TEOR DE CLOROFILA E CAROTENÓIDES DE SEMENTES DE ALFACE COM E SEM *PRIMING* REVESTIDAS COM DIFERENTES COLORAÇÕES

Letícia Winke Dias¹, André Pich Brunes², Andréa Bicca Noguez Martins³, Fernanda da Motta Xavier⁴, Aline Klug Radke⁵.

¹Engenheira agrônoma. Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. E-mail: leticiawinke@yahoo.com.br – Pelotas/RS - Brasil

²Engenheiro agrônomo. Pós-doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. E-mail:

³Engenheira agrônoma. Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas.

⁴Engenheira Agrônoma. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. E-mail:

⁵Engenheira Agrônoma. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. E-mail:

Recebido em: 03/10/2016 – Aprovado em: 21/11/2016 – Publicado em: 05/12/2016

DOI: 10.18677/EnciBio_2016B_096

RESUMO

A alface é uma das hortaliças mais consumidas do mundo. Os teores de clorofila e carotenoides nas folhas são utilizados para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia. O objetivo do trabalho foi avaliar os teores de clorofilas e carotenoides totais em sementes de alface peletizadas com e sem *priming* com diferentes colorações. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial, onde: fator A - com *priming* e sem *priming*, e Fator B - colorações (amarelo, azul, laranja, verde e vermelho). As variáveis avaliadas foram matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz, teores de clorofilas totais, clorofila 'a', clorofila 'b' e carotenoides totais. Nos carotenoides totais o tratamento com e sem *priming* obtiveram respostas semelhantes quando comparados entre si. De maneira geral, as colorações oriundas dos peletes amarelo e azul apresentaram maior quantidade de teores de clorofila total, 'a', 'b' e carotenoides totais.

PALAVRAS-CHAVE: *Lactuca sativa* L., germinação, *priming*.

CHLOROPHYLL AND CAROTENOID CONTENTS IN LETTUCE SEEDS WITH AND WITHOUT PRIMING COATED WITH DIFFERENT COLORATIONS

ABSTRACT

Lettuce is one of the most consumed vegetables in the world. The contents of chlorophyll and carotenoids in the leaves are used to estimate the photosynthetic potential of plants, by their direct connection with the absorption and energy transfer. The objective was to evaluate the chlorophyll content and total carotenoids in pelleted lettuce seeds with and without priming with different colorations. The

experimental design was completely randomized, with four replications, in a factorial arrangement, where: factor A - with no priming and priming, and Factor B - colorations (yellow, blue, orange, green and red). The variables evaluated were dry matter of shoot, root dry matter, total chlorophyll content, chlorophyll 'a', chlorophyll 'b' and total carotenoids. In total carotenoids, the treatment with and without priming had similar responses when compared. Overall, colorations derived from yellow and blue pellets exhibit increased levels of contents of total, 'a' and 'b' chlorophyll and total carotenoids.

KEYWORDS: *Lactuca sativa* L., germination, *priming*.

INTRODUÇÃO

A olericultura desempenha um importante papel na agricultura e economia no Brasil (GOMES et al., 2016), entre as olerícolas a alface desempenha um importante destaque. É uma hortaliça folhosa pertencente à família Asteraceae, originária da Ásia veio para o Brasil pelos portugueses no século XVI. Sendo uma das hortaliças mais consumidas no Brasil em razão de ter baixo custo, sabor agradável e fácil cultivo, tendo a facilidade de ser cultivada o ano inteiro com variedades adaptadas ao clima de cada região (SILVA et al., 2015). Entre as diversas variedades destacam-se a alface lisa, a americana, a romana, a crespa e a roxa (PHILIPPI et al., 2006).

Fisiologicamente, é uma espécie que produz sementes do tipo fotoblásticas positivas, o que denota que suas sementes só germinam, ou germinam em maior porcentagem, quando na presença de luz. Portanto, devido ao processo de domesticação e produção em larga escala muitas cultivares já perderam esse fotoblastismo passando a ser fotoblásticas neutras (CASTRO et al., 2005). A percepção da qualidade da luz pelas plantas ocorre através do fitocromo que corresponde a uma classe de pigmentos fotorreceptores.

