).

Já a palavra “cultivar” é um termo técnico, formado a partir da expressão do inglês *cultivated variety*, e indica uma variedade cultivada de planta, obtida por meio de técnicas de melhoramento vegetal. Assim, para cultivar, o conceito legal expresso no artigo 3º, inciso IV, da Lei de Proteção de Cultivares é que a “variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior que seja claramente distinguível de outras cultivares conhecidas, por margem mínima de descritores, por sua denominação própria, que seja homogênea e estável quanto aos descritores através de gerações sucessivas e seja de espécie passível de uso pelo complexo agroflorestal, descrita em publicação especializada disponível e acessível ao público, bem como a linhagem componente de híbridos” (BRASIL, 2003).

2.1 - Importância econômica da semente

Pode-se considerar que a semente é um importante insumo agrícola, pois como organismo vivo, é depositária, direta ou indiretamente, do aperfeiçoamento tecnológico desenvolvido por pesquisadores ao longo do tempo. Com os avanços em termos de legislação, biotecnologia e de melhoramento genético, o mercado brasileiro de sementes está atualmente estimado em cerca R\$ 10 bilhões, estando atrás somente dos Estados Unidos e da China. Em 10 anos, a safra brasileira de sementes saltou de 1,8 milhão de toneladas, na safra de 2005/06, para quase 4 milhões de toneladas na safra 2015/16. Os mercados de sementes de soja e milho permanecem entre os principais do Brasil, respondendo juntos por 74% do mercado de sementes (ABRASEM, 2015).

A cultura do trigo possui grande importância econômica para o Brasil, sendo a sua produção projetada para o ano de 2025 como sendo de 9,1 milhões de toneladas e consumo interno em 15,0 milhões de toneladas para aquele ano. Deverá crescer, portanto, a uma taxa anual de 1,4% entre 2015 a 2025. Já o consumo de trigo tem aumentado no Brasil – passou de 10,2 em 2010, para 11,7

milhões de toneladas em 2014 (BRASIL, 2015). Com esta projeção a necessidade de área e, conseqüentemente, de sementes das mais diversas cultivares de trigo a fim atingir o projetado para o ano de 2025 também será ampliado.

De acordo com a CONAB (2018a), a área cultivada com centeio no Brasil em 2017 foi de 3.600 hectares, com a produtividade média de 1.722 kg/hectare e produção de 6,2 mil toneladas. Com triticales foram cultivados 23.000 hectares, obtida produtividade de 2.326 kg/hectare e produção de 53,5 mil toneladas de grãos em 2018.

Conforme ABRASEM (2016) o Brasil produziu, na safra 2015/2016, 209.909 toneladas de sementes de trigo em todas as categorias (Básica, C1, C2, S1 e S2), com área plantada de 2.448.800 hectares de grãos, resultando em uma Taxa de Utilização de Sementes (TUS) de 75%. Para triticales foram 972 toneladas de sementes produzidas, tendo uma área plantada de 21.500 hectares de grãos e Taxa de Utilização de Sementes (TUS) de 56%. Para a cultura do centeio foram 259 toneladas de sementes, com área plantada de 1.700 hectares de grãos, obtendo-se uma Taxa de Utilização de Sementes (TUS) de 80% na safra 2015/2016.

No atual cenário agrícola, a busca por maiores produtividades é alavancada, sobretudo pelo melhoramento genético e biotecnologias disponíveis, bem como na utilização de variedades/cultivares adaptadas e de elevado potencial sanitário, que tem proporcionado ganhos produtivos ano após ano na agricultura mundial.

2.2 - Diferenciação de cultivares

A genuinidade (ou “distinguíbilidade”) de uma variedade/cultivar é testada por meio de seus caracteres hereditários intrínsecos nas sementes, mudas e/ou plantas. Características morfológicas, fisiológicas, químicas e bioquímicas têm sido constantemente utilizadas na distinção entre cultivares de uma mesma espécie. Desta forma, a cultivar tem que se distinguir das demais variedades por uma característica importante ou por várias características, cuja combinação lhe dê a qualidade ou o status de “nova variedade”.

Existe uma necessidade crescente de desenvolvimento de métodos de identificação de variedades laboratoriais para fins de proteção de cultivares

vegetais, certificação de sementes, controle de qualidade e até mesmo de consumo.

No passado, o número de variedades cultivadas comercialmente era limitado e sua identificação por observações visuais (diferenças morfológicas) era relativamente fácil e utilizadas satisfatoriamente. Porém, à medida que o número de variedades comerciais cresceu, as diferenças visuais tornaram-se mais difusas tornando-se a tarefa de identificação cada vez mais difícil.

Como exemplo, apenas para a cultura do trigo, no intervalo de 1922 até o ano de 2014 foram lançados efetivamente 547 cultivares no Brasil – o que demonstra a diversidade genética dos trigos nacionais (SOUZA, 2014).

Com o advento da Lei de Proteção de Cultivares (LPC) e as normas sobre o registro e proteção de cultivares, através do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) e no Registro Nacional de Cultivares (RNC), no âmbito do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e que mantém cadastro ativo das cultivares protegidas e/ou registradas para fins de habilitação para produção e comercialização de semente, o número de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) atualmente registradas chega a 271, sendo 124 destas sob o sistema de proteção de cultivares (BRASIL, 2018a; BRASIL, 2018b).

Para triticale (*x Triticosecale* Wittm. ex A. Camus) estão registradas 30 cultivares junto ao RNC e quatro cultivares protegidas no SNPC perante o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Em centeio (*Secale cereale* L.) existem cinco cultivares registradas e apenas duas protegidas (BRASIL, 2018a; BRASIL, 2018b).

Métodos realizados a campo (testes de campo), baseados em caracteres morfológicos das plantas fornecem um meio valioso de distinguir diferenças entre as variedades cultivadas, mas muitas vezes exigem vários meses para serem concluídos e conseqüentemente, têm uso prático limitado. Por causa da lentidão dos métodos de teste de campo, vários procedimentos laboratoriais foram desenvolvidos para caracterizar as variedades de uma mesma espécie vegetal. Para trigo, triticale e centeio, estes incluem testes de estufa e câmara de crescimento e métodos bioquímicos como o teste de coloração com fenol.

2.3 - Descritores mínimos

O conceito de descritor pode ser dado como: característica morfológica, fisiológica, bioquímica ou molecular que seja herdada geneticamente e é utilizada na identificação de uma cultivar (BRASIL, 1997).

Os descritores são a base para os exames de DHE (distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade) de uma cultivar e que formam o tripé de requisitos técnicos – chamados testes de DHE – para proteção pelo sistema da Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales (UPOV), em qualquer país do mundo.

A estrutura do teste de DHE e a escolha das características que farão parte do documento oficial do Brasil é de responsabilidade do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), órgão vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O grande desafio é utilizar os conhecimentos disponíveis para estabelecer um conjunto de características que seja amplo o suficiente, para descrever com confiabilidade as cultivares, contemplando a variabilidade genética existente; e, ao mesmo tempo, sucinto para, em um limite de razoabilidade, possibilitar a execução dos ensaios e das avaliações que resultem descrições confiáveis, permitindo a diferenciação das cultivares. São considerados mínimos, por não serem exaustivos, ou seja, outras características podem ser agregadas, na medida em que forem fundamentais para a declaração de distinguibilidade (BRASIL, 2011).

Desta forma, a escolha dos caracteres (ou características) que comporão os descritores mínimos de cada espécie vegetal leva em conta as características morfológicas, fisiológicas ou moleculares mais marcantes e possíveis de serem transmitidas a cada geração que a cultivar for multiplicada. Nesse contexto, uma cultivar é considerada distinta quando as diferenças entre ela e as demais são consistentes e claras.

As normas oficiais de proteção de cultivares de trigo, triticale e centeio encontram-se descritas no site do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), junto ao Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), disponíveis em <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/protecao-de-cultivar/protecao-de-cultivar> (BRASIL, 2018).

2.3.1 - Caracteres morfológicos ¹

As principais características morfológicas para trigo dizem respeito a aspecto da planta (hábito vegetativo, altura média), folha (posição da folha bandeira, cerosidade da bainha, coloração das aurículas) colmo (forma do nó superior, cerosidade do pedúnculo, espessura da parede, diâmetro do colmo), espiga (forma, comprimento, densidade, arista, coloração), gluma (pilosidade, comprimento, largura, forma do ombro, comprimento do dente), grão (forma, comprimento, coloração, textura).

Os caracteres morfológicos em triticales são: planta (hábito vegetativo, comprimento, frequência de plantas com folha bandeira recurvada), coleóptilo (pigmentação antociânica), colmo (densidade da pilosidade no pescoço, espessura das paredes), folha (pigmentação antociânica das aurículas, comprimento da lâmina foliar, cerosidade da bainha, largura da lâmina foliar), espiga (pigmentação antociânica das aristas, pigmentação antociânica das anteras, cerosidade, distribuição das aristas, comprimento das aristas acima da extremidade, cor na maturidade, comprimento, largura, densidade), gluma inferior (comprimento do primeiro dente, tamanho do segundo dente, forma da quilha, pubescência da superfície externa).

Para centeio as características morfológicas referem-se a aspecto da planta (hábito vegetativo, comprimento), coleóptilo (pigmentação antociânica, comprimento), colmo (densidade da pilosidade abaixo da espiga, comprimento entre o nó superior e a espiga), folha (comprimento da bainha, comprimento da lâmina foliar, cerosidade da bainha, comprimento da lâmina foliar, largura da lâmina foliar), espiga (cerosidade, atitude, comprimento, densidade), grão (peso de mil grãos, comprimento), semente (coloração da camada de aleurona).

¹ Para trigo, triticales e centeio, os caracteres sublinhados são os caracteres incluídos nas diretrizes de teste de DHE apregoado pela Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales (UPOV) e que são importantes para a harmonização internacional de descrições de cultivares e que devem sempre ser usados no exame DHE e incluídos na descrição da cultivar por todos membros da união, exceto quando o nível de expressão de um caráter anterior ou as condições ambientais da região o impossibilitam.

2.3.2 - Caracteres fisiológicos e biológicos

São caracteres relativos aos fatores abióticos (clima, pH, temperatura e outros mais) e aos fatores bióticos (organismos) bem como suas interações.

Para trigo, triticales e centeio o grupo bioclimático (primavera, inverno ou alternativo) é relevante. Para trigo e triticales o subperíodo, em dias, da emergência ao espigamento e para centeio o subperíodo da emergência até a emergência das espigas. Também é importante, para trigo, o ciclo em dias da emergência à maturação da variedade.

Para a cultura do trigo a reação ao crestamento (comportamento da cultivar em relação à presença de alumínio ou manganês tóxico no solo) deve ser realizada.

2.3.3 - Caracteres genéticos

Para triticales e centeio o nível de plóidia (número de pares de cromossomos) é um caractere importante na distinguibilidade da cultivar. Podendo esta ser diplóide ou tetraplóide (centeio) ou ainda tetraplóide, hexaplóide ou octoplóide (triticales).

2.3.4 - Caracteres químicos

A coloração com fenol é um teste bioquímico rápido, realizado em laboratório, com a determinação da coloração do grão em cultivares de triticales e centeio. Também é chamado de teste de fenol.

2.4 - Coloração com fenol ou teste de fenol

Dentre os métodos sugeridos para identificação de sementes com características morfológicas semelhantes, destaca-se o teste bioquímico de fenol, que pode ser usado para distinção de sementes. Atualmente, o uso do teste de fenol é utilizado para a identificação e diferenciação de cultivares de cereais como: arroz, aveia, centeio, trigo e triticales.

Atualmente o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda a realização do teste de coloração com fenol para as cultivares de triticales e centeio como forma de descrição de característica peculiar de cada variedade (descritores), no processo de Proteção de Cultivares, como forma de caracterização nos ensaios de DHE (Distinguibilidade, Homogeneidade e

Estabilidade) e para efetiva proteção de cultivar perante o Sistema Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC). Desta forma, as cultivares somente podem ser protegidas se houver uma lista de descritores publicada pelo MAPA no Diário Oficial.

O teste de fenol é exigido no Brasil nos descritores mínimos para triticales e centeio. Os descritores para trigo não o solicitam, porém, a UPOV (Union internationale pour la Protection des Obtentions Végétales) vem propondo que o teste seja utilizado para uma melhor caracterização dos materiais vegetais.

Salienta-se ainda que, para as cultivares de trigo, no entanto, devido ao grande número de características comuns a identificação varietal é mais difícil (MENEZES & BELLÉ, 1996).

2.5 - Histórico do teste de fenol

O teste do fenol foi descoberto acidentalmente por Pieper (1922, citado por Friedberg, 1933). Naquele ano, um agricultor que desinfestou animais e após sementes de trigo com um produto químico (Betanal) contendo um composto derivado do fenol, notou que os grãos tratados desenvolveram uma reação de cor escura. Com base nessa observação, Pieper testou algumas variedades de trigo que, após imersão em água destilada e depois em solução a 1% de Betanal, apresentou diferentes padrões de cores.

Hermann (1924) citado por Friedberg (1933) aprimorou o método iniciado por Pieper. Ele usou um papel filtro e uma solução a 0,1% de ácido fenólico, já que este composto mostrou ser mais ativo que o Betanal. Friedberg (1933) embebeu grãos de cereais em água destilada por 16 horas. Ele então removeu e secou os grãos em um papel filtro por quarenta minutos. Posteriormente, colocou os grãos em um tubo contendo 5 ml de solução a 1% de ácido fenólico por 4 horas. Finalmente, ele removeu os grãos da solução e secou-os em papel filtro. Após 3 a 4 horas, as reações de coloração apareceram claramente nos grãos. Com o passar dos anos, outros métodos foram propostos.

