

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Aline José da Silveira

**Potencial agrônômico e dissimilaridade genética entre genótipos de alface ricos em
carotenoides**

**Monte Carmelo - MG
2018**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Aline José da Silveira

Potencial agronômico e dissimilaridade genética entre genótipos de alface ricos em carotenoides

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia, Campus Monte Carmelo, da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel

**Monte Carmelo – MG
2018**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Aline José da Silveira

Potencial agronômico e dissimilaridade genética entre genótipos de alface ricos em carotenoides

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia, Campus Monte Carmelo, da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Monte Carmelo, 11 de julho de 2018

Banca Examinadora

Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel
Orientador

Prof. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli
Membro da Banca

Ms. Joicy Vitória Miranda Peixoto
Membro da Banca

**Monte Carmelo - MG
2018**

“Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, ao meu pai João, minha mãe Iva, aos meus irmãos e a minha vó Maria.”

AGRADECIMENTO

A Deus por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades.

Aos meus pais, João e Iva, que sempre me apoiaram e ajudaram para que esse sonho se concretizasse.

Aos meus irmãos (Kelly e Junio), a minha vó Maria Rosa pelo apoio dado aos meus estudos, pelo carinho e compreensão.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel.

Ao Grupo de Estudos em Melhoramento Genético de Hortaliças (GEN-HORT) pelas oportunidades de aprendizado e por tudo que tem me ajudado.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores que ao longo desta jornada contribuíram para o meu aprendizado e desenvolvimento.

Aos amigos que não foram citados, mas que fazem parte da minha história. Que Deus abençoe todos vocês!

Muito obrigada!

RESUMO

A alface é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil. A cultura se destaca pela importância socioeconômica que desempenha no país, bem como pelos benefícios nutricionais à saúde humana. É escasso relatos da variabilidade genética em bancos de germoplasma de alface biofortificada. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial agrônomico e diversidade genética em novos genótipos de alface ricos em carotenoides. Foram avaliados 83 genótipos de alface quanto ao teor de clorofila foliar a, b e total; diâmetro de copa, número de folhas, tamanho de planta (normal e mini-hortaliça), formato da folha e coloração da folha. O teor de clorofila foliar foi utilizado de forma indireta para a estimativa do teor de carotenoides, tendo uma correlação acima de 80%. O experimento foi realizado em delineamento em blocos casualizados com duas repetições. O banco de germoplasma de alface da UFU apresenta variabilidade genética, potencial agrônomico e são ricas em carotenoides, possibilitando fomentar futuros programas de melhoramento. O descritor que mais contribuiu com a variabilidade genética foi o teor de clorofila foliar, consequentemente o teor de carotenoides (42,7%) dos genótipos avaliados.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*; variabilidade; vitamina A.

ABSTRACT- - The lettuce is the most cultivated leaf vegetable in Brazil. The crop's highlight, in the country, is due to its socioeconomic importance and human health benefits. There is no relates of genetic variability in germplasm banks of biofortified lettuce. Facing that, the objective of this paper was to evaluate the agronomic potential and genetic diversity, in lettuce genotypes that are rich in carotenes. In the experiment, 83 genotypes, obtained from the germplasm bank of UFU, were evaluated for leaf chlorophyll content (a, b and total); canopy diameter and number of leaves, plant size (normal and mini-vegetable, leaf shape and leaf color. The leaf chorophyll content was indirectly used to estimate the carotenoid content, with a correlation above 80%. The experiment was done in randomized block design with two replications. The biofortified lettuces showed genetic diversity, agronomic potential and high carotenes content. The UPGMA grouping method was the most efficient in order to obtain divergent groups.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	7
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
4 CONCLUSÃO	14
REFERÊNCIAS	14

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais importante no mundo, destacando como espécie de grande importância econômica e social. A área cultivada no Brasil é estimada em 30.000 ha/ano (SALA; COSTA, 2016). Tradicionalmente cultivada por agricultores familiares (VILLAS BÔAS et al., 2004), a cultura se destaca pela importância socioeconômica que desempenha no país, bem como pelos benefícios nutricionais à saúde humana. Pode-se afirmar que o consumo de alface auxilia na prevenção de diversas doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como o câncer e doenças cardiovasculares (CARVALHO et al., 2006; LLORACH et al.; 2008, MAIANI et al., 2009; ROCHA, REED, 2014). Além disso, a hortaliça também pode ser uma importante fonte de vitamina A.

