

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA - UFU  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – ICIAG  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JOICY VITÓRIA MIRANDA PEIXOTO

FENOTIPAGEM POR IMAGEM, ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS  
E ÍNDICES DE SELEÇÃO EM ALFACE BIOFORTIFICADA

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2020

JOICY VITÓRIA MIRANDA PEIXOTO

FENOTIPAGEM POR IMAGEM, ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS  
E ÍNDICES DE SELEÇÃO EM ALFACE BIOFORTIFICADA

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Doutorado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutora”.

Orientador

Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2020

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

P379 2020	<p>Peixoto, Joicy Vitória Miranda, 1985- Fenotipagem por imagem, estimativas de parâmetros genéticos e índices de seleção em alface biofortificada [recurso eletrônico] / Joicy Vitória Miranda Peixoto. - 2020.</p> <p>Orientador: Gabriel Mascarenhas Maciel. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Agronomia. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.te.2020.419">http://doi.org/10.14393/ufu.te.2020.419</a> Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Agronomia. I. Maciel, Gabriel Mascarenhas, 1982-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Agronomia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 631</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
 Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 2512-6715/6716 - www.ppga.iciag.ufu.br - posagro@ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Tese de Doutorado, 008/2020 PPGAGRO				
Data:	Vinte e seis de junho de dois mil e vinte	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	12:00
Matrícula do Discente:	11713AGR014				
Nome do Discente:	Joicy Vitória Miranda Peixoto				
Título do Trabalho:	Fenotipagem por imagem, estimativas de parâmetros genéticos e índices de seleção em alface biofortificada				
Área de concentração:	Fitotecnia				
Linha de pesquisa:	Melhoramento de Plantas				

Reuniu-se na sala 212, Bloco 1BCG, Campus Glória da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: Ana Carolina Silva Siquieroli - UFU; Rodrigo Bezerra de Araújo Gallis - UFU; Fábio Janoni Carvalho - IFTM; Nadson de Carvalho Pontes - IFG; Gabriel Mascarenhas Maciel - UFU orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel - UFU, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de **Doutor**.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Bezerra de Araujo Gallis, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/06/2020, às 12:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento



no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gabriel Mascarenhas Maciel, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/06/2020, às 12:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Carolina Silva Siquieroli, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/06/2020, às 12:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fábio Janoni Carvalho, Usuário Externo**, em 26/06/2020, às 12:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nadson de Carvalho Pontes, Usuário Externo**, em 29/06/2020, às 16:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2057907** e o código CRC **38869DC0**.

## DEDICATÓRIA

Ao meu esposo Emmerson Rodrigues de Moraes pela compreensão, amizade e apoio de sempre.

Aos meus pais Carlos Henrique da Cunha Peixoto e Marli Alves de Miranda Peixoto e aos meus irmãos David Henrique Miranda Peixoto e Jéssica Laura Miranda Peixoto que me incentivam e aconselham nas decisões.

A minha avó Maria Teresinha da Cunha Peixoto que sempre me coloca em suas orações.

Essas pessoas me ensinaram que não existe nada mais gratificante que a conquista dos objetivos por meio do trabalho honesto e caridade com o próximo. Jamais desistir mesmo diante das tempestades, e tirar destas uma lição de aprendizado tornando-me uma pessoa ainda mais fortalecida para lutar pela concretização dos meus sonhos.

Dedico.

“Ninguém é suficientemente perfeito, que não possa aprender com o outro e, ninguém é totalmente estruído de valores que não possa ensinar algo ao seu irmão”.

(São Francisco de Assis.)

Aos meus avós Jordelino Peixoto, Afonso Alves de Miranda, Nathália Kuss Miranda e meu sogro Arédio Rodrigues de Moraes.

*In Memoriam.*

Ofereço.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder o dom da vida, a oportunidade de vivenciar diferentes situações e pela convivência com várias pessoas que contribuíram com a minha aprendizagem.

Ao meu orientador professor doutor Gabriel Mascarenhas Maciel, pelo apoio, incentivo e às críticas construtivas. Essas atitudes foram imprescindíveis no decorrer do período de doutorado, contribuindo tanto para o meu desenvolvimento pessoal quanto profissional.

Aos professores da Universidade Federal de Uberlândia por contribuírem com a minha formação.

Aos meus pais, irmãos e família de forma geral por entenderem a minha ausência em tantos momentos importantes e por me apoiarem sempre.

Ao meu esposo Emmerson Rodrigues de Moraes por toda a motivação, compreensão, paciência e auxílio dedicados.

Ao senhor José Marques Vilela e Vivaldo Costa pela contribuição nos trabalhos realizados em campo.