Walls (1965) relatou que a imersão de sementes de trigo em água destilada por 10 a 16 horas, seguida da colocação sobre papel filtro umedecido com 0,2% de fenol, apresentou resultados satisfatórios.

International Seed Testing Association (ISTA), entidade fundada em 1924 com o objetivo de desenvolver, publicar e uniformizar procedimentos padrões no

campo de testes de sementes, bem como de métodos de teste de sementes que sejam confiáveis e reproduzíveis entre os laboratórios membros, propôs, em 1966, a padronização da metodologia de testes de fenol para identificação de variedades de trigo. Este método foi adotado, sendo realizado com quatro amostras de 100 sementes de trigo cada, onde as sementes são embebidas em água destilada por dezesseis horas, lavados com água corrente e o secado o excesso de água da superfície das sementes. As sementes são então colocadas sobre duas camadas de papel filtro, num recipiente umedecido com solução de fenol a 1%. Após quatro horas de incubação, a reação de cor desenvolvida pela semente é verificada.

No mesmo ano, o equivalente norte-americano ao ISTA, a Association of Official Seed Analysts (AOSA), indicou um método alternativo para o teste de fenol, onde as sementes de trigo, ao invés de serem encharcadas em água destilada por dezesseis horas, as sementes são colocadas em um recipiente e recobertas com água quente, onde são deixadas em infusão por dez minutos.

Wrigley e McCausland (1975) propuseram uma modificação ao teste de fenol que consistia essencialmente em reduzir o período de imersão das sementes em dezesseis horas com o uso de água quente. Nesta modificação, as sementes de trigo foram deixadas na solução por não mais do que 3 a 5 minutos e depois drenadas. Em 1977, os mesmos autores propuseram um procedimento modificado que eles chamavam de "testes rápidos de fenol para variedades de trigo". Os reagentes usados foram uma solução de fenol a 1% e um fenol amoniacal. Um grama de fenol foi dissolvido em água; 1 ml de solução concentrada de amoníaco (a 25%) foi adicionado e a mistura diluída em 100 ml de água destilada. As sementes foram embebidas nesta solução por 3 a 15 minutos. Os grãos foram então drenados e espalhados em papel absorvente molhado com solução de amônia-fenol em um recipiente coberto. A taxa de coloração foi então registrada após 10 a 20 minutos a 40°C ou após 15 a 30 minutos a 20°C. Eles observaram que esse teste obteve as mesmas reações de coloração nas sementes que o método convencional.

Banerjee e Chandra (1977) desenvolveram uma nova avaliação detalhada do método de análise com fenol. Estudaram atentamente a reação ao longo do tempo e notaram que um padrão de cor topográfico se desenvolveu na semente, começando na ponta do grão. Eles propuseram então um código alternativo para

avaliação. Por exemplo, se uma semente desenvolvesse uma coloração apenas em uma quarta parte de sua superfície, enquanto a parte restante permanecesse inalterada, ela seria registrada como sendo $3/4 -$, $1/4 ++$, onde os sinais aritméticos indicavam a intensidade da cor. Sugeriram também um método para a determinação química da atividade enzimática, onde a enzima envolvida na reação foi extraída e sua atividade medida *in vitro*, onde observaram diferenças reconhecíveis na variação óptica entre cultivares. Eles modificaram a atividade enzimática usando como substrato vários compostos (monofenóis, polifenóis) com concentrações variadas de 0,001% a 4,0%. A coloração variou em grau de composto para composto e foi muito dependente das concentrações. A enzima tirosinase, também conhecida por monofenol monoxigenase, é uma substância que contém cobre (metaloenzima) em sua composição e que catalisa a oxidação de fenóis em animais e em plantas, como por exemplo, a pigmentação e escurecimento de batata descascada ou fatiada exposta ao ar. Imaginou-se então que traços de cobre estimulariam a reação na coloração das sementes. Desta forma, embeberam as sementes em soluções de CuSO_4 em diferentes concentrações (0,001% a 4%). Uma leve estimulação foi observada em 0,001% e a concentração de 2% foi inibitória. A 4% de concentração, quatro dias foram necessários para o desenvolvimento da coloração em sementes. Também foram usados vários outros íons metálicos, como prata, mercúrio, potássio, sódio, ferro e outros mais, onde a maioria era inibitória. Foi concluído que apenas o Na^+ pode provocar uma seletividade e efeito sobre a enzima, de modo a ser capaz de diferenciar duas cultivares de trigo.

Os resultados do teste convencional de fenol são avaliados qualitativamente. As variedades testadas são agrupadas com base na reação de coloração. Friedberg (1933) e Wrigley, et al. (1975) propuseram cinco classes de cores, a saber: (1) sem cor, (2) marrom claro, (3) castanho, (4) castanho escuro e (5) coloração mista. As categorias de coloração propostas pela Association of Official Seed Analysts – AOSA (1966) são: (1) marfim, (2) fulvo (dourado), (3) castanho claro, (4) castanho e (5) castanho preto. O International Seed Testing Association – ISTA (1966) usa esse agrupamento: (1) preto, (2) marrom escuro, (3) marrom, (4) castanho claro e (5) negativo.

Jaiswal e Agrawal (1995) afirmaram que o uso do teste de coloração com fenol consiste em um método laboratorial relativamente simples, rápido e barato para a determinação da pureza varietal de amostras de sementes.

Steen et al. (1986) sugere que o teste de coloração com fenol poderia ser usado para a identificação de variedades, determinar misturas varietais em cultivares e misturas em tipos de centeio de primavera e inverno.

2.6 - Mecanismos bioquímicos envolvidos no teste de fenol

O local da reação envolve o revestimento ou casca da semente de cereais, ou seja o pericarpo (Friedberg (1933), Joshi e Banerjee (1970), Csala (1972), Elekes (1980)).

Walls (1965) citado por Steen et al. (1986) relata que a reação ao fenol é devido a atividade da enzima oxidase, onde monofenóis, difenóis e polifenóis são oxidados por estas enzimas presentes no pericarpo e em outras estruturas da semente e que são dependentes da quantidade e qualidade das enzimas oxidativas presentes.

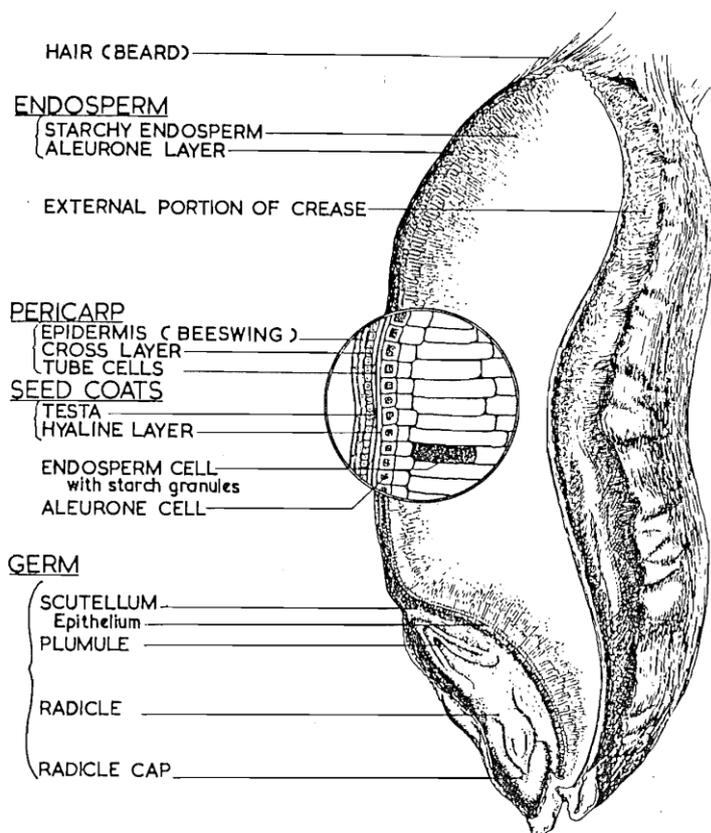


Figura 1 – Corte longitudinal de grão de trigo. Fonte: Botham (2018).

Conforme Joshi e Banerjee (1970) a reação ao elemento fenol ocorre no pericarpo das sementes, onde a presença da enzima tirosinase oxida o fenol e produz melanina. Além disso, a reação de cor é bastante consistente com a extensão da atividade enzimática e a intensidade da oxidação, que é um caráter varietal. Desta forma, a característica pode ser devida a um ou dois fatores genéticos no trigo de inverno, sendo a cor escura dominante.

Joshi e Banerjee (1970) conduziram experimento para estudar a genética da reação de coloração com fenol em trigo tipo Emmer (*Triticum dicoccum* L.). Foi descoberto que quando as sementes eram fervidas em água por 15 minutos e após tratadas com fenol, nenhuma cor resultava, indicando assim que a reação era enzimática. Para estudar a natureza das enzimas participantes, elas mergulharam as sementes em soluções de dietilditiocarbamato de sódio a 0,1% durante 16 horas antes do tratamento com fenol. Observaram que nenhuma coloração ocorria mesmo naquelas sementes onde a cor preta escura normalmente é vista. Isto estabeleceu claramente que a reação de oxidação do fenol à melanina (cor escura desenvolvida no tegumento) via ortoquinona foi catalisada por um polifenol oxidase contendo cobre, isto é tirosinase com a possível participação de outras substâncias fenólicas presentes nas sementes e também de aminoácidos tais como tirosina e fenilalanina.

Csala (1972) sugere que a reação fenólica no trigo é causada por uma reação química de compostos nitrogenados não identificados na presença de metal e oxigênio. Ele concluiu que o mecanismo de reação do fenol pode diferir para o trigo e a cevada, onde o modo reativo foi influenciado por processos enzimáticos e não enzimáticos. No caso de cevada, o papel das enzimas parece ser mais importante. Já para trigo, a reação química aparenta ser a mais importante.

Friedberg (1933), Csala (1972) e outros relataram que o fenol não reagia na semente como uma solução por sim mesma, mas era o vapor da solução fenólica que produzia a reação de coloração.

Considerava-se até então que a reação de fenol ocorresse tão somente a nível enzimático. No entanto, Elekes (1980) sugere que esta pode ser, na verdade, uma reação puramente química e não enzimática, onde a reação ocorre na casca da semente, não ocorrendo a descoloração nas células enzimáticas

ativas do aleurona (*que é a camada situada entre o endosperma e a casca*) ou sem alterar seu efeito sobre as sementes.

Elekes (1980) demonstrou em seus trabalhos que a formação da coloração não é um processo enzimático, uma vez que a reação fenólica ocorreu em uma ampla gama de pH (1-14). Ele constatou que a reação também ocorre com outros reagentes além de derivados de fenol, como compostos flavanóides, incluindo nitrato de prata e amônia, soluções de cloreto férrico, acetato de chumbo básico, ácido sulfúrico e hidróxido de sódio alcoólico. Ele apontou, no entanto, que as diferenças de intensidade de coloração são muito menores que as que ocorrem com fenol. Seu trabalho confirmou que o local de reação foi o revestimento da semente, isto é, o pericarpo onde as células morreram na semente madura. Dentro das enzimaticamente ativas células de aleurona, a descoloração não ocorreu. Exames microscópicos revelaram que a estrutura celular seca irá descolorir enquanto a parede celular irá fazê-lo apenas em pequena extensão durante a reação. Ele então concluiu que a reação do trigo ao fenol é uma reação flavonóide, "uma vez que os flavonóides estão dissolvidos nas células vivas e nos líquidos celulares e, pelo menos parcialmente, estão prontos para serem absorvidos pela parede celular".

Elekes (1980) notou que o pericarpo e o endocarpo responderam diferentemente ao teste de fenol, dependendo das variedades de trigo. O endocarpo desenvolveu uma cor castanha média a escura em cada variedade positiva testada para fenol. Com o epicarpo foi o oposto já que a descoloração não ocorreu em diversas cultivares.

Conforme Agrawal (1994) o fenol não reage na semente como solução, pois são os vapores da solução que produzem reação de cor. Assim sendo, a mesma quantidade de solução de fenol e tamanhos uniformes de placas de Petri deve ser usada para a realização do teste. Para a realização deste teste, as sementes são embebidas em água por 16 horas a 20°C. As sementes embebidas são então colocadas em placa de Petri revestida com papel filtro de papel solúvel em solução de fenol a 1%: e a temperatura deve ser mantida a $30 \pm 1^\circ\text{C}$. A reação é notada após 4 horas. A intensidade das palhetas de cor preto, marrom escuro, marrom e marrom claro. Com base nas cores desenvolvidas no tegumento, as variedades podem ser agrupadas.

De acordo com Wrigley et al. (2006), o teste de fenol é quimicamente explicado como envolvendo oxidação enzimática, incluindo difenóis e finalizando com melaninas. O sistema enzimático envolvido tem sido denominado monofenoloxidase ou tirosinase, polifenol oxidase ou ainda complexo fenolase.

Claramente, a bioquímica da reação do fenol não é tão simples como às vezes se supõe. Por exemplo: é preciso ter cautela na interpretação dos resultados da oxidação de aminoácidos tais como tirosina e fenilalanina em melanina quanto à reação de coloração por fenol. Até que as etapas envolvidas sejam elucidadas, o termo complexo fenolase deve ser usado, e nomes específicos como a tirosinase devem ser evitados como sinônimos para a reação fenol (WRIGLEY et al., 2006).

Embora, os trabalhos e experimentos descritos acima mostrem ao mesmo tempo resultados contraditórios e óbvios, mais estudos são necessários para determinar claramente o mecanismo da reação de coloração com fenol.

