

SÍNTESE DE CLOROFILAS E GLICOALCALÓIDES EM TUBÉRCULOS MADUROS DE BATATA ARMAZENADOS À LUZ NATURAL (1)

DAYSE SOAVE SPOLADORE (2), MARCO ANTONIO TEIXEIRA ZULLO (2, 4),
JOÃO PAULO FEIJÃO TEIXEIRA (2, 4), SONIA MARIA BONILHA MARCONDES COELHO (3, 4)
e HILÁRIO DA SILVA MIRANDA FILHO (3, 4)

RESUMO

Foram determinados os teores de clorofilas e glicoalcalóides, bem como de protoclorigilina e clorofilas a e b, na porção superficial de tubérculos maduros de batata dos cultivares Aracy (IAC-2), Bintje e Porta, armazenados à luz natural por 24 dias. Verificou-se que os teores dessas substâncias foram dependentes do cultivar, do período de armazenamento e da interação entre essas variáveis. Verificou-se, ainda, haver correlações entre os teores dessas substâncias e o período de armazenamento, bem como entre os teores de clorofilas e glicoalcalóides totais. Os teores de clorofilas e de glicoalcalóides totais podem ser estimados por uma função logística, onde os teores iniciais e finais dessas substâncias são características de cada cultivar, assim como o são suas velocidades de acúmulo líquido.

Termos de indexação: *Solanum tuberosum* L.; batata; glicoalcalóides e clorigilina; síntese de clorofilas e glicoalcalóides; tubérculos armazenados.

(1) Trabalho parcialmente apresentado na 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Belém (PA), de 7 a 14 de julho de 1983. Recebido para publicação em 21 de fevereiro de 1984.

(2) Seção de Fitoquímica, Instituto Agrônomo (IAC), Caixa Postal 28, 13100 – Campinas (SP).

(3) Seção de Raízes e Tubérculos, IAC.

(4) Com bolsa de suplementação do CNPq.

1. INTRODUÇÃO

Os tubérculos de batata (*Solanum tuberosum* L.), expostos à luz natural ou artificial, desenvolvem pigmentação verde em sua superfície. O “esverdeamento” ou “queimadura” ocorre em tubérculos já maduros ou durante seu desenvolvimento no campo, quando expostos à luz (GULL & ISENBERG, 1958), devido à formação de clorofilas. Tempo de exposição, qualidade e intensidade da luz, temperatura e variedade são os fatores que mais contribuem para tornar verdes os tubérculos de batata. Para que ocorra esse fenômeno, são necessários de 2 a 25 dias.

GULL & ISENBERG (1958), estudando o desenvolvimento de clorofila em tubérculos de batata, encontraram predominância da clorofila a, seguida de quantidade apreciável da forma b. YAMAGUCHI et alii (1960), pesquisando o efeito de época, temperatura e exposição à luz sobre o acúmulo de clorofila, verificaram que a síntese de clorofila foi mais lenta à temperatura de 5°C do que à de 20-30°C em tubérculos armazenados durante duas semanas na presença de luz. A variação na sensibilidade do tubérculo de batata ao verde, resultante da ação da luz indireta sobre a pele e anel vascular, depende dos diferentes genótipos (PUENTE & QUITANDRIA, 1968). A correlação entre o esverdeamento e o teor de alcalóide glicosídico, solanina, foi mostrada por STUART (1930). Para outros autores, no entanto, não há tal correlação (CONNER, 1973; WOLF & DUGGA, 1915), embora reconheçam que tubérculos ricos em solanina sejam normalmente verdes e que os queimados pelo sol tenham sabor amargo pela elevação do teor de glicoalcalóide, como também mostraram GULL & ISENBERG (1958). Estudando a ocorrência de glicoalcalóides totais e esverdeamento em tubérculos de batata recém-colhidos e armazenados na presença ou não de luz, SPOLADORE et alii (1983) mostraram que os teores de glicoalcalóides e a capacidade de esverdeamento foram influenciados tanto pelas condições de armazenamento quanto pelas variedades, havendo também correlação linear, embora casual, entre o teor de solanina e a intensidade de verde na porção superficial do tubérculo.