A vitamina A é encontrada em alimentos de origem animal, ao passo que nos vegetais, como na alface, são fornecidos carotenoides precursores de vitamina A, sendo o β -caroteno o mais importante e abundante (SILVA; MURA, 2010). A deficiência desta vitamina é um problema sério de saúde pública em todo o mundo, podendo causar aumento do risco de mortalidade, morbidade e cegueira em crianças (MILAGRES et al., 2007; RAMALHO et al., 2008).

Uma excelente alternativa de suplementação de vitamina A poderia ser o consumo de alface ricas em carotenoides. Há relatos de um genótipo de alface do tipo lisa (Uberlândia 10000) rico em carotenoide (SOUZA et al., 2007). Existem vários tipos de alface cuja ordem de importância econômica são a crespa, americana, lisa e romana (SALA; COSTA, 2012).

O desenvolvimento de genótipos promissores depende da variabilidade genética disponível em bancos de germoplasma (LEBEDA et al., 2014). Neste contexto ao se realiza o cruzamento entre genitores divergentes é possível selecionar plantas superiores em novas populações segregantes e, assim, desenvolver novas cultivares. A variabilidade entre progenitores pode ser estimada pelo uso de medidas de dissimilaridade genética (TARDIN et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; TREUREN, 2009; AZEVEDO et al., 2013).

A possibilidade de seleção indireta para β -caroteno por meio da avaliação da clorofila foliar também tem sido recomendada, facilitando a seleção de genótipos superiores (MOU, 2005; CASSETARI et al., 2015).

Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial agrônomico e diversidade genética em novos genótipos de alface ricos em carotenoides.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado entre 2013 a 2016 na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) (altitude 873 m, 18°42'43,19"S, 47°29'55,8"), em Monte Carmelo-MG. A região apresenta clima temperado úmido com verão quente e inverno seco. As temperaturas máxima, média e mínima durante a condução do trabalho foram 38, 22 e 18°C, respectivamente.

Foram avaliados 82 genótipos obtidos após hibridação, seguida de duas autofecundações a partir do método genealógico, entre 2013 a 2015. Este germoplasma faz parte do programa de melhoramento genético de alface biofortificada da UFU, oriundo do cruzamento da cultivar Pira 72 (conhecida como Belíssima) com a linhagem Uberlândia 10000. Em adição foi avaliada a linhagem Uberlândia 10000, que possui folhas lisas, verdes e alto teor de vitamina A (10000 UI) (SOUZA et al., 2007).

Os genótipos foram semeados no dia 10 de fevereiro de 2016. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido, com 200 células preenchidas com substrato comercial a base de fibra de coco. Após a semeadura, as bandejas permaneceram em casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5 x 6 m e pé direito de 3,5 metros coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioleta, e cortinas laterais de tela branco anti-afídeos.

Aos 28 dias após a semeadura as mudas foram transplantadas para canteiros definitivos em campo formados com a utilização de rotoencanteirador de 1,30 m de largura.

O solo apresentou as seguintes características: pH (H₂O) = 5,9; P disponível = 30,1 mg dm⁻³; K = 0,22 cmol_c dm⁻³; Ca⁺² = 2,8 cmol_c dm⁻³; Mg = 1,0 cmol_c dm⁻³; H⁺ + Al⁺³ trocável = 3,40 cmol_c dm⁻³; matéria orgânica = 4,2 dag Kg⁻¹; Índice SMP = 3,40; Alumínio = 0,0 cmol_c dm⁻³; CTC pH 7,0 = 7,42 cmol_c dm⁻³; Sat CTC pH 7,0 por bases = 54 %; Sat CTC efetiva por Alumínio = 0 %; Cobre = 2,3 mg dm⁻³; Zinco = 6,6 mg dm⁻³ e Manganês = 6,6 mg dm⁻³. Os tratos culturais foram realizados conforme preconizado para o cultivo de alface (FILGUEIRA, 2008).

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, duas repetições, utilizando o seguinte modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + b_j + t_i + e_{ij}$. As parcelas foram constituídas por 20

plantas, separadas em quatro fileiras por canteiro no espaçamento de 0,30 m x 0,25 m com 0,8 m de distância entre os canteiros. Foram avaliadas as seis plantas centrais de cada parcela.

Após 40 dias do transplante, foram realizadas as seguintes avaliações para os dados quantitativos:

Clorofila foliar a e b (ICF – Índice de Clorofila Falker): Os dados foram medidos utilizando-se clorofilômetro digital portátil (Clorofilog - CFL 1030 Falker), a 0,02 m da borda na posição central e a 0,05 m da nervura central, em seis folhas de cada parcela.