2.7 - Estabilidade do teste

Kruger (1976) relatou que a polifenol oxidase foi formada no início do desenvolvimento da semente e diminuiu com a maturação desta. Uma grande parte da polifenol oxidase no grão de trigo imaturo estava presente no endosperma.

Clancy, Ciha e Maguire (1982) realizaram um experimento para determinar em que estágio de desenvolvimento das sementes o teste de coloração pelo fenol pode ser usado para identificação de cultivares. Diversas variedades foram escolhidas para seu estudo e as colheitas foram feitas em intervalos de 3 a 4 dias, de 7 a 10 dias após a antese até a maturidade completa da semente. Eles concluíram que o teste de fenol poderia ser usado para fins de identificação quando a semente atingiu o estágio de massa dura e o teor de clorofila declinou. Quando o teor de clorofila no trigo era alto, muito pouca mancha ou coloração na semente de trigo era produzida pelo fenol. Os autores entenderam que a clorofila na semente possivelmente estivesse mascarando a coloração marrom característica produzida pela reação do fenol.

Friedberg (1933), Csala (1972), Wrigley e Shepherd (1973), Simon e Viron (1975) e Banerjee e Chandra (1977) relataram que a reação ao fenol não é afetada pelas práticas culturais durante o crescimento da cultura.

Csala (1972) e Elekes (1980) demonstraram que a reação do fenol ocorre em uma ampla faixa de pH (1-14). Na faixa de pH de 3 a 9, a coloração foi uniforme, enquanto nos valores de pH 1 e 11, a coloração ocorreu de maneira irregular e manchada.

Csala (1972), Banerjee e Chandra (1977) e Payne e Koszykowski (1982) demonstraram que o poder do teste de fenol para distinguir as cultivares não foi melhorado usando concentrações de fenol diferentes de 1%. Concentrações variando de 0,25% a 10% foram avaliadas. Csala e Payne e Koszykowski relataram que sementes tratadas com concentrações de fenol menores que 1,0%, coloriram mais do que aquelas tratadas com concentrações de 1,0 e superiores. Csala relatou que 5 a 10% de soluções resultaram em coloração variegada.

Os efeitos da temperatura no teste de fenol foram estudados por Csala (1972) e Payne e Koszykowski (1982). Csala relatou que em temperaturas próximas a 0°C, a coloração era lenta (um dia e meio); a 20-22°C e a 80°C, a coloração ocorria em 3 horas. A 30-40°C, a reação de coloração foi completada em noventa minutos. Payne e Koszykowski (1982) estudaram o efeito da temperatura nos períodos de absorção e de teste. Eles relataram que sementes de cultivares que normalmente coloriram levemente deram resultados uniformes, independente da temperatura. No entanto, sementes de cultivares que normalmente colorem matizes mais escuras ficaram mais intensas após o teste de 4 horas quando embebidas e verificadas a 30°C. Estas sementes tingiram cores mais claras quando embebidas e testadas a 5°C.

O tempo de absorção das sementes (Payne e Koszykowski, 1982) não parece ser crítico, mas deve ser mantido constante para todas as amostras e o tempo de coloração adequadamente ajustado. A posição das sementes, a origem e tipo de fenol utilizados tiveram pouca ou nenhuma influência no procedimento de teste.

Dhesi e Desormaux (1972), McKee (1973) e Payne e Koszykowski (1982) relatou que as dificuldades foram experimentadas na interpretação da reação de cor fenol ao testar sementes tratadas. Tem sido sugerido que as sementes tratadas com fungicidas devem ser enxaguadas em álcool metílico (metanol) para remover o fungicida antes da imersão. Uma exceção é a semente tratada com Vitavax (Payne e Koszykowski), pois mesmo depois de enxaguar

em metanol, as sementes tratadas demoraram consideravelmente mais tempo a colorir do que as sementes não tratadas da mesma variedade.

Ao avaliar os resultados do teste de fenol, a variação na coloração do fenol entre os lotes de sementes da mesma variedade deve ser levada em consideração. Simon e Viron (1975) relataram que o padrão de cor não era estritamente homogêneo dentro de algumas variedades. Assim, eles sugeriram considerar duas variedades como diferentes apenas se eles variavam em pelo menos um grupo.

Payne e Koszykowski (1982) apontaram a variação nos padrões de cores entre lotes de sementes da mesma variedade. Eles sugeriram que as sementes fossem classificadas como trigo duro, branco ou vermelho antes de realizar o teste de fenol e as variedades em cada classe de trigo deveriam ser registradas como coloração clara ou escura. Isso reduziria bastante a chance de interpretar erroneamente variações entre lotes de sementes da mesma cultivar.

Todos os autores concordam que o fenol é um produto químico desagradável para se trabalhar. Além disso, Wrigley e McCausland (1975) frisaram a natureza tóxica do fenol. Soluções sólidas ou concentradas de fenol são corrosivas e queimam a pele; assim, eles devem ser manuseados com cuidado.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 80 cultivares de trigo, 23 cultivares de triticale e 11 cultivares de centeio pelo teste de fenol.

As sementes foram disponibilizadas a partir coleta de sementes básicas, sendo que as variedades e suas respectivas genealogias listadas nas Tabelas 1, 2 e 3, com base em suas relações genéticas.

Tabela 1. Genealogia das 80 cultivares de trigo utilizadas no estudo.

Cultivar	Obtendor	Genealogia
Abalone	OR Sementes	ORL 93299/3/ORL92 171//Embrapa 16 /2*OR1/4/RUBI
Ametista	OR Sementes	PF 950351/Abalone//Ônix
BR 23	Embrapa	CC/ALD "S"/3/IAS 54-20 /Cotiporã//CNT8
BRS 177	Embrapa	PF 83899/PF 813//F27141
BRS 179	Embrapa	BR 35/PF 8596/3/PF 772003*2/PF 813//PF 83899
BRS 208	Embrapa	CPAC89118/3/BR23//CEP19/PF85490
BRS 276	Embrapa	Embrapa 27*3/Klein H3247 a 33400//PF93218
BRS 277	Embrapa	OR 1/COKER 97.33
BRS 296	Embrapa	PF 93232/COOK*4/VPM1
BRS 327	Embrapa	CEP 24/BRS 194
BRS 328	Embrapa	Klein H 3394 s 3110/PF 990744
BRS 331	Embrapa	PF 990606/WT 98109
BRS 374	Embrapa	PF 88618/Koker80.33//Frontana/Karl
BRS Buriti	Embrapa	Embrapa 27/Klein Orion
BRS Camboatá	Embrapa	PF 93232 SEL 14
BRS Guabiju	Embrapa	PF 86743/BR 23
BRS Guamirim	Embrapa	Embrapa 27/BUCK NANDU//PF 93159
BRS Louro	Embrapa	PF 869114/BR23
BRS Marcante	Embrapa	PF 980533/PF 970227//Guamirim
BRS Parrudo	Embrapa	WT 98109/TB0001
BRS Reponte	Embrapa	PF 980229/3/PF 93232//PF 940374
BRS Tarumã	Embrapa	CENTURY/BR 35
BRS Timbaúva	Embrapa	BR32/PF 869120
BRS Umbu	Embrapa	CENTURY/BR 35
Campeiro	Biotrigo Genética OR Sementes	ORL 97217//BRS 177/Avante
CD 105	Coodetec	PFAU "S"/2*OCEPAR 14//IAPAR 41
CD 113	Coodetec	Embrapa 27/OC946
CD 114	Coodetec	PF 89232/OC 938
CD 115	Coodetec	OC 926/OC 935
CD 119	Coodetec	BRS 49/CDI 0303
CD 120	Coodetec	RUBI/CD 105
CD 121	Coodetec	ORL 95688 / CD 116
CD 122	Coodetec	IPR 85 / WT 96168
CD 123	Coodetec	BRS 177/CD 108
CD 124	Coodetec	ORL 95282/CD 2019
CD 1440	Coodetec	Ônix/CDFAPA 2001129
CD 151	Coodetec	BRS 120/ORL 95282

Cultivar	Obtento	Genealogia
CD 154	Coodetec	CD 104/CDI 200104
CD 1550	Coodetec	Ônix /CDFAPA 2001129
Celebra	Biotrigo Genética	Marfim/Quartzo//Marfim
Estrela Átria	Biotrigo Genética	Ônix /Fundacep 30//VAQ./3//VAQ.
FPS Nitron	Fundação Pró Semente	ORL 94300/ÔNIX
Fundacep 300	Bayer	BR 32/CEP 21//CIANO 79
Fundacep 51	Bayer	CEP 88132/PG 876//BR 34/CRDN
Fundacep 52	Bayer	CEP 88132/PG 876//BR 34/CRDN
Fundacep Bravo	Bayer	Rubi/Fundacep 37
Fundacep Campo Real	Bayer	CEP 889171/PF 869114//OR 1 BR 35/CEP 9291/4/BR 32/3/CNO 79/PF 70354/MUS "S"
Fundacep Cristalino	Bayer	BRS 119/CEP 97184
Fundacep Horizonte	Bayer	CEP 88132/PG 876//BR 34/CRDN
Fundacep Nova Era	Bayer	Embrapa 27/CEP 24/3/BUC"S"/FCT"S"//PF 85229
Fundacep Raízes	Bayer	Campo Real/Vanguarda // Ônix
Jadeíte 11	OR Sementes	-
JF 90	JAF	-
LG Oro	Limagrain Brasil	Fundacep 30/Fundacep Cristalino
LG Prisma	Limagrain Brasil	BRS Timbaúva/Abalone
Marfim	Biotrigo Genética	ORL 94101/2*ORL 95688
Ônix	OR Sementes	CEP-24/RUBI 'S'
ORS Vintecinco	OR Sementes	Vanguarda/TEMU 2624-00
Pampeano	OR Sementes	ORL 91274/ORL93807//ORL95711'S'
PF 080680	Embrapa	-
PF 080719	Embrapa	-
PF 080748	Embrapa	-
PF 090702	Embrapa	-
Quartzo	Biotrigo Genética	Ônix/Avante
Safira	OR Sementes	PF9099/OR-1//Granito
Supera	Biotrigo Genética	PF-9099/OR-1
TBIO Iguaçu	OR Sementes	Ônix/Avante//Safira
TBIO Itaipu	Biotrigo Genética	Quartzo/Safira
TBIO Mestre	Biotrigo Genética	IBIO 0810/Cronox//ORL00255
TBIO Pioneiro 2010	Biotrigo Genética	Cronox/Vaqueano
TBIO Seleto	Biotrigo Genética	ORL 04300/ Ônix
TBIO Sintonia	Biotrigo Genética	Marfim/Quartzo//Marfim
TBIO Sinuelo	Biotrigo Genética	Quartzo/3/Fundacep 30/Ônix //Pampeano/4/Quartzo
TBIO Tibagi	Biotrigo Genética	Supera/Ônix
TEC 10	Bayer	CEP 99131/Fundacep 30//Abalone
TEC FRONTALE	Bayer	ORL 95688/Embrapa 16
TEC 0506	Bayer	BRS 177/CEP 9612//Ônix
TEC VELOCE	Bayer	ORL 91256/ Fundacep 29//BRS 177
TEC 6219	Bayer	Fundacep Cristalino/Pampeano
Topazio	OR Sementes	Pampeano 'S'/Abalone

Tabela 2. Genealogia das 11 cultivares de centeio utilizadas no estudo.

Cultivar	Obtentor	Genealogia
BR 1	Embrapa	Seleção de plantas em pop.coloniais
BRS Progresso	Embrapa	-
BRS Serrano	Embrapa	Populações de Centeio "Garcia"x "Bagé"
IPR 89	lapar	-
Cultivar Alemão	-	-
Cultivar Bagé	-	-
Cultivar Branco	-	-
Cultivar Garcia	-	-
Linhagem 298001	Embrapa	-
Linhagem 298002	Embrapa	-
Linhagem 298004	Embrapa	-

Tabela 3. Genealogia das 23 cultivares de triticales utilizadas no estudo.

Cultivar	Obtentor	Genealogia
BR1	Embrapa	M2A/CML
BR 4	Embrapa	BEAGLE/CINAMON//MUSKOX
BRS 148	Embrapa	YOGUI/TATU
BRS 203	Embrapa	LT-1/RHINO
BRS Harmonia	Embrapa	DAHBI_6/3/ARDI_1/TOPO1419//ERIZO_9/4/SONNI_3.
BRS Minotauro	Embrapa	OCTO 92-3/Triticale BR 4
BRS Netuno	Embrapa	POLLMER//2*ERIZO/BULL 1
BRS Saturno	Embrapa	PFT 512/CEP 28-Guará
CEP 23 Tatu	CCGL Tec	BGL/3/MTZTCL/Trigo//BGL/4/Nutria
CEP 28 Guará	CCGL Tec	Daman (Tatu4/ARD1)
Embrapa 18	Embrapa	Tapir/Yogui//2*MUS
Embrapa 53	Embrapa	LT 1117.82/CIVET//TATU
IAC 2 Tarasca	IAC	TEJON/BGL
IAC 5 Canindé	IAC	LT 978.82/ASAD//TARASCA
lapar 23 Arapoti	lapar	CIN/CNO//BGL/3/MERINO
IPR 111	lapar	ANOAS 5/STIER 13
IPR Aimoré	lapar	804/BAT/3/MUSX/LYNX//STIER_12-3/4/VARSA_3-5/ FAHAD_8-1*2//HARE_263/CIVET
Linhagem PFT 0704	Embrapa	-
Linhagem PFT 0910	Embrapa	-
Linhagem PFT 1210	Embrapa	-
Linhagem PFT 1292	Embrapa	-
Linhagem PFT 1311	Embrapa	-
Linhagem PFT 1405	Embrapa	-

3.1 - Metodologia utilizada para determinação da reação ao fenol para cultivares de trigo:

Considerando que atualmente no Brasil não é exigido o teste de fenol para caracterização das cultivares de trigo perante o SNPC, foi utilizada a diretriz TG/3/12 da Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales (UPOV), bem como a metodologia descrita no compêndio das Regras para Análise de Sementes – RAS para *Triticum aestivum* L.

