

FERRAMENTA DE CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE ARROZ VIA PERFIL FITOQUÍMICO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS

Andrey Martinez Rebelo¹; Rubens Marschalek²; Ester Wickert³, Paulo Henrique Karling Facchinello⁴

Palavras-chave: Compostos majoritários, Cromatografia, Melhoramento genético

INTRODUÇÃO

No processo de seleção de acessos para o desenvolvimento e obtenção de cultivares via melhoramento genético, mais de 50 parâmetros são avaliados durante anos de trabalho multidisciplinar/interinstitucional que levam ao desenvolvimento de novos genótipos superiores de arroz, visando: produtividade, qualidade, rendimento, adaptabilidade a industrialização, teor de amilose e gelatinização, propriedades sensoriais, formato e tamanho dos grãos, tolerância ao acamamento e à toxidez por ferro, resistência a doenças, baixa friabilidade, performance no processamento, cozimento, etc, são importantes para o arroz que se deseja lançar. Além disso, existe a necessidade de enfrentar novas pragas, bem como manter a orizicultura competitiva dotando as variedades de um arcabouço genético capaz de aumentar a resiliência do cultivo de arroz aos extremos de temperatura advindos das mudanças climáticas (UTUMI et al., 2016).

A pré-seleção dos acessos que farão parte do melhoramento pode reduzir etapas ou evitar a obtenção de genótipos de pouco interesse. Quando um novo acesso, ou um novo genótipo, resultante de uma nova combinação genética é introduzida no programa de melhoramento, a seleção baseia-se em características conhecidas, no entanto o êxito na seleção é incerto, e com isso, é difícil chegar à variedades comerciais tolerantes. A identificação e seleção de genótipos pode ser realizada fenotipicamente e assim infere-se as possibilidades de progressão no fluxograma de um programa de melhoramento.

Além do DNA, existem características que são muito particulares entre indivíduos de cada espécie vegetal, e podem ser mais pronunciadas em se tratando de diferentes cultivares. A presença de metabólitos secundários, em especial os voláteis, pode ser uma ferramenta para diferenciar uma espécie ou cultivar (FITRI et al., 2021). Prova disso é que algumas espécies são diferenciadas pelo seu quimiotipo, sendo sua composição um marcador (STEFANELLO et al., 2005). As variações quimiotípicas expressam variações genéticas difíceis de serem evidenciadas fenotipicamente. Esta variação leva à síntese de diferentes moléculas, sendo uma propriedade da planta e não das condições ambientais. Além da importância desta diferenciação, que pode ser estudada em diferentes partes da planta, alguns compostos voláteis são de interesse da culinária. Neste sentido, genótipos com potencial aromático são importantes, pela presença de compostos específicos nas folhas de arroz, que podem ser precursores de aromas expressados no grão, agregando valor em arroz especial (NATH et al., 2022). Desta forma, o objetivo foi empregar a cromatografia em fase gasosa para avaliação qualitativa do perfil cromatográfico dos compostos voláteis, com desenvolvimento de ferramenta para diferenciação e futura qualificação de cultivares em função deste perfil em folhas de arroz; e analisar a distância genética dos genótipos da Epagri utilizando os dados cromatográficos obtidos. Caso estes se revelem coerentes, poderiam ser utilizados para reduzir significativamente o tempo na qualificação dos genótipos para auxiliar no trabalho de melhoramento (seleção) com maior eficácia e maior índice de acerto.

¹ Farmacêutico, Dr. Química Analítica, Epagri - Estação Experimental de Itajaí. Rod. Antônio Heill, 6800 - Itajaí-SC; e-mail: andrey@epagri.sc.gov.br.

² Engenheiro Agrônomo, Dr. Melhoramento, Epagri; e-mail: rubensm@epagri.sc.gov.br

³ Engenheira Agrônoma, Dra. Melhoramento, Epagri; e-mail: esterwickert@epagri.sc.gov.br

⁴ Engenheiro Agrônomo, Dr. Agronomia, UDESC/Epagri; e-mail: paulo.facchinello@udesc.br