Clorofila total (Parâmetro para o teor de carotenoides): somatório dos teores de clorofila (a + b) em seis folhas de cada parcela, sendo realizada a média para o teor de clorofila total em seguida. Os valores de clorofila foliar total foram utilizados de forma indireta para a estimativa do teor de carotenoides. Sabe-se que ambos (teor de clorofila foliar e carotenoides) possuem alta correlação na cultura da alface, sugerindo um potencial e eficiente uso do teor de clorofila como indicador indireto do teor de carotenoides (MOU, 2005; CASSETARI et al., 2015).

Diâmetro de copa: mensuração do diâmetro das plantas em seis plantas da parcela, com auxílio de uma régua graduada em centímetros, sendo realizada a média em seguida.

Número de folhas: contagem do número de folhas em seis plantas da parcela, realizando a média em seguida.

Os dados qualitativos avaliados, em forma de notas, foram; tamanho (1-normal, 2-mini-hortaliça), formato de folha (1-lisa, 2-crespa) e coloração da alface (1-verde, 2-roxa, 3-variegada).

A dissimilaridade genética entre os acessos foi realizada por meio de análises multivariadas. Os dados qualitativos foram agrupados por meio de variáveis multicategóricas e a matriz de dissimilaridade calculada pela distância de Cole-Rodgers. A matriz de dissimilaridade para os dados quantitativos foi obtida pela distância de Mahalanobis. Ambas as matrizes (dados quantitativos e qualitativos) foram somadas e a divergência genética foi representada por dendrograma obtido pelo método hierárquico Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages (UPGMA) e pelo método Tocher. Todos os dados obtidos foram analisados utilizando-se o software Genes (CRUZ, 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, os genótipos de alface apresentaram variabilidade genética e constituíram diferentes grupos de acordo com os métodos de agrupamento UPGMA e método de otimização Tocher (Figura 1 e Tabela 1, respectivamente).