As Regras de Análise de Sementes (RAS) tem a finalidade de disponibilizar métodos para análise de sementes, sendo que estas são atualizadas de acordo com as regras internacionais prescritas pela International Seed Testing Association – ISTA e incorpora a experiência e os avanços nacionais em análise de sementes (BRASIL, 2009).

Conforme o RAS deve ser feitas repetições de 100 sementes as quais são umedecidas em água destilada durante a noite, secas e colocadas em placas de Petri com papel-filtro, adicionando-se sobre elas algumas gotas da solução a 1% de fenol. A observação é feita uma hora depois. As sementes são classificadas pela intensidade da coloração, que varia do castanho pálido ao muito escuro de acordo com cada cultivar. Para as características químicas, as sementes devem ser tratadas com reagentes adequados e anotadas a reação de cada semente (BRASIL, 2009).

3.2 - Metodologia utilizada para determinação da reação ao fenol para cultivares de triticale e centeio:

Foi utilizado os procedimentos descritos nas “Instruções para execução dos ensaios de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade de cultivares de triticale (*x Triticosecale*)”, bem como as “Instruções para execução dos ensaios de Distinguilidade, Homogeneidade e estabilidade de cultivares da espécie centeio (*Secale cereale* L.)”, descrita no Formulário 3 (Espécies em regime de proteção: instruções de DHE e tabela de Descritores Mínimos) e disponível em www.agricultura.gov.br, sendo utilizada para triticale e centeio (BRASIL, 2018).

O método apregoado para determinar a reação ao fenol em laboratório, conforme as Instruções, para triticale e centeio, é o que segue:

Número de grãos por ensaio – 100 (os grãos não poderão ter sido submetidos a nenhum tratamento químico); estes deverão ficar de molho em água corrente de 16 a 20 horas; após esse período, escorrer a água superficial, colocar os grãos com a “crease” para baixo em uma placa de Petri de aproximadamente nove cm de diâmetro e coberta com a tampa; deve ser utilizada uma solução de fenol a 1% recém-preparada; onde deve ser colocados 2 mL na placa de Petri sobre papel filtro em temperatura ambiente; deve-se utilizar a luz diurna, sem exposição à luz solar direta, devendo esta ser evitada.

A temperatura deve ser de 18 a 20°C. A avaliação deve ser feita 4 horas após a adição da solução, classificando a reação das sementes ao fenol como sendo: (1) ausente/nenhuma ou muito clara, (3) clara, (5) média, (7) escura e (9) muito escura.

3.3 - Descrição pormenorizado do teste de fenol

Utilizou-se nos trabalhos somente sementes não tratadas de variedades de trigo, triticale e centeio. Foram feitas três amostras de cada genótipo, com 100 sementes cada.

O teste de fenol foi realizado conforme a técnica estabelecida pelo MAPA, para os descritores de triticale e centeio. Para as cultivares de trigo seguiu-se o procedimento apregoado por Regras de Análise de Sementes (RAS), com modificações pontuais.

As amostras de sementes foram preparadas (Figura 2) e ao final do dia embebidas e deixadas em água corrente por 16 horas durante a noite (Figura 3) a fim de ativar o sistema enzimático. Após, o excesso de água foi removido da superfície das sementes por meio de papel absorvente.

Foram então distribuídas as cem sementes de cada amostra em placa de Petri individuais, com papel-filtro, com o cuidado de se ter a crease (vinco ou fenda central que se estende de uma extremidade a outra do grão) colocada para baixo (Figura 4).

As placas de Petri com as sementes foram transferidas para uma capela laboratorial com exaustão de gases (Figura 5) para manipulação das amostras.

A solução de fenol foi preparada misturando cinco gramas de cristais solúveis de fenol (C_6H_5OH) em 500 ml de água destilada.

Foi adicionado 2 mL de solução de fenol a 1% preparado no mesmo dia (Figura 6) em cada placa de amostra e tampada. O sistema de exaustão da capela permanecia acionado durante os trabalhos, visto que a solução de fenol não deve ser tocada ou seus vapores inalados porque o produto é considerado venenoso.

Após quatro horas de incubação (Figura 7), sempre com a temperatura ambiente acima de 18°C, registrou-se o número de sementes em cada categoria de cor, presente em cada amostra na placa de Petri (Figura 8 e 9).

A avaliação de coloração pelo teste de fenol foi feita sob a luz do dia, longe do sol direto. A escala de coloração a reação ao fenol usada foi: (1) ausente/nenhuma ou muito clara, (3) clara, (5) média, (7) escura e (9) muito escura.



Figura 2. Organização das amostras para a realização do teste de fenol.



Figura 3. Amostras em água corrente por 16 a 20 horas.



Figura 4. Preparo das amostras com a crease posicionadas para baixo nas placas de Petri com papel filtro.



Figura 5. Capela com exaustão de gases para manuseio das amostras.



Figura 6. Colocação de fenol a 1% em amostra de centeio.

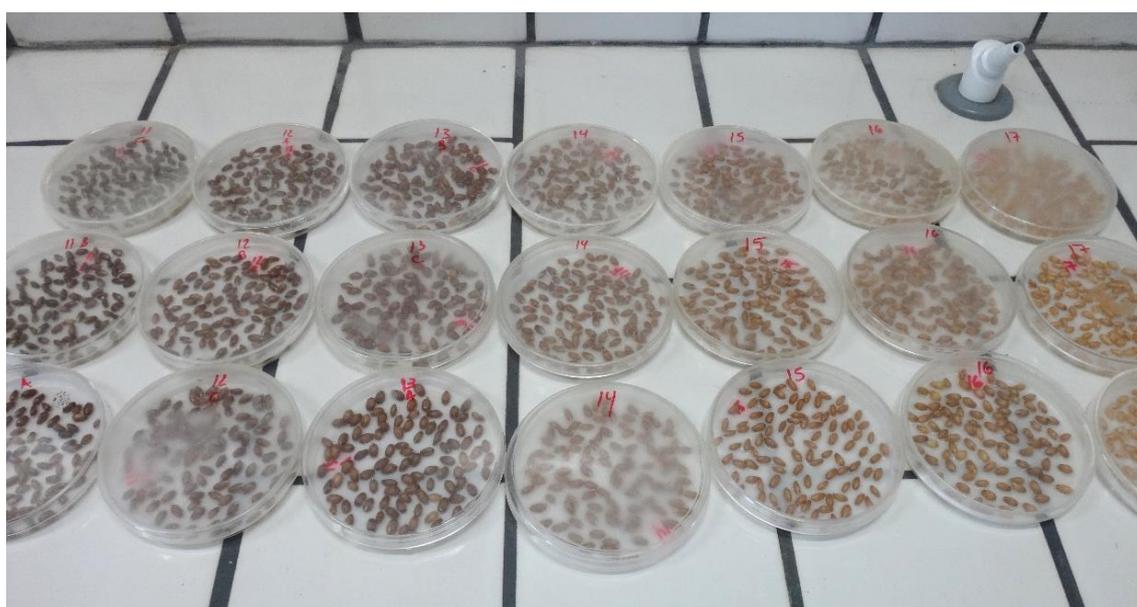


Figura 7. Amostras sob incubação de quatro horas, em temperatura ambiente.



Figura 8. Amostra pronta para leitura da reação ao fenol, com escala comparativa no canto superior.

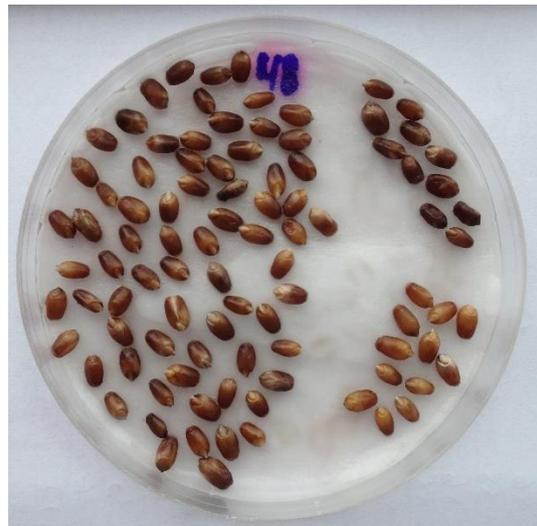


Figura 9. Amostra pronta para avaliação (à esquerda) e após com as sementes separadas conforme a intensidade da coloração ao fenol (à direita).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de coloração por fenol, ou simplesmente teste de fenol, foi utilizado para classificar cultivares de trigo, triticale e centeio quanto à reação ao produto. Conforme especificado nas Instruções para execução dos ensaios de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade de cultivares de triticale e centeio (disponível em www.agricultura.gov.br) foram cinco classes resultantes de coloração: (1) ausente/nenhuma ou muito clara, (3) clara, (5) média, (7) escura e (9) muito escura. Para trigo também foi utilizada a mesma ordenação.

Foram analisadas 80 cultivares ou linhagens de trigo, 23 de triticale e 11 de centeio pelo teste de fenol, provenientes de lotes de sementes não tratadas.

Para cada genótipo foram conduzidas três amostras laboratoriais com fenol, tendo cem sementes em cada análise. Os resultados obtidos foram expressos por média aritmética e por média ponderada, pela aplicação das fórmulas:

$$\text{Média aritmética: } \bar{X} = \frac{\sum xi}{n}$$

$$\text{Média ponderada: } \bar{X} = \frac{\sum xifi}{\sum fi}$$

4.1 - Reação ao teste de fenol para cultivares de trigo

Os resultados obtidos para 80 variedades e linhagens de trigo são apresentados na Tabela 4, onde se observa os dados obtidos em três amostras, classificadas em cinco grupos de coloração com fenol, bem como sua média ponderada.

Tabela 4. Cultivares e linhagens de trigo submetidas ao teste de coloração com fenol.

Cultivar ou Linhagem	Amostra	Escala de coloração com fenol					Média ponderada
		1	3	5	7	9	
Abalone	1	0	0	2	98	0	6,96
	2	0	0	0	100	0	7,00
	3	0	0	0	100	0	7,00
	Média	0	0	1	99	0	6,99
Ametista	1	0	1	2	97	0	6,92
	2	0	0	2	98	0	6,96
	3	0	0	6	94	0	6,88
	Média	0	0	3	96	0	6,92
BR 23	1	0	0	100	0	0	5,00
	2	0	0	100	0	0	5,00
	3	0	0	100	0	0	5,00
	Média	0	0	100	0	0	5,00
BRS 177	1	0	1	99	0	0	4,98
	2	0	0	100	0	0	5,00
	3	0	0	100	0	0	5,00
	Média	0	0	100	0	0	4,99
BRS 179	1	0	0	100	0	0	5,00
	2	0	6	94	0	0	4,88
	3	0	7	93	0	0	4,86
	Média	0	4	96	0	0	4,91
BRS 208	1	0	44	53	3	0	4,18
	2	0	62	36	2	0	3,80
	3	0	53	45	2	0	3,98
	Média	0	53	45	2	0	3,99
BRS 276	1	0	92	8	0	0	3,16
	2	0	94	6	0	0	3,12
	3	0	95	5	0	0	3,10
	Média	0	94	6	0	0	3,13
BRS 277	1	0	2	96	2	0	5,00
	2	0	2	92	6	0	5,08
	3	0	1	97	2	0	5,02
	Média	0	2	95	3	0	5,03
BRS 296	1	0	100	0	0	0	3,00
	2	0	100	0	0	0	3,00
	3	0	98	2	0	0	3,04
	Média	0	99	1	0	0	3,01
BRS 327	1	0	0	100	0	0	5,00
	2	0	3	96	1	0	4,96
	3	0	4	96	0	0	4,92
	Média	0	2	97	0	0	4,96
BRS 328	1	0	1	92	7	0	5,12
	2	0	2	90	8	0	5,12
	3	0	3	89	8	0	5,10
	Média	0	2	90	8	0	5,11
BRS 331	1	0	5	85	10	0	5,10
	2	0	12	86	2	0	4,80
	3	0	2	88	10	0	5,16
	Média	0	6	86	7	0	5,02
BRS 374	1	0	2	98	0	0	4,96
	2	0	2	97	1	0	4,98
	3	0	5	95	0	0	4,90
	Média	0	3	97	0	0	4,95