O *priming* é caracterizado por um pré-tratamento realizado nas sementes, o qual utiliza diferentes métodos que podem favorecer a uniformidade de germinação e de emergência da plântula, devido ao controle da quantidade de água disponível para a semente nos estágios iniciais da germinação, portanto, não irá permitir a emissão da raiz (USDA, 2014). Pode ser considerada uma prática comum no mercado de sementes quando está associado ao processo de peletização de sementes de hortaliças.

O processo de revestimento de sementes a partir da década de 90, evolui de forma que hoje se encontra no topo da indústria de sementes, em função das preocupações relativas à proteção no meio ambiente e segurança no trabalho, bem como a semeadura de precisão (SANTOS, 2016).

Um dos componentes vegetais mais importantes são os pigmentos, que são compostos orgânicos capazes de absorver a radiação eletromagnética na faixa de 400 a 700 nm (KLUGE et al., 2015). Estão localizados no interior dos cloroplastos e os principais grupos de pigmentos encontrados em plantas são as clorofilas (como as clorofilas a e b), os carotenoides (como o β -caroteno, luteína, violaxantina e neoxantina) e os flavonoides (como as flavonas, flavonóis, isoflavonas e antocianinas).

Hortaliças folhosas contém vários tipos de pigmentos fotossintéticos, que são clorofilas e carotenoides (KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). Os teores de destes pigmentos são utilizados para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa e ao crescimento e à adaptação a diversos ambientes. Uma planta com alto teor de

clorofila é capaz de atingir taxas fotossintéticas mais altas, pelo seu potencial valor de captação de "quanta" na unidade de tempo (CHAPPELLE & KIM, 1992).

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os teores de clorofilas e carotenoides totais em sementes de alface peletizadas com e sem *priming* com diferentes colorações.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório Didático de Análise de Sementes Dr. Flávio Rocha, localizado no município do Capão do Leão – Brasil - RS (Latitude 31°48'02.69" S). Utilizaram-se sementes de alface da cultivar Regina, provenientes do mesmo lote. O experimento foi conduzido no período de Janeiro a Abril de 2015. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5 (com *priming* e sem *priming* e colorações - amarelo, azul, laranja, verde e vermelho, com quatro repetições).

A germinação foi conduzida com 200 sementes, com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento, distribuídas em caixas plásticas tipo gerbox (11,0 x 11,0 x 3,5cm) sobre duas folhas de papel (tipo mata-borrão) umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, a 20°C, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). A coleta das amostras foi realizada por ocasião do teste de germinação das sementes de alface.

Foi avaliado o teor de clorofila total, clorofila a, clorofila b e carotenoides totais – aos sete dias após a semeadura, por ocasião ao teste de germinação (BRASIL, 2009), amostras de 1g de plântulas de alface foram maceradas em um almofariz em presença de 5 mL de acetona a 80% (v/v). O material foi centrifugado a 4000±5000g por 10 minutos e o sobrenadante transferido para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se esse volume com acetona a 80% (v/v). A absorbância da solução foi obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470nm. Os teores de clorofilas totais, 'a', 'b' e de carotenóides totais foram calculados através de equações (eq. 1, 2, 3 e 4) estabelecidas por LICHTENTHALER (1987):

$$\text{Chl totais} = 7,15 (A_{663}) + 18,71 (A_{647}) \quad (\text{eq. 1})$$

$$\text{Chl 'a'} = 12,25 (A_{663}) - 2,79 (A_{647}) \quad (\text{eq. 2})$$

$$\text{Chl 'b'} = 21,50 (A_{647}) - 5,10 (A_{663}) \quad (\text{eq. 3})$$

$$\text{Carotenóides totais} = [1000 (A_{470}) - 1,82 \text{ Chl 'a'} - 85,02 \text{ Chl 'b'}] / 198 \quad (\text{eq. 4})$$

Os resultados foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ de matéria fresca (MF). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade e, posteriormente submetidos, à análise de variância ANOVA. O fator qualitativo foi analisado por comparações de média através do teste de Duncan a 5% de probabilidade. Para o procedimento estatístico utilizou-se o programa R, versão 3.1.1. e o pacote de dados "agricolae" (MENDIBURU, 2014; R CORE TEAM, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se através da Tabela 1 que houve interação significativa entre os tratamentos cor, *priming*, cores e *priming* para as variáveis clorofila total, clorofila 'a', clorofila 'b' e carotenoides totais.

