

QUANTIFICAÇÃO INDIRETA DE ANTOCIANINA POR ÍNDICE SPAD EM LINHAGENS DE ALFACE ROXAS

Iury Pattrick Soares Rocha¹, Isadora Aparecida Lima¹, Caroline Fernandes Morotti¹, Ygor Inácio Dias Rosa¹, Ana Carolina Silva Siquieroli¹, Gabriel Mascarenhas Maciel¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, MG (iury.rocha@ufu.br)

RESUMO: A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil. Dentre os compostos foliares presentes na alface roxa destaca-se a antocianina, que possui propriedades antioxidantes, além da capacidade de regular o metabolismo de carboidratos prevenindo risco de doenças cardiovasculares. Assim, o desenvolvimento de cultivares ricas em antocianina é desejado. A quantificação de pigmentos foliares é comumente realizada em laboratório, por análise fotométrica. Embora bem estabelecidos e precisos, esses métodos são destrutíveis e de difícil execução. Como alternativa, têm-se utilizado dispositivos portáteis para quantificação de clorofila e carotenoides. No entanto, não há estudos para aplicação destes dispositivos para antocianina. Assim, este trabalho teve como objetivo a quantificação indireta de antocianina por índice SPAD, utilizando dispositivo portátil não destrutivo. Foram avaliadas seis linhagens de alface roxas pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético de Alface Biofortificada da UFU e a cultivar comercial Belíssima, como testemunha. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, com três repetições. Decorridos 40 dias após o transplante, foi obtido o índice SPAD e realizada a quantificação de antocianina em laboratório. Um modelo de regressão linear simples foi gerado para analisar a correlação entre os índices SPAD e os teores de antocianina dos genótipos. A equação de regressão apresentou valor de coeficiente de determinação (R^2) de 71% e um coeficiente de correlação (r) de 84% entre as variáveis. Os resultados indicam que o índice SPAD pode ser usado para mensurar indiretamente os níveis de antocianina em alfaces roxas.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L., biofortificação, melhoramento genético.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) se destaca por ser a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e a uma das maiores em volume de produção (CNA, 2017). Esse resultado é devido à facilidade do plantio, ciclo curto e seu alto valor nutritivo, sendo rica em vitaminas, minerais e compostos bioativos (BARBOSA *et al.*, 2016; KIM *et al.*, 2016).

Antocianina, clorofilas e carotenoides são compostos vegetais e fortes antioxidantes, auxiliando em várias funções importantes do nosso organismo. Atuam contra os radicais livres prevenindo doenças degenerativas e o câncer (BRAGA *et al.*, 2018; BENDOKAS *et al.*, 2020). A antocianina também apresenta capacidade de regular o metabolismo de carboidratos e açúcar no sangue, reduzindo significativamente os fatores de risco para doenças cardiovasculares (YOUSUF *et al.*, 2016). Assim, cultivares ricas em antocianina são desejadas nos programas de melhoramento genético com intenção de suprir necessidades nutricionais da população.

A quantificação dos teores de antocianina em folhas é comumente realizada em laboratório, por análise fotométrica após a extração usando solventes orgânicos. Embora bem estabelecidos e precisos, esses métodos exigem muito tempo, mão de obra qualificada e reagentes químicos que são altamente tóxicos e/ou inflamáveis (MACIEL *et al.*, 2019). Em adição, são métodos destrutivos, que impossibilitam a obtenção de sementes.

Para a quantificação de pigmentos foliares, com clorofila e carotenoides, têm-se utilizado como alternativa a dispendiosa quantificação laboratorial, dispositivos portáteis não destrutivos, como o Minolta SPAD-502 e o Minolta CR-400 (CASSETARI *et al.*, 2015, DONNELLY *et al.*, 2020). No entanto, não há estudos relacionando os teores de antocianina ao índice Soil Plant Analysis Development (SPAD).

Assim, este trabalho teve como objetivo a quantificação indireta de antocianina por índice SPAD, utilizando dispositivo portátil não destrutivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo, MG, (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" O; 873 m de altitude). Foram avaliadas seis linhagens de alface roxas pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético de Alface Biofortificada da UFU e a cultivar comercial Belíssima, como testemunha. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados com três repetições, totalizando 21 parcelas.

A semeadura dos genótipos foi realizada em 06 de abril de 2023 em bandejas de poliestireno expandido com 200 células preenchidas com substrato comercial a base de fibra de coco. Após semeadura, as bandejas permaneceram em casa de vegetação. Quarenta e um dias após a semeadura foi realizado o transplântio das mudas para o campo.

Decorridos 40 dias após o transplântio, foi obtido o índice SPAD pelo valor médio das leituras em quatro plantas centrais de cada parcela utilizando o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030. Posteriormente, as mesmas plantas foram colhidas e levadas ao laboratório para a quantificação dos teores de antocianina. O tecido vegetal fresco foi adicionado a uma solução composta por etanol 95% e ácido clorídrico (85:15). Após 24 horas de incubação em ausência de luz realizou-se a leitura da absorbância do sobrenadante em espectrofotômetro UV-190 em 535nm, calculando os teores foliares ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de tecido fresco), conforme Francis (1982).