BRS Buriti	1	0	8	83	9	0	5,02
	2	0	1	85	14	0	5,26
	3	0	5	80	15	0	5,20
	Média	0	5	83	13	0	5,16
BRS Camboatá	1	0	10	85	5	0	4,90
	2	0	5	90	5	0	5,00
	3	0	2	98	0	0	4,96
	Média	0	6	91	3	0	4,95
BRS Guabiju	1	0	22	75	3	0	4,62
	2	0	18	82	0	0	4,64
	3	0	12	88	0	0	4,76
	Média	0	17	82	1	0	4,67
BRS Guamirim	1	0	5	91	4	0	4,98
	2	0	8	87	5	0	4,94
	3	0	12	83	5	0	4,86
	Média	0	8	87	5	0	4,93
BRS Louro	1	0	25	73	2	0	4,54
	2	0	33	65	2	0	4,38
	3	0	28	70	2	0	4,48
	Média	0	29	69	2	0	4,47
BRS Marcante	1	5	61	32	2	0	3,62
	2	10	51	39	0	0	3,58
	3	8	43	48	1	0	3,84
	Média	8	52	40	1	0	3,68
BRS Parrudo	1	3	13	81	3	0	4,68
	2	1	9	87	3	0	4,84
	3	2	12	81	5	0	4,78
	Média	2	11	83	4	0	4,77
BRS Reponte	1	0	0	0	49	51	8,02
	2	0	0	0	48	52	8,04
	3	0	0	0	50	50	8,00
	Média	0	0	0	49	51	8,02
BRS Tarumã	1	0	0	70	30	0	5,60
	2	0	1	79	20	0	5,38
	3	0	0	72	28	0	5,56
	Média	0	0	74	26	0	5,51
BRS Timbaúva	1	0	0	82	18	0	5,36
	2	0	2	73	25	0	5,46
	3	0	0	70	30	0	5,60
	Média	0	1	75	24	0	5,47
BRS Umbu	1	0	0	13	87	0	6,74
	2	0	0	15	85	0	6,70
	3	0	0	12	88	0	6,76
	Média	0	0	13	87	0	6,73
Campeiro	1	0	0	86	14	0	5,28
	2	0	0	92	8	0	5,16
	3	0	0	93	7	0	5,14
	Média	0	0	90	10	0	5,19
CD 105	1	0	3	95	2	0	4,98
	2	0	1	96	3	0	5,04
	3	0	2	95	3	0	5,02
	Média	0	2	95	3	0	5,01
CD 113	1	0	3	90	7	0	5,08
	2	0	0	89	11	0	5,22
	3	0	2	88	10	0	5,16
	Média	0	2	89	9	0	5,15

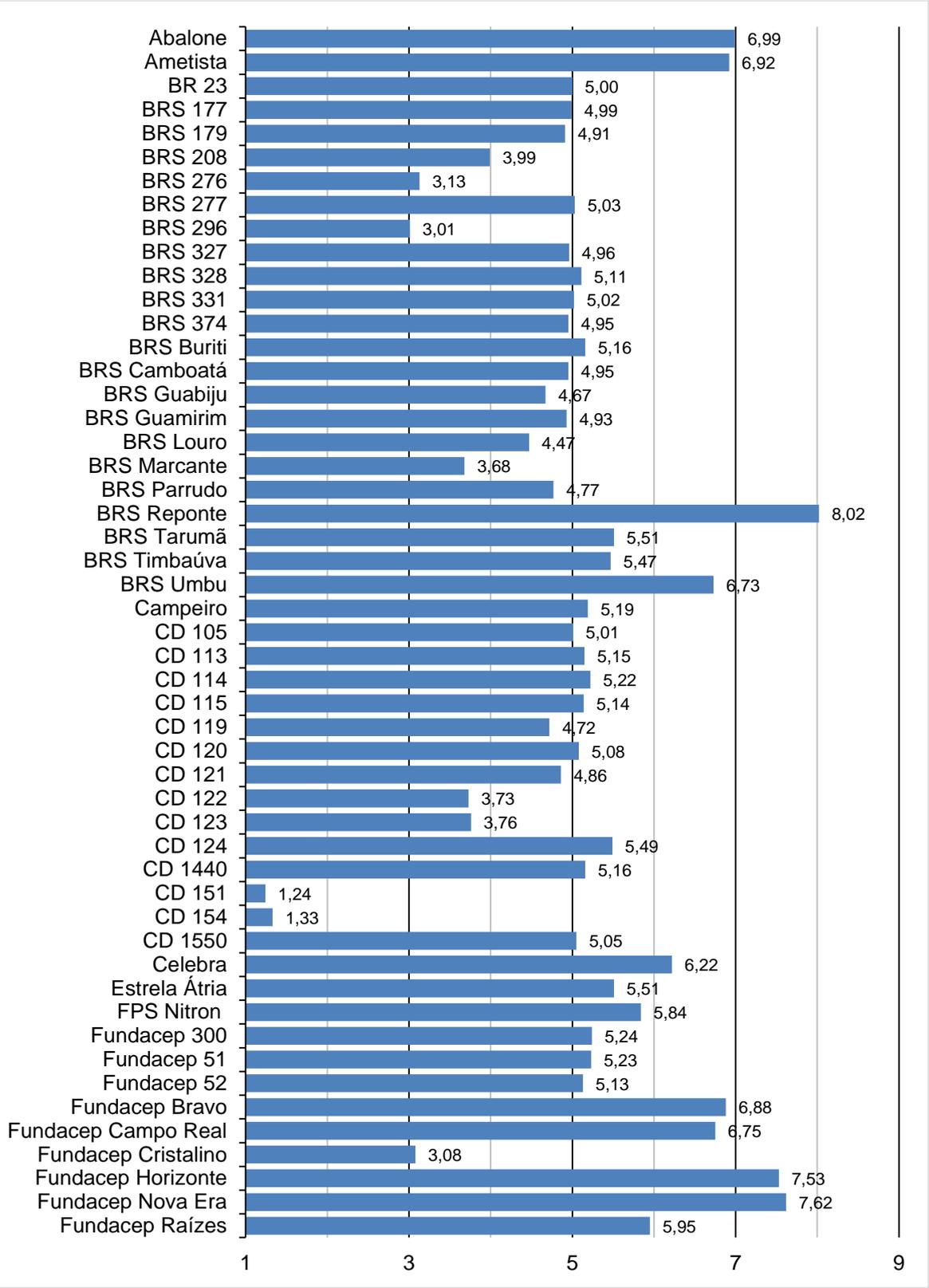
CD 114	1	0	0	83	17	0	5,34
	2	0	0	91	9	0	5,18
	3	0	1	91	8	0	5,14
	Média	0	0	88	11	0	5,22
CD 115	1	0	0	88	10	2	5,28
	2	0	3	91	6	0	5,06
	3	0	6	84	10	0	5,08
	Média	0	3	88	9	1	5,14
CD 119	1	0	20	74	6	0	4,72
	2	0	15	82	3	0	4,76
	3	0	18	80	2	0	4,68
	Média	0	18	79	4	0	4,72
CD 120	1	2	19	57	22	0	4,98
	2	2	13	68	17	0	5,00
	3	1	8	68	23	0	5,26
	Média	2	13	64	21	0	5,08
CD 121	1	0	55	30	25	0	4,45
	2	0	29	44	27	0	4,96
	3	0	24	44	32	0	5,16
	Média	0	36	39	28	0	4,86
CD 122	1	0	66	34	0	0	3,68
	2	0	60	40	0	0	3,80
	3	0	65	35	0	0	3,70
	Média	0	64	36	0	0	3,73
CD 123	1	4	58	38	0	0	3,68
	2	2	52	43	3	0	3,94
	3	3	61	36	0	0	3,66
	Média	3	57	39	1	0	3,76
CD 124	1	0	0	79	21	0	5,42
	2	0	0	70	30	0	5,60
	3	0	0	77	23	0	5,46
	Média	0	0	75	25	0	5,49
CD 1440	1	0	0	94	6	0	5,12
	2	0	0	90	10	0	5,20
	3	0	0	92	8	0	5,16
	Média	0	0	92	8	0	5,16
CD 151	1	93	2	5	0	0	1,24
	2	91	5	4	0	0	1,26
	3	93	3	4	0	0	1,22
	Média	92	3	4	0	0	1,24
CD 154	1	81	17	2	0	0	1,42
	2	88	9	3	0	0	1,30
	3	90	7	3	0	0	1,26
	Média	86	11	3	0	0	1,33
CD 1550	1	0	0	96	4	0	5,08
	2	0	5	90	5	0	5,00
	3	0	4	88	8	0	5,08
	Média	0	3	91	6	0	5,05
Celebra	1	0	2	53	45	0	5,86
	2	0	0	27	67	6	6,58
	3	0	0	48	43	9	6,22
	Média	0	1	43	52	5	6,22
Estrela Átria	1	0	0	72	28	0	5,56
	2	0	0	75	25	0	5,50
	3	0	0	79	19	2	5,46

	Média	0	0	75	24	1	5,51
FPS Nitron	1	0	0	66	30	4	5,76
	2	0	0	59	33	8	5,98
	3	0	0	64	33	3	5,78
	Média	0	0	63	32	5	5,84
Fundacep 300	1	0	0	88	12	0	5,24
	2	1	0	84	15	0	5,26
	3	1	0	86	13	0	5,22
	Média	1	0	86	13	0	5,24
Fundacep 51	1	0	0	88	12	0	5,24
	2	0	0	86	14	0	5,28
	3	0	2	88	10	0	5,16
	Média	0	1	87	12	0	5,23
Fundacep 52	1	2	4	83	11	0	5,06
	2	0	6	77	17	0	5,22
	3	0	5	85	10	0	5,10
	Média	1	5	82	13	0	5,13
Fundacep Bravo	1	0	0	8	87	5	6,94
	2	1	0	13	77	9	6,86
	3	3	2	8	74	13	6,84
	Média	1	1	10	79	9	6,88
Fundacep Campo Real	1	1	0	12	83	4	6,78
	2	0	0	12	88	0	6,76
	3	0	0	15	85	0	6,70
	Média	0	0	13	85	1	6,75
Fundacep Cristalino	1	9	75	16	0	0	3,14
	2	11	72	17	0	0	3,12
	3	11	79	10	0	0	2,98
	Média	10	75	14	0	0	3,08
Fundacep Horizonte	1	0	0	10	65	25	7,30
	2	0	0	9	56	35	7,52
	3	0	0	6	50	44	7,76
	Média	0	0	8	57	35	7,53
Fundacep Nova Era	1	0	0	5	64	31	7,52
	2	0	0	3	64	33	7,60
	3	0	0	3	57	40	7,74
	Média	0	0	4	62	35	7,62
Fundacep Raízes	1	0	2	62	17	19	6,06
	2	0	3	60	26	11	5,90
	3	0	0	71	14	15	5,88
	Média	0	2	64	19	15	5,95
Jadeíte 11	1	0	2	64	19	15	5,94
	2	0	0	75	25	0	5,50
	3	0	0	68	32	0	5,64
	Média	0	1	69	25	5	5,69
JF 90	1	0	90	10	0	0	3,20
	2	7	70	22	1	0	3,34
	3	4	79	14	3	0	3,32
	Média	4	80	15	1	0	3,29
LG Oro	1	0	15	79	6	0	4,82
	2	0	10	87	3	0	4,86
	3	0	12	81	7	0	4,90
	Média	0	12	82	5	0	4,86
LG Prisma	1	2	8	90	0	0	4,76
	2	1	5	93	1	0	4,88

	3	0	9	91	0	0	4,82
	Média	1	7	91	0	0	4,82
Marfim	1	0	0	9	63	28	7,38
	2	0	0	7	67	26	7,38
	3	0	0	8	58	34	7,52
	Média	0	0	8	63	29	7,43
Ônix	1	0	0	5	59	36	7,62
	2	0	0	9	50	41	7,64
	3	0	0	9	52	39	7,60
	Média	0	0	8	54	39	7,62
ORS Vintecinco	1	0	0	11	72	17	7,12
	2	0	0	9	76	15	7,12
	3	0	0	9	77	14	7,10
	Média	0	0	10	75	15	7,11
Pampeano	1	4	46	47	3	0	3,98
	2	6	52	42	0	0	3,72
	3	5	46	48	1	0	3,90
	Média	5	48	46	1	0	3,87
Linhagem PF080680	1	0	11	64	25	0	5,28
	2	3	19	54	24	0	4,98
	3	0	11	67	22	0	5,22
	Média	1	14	62	24	0	5,16
Linhagem PF 080719	1	0	0	8	67	25	7,34
	2	0	0	13	64	23	7,20
	3	0	0	11	67	22	7,22
	Média	0	0	11	66	23	7,25
Linhagem PF 080748	1	0	8	42	50	0	5,84
	2	0	4	56	40	0	5,72
	3	0	3	55	42	0	5,78
	Média	0	5	51	44	0	5,78
Linhagem PF 090702	1	0	0	38	62	0	6,24
	2	0	0	43	53	4	6,22
	3	0	0	45	52	3	6,16
	Média	0	0	42	56	2	6,21
Quartzo	1	0	47	46	7	0	4,20
	2	1	58	40	0	1	3,84
	3	0	54	46	0	0	3,92
	Média	0	53	44	2	0	3,99
Safira	1	0	0	90	10	0	5,20
	2	0	3	89	8	0	5,10
	3	0	0	95	5	0	5,10
	Média	0	1	91	8	0	5,13
Supera	1	0	0	2	50	48	7,92
	2	0	0	6	49	45	7,78
	3	0	0	2	41	57	8,10
	Média	0	0	3	47	50	7,93
TBIO Iguaçu	1	0	0	0	13	87	8,74
	2	0	0	0	12	88	8,76
	3	0	0	0	7	93	8,86
	Média	0	0	0	11	89	8,79
TBIO Itaipu	1	0	0	15	61	24	7,18
	2	0	0	15	62	23	7,16
	3	0	0	14	59	27	7,26
	Média	0	0	10	45	45	7,20
TBIO Mestre	1	0	0	0	12	88	8,76
	2	0	0	0	8	92	8,84

	3	0	0	0	15	85	8,70
	Média	0	0	0	12	88	8,77
TBIO Pioneiro 2010	1	0	0	12	60	28	7,32
	2	0	0	5	70	25	7,40
	3	0	0	14	60	26	7,24
	Média	0	0	10	63	26	7,32
TBIO Seletto	1	0	1	55	44	0	5,86
	2	0	1	45	54	0	6,06
	3	0	1	43	56	0	6,10
	Média	0	1	48	51	0	6,01
TBIO Sintonia	1	0	0	16	30	54	7,76
	2	0	0	21	30	49	7,56
	3	0	0	10	37	53	7,86
	Média	0	0	16	32	52	7,73
TBIO Sinuelo	1	0	0	21	47	32	7,22
	2	0	0	15	30	55	7,80
	3	0	0	14	37	49	7,70
	Média	0	0	17	38	45	7,57
TBIO Tibagi	1	1	18	67	14	0	4,88
	2	0	13	79	8	0	4,90
	3	0	9	78	13	0	5,08
	Média	0	13	75	12	0	4,95
TEC 10	1	0	0	0	64	36	7,72
	2	0	0	0	55	45	7,90
	3	0	0	0	45	55	8,10
	Média	0	0	0	55	45	7,91
TEC FRONTALE	1	0	0	10	52	38	7,56
	2	0	0	12	53	35	7,46
	3	0	0	10	50	40	7,60
	Média	0	0	11	52	38	7,54
TEC 0506	1	1	0	0	85	14	7,22
	2	0	0	0	88	12	7,24
	3	2	0	7	73	18	7,10
	Média	1	0	2	82	15	7,19
TEC VELOCE	1	0	3	15	51	31	7,20
	2	0	3	14	61	22	7,04
	3	0	2	12	60	26	7,20
	Média	0	3	14	57	26	7,15
TEC 6219	1	0	85	12	3	0	3,36
	2	0	80	17	3	0	3,46
	3	0	78	16	6	0	3,56
	Média	0	81	15	4	0	3,46
Topazio	1	0	0	12	51	37	7,50
	2	0	0	5	67	28	7,46
	3	0	0	8	58	34	7,52
	Média	0	0	8	59	33	7,49

A partir da caracterização das cultivares ou linhagens de trigo, pelo teste de coloração por fenol, com a realização de avaliação laboratorial de três amostras, permitiu obter valores médios ponderados das amostras e, que ao serem tabulados, resultou na formação da Figura 10.