Informações sobre a síntese de clorofilas a e b e protoclorofila em tubérculos de batata correlacionada com o teor de solanina e com notas atribuídas após inspeção visual — um dos critérios para seleção em programas de melhoramento genético de batata, ainda são escassas. O objetivo deste trabalho foi verificar a dinâmica da síntese de clorofila e solanina em tubérculos mantidos em condições usuais de armazenamento, contribuindo para o entendimento do processo de acúmulo de pigmentos verdes e glicoalcalóides nos tubérculos maduros de batata.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados tubérculos maduros de batata dos cultivares Aracy (IAC-2), Bintje e Porta, cultivados em condições de campo no Centro Experimental de Campinas, Instituto Agronômico, durante o ano agrícola 1981/82. Os tubérculos de aproximadamente mesmo peso e tamanho foram lavados e mantidos em galpão em presença de luz natural durante 24 dias. Para cada variedade, foram utilizados três lotes com 16 tubérculos cada um, dos quais se amostraram dois tubérculos a cada 3-4 dias. A temperatura média ambiente variou de 13,0 a 22,7°C no período. A cada tubérculo, atribuíram-se notas (de 0 a 5) quanto ao esverdeamento, após avaliação visual e, em seguida, foram retiradas amostras de sua superfície, de 2 a 3mm de espessura, com peso de 5g. Uma dessas amostras foi utilizada para determinação de protoclorofila e clorofilas **a** e **b**. O método aplicado, descrito em KOSKI et alii (1951), consistiu na extração de pigmentos com acetona e éter etílico, seguindo-se lavagens do extrato com água destilada para eliminação de pigmentos interferentes. O volume final foi levado a 15ml com éter etílico. As leituras foram feitas em espectrocolorímetro a 620 e 625nm para protoclorofila, a 660 e 665nm para clorofila **a** e a 640 e 645nm para clorofila **b**, calculando-se os valores das absorbâncias a 624, 662 e 642nm através de interpolação harmônica. Os teores de protoclorofila e clorofilas **a** e **b** foram obtidos utilizando-se o sistema de equações apresentado por KOSKI et alii (1951) e os de clorofila total pela soma dos teores de protoclorofila, clorofila **a** e clorofila **b**. A segunda amostra foi utilizada para determinação de glicoalcalóides totais, segundo método descrito por WANG et alii (1972), e que consiste na precipitação dessas substâncias com hidróxido de amônio e reação colorimétrica com ácido fosfórico e formaldeído 37% com leitura a 660nm. Os teores de glicoalcalóides totais foram expressos na forma de α -solanina, conforme SPOLADORE et alii (1983).

As análises de variância foram realizadas segundo o delineamento de blocos ao acaso. As curvas de regressão logística foram obtidas por processo iterativo de otimização de parâmetros, de modo a obter um valor máximo do índice de correlação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias das determinações de protoclorofila, clorofilas **a** e **b** e glicoalcalóides esterofídicos totais são mostrados na figura 1, enquanto no quadro 1 são apresentados também os valores de clorofila total e nota visual.

QUADRO 1 – Teores médios de clorofilas e glicocalcóides totais e valor médio de nota visual para avaliação de intensidade de verde em tubérculos maduros dos cultivares Aracy (IAC-2), Bintje e Porta armazenados à luz (¹, ²)

Período (dias)	Chl a	Chl b	Protochl	Chl total	GAT	Nota Visual
	mg/100g da porção superficial					
‘Aracy’ (IAC-2)						
0	0,32	0,36	0,51	1,19	5,73	0
3	1,62	0,51	1,33	3,46	2,34	0
7	4,06	2,17	2,59	8,82	7,11	1
10	5,68	3,48	4,85	14,01	5,92	2
14	12,15	6,21	9,18	27,54	6,82	2
17	8,29	4,12	6,93	19,34	9,49	3
21	11,45	6,53	7,94	25,92	9,87	4
24	10,99	5,25	8,68	24,92	11,97	4
‘Bintje’						
0	1,05	0,86	0,95	2,86	5,44	0
3	0,84	0,47	0,71	2,02	4,64	0
7	1,65	0,84	0,84	3,33	5,49	0
10	2,99	1,37	2,01	6,37	5,82	0
14	4,27	2,42	2,98	9,67	5,79	1
17	3,50	1,75	4,31	9,56	7,47	1
21	5,69	3,52	3,85	13,06	8,02	1
24	9,80	4,48	7,42	21,70	10,51	2
‘Porta’						
0	3,91	2,08	2,39	8,38	6,27	0
3	4,91	1,68	4,51	11,10	8,42	1
7	8,93	4,81	6,29	20,03	8,98	2
10	12,85	8,26	11,49	32,60	7,85	3
14	20,39	10,88	17,02	48,29	8,53	4
17	14,36	7,69	12,65	34,70	11,08	4
21	22,42	12,18	17,19	51,79	11,90	5
24	22,36	10,86	16,75	49,97	14,41	5

(¹) Chl a = clorofila a; chl b = clorofila b; Protochl = protochlorofila; Chl total = clorofila total; GAT: glicocalcóides totais. (²) Valores médios de três repetições.

