

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

VANESSA APARECIDA CAETANO ALVES

**ANÁLISES BIOQUÍMICA E GENÉTICA DOS TEORES DE  
FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM  
ALFACE.**

PATOS DE MINAS – MG  
FEVEREIRO DE 2020

VANESSA APARECIDA CAETANO ALVES

**ANÁLISES BIOQUÍMICA E GENÉTICA DOS TEORES  
DE FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM  
ALFACE.**

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-graduação em  
Biotecnologia como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em  
Biotecnologia.

**Orientador: Dr. Luiz Antônio  
Augusto Gomes.**

PATOS DE MINAS – MG

FEVEREIRO DE 2020

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

A474  
2020

Alves, Vanessa Aparecida Caetano, 1984-  
Análises bioquímica e genética dos teores de flavonoides e  
atividade antioxidante em alface [recurso eletrônico] / Vanessa  
Aparecida Caetano Alves. - 2020.

Orientador: Luiz Antônio Augusto Gomes.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Biotecnologia.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.259>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Biotecnologia. I. Gomes, Luiz Antônio Augusto, 1955-,  
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação  
em Biotecnologia. III. Título.

CDU: 60

VANESSA APARECIDA CAETANO ALVES

**ANÁLISES BIOQUÍMICA E GENÉTICA DOS TEORES DE FLAVONOIDES E  
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM ALFACE**

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-graduação em  
Biotecnologia como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em  
Biotecnologia.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2020.

**BANCA EXAMINADORA**



---

**Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes (orientador)**



---

**Prof. Dra. Terezinha Aparecida Teixeira**



---

**Prof. Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira**

**Patos de Minas – MG**

**2020**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Patos de Minas, em especial ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – PPGBIOTEC, agradeço pela oportunidade de qualificação, que me proporcionou aprendizado técnico, científico e humano.

Agradeço infinitamente ao meu pai José dos Reis e à minha mãe Maria Rita pelo amor, pelos ensinamentos a mim passados e por sempre valorizarem e priorizarem a educação, sempre me incentivando a lutar pelos meus ideais. Vocês são meu alicerce.

Agradeço à minha irmã Francielle pelo apoio e compreensão quando fiquei ausente, por me ouvir e me tranquilizar quando a rotina era intensa, por não me deixar desistir e me acompanhar na repetição do mantra “vai dar certo”!

À minha sobrinha, Melina, que mesmo tão pequenininha fez e faz uma diferença enorme em minha vida, por me proporcionar momentos importantes de leveza e descontração, tão felizes durante nossas brincadeiras.

Aos meus colegas de trabalho, principalmente aos que convivi diariamente nos laboratórios: Carla, Lucas, Luciana, Milton e Renan, agradeço pela amizade, incentivo, paciência, troca de experiências e apoio durante meu afastamento. Nunca esquecerei o aniversário comemorado no laboratório!

Aos professores do PPGBIOTEC pelos ensinamentos compartilhados, por toda a dedicação e comprometimento em fazer um programa de qualidade;

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes, pela confiança em mim depositada, pelo conhecimento compartilhado, por toda a atenção e palavras de conforto nos momentos de frustração e insegurança;

Agradeço à Prof.<sup>a</sup> Dra. Terezinha Aparecida Teixeira, por todos os seus ensinamentos, pelo treinamento em todas as técnicas desenvolvidas durante o mestrado, pela amizade e pela contribuição no meu desenvolvimento científico e pessoal;

Ao Professor Dr. Cleiton por todas as sugestões feitas e pela disponibilidade de participação na banca;

Ao Prof. Dr. Marcos de Souza Gomes pelo auxílio nas análises bioquímicas e prontidão em esclarecer minhas dúvidas;

Aos colegas do mestrado e do LAGEM, agradeço pelas experiências compartilhadas, pelos aprendizados constantes e pelos momentos de convivência;

Às alunas Thainara Cardoso e Flávia Mirelle, meu agradecimento por toda a ajuda nos procedimentos laboratoriais. Em especial, à Larissa Ferreira, que tão bondosamente abdicou de seus afazeres pessoais e me ajudou durante um longo período, sempre com presteza e positividade - minha gratidão é imensa;

À Universidade Federal de Lavras, em especial à doutoranda do Departamento de Agricultura, Joana D'Arc Mendes, pelo cultivo das plantas de alfaces utilizadas nesse trabalho.

Aos amigos de sempre, pelos bons momentos.

Por fim, agradeço a todos que de maneira direta ou indireta colaboraram para que esse sonho fosse realizado. Este trabalho não teria sido possível sem o estímulo e a colaboração de todos vocês.

**Muito obrigada!**

## RESUMO

Vegetais são ricas fontes naturais de antioxidantes. Dentre as hortaliças folhosas, a alface (*Lactuca sativa* L.) é fonte importante de alguns desses fitonutrientes benéficos para a saúde humana, sendo bastante consumida e apresentando grande relevância econômica. Dessa forma, técnicas podem ser utilizadas em melhoramento genético visando a melhorar a qualidade nutricional e funcional de cultivares de alface. Esse estudo objetivou estimar parâmetros genéticos para o teor de flavonoides totais (TF) e para atividade antioxidante (AA) em populações de alface oriundas do cruzamento entre ‘Darkland’ e ‘Red Star’, duas cultivares contrastantes quanto à coloração das folhas (verde e roxa, respectivamente). Mais de 330 plantas, entre genitores, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, foram avaliadas. TF foi determinado por espectrofotometria, assim como AA, por meio dos métodos de sequestro de radicais DPPH<sup>•</sup> e ABTS<sup>•+</sup>. Plantas de ‘Red Star’ apresentaram médias superiores às apresentadas por ‘Darkland’ para as características analisadas, comprovando que foram escolhidos parentais contrastantes para as características em questão. O TF foi maior em alface de coloração roxa em relação à alface verde. O valor estimado para herdabilidade no sentido amplo foi relativamente alto para TF (82,4 %) e AA pelo método DPPH (52,73 %) e médio para AA pelo método ABTS (33,70 %). O grau médio de dominância em ambos mostrou dominância parcial no sentido de reduzir os valores das características avaliadas, porém com valores variando de 0,35 a 0,64, indicando a ocorrência de efeitos aditivos. O coeficiente de correlação fenotípico entre o TF e a capacidade de inibição do radical DPPH foi relativamente alto, apresentando valor de 0,64 e ligeiramente inferior, com valor de 0,59 para inibição do radical ABTS. Valores de herdabilidade no sentido amplo relativamente altos, associados à presença de efeitos aditivos, indicam possibilidade de sucesso na seleção de novos genótipos superiores para as características de teor de flavonoides totais e atividade antioxidante em gerações futuras. A obtenção de novas plantas com maior capacidade antioxidante pode ser feita pela seleção indireta de plantas com maior teor de flavonoides.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*, herdabilidade; correlação, parâmetros genéticos.

## ABSTRACT

Vegetables are rich natural sources of antioxidants. Among the leafy vegetables, lettuce (*Lactuca sativa* L.) is an important source of some of these phytonutrients beneficial to human health, being widely consumed and showing great economic relevance. Thus, techniques can be used in genetic improvement aiming to improve the nutritional and functional quality of lettuce cultivars. This study aimed to estimate genetic parameters for the content of total flavonoids (TF) and for antioxidant activity (AA) in lettuce populations, obtained from the cross between 'Darkland' and 'Red Star', two contrasting cultivars in terms of leaf color (green and red, respectively). More than 330 plants, between parents, F1 and F2, were evaluated. TF was determined by spectrophotometry, as well as AA, using DPPH<sup>•</sup> e ABTS<sup>•+</sup> radical scavenging methods. 'Red Star' plants presented higher averages than those presented by 'Darkland' for the analyzed characteristics, proving that contrasting parents were chosen. The TF was higher in red lettuce compared to green lettuce. The estimated value for heritability in the broad sense was relatively high for TF (82.4 %) and AA DPPH method (52.73 %) and average for AA ABTS method (33.70 %). The average degree of dominance in both cases showed partial dominance in order to reduce the values of the evaluated characteristics, but with values ranging from 0.35 to 0.64, indicating the occurrence of additive effects. The phenotypic correlation coefficient between TF and DPPH radical inhibiting capacity was relatively high, presenting a value of 0.64 and slightly lower, with a value of 0.59 for inhibiting the ABTS radical. Relatively high heritability in the broad sense values, associated with the presence of additive effects, indicate the possibility of success in the selection of new superior genotypes for the characteristics of total flavonoid content and antioxidant activity in future generations. The obtaining of new plants with greater antioxidant capacity can be done by indirect selection of plants with a higher content of flavonoids.

Keywords: *Lactuca sativa*, genetic parameters, heritability; correlation.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Aspectos gerais da alface .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Radicais livres e mecanismos de proteção antioxidante.....</b>	<b>15</b>
2.2.1 As principais espécies reativas.....	17
2.2.2 Danos causados a macromoléculas .....	20
2.2.3 Mecanismos de defesa antioxidante.....	21
<b>2.3 Flavonoides e outros compostos antioxidantes.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4 Métodos utilizados para determinar a atividade antioxidante.....</b>	<b>29</b>
<b>2.5 Principais parâmetros genéticos e estatísticos.....</b>	<b>33</b>
2.5.1 Variância fenotípica, variância ambiental e variância genotípica.....	33
2.5.2 Herdabilidade .....	34
2.5.3 Grau médio de dominância (GMD) .....	35
2.5.4 Estimativa do número de genes.....	36
2.5.5 Correlação .....	36
<b>3 ANÁLISES BIOQUÍMICA E GENÉTICA DOS TEORES DE FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM ALFACE.....</b>	<b>36</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
2.1 Obtenção das plantas.....	39
2.2 Preparo do extrato etanólico das folhas de alface .....	41
2.3 Avaliação da atividade antioxidante utilizando o método de captura do radical DPPH* .....	41
2.4 Avaliação da atividade antioxidante utilizando o método de captura do radical ABTS <sup>++</sup> .....	42
2.5 Quantificação dos teores de flavonoides totais. ....	42
2.6 Análise de dados.....	43
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
3.1 Estimativas de parâmetros genéticos.....	47
3.1.1 Teor de flavonoides. ....	47
3.1.2 Porcentagem de atividade antioxidante .....	51
3.1.3 Correlações entre as características estudadas.....	53
<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>

<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>60</b>
<b>APÊNDICE A - Dados gerados no programa Genes .....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXO A - Diretrizes para Autores – Revista Agropecuária Tropical .....</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as hortaliças folhosas, a alface (*Lactuca sativa* L.) apresenta grande relevância econômica no Brasil, sendo considerada a mais consumida e mais comercializada. Seu consumo torna a alimentação mais saudável, devido ao alto teor de sais minerais e elevada presença de vitaminas em sua composição (STERTZ et al., 2005). Originária da região do Mediterrâneo, a espécie evoluiu de forma que existe hoje um grande número de cultivares no mercado, de diferentes aspectos, padrões de folhas e cores das plantas.

Ao lado do tomate, a alface é considerada o mais importante vegetal das saladas, sendo altamente consumida *in natura*. É conhecida por ser uma fonte de fitonutrientes incluindo clorofila, antocianinas, vitaminas e carotenoides, entre outros compostos antioxidantes (KIM et al., 2007), o que a torna ainda mais interessante no que tange às atuais tendências de consumo, já que muitas pessoas têm procurado obter uma vida mais saudável e estão mudando seus hábitos alimentares na busca por qualidade nutricional.

Antioxidantes são substâncias capazes de neutralizar ou minimizar a reatividade de radicais livres e espécies reativas, resultantes do metabolismo normal do organismo ou vindos do meio-ambiente, por exemplo, pela poluição do ar ou com o uso de drogas. Porém, o desequilíbrio, ou seja, uma situação em que ocorra o aumento de radicais livres no organismo pode resultar em danos importantes a macromoléculas e estruturas celulares, de modo que várias doenças não contagiosas que atingem a saúde humana, entre elas as cardiovasculares, o diabetes e o mal de Alzheimer, podem ter relação com esses danos.

Os antioxidantes são classificados como enzimáticos quando produzidos pelo organismo, estando presentes tanto no meio intracelular quanto no meio extracelular. Ou como não enzimáticos, podendo ser adquiridos por meio da alimentação. Nos últimos tempos, tem aumentado o interesse por esses componentes nutricionais e pesquisas desenvolvidas com carotenoides e antocianinas têm demonstrado que esses possuem capacidade antioxidante, entre outros efeitos fisiológicos benéficos (CASSETARI, 2015; LIU et al., 2007).

Já os flavonoides são uma classe de compostos fenólicos resultantes do metabolismo secundário das plantas e seus teores podem ser influenciados por vários fatores, incluindo a temperatura, a radiação ultravioleta (UV), a intensidade da luz, entre outros. Eles desempenham um papel importante devido à sua atividade antioxidante, contribuindo para a saúde humana no controle da hipertensão; ajudando a prevenir distúrbios da visão e infecções microbianas; inibindo a proliferação de células cancerosas (MOURA, 2016) e reduzindo o colesterol LDL (*Low Density Lipoproteins*, que significa lipoproteínas de baixa densidade)

(OLIVEIRA et al., 2002). Os flavonoides estão amplamente presentes em vegetais e contam com diversos estudos realizados que demonstram sua capacidade antioxidante (ABE et al., 2007; SPAGOLLA et al., 2009; ALVES & KUBOTA, 2013).

O melhoramento genético de hortaliças voltado para o desenvolvimento de cultivares com melhores características funcionais tem ganhado força à medida que publicações sobre pesquisas e dados médicos reforçam que uma dieta rica em alimentos com alto teor de compostos funcionais tem efeitos benéficos para a saúde humana, associados à prevenção de doenças multifatoriais. A alface pode ser considerada uma boa escolha para ser utilizada como meio de inserção de maiores quantidades de fitoquímicos funcionais por já estar presente nos hábitos de consumo da população.

Alguns trabalhos mostram que existe variabilidade genética para teores de carotenoides (MOU, 2005; CASSETARI, 2015) e antocianinas (GAZULA et al., 2007; KIM et al., 2007; OLIVEIRA, 2019) em folhas de alface. Portanto, o melhoramento genético pode ser empregado para melhorar a qualidade nutricional de cultivares comerciais desta hortaliça. O conhecimento da variabilidade genética de características desejáveis em plantas permite o estabelecimento de métodos mais apropriados, o que aumenta a eficiência dos programas de melhoramento. Dessa forma, um dos principais objetivos do conhecimento genético sobre características de interesse é alcançar resultados mais precisos, seguros e com menor gasto a partir do melhoramento genético, que consiste na seleção artificial de plantas, na tentativa de aprimorar a qualidade de características agrônômicas de produtos agrícolas.

A seleção dos melhores genótipos, seja em germoplasma exótico ou em populações que não foram submetidas a nenhum processo de melhoramento, é o primeiro passo para obtenção de população-base a ser melhorada (SHIMELIS; LAING, 2012). Além disso, o cruzamento entre materiais contrastantes pode ampliar a variabilidade genética, permitindo a identificação de novos genótipos com características mais favoráveis.

O presente trabalho objetivou estimar e analisar parâmetros genéticos a partir dos resultados obtidos da quantificação do teor de flavonoides e da atividade antioxidante em populações de alface, obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Darkland e Red Star.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Aspectos gerais da alface

A alface (*Lactuca sativa* L.) é integrante da família Asteraceae, uma das maiores famílias de angiospermas, correspondendo a mais de 1.500 gêneros e 25.000 espécies aproximadamente. No Brasil, esta família é representada por cerca de 180 gêneros e 1.900 espécies (BARROSO et al., 1991), entre flores como margaridas e girassóis, e hortaliças como chicória, escarola e alcachofra. Já o gênero *Lactuca*, descrito no século XVIII pelo sueco Carl von Linné, possui cerca de 100 espécies conhecidas. A espécie *Lactuca serriola*, provavelmente, é o ancestral ou um dos ancestrais da *L. sativa*.

Segundo dados do Anuário Brasileiro de Hortifruti (2019), a área ocupada por hortaliças folhosas chega a 174 mil hectares no Brasil, sendo que a alfacultura corresponde a quase 50 % dessa área, seguida pela cultura de repolho (15,3 %) e de couve (6,1 %). O volume de alface produzido em 2018, por mais de 670 mil produtores, foi de 575,5 mil toneladas. Todos os estados brasileiros produzem alface, mas São Paulo e Minas Gerais se destacam como maiores produtores.

A alface é um vegetal folhoso consumido principalmente como salada, *in natura*, sozinho ou juntamente a outros tipos de vegetais frescos. Registros de sua existência começam no antigo Egito, por volta do ano 4.500 a.C., e a chegada de cultivares de alface no Brasil, pelos dos portugueses, ocorreu no século XVI. É a hortaliça folhosa mais popular e seu consumo é cada vez maior devido à demanda por alimentos frescos de qualidade sensorial e livres de processamento, como forma de manter uma dieta saudável com valor nutritivo e baixo teor calórico (MLADENOVIC et al., 2013). A alface é frequentemente indicada na dieta alimentar de jovens, adultos e idosos e seu consumo é estimulado pela facilidade de poder ser consumida fresca, de forma que seus componentes permaneçam intactos.

Filgueira (2007) descreveu a alface como sendo uma planta herbácea, delicada, apresentando sistema radicular ramificado e superficial, atingindo somente os primeiros 25 cm de solo, até o momento de ser transplantada. Possui caule diminuto, ao qual se prendem as folhas, que são amplas e crescem em volta do caule, formando uma roseta. As folhas possuem diversos formatos e texturas, podendo ser lisas ou crespas, formando ou não uma “cabeça”, com coloração em variados tons de verde e roxo, conforme a cultivar analisada. É uma espécie autógama, apresentando elevada taxa de autofecundação.

A cultura da alface é tradicionalmente feita em pequenas propriedades, o que reflete importância econômica e social, gerando empregos, contribuindo para distribuição de renda e valorização do pequeno produtor familiar e tornando seu cultivo considerável fator de fixação do homem do campo (VILLAS BÔAS et al., 2004).

A alface é usada praticamente durante todo o ano, pois há várias variedades que são cultivadas com sucesso no início da primavera, durante o verão e o inverno. É uma planta anual, florescendo melhor em condições de dias longos e temperaturas elevadas, sendo o período vegetativo favorecido por condições climáticas opostas: dias curtos e temperaturas amenas (FILGUEIRA, 2007).

O ciclo de vida da alface pode ser classificado em quatro fases: germinação, transplante, fase vegetativa e fase reprodutiva. Para fins comerciais, a alface é cultivada até a terceira fase, quando ocorre a formação de cabeça em cultivares com essa característica (TANAMATI, 2012). No campo, o ciclo entre a semeadura e a colheita varia de 60 a 80 dias enquanto que em estufa, esse tempo é reduzido, ficando o ciclo entre 45 e 50 dias (FILGUEIRA, 2007).

Após esse período, se não colhida, começa então a fase reprodutiva, na qual ocorre o alongamento do caule, a planta cresce em altura e emite a haste floral, produzindo látex que determina um sabor amargo na folha, modificando a qualidade sensorial e tornando-a imprópria para o consumo (SOUZA, 2006).

As cultivares de alface atualmente disponíveis no mercado brasileiro podem ser agrupadas em cinco tipos morfológicos principais, com base na formação de cabeça e tipo de folhas (HENZ; SUINAGA, 2009). Três tipos entre as que formam cabeça: a alface repolhuda lisa apresenta folhas lisas, delicadas, macias e com aspecto oleoso (de onde vem a denominação “manteiga” ou *butterhead*), de coloração verde-amarelada, com nervuras pouco aparentes, formando uma cabeça típica e compacta; a repolhuda crespa ou americana apresenta folhas crespas, consistentes e crocantes, forma cabeça grande e bem compacta; e a alface romana que apresenta folhas tipicamente alongadas e duras, com nervuras proeminentes, com uma cabeça alongada, na forma de cone. Dois tipos entre as cultivares que não formam cabeça, sendo a alface solta lisa, com folhas lisas e soltas, relativamente delicadas; e a solta crespa, com folhas grandes e crespas, textura macia, mas consistente, pode ter coloração verde ou roxa.

Definir os diferentes tipos de alface é importante porque a diversidade morfológica e fisiológica entre os grupos representa grandes diferenças nas características do produto comercial. A alface americana, por exemplo, é muito utilizada por restaurantes e redes de *fast*

*food* como ingrediente de sanduíches por sua crocância, textura e sabor, além de apresentar melhor conservação pós-colheita e resistência ao transporte e manuseio (HENZ; SUINAGA, 2009).