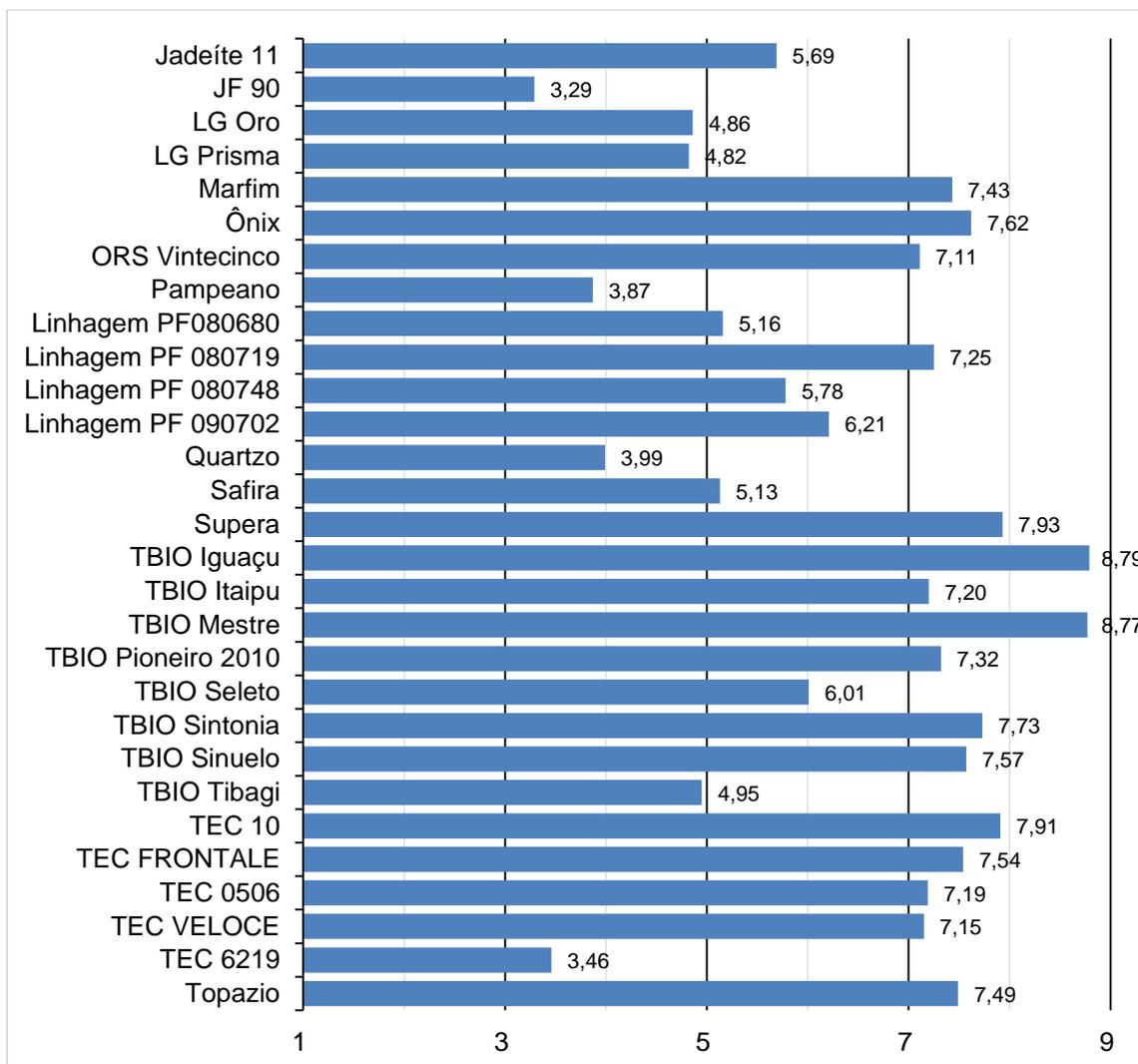


Figura 10 - Cultivares e linhagens de trigo submetidas ao teste de coloração com fenol, com a respectiva média ponderada obtida a partir de três repetições de cada cultivar ou linhagem. Escala de coloração por fenol: (1) ausente/nenhuma ou muito clara, (3) clara, (5) média, (7) escura e (9) muito escura.

Conforme o resultado obtido pelo exame laboratorial com os genótipos de trigo quanto ao teste de coloração por fenol foi estruturado a Tabela 5.

A tabela 5 foi organizada com a formação de uma escala de amplitude, dividindo a escala de valores (1 a 9) pelo número de códigos (5), obtendo o índice 1,8. O índice foi então aplicado a partir do valor 1 e somado, perfazendo a amplitude 1 a 2,8 para o código “ausentes ou muito clara”; adicionado o índice (1,8) ao valor final da amplitude anterior (2,8), obteve-se amplitude de 2,8 a 4,6 para o código “clara” e assim sucessivamente até completar a escala de amplitude.

Tabela 5 - Classificação das cultivares de trigo resultante da média aritmética das médias ponderadas das cultivares de trigo.

Escala de amplitude e classificação pelo teste de coloração por fenol				
(1,0 - 2,8) Ausente ou muito clara	(2,8 - 4,6) Clara	(4,6 - 6,4) Média	(6,4 - 8,2) Escura	(8,2 - 9,0) Muito escura
CD 151	BRS 208	BR 23	Abalone	TBIO Iguaçu
CD 154	BRS 276	BRS 177	Ametista	TBIO Mestre
	BRS 296	BRS 179	BRS Reponte	
	BRS Guabiju	BRS 277	BRS Umbu	
	BRS Louro	BRS 327	Fundacep Bravo	
	BRS Marcante	BRS 328	Fundacep Campo Real	
	CD 122	BRS 331	Fundacep Horizonte	
	CD 123	BRS 374	Fundacep Nova Era	
	Fundacep Cristalino	BRS Buriti	Marfim	
	JF 90	BRS Camboatá	Ônix	
	Pampeano	BRS Guamirim	ORS Vintecinco	
	Quartzo	BRS Parrudo	Linhagem PF 080719	
	TEC 6219	BRS Tarumã	Supera	
		BRS Timbaúva	TBIO Itaipu	
		Campeiro	TBIO Pioneiro 2010	
		CD 105	TBIO Sintonia	
		CD 113	TBIO Sinuelo	
		CD 114	TEC 10	
		CD 115	TEC FRONTALE	
		CD 119	TEC 0506	
		CD 120	TEC VELOCE	
		CD 121	Topazio	
		CD 124		
		CD 1440		
		CD 1550		
		Celebra		
		Estrela Átria		
		FPS Nitron		
		Fundacep 300		
		Fundacep 51		
		Fundacep 52		
		Fundacep Raízes		
		Jadeíte 11		
		LG Oro		
		LG Prisma		
		Linhagem PF080680		
		Linhagem PF 080748		
		Linhagem PF 090702		
		Safira		
		TBIO Seletto		
		TBIO Tibagi		

A análise dos resultados da Tabela 5 permite verificar que duas cultivares de trigo apresentaram ausência ou coloração muito clara (2,5%) no grão devido à reação ao fenol; 13 variedades com coloração clara (16%); 41 genótipos com cor média (51%); 22 cultivares com reação escura (28%) e duas variedades com coloração muito escura (2,5%) ao teste do fenol.

4.2 - Reação ao teste de fenol para cultivares de triticale

O resultado do teste de coloração com fenol para 23 variedades de triticale é apresentado na Tabela 6, onde se compila as informações provenientes de três amostras laboratoriais, estratificadas em cinco grupos de reação ao fenol, para cada cultivar ou linhagem de triticale.

Tabela 6. Cultivares e linhagens de triticale submetidas ao teste de coloração com fenol.

Cultivar ou linhagem	Amostra	Escala de coloração com fenol					Média ponderada
		1	3	5	7	9	
BR 1	1	0	0	8	68	24	7,32
	2	0	0	10	63	27	7,34
	3	0	0	7	71	24	7,33
	Média	0	0	8	67	25	7,33
BR 4	1	0	2	57	40	1	5,80
	2	0	0	50	46	4	6,08
	3	0	1	49	48	2	6,02
	Média	0	1	52	45	2	5,97
BRS 148	1	0	2	64	30	4	5,72
	2	0	1	79	20	0	5,38
	3	0	1	58	39	2	5,84
	Média	0	1	67	30	2	5,65
BRS 203	1	9	86	5	0	0	2,92
	2	2	84	14	0	0	3,24
	3	2	82	16	0	0	3,28
	Média	4	84	12	0	0	3,15
BRS Harmonia	1	0	40	52	8	0	4,36
	2	0	36	56	8	0	4,44
	3	0	38	58	4	0	4,32
	Média	0	38	55	7	0	4,37
BRS Minotauro	1	0	0	9	64	27	7,36
	2	0	0	10	67	23	7,26
	3	0	0	4	74	22	7,36
	Média	0	0	8	68	24	7,33
BRS Netuno	1	0	4	69	27	0	5,46
	2	0	3	67	30	0	5,54
	3	0	1	61	38	0	5,74
	Média	0	3	66	32	0	5,58
BRS Saturno	1	0	3	39	55	3	6,16
	2	0	2	42	48	8	6,24
	3	0	5	58	31	6	5,76
	Média	0	3	46	45	6	6,05
CEP 23 Tatu	1	0	16	22	54	8	6,08
	2	0	6	34	55	5	6,18
	3	0	7	25	62	6	6,34
	Média	0	10	27	57	6	6,20

CEP 28 Guará	1	0	3	15	69	13	6,84
	2	0	4	13	64	19	6,96
	3	0	7	13	50	30	7,06
	Média	0	5	14	61	21	6,95
Embrapa 18	1	0	0	4	61	35	7,62
	2	0	0	5	69	26	7,42
	3	0	0	1	82	17	7,32
	Média	0	0	3	71	26	7,45
Embrapa 53	1	0	0	75	25	0	5,50
	2	0	2	67	26	5	5,68
	3	0	1	74	21	4	5,56
	Média	0	1	72	24	3	5,58
IAC 2 Tarasca	1	0	14	61	15	0	5,02
	2	0	15	66	19	0	5,08
	3	0	14	74	12	0	4,96
	Média	0	14	67	15	0	5,02
IAC 5 Canindé	1	0	30	63	7	0	4,54
	2	0	15	72	13	0	4,96
	3	0	33	57	10	0	4,54
	Média	0	26	64	10	0	4,68
Iapar 23 Arapoti	1	0	5	70	15	10	5,60
	2	1	6	65	20	8	5,56
	3	3	5	61	16	15	5,70
	Média	1	5	65	17	11	5,62
Iapar IPR 111	1	4	63	28	5	0	3,68
	2	0	74	18	8	0	3,68
	3	0	69	22	9	0	3,80
	Média	1	69	23	7	0	3,72
Iapar IPR Aimoré	1	0	0	10	72	18	7,16
	2	0	0	9	72	19	7,20
	3	0	0	11	66	23	7,24
	Média	0	0	10	70	20	7,20
Linhagem PFT 0704	1	3	21	54	13	9	5,08
	2	1	12	53	15	19	5,78
	3	1	14	48	15	22	5,86
	Média	2	16	52	14	17	5,57
Linhagem PFT 0910	1	0	0	2	63	35	7,66
	2	0	0	8	61	31	7,46
	3	0	0	7	66	27	7,40
	Média	0	0	6	63	31	7,51
Linhagem PFT 1210	1	0	0	17	63	20	7,06
	2	0	0	20	67	13	6,86
	3	0	0	17	61	12	6,89
	Média	0	0	18	64	15	6,94
Linhagem PFT 1292	1	9	67	14	8	2	3,54
	2	1	65	21	9	4	4,00
	3	0	66	17	17	0	4,02
	Média	3	66	17	11	2	3,85

Linhagem PFT 1311	1	0	42	15	19	0	4,39
	2	2	64	23	11	0	3,86
	3	2	66	19	13	0	3,86
	Média	1	57	19	14	0	4,01
Linhagem PFT 1405	1	0	49	43	8	0	4,18
	2	1	48	44	7	0	4,14
	3	0	47	44	9	0	4,24
	Média	0	48	44	8	0	4,19

Os resultados da aplicação do teste de coloração por fenol em vinte e três cultivares de triticales, expressos pelo valor médio das médias ponderadas de três repetições de exames laboratoriais para cada variedade ou linhagem do cereal é apresentado na Figura 11.