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas folhas de 29 genótipos de arroz de idade semelhante, na Estação Experimental de Itajaí (Epagri). Para determinar os compostos voláteis as amostras pesadas, foram colocadas em vials de 20mL hermeticamente fechados. Foi utilizado SPME com fibra de PDMS/DVB de 65 µm de espessura (Supelco) condicionada por 1h em gás hélio a 250°C. Com um auto injetor AOC-5000/Shimadzu a análise dos compostos liberados foi feita utilizando a fibra exposta no vial com programação para agitação até 5min de exposição (incubação), a 50°C. A dessorção da amostra foi realizada com penetração da fibra por 1min no injetor. Posteriormente a fibra foi limpa em forno por 1min. As análises foram conduzidas num espectrômetro de massa CG-MS QP-2010 (Shimadzu) com coluna ZB-5 de 30m com 0,25mm de espessura [Zebron-5% fenil metil poli(siloxano)]. O gás de arraste foi o hélio (5.0), com fluxo de 1,7mL/min, modo de análise SCAN, modo de ionização de impacto eletrônico (70 eV). O programa de temperatura foi inicialmente de 30°C com taxa de aquecimento de 8°C/min até 290°C, resultando em corrida de 32,5min, com injetor a 280°C e detector a 240°C. As amostras foram analisadas no modo "splitless". Após a obtenção dos espectros de massas foi possível avaliar o perfil cromatográfico obtido. Após a obtenção dos dados cromatográficos foi determinada a matriz de distância pelo método de euclidiana média padronizada (D) entre os genótipos. Essa matriz de distância, em escala relativa, foi utilizada como medida de dissimilaridade para a análise de agrupamento dos genótipos pelo método da ligação média entre grupos ou hierárquico UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages) (CRUZ & CARNEIRO, 2003), com análises realizadas pelo software estatístico GENES (CRUZ, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise cromatográfica foi possível obter 29 perfis cromatográficos das folhas das cultivares e linhagens de arroz. Estes perfis, por se apresentarem peculiares a cada genótipo, podem ser comparados a impressões digitais. Diante dos dados foi possível identificar que entre os genótipos existem similaridades ou mesmo diferenças muito importantes. A SC 806 destacou-se por apresentar um pico em 4,6 min com abundância no mínimo 10 vezes maior que as demais plantas (Figura 1A). A BRS A706, apresentou 6 picos dos 7 compostos monitorados (Figura 1B). As linhagens SC 849 (Figura 1C) e SC 914 (Figura 1D) apresentaram apenas 2 dos picos monitorados.

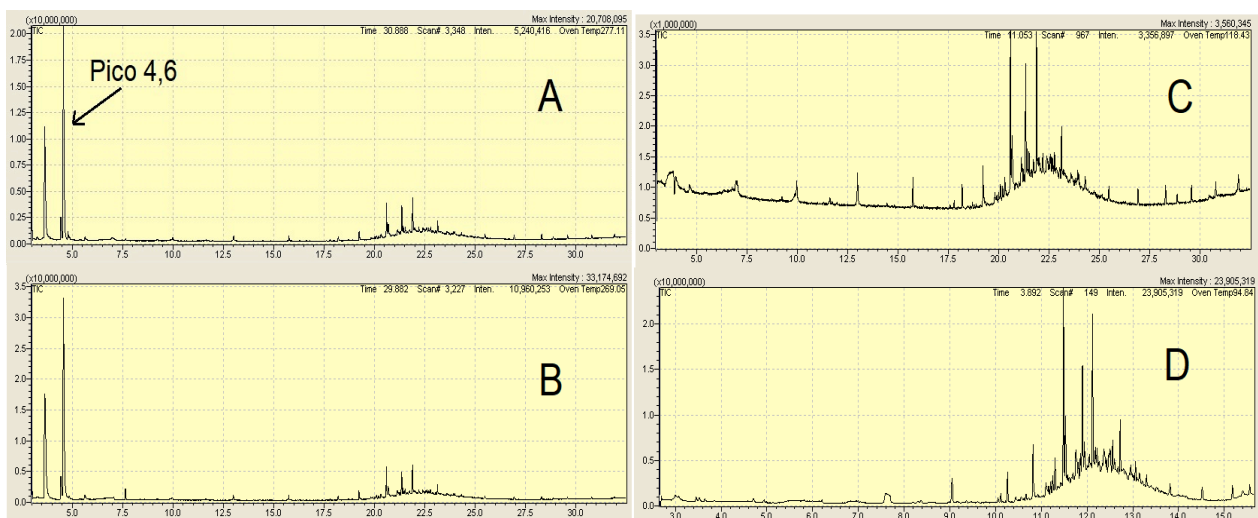


Figura 1. Perfis Cromatográficos obtidos por cromatografia em fase gasosa acoplada ao um espectrômetro de massas. A. SC 806; B. Perfil da BRS A706; C. SC 849 e D. SC 914.

Entre os 29 genótipos, 9 tiveram apenas 4 picos dos 11 monitorados neste estudo, sendo na maioria compostos de baixo peso molecular.