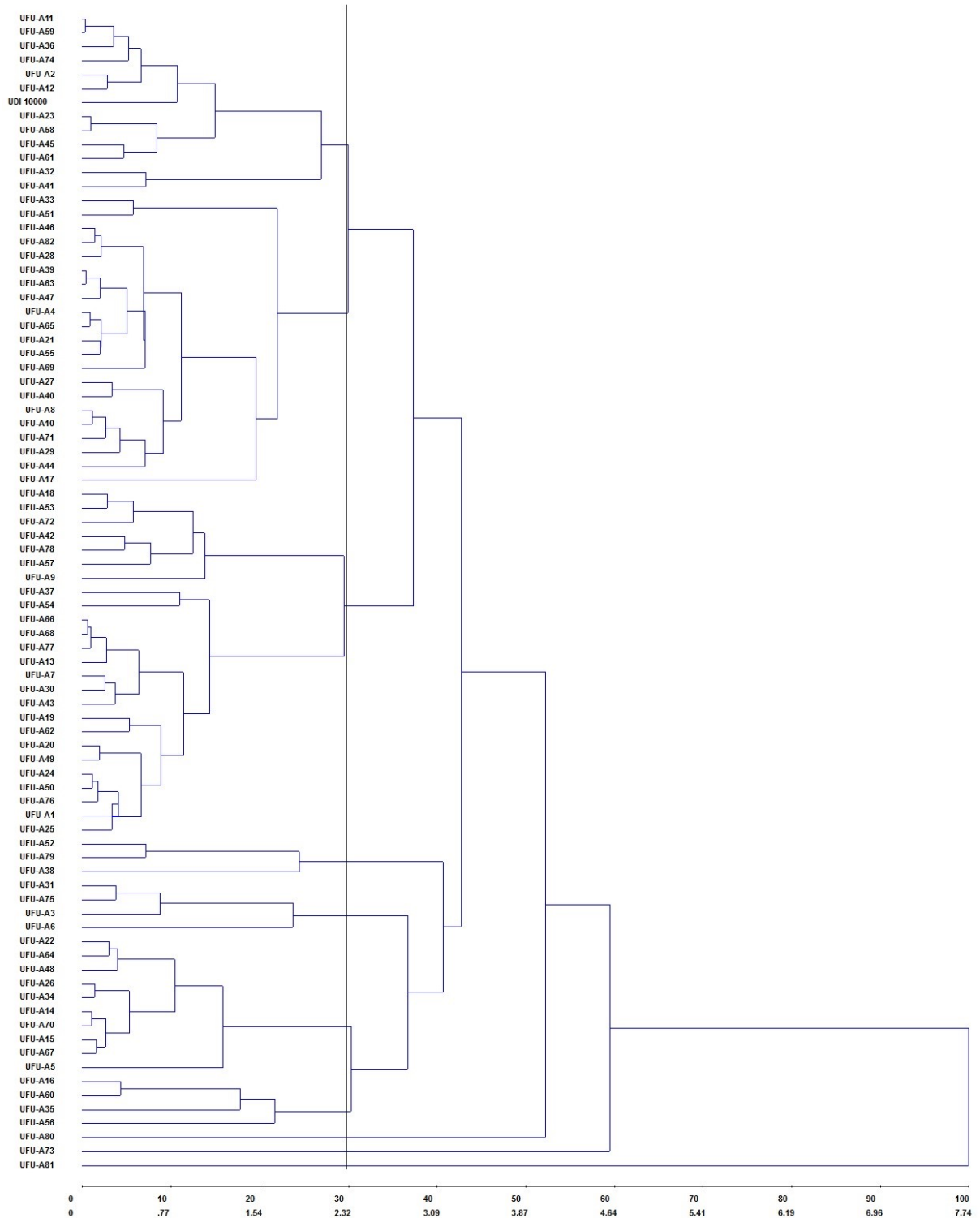


Figura 1. Dendrograma da divergência genética entre 83 genótipos de alface, obtido pelo Método Hierárquico de ligação média “UPGMA” como medida de dissimilaridade.

Tabela 1. Agrupamento formado por 83 acessos de alface pelo método de otimização Tocher.

Grupo	Acessos
I	UFU-A1, UFU-A2, UFU-A3, UFU-A4, UFU-A5, UFU-A6, UFU-A7, UFU-A8, UFU-A9, UFU-A10, UFU-A11, UFU-A12, UFU-A13, UFU-A14, UFU-A15, UFU-A16, UFU-A17, UFU-A18, UFU-A19, UFU-A20, UFU-A21, UFU-A22, UFU-A23, UFU-A24, UFU-A25, UFU-A26, UFU-A27, UFU-A28, UFU-A29, UFU-A30, UFU-A31, UFU-A32, UFU-A33, UFU-A34, UFU-A35, UFU-A36, UFU-A37, UFU-A38, UFU-A39, UFU-A40, UFU-A41, UFU-A42, UFU-A43, UFU-A44, UFU-A45, UFU-A46, UFU-A47, UFU-A48, UFU-A49, UFU-A50, UFU-A51, UFU-A52, UFU-A53, UFU-A54, UFU-A55, UFU-A56, UFU-A57, UFU-A58, UFU-A59, UFU-A60, UFU-A61, UFU-A62, UFU-A63, UFU-A64, UFU-A65, UFU-A66, UFU-A67, UFU-A68, UFU-A69, UFU-A70, UFU-A71, UFU-A72, UFU-A73, UFU-A74, UFU-A75, UFU-A76, UFU-A77, UFU-A78, UFU-A79, UFU-A80, UDI 10000
II	UFU-A81

Pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA houve a formação de 10 grupos distintos, com o ponto de corte em 30% (Figura 1), estabelecido onde houve mudança abrupta dos dados (CRUZ et al., 2012). O grupo I foi formado por 12 genótipos e a cultivar comercial Uberlândia 10000, sendo todas as alfaces de tamanho normal, verdes e com folhas lisas. Essa cultivar se destaca pelo alto teor de carotenoides que apresenta, permitindo inferir que todos os genótipos agrupados juntamente à Uberlândia 10000 também possuem elevada quantidade de precursores de vitamina A.

A média do teor de clorofila total entre os grupos mais divergentes diferiu 6,7 evidenciando maior discrepância entre os genótipos do grupo X e VIII (Tabela 2). Atualmente é escasso germoplasma de alface com ampla variabilidade genética para teor de clorofila. Há relatos que o teor de clorofila em alface correlacionou acima de 80% com teor de carotenoides (CASSETARI et al., 2015).