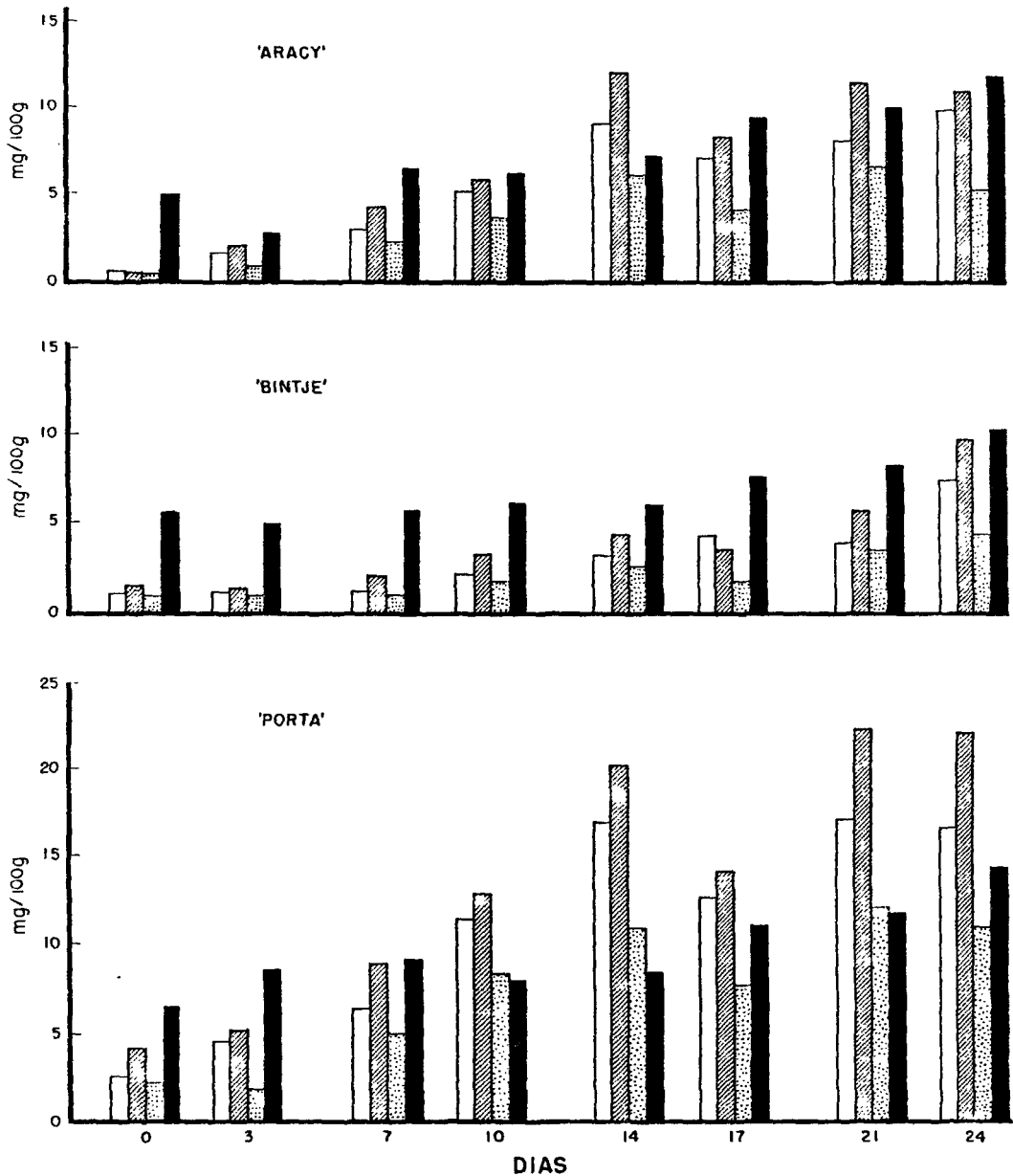


FIGURA 1 - Teores médios (em mg/100g de porção superficial) de clorofila a (▨), clorofila b (▤), protoclorofila (□) e glicoalcalóides totais (■) em tubérculos de batata maduros dos cultivares Aracy, Bintje e Porta armazenados à luz.