Um sexto tipo, a alface mimosa, vem ganhando relevância no país e diferencia-se dos demais grupos por apresentar folhas delicadas entrecortadas, lembrando uma folha de carvalho, o que explica seu nome em inglês, *oak leaf lettuce*. Uma tendência mais atual é a alface *baby leaf* que possui tamanho reduzido, folhas mais alongadas e mais estreitas. Ela é colhida antes do final da fase vegetativa (SALA; COSTA, 2012) e no Brasil tanto sua oferta como procura ainda são restritas a mercados diferenciados.

Dados sobre o consumo da alface no Brasil mostram que a do tipo crespa ainda predomina com, aproximadamente, 53 % da preferência do mercado, seguida do tipo americana com 34 %, tipo lisa 11 % e, por último, a alface romana (SALA; COSTA, 2012; RESENDE et al., 2017). Segundo dados da Ceagesp (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo), que representam uma parcela significativa do mercado brasileiro, há uma tendência de aumento do consumo da alface do tipo americana, o que pode ser visto pelos dados do ano de 2017 quando foram comercializadas 49.435,5 toneladas de alface, sendo que os tipos mais comercializados foram a Americana (47 %), Crespa (38,5 %), Mimosa (5,9 %), Lisa (4,28 %) e Romana (1 %) (CEAGESP, 2017).

Na alimentação, a alface pode ser considerada um vegetal com alto valor nutricional (SAHA et al., 2016) e de grande importância principalmente pela quantidade de fibras e substâncias biologicamente ativas que contém, especialmente compostos fenólicos, ácido ascórbico, vitaminas A e K, fosfatos e carotenoides (LLORACH et al., 2008). Em 100 g de alface, de acordo com tabela nutricional apresentada por Luengo e colaboradores (2011), contém 0,7 % de fibras; apenas 16 calorias; 95,8 % de água; 102 µg de vitamina A (retinol); além de vitaminas do complexo B (timina, riboflavina, ácido pantotênico), vitamina C e K, e sais minerais como magnésico, sódio, potássio, cálcio, ferro, fósforo e zinco. Pode haver variação desses valores entre as diferentes cultivares, dependendo da idade e parte da planta (CASSETARI, 2015).

Utilizando uma cultivar de alface denominada Rutgers Scarlet, descrita como detentora dos mais altos conteúdos de polifenóis e antioxidantes já relatados na categoria de frutas e legumes comuns, Cheng et al. (2014) encontraram possibilidade dessa cultivar ser utilizada como alimento funcional para o controle do diabetes. Camundongos hiperglicêmicos obesos tiveram considerável redução da hiperglicemia e melhora da sensibilidade à insulina quando alimentados com essa alface, em relação ao grupo controle. E Oliveira et al. (2002)

conduziram um estudo cujo objetivo foi avaliar o efeito de diferentes doses de alguns flavonoides nos níveis sanguíneos de colesterol e trigliceróis em ratos hiperlipidêmicos, induzidos por Triton. Houve redução do colesterol quando administrados os flavonoides quercetina e rutina. Já em relação aos trigliceróis, o flavonoide baicaleína foi o que apresentou maior redução de suas concentrações sanguíneas quando administrado.

## **2.2 Radicais livres e mecanismos de proteção antioxidante**

Radicaís livres são espécies químicas instáveis, capazes de existência independente e que contém pelo menos um elétron não pareado, pois, de alguma forma, perderam um elétron de sua camada mais externa. Este elétron desemparelhado torna grande parte das estruturas extremamente reativas. A maioria dos radicaís livres age muito rapidamente, podendo ser produzidos com a mesma velocidade com que são desfeitos, reagindo ativamente com moléculas que estejam nas proximidades, em uma tentativa natural de reaver o elétron perdido e reestabelecer sua estabilidade. Esse comportamento pode gerar reações consecutivas, ou em cadeia, pois a molécula que perde um elétron passa a ser um radical livre e tende a fazer o mesmo com outra molécula e assim por diante (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

As reações de oxidação-redução envolvem a perda ou o ganho de elétrons: um reagente ganha elétrons e é reduzido, enquanto outro perde elétrons e é oxidado. As reações de oxidação geralmente liberam energia e são importantes no catabolismo (NELSON; COX, 2014). A oxidação é parte fundamental do metabolismo na vida aeróbica, assim, os radicaís livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Essa produção pode ser iniciada por processos físicos ou químicos e continuará indefinidamente na presença de um substrato apropriado, a menos que um mecanismo de defesa bloqueie o processo.

Unidade essencial da vida, a célula é uma verdadeira fábrica de pró e antioxidantes. A fonte principal de radicaís livres no organismo é o metabolismo normal do oxigênio. O oxigênio envolvido no processo respiratório em organismos aeróbicos é estável, mas por ser uma molécula que age como aceptora final de elétrons, em certas condições, pode ser transformado em radicaís livres (MACHADO et al., 2008). Uma fração de aproximadamente 85 % do oxigênio será metabolizada até água, via cadeia de elétrons; e 10 % utilizada por enzimas oxidases/oxigenases ou em reações químicas de oxidação direta. Os outros 5 % formam radicaís livres que podem causar vários danos, mas também podem ser aproveitáveis

em alguns processos fisiológicos, envolvidos na produção de energia, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular, síntese de substâncias biológicas importantes, controle da pressão sanguínea, na apoptose, na fagocitose de agentes patogênicos, na fertilização de ovos e no amadurecimento de frutos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007; VASCONCELOS et al., 2007).

Responsáveis pela respiração celular (fosforilação oxidativa), as mitocôndrias são as principais geradoras de radicais livres em mamíferos (SILVA; FERRARI, 2011). Diversas etapas na via de redução do oxigênio em mitocôndrias têm o potencial de produzir radicais livres altamente reativos. Em mitocôndrias ativas, de 0,1 até 4 % do oxigênio utilizado na respiração formariam radicais livres mais do que suficiente para ter efeitos letais, caso o organismo não tivesse mecanismos que fizessem com que eles fossem rapidamente neutralizados (NELSON; COX, 2014).

Outra importante fonte geradora de radicais livres são as enzimas NADPH oxidases (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidases*). São proteínas transmembrana que essencialmente transferem elétrons através das membranas celulares. Geralmente, oceptor de elétrons é o oxigênio, o que gera o radical  $O_2^{\cdot-}$ . Ao menos seis isoformas destas enzimas são conhecidas, diferindo quanto ao local de expressão e cofatores necessários para a sua ativação (BARBOSA et al., 2010).

Além do metabolismo normal, estes radicais instáveis também podem ser formados por efeitos exógenos, como exposição ao sol, contaminação por tabaco, poluição do ar e bebidas alcoólicas. Processos inflamatórios ou disfunção biológica também são geradores de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN); estas espécies podem ser, ainda, provenientes da alimentação (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Os radicais livres atacam as células podendo lesar macromoléculas, como a cadeia de DNA, proteínas, carboidratos e lipídios (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007; DORNAS et al., 2007; NELSON; COX, 2014). Dessa forma, encontram-se relacionados com várias patologias, tais como artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas e câncer, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Por suas diversas propriedades no organismo, é necessário que exista um equilíbrio entre a produção e a eliminação destas espécies reativas. Quando a produção de radicais livres se torna elevada, as reações se repetem indefinidamente, levando a um estado chamado estresse oxidativo. O estresse oxidativo é, portanto, a decorrência da existência de um

desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em relação ao aumento dos primeiros (OLIVEIRA, 2017). Pode-se dizer que há três fatores agravantes do estresse oxidativo: a geração de mais radicais livres, a descompartimentalização dos complexos de metal e precariedade das defesas antirradicais (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

Há fortes evidências de que o estresse oxidativo tem importância primordial nos processos de envelhecimento, transformação e morte celular, com consequências diretas em muitas patologias, entre elas, a indução do câncer e a propagação de AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) em pacientes soropositivos, bem como na fisiopatologia de muitas doenças crônicas, como as autoimunes, cardiopatias e doenças do pulmão, e degenerativas como mal de Parkinson e Alzheimer (VASCONCELOS et al., 2007; OLIVEIRA, 2017). As lesões celulares associadas ao envelhecimento incluem núcleos e complexos de Golgi distorcidos, mitocôndrias menos eficientes e retículo endoplasmático com menor tamanho (SILVA; FERRARI, 2011).

Estresse oxidativo também pode ser consequência da diminuição de elementos antioxidantes, seja por deficiência de antioxidantes na dieta alimentar ou, por outro lado, dietas ricas em componentes oxidativos; da produção de ERO/ERN pela exposição elevada à  $O_2$ ; da presença de toxinas que quando metabolizadas produzem ERO/ERN; ou da ativação excessiva de sistemas naturais de ERO/ERN, por exemplo, quando ocorre a ativação inapropriada de células de fagocitose em doenças inflamatórias crônicas, como artrite reumatoide e colites ulcerativas (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

### 2.2.1 As principais espécies reativas

As principais ERO distribuem-se em dois grupos, as radicalares: ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ), peroxila ( $ROO^{\cdot}$ ) e alcóxila ( $RO^{\cdot}$ ); e as não-radicalares, que, apesar de não apresentarem elétron desemparelhado, são capazes de reagir com moléculas celulares e teciduais: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso ( $HClO$ ). Dentre as ERN, incluem-se o óxido nítrico ( $NO^{\cdot}$ ), óxido nitroso ( $N_2O_3$ ), ácido nitroso ( $HNO_2$ ), nitritos ( $NO_2^-$ ), nitratos ( $NO_3^-$ ) e peroxinitritos ( $ONOO^-$ ). Enquanto alguns desses podem ser altamente reativos no organismo atacando lipídios, proteínas e DNA, outros são reativos apenas com os lipídios (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SILVA; FERRARI, 2011; VIZZOTTO, 2017).

Na mitocôndria, o ânion radical superóxido é produzido como produto intermediário de algumas reações do ciclo de Krebs (VIZZOTTO, 2017). Representado como  $O_2^{\cdot-}$  ou  $O_2^-$ , o

superóxido é formado após a primeira redução do  $O_2$ . O radical superóxido ocorre em quase todas as células aeróbicas e é também produzido durante a ativação máxima de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos. Apesar de ser considerado pouco reativo em soluções aquosas, tem sido observada lesão biológica secundária a sistemas geradores de  $O_2^{\cdot-}$  (seja enzimático, fagocítico ou químico). Quando protonado o radical superóxido, ou seja, acrescentado de um próton hidrogênio, é formado o radical hidroperoxila ( $HO_2^{\cdot}$ ). Existem evidências de que o hidroperoxila é mais reativo que o superóxido, por sua maior facilidade em iniciar a destruição de membranas biológicas (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). O Quadro 1, adaptado de Vasconcelos et al. (2007) traz resumidamente informações sobre a natureza das principais espécies reativas, de sua geração e destino.

O radical hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ) é considerado o mais reativo em sistemas biológicos, porém o com menor tempo de meia-vida. A combinação extremamente rápida do  $HO^{\cdot}$  com metais ou outros radicais no próprio sítio onde foi produzido confirma sua alta reatividade, reagindo com DNA, proteínas e lipídeos. Normalmente, devido à força das ligações que mantêm as moléculas de água juntas nos sistemas vivos, o radical livre hidroxila não ocorre. Porém, quando uma pessoa é exposta à radiação, por exemplo, essas ligações podem se romper, gerando-os (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007). Outras reações que ocorrem esporadicamente podem formá-lo, como a reação como o ácido hipocloroso ( $HClO$ ) ou peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) (VIZZOTTO, 2017).

Peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é um metabólito não-radicalar do oxigênio extremamente deletério, porque participa da reação que produz o  $HO^{\cdot}$ . O  $H_2O_2$  tem vida longa, é pouco reativo frente às moléculas orgânicas na ausência de metais de transição, mas capaz de atravessar camadas lipídicas, pode reagir com a membrana eritrocitária e com proteínas ligadas ao  $Fe^{+2}$ , sendo altamente tóxico para as células quando na presença desse metal, como ocorre, por exemplo, na hemocromatose transfusional (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Oxigênio singleto ou *singlet* ( $^1O_2$ ) é forma excitada de oxigênio molecular e não possui elétrons desemparelhados em sua última camada. É a forma mais deletéria do oxigênio ao organismo, pois é a causa, ou o intermediário, da toxicidade fotoinduzida do  $O_2$  em organismos vivos. Existem duas maneiras de interação entre  $^1O_2$  e outras moléculas. Uma é por meio de reações químicas, outra seria transferência de sua energia de excitação para moléculas, fazendo o oxigênio retornar ao estado fundamental. Este último processo é conhecido como supressão física do  $^1O_2$  e pode ser realizado por carotenoides, bilirrubina, tocoferóis e compostos fenólicos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Em meio aquoso, sua

meia-vida é muito pequena, pois ele se choca com as moléculas de  $H_2O$  transferindo sua energia, desativando-se (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

**Quadro 1** – Informações sobre a geração e destino das principais espécies reativas.

ERO/ERN	Breve descrição
Ânion-radical Superóxido	Gerado continuamente por diversos processos celulares. É permeável a membranas e fagócitos, como neutrófilos e macrófagos, sendo um dos microbicidas mais importantes.
Peróxido de Hidrogênio	Intermediário formado pela reação de dismutação de $O_2^-$ catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD), pela redução de $2 e^-$ na molécula de $O_2$ e pela ação de diversas enzimas oxidases <i>in vivo</i> , localizadas nos peroxissomas.
Radical hidroxila	É o mais reativo e mais lesivo radical conhecido e para o qual organismo humano não dispõe de mecanismo de defesa. É capaz de reagir com uma série de endobióticos, modificar o DNA, inativar enzimas e causar danos a proteínas e gerar peroxidação lipídica.
Radicais peroxila e alcoxila	Formados durante a decomposição de peróxidos orgânicos e reações de carbono radicalar com oxigênio, como na peroxidação lipídica.
Oxigênio singleto	Estado eletronicamente excitado do oxigênio, produzido por reações fotoquímicas ou por outras radiações. Reage com um grande número de moléculas biológicas, incluindo lipídios da membrana, iniciando processos de peroxidação.
Ozônio	Produzido no ar atmosférico poluído e por fontes de luz intensa, é extremamente lesivo para o pulmão, oxidando rapidamente proteínas, DNA e lipídios.
Óxido nítrico (ou monóxido de nitrogênio)	Sintetizado nos organismos vivos pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS). É um radical abundante que age em vários processos biológicos, incluindo relaxamento muscular, neurotransmissão e regulação imune. Potente vasodilatador, envolvido na regulação da pressão arterial.
Peroxinitrito	Instável, tempo de vida curto, oxidante potente, propriedades semelhantes ao radical hidroxila, causa danos a muitas moléculas biológicas.

Oxido nítrico ( $NO^*$ ) é um radical livre relativamente estável, sintetizado a partir do oxigênio molecular e do nitrogênio guanidínico da arginina, em uma reação catalisada pela NO-sintase (NELSON; COX, 2014). É altamente susceptível às reações de oxirredução, sendo assim fonte de outras ERNs (VIZZOTTO, 2017). A redução de um elétron do radical  $NO^*$  dá origem ao ânion nitroxil  $NO^-$ , de curta meia-vida, reagindo rapidamente com o  $O_2$ ,

dando origem a peroxinitritos. Uma interação direta entre  $\text{NO}^\bullet$  e  $\text{O}_2$  que produz o gás  $\text{NO}_2$ . Já a interação aquosa entre  $\text{NO}^\bullet$  e  $\text{O}_2$  produz nitritos.

### 2.2.2 Danos causados a macromoléculas

Os radicais livres promovem reações com substratos biológicos podendo ocasionar danos às biomoléculas e, conseqüentemente, afetar a saúde humana. Os danos mais graves são aqueles causados ao DNA e RNA (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

A fonte mais importante de alterações mutagênicas no DNA é o dano oxidativo causado por ataque por espécies reativas. Entre estas espécies, os radicais hidroxila são responsáveis pela maioria dos danos oxidativos ao DNA, por meio de um grande e complexo grupo de reações, que variam desde a oxidação da desoxirribose e das bases, passando por modificações de bases purínicas e pirimidínicas e podendo levar quebras na estrutura da hélice (NELSON; COX, 2014). Se essa quebra ocorre, as enzimas podem reconectar os filamentos em outra posição, alterando a ordem original das bases nitrogenadas. Esse é um dos processos básicos da mutação e o acúmulo de bases danificadas pode desencadear a oncogênese (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

A oxidação da base nitrogenada guanina, por exemplo, gera o 7,8-di-hidro-8-oxoguanina, ou simplesmente oxoG, composto altamente mutagênico, pois consegue se emparelhar com a adenina e a citosina. Se ele parear com a adenina durante a replicação, originará em uma transversão G : C para T : A, uma das mutações mais comuns encontradas em cânceres humanos (WATSON et al., 2015). Estimativas precisas da extensão desse dano não estão disponíveis, mas a cada dia o DNA de cada célula humana está sujeito a milhares de reações oxidativas.

A atividade deletéria da oxidação de aminoácidos em proteínas está cada vez mais bem elucidada. As espécies reativas do oxigênio podem atuar inibindo a enzima que edita e corrige o RNA-transportador para formar a sequência correta de aminoácidos, resultando na síntese de proteínas anormais. Ademais, os radicais livres podem oxidar os aminoácidos cisteína e metionina, provocando sérias alterações na estrutura e função das proteínas (SILVA; FERRARI, 2011). Uma enzima que tenha seus aminoácidos alterados pode perder sua atividade ou, ainda, assumir uma atividade diferente. A hidroxila pode inativar várias proteínas ao oxidar seus grupos sulfidrilas (-SH) a pontes dissulfeto (-SS).

Alguns dos muitos efeitos conhecidos da formação aumentada de ERO em sistemas biológicos incluem uma alteração dos lipídeos de membranas chamada peroxidação lipídica

(DORNAS et al., 2007). Os lipídios, como constituintes da membrana da célula, são os alvos mais suscetíveis à oxidação, devido a velocidade de avanço das reações destrutivas em cadeia.

Quando ocorre na membrana celular, a oxidação de lipídios reflete diretamente no transporte ativo e passivo através da membrana, alterando a fluidez e provocando menor seletividade no transporte iônico e na sinalização transmembrana (SILVA; FERRARI, 2011), podendo até ocasionar uma ruptura, levando à morte celular. A oxidação de lipídios circulantes no sangue acomete o epitélio das paredes dos vasos sanguíneos, facilitando o acúmulo desses lipídios, levando a quadros de aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Os antioxidantes atuam como fontes de hidrogênio e se oxidam no lugar do ácido graxo, protegendo as células contra o dano os radicais livres.

O radical  $\text{OH}^{\bullet}$ , considerado o principal iniciador da peroxidação lipídica, age em tal processo por meio da retirada de um átomo de hidrogênio dos ácidos graxos poli-insaturados da membrana celular. Entretanto, a participação do ferro também é considerada fator determinante para possibilitar a iniciação desse processo. Os íons ferro agem como catalisadores da conversão de hidroperóxidos lipídicos (LOOH) em radicais  $\text{LO}^{\bullet}$  e  $\text{LO}_2^{\bullet}$ , que, por serem potencialmente reativos, iniciam uma nova cadeia de reações, as quais podem ser rápidas ou lentas, de acordo o ferro disponível (BARBOSA et al., 2010).

### 2.2.3 Mecanismos de defesa antioxidante

O sistema de defesa antioxidante tem o objetivo primordial de manter o processo oxidativo dentro dos limites fisiológicos e passíveis de regulação, dificultar a formação de ERO/ERN, ou destruí-las, impedindo que os danos da instalação do estresse oxidativo se amplifiquem, culminados em danos sistêmicos irreparáveis (BARBOSA et al., 2010). As proteções conhecidas do organismo contra as ERO e ERN abrangem a proteção enzimática ou não-enzimática, feita por micromoléculas, que podem ter origem no próprio organismo ou podem ser adquiridas por meio da dieta (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; VASCONCELOS et al., 2007).

O sistema antioxidante enzimático é representado, principalmente, pelas seguintes enzimas antioxidantes: a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do ânion radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) a peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e  $\text{O}_2$ ; a catalase (CAT), que atua principalmente na decomposição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ ; e a glutatona peroxidase (GPx), que atua sobre peróxidos em geral, é dependente de selênio (Se) e utiliza a glutatona (GSH) como

cofator. A glutathiona redutase (GSH-Rd) atua na linha de defesa no sentido de reparar a lesão ocorrida, promovendo a regeneração de GSH na presença de NADPH (DORNAS et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2007; NELSON; COX, 2014; VIZZOTTO, 2017).