Ao grupo de estudos em melhoramento genético de hortaliças (Gen-Hort) por todo o aprendizado e trabalho em equipe.

A todos os meus amigos, e de forma especial a Camila Soares de Oliveira, Luciana Correa Moraes, Marina Freitas e Silva, Gabriella de Freitas Alves, Rafael Resende Finzi e Roxanna Palma Léon pela ajuda e apoio concedidos.

A equipe do Laboratório de Genética em nome da professora Ana Carolina Silva Siquieroli.

A Universidade Federal de Uberlândia e a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação pelo suporte administrativo.

A CAPES pela ajuda financeira na forma de bolsa de doutorado.

A todos minha gratidão e reconhecimento.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO I - Fenotipagem por imagem em linhagens de alface roxa com diversidade genética para níveis de carotenoides.....	1
Resumo .....	2
Abstract.....	3
1 Introdução .....	4
2 Material e métodos.....	5
3 Resultados e discussão.....	9
3.1 Avaliação agronômica do germoplasma .....	9
3.2 Confirmação da existência de diversidade genética presente no banco de germoplasma .....	13
3.3 Validação da fenotipagem por imagem na identificação da diversidade genética quanto ao teor de SPAD/carotenoides.....	17
4 Conclusões.....	20
Referências.....	20
CAPÍTULO II - Fenotipagem por imagem em germoplasma de alface com diversidade genética para níveis de carotenoides.....	25
Resumo .....	26
Abstract.....	27
1 Introdução .....	28
2 Material e métodos.....	29
3 Resultados e discussão.....	32
3.1 Avaliação agronômica do germoplasma .....	32
3.2 Análise da diversidade genética presente no banco de germoplasma.....	35
3.3 Validação da fenotipagem por imagem na identificação da diversidade genética quanto ao teor de SPAD/carotenoides.....	38
4 Conclusão.....	41
Referências.....	41
CAPÍTULO III - Seleção de linhagens de alface crespa biofortificada com base em índices não paramétricos.....	41
Resumo .....	47
Abstract.....	48
1 Introdução .....	49

2	Material e métodos.....	50
2.1	Características analisadas.....	51
2.2	Análise estatística.....	52
3	Resultados e discussão.....	55
4	Conclusões.....	63
	Referências.....	63
	CAPÍTULO IV - Triagem de alface biofortificada, crespa e roxa: parâmetros genéticos, índice de seleção e análise de trilha.....	68
	Resumo.....	69
	Abstract.....	70
1	Introdução.....	71
2	Material e métodos.....	72
2.1	Características analisadas.....	73
2.2.	Análise estatística.....	74
3	Resultados e discussão.....	77
4	Conclusões.....	86
	Referências.....	87

## RESUMO

PEIXOTO, JOICY VITÓRIA MIRANDA. **Fenotipagem por imagem, estimativas de parâmetros genéticos e índices de seleção em alface biofortificada**. 2020. 103p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.<sup>1</sup>

A obtenção de alimentos biofortificados é objetivo constante em programas de melhoramento. No entanto a quantidade de genótipos a serem avaliados e os custos temporal e monetário na determinação dos constituintes foliares representam um entrave no processo. Uma alternativa é a utilização de fenotipagem por imagem e métodos estatísticos que forneçam maior quantidade de informações ao melhorista. A fenotipagem por imagem possibilita a análise de todo o experimento de forma rápida, objetiva e sem destruição de amostras. Dentre os métodos estatísticos que permitem obter conhecimento relevante do germoplasma analisado, destaca-se a estimativa de parâmetros genéticos como a herdabilidade, o coeficiente de variação genética e ambiental, correlação entre as características analisadas e análise de trilha. Outro método é a aplicação de índices não paramétricos. Este possibilita a análise simultânea de várias informações, o conhecimento do ganho de seleção e a triagem de genótipos promissores ao melhoramento genético. Neste contexto, foram realizados dois experimentos, sendo um com 31 genótipos de alface roxa (30 linhagens + cultivar Belíssima) e o segundo com 25 genótipos de alface de coloração verde (22 linhagens + três cultivares - cv. Grand Rapids, UFU-Biofort e Uberlândia 10000), todos do tipo crespa. O experimento foi realizado em 2018 na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo. As linhagens de alface de ambos experimentos são provenientes da hibridação entre as cultivares Belíssima *versus* Uberlândia 10000 (rica em carotenoides). A hibridação foi seguida de seis sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 e 2017. Objetivou-se, com este trabalho, comprovar a diversidade genética no germoplasma de alface, validar o uso da fenotipagem por imagem na identificação de genótipos ricos em carotenoides e avaliar a eficiência de índices de seleção na escolha de linhagens de alface crespa biofortificada com características agrônômicas favoráveis aliadas a boas propriedades nutricionais. Os resultados obtidos no trabalho permitiram concluir que o banco de germoplasma analisado possui ampla variabilidade genética. A fenotipagem de alto desempenho apresentou alta correlação em relação à metodologia tradicional de determinação de carotenoides, sendo uma alternativa para identificar diferentes backgrounds genéticos em um banco de germoplasma. Os resultados deste estudo podem ser utilizados para prever os valores nutricionais do conteúdo de carotenoides em folhas de alface antes da comercialização. O índice de Mulamba e Mock permitiu os maiores ganhos de seleção para as características analisadas em ambos experimentos, selecionando os genótipos superiores em teores de carotenoides e desempenho agrônômico.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., carotenoides, fenotipagem de alto desempenho, índices não paramétricos, ganho genético, análise de trilha, veículo aéreo não tripulado (VANT)