A análise de variância dos dados permitiu verificar que os teores de clorofilas (proto-, a, b e total) e de glicocalcólides totais são significativamente dependentes ($p > 99\%$) do cultivar estudado, do período de armazenamento e da interação entre ambos, enquanto o valor da nota atribuída depende do período de armazenamento e do cultivar. Esses resultados concordam com aqueles obtidos por outros autores (PUENTE & QUITANDRIA, 1968; YAMAGUCHI et alii, 1960).

Verificaram-se correlações positivas ($p > 99\%$) entre os teores de clorofilas ou glicocalcólides totais e o período de armazenamento, bem como entre os teores de clorofilas e glicocalcólides totais, resultados que concordam com os obtidos por GULL & ISENBERG (1958), STUART (1930) e SPOLADORE et alii (1983). Na figura 2 são mostradas as correlações entre os teores de clorofila total e glicocalcólides totais para os três cultivares. Uma vez que são distintas as rotas biossintéticas de clorofilas (BOGORAD, 1966) e de glicocalcólides esteróidicos, a significância da correlação entre estas classes de substâncias sugere a operação de um mecanismo comum e anterior ou concomitante à síntese das mesmas.

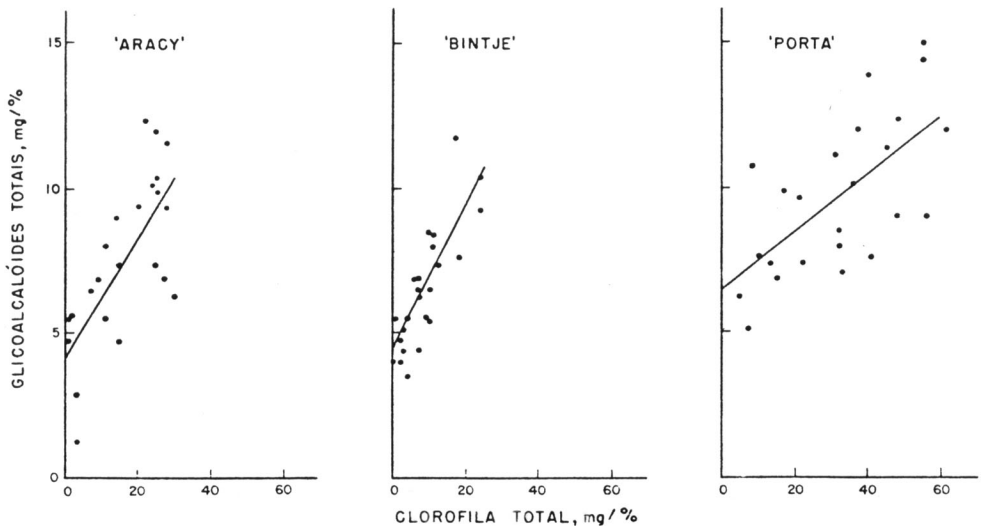


FIGURA 2 — Correlação entre os teores de clorofila total e de glicocalcólides totais na porção superficial de tubérculos de batata maduros dos cultivares Aracy, Bintje e Porta armazenados à luz.

Assumindo que durante o armazenamento dos tubérculos ainda ocorra alguma atividade residual de crescimento, permitindo que ainda aconteçam as reações de síntese e de degradação das substâncias em estudo (clorofilas e glicoalcalóides), é razoável admitir que os teores dessas substâncias variem em função da atividade de crescimento do tubérculo e, portanto, do período de armazenamento. Admitindo, ainda, que o crescimento do tubérculo ocorra segundo uma cinética de primeira ordem (i.e, a velocidade de crescimento seja diretamente proporcional à quantidade de células aptas a se reproduzirem), tem-se que os teores das substâncias de interesse ao longo do período de armazenamento poderão ser descritos segundo a curva logística (CONSTANTINIDES, 1970):

$$S = S_{\infty} [1 + (S_{\infty}/S_0 - 1) \exp(-kt)]^{-1}$$

onde S_0 , S e S_{∞} são as concentrações da substância após os períodos de armazenamento zero, t e infinito, e k é a constante de velocidade de acúmulo líquido (síntese menos degradação) da substância. Os parâmetros obtidos pela aplicação deste modelo aos dados encontram-se no quadro 2, e as estimativas dos teores de clorofila total e glicoalcalóides totais, calculadas a partir dos parâmetros apresentados nesse quadro acham-se na figura 3.