Além dos compostos citados, ainda podemos considerar as proteínas de transporte de metais de transição, como a transferrina (transporte do ferro) e ceruloplasmina (transporte do cobre e oxidação do ferro para ser captado pela transferrina). Os metais de transição são potenciais formadores de espécies reativas por meio da reação com outros compostos, uma vez que sofrem reações redox. Decorre desse fato, a necessidade de serem transportados associados a proteínas, impedindo que essas reações ocorram (VASCONCELOS et al., 2007). O  $H_2O_2$ , em presença de metais de transição (Fe ou Cu), propicia a formação da mais deletéria espécie reativa de oxigênio, o radical hidroxila (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

O sistema antioxidante não-enzimático é formado por muitos compostos sintetizados pelo próprio organismo, com destaque para a GSH, considerada principal composto antioxidante intracelular, e outros como bilirrubina, hormônios sexuais, melatonina, coenzima Q, ácido úrico; e compostos adquiridos por meio da dieta, como vitamina C, tocoferóis,  $\beta$ -caroteno e flavonoides (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Os flavonoides têm sua capacidade de proteção antioxidante baseada em cinco pilares: sua reatividade como agente doador de  $H^+$  e elétrons, ou seja, quanto maior o número de hidroxilas presentes, maior a atividade antioxidante; estabilidade do radical flavanoil formado; reatividade em frente a outros antioxidantes; capacidade de quelação de metais de transição; e sua solubilidade e interação com as membranas (ALVES et al., 2007). Outra forma, considerada indireta, se baseia na capacidade de alguns destes componentes em elevar as concentrações corporais de antioxidantes endógenos e inibir enzimas pró-oxidantes (VASCONCELOS et al., 2007; VIZZOTTO, 2017).

### **2.3 Flavonoides e outros compostos antioxidantes.**

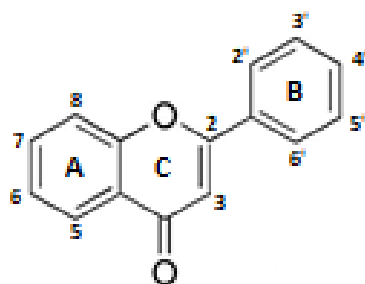
Legumes e frutas são ricas fontes de antioxidantes como vitaminas, carotenoides, componentes fenólicos e flavonoides. Estes últimos integram um dos grupos mais importantes e diversificados entre os compostos de origem vegetal e são amplamente distribuídos no Reino Plantae (MACHADO et al., 2008).

A original pesquisa sobre flavonoides presumivelmente começou em 1936, quando o cientista húngaro Albert Szent-Gyorgi (SANDHAR et al., 2011) encontrou uma associação

entre a vitamina C pura e cofatores ainda não identificados de cascas de limão, aos quais ele primeiro deu o nome de "citrina" e, posteriormente, "vitamina P", devido ao fato desse grupo melhorar a permeabilidade dos capilares sanguíneos.

Representando uma das cinco classes de compostos polifenólicos, os flavonoides são metabólitos secundários vegetais. Possuem 15 átomos de carbono em seu núcleo elementar, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos (C6-C3-C6) (DORÊS, 2007). Sendo assim, a estrutura química dos flavonoides consiste em dois anéis aromáticos, representados por A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado de anel C (Figura 1). As outras classes de compostos polifenólicos são os ácidos fenólicos, estilbenos, taninos e cumarinas,

**Figura 1** – Estrutura e numeração básica dos flavonoides.



Os flavonoides são frequentemente encontrados conjugados a moléculas de açúcar, em diferentes números, posições e arranjo, nas formas de denominadas O-glicosídeos ou C-glicosídeos. Quando se apresentam não glicosados, são denominados aglicona (ARNOSO; COSTA; SCHMIDT, 2019).

Os O-glicosídeos são os que possuem substituintes de açúcar ligados a uma hidroxila da aglicona, geralmente na posição 3 ou 7, enquanto que os C-glicosídeos possuem grupos de açúcar ligados a um carbono da aglicona, geralmente em C-6 ou C-8 (SANDHAR et al., 2011). A capacidade antioxidante dos C-glicosídeos já foi confirmada por ensaios químicos, mostrando-se mais alta em comparação aos O-glicosídeos (WANG; LI; BI, 2018).

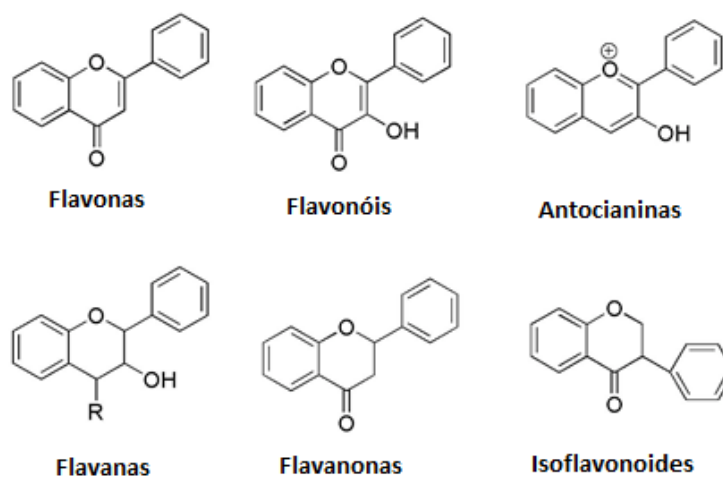
Os flavonoides possuem sua atividade antioxidante atribuída aos radicais fenólicos de sua estrutura. Por exemplo, a capacidade de eliminação do extrato de semente de uva contra o radical ABTS se mostrou fortemente ligada ao nível de compostos fenólicos no estudo de Zhang et al. (2015), levando a inferir que quando os vegetais apresentam conteúdo fenólico total alto, eles possuem forte atividade antioxidante.

Dependendo da quantidade, posição e combinação dos grupamentos participantes da molécula, os flavonoides são separados em classes principais: flavonas, flavonóis,

antocianinas, flavanas, flavanonas e isoflavonoides (OLIVEIRA; ESPESCHIT; PELUZIO, 2006; FLAMBÓ, 2013). As estruturas moleculares dessas classes estão representadas na Figura 2. No entanto, ainda existem outros flavonoides que não apresentam o esqueleto típico C6-C3-C6, por exemplo, auronas, xantonas, biflavonas e furanocromonas (WANG; LI; BI, 2018). As estruturas moleculares atípicas dessas classes estão representadas na Figura 3.

Flavonas e flavonóis contêm o maior número de compostos, representando os flavonoides. Entre as flavonas, a apigenina e luteolina estão presentes em grãos, vegetais folhosos e ervas. Quercetina (tipo estudado com mais frequência), kaempferol e miricetina são os flavonóis mais comuns podendo ser encontrado em frutas, vegetais e bebidas, como chás e vinho tinto (ARNOSO; COSTA; SCHMIDT, 2019).

**Figura 2** – Estrutura molecular das principais classes de flavonoides.



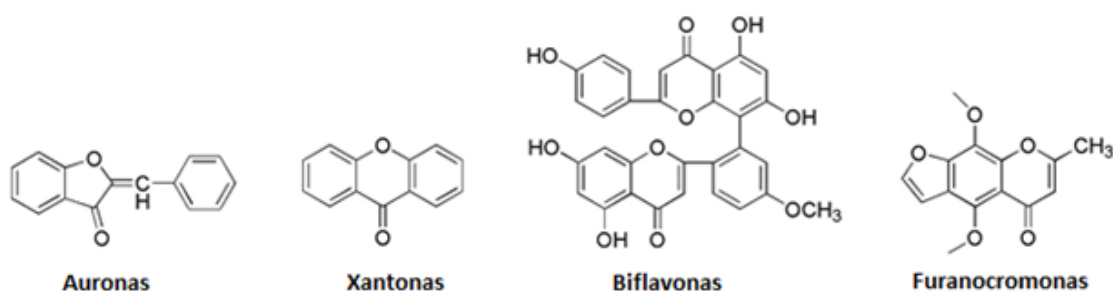
Antocianinas são um grupo de pigmentos responsáveis pela coloração azul, púrpura e vermelhos de algumas plantas. As antocianinas mais comuns são cianidina, delphinidina, petunidina, peonidina, pelargonidina e malvidina; e suas fontes são repolho roxo, alface roxa, alho, batata de casca avermelhada e batata-doce roxa. Flavanas são produtos de redução de dihidroflavonóis e os principais representantes dessa classe são as catequinas, epicatequina, epicatequina-3-galato, epigallocatequina e epigallocatequina-3-galato. As fontes de catequinas são chás verde e preto e chocolates (ARNOSO; COSTA; SCHMIDT, 2019).

Flavanonas possuem ligações C2 e C3 saturadas e frequentemente são encontrados juntamente com flavonas e flavonóis relevantes nas plantas (WANG; LI; BI, 2018). Estão presentes em frutas cítricas, incluindo laranja, limão, tangerina e lima. Os principais exemplos de flavanonas são hesperidina, naringina, narirutina, eriocitrica, neo-hesperidina, didimina,

neo-eriocitrina e poncirina. Evidências sugerem que as flavanonas tenham atividade no tecido epitelial vascular.

Isoflavonoides são encontrados mais comumente nos legumes e sua principal fonte é a soja. A genisteína e daidzeína são as isoflavonas mais comuns. São também consideradas fitoestrógenos por sua habilidade em se ligar aos receptores de estrógenos, devido à similaridade química com esse hormônio (CLAPAUCH et al., 2002).

**Figura 3** - Estrutura molecular atípica de alguns flavonoides.



A presença desses metabólitos secundários na planta é ditada por diversas condições, de acordo com a ordem/família do vegetal, bem como da variação das espécies. De forma geral, flavonoides presentes nas flores podem ser distintos daqueles encontrados nas raízes, nos galhos, folhas e frutos. O mesmo composto ainda pode apresentar concentrações diferentes dependendo do órgão vegetal que foi analisado (MACHADO et al., 2008).

É importante ressaltar que vários fatores bióticos e abióticos podem influenciar a produção de flavonoides pelas plantas, como, por exemplo, presença de patógenos e doenças, temperatura, nível de nutrição, injúria, metabolismo de hidratos de carbono e nitrogênio, poluição, qualidade de radiação solar, raios UV, períodos de seca ou chuva (MACHADO et al., 2008; SANTOS, 2010). A radiação solar é um dos fatores que, via de regra, está relacionada à variação quantitativa do teor de flavonoides.

Diversas funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas. Entre elas, pode-se citar a proteção contra a incidência de raios ultravioleta, proteção contra patógenos, ação antioxidante, ação alelopática e inibição enzimática (MACHADO et al., 2008).

A radiação ultravioleta B é a faixa do espectro solar de menor comprimento de onda e maior energia, entre 280 e 315 nanômetros (nm). Quando a luz incide nas folhas, a radiação UV-B é absorvida pelos flavonoides. Assim, eles podem ser considerados como um filtro protetor para a planta, que evita que a radiação aja sobre outras moléculas celulares importantes, como o DNA, o que poderia provocar mutações que levassem à formação de células defeituosas (DORÊS, 2007).

Outras funções já relatadas são a pigmentação e a interação planta-animal, seja no sentido de defesa, protegendo a planta contra herbívoros ou inibindo a ação prejudicial de insetos, seja na atração de polinizadores. Machado et al. (2008) citam que os pigmentos das flores, derivados de antocianinas, atraem insetos polinizadores e são responsáveis pelas cores vermelha e azul, características de bagas, vinhos e de certos vegetais, sendo as maiores fontes de flavonoides na dieta humana.

Nas últimas décadas, foram caracterizados mais de 10.000 flavonoides, os quais desempenham as mais diversas funções biológicas no organismo humano (DORÊS, 2007; GEORGE et al., 2017). Pode-se citar ação anti-inflamatória, antiviral, antimicrobiana, antialérgica, vasodilatadora, antiulcerogênica, antineoplásica, antioxidante, anti-hepatotóxica, anti-hipertensiva, hipolipidêmica, antiplaquetária e estão associadas à prevenção de doenças crônicas, como o câncer e as doenças cardiovasculares (OLIVEIRA; ESPESCHIT; PELUZIO, 2006; MACHADO et al., 2008). Os flavonoides podem inibir e afetar a sinalização do ciclo celular na fase G1/S ou induzir a apoptose em células cancerígenas que se encontram em divisão (SANDHAR et al., 2011).

A importância de compostos naturais que apresentam atividade antioxidante vem sendo amplamente reconhecida pela medicina preventiva nos últimos anos. Desta maneira, o interesse econômico e a busca por compostos naturais com propriedades antioxidantes têm aumentado consideravelmente.

O consumo de antioxidantes, principalmente por meio de fontes naturais, é interessante para a prevenção de danos causados por radicais livres, prevenindo assim doenças multifatoriais e reduzindo o risco de doenças carcinogênicas (MLADENOVIC et al., 2013). O preparo dos alimentos para consumo pode levar a perdas destes compostos, em maior ou menor grau, de acordo com o tipo de alimento e o modo de preparo utilizado. A ingestão de alimentos crus ou minimamente processados é recomendada, todavia, os flavonoides se mostram compostos relativamente estáveis, resistentes a oxidação, altas temperaturas e variações brandas de acidez (MACHADO et al., 2008).

Apesar de não ocorrer sua síntese em seres humanos, os flavonoides são substâncias de grande importância para a saúde, principalmente no que diz respeito às suas propriedades antioxidantes. Vários estudos demonstram o efeito cardioprotetor dessas substâncias fenólicas, refletido principalmente na redução do colesterol LDL e da peroxidação lipídica das lipoproteínas (OLIVEIRA; ESPESCHIT; PELUZIO, 2006).

Algumas ações dos flavonoides estão sendo relacionadas à capacidade de interferir no metabolismo lipídico. Uma dessas ações seria o aumento da excreção de sais biliares nas

fezes; outra teria relação com a capacidade de elevar a atividade do sistema microsomal hepático aumentando o metabolismo lipídico por consequência (OLIVEIRA et al., 2002).

Flavonoides possuem a capacidade de inibir a xantina oxidase, enzima que promove a oxidação de tecidos, inibindo, dessa forma, a formação de radicais livres e prevenindo o envelhecimento precoce. Essa capacidade que os flavonoides têm de neutralizar a produção de radicais livres pode prevenir processos de estresse oxidativo, que causam morte celular, a degeneração de neurônios e membranas celulares (DORÊS, 2007). Esses compostos fitoquímicos podem ainda inibir a ciclooxigenase e lipoxigenase, impedindo a formação das prostaglandinas e leucotrienos e diminuindo a formação de processos inflamatórios (OLIVEIRA et al., 2002).

O conceito de biodisponibilidade foi introduzido para quantificar a quantidade de micronutrientes e fitoquímicos que são realmente absorvidos, distribuídos ao tecido, metabolizados e eventualmente excretados (ZHANG et al., 2015).

As agliconas provenientes dos alimentos são absorvidas pelos enterócitos, na forma de transporte passivo, mais rapidamente e em quantidades maiores do que os glicosídeos, em humanos. A concentração plasmática após ingestão de agliconas é 2 a 3 vezes maior que após a ingestão de glicosídeos. Em uma análise mais longa, após 2 a 4 semanas, ainda permanece mais alta do que a concentração de glicosídeos (CLAPAUCH et al., 2002).

No entanto, a maioria dos flavonoides existe como glicosídeos. O primeiro passo para entrar em circulação sistêmica pode ser a desglicosilação, por meio da captação ativa pelo transportador de glicose dependente de sódio, após a desglicosilação pela  $\beta$ -glicosidase citosólica. É importante destacar que o padrão de desglicosilação pode depender da natureza da aglicona e do açúcar conectado (WANG; LI; BI, 2018). Após a desglicosilação, o metabolismo geralmente ocorre continuamente nas células epiteliais do intestino delgado. Em contato com a excreção biliar adicional, cerca de um terço do total é absorvido no intestino grosso como flavonoide livre e os 2/3 restantes são fermentados por bactérias, transformados em metabólitos e absorvidos ou sofrem degradação (CLAPAUCH et al., 2002; WANG; LI; BI, 2018).

Entre outros compostos vegetais da alface relacionados à atividade antioxidante estão os pigmentos vegetais, que vêm sendo cada vez mais estudados por também trazerem benefícios à saúde quando consumidos (ROCHA; REED, 2014).

Nas plantas, os pigmentos estão envolvidos em processos fotossintéticos, como na defesa contra o estresse luminoso, evitando a formação de espécies reativas de oxigênio, entre

outros. Em animais, são apontados como antioxidantes, com atividades anti-inflamatórias, anticancerígenas e capacidade de reduzir o risco de doenças cardíacas (MOURA, 2016).

Entre os principais, os carotenoides encontram-se dissolvidos na seiva das células vegetais. Os carotenoides são uma classe de pigmentos fitoquímicos amarelo-alaranjado-vermelhos, distribuídos em várias frutas, hortaliças, temperos e ervas. Foram reconhecidos no século XX como fontes principais de vitamina A, destacando-se por essa importante característica. A vitamina A pré-formada é encontrada apenas em alimentos de origem animal, enquanto que as formas de caroteno provitamina A são encontradas nas hortaliças folhosas verde-escuras e nas amarelo-alaranjadas (CARVALHO et al., 2006).

O  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, licopeno, luteína e criptoxantina são os principais carotenoides da dieta humana. Por exemplo, o tomate é rico em licopeno, que também é responsável por sua característica cor vermelha (ZHANG et al., 2015).

Uma molécula de  $\beta$ -caroteno – o carotenoide provitamina A mais ativo (CARVALHO et al., 2006) – pode ser naturalmente clivada no fígado, produzindo duas moléculas de vitamina A. Mais recentemente, efeitos benéficos de carotenoides contra cânceres, doenças de coração e degeneração macular foram reconhecidos e estimularam intensas investigações sobre o papel desses compostos como antioxidantes e como reguladores de resposta do sistema imune. Evidências epidemiológicas sugerem que a ingestão de  $\beta$ -caroteno pode inibir certos tipos de câncer e doenças mediadas por oxidantes. Assim como a prevenção do câncer, o potencial antioxidante dos carotenoides pode ser útil na inibição de outras doenças provocadas pela ação dos radicais livres (UENOJO; MARÓSTICA JUNIOR; PASTORE, 2007).

O ácido ascórbico, ou vitamina C, é essencial ao homem, mas o organismo humano não consegue sintetizá-lo a partir da glicose - seu precursor - como ocorre em plantas e na maioria dos animais. Em sistemas biológicos, em pH fisiológico (7,4), 99,95 % da vitamina C encontra-se na forma ionizada ascorbato, que atua como antioxidante sobre ERO e ERN em ambiente aquoso, ao doar um  $H^{\bullet}$  ou  $[H^{+} + e^{-}]$  para um radical. O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares, evitando o início da peroxidação lipídica, ou indiretamente regenerando a vitamina E, outra que atua como antioxidante na face lipofílica das membranas celulares (VASCONCELOS et al., 2007).

O termo vitamina E se refere a duas famílias de compostos, os tocoferóis e os tocotrienóis. Eles possuem, qualitativamente, a atividade biológica do  $\alpha$ -tocoferol, que é o composto mais potente e, geralmente, a forma predominante na natureza. A vitamina E é um antioxidante lipossolúvel que bloqueia a etapa de propagação da peroxidação lipídica dos

ácidos graxos poliinsaturados das membranas e lipoproteínas (VASCONCELOS et al., 2007). Os tocoferóis são encontrados nos ovos e nos óleos vegetais e são especialmente abundantes no germe de trigo. Animais de laboratório alimentados com dietas deficientes em vitamina E desenvolvem pele escamosa, fraqueza muscular e esterilidade; já em humanos, a deficiência de vitamina E é muito rara e o principal sintoma é a fragilidade dos eritrócitos (NELSON; COX, 2014).

A ação das substâncias antioxidantes ocorre de maneira diferente no organismo, variando de acordo com a quantidade, o tipo e o local no qual estão os radicais livres, pois os danos que eles provocam são diferentes. Sua eficiência pode ser reduzida ou aumentada, em determinadas situações. Por isso, a importância de dietas variadas e balanceadas, uma vez que as frutas e as hortaliças apresentam composição bem variada dessas substâncias (OLIVEIRA, 2017).