Observando os perfis cromatográficos constatou-se diferenças entre os genótipos de arroz e que estas poderiam ser evidenciadas por cromatografia. Em estudo que visava a diferenciação entre cultivares de oliveira foi possível, por meio da análise dos ácidos graxos, diferenciar as cultivares e correlacionar características fenotípicas das mesmas (OLIVEIRA et al, 2012). Estudos que analisaram compostos voláteis em diferentes cultivares de café encontraram características que além de diferenciá-las quimicamente puderam avaliar a influência destes compostos sobre o comportamento de *Hypothenemus hampei*, uma das principais pragas desta cultura (MICHEREFF et al., 2018). Diante destes estudos podemos supor que o emprego da cromatografia nos trabalhos de melhoramento tem grande potencial e deve ser explorada, tanto para identificação e seleção precoce de genótipos potencialmente promissores.

No dendrograma (Figura 2), a linha de corte foi apresentada em 0,55 de distância genética (primeiro nível significativo da matriz de dissimilaridade) para definição dos grupos, percebe-se a coerência dos resultados, posto que dos 29 genótipos, 25 tem dissimilaridade de cerca de 33% apenas. Neste grupo estão inclusas a linhagem com potencial aromático SC 849 e Empasc 104, que ao contrário do esperado, não diferiram dos demais genótipos, que são não aromáticos.

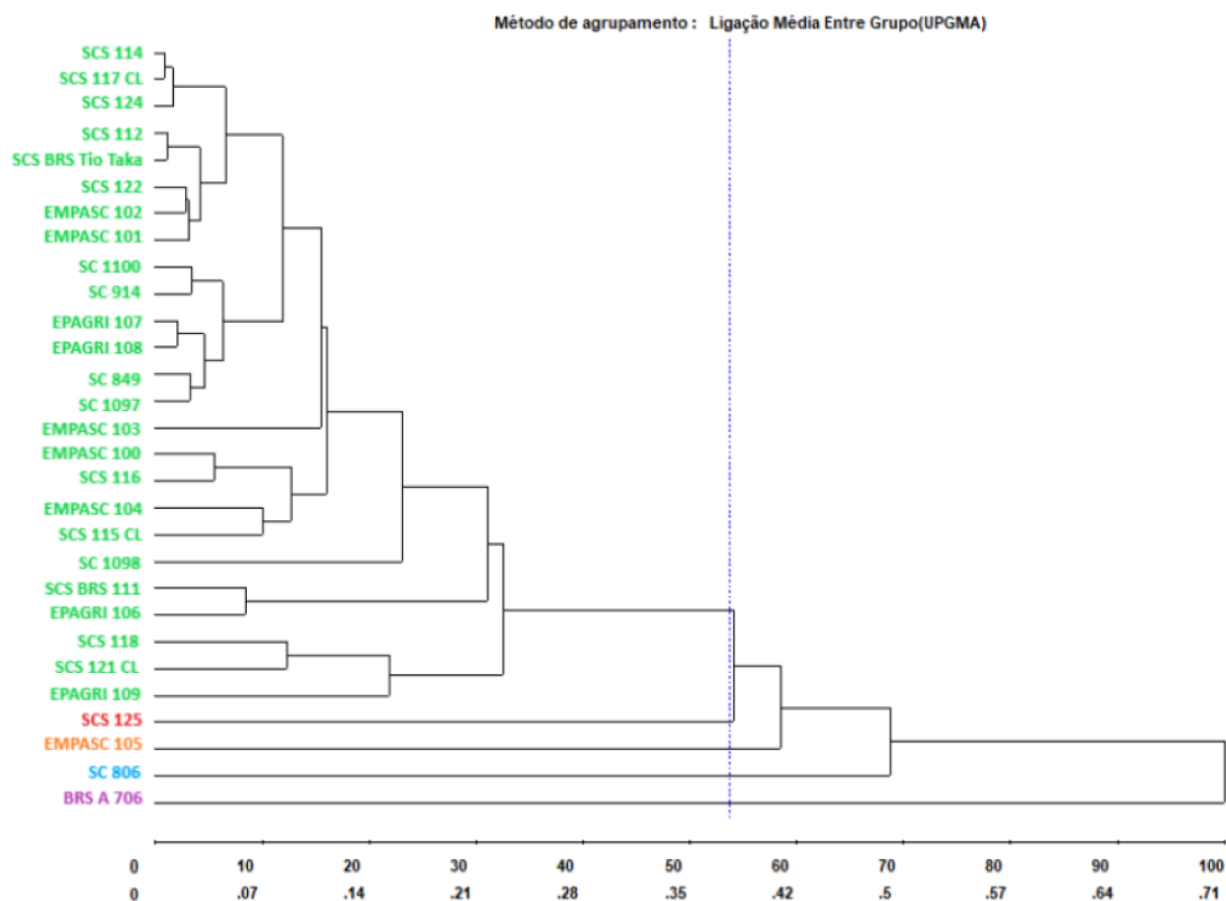


Figura 2 – Dendrograma de 29 genótipos de arroz da Epagri pelo agrupamento de Ligação média entre grupo via matriz de dissimilaridade genética pelo método de Euclidiana Média.