---

<sup>1</sup>Orientador: Gabriel Mascarenhas Maciel (UFU).

## ABSTRACT

PEIXOTO, JOICY VITÓRIA MIRANDA. **Fenotipagem por imagem, estimativas de parâmetros genéticos e índices de seleção em alface biofortificada**. 2020. 103p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.<sup>1</sup>

Developing biofortified foods is a constant objective of breeding programs. However, the number of genotypes to be evaluated and the time and monetary cost in determining leaf constituents represents an obstacle. An alternative is the use of image phenotyping and statistical methods to achieve a greater amount of information. Image phenotyping allows a quick, objective analysis of the entire experiment without destructing samples. The main statistical methods to obtain relevant knowledge about the germplasm analyzed include the estimation of genetic parameters, such as heritability, the coefficient of genetic and environmental variation, correlation between the characteristics analyzed, and trail analysis. Another method is the application of non-parametric indices. This enables the simultaneous analysis of various information and reveals the selection gain and the screening of promising genotypes for genetic improvement. In this context, two experiments were carried out: one with 31 genotypes of red lettuce (30 lines + cultivar Belíssima) and another one with 25 genotypes of green lettuce (22 lines + three cultivars – Grand Rapids, UFU-Biofort and Uberlândia 10000); all lettuce types were looseleaf. The experiment was carried out in 2018, at the Experimental Vegetable Station at the Federal University of Uberlândia, Monte Carmelo campus. The lettuce lines in both experiments came from the hybridization of the cultivars Belíssima versus Uberlândia 10000 (rich in carotenoids). Hybridization was followed by six successive self-foundations carried out between 2013 and 2017. This study aimed to prove the genetic diversity of lettuce germplasm, to validate the use of image phenotyping in the identification of carotenoid-rich genotypes, and to evaluate the efficiency of selection indices to chose biofortified looseleaf lettuce strains with favorable agronomic characteristics and good nutritional properties. The results indicated that the germplasm bank analyzed had a wide genetic variability. High-performance phenotyping showed a high correlation with the traditional methodology to determine carotenoids; it is an alternative to identify different genetic backgrounds in a germplasm bank. These results can also help predict the nutritional values of the content of carotenoids in lettuce leaves before commercialization. The Mulamba and Mock index allowed the greatest selection gains for the characteristics analyzed in both experiments; it selected the superior genotypes in carotenoid levels and agronomic performance.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L., carotenoids, high-performance phenotyping, nonparametric indices, genetic gain, path analysis.

---

<sup>1</sup>Orientador: Gabriel Mascarenhas Maciel (UFU).