#### **2.4 Métodos utilizados para determinar a atividade antioxidante.**

Eletroquímica é a base de vários ensaios sobre capacidade antioxidante. Geralmente, os ensaios que têm como princípio a transferência de elétrons avaliam a capacidade de um antioxidante reduzir um oxidante, que em geral muda de cor quando reduzido. Testes eletroquímicos vêm sendo utilizados com o intuito de avaliar o poder redutor total de compostos antioxidantes presentes em alimentos e amostras biológicas (TEIXEIRA et al., 2013). Uma das vantagens que a modernização dos instrumentos de análise traz se baseia no número de dados que pode ser extraído em uma única amostra. Por exemplo, a espectrometria detecta o comportamento espectral de amostras em vários comprimentos de onda, possibilitando analisar diferentes parâmetros simultaneamente (MOURA, 2016).

Existem diversos métodos para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas. Oliveira e colaboradores (2009) ressaltam que não há uma metodologia universal, um método padronizado para preparação de amostras, extratos e processos para determinar a capacidade antioxidante. Isso se deve aos diferentes tipos de radicais livres e às suas variadas formas de atuação nos sistemas. Aqueles autores apontam a necessidade de avaliação por diferentes ensaios, levando-se em conta que existem alguns critérios para a escolha da metodologia, tais como: utilizar moléculas biologicamente relevantes, ser tecnicamente simples, basear-se em mecanismos químicos bem definidos, instrumentação facilmente disponível, boa reprodutibilidade, adaptável para ensaios de antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos, dentre outros. Assim, a busca por testes mais rápidos e

eficientes tem gerado um grande número de métodos para avaliar a atividade de antioxidantes naturais por meio do uso de diversos sistemas geradores de radicais livres (ALVES et al., 2010).

Os métodos de medição da capacidade antioxidante total existentes na literatura podem ser classificados de várias maneiras, com base no tempo para o consumo de todos os antioxidantes em uma amostra; na medição do consumo (sequestro) de radicais, quando o composto antioxidante a ser analisado é adicionado a um meio contendo um radical livre; ou baseando-se na observação da taxa de um determinado processo de radicais livres, avaliando a diminuição dessa taxa com a adição da amostra de antioxidante a ser analisada. Esses métodos podem ainda ser classificados "*in vitro*" e "*in vivo*"; enzimático e não-enzimático; direto e indireto.

Uma classificação amplamente aceita se refere a dois mecanismos de atuação: ensaios à base de transferência de átomos de hidrogênio (TAH) ou de transferência de elétrons (TE). Os principais ensaios de capacidade antioxidante baseados em transferência de elétrons são ABTS/TEAC, DPPH, FRAP e CUPRAC. Dois ensaios baseados em transferência de átomos de hidrogênio amplamente utilizados, o TRAP (*Total Radical-trapping Antioxidant Parameter* - Parâmetro Antioxidante Total de Captura de Radicais) e o ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity* - Capacidade de Absorvância do Radical de Oxigênio) medem essencialmente a capacidade de um antioxidante de interferir na reação entre os radicais peroxil e uma sonda alvo, saciando aqueles radicais e diminuindo os danos à sonda (ÖZYÜREK; GÜÇLÜ; APAK, 2011).

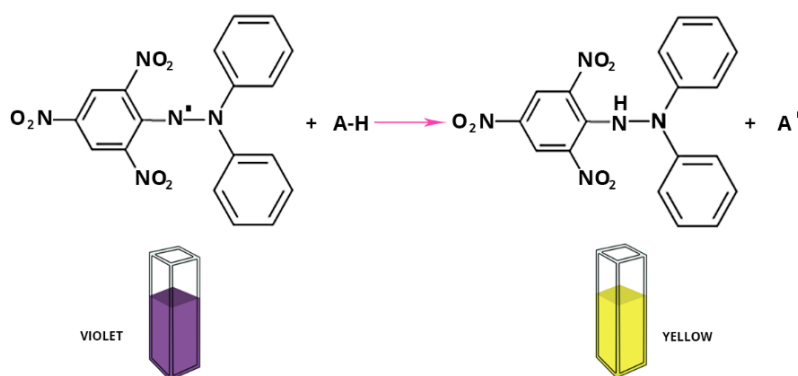
A captação de radicais é o principal mecanismo de ação dos antioxidantes nos alimentos. Têm-se desenvolvido vários métodos nos quais a capacidade antioxidante é medida por meio da captação de radicais-livres sintéticos em solventes orgânicos polares, por exemplo, metanol, etanol e acetona, a temperatura ambiente (PEREIRA, 2010).

Dentre as metodologias existentes, a mais utilizada é a avaliação da atividade sequestradora do radical DPPH<sup>•</sup>, sugerida originalmente por volta de 1950. O radical DPPH<sup>•</sup> (1,1- difenil-2-picrilhidrazila) é estável a temperatura ambiente, possui coloração púrpura em solução etanólica e quando reduzido fica com uma coloração amarela (Figura 4). O efeito dos antioxidantes sobre o sequestro do radical DPPH<sup>•</sup> é atribuído à habilidade daqueles compostos de doar hidrogênio (FRANÇA et al., 2012) ao seu elétron desemparelhado. A atividade antioxidante é então presumida a partir do decaimento da absorvância no comprimento de onda observado entre 515 a 528 nm, produzido pela adição do antioxidante a uma solução etanólica do radical DPPH<sup>•</sup> (ALVES et al., 2010).

A interação de um potencial antioxidante com DPPH depende da conformação estrutural, da posição e do número de hidroxilas livres presente na molécula analisada (SANTOS, 2010; ALVES; KUBOTA, 2013). Uma vez que o DPPH é essencialmente solúvel em meio solvente orgânico, se torna limitado em relação a antioxidantes hidrofílicos. Flavonoides e outros fenóis complexos geralmente exibem reação moderada a lenta com DPPH.

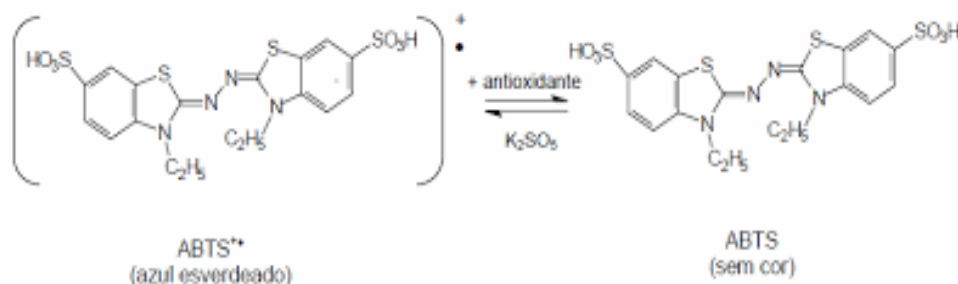
A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS<sup>•+</sup>, sigla utilizada para se referir ao composto ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), também é bastante utilizada. Quando comparado ao DPPH<sup>•</sup>, é um método que também apresenta boa estabilidade em certas condições de análise, mas mostra relevantes diferenças em relação aos antioxidantes e quanto à sua manipulação (SOUZA, 2013). O radical ABTS<sup>•+</sup> precisa ser gerado por meio de reações enzimáticas ou químicas, enquanto o DPPH<sup>•</sup> é um radical livre adquirido dessa forma, ou seja, sem a necessidade de preparo. Outra diferença é que o ABTS<sup>•+</sup> é solúvel em meios orgânicos ou aquosos, permitindo a determinação simultânea de antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos, enquanto que o DPPH<sup>•</sup> somente em meios orgânicos, especificamente alcoólicos. O radical catiônico ABTS<sup>•+</sup> é mais reativo que o radical DPPH<sup>•</sup>, a reação ocorre completamente após um minuto (PEREIRA, 2010). Apesar disso, um ponto final alcançado dentro de um tempo de protocolo de 6 min pode não ser adequado para polifenóis de reação lenta (ÖZYÜREK; GÜÇLÜ; APAK, 2011).

**Figura 4** – Redução do radical DPPH<sup>•</sup>, com mudança de coloração.



A geração do ABTS<sup>•+</sup>, de cor azul esverdeada, se dá por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio. Quando ocorre a adição de um antioxidante a consequência é a redução do ABTS<sup>•+</sup> a ABTS e a perda da coloração (Figura 5). A porcentagem de inibição do ABTS<sup>•+</sup>, em relação à perda de cor, se refere à capacidade antioxidante do mesmo.

**Figura 5** – Estabilização do radical  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.



Outro método se refere ao complexo fosfomolibdênio, que é formado pela reação em solução aquosa de fosfato de sódio, molibdato de amônio e ácido sulfúrico, possuindo coloração amarela e tornando-se verde (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999) à medida que se reduz do molibdênio 6<sup>+</sup> a molibdênio 5<sup>+</sup> em decorrência da presença de determinadas substâncias com atividade antioxidante. A coloração verde é mais intensa quando maior for a atividade antioxidante da amostra.

Pesquisadores já relataram excelente correlação linear entre o perfil de fenóis totais e a atividade antioxidante (SANTOS, 2010). A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOUSA et al., 2007). Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias. A quantificação espectrométrica de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu, um dos métodos mais antigos de quantificação de fenóis, figura entre as mais extensivamente utilizadas (SOUSA et al., 2007; SANTOS, 2010).

O reagente, também conhecido como Folin-Dennis, é composto pela mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstístico, na qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6<sup>+</sup>. Em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, ocorre a formação dos chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6 (OLIVEIRA et al., 2009). O reativo de Folin-Ciocalteu, quando na presença de compostos fenólicos, muda sua coloração de amarela para azul e a intensidade da coloração azul é maior quanto mais compostos fenólicos houver na solução.

O teste de Folin-Ciocalteu não é específico para antioxidantes, porque interage igualmente bem ao fenol simples, ácido cítrico, muitas aminas, aminoácidos e açúcares, devido ao potencial redox extremamente alto apresentado pelo reagente de Folin. Além disso, o ânion de heteropólio molibdofosfato-tungstato exibe altas taxas de interações íon-dipolo com moléculas de água, de modo que este método se torna impróprio para antioxidantes lipofílicos (ÖZYÜREK; GÜÇLÜ; APAK, 2011).

A cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são técnicas capazes de separar e quantificar compostos fenólicos. Desse modo, a determinação da atividade antioxidante pode ser realizada por meio da combinação das técnicas com a espectrometria de massa, além de outras técnicas relevantes. A análise de compostos fenólicos por cromatografia a gás é baseada em características de polaridade, pois eles são substâncias que possuem alta polaridade e baixa pressão de vapor. Outras técnicas cromatográficas tais como as cromatografias em papel e em camada delgada são bastante utilizadas na purificação e isolamento de antocianinas, flavonóis e ácidos fenólicos em alimentos (ÂNGELO; JORGE, 2007).

## **2.5 Principais parâmetros genéticos e estatísticos**

Quando se objetiva encontrar estratégias mais eficientes para seleção em programas de melhoramento é importante ter disponível informações genéticas quantitativas sobre a população escolhida (VIEIRA, 2016). Isso indica que o conhecimento de estimativas genéticas é de suma importância para nortear a tomada de decisões frente à condução de um programa de melhoramento. Isso porque tal conhecimento permite identificar a maneira de ação dos genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos e avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para a obtenção de ganhos genéticos e manutenção da base genética adequada nas populações.

### **2.5.1 Variância fenotípica, variância ambiental e variância genotípica.**

Poder relacionar os fenótipos apresentados pelos indivíduos em uma população, com as diferenças genéticas existentes entre eles, torna mais fácil qualquer programa de melhoramento. Entender essa relação permite o conhecimento de quanto o fator genético controla determinado caráter que está sendo estudado e o seu potencial para a seleção (SOUZA, 2006). Dessa forma, o conhecimento das variâncias fenotípica, genotípica e

ambiental possibilita quantificar o grau de associação genético e não genético entre dois ou mais indivíduos.

A variância fenotípica representa as diferenças apresentadas entre indivíduos de uma população e pode ser atribuída a vários fatores. Uma vez que o fenótipo apresentado por um indivíduo é determinado pela sua base genética e pode ser influenciado pelo ambiente no qual ele se desenvolve, a variância fenotípica é composta pelas variâncias genotípica e ambiental. Nos programas de melhoramento o foco está na variância genética, pois ela indica o que é herdável. No entanto, a variância fenotípica também é de fundamental interesse no melhoramento de plantas, pois além de ser determinada por porções herdáveis e não herdáveis, engloba ainda a possível interação genótipo por ambiente.

A variância fenotípica é calculada pelo somatório dos quadrados das diferenças obtidas entre os valores de cada amostra e a média da população, dividido pelo número de amostras analisadas menos um.

Vários fatores podem justificar a variância ambiental, incluindo fatores ambientais específicos, como a quantidade de luz ou água que a planta recebe, fertilização do solo ou presença de patógenos, como também possíveis diferenças aleatórias que surjam durante o desenvolvimento, que acabam não sendo atribuíveis a nenhum fator específico (SOUZA, 2006).

### 2.5.2 Herdabilidade

A herdabilidade ( $h^2$ ) é um parâmetro de grande importância relativo a hereditariedade de qualquer característica. Esse parâmetro representa quanto do fenótipo poderá ser esperado para as próximas gerações. É uma importante ferramenta, amplamente utilizada pelos melhoristas, principalmente para expressar predição de ganhos de seleção para geração seguinte (MONTEIRO, 2018). Isso reflete a capacidade da expressão fenotípica ser herdada e indica a possibilidade de obtenção de indivíduos superiores por meio de seleção (BALDISSERA et al., 2014).

O conceito de herdabilidade pode ser apresentada no sentido amplo, a qual corresponde à proporção da variância genotípica presente na variância fenotípica, referindo-se à confiabilidade do valor fenotípico, ou no sentido restrito, que é baseada na razão da variância genética aditiva pela variância fenotípica, geralmente utilizada quando se realiza seleção clonal ou entre híbridos (SOUZA, 2006; MONTEIRO, 2018). A herdabilidade no sentido amplo apresenta maior importância em plantas de propagação vegetativa, nas quais o

genótipo é herdado integralmente pelos descendentes (VIEIRA, 2016). No caso da alface, no entanto, pela dificuldade de realização de cruzamentos, devido à cleistogamia, o que diminui a certeza da pureza das sementes originárias dos cruzamentos, normalmente não se trabalha com populações de retrocruzamentos, limitando assim, a estimativa da variância genética aditiva.

Os valores do parâmetro de herdabilidade no sentido amplo variam de zero a um ou, em porcentagem, de 0 % a 100 %. Quando a herdabilidade é igual a 1, significa que as diferenças fenotípicas entre os indivíduos são ditadas unicamente pela genética. Já quando o valor é igual a 0, significa que a variabilidade fenotípica apresentada não tem origem genética, portanto, a expressão fenotípica é totalmente dependente do ambiente. Dessa forma, os valores de herdabilidade variam entre as diferentes características e geralmente são classificados como altos quando maiores que 0,5; como médios quando estão entre 0,2 a 0,5 e baixos quando menores que 0,2 (STANSFIELD, 1974 apud BALDISSERA et al., 2014). É importante ressaltar que a herdabilidade não é propriedade intrínseca de um caráter, mas sim de como ele se apresenta na população, nas condições ambientais a que ela foi submetida.

Quando a herdabilidade é alta, indica que a maior parte da variação fenotípica apresentada em uma população é atribuída à variação genotípica e pouco influenciada pelo ambiente (RAGHEB, 2015), portanto, a seleção nas gerações iniciais normalmente é eficaz. Mas quando seu valor é baixo, a seleção deve ser praticada apenas nas gerações mais avançadas. A herdabilidade para as principais características da alface ainda não foi suficientemente determinada (VIEIRA, 2016). Kumar, Kaushal e Shukla (2010) relatam alta herdabilidade, combinada com altas estimativas de coeficientes genotípicos de variabilidade e ganho genético, para o conteúdo de  $\beta$ -caroteno em alface.

Souza et al. (2008) estudaram a herdabilidade no sentido amplo de características agronômicas em 13 progênies de cultivares de alface tolerantes ao pendoamento precoce, utilizando para os cruzamentos as cultivares Regina, Tinto, Verdinha, e as cultivares Luísa e Babá de Verão como testemunhas. Para as características número de folhas, peso fresco da planta e diâmetro da planta foram encontradas altas taxas de herdabilidade, sendo  $h^2 = 83,99$ ;  $78,79$ ;  $80,82$ , respectivamente. Já o peso fresco das folhas ( $h^2 = 64,85$ ), comprimento do caule ( $h^2 = 67,77$  e número de plantas pendoadas ( $h^2 = 66,94$ ) se mostraram características que ainda que herdadas, sofrem maior influência do ambiente em relação às demais estudadas.

### 2.5.3 Grau médio de dominância (GMD)

A fim de analisar o efeito genético dos genes pode-se recorrer ao parâmetro da estimativa do grau médio de dominância. O grau médio de dominância é estimado por meio da divisão entre a estimativa do desvio do heterozigoto em relação à média dos genitores (d) e a estimativa do desvio dos homozigotos em relação à média dos genitores (a).

Uma escala de valores, estabelecida por STUBER et al. (1987 apud PEREIRA; LEAL; PEREIRA, 2000), pode ser adotada para a análise do quociente, sendo considerado efeito aditivo quando o GMD é igual a zero e inferior a 0,20; como dominância parcial para valores de 0,21 a 0,80; dominância completa para valores de 0,81 a 1,2; e valores maiores que 1,2 considerados sobredominância. A herdabilidade alta, no sentido restrito, associada a efeitos aditivos indicam a possibilidade de sucesso por meio da seleção de genótipos superiores (CASSETARI, 2015).

#### 2.5.4 Estimativa do número de genes.

A estimativa do número de genes é um indicativo do tipo de herança que controla um caráter, se é de natureza monogênica, oligogênica ou poligênica. Quando se conhece o número de genes envolvidos na expressão de um fenótipo fica mais claro inferir sobre o tamanho populacional necessário para que se recupere um genótipo determinado (BALDISSERA et al., 2014), de modo que quanto mais genes estiverem envolvidos, maiores serão as possibilidades de combinação entre eles e maior será a quantidade de gerações necessárias para atingir o genótipo desejado.

É possível estimar o número de indivíduos necessários em uma população segregante para que seja possível obter pelo menos um indivíduo com a característica desejada. Este número é função do número de genes que controlam o caráter, bem como da proporção de indivíduos esperados em dada geração e pode ser obtido pela fórmula  $n = \log(1 - P) / \log(1 - p)$ , em que:  $n$  é o tamanho da amostra;  $P$  é a probabilidade de ocorrência de pelo menos um determinado evento na população em estudo; e  $p$  é a probabilidade esperada de ocorrência de tal evento, ou seja, a probabilidade do genótipo em questão (PEREIRA et al., 2012).

#### 2.5.5 Correlação

O coeficiente de correlação de Pearson é um modelo estatístico utilizado para analisar a relação entre duas variáveis, indicando a direção e a intensidade da influência de uma sobre

a outra (CARGNELUTTI FILHO et al., 2010). O sinal do coeficiente de correlação expressa o sentido da correlação e sua intensidade é representada por um valor numérico que oscila, positiva ou negativamente, entre 0 a 1. Valores positivos indicam variáveis reagindo na mesma direção, ou seja, que quando uma variável aumenta, a outra variável analisada também aumenta; quando uma diminui, a outra também diminui. Já a correlação que apresenta valores negativos sugere que aumento de uma variável implica na diminuição da outra.

Para Cohen (1988 apud FIGUEIREDO FILHO; SILVA JÚNIOR, 2009), valores entre 0,10 e 0,29 podem ser considerados baixos; entre 0,30 e 0,49 podem ser considerados como médios; e valores entre 0,50 e 1 podem ser interpretados como altos. Em situações extremas, dois caracteres podem apresentar correlação linear negativa perfeita ( $r = -1$ ) ou positiva perfeita ( $r = 1$ ) ou, ainda, ausência de relação linear ( $r = 0$ ) (CARGNELUTTI FILHO et al., 2010), ou seja, não há correlação alguma entre as variáveis.

O conhecimento da associação entre caracteres é de grande importância nos trabalhos de melhoramento genético, principalmente se um dos caracteres apresenta baixa herdabilidade ou problemas para identificação e avaliação (VIEIRA, 2016). Essas associações podem possibilitar ganhos diretos e indiretos com a seleção de caracteres correlacionados, principalmente em seleção na qual associam-se caracteres de baixa herdabilidade, aumentando a eficiência do processo.