Um modelo de regressão linear simples foi gerado para analisar a correlação entre o índice SPAD e teores de antocianina dos genótipos de alface roxas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R CORE TEAM, 2024).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A equação de regressão apresentou valor de coeficiente de determinação (R^2) de 0,71 e um coeficiente de correlação (r) de 0,84 entre as variáveis índice SPAD e teores de antocianina para os genótipos avaliados (Figura 1).

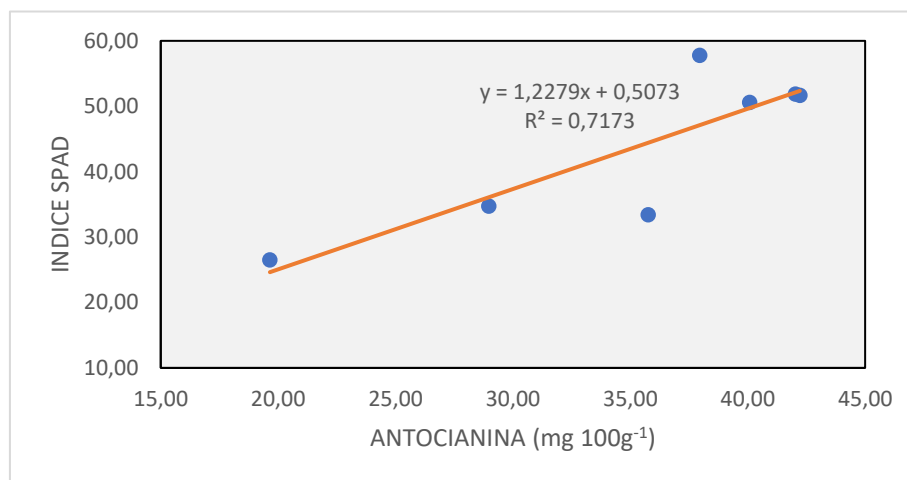


Figura 1. Gráfico de dispersão e equação da regressão linear simples entre as variáveis índice SPAD e teores de antocianina para as sete linhagens de alface roxas.

De acordo com Schober, Boer e Schwarte (2018), o gráfico de dispersão é uma ferramenta essencial para visualizar a relação entre duas variáveis quantitativas, proporcionando uma representação gráfica da correlação. Aplica-se em seguida a regressão linear simples, para modelar essa correlação, utilizando o coeficiente de determinação (R^2), para que avalie o ajuste do modelo. Um valor de R^2 mais próximo de 1 indica que o modelo explica bem a variação dos dados.

A correlação entre índice SPAD e antocianina mostrou-se alta, na ordem de 84%. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Cassetari *et al.* (2015), ao avaliar os níveis de clorofila e β -caroteno em diferentes cultivares de alface, com valor de 81%. Os autores sugeriram que a alta correlação positiva entre índice SPAD (clorofila) e β -caroteno indicava ser possível usar seleção indireta para β -caroteno a partir dos níveis de clorofila. Da mesma forma, neste trabalho sugere-se que genótipos de alface com altos teores de antocianina podem ser selecionados

indiretamente por altos valores de clorofila, o que pode facilitar o trabalho dos melhoristas, devido à maior facilidade e menor custo das avaliações.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram ser possível a quantificação indireta de antocianina por índice SPAD. Esses resultados sugerem a possibilidade de sucesso da seleção indireta para alto teor de antocianina utilizando um dispositivo portátil não destrutivo de leitura para seleção de plantas com alto teor de clorofila (índice SPAD).

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo 302734/2023-6 e pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

REFERÊNCIAS

BARBOSA, V. A. A. *et al.* Comparação da contaminação de alface (*Lactuca Sativa*) proveniente de dois tipos de cultivo. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n. 2, p. 231-242, 2016.

BENDOKAS, V. *et al.* Anthocyanins: From plant pigments to health benefits at mitochondrial level. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 19, p. 3352-3365, 2020.

BRAGA, A. R. C. *et al.* Bioavailability of anthocyanins: gaps in knowledge, challenges and future research. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 6, p. 31-40, 2018.

CASSETARI, L. S. *et al.* β -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, v. 1083, p. 469-474, 2015.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL – CNA. **Mapeamento e qualificação da cadeia produtiva das hortaliças do Brasil**. Brasília: CNA, 2017. 80 p.

DONNELLY, A. *et al.* Leaf chlorophyll estimates of temperate deciduous shrubs during autumn senescence using a SPAD-502 meter and calibration with extracted chlorophyll. **Annals Forest Science**, v. 77, n. 2, p. 1-12, 2020.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. *In: Anthocyanins as Food Colors*, 1st ed. New York: Academic Press, 1982. p. 182-208.

KIM, M. *et al.* Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 49, p. 19-34, 2016.

MACIEL, G. M. *et al.* Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 81, p.154-160, 2019.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2020; Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 20 Set 2023).

SCHOBER, P.; BOER, C.; SCHWARTE, L. A. correlation coefficients: appropriate use and interpretation. **Anesthesia & Analgesia**, v. 126, n. 5, p. 1763-1768, 2018.

YOUSUF, B. *et al.*, Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n.13, p. 2223-2230, 2016.