## **CAPÍTULO I**

**FENOTIPAGEM POR IMAGEM EM LINHAGENS DE ALFACE ROXA COM  
DIVERSIDADE GENÉTICA PARA NÍVEIS DE CAROTENOIDES**

## FENOTIPAGEM POR IMAGEM EM LINHAGENS DE ALFACE ROXA COM DIVERSIDADE GENÉTICA PARA NÍVEIS DE CAROTENOIDES

### RESUMO

A obtenção de hortaliças biofortificadas tem sido meta de programas de melhoramento genético. Um dos maiores entraves tem sido o custo das análises e o tempo para executar a amostragem de folhas no campo. O objetivo do trabalho foi comprovar a diversidade genética em um germoplasma de alface crespa roxa e validar o uso da fenotipagem por imagem na identificação de genótipos ricos em carotenoides. O experimento foi realizado em 2018, na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo. Foram avaliadas 30 linhagens de alface crespa do tipo roxa, provenientes da hibridação entre as cultivares *Belíssima* versus Uberlândia 10000, seguido de seis sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 e 2017. O método genealógico ou pedigree é um procedimento de trabalho utilizado por melhoristas de plantas que trabalham com espécies de plantas cujo sistema reprodutivo é autógamo e apresenta cleistogamia. Este método foi utilizado para obter os tratamentos do experimento. A cultivar *Belíssima* (alface roxa) foi utilizada como controle, totalizando 31 tratamentos. O método convencional e a fenotipagem aérea com o veículo aéreo não tripulado Phantom 4 (VANT) foram utilizados para avaliar seis diferentes características agronômicas e os níveis de carotenoides de cada tratamento. Foi verificado que o banco de germoplasma analisado possui ampla variabilidade genética. O uso da fenotipagem de alto desempenho apresentou alta correlação em relação à metodologia tradicional (coeficiente de determinação= 76,25%), sendo uma alternativa para identificar diferentes backgrounds genéticos em um banco de germoplasma. Veículos aéreos não tripulados também podem ser usados para monitorar os níveis de biofortificação nas lavouras.

**Palavras-chave:** Geotecnologia, biofortificação, banco de germoplasma, diversidade genética, veículo aéreo não tripulado (VANT)

# **IMAGE PHENOTYPING IN RED LETTUCE INBRED LINES WITH GENETIC DIVERSITY FOR CAROTENOIDS LEVELS**

## **ABSTRACT**

Developing biofortified foods is a goal of genetic breeding programs. However, analysis costs and the time required for leaf sampling in the field hinder this process. This study evaluated the genetic diversity of red leaf lettuce germplasm and the use of image phenotyping to identify carotenoid-rich genotypes. The experiment was carried out in 2018 at the Vegetable Experiment Station of the Federal University of Uberlândia, Monte Carmelo campus. Thirty inbred lines of red leaf lettuce were evaluated. All inbred lines resulted from the hybridization of the Belíssima and Uberlândia 10000 cultivars, and six successive selfings were carried out from 2013 to 2017. The genealogical method or pedigree is used by plant breeders to work with plant species whose reproductive system is autogamous and presents cleistogamy. This method was used to obtain the treatments of the experiment. The cultivar Belíssima (red lettuce) was used as a control, totaling 31 treatments. A conventional method and an aerial image phenotyping using Phantom 4 unmanned aerial vehicle (UAV) evaluated six different agronomic characteristics and carotenoid levels in each treatment. The results showed substantial genetic diversity within the germplasm bank. Furthermore, high-performance image phenotyping highly correlated with the traditional methodology (coefficient of determination = 76.25%); therefore, it can be considered an alternative to identify different genetic backgrounds within a germplasm bank. In addition, unmanned aerial vehicle may help monitor biofortification levels in crops.

**Keywords:** Geotechnology, biofortification, germplasm bank, genetic diversity, unmanned aerial vehicle (UAV)

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) possui vários tipos, formas e cores, resultando nos diferentes tipos de segmentos: crespa, lisa, romana e americana (SALA; COSTA, 2012). A diversidade genética existente na cultura da alface possibilita, aos produtores, várias opções de cultivo. No Brasil, a preferência é pelas cultivares de alface do tipo crespa em relação aos tipos americana, lisa e romana (SALA et al., 2008; SALA; COSTA, 2012). Dentro do segmento de alface crespa, 2360 hectares são ocupados por cultivares crespas de cor roxa (UDSEM, 2016).

O cultivo de alface crespa roxa proporciona que os produtores alcancem nichos de mercado específico, conseguindo agregar maior valor ao produto. Além do aspecto visual atrativo, o consumo de alface pode auxiliar preventivamente nas diversas doenças relacionadas ao estresse oxidativo (MAIANI et al., 2009; ROCHA; REED, 2014), devido à presença de carotenoides precursores da vitamina A (SOUSA et al., 2007; SILVA; MURA, 2010; CASSETARI et al., 2015). Apesar de todos os quesitos qualitativos e comerciais, atualmente, não há cultivares de alface crespa roxa ricas em carotenoides disponíveis. Sousa et al. (2007) identificaram uma cultivar do tipo lisa com folhas de coloração verde rica em carotenoides (Uberlândia 10000). Poucas pesquisas têm buscado obter cultivares de alfaves ricas em carotenoides. Um provável motivo pode estar relacionado ao alto custo para analisar o constituinte nas folhas, além da grande demanda de tempo para realizar as análises laboratoriais.