Os grupos II e III apresentaram alfaces de tamanho normal e com folha do tipo crespa, se diferenciando principalmente pela coloração. No grupo II foram observadas alfaces de cor verde e, no grupo III, cor variegada. Os grupos I, II e III corresponderam a 72% das alfaces avaliadas. A prioridade em programas de melhoramento genético de alface do tipo crespa em países de clima temperado é desconsiderável, entretanto no Brasil, os consumidores preferem alfaces do tipo crespa (SALA; COSTA, 2012). Atualmente não há cultivares de alface do tipo crespa ricas em carotenoides. Na presente pesquisa foi possível identificar ampla variabilidade genética em relação aos caracteres avaliados (teor de clorofila foliar a, b e total; diâmetro de copa, número de folhas, tamanho de planta, formato da folha e coloração da

folha), possibilitando fomentar futuros programas de melhoramento. Vale ressaltar que devido a maior preferência pelo consumidor brasileiro por alfaces do tipo crespa, sugere-se que seja priorizado os genótipos dos grupos I e II para programas de melhoramento em função dos benefícios proporcionados pelo consumo de alface (MILAGRES et al., 2007).

Tabela 2. Características relativas a 83 genótipos de alface, considerando os agrupamentos gerados pelo método UPGMA baseado na Distância de Mahalanobis.

Grupos	Nº	C.a ¹	C.b ¹	C.T ¹	N.F ¹	D ¹	Tipo ²	Cor ²
I	13	28,8±4,1	5,9±1,5	34,6±5,6	33,8±9,4	33,4±4,4	lisa	verde
II	21	28,5±3,8	5,9±1,6	34,5±5,3	37,7±8,0	33,1±4,0	crespa	verde
III	25	29,3±4,0	6,5±1,9	35,9±5,7	33,6±6,1	32,3±3,7	crespa	variegada
IV	3	30,1±3,2	6,4±1,3	36,5±4,4	43,6±11,1	29,7±3,5	mini/lisa	variegada
V	4	31,2±3,3	7,3±1,3	38,6±4,6	49,8±7,0	32,0±3,3	lisa	verde
VI	10	28,7±4,0	6,0±1,4	34,6±5,2	38,4±7,6	34,6±2,6	lisa	variegada
VII	4	28,0±4,8	6,0±1,8	33,9±6,6	37,2±9,4	35,8±5,1	lisa	roxa
VIII	1	27,1	5,3	32,4	36,5	42,8	lisa	variegada
IX	1	31,7	7,4	39,0	54,1	43,0	crespa	verde
X	1	31,2	7,4	39,1	33,5	30,7	mini/lisa	roxa

¹Para os grupos com mais de um genótipo o desvio padrão foi calculado e aparece após as médias. C.A: clorofila a (ICF); C.B: clorofila b (ICF); C.T: clorofila total (ICF); N.F: número de folhas (folhas planta⁻¹); D: diâmetro de copa (cm). ²Valores obtidos da moda dos representantes de cada grupo.

Os grupos IV e X se destacaram por agrupar mini-alfaces com folhas lisas, de coloração variegada e roxa, respectivamente, e menores valores médios de diâmetro de copa. Contudo, as mini alfaces do grupo IV apresentaram maior valor médio do número de folhas por planta quando comparado com o genótipo X. O cultivo de mini alface no Brasil é crescente, no entanto, pouco explorado (SALA; COSTA, 2012). Atualmente não há genótipos de mini alface biofortificada (ricas em carotenoides) para uso direto em programas de melhoramento genético. Na presente pesquisa, está evidente a variedade no germoplasma deste segmento (mini alface) para uso direto em programas de melhoramento.

Os grupos V, VI, VII e VIII apresentaram alfaces com folhas do tipo lisa e diferentes tipos de coloração (verde, variegada e roxa). No entanto, os genótipos do grupo V se destacaram pelo maior valor médio do número de folhas por planta (49,8); e o genótipo do grupo VIII (UFU-A80) pelo maior valor médio de diâmetro de copa (42,8 cm) comparados com os grupos de alface do tipo lisa. O genótipo do grupo IX (UFU-A73) também apresentou grande diâmetro de copa (43,0 cm) possuindo folhas do tipo crespa e cor verde. Pode-se

verificar que tais genótipos aliam potencial agrônomico e níveis elevados de carotenoides nas folhas (Tabela 2). O segmento de alface lisa no Brasil não é o mais relevante (SALA; COSTA, 2012), no entanto, está presente constantemente na alimentação, justificando empenho de pesquisas visando biofortificação e alimentação saudável (MILAGRES et al., 2007).