Com base nesse parâmetro, caracteres correlacionados positivamente podem ser melhorados conjuntamente, evidenciando a importância da informação do comportamento associativo entre características de interesse. Já a existência de correlação negativa entre elas pode dificultar processo de seleção, levando o pesquisador a determinar a melhor forma para que ambas as características de interesse sejam preservadas.

A correlação permite fazer inferências da maneira pela qual um caráter em particular afetará os demais, dispondo de informações sobre a natureza, extensão e direção da pressão de seleção entre os caracteres (CRUZ, 2005). Kumar, Kaushal e Shukla (2010) identificaram correlação positiva significativa entre o teor de  $\beta$ -caroteno e a germinação das sementes em alface; além do teor de ferro ter apresentado associação positiva com o índice de vigor das sementes.

## ANÁLISES BIOQUÍMICA E GENÉTICA DOS TEORES DE FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM ALFACE.

Vanessa Aparecida Caetano Alves<sup>1</sup>, Joana D'Arc Mendes Vieira<sup>3</sup>, Larissa Ferreira de Araújo<sup>1</sup>,  
Marcos de Souza Gomes<sup>2</sup>, Terezinha Aparecida Teixeira<sup>1</sup>, Luiz Antônio Augusto Gomes<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratório de Genética Molecular, Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de  
Uberlândia, Patos de Minas, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Biotecnologia, Universidade  
Federal de Uberlândia, Patos de Minas, Minas Gerais, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Agricultura, Federal Universidade de Lavras, Lavras, Minas Gerais,  
Brasil.

Resumo: Vegetais são fontes naturais de antioxidantes. Dentre as hortaliças folhosas, a alface é fonte importante de alguns desses fitonutrientes, sendo bastante consumida. Técnicas que visam melhorar a qualidade nutricional e funcional de cultivares de alface tornam-se importantes para o melhoramento desta espécie. Esse estudo objetivou estimar parâmetros genéticos para teor de flavonoides (TF) e atividade antioxidante (AA) em populações de alface oriundas do cruzamento entre 'Darkland' e 'Red Star'. Plantas dos genitores, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, foram avaliadas. TF foi determinado por espectrofotometria, assim como AA, por meio dos métodos de sequestro de radicais DPPH<sup>•</sup> e ABTS<sup>•+</sup>. Plantas de 'Red Star' apresentaram valores superiores, contrastantes aos apresentados por 'Darkland'. O valor estimado para herdabilidade no sentido amplo foi relativamente alto para TF (82,4%) e AA pelo método DPPH (52,73%) e médio para AA pelo método ABTS (33,70%). O grau médio de dominância em ambos mostrou dominância parcial no sentido de reduzir os valores das características avaliadas, porém com valores variando de 0,35 a 0,64, indicando a ocorrência de efeitos aditivos. O coeficiente de correlação fenotípico entre o TF e a AA DPPH foi relativamente alto, apresentando valor de 0,64 e ligeiramente inferior para AA ABTS, sendo 0,59. Herdabilidade no sentido amplo alta, associada à ocorrência de efeito aditivo, indica possibilidade de sucesso na seleção de novos genótipos superiores para TF e AA em gerações futuras. A obtenção de novas plantas com maior capacidade antioxidante pode ser feita pela seleção indireta de plantas com maior teor de flavonoides.

PALAVRAS-CHAVE: *Lactuca sativa*, herdabilidade; correlação, parâmetros genéticos.

### 1 INTRODUÇÃO

Dentre as hortaliças folhosas, a alface (*Lactuca sativa* L.) apresenta grande relevância econômica no Brasil, sendo considerada a mais consumida e mais comercializada. Seu consumo torna a alimentação mais saudável, devido ao alto teor de sais minerais e elevada presença de vitaminas em sua composição (STERTZ et al. 2005). Originária da região do Mediterrâneo, evoluiu de forma que existe hoje um grande número de cultivares no mercado, de diferentes aspectos, padrões de folhas e cores das plantas.

Ao lado do tomate, a alface é considerada o mais importante vegetal das saladas, altamente consumida *in natura*. É conhecida por ser uma fonte de fitonutrientes incluindo

clorofila, antocianinas, vitaminas e carotenoides, entre outros compostos antioxidantes (KIM et al. 2007), o que a torna ainda mais interessante no que tange às atuais tendências de consumo, já que muitas pessoas têm procurado obter uma vida mais saudável e estão mudando seus hábitos alimentares na busca por qualidade nutricional.

Antioxidantes são substâncias capazes de neutralizar ou minimizar a reatividade de radicais livres e espécies reativas, resultantes do metabolismo normal do organismo ou vindos do meio-ambiente, por exemplo, pela poluição do ar ou com o uso de drogas. Porém, o desequilíbrio, ou seja, uma situação em que ocorra o aumento de radicais livres no organismo, pode resultar em danos importantes a macromoléculas e estruturas celulares, de modo que várias doenças não contagiosas que atingem a saúde humana, entre elas as cardiovasculares, o diabetes e o mal de Alzheimer, podem ter relação com esses danos.

Os antioxidantes são classificados como enzimáticos quando produzidos pelo organismo, estando presentes tanto no meio intracelular como no meio extracelular, ou como não-enzimáticos, podendo esses serem adquiridos por meio da alimentação. Nos últimos tempos, tem aumentado o interesse por esses componentes nutricionais e pesquisas desenvolvidas com carotenoides e antocianinas têm demonstrado que esses possuem capacidade antioxidante, entre outros efeitos fisiológicos benéficos (CASSETARI 2015; LIU et al. 2007).

Já os flavonoides são uma classe de compostos fenólicos resultantes do metabolismo secundário das plantas e seus teores podem ser influenciados por vários fatores, incluindo a temperatura, a radiação ultravioleta (UV), a intensidade da luz, entre outros. Eles desempenham um papel importante devido à sua atividade antioxidante, contribuindo para a saúde humana no controle da hipertensão; ajudando a prevenir distúrbios da visão e infecções microbianas; inibindo a proliferação de células cancerosas (MOURA 2016); e reduzindo o colesterol LDL (OLIVEIRA et al. 2002). Os flavonoides estão amplamente presentes em

vegetais e contam com diversos estudos realizados que demonstram sua capacidade antioxidante (ABE et al. 2007; SPAGOLLA et al. 2009; ALVES & KUBOTA 2013).

O melhoramento genético de hortaliças voltado para o desenvolvimento de cultivares com melhores características funcionais tem ganhado força à medida que publicações sobre pesquisas e dados médicos reforçam que uma dieta rica em alimentos com alto teor de compostos funcionais tem efeitos benéficos para a saúde humana, associados à prevenção de doenças multifatoriais. A alface pode ser considerada uma boa escolha para ser utilizada como meio de inserção de maiores quantidades de fitoquímicos funcionais por já estar presente nos hábitos de consumo da população.

Alguns trabalhos mostram que existe variabilidade genética para teores de carotenoides (MOU 2005; CASSETARI 2015) e antocianinas (GAZULA et al. 2007; KIM et al. 2007; OLIVEIRA 2019) em folhas de alface. Portanto, o melhoramento genético pode ser empregado para melhorar a qualidade nutricional de cultivares comerciais desta hortaliça. O conhecimento da variabilidade genética de características desejáveis em plantas permite o estabelecimento de métodos mais apropriados, o que aumenta a eficiência dos programas de melhoramento. Dessa forma, um dos principais objetivos do conhecimento genético de características de interesse é alcançar resultados mais precisos, seguros e com menor gasto a partir do melhoramento genético, que consiste na seleção artificial de plantas, na tentativa de aprimorar a qualidade de características agrônômicas de produtos agrícolas.

A seleção dos melhores genótipos, seja em germoplasma exótico ou em populações que não foram submetidas a nenhum processo de melhoramento, é o primeiro passo para obtenção de população-base a ser melhorada (SHIMELIS & LAING 2012). Além disso, o cruzamento entre materiais contrastantes pode ampliar a variabilidade genética, permitindo a identificação de novos genótipos com características mais favoráveis. O presente trabalho objetivou estimar e analisar parâmetros genéticos a partir dos resultados obtidos da

quantificação do teor de flavonoides e da atividade antioxidante em populações de alface, obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Darkland e Red Star.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção das plantas

Uma parte do trabalho foi desenvolvida utilizando-se infraestrutura disponível na Universidade Federal de Lavras (UFLA) e outra parte realizada na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Patos de Minas, no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBBM).

A obtenção das populações de plantas para avaliação foi feita em casa de vegetação, nas dependências do Departamento de Agricultura da UFLA, em Lavras, MG e no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia da UFLA, em Ijaci, MG.

As cultivares de alface empregadas como genitores foram a cv. Darkland e a cv. Red Star. Estas cultivares, ambas linhagens homozigotas, apresentam características contrastantes no que diz respeito à coloração e tipo de folhas, conforme a figura 1, sendo a ‘Darkland’ uma alface do tipo romana, com coloração verde escura e a Red Star do tipo crespa, com a coloração das folhas roxa bastante intensa.

Figura 1 – Plantas das cultivares utilizadas como genitores no cruzamento. À esquerda, a cultivar de coloração verde, Darkland e à direita a cultivar de coloração roxa, Red Star.



Para obtenção das plantas para realização dos cruzamentos, sementes de cada cultivar foram semeadas em substrato comercial contidos em bandejas de isopor de 128 células, de forma escalonada para favorecer o sincronismo de florescimento. Após este período de

germinação, as mudas foram transplantadas para vasos, contendo substrato à base de terra de barranco, areia, húmus e adubo químico. Os vasos foram então colocados e mantidos em estufa. Por ocasião do florescimento, foram feitos os cruzamentos.

Na cultivar Darkland, utilizada como genitor feminino, as flores ainda em estágio de botão, na iminência de abrir, tiveram seus estames cortados com uma lâmina de barbear em horário que antecedeu ao nascer do sol. Com o raiar do dia, e consequente aumento da luminosidade e da temperatura, os estigmas dessa cultivar se alongaram, e quando apresentaram um formato bipartido na extremidade, foram polinizados utilizando-se flores abertas colhidas na cv. Red Star, que foram levemente esfregadas diretamente nos estigmas das flores emasculadas da cv. Darkland.

Cada botão floral polinizado foi identificado, amarrando-se um pedaço de lã ao mesmo. Cada planta da cv. Darkland foi enumerada, para permitir saber qual planta do genitor feminino seria utilizada para colheita de sementes  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star'). O cruzamento recíproco não foi realizado.

Após o desenvolvimento e amadurecimento das sementes, foram colhidas aquelas das flores marcadas com lã. Estas sementes foram limpas, secas e colocadas em pequenos sacos de papel, sendo identificadas como  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star'). Posteriormente, sementes  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star'), colhidas separadamente de cada planta genitora, foram semeadas e as flores de suas plantas foram, então, naturalmente autofecundadas para obtenção de sementes da geração  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star'). De uma planta  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star') foram retiradas sementes  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star'), que foram semeadas dando origem às plantas da geração  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star'), utilizadas para as avaliações.

Para obtenção das amostras de plantas das populações objeto das análises, foi adotado o delineamento de blocos completos casualizados (DBC), com três repetições e quatro plantas por parcela. As populações objeto das análises foram:  $P_1$  - cv. Darkland (genitor feminino);  $P_2$  - cv. Red Star (genitor masculino);  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star') e  $F_2$  ('Darkland' x 'Red

Star'). Após a semeadura e obtenção das mudas destas populações, as mesmas foram transplantadas para canteiros em casa de vegetação e conduzidas até o estágio de planta comercial. A irrigação foi feita por gotejamento e o cultivo das plantas seguiu as recomendações adequadas para a cultura da alface.

Após 60 a 65 dias da semeadura, ou seja, quando as plantas atingiram a fase comercial, foram colhidas amostras de folhas de cada planta das gerações parentais, F<sub>1</sub> ('Darkland' x 'Red Star') e F<sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star'). Quatro folhas foram colhidas, dentre aquelas que apresentaram bom estado fitossanitário. Foram lavadas em água corrente para remover impurezas, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas a -20 °C. No dia 05 de fevereiro de 2019, as amostras foram transportadas de Lavras para a UFU, campus Patos de Minas, acondicionadas em caixa térmica com gelo, para manter as condições de baixa temperatura.

## **2.2 Preparo do extrato etanólico das folhas de alface**

Na UFU, as amostras das folhas das plantas de alface de cada população permaneceram armazenadas no Laboratório de Genética e Biotecnologia (GBIO), em ultrafreezer a -80 °C por, pelo menos, 24 horas antes de serem colocadas nas bandejas internas do liofilizador (LioTop, modelo L101), por 72 horas.

As amostras das plantas de alfaves liofilizadas foram trituradas manualmente, de modo a obter fragmentos menores que 5 mm. Em um béquer contendo 50 mg do material vegetal seco foram adicionados 2,5 mL do solvente de extração (etanol 96 %), agitando por 60 segundos e, utilizando um funil e algodão, a mistura foi filtrada em um outro béquer.

## **2.3 Avaliação da atividade antioxidante utilizando o método de captura do radical DPPH'**

O procedimento para a avaliação da atividade antioxidante empregou a técnica de captura dos radicais livres de DPPH' (AA DPPH) conforme descrito na literatura (LOPES-LUTZ et al. 2008), com algumas modificações. Para os testes, 900 µL de solução etanólica de

DPPH<sup>•</sup>, na concentração de 40 µg.mL<sup>-1</sup>, foram adicionados em tubos de ensaio, seguidos da adição de 100 µL do extrato etanólico da erva. Da mesma forma, o controle negativo foi preparado contendo todos os reagentes, porém sem a adição do extrato, que foi substituído por etanol. Após uma hora no escuro, as leituras foram feitas utilizando espectrofotômetro (Gehaka, modelo UV 340G), no comprimento de onda de 515 nm. A atividade antioxidante foi, então, determinada pela porcentagem de inibição do radical DPPH, empregando a equação abaixo:

$$\% \text{ Efeito de captação do radical} = AA \% = [(ACN - AA_{mo}) / ACN] * 100$$

Onde: AA<sub>mo</sub> = Absorbância do DPPH<sup>•</sup> com a amostra.

ACN = Absorbância do DPPH<sup>•</sup> com o controle negativo.

## **2.4 Avaliação da atividade antioxidante utilizando o método de captura do radical ABTS<sup>•+</sup>**

O ensaio do cátion radical ABTS<sup>•+</sup> (AA ABTS) foi executado conforme Re et al. (1999) e Gomes et al. (2017). Primeiro foram preparadas soluções de ABTS a 7 mM e de persulfato de potássio a 2,45 mM. Essas soluções foram misturadas 50 % v/v e repousadas no escuro, em temperatura ambiente, por 20h. Após esse período, a solução de ABTS<sup>•+</sup> foi diluída em etanol (1:60). Para o ensaio, foram misturados 50 µL do extrato etanólico preparado com as folhas de erva e 950 µL da solução do radical ABTS<sup>•+</sup> em um tubo de ensaio. O controle negativo foi preparado contendo todos os reagentes, porém sem a adição do extrato, que foi substituído por etanol. As leituras de absorbância foram feitas no espectrofotômetro no comprimento de onda de 735 nm, num intervalo de 6 min no escuro. O percentual de inibição do radical ABTS<sup>•+</sup> pelas amostras foi determinado utilizando a mesma fórmula de cálculo da porcentagem de inibição do radical DPPH, descrita anteriormente.

## **2.5 Quantificação dos teores de flavonoides totais.**

A extração e quantificação de flavonoides foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Francis (1982). As folhas de alface liofilizadas foram trituradas e 10 mg dessa amostra foram pesados em um béquer e acrescidos 5 mL de solução extratora, constituída de etanol 96 % e ácido clorídrico 1,5 mol.L<sup>-1</sup>, na proporção 85:15.

A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 374 nm. A solução extratora foi utilizada como branco. Os resultados foram expressos em mg de antocianinas totais.100 g<sup>-1</sup> de amostra, de acordo com a fórmula:  $At = Abs \times f / (\epsilon \cdot l)$ ; em que: At = mg de antocianinas.100 g<sup>-1</sup> de massa seca; Abs = absorbância; f = fator de diluição;  $\epsilon$  = coeficiente de absorvidade molar da cianidina (98,2).

## 2.6 Análise de dados.

Os dados obtidos foram utilizados para estimar parâmetros genéticos, médias das populações, o tipo de herança envolvida e a correlação entre as características avaliadas, buscando verificar o comportamento de cada uma das características. As estimativas foram obtidas por meio de análise multivariada no programa GENES, versão 1990.2017.59 (CRUZ 2005) e as fórmulas estão listadas no quadro 1.

Quadro 1 – Fórmulas utilizadas para estimativa dos parâmetros genéticos (continua).

Parâmetro genético	Fórmula
Média do Genitor 1 - $\bar{P}_1$	$\bar{P}_1 = \frac{\sum P_1}{n}$
Média do Genitor 2 - $\bar{P}_2$	$\bar{P}_2 = \frac{\sum P_2}{n}$
Média da geração F <sub>1</sub> - $\bar{F}_1$	$\bar{F}_1 = \frac{\sum F_1}{n}$
Média da geração F <sub>2</sub> - $\bar{F}_2$	$\bar{F}_2 = \frac{\sum F_2}{n}$
Variância fenotípica - $\sigma_{f(F_2)}^2$	$\sigma_{f(F_2)}^2 = \sigma_{F_2}^2 = \frac{\sum (F_2 - \bar{F}_2)^2}{n - 1}$
Variância genotípica - $\sigma_{g(F_2)}^2$	$\sigma_{g(F_2)}^2 = \sigma_{f(F_2)}^2 - \sigma_{m(F_2)}^2$

Quadro 1 – Continuação.

Variância ambiental - $\sigma_{m(F2)}^2$	$\sigma_{m(F2)}^2 = \frac{V_{P1} + V_{P2} + 2V_{F1}}{4}$
Herdabilidade no sentido amplo - $h_a^2$	$h_a^2 = \frac{\sigma_{g(F2)}^2}{\sigma_{f(F2)}^2} = \frac{\sigma_{g(F2)}^2}{\sigma_{g(F2)}^2 + \sigma_{m(F2)}^2}$
Grau médio de dominância baseado em médias - $k_m$	$K_m = \frac{2\bar{F}_1 - (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}$
Número de genes envolvidos - $\eta$	$\eta = \frac{R^2(1+0,5 k^2)}{8\sigma_g^2}$
Heterose - $h$ (%)	$h (\%) = \frac{100 h}{(\bar{P}_1 + \bar{P}_2)/2}$
Heterobeltiose - $h_b$	$h_b = (\bar{F}_1 + \bar{P}_x)$
Ganho por seleção - $\Delta G$ (%)	$\Delta G (\%) = \frac{\Delta G}{\bar{x}_0}$
Média de todos possíveis homozigotos - $M$	$\hat{m} = 1/2 \bar{P}_1 + 1/2 \bar{P}_2$
Medida dos efeitos aditivos - $[a]$	$\hat{a} = \bar{P}_x - 1/2 \bar{P}_1 + 1/2 \bar{P}_2$
Medida dos desvios de dominância - $[d]$	$\hat{d} = \bar{F}_1 - 1/2 \bar{P}_1 + 1/2 \bar{P}_2$
Grau médio de dominância baseado em variâncias - $k$	$K = \frac{d}{a} = \sqrt{\frac{d^2}{a^2}} = \sqrt{\frac{2\sigma_d^2}{\sigma_a^2}}$

206

207 **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

208 Os ensaios de redução de radicais livres ABTS e DPPH constituem métodos químicos  
209 frequentemente utilizados para mensurar o potencial antioxidante de extratos de vegetais e  
210 possibilitam que a apresentação dos resultados concernentes à atividade antioxidante  
211 investigada seja feita de diferentes formas. Assim, os resultados desse trabalho, apresentados  
212 na Tabela 1, expressam a capacidade dos extratos etanólicos de alface, na concentração de 20  
213 mg.mL<sup>-1</sup>, de sequestro dos radicais sintéticos, em percentual de inibição. A apresentação feita  
214 de formas diferentes, em distintos trabalhos, assim como a falta de padronização de

resultados, torna complexa a comparação da capacidade antioxidante de uma mesma amostra ou amostras distintas (OLIVEIRA 2015).

A análise das gerações (CRUZ 2005) mostrou que a cultivar Red Star, de coloração roxa, apresentou médias mais de três vezes superiores para todas as características em relação à cultivar Darkland, de coloração verde (Tabela 1), comprovando valores contrastantes entre os genitores escolhidos, requisito importante para a obtenção de dados consistentes em estudos de estimativas genéticas (BALDISSERA et al. 2014).