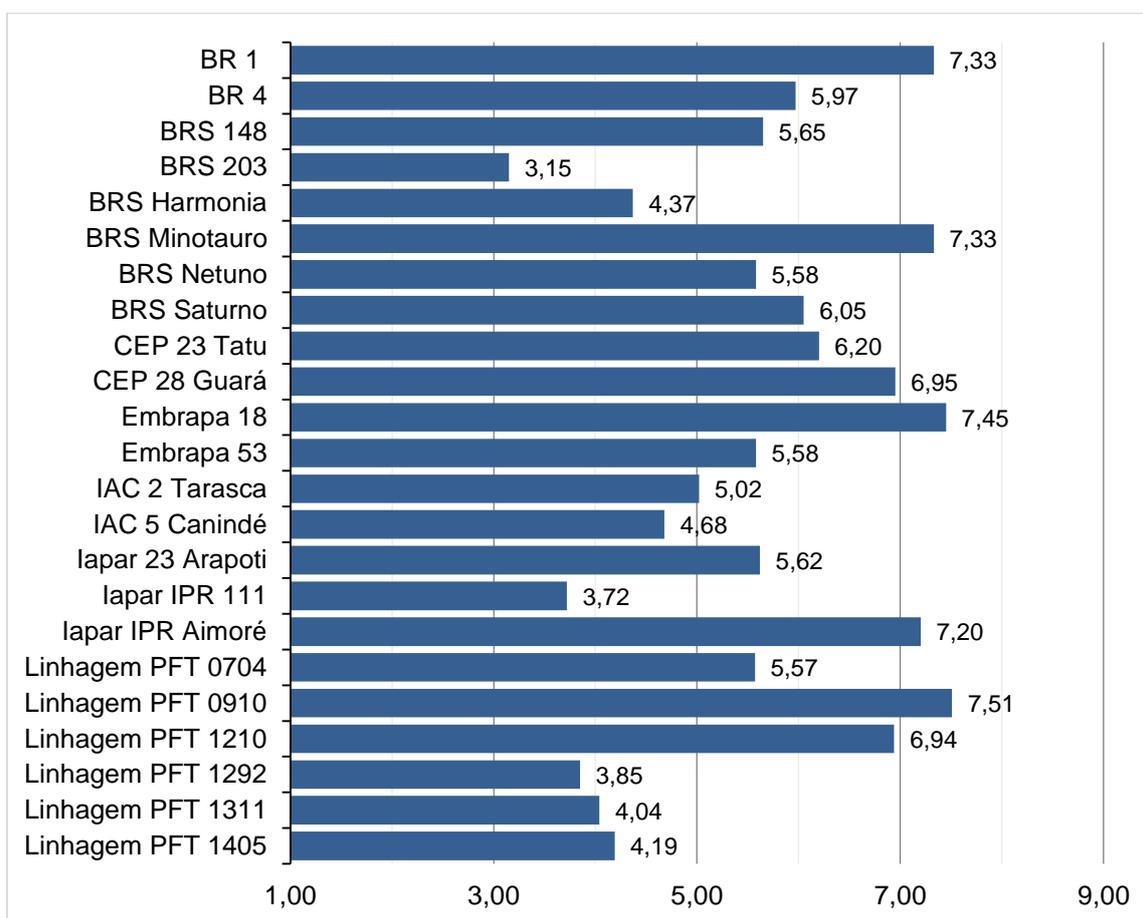


Figura 11 - Cultivares e linhagens de triticales submetidas ao teste de coloração com fenol, com a respectiva média ponderada obtida a partir de três repetições de cada cultivar ou linhagem. Escala de coloração por fenol: (1) ausente/nenhuma ou muito clara, (3) clara, (5) média, (7) escura e (9) muito escura.

A partir da tabulação dos dados da reação fenólica das cultivares de triticales, foi elaborada e organizada uma escala de amplitude de coloração pelo teste de fenol nas variedades e linhagens, conforme a Tabela 7. A tabela foi organizada com a formação de uma escala de amplitude, dividindo a escala de valores (1 a 9) pelo número de códigos (5), obtendo o índice 1,8. O índice foi então aplicado a partir do valor 1 e somado, perfazendo a amplitude 1 a 2,8 para o código “ausentes ou muito clara”; adicionado o índice (1,8) ao valor final da amplitude anterior (2,8), obteve-se amplitude de 2,8 a 4,6 para o código “clara” e assim sucessivamente até completar a escala de amplitude.

Tabela 7 - Classificação das cultivares de triticales resultante da média aritmética das médias ponderadas das cultivares de triticales.

Escala de amplitude e classificação pelo teste de coloração por fenol				
(1,0 - 2,8) Ausente ou muito clara	(2,8 - 4,6) Clara	(4,6 - 6,4) Média	(6,4 - 8,2) Escura	(8,2 - 9,0) Muito escura
	BRS 203 BRS Harmonia Iapar IPR 111 Linhagem PFT 1292 Linhagem PFT 1311 Linhagem PFT 1405	BR 4 BRS 148 BRS Netuno BRS Saturno CEP 23 Tatu Embrapa 53 IAC 2 Tarasca IAC 5 Canindé Iapar 23 Arapoti Linhagem PFT 0704	BR 1 BRS Minotauro CEP 28 Guará Embrapa 18 Iapar IPR Aimoré Linhagem PFT 0910 Linhagem PFT 1210	

Conforme verificado na Tabela 7, não ocorreram variedades ou linhagens de triticales de coloração ausente ou muito clara quando submetidas à solução de fenol. Já as cultivares com reação de cor clara representaram 26% (com seis genótipos); as variedades de coloração média constituíram 43,5% (dez cultivares), sendo também as de maior expressão numérica e consequentemente porcentagem. A cor de reação escura correspondeu a 30,5%, com sete variedades. Não houve nenhum genótipo ou linhagem de triticales com coloração muito escura quanto ao teste de fenol.

4.3 - Reação ao teste de fenol para cultivares de centeio

Foram submetidas ao teste de coloração de fenol onze cultivares ou linhagem de centeio. Os dados foram compilados na Tabela 8, conforme resultados de três amostras, tabuladas em cinco códigos de reação ao fenol, bem como sua média ponderada.

Tabela 8. Cultivares e linhagens de centeio submetidas ao teste de coloração com fenol.

Cultivar ou linhagem	Amostra	Escala de coloração com fenol					Média ponderada
		1	3	5	7	9	
BR 1	1	0	10	48	30	12	5,88
	2	0	12	41	27	20	6,10
	3	0	12	44	19	25	6,14
	Média	0	11	44	25	19	6,04
BRS Progresso	1	1	15	48	16	20	5,78
	2	1	18	43	26	12	5,60
	3	2	22	43	22	11	5,36
	Média	1	18	45	21	14	5,58
BRS Serrano	1	4	20	50	18	8	5,12
	2	4	15	46	26	9	5,42
	3	2	22	42	24	10	5,36
	Média	3	19	46	23	9	5,30
Iapar IPR 89	1	2	50	21	14	13	4,72
	2	0	42	18	23	17	5,30
	3	0	39	23	20	18	5,34
	Média	1	44	21	19	16	5,12
Cultivar Alemão	1	2	45	20	21	12	4,92
	2	3	44	23	15	15	4,90
	3	0	50	24	13	13	4,78
	Média	2	46	22	16	13	4,87
Cultivar Bagé	1	3	48	33	16	0	4,24
	2	3	45	24	28	0	4,54
	3	2	59	25	13	1	4,04
	Média	3	51	27	19	0	4,27
Cultivar Branco	1	10	64	18	8	0	3,48
	2	9	58	24	9	0	3,66
	3	9	62	19	9	1	3,62
	Média	9	61	20	9	0	3,59
Cultivar Garcia	1	1	10	55	25	9	5,62
	2	3	15	38	33	11	5,68
	3	1	14	53	19	13	5,58
	Média	2	13	49	26	11	5,63
Linhagem 298001	1	0	53	20	22	5	4,58
	2	2	50	23	14	11	4,64
	3	0	52	13	23	12	4,90
	Média	1	52	19	20	9	4,71

Linhagem 298002	1	3	53	24	17	3	4,28
	2	1	57	22	14	6	4,34
	3	2	53	18	21	6	4,52
	Média	2	54	21	17	5	4,38
Linhagem 298004	1	1	56	23	16	4	4,32
	2	2	50	19	20	9	4,68
	3	2	52	23	15	8	4,50
	Média	2	53	22	17	7	4,50

Com os resultados da Tabela 8, quanto aos valores do teste de fenol, foi elaborada a Figura 12, onde se apresenta os valores médios obtidos da ponderação média para cada cultivar ou linhagem de centeio.

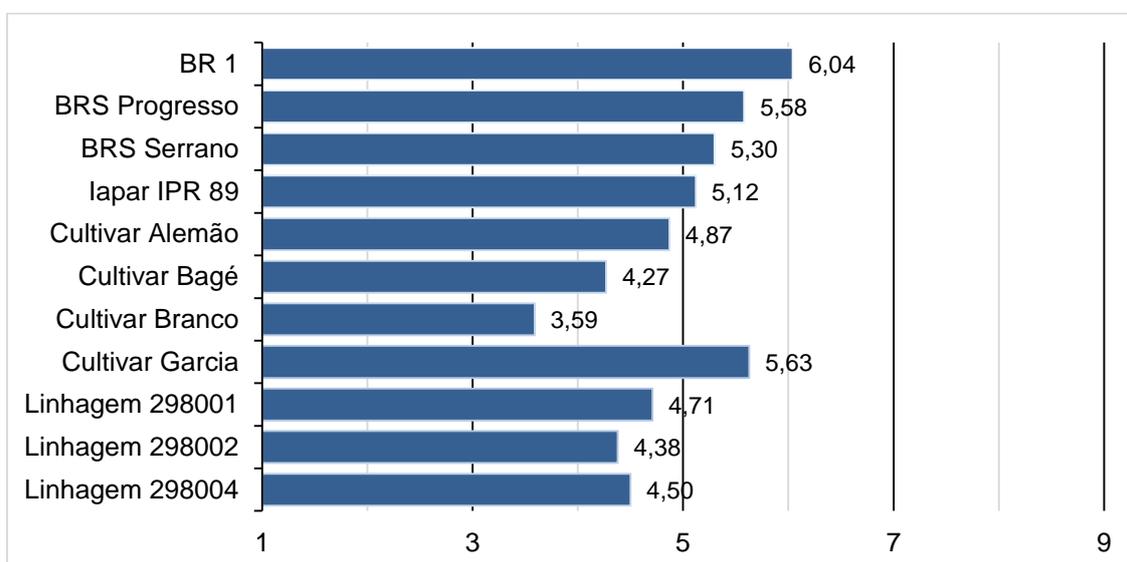


Figura 12 - Cultivares e linhagens de centeio submetidas ao teste de coloração com fenol, com a respectiva média ponderada obtida a partir de três repetições de cada cultivar ou linhagem. Escala de coloração por fenol: (1) ausente/nenhuma ou muito clara, (3) clara, (5) média, (7) escura e (9) muito escura.

A partir da análise dos resultados obtidos do teste de coloração por fenol para as variedades de centeio expresso na Tabela 8 e exemplificada na Figura 12, elaborou-se a Tabela 9, a qual foi feita com a concepção de uma escala de amplitude, dividindo a escala de valores (1 a 9) pelo número de códigos (5), obtendo o índice 1,8. Este índice foi aplicado a partir do valor 1 e somado, perfazendo a amplitude 1 a 2,8 para o código “ausentes ou muito clara”; adicionado o índice (1,8) ao valor final da amplitude anterior (2,8), obteve-se amplitude de 2,8 a 4,6 para o código “clara” e assim sucessivamente até completar a escala de amplitude.

Tabela 9 - Classificação das cultivares de centeio resultante da média aritmética das médias ponderadas das cultivares de centeio.

Escala de amplitude e classificação pelo teste de coloração por fenol				
(1,0 - 2,8)	(2,8 - 4,6)	(4,6 - 6,4)	(6,4 - 8,2)	(8,2 - 9,0)
Ausente ou muito clara	Clara	Média	Escura	Muito escura
	Cultivar Bagé Cultivar Branco Linhagem 298002 Linhagem 298004	BR 1 BRS Progresso BRS Serrano Iapar IPR 89 Cultivar Alemão Cultivar Garcia Linhagem 298001		

De acordo com a Tabela 9, não houveram variedades ou linhagens de centeio de coloração ausente ou muito clara, bem como genótipos com reação escura ou muito escura, quando submetidas ao teste fenólico.

As onze variedades de centeio analisadas pelo teste de fenol resultaram em somente duas classes de resposta de cor, onde quatro genótipos (36%) tiveram a reação de coloração clara e sete cultivares tiveram a reação de cor média (64%).

4.4 - Discussão geral

A solução química de fenol é utilizada para provocar uma mudança na coloração dos grãos de cereais, como arroz, trigo, triticales e centeio; e serve para identificação de cultivares a partir da reação ao produto fenol (SAAVEDRA & LAVERACK, 1996)

A execução do teste de fenol, de um modo geral, é muito fácil de ser conduzido em laboratório de sementes, mesmo com um grande número de sementes e os resultados são obtidos em um curto período de tempo de aproximadamente vinte horas.