Há pesquisas que demonstraram metodologias mais econômicas e eficientes, contribuindo para o sucesso dos programas de melhoramento com esta finalidade. Cassetari et al. (2015) sugerem quantificar indiretamente carotenoides pelo teor de clorofila nas folhas, por meio do uso de índice SPAD. No entanto estão disponíveis novas modalidades para coleta de resultados capazes de revolucionar a fenotipagem de plantas com diferentes níveis de carotenoides. Uma nova alternativa seria a fenotipagem por imagem, amplamente utilizada para outros vegetais, auxiliando na seleção de plantas (SOUSA et al., 2015), exceto em alface.

A fenotipagem por imagem permite determinar valores qualitativos e/ou quantitativos das características em estudo e correlacioná-las ao desempenho de um genótipo em determinado ambiente (DHONDT et al., 2013). A fenotipagem de plantas tem sido associada a análises ópticas não destrutivas de características vegetais, principalmente com o uso de imagens (WALTER et al., 2015). As técnicas utilizadas

atualmente em fenômica de plantas atuam de forma multidisciplinar, incluindo a espectroscopia, com a geração de imagens (SOUSA et al., 2015). As imagens podem ser facilmente coletadas com auxílio de veículos aéreos não tripulados (VANTs), também denominados “Drones”.

As aeronaves (drones) podem embarcar diversos tipos de câmeras com sensores que capturam desde o espectro eletromagnético visível até o espectro do infravermelho, possibilitando diversas análises das características vegetais (SOUSA et al., 2015). Essa combinação entre as altas resoluções espacial e temporal é um dos principais atrativos para o emprego dessa tecnologia na fenotipagem de alfaces. Pesquisas atuais buscam correlacionar a reflectância da vegetação com características das plantas em diversas espécies vegetais, como soja (ANTUNES et al., 2012; RISSO et al., 2012), milho (JOHANN et al., 2012), trigo (SANTI et al., 2012), algodão (VICTORIA et al., 2012), cana-de-açúcar (PICOLI et al., 2013; VICENTE et al., 2012), exceto para hortaliças.

O uso de técnicas de fenotipagem por imagem para auxiliar a seleção indireta de genótipos de alface rica em carotenoides ainda não é uma realidade. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi comprovar a diversidade genética em germoplasma de alface crespa roxa e validar o uso da fenotipagem por imagem na identificação de genótipos ricos em carotenoides.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no período de março a junho de 2018. As temperaturas mínima e máxima observadas foram de 16,23 °C e 27,49 °C, respectivamente, com umidade relativa média de 75,47% e precipitação média de 1,27 mm (Figura 1). O ensaio foi conduzido na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" O; 873 m de altitude). As linhagens estudadas fazem parte do Programa de melhoramento genético de alface biofortificada e tropicalizada da UFU.

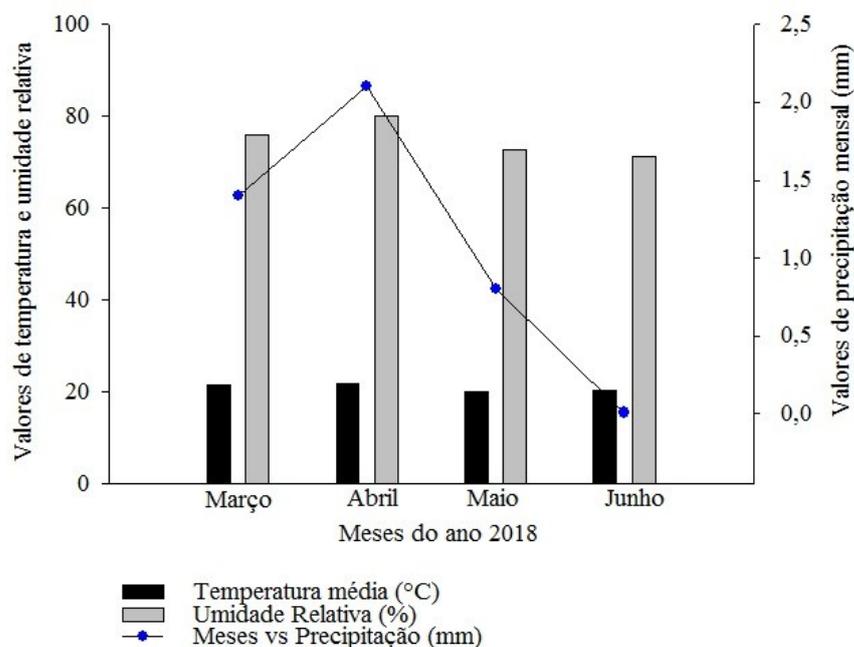


FIGURA 1 – Médias mensais de temperatura (°C), umidade relativa (%) e precipitação mensal total (mm); de março de 2018 a junho de 2018.  
 Fonte: SISMET (Sistema de Monitoramento Meteorológico) Cooxupé. Monte Carmelo – Minas Gerais, 2018.