TABELA 1. Análise de variância (ANOVA) dos tratamentos de sementes de alface com e sem *priming* e peletizadas com diferentes colorações para as variáveis clorofila total, clorofila 'a', clorofila 'b' e carotenoides totais. Capão do Leão, 2015.

	Clorofila total	Clorofila 'a'	Clorofila 'b'	Carotenoides Totais
Cor	0,00	0,00	□0,00	□0,00
<i>priming</i>	$8,36 \times 10^{-7}$	$1,40 \times 10^{-7}$	$1,53 \times 10^{-5}$	$5,83 \times 10^{-8}$
cor. <i>priming</i>	□0,00	□0,00	□0,00	□0,00

O tratamento com *priming* proporcionou maior teor de clorofila total nas plântulas de alface quando proveniente de sementes peletizadas com as colorações amarelo, laranja, verde e vermelho, os tratamentos sem *priming* foram superiores apenas na coloração azul (Tabela 2). As colorações amarelo e vermelho apresentaram maior teor de clorofila total nos tratamentos com *priming*, seguindo das colorações laranja e verde, que não diferiram entre si, e azul que apresentou pior resultado. Para os tratamentos sem *priming* a coloração azul foi a que apresentou maior teor de clorofila total e os piores resultados foram apresentados pelas colorações amarelo, laranja e vermelho.

Da mesma forma para a clorofila 'a' e 'b', os tratamentos com *priming* apresentaram maior teor destes compostos nas colorações amarelo, laranja, verde e vermelho, apenas na coloração azul a ausência de *priming* foi superior (Tabela 2). Em ambos os compostos, clorofila 'a' e 'b', dentre os tratamentos com *priming* a coloração amarelo foi superior às demais e os teores mais baixos foram encontrados nas plântulas oriundas de sementes peletizadas com a coloração azul. Nos tratamentos sem *priming* a coloração azul foi superior às demais colorações.

Segundo TAIZ & ZEIGER (2013), os carotenóides são pigmentos que atuam como fotoprotetores por meio do rápido quenching dos estados excitados da clorofila a e estão, em geral, estão intimamente associados aos pigmentos protéicos dos centros de reação e das antenas.

No presente estudo, os teores de carotenoides totais na ausência de *priming*, as plântulas originadas de sementes peletizadas com coloração azul, foram as que apresentaram maior teor destes compostos. Já nas demais colorações das sementes peletizadas, o maior acúmulo destes compostos ocorreu na presença do *priming* (Tabela 2).

Em relação aos resultados encontrados para as clorofilas 'a', 'b' e total, dentre os tratamentos com *priming*, a coloração amarela foi a que resultou em maior teor de carotenoides totais, sendo a coloração azul inferior às demais. Entre os tratamentos sem *priming* a coloração azul foi superior às demais, sendo o pior resultado apresentado pela coloração amarela.

TABELA 2. Teores de clorofila totais, clorofila 'a', clorofila 'b' e carotenóides totais, proveniente de sementes tratadas com e sem *priming* e peletizadas com diferentes colorações. Capão do Leão, 2015.

cor / <i>priming</i>	clorofila total		clorofila 'a'		clorofila 'b'		carotenóides totais	
	mg g ⁻¹ de matéria seca							
	com	sem	com	sem	com	sem	com	sem
Amarelo	a 6,21 A ^a	d 2,57 B	a 3,46 A	d 1,64 B	a 2,74 A	b 0,93 D	a 395,2 A	b 152,10 D
Azul	c 2,81 B	a 6,88 A	c 1,63 c B	a 3,83 A	b 1,18 D	a 3,05 A	b 157,2 D	a 428,4 A
Laranja	b 4,08 A	c 3,10 B	b 2,30 A	bc 1,93 B	a 1,77 B	b 1,17 C	a 265,4 B	b 186,1 C
Verde	b 3,82 A	b 3,44 B	b 2,34 A	b 2,06 B	a 1,48 C	a 1,38 B	a 236,9 C	b 212,4 B
Vermelho	b 3,97 A	bc 3,36B	b 2,46 A	c 1,83 B	a 1,50 C	a 1,53 B	a 241,9 C	b 222,5 B
Média	4,18	3,87	2,44	2,26	1,74	1,61	262,1	240,3
C.V. (%)	3,90		3,57		4,62		4,01	