É digno de nota verificar que tanto pelos dados obtidos como pelas curvas calculadas, os teores de protoclorofila contribuem com 30-40% dos teores de clorofilas totais, em desacordo com o verificado por GULL & ISENBERG (1960). Este desacordo, entretanto, está perfeitamente explicado ao se verificar a rota biossintética das clorofilas (BOGORAD, 1966), que apresenta as conversões protoclorofila \rightarrow clorofila a \rightarrow clorofila b, o que implica na incorreção dos dados apresentados por aqueles autores (GULL & ISENBERG, 1960). Pelo quadro 2 pode-se verificar que quanto menor a constante de velocidade de acúmulo líquido de clorofila a, maior o teor final de clorofilas totais, o que concorda com a seqüência de reações mostrada.

Um ponto que também merece destaque é que o modelo logístico sugere que tanto os teores iniciais (S_0) quanto finais (S_{∞}) das substâncias analisadas são características de cada cultivar.

Assim, este modelo está em acordo com as informações obtidas da análise de variância discutida anteriormente. Os desvios do modelo logístico são devidos, em parte, à falta de controle experimental sobre fatores ambientais, como temperatura, umidade relativa e intensidade luminosa, pela não determinação da velocidade de crescimento dos tubérculos armazenados e, ainda, pela desconsideração das várias etapas de biossíntese de cada substância determinada.

QUADRO 2 – Valores dos parâmetros da função logística de síntese e acúmulo de clorofilas e glicocalcóides totais em tubérculos maduros de batata dos cultivares Aracy (IAC-2), Bintje e Porta armazenados à luz (1)

	Chl a	Chl b	Protochl	Chl total	GAT
'Aracy' (IAC-2)					
$S_0^{(2)}$	0,62	0,46	0,93	2,41	3,28
$S_\infty^{(2)}$	15,70	7,88	14,41	39,74	13,13
k	0,21	0,19	0,15	0,17	0,12
$\bar{i}_{yx}^{(3)}$	0,79	0,81	0,81	0,82	0,81
$\bar{s}_{yx}^{(2,4)}$	2,68	1,35	1,91	5,74	1,67
'Bintje'					
$S_0^{(2)}$	0,22	0,25	0,47	1,37	4,17
$S_\infty^{(2)}$	11,72	5,46	12,54	32,30	19,72
k	0,23	0,18	0,14	0,15	0,05
$\bar{i}_{yx}^{(3)}$	0,80	0,84	0,89	0,89	0,80
$\bar{s}_{yx}^{(2,4)}$	1,77	0,80	1,04	2,96	1,25
'Porta'					
$S_0^{(2)}$	4,31	2,15	3,24	9,93	6,43
$S_\infty^{(2)}$	36,15	23,55	30,05	92,57	22,94
k	0,12	0,11	0,12	0,11	0,05
$\bar{i}_{yx}^{(3)}$	0,89	0,77	0,82	0,85	0,83
$\bar{s}_{yx}^{(2,4)}$	3,35	2,57	3,35	9,06	1,45

(1) Chl a = clorofila a; Chl b = clorofila b; Ptoochl = protoclorofila; Chl total = clorofila total; GAT = glicocalcóides totais (2): em mg/100g da porção superficial dos tubérculos. (3): índice de correlação ajustado. (4): desvio-padrão da estimativa ajustado.