Foram avaliadas 30 linhagens de alface crespa do tipo roxa, provenientes da hibridação entre as cultivares Belíssima (Pira 72) *versus* Uberlândia 10000, rica em carotenoides (SOUSA et al., 2007), análise seguida de seis sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 e 2017. O método genealógico ou pedigree é um procedimento de trabalho utilizado por melhoristas de plantas que trabalham com espécies cujo sistema reprodutivo é autógamo e apresenta cleistogamia. Esse método foi utilizado para obter os tratamentos do experimento. A cultivar Belíssima (alface com folhas de coloração roxa), amplamente cultivada no Brasil, foi utilizada como controle. Essa cultivar, com mais 30 genótipos de alface roxa, totalizaram os 31 tratamentos avaliados no experimento. O método genealógico é baseado na seleção de plantas individuais na população segregante. A avaliação é realizada em cada progênie individual. A superioridade dos indivíduos selecionados é analisada pelo teste de progênie. A seleção com testes de progênie e o conhecimento da genealogia dos indivíduos escolhidos permite a maximização da eficiência de seleção. A triagem é realizada com base nos genótipos dos indivíduos (BORÉM et al., 2017).

A semeadura foi realizada em 28 de março de 2018. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido, com 200 células preenchidas com substrato comercial à base de fibra de coco. Após a semeadura, as bandejas permaneceram em

casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5 m x 6 m e pé direito de 3,5 m, coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioleta, e cortinas laterais de tela branco antiafídeos. Aos 29 dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas para canteiros definitivos em campo. Os canteiros foram formados utilizando rotoencanteirador de 1,30 m de largura.

Antes de iniciar o experimento, amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0-20 cm e analisadas no Laboratório de Fertilidade do Solo da Universidade Federal de Uberlândia. A análise físico-química mostrou: textura argilosa (> 50%); pH em CaCl<sub>2</sub> = 4,9; MO = 3,9 dag kg<sup>-1</sup>; P (rem) = 79,1 mg dm<sup>-3</sup>; K = 0,29 cmolc dm<sup>-3</sup>; Ca = 3,3 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg = 1,3 cmolc dm<sup>-3</sup>; H + Al = 4,9 cmolc dm<sup>-3</sup>; SB = 4,90 cmolc dm<sup>-3</sup>; CTC a pH 7,0 = 9,80 cmolc dm<sup>-3</sup>; V% = 50. Os tratos culturais foram realizados conforme preconizado para o cultivo de alface (FILGUEIRA, 2013).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições. O experimento (Figura 2) foi constituído por parcelas com 16 plantas, separadas em quatro fileiras por canteiro no espaçamento de 0,25 m x 0,25 m, sendo avaliadas as oito plantas centrais.