A estratificação das variedades de trigo, triticales e centeio, sob o formato de escala de amplitude, conforme as Tabelas 5, 7 e 9, são de certa forma muito eficiente para visualização do resultado das análises laboratoriais das amostras trabalhadas. Neste formato intervalo de distribuição, é possível ter um melhor entendimento das pequenas variações que ocorrem entre as variedades e pode-se obter uma adequada e efetiva classificação da reação ao fenol dos genótipos.

Conseqüentemente, percebe-se que as cultivares apresentam melhor definição de resposta quanto ao seu efetivo grau de coloração frente ao teste de fenol a 1%, apontando que estas possuem características morfológicas e genéticas semelhantes, permitindo categorizar e estratificar as variedades.

Conforme a Tabela 10, observa-se que, tanto nas cultivares de trigo quanto nas de triticales e centeio, a maior frequência de coloração consiste na tonalidade média (código 5, com escala de amplitude de 4,6 a 6,4), com 51% para trigo e 43,5% para triticales e 64% para centeio. A tonalidade escura (código 7, com escala de amplitude de 6,4 a 8,2) ocorre a seguir, tanto para triticales e trigo, com porcentagem respectiva de 30,5% e 28%. Não houve cor escura para as variedades de centeio. A coloração clara (código 3, com escala de amplitude de 2,8 a 4,6) foi observada como terceira categoria mais presente para as cultivares de centeio, triticales e trigo, com respectivamente 36%, 26% e 16% dos genótipos analisados. A coloração de amplitude ausente ou muito clara (código 1, com escala de amplitude de 1,0 a 2,8) e muito escura (código 9, com escala de amplitude de 8,2 a 9,0) somente esteve presente nas cultivares de trigo, com 2,5% em cada intervalo. O somatório de todas as 114 amostras de cereais (trigo, triticales e centeio) estudadas, classificadas conforme o teste de coloração por fenol, resultou em 58 cultivares (50,88%) de cor média; 29 variedades (25,43%) de coloração escura; 23 genótipos (20,17%) de tonalidade clara; 2 cultivares (1,76%) de cor ausente ou muito clara bem como 2 variedades de coloração muito escura, conforme Figura 13.

Tabela 10 – Análise percentual e quantitativa de cultivares de trigo, triticales e centeio submetidas ao teste de coloração por fenol e sua distribuição em uma escala de amplitude.

Tipo de cereal e quantidade analisada	Escala de amplitude e classificação pelo teste de coloração por fenol				
	(1,0 - 2,8) Ausente ou muito clara	(2,8 - 4,6) Clara	(4,6 - 6,4) Média	(6,4 - 8,2) Escura	(8,2 - 9,0) Muito escura
Trigo	2,5%	16%	51%	28%	2,5%
(80 cultivares)	2	13	41	22	2
Triticales	-	26%	43,5%	30,5%	-
(23 cultivares)	-	6	10	7	-
Centeio	-	36%	64%	-	-
(11 cultivares)	-	4	7	-	-
114 cultivares	1,76%	20,17%	50,88%	25,43%	1,76%
	2	23	58	29	2

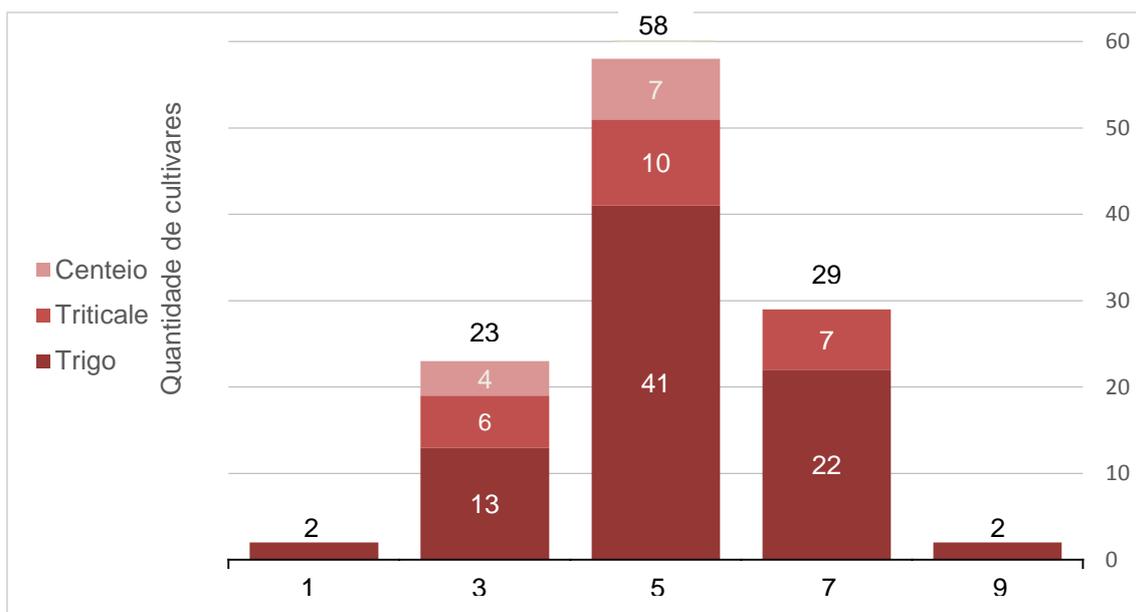


Figura 13 - Distribuição numérica de 114 cultivares e linhagens de trigo, triticale e centeio de acordo com a classificação à reação ao teste de coloração com fenol.

Analisando a estratificação numérica das cultivares estudadas, tanto para trigo quanto para triticale, verifica-se a tendência de ocorrência em maior proporção na coloração média (código 5) e em seguida a reação ao fenol para tonalidade escura (código 7). A coloração clara (código 3), ocorreu logo a seguir. A ocorrência de cultivares de cores muito escura (código 9) ou de ausência de cores ou muito clara (código 1), apresentou baixa frequência, de apenas 5%, ou seja 4 cultivares de trigo em 80 analisadas pelo teste de coloração com fenol. Para triticale e centeio nenhum genótipo de código 1 e código 9 foi caracterizada.

Conforme a Figura 13 entende-se que a tendência esperada, com a realização do teste de fenol para cultivares de trigo e triticale, seja a ocorrência de maior frequência da reação de coloração média, distribuindo-se a seguir para tonalidade escura e após a coloração clara. Para variedades de centeio a distribuição tende a ocorrer apenas em cor média e coloração clara, sem presença de cores escuras de forma predominante nas variedades. Coloração acentuada ou extremadas na escala, como cores muito escuras e ausentes ou muito claras, são proporcionalmente de menor ocorrência em cultivares e linhagens de cereais de inverno como trigo, triticale e centeio.

Também pode-se inferir que é possível a classificação em somente três classes de reação ao teste de coloração com fenol: média, clara ou escura. A simplificação na metodologia do teste de fenol com esta nova sistemática,

permitiria maior agilidade sem afetar ou incidir em erro de avaliação e identificação do genótipo analisado. Entretanto, maiores estudos devem ser realizados.

Atualmente o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda a utilização do teste de coloração com fenol somente para as cultivares de tritcale e centeio em seus descritores mínimo em ensaio de DHE (Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade), visando a Proteção de Cultivares. O teste de fenol também poderia ser estendido para uso para as variedades de trigo no Brasil, conforme já preconiza o organismo UPOV (Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales).

Por fim, salienta-se que, embora o teste de fenol possa ser plenamente utilizado para a identificação de cultivares de cereais, a utilização das características morfológicas consiste nos principais caracteres de diagnose para reconhecimento e determinação de variedades de trigo, tritcale e centeio.

5 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

O presente estudo mostra que o exame bioquímico por coloração com fenol é um método de baixo custo e relativamente fácil de ser conduzido a nível laboratorial e se baseia na reação de compostos enzimáticos presentes na superfície externa (pericarpo) das sementes à solução de fenol, sendo constante para cada cultivar. Desta forma, o teste de fenol é uma ferramenta adequada para caracterização, distinguindo-se rápida e eficientemente variedades com reações de coloração distintas, auxiliando na identificação de genótipos de cereais tais como trigo (*Triticum aestivum* L.), triticales (*x Triticosecale*) e centeio (*Secale cereale* L.).

Com base nos resultados obtidos chegaram-se as seguintes conclusões:

1 – O padrão de reação ao teste de fenol para as cultivares de trigo, triticales e centeio foram semelhantes, onde a cor média (código 5) foi a de maior ocorrência, com 58 genótipos, vindo a seguir a coloração escura (código 7) em 29 variedades e a tonalidade clara (código 3), com 23 cultivares.

2 – Ausência de cor ou muito claras (código 1) ou coloração muito escura (código 9) foram de baixa frequência nas cultivares de trigo estudadas.

3 – Para triticales e centeio não se constatou, nos genótipos analisados, reação ao teste de fenol de tonalidade de cor muito clara (código 1) ou de coloração muito escura (código 9).

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASEM. **Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. Anuário 2015. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2013/09/Anuario_ABRASEM_2015.pdf>. Acesso: 30 Abril de 2018.

ABRASEM. **Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. Anuário 2016. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2013/09/Anuario_ABRASEM_2016_SITE.pdf>. Acesso: 30 Abril de 2018.

Agrawal, P.K. **Principles of Seed Technology**. ICAR - Indian Council of Agricultural Research, New Delhi. 1994. 107p. Disponível em: <<http://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/2049116>>. Acesso em 16 maio de 2018.

Botham's Educational Pages. **The story behind a loaf of bread**. Disponível em: <<https://www.botham.co.uk/bread/grain.htm>>. Acesso em 16 maio de 2018.

BRASIL. Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997. Lei de Proteção de Cultivares. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1997.

BRASIL. Lei nº 10.711, de 05 de agosto de 2003. Dispõe sobre o sistema Nacional de sementes e mudas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Curso de propriedade intelectual e inovação no agronegócio** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; organização Luiz Otávio Pimentel. 2.ed.rev. e atual. – Brasília: MAPA; Florianópolis: Ead/UFSC, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Mapa/ACS, Brasília, 2011. 202p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (AGE/MAPA). **Projeções do Agronegócio: Brasil 2014/2015 a 2024/2025. Projeções de longo prazo**. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasília, DF. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cultivarweb – Gerenciamento de informação. Cultivares registradas**. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php> Acesso em: 08 maio de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cultivarweb – Gerenciamento de informação. Cultivares protegidas**. Disponível em: <

http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_protegidas.php
Acesso em: 08 maio de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de cultivares**. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/protecao-de-cultivar/protecao-de-cultivar> >
Acesso em: 09 maio de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Formulários para proteção de cultivares**. Disponível em:
<<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/protecao-de-cultivar/formularios-para-protecao-de-cultivares>> Acesso em: 09 maio de 2018.

CONAB. **Centeio Brasil: série histórica de área plantada, produtividade e produção**. 2018a. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=10>> Acesso: 07 maio de 2018.

CONAB. **Trigo Brasil: série histórica de área plantada, produtividade e produção**. 2018b. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>> Acesso: 07 maio de 2018.

CONAB. **Triticale Brasil: série histórica de área plantada, produtividade e produção**. 2018c. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>> Acesso: 07 maio de 2018.

Csala, M.S. 1972. **The methodology and mechanism of the phenol reaction in cereals**. Proc. Int. Seed Test. Assoc. 37:915-921. 1972.

Elekes, P. **The nature and improvement of the phenol reaction of wheat seeds**. 19th ISTA Congress. Preprint No. 13-S.V. 1980.

Friedberg, L. **Essai de classification des bles d'apres leur reaction a l'acide phenique**. Annal. Agron. 5:697-736. France, 1933.

Jaiswal, J.P. e Agrawal R.L. **Varietal purity determination in rice modification of the phenol test**. Seed Science and Technology (Switzerland), 23: 33-42. 1995. Disponível em <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CH9600066>> Acesso em 15 maio de 2018.

Joshi M.G. Banerjee S.K. 1970. **Genetics of phenol colour reaction in emmer wheats**. Proceedings of Internacional Seed Testing Association. Yollebekk, v.35, p.807-811. 1970.

KENT, N.L. **Technology of cereals: an introduction for students of food science and agriculture**. 3.ed. Oxford : Pergamon Press, 1983. 221p.

MARQUESAN, F.F.S.; KOHLS, V.K.; RIGATTO, P. **Pesquisa e desenvolvimento no setor de sementes de arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. Revista Eletrônica de Administração, v.16, n.3, p.470-490, 2010.

MENEZES, N.L; BELLÉ, R.A. **Identificação de cultivares de trigo pelo teste de fenol.** Ciência Rural, v.25, n.2, p.315-316, 1996.

SOUZA, C. N. A de. **Cultivares de trigo indicadas para cultivo no Brasil e instituições criadoras – 1922 a 2014.** / Cantídio Nicolau Alves de Sousa, Eduardo Caierão. – 2. ed. rev.e ampl. - Brasília, DF: Embrapa, 2014.

STEEN, K.M. KARSKY, O.L. MA.GUIRE, J.D. **A method for quantifying color of phenol reaction on wheat seed.** Journal of Seed Technology. Vol. 10, Nº. 1 (1986), pp. 62-67. Disponível em <<http://www.jstor.org/stable/23433007>> Acesso em 14 maio de 2018.

Walls, W. E. **A standard phenol method for testing wheat seed for varietal purity. Handbook of Seed Testing.** Association of Official Seed Analysts, Contrib. No. 28, Queen's Printer, Ottawa. 5 p. 1965.

WRIGLEY, C.W. e MCINTOSH, R.A. **Genetic control of factors regulating the phenol reaction of wheat and rye grain.** Wheat Information Service No.40. CSIRO Wheat Research Unit, University of Sydney, 2006. p.6. Disponível em: <<http://shigen.nig.ac.jp/wheat/wis/No40/p6/1.html>>. Acesso em 16 maio de 2018.