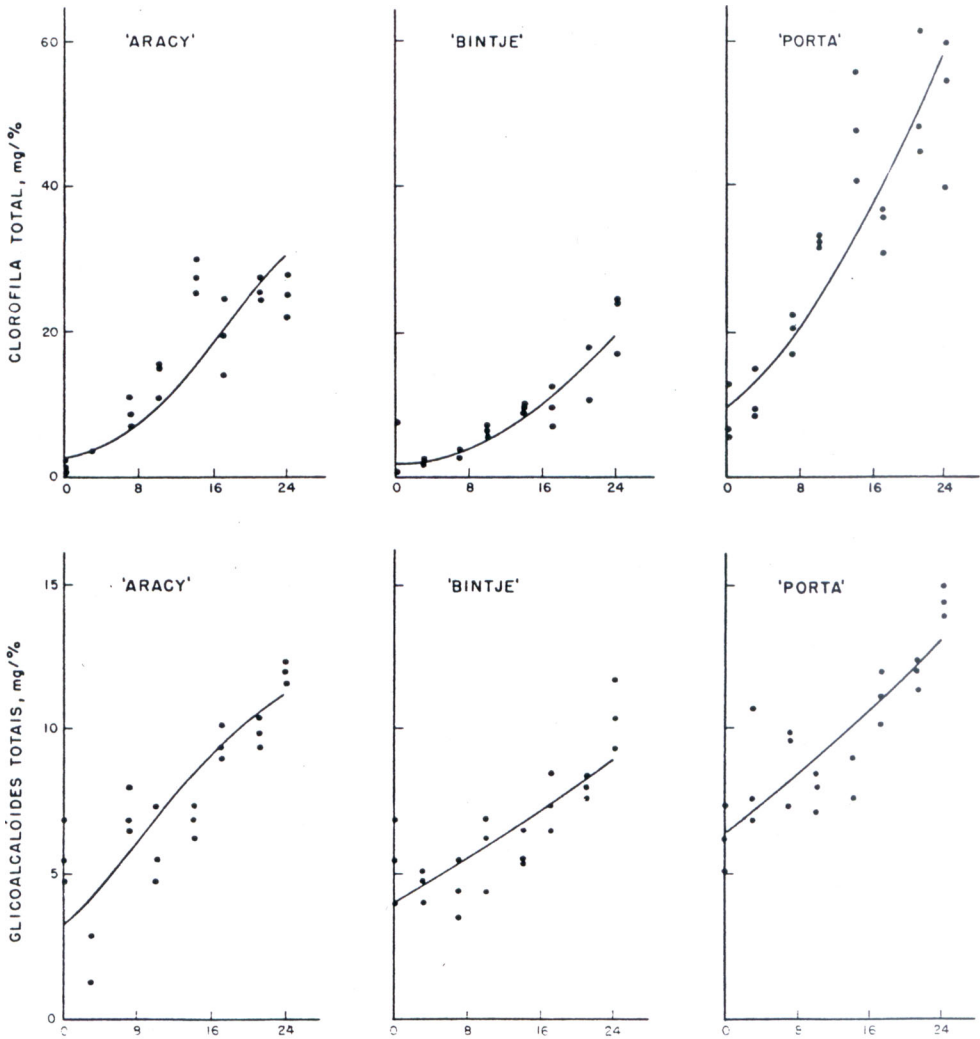


FIGURA 3 – Teores de clorofila total e de glicoalcalóides totais na porção superficial de tubérculos de batata maduros dos cultivares Aracy, Bintje e Porta armazenados à luz. As curvas logísticas foram traçadas com auxílio dos parâmetros apresentados no quadro 2.

O modelo logístico, mesmo sendo uma aproximação grosseira à situação apresentada, permite esclarecer por que em tubérculos armazenados à luz aumentam os teores de clorofilas e glicoalcalóides e também por que ocorre a correlação entre o teor de glicoalcalóides totais e o de clorofilas totais. Esta correlação, apontada tanto pelo senso comum quanto por vários autores (GULL & ISENBERG, 1960; SPOLADORE et alii, 1983; STUART, 1930), é na realidade o resultado da sobreposição de duas outras correlações: a correlação entre o teor de glicoalcalóides totais e o período de armazenamento e a correlação entre o teor de clorofilas totais e o período de armazenamento, considerando-se o período como uma medida da atividade metabólica do tubérculo. Devido estarem as clorofilas ligadas à captação de energia para o metabolismo vegetal, é óbvio supor que, quanto maiores os seus teores, maior será a atividade metabólica do vegetal, o que permite maior atividade de crescimento; isso, porém, não implica necessariamente em aumento dos teores de qualquer outra substância produzida pelo vegetal, razão por que a correlação significativa encontrada entre os teores de clorofilas totais e glicoalcalóides totais em tubérculos armazenados à luz deve ainda ser considerada casual, à semelhança da ocorrência anterior (SPOLADORE et alii, 1983).