Houve uma grande formação de grupos pelo método UPGMA, apresentando um coeficiente de correlação cofenética de 0,80. Em contrapartida, pelo método Tocher houve a separação de apenas dois grupos. O grupo I foi formado pela maioria dos genótipos; e o grupo II somente pelo genótipo UFU-A81 (Tabela 1), sendo este do tipo mini, lisa e de cor roxa. Um dos fatores que pode interferir na separação de grupos em genótipos de alface é a quantidade de descritores utilizados (KŘÍSTKOVÁ et al., 2008). Para os descritores quantitativos e qualitativos utilizados neste estudo, o método de agrupamento UPGMA foi mais eficiente devido à diversidade de grupos formados. Vale ressaltar que o teor de clorofila foliar total foi o descritor que mais contribuiu com a variabilidade genética (42,7%) dos genótipos avaliados (Tabela 3). CASSETARI et al. (2015), observaram que há correlação positiva entre o teor de clorofila nas folhas de alface e o teor de β -caroteno.

Tabela 3. Contribuição relativa caracteres quantitativos na divergência genética de 83 genótipos de alface segundo critério de Singh (1981).

Características	S.j	S.j (%)
Teor de clorofila A	376,68	0,77
Teor de clorofila B	6485,02	13,28
Teor de clorofila foliar total	20688,52	42,37
Diâmetro da planta	8908,39	18,24
Número de folhas	1236743	25,33

Os consumidores cada vez mais são atraídos por produtos inovadores, seja pela coloração, sabor ou tamanho. Neste contexto, aliado ao alto teor de carotenoides as mini-alfaces pertencentes aos grupos IX e X pelo método UPGMA se destacam e apresentam potencial comercial. Além disso, poderiam ser utilizadas como genitores em futuros programas de melhoramento genético.

4 CONCLUSÃO

As alfaces biofortificadas do banco de germoplasma da UFU apresentam variabilidade genética, potencial agrônômico e são ricas em carotenoides.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, A. M. et al. Seleção de genótipos de alface para cultivo protegido: divergência genética e importância de caracteres. **Horticultura Brasileira**, n. 31, p.260-265, 2013
- CARVALHO, P. G. B. et al. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 397-404, 2006.
- CASSETARI, L. S. et al. β -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, Lisboa, v. 1083, p. 469-474, 2015.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 4. ed. Viçosa: UFV, 2012. v. 1, 514p.
- CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n.3, p. 271-276, 2013.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. 422p.
- KŘÍSTKOVÁ, E.; DOLEŽALOVÁ, I.; LEBEDA, A.; VINTER, V.; NOVOTNÁ, A.. Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. **Horticultural Science**, Prague, v. 35, n. 3, 2008.
- LEBEDA, A. et al. Wild *Lactuca* species, their genetic diversity, resistance to diseases and pests, and exploitation in lettuce breeding. **European Journal of Plant Pathology**, v. 138, n. 3, p. 597-640, 2014.

- LLORACH, R. et al. Characterization of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, London, v. 108, n. 3, p. 1028-1038, 2008.
- MAIANI, G. et al. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 53, n. 2, p. 194–218, 2009.
- MILAGRES, R. C. R. M.; NUNES, L. C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, Santa Maria, v. 12, p. 1253-1266, 2007.
- MOU, B. Genetic variation of beta-carotene and lutein contents in Lettuce. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 130, p. 7, 2005.
- OLIVEIRA, A. C. B. de; SEDIYAMA, M. A. N.; PEDROSA, M. W.; GARCIA, N. C. P.; GARCIA, S. L. R. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.26, n. 2, p.211-217, 2004.
- RAMALHO, R.; PADILHA, P.; SAUNDERS, C. Análise crítica de estudos brasileiros sobre deficiência de vitamina A no grupo materno-infantil. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 392-9, 2008.
- ROCHA, D. S.; REED, E. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância para a saúde. **Estudos**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 76-85, 2014.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacecultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 30, n. 2, p. 187-194, Jun. 2012.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. Melhoramento de alface. In: NICK, C.; BORÉM, A. Melhoramento de hortaliças. Viçosa, MG: UFV, 2016. Cap.3, p.95-127.
- SILVA, S. M. C.; MURA, J. D. P. **Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2010. 1256 p.

SOUZA, S. S. et al. Divergência genética entre genótipos de alface por meio de marcadores AFLP. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2007.

TARDIN, F. D. et al. Genetic diversity and determination of the optimum number of RAPD markers in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 1-5, 2003.

TREUREN, R.; HINTUN, TH. Comparison of anonymous and targeted molecular markers for the estimation of genetic diversity in *ex situ* conserved *Lactuca*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.119, p. 1265-1279, 2009.

VILLAS BÔAS, R. L. et al. Efeito de doses e tipos de compostos orgânicos na produção de alface em dois solos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.28-34, jan-mar 2004.