Guardando diferença das 29 estão: (1) a cultivar SCS 125, cujos ancestrais refletem contribuições pouco usuais no programa de melhoramento genético da Epagri; (2) a cultivar Empasc 105, que embora detenha uma genealogia pouco clara, permite inferir tratar-se de material exótico bastante diferenciado, o que até hoje é percebido tanto na indústria quanto no

cultivo; (3) já a SC 806, é uma linhagem da Epagri/Embrapa cujo cruzamento envolve Irga 424 e BRS Pampa, ou seja, sua localização no dendrograma expressa fielmente sua diferença de base genética em relação aos demais genótipos epagrianos.

Em estudo para diferenciação de cultivares de arroz negro via análise fitoquímica, constatou-se que a composição fitoquímica do grão também está ligada às características genéticas e a distância genética avaliada em 21 cultivares (FITRI et al., 2021), isto confirma que existe relação genética com a composição química encontrada nas plantas.

Chama a atenção o pico diferencial da SC 806 (Figura 1A). É bastante interessante visto que esta linhagem é candidata à lançamento pela Epagri/Embrapa como tolerante à extremos de temperatura na fase reprodutiva. Eventualmente este pico possa estar relacionado à esta tolerância. Já a BRS A706 (Embrapa), de fato se mostrou totalmente diferenciada dos genótipos da Epagri, pelo mesmo motivo da SC 806: seus genitores são genótipos Irga e Embrapa.

CONCLUSÃO

O uso da cromatografia em fase gasosa pode ser empregada como importante ferramenta para identificação e diferenciação de cultivares em função do perfil cromatográfico, obtido da análise de compostos voláteis das folhas. A ampliação destes estudos e a identificação das moléculas, tornará esta ferramenta mais robusta e permitirá elucidar características de novos acessos e agrupá-los de acordo com sua distância genética.

AGRADECIMENTOS

A Fapesc pelo suporte financeiro e Alexandre F. Corrêa e Iremar Ferreira pelo trabalho de apoio nas rotinas laboratoriais UENQ/EEI/Epagri e Geovani Porto em apoio as rotinas de campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRUZ, C.D. 2006. Programa Genes: Biometria. Viçosa: Editora UFV. 382p
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO P.C.S.. 2003. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. V. 2. Viçosa: UFV. 585p.
- FITRI, IRZA GUARI SYAH; NURHASANAH, NURHASANAH; HANDOYO, TRI. Genetic and phytochemical analysis of Indonesian black rice cultivars. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 2021.
- OLIVEIRA, M. C. DE; RAMOS, J. D.; PIO, R.; CARDOSO, M. DAS G.. Características fenológicas e físicas e perfil de ácidos graxos em oliveiras no sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.1, p.30-35, 2012.
- MICHEREFF, M. F.; FURTADO; BLASSIOLI-MORAES, M. C. A; BORGES, M.; DE MORAIS, S. D.; MAGALHÃES, D. M.; LAUMANN, R. A.; DA SILVA, C. C.; MENEGHIN, A. M.; COSTA, J. N. M.S. Perfil de voláteis, constitutivos e induzidos por herbivoria, de frutos de diferentes variedades de café e sua influência sobre o comportamento de *Hypothenemus hampei*. **Circular Técnica 93**. Brasília, DF, Maio, 2018.
- NATH, S.; BHATTACHARJEE, P.; BHATTACHARJEE, S.; DATTA, J.; DOLAI, A. K.. Grain characteristics, proximate composition, phytochemical capacity, and mineral content of selected aromatic and non-aromatic rice accessions commonly cultivated in the North-East Indian plain belt. **Applied Food Research**. v.2, n. 1, 2022.
- STEFANELLO, M. E. A.; ALVARENGA, M. A.; TOMA, I. N.; MELLO-SILVA, R.. Ocorrência de quimiotipos em *Talauma ovata*, uma planta medicinal brasileira. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, Botucatu, v.8, n.1, p.1-3, 2005
- UTUMI, MARLEY M.; SILVA-LOBO, VALÁCIA L.; MELLO, RAQUEL N.; FURTINI, ISABELA VOLPI. Melhoramento do arroz e a segurança alimentar. *Melhoramento Genético*. Embrapa Arroz e Feijão: Rondônia. 2016.