4. CONCLUSÕES

Em tubérculos maduros de batata dos cultivares Aracy (IAC-2), Bintje e Porta armazenados à luz natural, verificou-se que:

- 1) os teores de clorofilas totais e glicoalcalóides totais são dependentes do cultivar, do período de armazenamento e da interação entre ambos;
- 2) a intensidade de esverdeamento do tubérculo varia com o cultivar e com o período de armazenamento e pode ser avaliada subjetivamente através de atribuição de notas;
- 3) os teores de protoclorofilas, clorofilas a e b e total e de glicoalcalóides totais podem ser estimados, durante o período de armazenamento, por uma função logística, onde os teores iniciais e finais dessas substâncias são características de cada cultivar, assim como o são suas velocidades de acúmulo líquido.

SUMMARY

SYNTHESIS OF CHLOROPHYLLS AND GLYCOALKALOIDS IN MATURE POTATO TUBERS STORED UNDER NATURAL LIGHT

In mature potato tubers of the cultivars Aracy (IAC-2), Bintje and Porta stored under natural light for 24 days the contents of protoclorophyll, chlorophylls a, b and total glycoalkaloids in the surface portion of the tubers were determined.

The contents of such compounds were dependent of the cultivar, storage time as well as the interaction of these two variables. It was also verified that there were correlations between contents of chlorophylls and total glycoalkaloids. In this period the contents of chlorophylls and total glycoalkaloids as a function of storage time can be described by a logistic function, where the initial and final contents of these compounds are characteristics for each cultivar, as well as are the constants of net synthesis of each compound.

Index terms: *Solanum tuberosum* L.; potato; chlorophylls and glycoalkaloids synthesis; stored tubers; chlorophylls and glycoalkaloids in potato.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOGORAD, L. The biosynthesis of chlorophylls. In: VERNON, L.P. & SEELY, G.R. The Chlorophylls. New York, Academic Press, 1966. Cap. 15, p.481-510.
- CONNER, H.W. Effect of light on solanine synthesis in the potato tuber. *Plant Physiology*, 12: 78-98, 1973.
- CONSTANTINIDES, A. Logarithmic and Logistic Laws of Growth. In: _____ The application of optimization methods to mathematical models of fermentation processes. Columbia University, 1970. Cap. 2, item 2.2, p.25-33. Tese. (Doutoramento).
- GULL, D.D. & ISENBERG, F.M. Chlorophyll and solanine content and distribution in four varieties of potato tubers. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 75: 545-556, 1960.
- _____ & _____ Lightburn and off-flavor development in potato tubers exposed to fluorescent lights. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 71: 446-453, 1958.
- KOSKI, V.M.; FRENCH, C.S. & SMITH, J.H.C. The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll a in normal and albino corn seedlings. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 31: 1-17, 1951.
- PUENTE, O.F. de la & QUITANDRIA, M. Sensibilidad al verdeo en diferentes genótipos de papa. In: REUNION DE LA SOCIEDAD LATINO-AMERICANA DE INVESTIGADORES EM PAPA, ZONA ANDINA (SLIP), 5., Lima, Peru, 1968. Memória. p.42-43.
- SPOLADORE, D.S.; TEIXEIRA, J.P.F.; ZULLO, M.A.T.; TEIXEIRA, P.R.M.; COELHO, S.M.B.M. & MIRANDA F^O, H.S. Ocorrência de glicoalcalóides e esverdeamento em tubérculos de batata recém-colhidos e armazenados. *Bragantia*, Campinas, 42: 221-231, 1983.

- SPOLADORE, D.S.; ZULLO, M.A.T. & TEIXEIRA, J.P.F. Extração e isolamento de α -solanina a partir de brotos de batata. *Bragantia*, Campinas, **42**:255-259, 1983.
- STUART, W. Potato storage and storage houses. Washington, U.S. Department of Agriculture, 1930. 22p. (Farmers Bulletin, 847)
- WANG, S.L.; BEFORD, C.L. & THOMPSON, N.R. Determination of glycoalkaloids in potatoes (*S. tuberosum*) with absolvent extraction method. *American Potato Journal*, **49**:302-308, 1972.
- WOLF, M.J. & DUGGA, B.M. Estimation and physiological role of solanine in potatoes. *Journal of Agricultural Research*, **73**: 1-32, 1915.
- YAMAGUCHI, M.; HUCHES, D.L. & HOWARD, F.D. Effect of season storage temperature, and temperature, during light exposure on chlorophyll accumulation of White Rose Potatoes. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, **75**:529-536, 1960.