Tabela 1 - Médias dos teores de flavonoides totais e porcentagem de atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS em populações de alface.

	Flavonoides*	%AA DPPH**	%AA ABTS**
Red Star	1182,92	29,60	58,35
Darkland	245,00	5,89	15,58
Média dos parentais	713,96	17,75	36,96
F <sub>1</sub> ('Darkland' x 'Red Star')	540,90	10,20	29,45
F <sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star')	680,40	12,34	23,65

\*Valores expressos em mg.100g<sup>-1</sup> de peso seco. \*\*Valores expressos em porcentagem de inibição dos radicais.

Maiores teores de flavonoides apresentados por alface de coloração roxa em relação à alface verde já foram relatados por outros autores. Arabbi, Genovese e Lajolo (2004) estudaram cultivares de alface que exibiram diferenças significativas no conteúdo total de flavonoides, variando de 2 a 4 mg.100g<sup>-1</sup> (peso fresco) para cultivares verde lisas, de 18 a 21 mg.100g<sup>-1</sup> para verde crespas e cerca de 67 mg.100g<sup>-1</sup> para a alface roxa. Os valores relatados para peso fresco podem ser transformados para peso seco, considerando-se que a alface é composta por aproximadamente 95 % de água (KIM et al. 2007). Dessa forma, a título de comparação, os valores mencionados acima, agora referentes a peso seco, seriam de 40 a 80 mg.100g<sup>-1</sup> para cultivares verde lisas, de 360 a 420 mg.100g<sup>-1</sup> para verde crespas e cerca de 1.340 mg.100g<sup>-1</sup> para a alface roxa, ou seja, valores semelhantes às médias obtidas neste

trabalho, mostradas na Tabela 1. Arabbi, Genovese e Lajolo (2004) ainda explicaram que o maior teor de flavonoides na alface roxa não deve ser entendido apenas como maior teor de antocianinas, já que a mesma apresentou o maior teor de quercitina.

Durante a avaliação de compostos fenólicos totais, Liu et al. (2007) alertam para que embora seja consenso de que alfaces roxas apresentam maiores teores desses compostos, esse comportamento pode não ser sempre tomado como verdadeiro. No trabalho desses autores, a cultivar crespa-roxa Batavia que apresentou resultado que não foi significativamente maior que o das cultivares de alface verdes. Desta forma, torna-se importante que sejam feitos estudos para genótipos específicos para serem utilizados em programas de melhoramento genético.

No estudo de Dupont et al. (2000), foi apresentado o conteúdo de flavonoides conjugados em plantas de oito cultivares de alface. O conteúdo total de flavonoides variou de 0,5  $\mu\text{g.g}^{-1}$  para a cultivar americana de coloração verde a 207  $\mu\text{g.g}^{-1}$  para a cultivar Lollo rossa (coloração roxa). No estudo de Nicolle et al. (2004), com ensaios de Folin-Ciocalteu e DPPH, a cultivar mimosa, de coloração roxa, apresentou capacidade antioxidante 3,5 vezes maior que a da alface verde. Resultados do nosso trabalho corroboram estes resultados obtidos por Dupont et al. (2000) e Nicolle et al. (2004), já que, da mesma forma, a cv. Red Star, de coloração roxa, também apresentou valores superiores tanto para teor de flavonoides quanto para atividade antioxidante, em relação à cv. Darkland, de coloração verde.

O valor médio das plantas do híbrido  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star'), para todas as características, foi ligeiramente inferior à média dos genitores (Tabela 1), indicando a provável ocorrência de dominância parcial no efeito aditivo no sentido de reduzir o teor de flavonoides, assim como a porcentagem de atividade antioxidante. Do ponto de vista do melhoramento, isso demonstra que não haveria ganhos com a utilização de sementes híbridas. Esse resultado não tem relevância considerando-se que a alface é uma espécie que apresenta a cleistogamia, o que, até então, inviabiliza a utilização de cultivares híbridas. Por outro lado, a

interação alélica do tipo aditiva indica a possibilidade de ganhos a partir da seleção de genótipos superiores nas gerações segregantes.

Não foi observada segregação transgressiva para nenhuma das características na geração  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star'), já que não ocorreram plantas com valores significativamente maiores do que os observados em plantas da cv. Red Star ou com valores significativamente menores que as plantas da cv. Darkland. O que não quer dizer que não possa, eventualmente, ocorrer plantas com valores superiores a Red Star, ou inferiores a 'Darkland', em gerações mais avançadas, já que, como citado por diversos autores, a segregação transgressiva se torna mais evidente nas gerações seguintes à  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star'). Carvalho Filho, Gomes e Maluf (2009) verificaram a ocorrência de segregação transgressiva em progênies  $F_4$  de alface para as características de tipo de limbo e número de dias para florescimento. Por outro lado, Silva (2017) identificou segregação transgressiva para o teor de flavonoides já na geração  $F_2$ , porém utilizando outras cultivares de alface em seu estudo.

Os valores médios das plantas da geração  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star') também foram inferiores à média dos genitores, porém superiores à média das plantas  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star'), exceto para a característica de atividade antioxidante pelo método ABTS. No entanto, a amplitude de variação apresentada pelas plantas  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star') foi de 258,15 a 1.176,68 mg.100g<sup>-1</sup> para teor de flavonoides, de 0,33 a 41,40 % para AA DPPH e de 6,80 a 51,41 % para AA ABTS, indicando a possibilidade de seleção de plantas com valores elevados para ambas características em gerações mais avançadas.

### 3.1 Estimativas de parâmetros genéticos.

#### 3.1.1 Teor de flavonoides.

Quanto aos parâmetros genéticos avaliados em plantas das diferentes populações de alface, as análises indicam que a maior parte da variância fenotípica para flavonoides ( $\sigma_f^2 = 37.326,12$ ) foi de natureza genotípica ( $\sigma_g^2 = 30.756,88$ ) (Tabela 2), indicando que o teor de

flavonoides é mais influenciado pelo genótipo dos indivíduos que pelo ambiente ao qual são submetidos. Resposta como esta é de grande importância para o melhoramento genético, particularmente no caso da alface, quando normalmente não se utilizam retrocruzamentos, devido à cleistogamia, o que dificulta a obtenção de sementes híbridas. Para esta característica o grau médio de dominância foi da ordem de 0,37 (tabela 2), indicando a ocorrência de efeitos aditivos, o que pois permite antever maior eficiência no processo de seleção.

Ouzounis et al. (2015) observaram comportamento semelhante ao analisar o crescimento duas cultivares de alface, cv. Batavia e cv. Lollo Rossa em diferentes níveis de luminosidade e avaliar o teor de flavonoides. Em Batavia, o teor de flavonoides não foi significativamente alterado com os diferentes níveis de luminosidade. Já em Lollo Rossa, as cultivares submetidas ao tratamento luminoso apresentaram valores significativamente maiores que o controle.

O menor teor de flavonoides apresentado pelas plantas na geração F<sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star') foi 258,15 mg.100g<sup>-1</sup>, enquanto o maior valor foi de 1.176,68 mg.100g<sup>-1</sup>. Já Silva (2017), trabalhando com outras populações de alfaces, também de folhas roxas e verdes, encontrou uma variação de 539,8 a 7.878,2 mg.100g<sup>-1</sup>.

O valor estimado para herdabilidade no sentido amplo foi relativamente alto para essa característica ( $h_a^2 = 82,4 \%$ ) (Tabela 2). Isso reflete a porcentagem da variância fenotípica que é herdada e indica a possibilidade de obtenção de indivíduos superiores por meio de seleção (BALDISSERA et al. 2014). Esse resultado corrobora os resultados encontrados por Silva (2017), que relatou valor de herdabilidade para o caráter teor de flavonoides em alface de 82,9 %. Alta herdabilidade indica que a maior parte da variação fenotípica apresentada em uma população é atribuída à variação genotípica e pouco influenciada pelo ambiente (RAGHEB 2015).

Tabela 2 - Estimativas de parâmetros genéticos para as características avaliadas em folhas de alface das cultivares Red Star, Darkland e nas populações F<sub>1</sub> ('Darkland' x 'Red Star') e F<sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star').

Parâmetros	Flavonoides	AA DPPH	AA ABTS
Variância fenotípica - $\sigma^2_{f(F_2)}$	37.326,12 *	46,25 **	81,63 **
Variância ambiental - $\sigma^2_{m(F_2)}$	6.569,24 *	21,86 **	54,12 **
Variância genotípica - $\sigma^2_{g(F_2)}$	30.756,88 *	24,39 **	27,51 **
Herdabilidade no sentido amplo - $h^2_a$	82,40 %	52,73 %	33,70 %
Grau médio de dominância - $k_m$	-0,37	-0,64	-0,35
Número de genes envolvidos - $\eta$	3,5	8,6	9
Heterose - $h$	-173,06	-7,54	-7,52
Heterobeltiose - $h_b$	P1 = -642,015 P2 = 295,90	P1 = -19,40 P2 = 4,31	P1 = -28,90 P2 = 13,87
Ganho por seleção - $\Delta G$	33,14 %	45,66 %	20,74 %
Medida dos efeitos aditivos - $[a]$	468,96 a	11,85 b	21,39 b
Medida dos desvios de dominância - $[d]$	-173,06 a	-7,54 b	-7,52 b

\*Valores expressos em (mg.100g<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> de peso seco. \*\*Valores expressos em (% de inibição dos radicais)<sup>2</sup>. (a)

Valores expressos em mg.100g<sup>-1</sup> de peso seco. (b) Valores expressos em % de inibição dos radicais.

Para analisar o efeito genético a partir da estimativa do grau médio de dominância foi adotada a escala estabelecida por STUBER et al. (1987 apud PEREIRA, LEAL & PEREIRA 2000), sendo considerado efeito aditivo quando o GMD é igual a zero e inferior a 0,20; como

dominância parcial para valores de 0,21 a 0,80; dominância completa para valores de 0,81 a 1,2; e sobredominância para valores maiores que 1,2. Dessa forma, o resultado encontrado aponta para uma dominância parcial ( $GMD = -0,37$ ) no sentido de reduzir os valores de teor de flavonoides (Tabela 2). Este valor indica também, neste caso, que os efeitos aditivos têm importância maior no controle dessa característica. A herdabilidade alta associada à ocorrência de efeitos aditivos indica a possibilidade de sucesso por meio da seleção de genótipos superiores.

O teor de flavonoides se mostrou uma característica de herança oligogênica, pois o número de genes envolvidos foi de aproximadamente 3,5 (Tabela 2). Quando se conhece o número de genes envolvidos na expressão de um fenótipo fica mais claro inferir sobre o tamanho populacional necessário para que se recupere um genótipo determinado (BALDISSERA et al. 2014), de modo que, quanto mais genes estiverem envolvidos, maiores serão as possibilidades de combinação entre eles e maior será a quantidade de gerações necessárias para atingir o genótipo desejado.

Quanto à heterose, esta se apresenta positiva, quando o caráter avaliado no híbrido é maior que a média dos genitores ou negativa quando menor. Foi observado valor negativo para a heterose em ambas as características, pois os valores médios do híbrido  $F_1$  ('Darkland' x 'Red Star') foram menores que a média dos parentais. A heterose é um fenômeno de grande importância quando se pretende trabalhar com cultivares híbridas, já que se tem ganhos significativos imediatos a partir do cruzamento, por exemplo, entre duas linhagens. Este não é o caso da alface, já que não se utiliza cultivares híbridas.

Também foram avaliados os ganhos por seleção a partir da geração  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star'), com base no índice de seleção de 20 % das amostras que apresentaram os maiores teores de flavonoides. O cálculo da predição do ganho por seleção indicou que, após um ciclo, a média dos indivíduos será mais de 33 % (Tabela 2) superior à média da população  $F_2$  ('Darkland' x 'Red Star'). Este resultado vem confirmar a possibilidade de ganhos na fixação

da característica de teor de flavonoides a partir do cruzamento entre as cultivares Darkland, de coloração verde e Red Star, de coloração roxa.

### 3.1.2 Porcentagem de atividade antioxidante

As análises realizadas com os genitores ‘Darkland’ e ‘Red Star’, gerações F<sub>1</sub> (‘Darkland’ x ‘Red Star’) e F<sub>2</sub> (‘Darkland’ x ‘Red Star’) indicam que houve uma diferença quanto à avaliação para porcentagem de atividade antioxidante no que diz respeito às variâncias fenotípicas, genotípicas e ambientais, quando se utilizaram os diferentes métodos, DPPH e ABTS. Para o método DPPH a variância fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) foi da ordem de 46,25, enquanto a variância ambiental ( $\sigma_m^2$ ) foi de 24,39. Já pelo método ABTS, a variância fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) foi de 81,63, para uma variância ambiental ( $\sigma_m^2$ ) de 54,12 (Tabela 2). Verifica-se assim uma maior influência do ambiente quando se utiliza o método ABTS em relação ao método DPPH, cujos valores da variância ambiental em relação à fenotípica corresponderam a 66,4 % e 45,94 % respectivamente.

Com estes resultados, os valores estimados para herdabilidade no sentido amplo foram de 52,73 % e 33,70 %, para os métodos DPPH e ABTS, respectivamente. Os valores do parâmetro de herdabilidade no sentido amplo variam de zero a um ou, em porcentagem, de 0 % a 100 %. Quando a herdabilidade é igual a 1,0, significa que as diferenças fenotípicas entre os indivíduos são ditadas unicamente por fatores genéticos e serão, em grande parte, herdadas pelas próximas gerações. Já quando o valor é igual a zero, significa que a variabilidade fenotípica apresentada não tem origem genética, portanto, a expressão fenotípica é totalmente dependente do ambiente, não podendo assim ser transmitida a seus descendentes.

Dessa forma, os valores de herdabilidade variam entre as diferentes características e geralmente são classificados como altos quando maiores que 0,5; como médios quando estão entre 0,2 a 0,5 e baixos quando menores que 0,2 (STANSFIELD 1974 apud BALDISSERA et al. 2014). Considerando os valores de herdabilidade no sentido amplo obtidos para % AA

pelo método DPPH de 52,73 % e pelo método ABTS de 33,70 %, valores relativamente altos para método DPPH e médio para o método ABTS.

É importante ressaltar que a herdabilidade não é propriedade intrínseca de um caráter, e sim de como ele se apresenta na população, sob as condições ambientais às quais ela foi submetida. Desta forma, para um mesmo caractere, diferentes metodologias de avaliação podem resultar em valores de herdabilidade diferentes, conforme a característica apresente maior ou menor influência ambiental.

Em plantas de alface da geração F<sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star') o intervalo de valores apresentado para %AA DPPH variou de 0,3 % para o menor valor a 41,4 % para o maior valor. Liu et al. (2007) encontraram valores médios para capacidade de sequestro de radicais DPPH maiores que os encontrados nesse trabalho, os quais foram de 76,4 %; 70,0 %; 69,1 % e 51,7 % entre quatro diferentes tipos de alface, sendo crespa, romana, Batavia e lisa, respectivamente. Apesar dos pesquisadores terem utilizado a mesma concentração de extrato de alface, eles escolheram outra solução extratora (acetona hidratada) para o preparo do mesmo. Já o intervalo de valores apresentado para %AA ABTS variou de 6,8 % para o menor valor, a 51,4 % para o maior valor. Verifica-se, assim, que apesar da utilização de cultivares diferentes e métodos de avaliação diferentes, os valores obtidos nos trabalhos são relativamente semelhantes. Além disso, verifica-se também a variabilidade de valores apresentada na geração F<sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star'), resultante das plantas segregantes desta população, o que é esperado e desejável para a seleção de novos genótipos.

Quanto ao grau médio de dominância (GMD), para a característica de %AA, este também variou conforme o método utilizado neste trabalho, sendo de -0,35 para o método DPPH e de -0,64 para o método ABTS respectivamente, apontando, em ambos os métodos, para uma dominância parcial no sentido de reduzir valores de atividade antioxidante. Verifica-se em ambos os casos que ocorre também a contribuição de efeitos aditivos, o que é desejável em programas de melhoramento quando se pratica a seleção para determinadas características.

A estimativa do número de genes que governam a porcentagem de atividade antioxidante variou entre 8,6 e 9, mostrando que essa característica é de herança poligênica, reforçando sua natureza quantitativa.

Quanto à avaliação dos ganhos por seleção, com base no índice de seleção de 20 % das amostras de plantas da geração F<sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star'), os cálculos da predição do ganho por seleção indicam que, após um ciclo, a média dos indivíduos será superior em relação à média da população F<sub>2</sub> ('Darkland' x 'Red Star') em 20 %, caso se utilize o método ABTS e 45 %, caso se utilize o método DPPH. Estes resultados poderiam ser esperados em função da maior herdabilidade no sentido amplo demonstrada pela característica de %AA, quando medida pelo método DPPH.

### 3.1.3 Correlações entre as características estudadas

O coeficiente de correlação de Pearson é um modelo estatístico utilizado para analisar a relação entre duas variáveis, indicando a direção e a intensidade da influência de uma sobre a outra (CARGNELUTTI FILHO et al., 2010). Para Cohen (1988 apud FIGUEIREDO FILHO & SILVA JÚNIOR 2009), valores entre 0,10 e 0,29 podem ser considerados baixos ou pequenos; entre 0,30 e 0,49 podem ser considerados como médios; e valores entre 0,50 e 1 podem ser interpretados como altos ou grandes. Valores positivos remetem à correlação positiva, indicam variáveis reagindo na mesma direção, ou seja, que quando uma variável aumenta, a outra variável analisada também aumenta; quando uma diminui, a outra também diminui. Por outro lado, valores negativos remetem à correlação negativa, ou seja, o aumento de uma variável implica na diminuição da outra.

O coeficiente de correlação fenotípico entre as características de teor de flavonoides das plantas de alface e a capacidade de inibição do radical DPPH foi relativamente alto, apresentando valor de 0,64 (Tabela 3). Já a correlação entre o teor de flavonoides e a capacidade de inibição do radical ABTS mostrou-se ligeiramente inferior à anterior, com valor de 0,59. De qualquer forma, em ambos os casos, isso significa que, quanto maior o teor

de flavonoides encontrado em um genótipo de alface, maior também será a atividade antioxidante apresentada por este genótipo. A correlação alta já era esperada, uma vez que a atividade antioxidante da alface é, em grande parte, derivada de compostos fenólicos, e os flavonoides são derivados fenólicos encontrados em quantidades substanciais na alface (ALTUNKAYA & GÖKMEN 2008).

Os valores dos coeficientes de correlação apresentados sugerem que uma maior capacidade antioxidante em alface pode ser eventualmente obtida, de forma indireta, mediante a seleção de plantas com maior teor de flavonoides. Isso se torna interessante uma vez que a metodologia para a determinação de teor de flavonoides se mostra um processo mais fácil e com um custo mais baixo do que as metodologias para a determinação da atividade antioxidante em vegetais.

Tabela 3 – Valores de correlação entre o teor de flavonoides e a atividade antioxidante.

	Atividade Antioxidante (AA)	
	DPPH	ABTS
Teor de flavonoides	0,64	0,59
AA ABTS	0,69	-

Braga et al. (2016), em um estudo com subproduto agro industrial de amendoim (pele liofilizada), encontraram alta correlação positiva entre o teor de flavonoides totais e a atividade antioxidante medida por meio do método DPPH e também por meio do método ABTS ( $r = 0,93$  e  $0,92$ , respectivamente).

O teor de flavonoides totais dos extratos alcoólicos obtidos de mirtilo (*Vaccinium ashei*) também mostraram alta correlação com a capacidade antioxidante avaliada pelo método de complexação pelo fosfomolibdênio ( $r = 0,77$ ) no trabalho de Spagolla et al. (2009). E em um estudo com erva-mate, Bisognin et al. (2019) encontraram alta correlação positiva entre o teor de flavonoides totais e a atividade antioxidante medida por meio do método

ABTS ( $r = 0,72$ ), ficando o método DPPH com uma correlação considerada média, com valor de 0,41.

Considerando os dois métodos de obtenção da capacidade antioxidante, DPPH e ABTS, a correlação também foi relativamente alta ( $r = 0,69$ ), mostrando que os resultados dos testes seguiram o mesmo padrão dentro de uma população segregante de mais de 300 indivíduos.

#### 4 CONCLUSÃO

A obtenção de novas cultivares de alface com teores elevados de flavonoides e capacidade antioxidante é viável a partir do cruzamento entre a cultivar de coloração verde Darkland e a de coloração roxa Red Star.