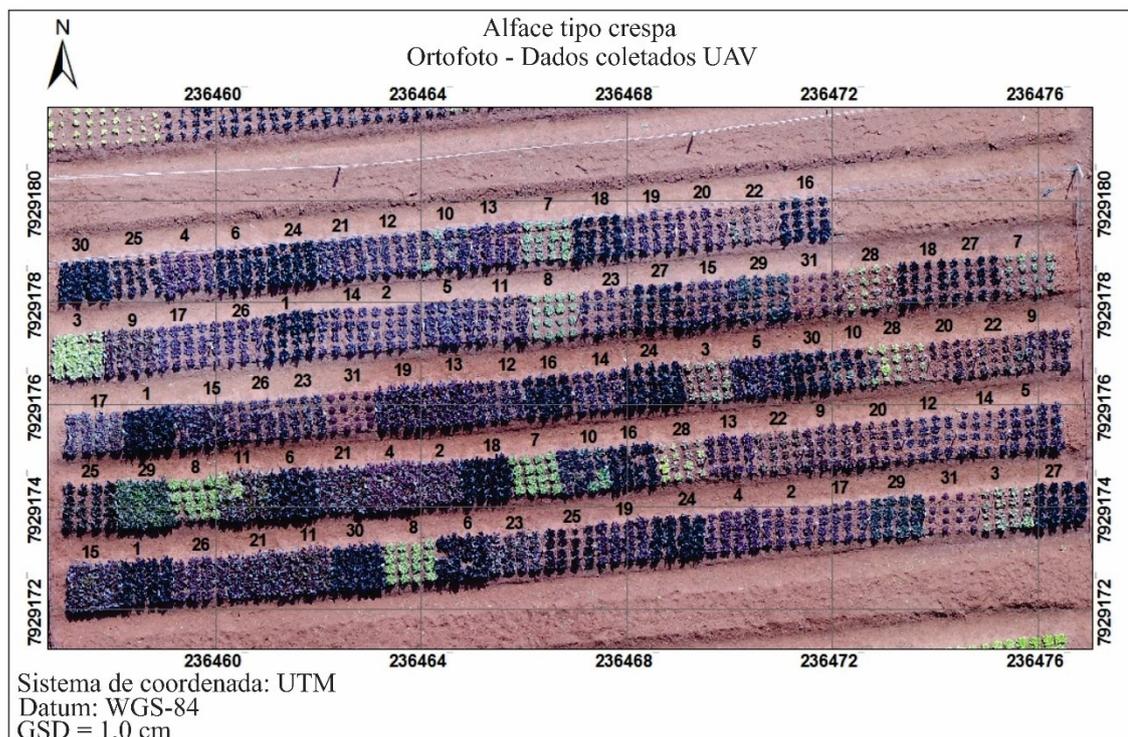


FIGURA 2 – Ortofoto aérea do experimento. 1: UFU-199#2#2#1; 2: UFU-7#2#1#1; 3: UFU-117#1#3#1; 4: UFU-86#1#2#1; 5: UFU-75#1#1#1; 6: UFU-199#6#1#1; 7: UFU-206#3#2#1; 8: UFU-199#2#3#1; 9: UFU-189#2#3#1; 10: UFU-184#2#5#1; 11: UFU-184#2#1#1; 12: UFU-107#1#2#1; 13: UFU-86#2#1#1; 14: UFU-75#3#2#1; 15: UFU-

184#2#3#1; 16: UFU-199#6#2#1; 17: UFU-7#1#1#1; 18: UFU-75#2#2#1; 19: UFU-75#3#1#1; 20: UFU-190#1#2#1; 21: UFU-75#1#3#1; 22: UFU-189#2#2#1; 23: UFU-189#2#1#1; 24: UFU-199#2#1#1; 25: UFU-199#5#1#1; 26: UFU-206#1#6#1; 27: UFU-206#1#3#1; 28: UFU-117#1#1#1; 29: UFU-184#2#1; 30: UFU-199#1#1#1; 31: Belíssima.

A colheita das oito plantas centrais de cada parcela foi realizada aos 35 dias após o transplante e as plantas foram levadas para laboratório, onde foi avaliada a massa fresca total obtida por meio da pesagem de todas as folhas externas. O diâmetro do caule foi avaliado com auxílio de um paquímetro. Foi determinado o número de folhas comercialmente viáveis com base na contagem de folhas com dimensão superior a 5 cm de comprimento. O diâmetro da planta foi avaliado e expresso em centímetros. A temperatura foliar foi obtida pelo posicionamento de um termômetro infravermelho (modelo 4000.4GL, Everest Interscience, Tucson, AZ, USA) sendo amostradas as folhas superiores, procurando-se apontar o sensor na posição central da superfície foliar. O índice SPAD/carotenoides (CASSETARI et al., 2015) foi obtido pelo valor médio após coletar os dados das quatro plantas centrais de cada parcela. Foi utilizado o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030. Também foi realizada a contagem dos dias para pendoamento após semeadura (DPS).

Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), após o atendimento das pressuposições de normalidade dos resíduos e homocedasticidade testadas pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Quando diferenças significativas foram detectadas para as variáveis, as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). Em seguida, foram realizadas análises multivariadas de dissimilaridade genética entre os genótipos, utilizando a matriz obtida pela distância generalizada de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ). A divergência genética foi representada por dendrograma obtido pelo método hierárquico *Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages* (UPGMA) e pelo método de otimização Tocher gráfico. A validação do agrupamento pelo método UPGMA foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) calculado pelo teste de Mantel (1967). A contribuição relativa dos caracteres quantitativos foi calculada segundo critério de Singh (1981). Todos os dados obtidos foram analisados com o *software* Genes v. 2015.5.0 (CRUZ, 2013).

Além de executar a metodologia convencional proposta por Cassetari et al. (2015) por meio do índice SPAD/carotenoides, a fenotipagem por imagem dos mesmos

genótipos foi realizada por imagens aéreas captadas com uma câmera RGB de 20 megapixels com sensor CMOS e 9 milímetros de comprimento focal, montada em um veículo aéreo não tripulado (VANT) Phantom 4. Os parâmetros utilizados no voo foram: altura de 20 metros, sobreposição longitudinal de 80% e sobreposição lateral de 75%. O voo foi realizado de modo automático com o software proprietário DroneDeploy. Com as imagens obtidas, foi gerada uma ortofoto com GSD (Ground Sample Distance – relação entre a altura de voo e o nível de detalhamento do terreno) de 1 cm, com o programa Pix4d.