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

^a Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Estudos revelam que as clorofilas são pigmentos que refletem a cor verde estando inteiramente associadas com o potencial da atividade fotossintética. A alta eficiência fotossintética pode levar ao incremento de produtividade agrícola, e essa relação está diretamente relacionada com o aproveitamento da radiação disponível por esses pigmentos (SILVA et al., 2014). Sendo que, a clorofila a (Chl a) está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese, é o pigmento utilizado para realizar a fase fotoquímica, enquanto os outros pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência de energia para os centros de reação, sendo chamados de pigmentos acessórios (TAIZ & ZEIGER, 2013). É possível que os carotenóides ajam como antioxidantes frente à aceleração da produção de etileno e da respiração (VALKO et al., 2004), protegendo, juntamente com o incremento do teor de clorofilas, e, consequentemente, favorecendo a manutenção da coloração esverdeada (ZAICOVSKI et al., 2008).

CONCLUSÃO

A peletização de coloração amarela com *priming* e azul sem *priming* resulta em maiores teores de clorofila total, clorofila 'a', clorofila 'b' e carotenóides totais em relação as outras colorações.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de Fisiologia Vegetal: Teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres. 2005. 650 p.

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. **Remote Sensing of Environment**, v. 39, p. 239-247, 1992. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257\(92\)90089-3](http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257(92)90089-3)>

GOMES, I. S.; OLIVEIRA, C. S.; PELOSI, A. P.; PACHECO, L. C. P. S.; BENETT, C. G. S.; BENETT, K. S. S. Evaluation of physiological quality of lettuce and rocket salad seeds in the presence of purple nuts edge extract. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n.21, p. 1887-1893, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2016.10956>>

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoid. **Food Chemistry**, v. 78, p. 389–398, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00203-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00203-0)>

KLUGE, R. A.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; DA SILVA, P. P. M. Aspectos Fisiológicos e Ambientais da Fotossíntese. **Rev. Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20150004>>

LICHTENTHALER, H.K. **Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes**. Methods Enzymology, v.148, p. 362-385, 1987. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)>

MENDIBURU, F. **Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research**. R package version 1.2-0. 2014. <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>

PHILIPPI, S.T. **Nutrição e Técnica Dietética**. 2ª edição revisada e atualizada. Barueri, SP: Editora Manole, 2006.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.

SANTOS, S. R. G. Peletização de Sementes Florestais no Brasil: Uma Atualização. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 2, p. 286-294, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.120414>>

SILVA, M. R. P.; PINHEIRO, F. C.; PAULA, M. T.; PRIGOL, M. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em um município da fronteira oeste, Rio Grande do sul, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n. 2, p. 163-169, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5216/rpt.v44i2.36646>>

SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. L. F. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

USDA. **United States Department of Agriculture**. Disponível em: <http://agclass.nal.usda.gov/mtwdk.exe?k=glossary&l=60&w=10684&n=1&s=5&t=2>

VALKO, M., IZAKOVIC, M., MAZUR, M., RHODES, C. J., TELSER, J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 266, p. 37-56, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1023/B:MCBI.0000049134.69131.89>>

XUE, L., YANG, L. Deriving leaf chlorophyll content of green-leafy vegetables from hyperspectral reflectance. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 64, p. 97-106, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2008.06.002>>

ZAICOVSKI, C. B. **Caracterização de frutas nativas da Região Sul da América do Sul quanto à presença de compostos bioativos, da atividade antioxidante e da atividade antiproliferativa frente à celular tumoral**, RS, Pelotas. 2008, 91f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.