A herdabilidade no sentido amplo relativamente alta, associada a grau médio de dominância baixo e ocorrência de efeitos aditivos permite antever a possibilidade de sucesso na seleção de novos genótipos superiores para estas características.

A seleção de plantas de alface com maior teor de flavonoides permite a obtenção, indiretamente, de genótipos com maior capacidade antioxidante.

#### REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de uvas *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera* L. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*: Campinas, 2007. v.27, n.2, pp. 394-400. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000200032>.
- ALTUNKAYA, A.; GÖKMEN, V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*, 2008. v.107, n.3. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.046>.
- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 2013. v. 34, pp. 37-41.
- ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in Vegetable Foods Commonly Consumed in Brazil and Estimated Ingestion by the Brazilian Population. *Journal*

of *Agricultural and Food Chemistry*, 2004. v.52, n.5, pp. 1124 – 1131.  
<https://doi.org/10.1021/jf0499525>.

BALDISSERA, J. N. C. et al. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 2014. v.13, n.2, pp. 181-189.

BISOGNIN, D. A. et al. Contents of total phenolics and flavonoids and antioxidant activity in leaves of *Ilex paraguariensis*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2019, v.54.  
<https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00856>.

BRAGA, G. C. et al. Rendimento de extração, atividade antioxidante e compostos fenólicos dos subprodutos agro industriais de uva, manga e amendoim. *Ciência Rural*: Santa Maria, 2016. v.46, n.8, pp. 1498-1504. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00856>.

CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Tamanho de amostra para estimação do coeficiente de correlação linear de Pearson entre caracteres de milho, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*: Brasília, 2010. v.45, n.12. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010001200005>.

CARVALHO FILHO, J. L. S.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F 4 de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. *Acta Scientiarum-agronomy*: Maringá, 2009, v. 31, n. 1, p. 37-42.  
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i1.6607>.

CASSETARI, L. S. *Controle genético dos teores de clorofila e carotenoides em folhas de alface*. Tese (Doutorado em fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015. 78 p.

CRUZ, C. D. *Programa genes – Versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística*. UFV: Viçosa, 2005. 21 ed. 648 p.

DUPONT, M. S. et al. Effect of Variety, Processing, and Storage on the Flavonoid Glycoside Content and Composition of Lettuce and Endive. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000. v.48, n.9, pp. 3957–3964. <https://doi.org/10.1021/jf0002387>.

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JÚNIOR, J. A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). *Revista Política Hoje*: Recife, 2009. v. 18, n. 1, pp. 115-146.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: Anthocyanins as food colors MARKAKIS, P. (Ed.) *Academic Press*: New York, 1982. pp. 181-207. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50011-1>.

GAZULA, A. et al. Anthocyanin Levels in Nine Lettuce (*Lactuca sativa*) Cultivars: Influence of Planting Date and Relations among Analytic, Instrumented, and Visual Assessments of Color. *Hortscience*, 2007. 2 ed. v. 42. pp. 232–238.  
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.2.232>.

GOMES, M. S. et al. Effect of edible coatings with essential oils on the quality of red raspberries over shelf-life. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017. v. 97, pp. 929-938. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7817>.

- KIM, H. J. et al. Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoids of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Easton, 2007. v. 55, n. 25, p. 10372. <https://doi.org/10.1021/jf071927m>.
- LIU, X. et al. Total phenolic content and DPPHd radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. *LWT – Food Science and Technology*, Elsevier, 2007, v.40, n.3, pp. 552 - 557. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.007>.
- LOPES-LUTZ, D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. *Phytochemistry*: New York, 2008. v. 69, n. 8, pp. 1732-1738. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.014>.
- MOU, B. Genetic variation of beta-carotene and lutein contents in Lettuce. *Journal of American Society for Horticultural Science*: Alexandria 2005. v. 130, p. 7. <https://doi.org/10.21273/JASHS.130.6.870>.
- MOURA, L. O. *Estimativa de pigmentos em alfaces cultivadas em diferentes sistemas de produção com base na espectrometria*. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei, 2016. Disponível em [https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/Dissertacao%20Lorena%2022\\_2\\_16\(1\).pdf](https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/Dissertacao%20Lorena%2022_2_16(1).pdf). Acesso dia 20 de agosto de 2018.
- NICOLLE, C. et al. Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2004. v. 84, n. 15, pp. 2061–2069. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1916>.
- OLIVEIRA, A. H. G. *Estimativas de parâmetros genéticos para pigmentos foliares e caracteres agrônômicos em diferentes populações de alface*. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. 45 p. Disponível em <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1303>. Acesso em novembro de 2019.
- OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. *Revista Brasileira Plantas Medicinais*: Botucatu, 2015. [https://doi.org/10.1590/1983-084X/12\\_165](https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_165).
- OLIVEIRA, T. T. et al. Efeito de diferentes doses de flavonoides em ratos hiperlipidêmicos. *Revista de Nutrição da PUCCAMP*: Campinas, 2002. v. 15, n.1, pp. 45-51. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732002000100006>.
- OUZOUNIS, T. et al. Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. *Frontiers in Plant Science*, 2015. v. 6, 16p. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00019>.
- PEREIRA, N. E.; LEAL, N. R.; PEREIRA, M. G. Controle genético da concentração de 2-Tridecanona e de 2-Undecanona em cruzamentos interespecíficos de tomateiro. *Bragantia*: Campinas, 2000. v. 59, n. 2, pp. 165-172. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052000000200007>.

- RAGHEB, E. I. M. Mass Selection and Individual Plant Selection as Two Breeding Methods for Improving Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Alexandria Journal of Agricultural Sciences*, 2015. v. 2015, n. 3, pp. 213-220. <https://doi.org/10.21608/alexja.2015.31248>.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, New York, 1999. v. 26, n. 9-10, pp. 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- SHIMELIS, H.; LAING, M. Timelines in conventional crop improvement: pre-breeding and breeding procedures. *Australian Journal of Crop Science*, 2012. v. 6, n. 11, pp. 1.542-1.549.
- SILVA, E. A. *Genética da distribuição quantitativa de antocianina em plantas de população segregante de alface*. Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Universidade Federal de São João del-Rei, 2017. 48 p.
- SPAGOLLA, L. C. et al. Extração alcoólica de fenólicos e flavonoides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, 2009. v.30, n.2, pp. 187-191.
- STERTZ, S.C. et al. Qualidade nutricional e contaminantes de alface (*Lactuca sativa* L.) convencional, orgânica e hidropônica. *Visão Acadêmica*: Curitiba, 2005. v.6, n.1. <https://doi.org/10.5380/acd.v6i1.573>.

## 4 CONCLUSÃO

A obtenção de novas cultivares de alface com teores elevados de flavonoides e capacidade antioxidante é viável a partir do cruzamento entre a cultivar de coloração verde Darkland e a de coloração roxa Red Star.

A herdabilidade relativamente alta, associada à presença de efeitos aditivos para as características de teor de flavonoides e capacidade antioxidante em populações de alface permite antever a possibilidade de sucesso na seleção de novos genótipos superiores para estas características.

Quando se seleciona cultivares com maior teor de flavonoides, estará também selecionando cultivares com maior capacidade antioxidante, haja vista a correlação alta entre essas características e suas grandes herdabilidades.

Diversos estudos e pesquisas fitotécnicas, citogenéticas e moleculares vêm sendo desenvolvidas para a cultura da alface, entretanto, os estudos envolvendo a herança de características desejáveis e parâmetros genéticos ainda são incomuns. A necessidade de mais estudos se relaciona de maneira mais efetiva a programas de melhoramento, direcionando para o sucesso as estratégias de seleção e apontando de forma científica quais as técnicas poderão ser mais eficazes.

## REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de uvas *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera* L. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**: Campinas, 2007. v.27, n.2, pp. 394-400. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000200032>
- ALTUNKAYA, A.; GÖKMEN, V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). **Food Chemistry**, 2008. v.107, n.3. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.046>.
- ALVES, C.Q. et al. Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides. **Diálogos e ciência**, 2007, v. 5, n.12, pp. 7-8. Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/267203680>. Acesso em janeiro de 2020.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**: São Paulo, 2010. v.33, n.10, pp. 2202-2210. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>
- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 2013. v. 34, pp. 37-41.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**: São Paulo, 2007. v.66, n.1.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI 2019 / Benno Bernardo Kist et al. **Editora Gazeta Santa Cruz**: Santa Cruz do Sul, 2018. 96 p.
- ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in Vegetable Foods Commonly Consumed in Brazil and Estimated Ingestion by the Brazilian Population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2004. v.52, n.5, pp. 1124–1131. Disponível em <https://doi.org/10.1021/jf0499525>
- ARNOSO, B. J. M.; COSTA, G. F.; SCHMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, 2019. v. 18, n. 1, pp. 39-48. Disponível em <https://doi.org/10.33233/nb.v18i1.1432>
- BALDISSERA, J. N. C. et al. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 2014. v.13, n.2, pp. 181-189.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de Nutrição**: Campinas, 2010. vol.23, n.4. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**: São Paulo, 2006. v.29, n.1, pp. 113-123. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021>
- BARROSO, G. M. et al. Sistemática de Angiospermas do Brasil. **Imprensa Universitária UFV**: Viçosa, 1991. v. 3, pp. 237-314.

BISOGNIN, D. A. et al. Contents of total phenolics and flavonoids and antioxidant activity in leaves of *Ilex paraguariensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2019, v.54. Disponível em <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00856>

BRAGA, G. C. et al. Rendimento de extração, atividade antioxidante e compostos fenólicos dos subprodutos agro industriais de uva, manga e amendoim. **Ciência Rural**: Santa Maria, 2016. v.46, n.8, pp. 1498-1504. Disponível em <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00856>

CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Tamanho de amostra para estimação do coeficiente de correlação linear de Pearson entre caracteres de milho, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: Brasília, 2010. v.45, n.12. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010001200005>

CARVALHO FILHO, J. L. S.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F 4 de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. **Acta Scientiarum-agronomy**: Maringá, 2009, v. 31, n. 1, p. 37-42. Disponível em <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i1.6607>

CARVALHO, P. G. B. et al. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, 2006. v.24, n.4. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0102-05362006000400001>

CASSETARI, L. S. **Controle genético dos teores de clorofila e carotenoides em folhas de alface**. Tese (Doutorado em fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015. 78 p.

CEAGESP. **Guia de produtos CEAGESP**. 2017. Disponível em <http://www.ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/alface-americana>. Acesso em fevereiro de 2020.

CHENG, D. M. et al. Development and phytochemical characterization of high polyphenol red lettuce with anti-diabetic properties. **PLoS ONE**: Japão, 2014. v. 9. n.3. Disponível em <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091571>

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R; SALGADO, H. R. N. Free radicals and antioxidant agents: concepts to application in pharmaceutical and cosmetic formulations **Revista Brasileira Farmácia**, 2007, v.88, n.3, pp. 113-118

CLAPAUCH, R. et al. Fitoestrogênios: posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**: São Paulo, 2002 v. 46, n. 6, pp. 679-695. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0004-27302002000600013>

CRUZ, C. D. **Programa genes – Versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística**. UFV: Viçosa, 2005. 21 ed. 648 p.

DORÊS, R. G. R. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007. 347 p.

DORNAS, W. C. et al. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 2007. v. 28, n.3, pp. 241-249. Disponível em

[http://servbib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/view/235/230](http://servbib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/view/235/230). Acesso em dezembro de 2019.

DUPONT, M. S. et al. Effect of Variety, Processing, and Storage on the Flavonoid Glycoside Content and Composition of Lettuce and Endive. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2000. v.48, n.9, pp. 3957–3964. Disponível em <https://doi.org/10.1021/jf0002387>

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**: São Paulo, 1997. v. 43, n. 1, pp. 61-68. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JÚNIOR, J. A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**: Recife, 2009. v. 18, n. 1, pp. 115-146.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3.ed. rev. ampl. Viçosa: UFV, 2007. 421p.

FRANÇA, T. L. E. et al. **Atividade antioxidante pelo método DPPH de extrato vegetal da casca da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.)**. Trabalho apresentado no Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação – VII CONNEPI, 2012. Disponível em <http://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/4509/1353>. Acesso em fevereiro de 2019.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: Anthocyanins as food colors MARKAKIS, P. (Ed.) **Academic Press**: New York, 1982. pp. 181-207. Disponível em <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50011-1>

GAZULA, A. et al. Anthocyanin Levels in Nine Lettuce (*Lactuca sativa*) Cultivars: Influence of Planting Date and Relations among Analytic, Instrumented, and Visual Assessments of Color. **Hortscience**, 2007. 2 ed. v. 42. pp. 232–238. Disponível em <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.2.232>

GEORGE, V. C. et al. Plant flavonoids in cancer chemoprevention: role in genome stability. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 2017. v. 45, n. 1, p. 1-14. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.11.007>

GOMES, M. S. et al. Effect of edible coatings with essential oils on the quality of red raspberries over shelf-life. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2017. v. 97, pp. 929-938. Disponível em <https://doi.org/10.1002/jsfa.7817>

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. A. Comunicado técnico: Tipos de alface cultivados no Brasil. **Embrapa Hortaliças**: Brasília, 2009. 7 p.

KIM, H. J. et al. Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoids of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**: Easton, 2007. v. 55, n. 25, p. 10372. Disponível em <https://doi.org/10.1021/jf071927m>

KIM, M. J. et al. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, 2016. v. 49, pp. 19-34. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>

KUMAR, R.; KAUSHAL, S.; SHUKLA, Y. R. Variability, correlation, and path analysis studies in lettuce. **International Journal of Vegetable Science**, 2010. v.16, n.4, pp. 299 - 315. Disponível em <https://doi.org/10.1080/19315260.2010.481660>

LIU, X. et al. Total phenolic content and DPPHd radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. **LWT – Food Science and Technology**, Elsevier, 2007, v.40, n.3, pp. 552 - 557. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.007>

LLORACH, R. et al. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and ascarole, **Food Chemistry**, 2008. 3 ed. v. 108. pp. 1028-1038. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.032>

LOPES-LUTZ, D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. **Phytochemistry**: New York, 2008. v. 69, n. 8, pp. 1732-1738. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.014>

LUENGO, R. F. A. et al. Tabela de Composição Nutricional das Hortaliças. **Embrapa Hortaliças**. Brasília, 2011. 2.ed.

MACHADO, H. et al. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**: Juiz de Fora, 2008. v. 27, n. 1/2, pp. 33-39.

MLADENOVIC, J. D. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of lettuce. **IV International Symposium Agrosym**, 2013. pp. 619-624.

MONTEIRO, F. F. **Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos da qualidade de sementes de soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018. 54 p.

MOU, B. Genetic variation of beta-carotene and lutein contents in Lettuce. **Journal of American Society for Horticultural Science**: Alexandria 2005. v. 130, p. 7. Disponível em <https://doi.org/10.21273/JASHS.130.6.870>

MOURA, L. O. **Estimativa de pigmentos em alfaces cultivadas em diferentes sistemas de produção com base na espectrometria**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei, 2016. Disponível em [https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/Dissertacao%20Lorena%2022\\_2\\_16\(1\).pdf](https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/Dissertacao%20Lorena%2022_2_16(1).pdf). Acesso dia 20 de agosto de 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NICOLLE, C. et al. Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2004. v. 84, n. 15, pp. 2061–2069. Disponível em <https://doi.org/10.1002/jsfa.1916>

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, 2009. v. 32, n. 3, pp. 689-702. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300013>

OLIVEIRA, A. H. G. **Estimativas de parâmetros genéticos para pigmentos foliares e caracteres agronômicos em diferentes populações de alface**. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. 45 p. Disponível em <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1303>. Acesso em novembro de 2019.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**: Botucatu, 2015. Disponível em [https://doi.org/10.1590/1983-084X/12\\_165](https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_165)

OLIVEIRA, N. S. **Variabilidade genética em alface para agricultura orgânica**. Tese (Doutorado em fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017. 49 p.

OLIVEIRA, T. T. et al. Efeito de diferentes doses de flavonoides em ratos hiperlipidêmicos. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**: Campinas, 2002. v. 15, n.1, pp. 45-51. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1415-52732002000100006>

OLIVEIRA, V. P.; ESPESCHIT, A. C R.; PELUZIO, M. C. G. Flavonoides e doenças cardiovasculares: ação antioxidante. **Revista Médica de Minas Gerais**, 2006. v.16, n.4, pp. 234-238. Disponível em <http://rmmg.org/artigo/detalhes/580>. Acesso em novembro de 2019.

OUZOUNIS, T. et al. Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. **Frontiers in Plant Science**, 2015. v. 6, 16p. Disponível em <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00019>.

ÖZYÜREK, M.; GÜÇLÜ, K.; APAK, R. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. **Trends in Analytical Chemistry**, 2011. v. 30, n. 4, pp. 652-664. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.11.016>

PEREIRA, M. O. S. **Estudo comparativo de métodos de avaliação da capacidade antioxidante de compostos bioativos**. Dissertação (Mestrado em engenharia alimentar). Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia: Lisboa, 2010. Disponível em <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/3146/3/TESE MESTRADO3x.pdf>. Acesso em fevereiro de 2019.

PEREIRA, N. E.; LEAL, N. R.; PEREIRA, M. G. Controle genético da concentração de 2-Tridecanona e de 2-Undecanona em cruzamentos interespecíficos de tomateiro. **Bragantia**: Campinas, 2000. v. 59, n. 2, pp. 165-172. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0006-87052000000200007>.

PEREIRA, W. A. et al. Fluxo gênico recíproco entre cultivares de soja convencional e geneticamente modificada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: Brasília, 2012. v.47, n.2, pp. 227-236. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000200011>.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, 1999. v. 269, n.2, pp. 337 – 341. Disponível em <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>

RAGHEB, E. I. M. Mass Selection and Individual Plant Selection as Two Breeding Methods for Improving Lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Alexandria Journal of Agricultural Sciences**, 2015. v. 2015, n. 3, pp. 213-220. Disponível em <https://doi.org/10.21608/alexja.2015.31248>.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, 1999. v. 26, n. 9-10, pp. 1231-1237. Disponível em [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

RESENDE, G. M. et al. Adaptação de genótipos de alface crespa em condições semiáridas. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**: Fortaleza, 2017. v. 11, n. 1, pp. 1.145-1.154. Disponível em <https://doi.org/10.7127/rbai.v11n100553>.

ROCHA, D.S.; REED, E. Pigmentos Naturais em Alimentos e sua Importância para a Saúde. **Revista Estudos de Vida e Saúde**: Goiás, 2014. v. 41. pp. 76-85.

SAHA, S. et al. Genetic analysis of bioactive compounds and antioxidant properties in lettuce (*Lactuca sativa*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, 2016. v.86, n.11, pp. 1471-1476.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**: Brasília, 2012, v. 30, n. 2, pp. 187-194. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>.

SANDHAR, H. K et al. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. **Internationale pharmaceutica sciencia**, 2011. v.1, n.1, pp. 25-41.

SANTOS, L. M. B. **Caracterização química das substâncias fenólicas de diferentes coberturas florestais**. Tese (Doutorado em produção vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2010.

SHIMELIS, H.; LAING, M. Timelines in conventional crop improvement: pre-breeding and breeding procedures. **Australian Journal of Crop Science**, 2012. v. 6, n. 11, pp. 1.542-1.549.

SILVA, E. A. **Genética da distribuição quantitativa de antocianina em plantas de população segregante de alface**. Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Universidade Federal de São João del-Rei, 2017. 48 p.

SILVA, W. J. M.; FERRARI, C. K. B. Metabolismo Mitocondrial, Radicais Livres e Envelhecimento. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**: Rio de Janeiro, 2011. v. 14, n. 3, pp. 441-451. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1809-98232011000300005>.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 2004. v. 10, n. 4, pp. 308-313. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1517-86922004000400008>.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**: São Paulo, 2007. v. 30, n. 2, pp. 351-355. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>.

SOUZA, M. C. M. S. **Variabilidade genética e caracterização agronômica de progênes de alface tolerantes ao calor**. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de plantas). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2006. 54 p.

SOUZA, M. C. M. et al. Variabilidade genética para características agronômicas em progênes de alface tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, 2008. n.26, pp. 354-358. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0102-05362008000300012>.

SOUZA, W. **Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná: Campo Mourão, 2013.

SPAGOLLA, L. C. et al. Extração alcoólica de fenólicos e flavonoides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, 2009. v.30, n.2, pp. 187-191.

STERTZ, S.C. et al. Qualidade nutricional e contaminantes de alface (*Lactuca sativa* L.) convencional, orgânica e hidropônica. **Visão Acadêmica**: Curitiba, 2005. v.6, n.1. Disponível em <https://doi.org/10.5380/acd.v6i1.573>.

TANAMATI, F. Y. **Fontes e doses de corretivos de acidez do solo na nutrição e produção de alface**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012. 73 p.

TEIXEIRA, J. et al. Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview. **BioMed Research International**, 2013. v. 2013, 11 p. Disponível em <https://doi.org/10.1155/2013/251754>

UENOJO, M; MARÓSTICA JUNIOR, M. R; PASTORE, G. M. Carotenoids: properties, applications and biotransformation in flavor compounds. **Química Nova**: São Paulo, 2007. vol. 30. n. 3. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300022>

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, 2007, v. 30, n. 5, pp. 1323-1338. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000500046>

VIEIRA, S. D. **Parâmetros genéticos, fenotípicos e seleção de híbridos experimentais de morangueiro**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2016. 114p.

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, 2004. v.22, n.1, pp. 28-34. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0102-05362004000100006>

VIZZOTTO, E. **Radicais livres e mecanismos de proteção antioxidante**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017. 10 p. Disponível em <https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2017/10/antioxidantesElissa.pdf>. Acesso em janeiro de 2020.

WANG, T.; LI, Q; BI, K. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2018. v. 13, n. 1, pp. 12-23. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>

WATSON, J. D. et al. **Biologia Molecular do Gene**. Armed: Porto Alegre, 2015. 7 ed.

ZHANG, Y. J. et al. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. **Molecules**, 2015, v. 20, n. 12, pp. 21.138-21.156. Disponível em <https://doi.org/10.3390/molecules201219753>.

## APÊNDICE A - Dados gerados no programa Genes

```
=====
Programa GENES                                ANÁLISE DE GERAÇÕES
Arquivo de dados                             C:\Users\Luis\Documents\A_Luiz\A_Patos
de Minas\Pós-Graduação\Alunos\Vanessa\Análises\Dados_Control_e_Genético_1.txt
Número de variáveis                           3
% selecionados na F2                          20
Variância Ambiental                          (VP1+2VF1+VP2) / 4
Data                                           01-02-2020
=====
```

Análise de P1 P2 F1 e F2

ANÁLISE DA VARIÁVEL => Flavonoides  
MÉDIAS E VARIÂNCIAS

GERAÇÃO	N MÉDIA		VARIÂNCIA	V ( $\mu$ )	1/V ( $\mu$ )
P1	12	1182.918333	1081.368145	90.114012	.011097
P2	12	245.005833	10407.9009	867.325075	.001153
F1	12	540.903333	7393.837482	616.153123	.001623
F2	302	680.405099	37326.118061	123.596417	.008091

## PARÂMETROS GENÉTICOS DA POPULAÇÃO F2

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	DESVIO-PADRÃO
VARIÂNCIA FENOTÍPICA	37326.118061	3032.539797
VARIÂNCIA AMBIENTAL (*)	6569.236002	1450.568269
VARIÂNCIA GENOTÍPICA	30756.882059	3032.635685
HERDABILIDADE AMPLA (%)	82.400431	1.015451
HETEROSE	-173.05875	-24.239207 %
HETEROBELTIOSE (Pai 1)	-642.015	-54.273823 %
HETEROBELTIOSE (Pai 2)	295.8975	120.771614 %
GRAU MÉDIO DA DOMINÂNCIA (Baseado em médias)	- .36903	
VALOR MÁXIMO NA F2	1176.68	
VALOR MÍNIMO NA F2	258.15	
NÚMERO DE GENES (Amp = MaxF2 - MinF2)	3.428897	
NÚMERO DE GENES (Amp = $\mu P1$ - $\mu P2$ )	3.575134	

$$(*) VM = (VP1 + 2VF1 + VP2) / 4$$

Seleção dos maiores valores - Indivíduos a serem selecionados

212	152	209	3	225	9	285	158	41	38	172	170	103	150	248	54	106
70	187	102	1	20	185	2	82	147	117	223	25	11	108	21	256	221
291	259	156	268	132	111	16	57	74	266	46	26	12	133	125	186	42
157	165	257	288	118	27	47	155	86								

Seleção dos menores valores - Indivíduos a serem selecionados

114	231	243	101	92	213	73	53	135	234	91	5	139	112	196	193	24
162	96	235	177	56	297	298	179	32	214	273	159	244	278	261	258	161
207	64	119	94	39	23	245	241	232	189	154	22	49	30	50	85	105
72	249	77	260	121	19	192	236	200								

## PREDIÇÃO DE GANHO POR SELEÇÃO

NÚMERO DE INDIVÍDUOS SELECIONADOS	60
MÉDIA ORIGINAL DA F2	680.405099

\*\*\*\*\* SELEÇÃO PARA MAIORES VALORES \*\*\*\*\*

MÉDIA DOS INDIVÍDUOS SELECIONADOS	954.082667
DIFERENCIAL DE SELEÇÃO	273.677567
GANHO POR SELEÇÃO	225.511494
GANHO POR SELEÇÃO (%)	33.14371
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO	905.916594

\*\*\*\*\* SELEÇÃO PARA MENORES VALORES \*\*\*\*\*

MÉDIA DOS INDIVÍDUOS SELECIONADOS	417.4905
-----------------------------------	----------

DIFERENCIAL DE SELEÇÃO -262.914599  
 GANHO POR SELEÇÃO -216.642762  
 GANHO POR SELEÇÃO (%) -31.840261  
 MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO 463.762337

\*\*\*\*\* GS = p i h DPg \*\*\*\*\*

CONTROLE PARENTAL (p) 1.0  
 INTENSIDADE DE SELEÇÃO (i) 1.3998  
 GANHO POR SELEÇÃO 222.844482  
 GANHO POR SELEÇÃO (%) 32.751736  
 MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO (Acréscimo) 903.249581  
 MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO (Decréscimo) 457.560618

ANÁLISE DA VARIÁVEL => AA DPPH  
 MÉDIAS E VARIÂNCIAS

GERAÇÃO	N	MÉDIA	VARIÂNCIA	V(μ)	1/V(μ)
P1	12	29.595833	62.828391	5.235699	.190996
P2	12	5.889167	11.351045	.94592	1.057171
F1	12	10.198333	6.633964	.55283	1.808873
F2	302	12.338742	46.25187	.153152	6.529466

PARÂMETROS GENÉTICOS DA POPULAÇÃO F2

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	DESVIO-PADRÃO
VARIÂNCIA FENOTÍPICA	46.25187	3.757708
VARIÂNCIA AMBIENTAL (*)	21.861841	6.327802
VARIÂNCIA GENOTÍPICA	24.390029	13.023536
HERDABILIDADE AMPLA (%)	52.733066	23.36891
HETEROSE	-7.544167	-42.520314 %
HETEROBELTIOSE (Pai 1)	-19.3975	-65.541321 %
HETEROBELTIOSE (Pai 2)	4.309167	73.171077 %
GRAU MÉDIO DA DOMINÂNCIA (Baseado em médias)	-.63646	
VALOR MÁXIMO NA F2	41.4	
VALOR MÍNIMO NA F2	.33	
NÚMERO DE GENES (Amp = MaxF2 - MinF2)	8.644644	
NÚMERO DE GENES (Amp = μP1 - μP2)	2.880306	

(\*) VM = (VP1+2VF1+VP2)/4

Seleção dos maiores valores - Indivíduos a serem selecionados

103	46	29	3	82	118	60	47	62	187	1	175	147	202	152	35	20
223	262	70	172	163	54	225	285	14	38	239	230	155	111	55	94	125
36	44	106	16	58	170	78	290	123	205	97	117	132	158	282	107	247
95	176	194	41	302	283	156	141	209								

Seleção dos menores valores - Indivíduos a serem selecionados

184	229	235	244	261	181	197	65	214	30	295	220	289	204	112	8	192
296	161	142	183	173	232	72	242	85	169	213	215	272	293	210	22	69
145	178	79	24	189	279	135	32	300	217	260	5	90	292	196	113	153
227	40	177	243	182	166	248	128	115								

PREDIÇÃO DE GANHO POR SELEÇÃO

NÚMERO DE INDIVÍDUOS SELECIONADOS	60
MÉDIA ORIGINAL DA F2	12.338742

\*\*\*\*\* SELEÇÃO PARA MAIORES VALORES \*\*\*\*\*

MÉDIA DOS INDIVÍDUOS SELECIONADOS	23.022333
DIFERENCIAL DE SELEÇÃO	10.683592
GANHO POR SELEÇÃO	5.633785
GANHO POR SELEÇÃO (%)	45.659319
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO	17.972527

\*\*\*\*\* SELEÇÃO PARA MENORES VALORES \*\*\*\*\*

MÉDIA DOS INDIVÍDUOS SELECIONADOS	4.697833
DIFERENCIAL DE SELEÇÃO	-7.640908
GANHO POR SELEÇÃO	-4.029285
GANHO POR SELEÇÃO (%)	-32.65556
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO	8.309456

\*\*\*\*\* GS = p i h DPg \*\*\*\*\*

CONTROLE PARENTAL (p)	1.0
INTENSIDADE DE SELEÇÃO (i)	1.3998
GANHO POR SELEÇÃO	5.020115
GANHO POR SELEÇÃO (%)	40.685793
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO (Acréscimo)	17.358857
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO (Decréscimo)	7.318627

ANÁLISE DA VARIÁVEL => AA ABTS  
MÉDIAS E VARIÂNCIAS

GERAÇÃO	N	MÉDIA	VARIÂNCIA	V (p)	1/V (p)
P1	12	58.355	163.461336	13.621778	.073412
P2	12	15.585833	27.574609	2.297884	.435183
F1	12	29.454167	12.719391	1.059949	.943441
F2	302	23.64957	81.627112	.270288	3.699751

PARÂMETROS GENÉTICOS DA POPULAÇÃO F2

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	DESVIO-PADRÃO
VARIÂNCIA FENOTÍPICA	81.627112	6.631749
VARIÂNCIA AMBIENTAL (*)	54.118682	16.350586
VARIÂNCIA GENOTÍPICA	27.50843	15.477514
HERDABILIDADE AMPLA (%)	33.700114	13.109761
HETEROSE	-7.51625	-20.330444 %
HETEROBELTIOSE (Pai 1)	-28.900833	-49.52589 %
HETEROBELTIOSE (Pai 2)	13.868333	88.980377 %
GRAU MÉDIO DA DOMINÂNCIA (Baseado em médias)	-.35148	
VALOR MÁXIMO NA F2	51.41	
VALOR MÍNIMO NA F2	6.8	
NÚMERO DE GENES (Amp = MaxF2 - MinF2)	9.042919	
NÚMERO DE GENES (Amp = $\mu P1$ - $\mu P2$ )	8.312005	

(\*) VM = (VP1+2VF1+VP2)/4

Seleção dos maiores valores - Indivíduos a serem selecionados

20	29	280	239	11	60	70	47	212	14	44	97	26	103	155	1	46
291	225	16	202	170	57	152	25	98	187	147	143	95	163	226	41	86
118	248	216	172	205	253	186	82	230	13	217	149	54	223	209	49	55
79	34	238	10	111	252	36	67	156								

Seleção dos menores valores - Indivíduos a serem selecionados

281	289	136	295	192	128	146	135	129	188	283	284	261	229	184	235	183
157	197	154	66	277	167	206	178	114	258	273	278	213	242	124	196	93
56	142	72	37	65	12	107	268	101	297	234	241	32	298	64	244	137
126	266	243	74	108	201	259	279	189								

PREDIÇÃO DE GANHO POR SELEÇÃO

NÚMERO DE INDIVÍDUOS SELECIONADOS	60
MÉDIA ORIGINAL DA F2	23.64957

\*\*\*\*\* SELEÇÃO PARA MAIORES VALORES \*\*\*\*\*

MÉDIA DOS INDIVÍDUOS SELECIONADOS	38.2015
DIFERENCIAL DE SELEÇÃO	14.55193
GANHO POR SELEÇÃO	4.904017
GANHO POR SELEÇÃO (%)	20.736179
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO	28.553587

\*\*\*\*\* SELEÇÃO PARA MENORES VALORES \*\*\*\*\*

MÉDIA DOS INDIVÍDUOS SELECIONADOS	13.014833
DIFERENCIAL DE SELEÇÃO	-10.634736
GANHO POR SELEÇÃO	-3.583918
GANHO POR SELEÇÃO (%)	-15.154264
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO	20.065651

\*\*\*\*\* GS = p i h DPg \*\*\*\*\*

CONTROLE PARENTAL (p)	1.0
INTENSIDADE DE SELEÇÃO (i)	1.3998
GANHO POR SELEÇÃO	4.262011
GANHO POR SELEÇÃO (%)	18.021517
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO (Acréscimo)	27.911581
MÉDIA PREDITA PARA 1o CICLO APÓS SELEÇÃO (Decréscimo)	19.387558

---

## ANEXO A - Diretrizes para Autores – Revista Agropecuária Tropical

*Pesquisa Agropecuária Tropical* (PAT) é o periódico científico editado pela Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, em versão eletrônica (e-ISSN 1983-4063). Destina-se à publicação de Artigos Científicos cuja temática tenha aplicação direta na agricultura tropical. Logo, a vinculação indireta do objeto de estudo com essa temática não é razão suficiente para que uma submissão seja aprovada para seguir no processo editorial deste periódico. Notas Técnicas, Comunicações Científicas e Artigos de Revisão somente são publicados a convite do Conselho Editorial.

A submissão de trabalhos é gratuita e deve ser feita exclusivamente via sistema eletrônico, acessível por meio do endereço [www.agro.ufg.br/pat](http://www.agro.ufg.br/pat) ou [www.revistas.ufg.br/index.php/pat](http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat). Os autores devem manifestar, por meio de documento assinado por todos, escaneado e inserido no sistema como documento suplementar, anuência acerca da submissão e do conhecimento da política editorial e diretrizes para publicação na revista PAT (caso os autores morem em cidades diferentes, mais de um documento suplementar pode ser inserido no sistema, pelo autor correspondente).

A revista PAT recomenda a submissão de artigos com, no máximo, 5 (cinco) autores. A partir deste número, uma descrição detalhada da contribuição de cada autor deve ser encaminhada ao Conselho Editorial (lembre-se de que, às vezes, a seção “Agradecimentos” é mais apropriada que a autoria).

Durante a submissão *on-line*, o autor correspondente deve atestar, ainda, em nome de todos os autores, a originalidade e ineditismo do trabalho (trabalhos já disponibilizados em anais de congresso não são considerados inéditos, por tratarem-se de uma forma de publicação e ampla divulgação dos resultados), a sua não submissão a outro periódico, a conformidade com as características de formatação requeridas para os arquivos de dados, bem como a concordância com os termos da Declaração de Direito Autoral, que se aplicará em caso de publicação do trabalho. Por fim, deve-se incluir os chamados metadados (informações sobre os autores e sobre o trabalho, tais como título, resumo, palavras-chave) e transferir os arquivos com o manuscrito e documento suplementar (anuência dos autores).

Se o trabalho envolveu diretamente animais ou seres humanos como sujeitos da pesquisa, deve-se comprovar a sua aprovação prévia por um Comitê de Ética em pesquisa.

Os trabalhos podem ser escritos em Português ou Inglês, entretanto, **serão publicados apenas em Inglês**. Logo, em caso de submissão em Português e aprovação para publicação, a versão final do manuscrito deverá ser traduzida por especialista em Língua Inglesa

(preferencialmente falante nativo), sendo que a tradução ficará a cargo dos autores, sem qualquer ônus para a revista.

Os manuscritos devem ser apresentados em até 18 páginas, com linhas numeradas. O texto deve ser editado em *Word for Windows* e digitado em página tamanho A-4 (210 mm x 297 mm), com margens de 2,5 cm, em coluna única e espaçamento duplo entre as linhas (inclusive para tabelas, cabeçalhos e rodapés). A fonte tipográfica deve ser *Times New Roman*, corpo 12. O uso de destaques como negrito e sublinhado deve ser evitado. Todas as páginas devem ser numeradas. Os manuscritos submetidos à revista PAT devem, ainda, obedecer às seguintes especificações:

1. Os Artigos Científicos devem ser estruturados na ordem: *título* (máximo de 20 palavras); *resumo* (máximo de 250 palavras; um bom resumo primeiro apresenta o problema para, depois, apresentar os objetivos do trabalho); *palavras-chave* (no mínimo, três palavras, e, no máximo, cinco, separadas por vírgula); *Introdução*; *Material e Métodos*; *Resultados e Discussão*; *Conclusões*; *Agradecimentos* (se necessário, em parágrafo único) e *Referências*. Chamadas relativas ao título do trabalho e os nomes dos autores, com suas afiliações e endereços (incluindo *e-mail*) em notas de rodapé, bem como agradecimentos, somente devem ser inseridos na versão final corrigida do manuscrito, após sua aceitação definitiva para publicação.

2. As citações devem ser feitas no sistema “autor-data”. Apenas a inicial do sobrenome do autor deve ser maiúscula e a separação entre autor e ano é feita somente com um espaço em branco. Ex.: (Gravena 1984, Zucchi 1985). O símbolo “&” deve ser usado no caso de dois autores e, em casos de três ou mais, “et al.”. Ex.: (Gravena & Zucchi 1987, Zucchi et al. 1988). Caso o(s) autor(es) seja(m) mencionado(s) diretamente na frase do texto, utiliza-se somente o ano entre parênteses. Citações de citação (citações secundárias) devem ser evitadas, assim como as seguintes fontes de informação: artigo em versão preliminar (no prelo ou *preprint*) ou de publicação seriada sem sistema de arbitragem; resumo de trabalho ou painel apresentado em evento científico; comunicação oral; informações pessoais; comunicação particular de documentos não publicados, de correios eletrônicos, ou de *sites* particulares na Internet.

3. As referências devem ser organizadas em ordem alfabética, pelos sobrenomes dos autores, de acordo com a norma NBR 6023:2018, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), com a seguinte adequação: não é necessária a inclusão da cidade após os títulos de periódicos. Os destaques para títulos devem ser apresentados em itálico e os títulos de periódicos não devem ser abreviados.

4. As tabelas (também com corpo 12 e espaçamento duplo) e figuras, dispostas no decorrer do texto, devem ser identificadas numericamente, com algarismos arábicos, e receber chamadas no texto. As tabelas devem ser editadas em preto e branco, com traços simples e de espessura 0,5 ponto (padrão *Word for Windows*). As figuras devem ser apresentadas com resolução mínima de 300 dpi.

5. A consulta a trabalhos recentemente publicados na revista PAT ([www.agro.ufg.br/pat](http://www.agro.ufg.br/pat) ou [www.revistas.ufg.br/index.php/pat](http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat)) é uma recomendação do corpo de editores, para dirimir dúvidas sobre estas instruções e, conseqüentemente, agilizar a publicação.

6. Os autores não serão remunerados pela publicação de trabalhos na revista PAT, pois devem abrir mão de seus direitos autorais em favor deste periódico. Os conteúdos publicados, contudo, são de inteira e exclusiva responsabilidade de seus autores, ainda que reservado aos editores o direito de proceder a ajustes textuais e de adequação às normas da publicação. Por outro lado, os autores ficam autorizados a publicar seus artigos, simultaneamente, em repositórios da instituição de sua origem, desde que citada a fonte da publicação original na revista PAT.

7. Endereço e contatos:

Pesquisa Agropecuária Tropical (PAT)

Escola de Agronomia

Universidade Federal de Goiás

Caixa Postal 131 - Campus II (Samambaia)

CEP 74.001-970 - Goiânia, GO - Brasil

E-mail: [gilsonrevistaufg@gmail.com](mailto:gilsonrevistaufg@gmail.com)

Telefone: (62) 3521-1552

Homepage: <http://www.agro.ufg.br/pat> ou [www.revistas.ufg.br/index.php/pat](http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat)

### **Declaração de Direito Autoral**

Os autores não serão remunerados pela publicação de trabalhos na revista PAT, pois devem abrir mão de seus direitos autorais em favor deste periódico. Os conteúdos publicados, contudo, são de inteira e exclusiva responsabilidade de seus autores, ainda que reservado aos editores o direito de proceder a ajustes textuais e de adequação às normas da publicação. Por outro lado, os autores ficam autorizados a publicar seus artigos, simultaneamente, em repositórios da instituição de sua origem, desde que citada a fonte da publicação original na revista PAT.