O mapa de calor foi gerado pelo georreferenciamento das quatro plantas da área útil por meio de uma ortofoto. Em seguida, utilizando o valor médio obtido pelo SPAD, a krigagem foi realizada com o objetivo de extrapolar o resultado observado na área útil para a área total da parcela.

Histogramas foram gerados para as duas linhagens mais contrastantes no índice SPAD/carotenoides. Cada parcela foi delimitada manualmente na ortofoto, sendo utilizado o *software* ImageJ v. 1.52 para isolar a imagem RGB do canal verde. Em seguida, os valores médios da intensidade verde (G) foram calculados para cada parcela e correlacionados com os valores de SPAD usando o software Sigma Plot versão 12 (5% de significância). O software QGIS v. 3.0 foi utilizado para visualizar a distribuição geoespacial do índice SPAD/carotenoides com o mapa de calor gerado por meio da interpolação de pontos pela ponderação IDW (Inverso da Distância Ponderada) usando a função Kernel.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Avaliação agronômica do germoplasma**

No período em que se desenvolveu o experimento, de março a junho, as temperaturas máximas variaram de 18,8°C a 32,8°C, com média máxima de 28,1°C, e as mínimas variaram de 5,7°C a 20,9°C, com média mínima de 16,8°C, conforme dados obtidos pelo Sismet, 2018. Essas temperaturas foram desfavoráveis ao cultivo da alface, pois a variação ótima para a cultura é de 4 a 27°C (SANTOS et al., 2009).

Houve diferenças significativas pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) entre as linhagens para todas as variáveis respostas avaliadas, exceto para diâmetro de caule e temperatura foliar (Tabela 1).

TABELA 1 – Médias referentes à massa fresca (MF), ao diâmetro de caule (DC), número de folhas (NF), diâmetro de planta (DP), à temperatura foliar (TF), aos dias para pendoamento após a semeadura (DPS) e ao índice SPAD/carotenoides, em linhagens de alface do tipo crespa.

Linhagens <sup>1</sup>	MF (g)	DC (cm)	NF	DP (cm)	TF (°C)	DPS (dias)	Índice SPAD/Carotenoides	SR <sup>2</sup> (%)
UFU-199#2#2#1	88,58 b	1,70	16,70 a	23,30 a	25,00	81,00 c	38,90 b	121,00
UFU-7#2#1#1	38,33 e	1,50	15,90 b	20,80 a	24,20	93,30 b	29,20 e	65,90
UFU-117#1#3#1	44,42 e	1,30	17,80 a	21,50 a	24,50	84,00 c	23,50 f	33,50
UFU-86#1#2#1	56,25 d	1,70	14,80 b	23,20 a	23,10	85,30 c	24,40 f	38,60
UFU-75#1#1#1	63,67 c	1,10	17,70 a	23,10 a	24,60	84,00 c	34,70 c	97,20
UFU-199#6#1#1	120,33 a	1,90	18,10 a	27,20 a	24,30	83,30 c	38,50 b	118,80
UFU-206#3#2#1	100,75 b	1,60	12,00 b	18,00 b	24,40	77,00 c	29,60 e	68,20
UFU-199#2#3#1	116,75 a	2,00	14,80 b	21,30 a	23,60	83,30 c	28,30 e	60,80
UFU-189#2#3#1	30,25 f	1,40	16,10 b	20,60 a	25,10	83,70 c	28,10 e	59,70
UFU-184#2#5#1	42,83 e	1,70	19,90 a	21,00 a	24,40	98,70 b	37,70 b	114,20
UFU-184#2#1#1	116,67 a	1,70	19,90 a	25,60 a	24,00	83,00 c	27,00 e	53,40
UFU-107#1#2#1	49,58 d	1,60	17,80 a	19,30 b	25,00	87,00 c	33,60 c	90,90
UFU-86#2#1#1	40,83 e	1,80	15,50 b	20,40 a	24,50	90,70 c	30,40 d	72,70
UFU-75#3#2#1	31,33 f	1,20	10,80 b	18,50 b	25,10	82,30 c	31,40 d	78,40
UFU-184#2#3#1	55,58 d	1,90	20,50 a	26,00 a	24,60	92,70 b	32,10 d	82,40
UFU-199#6#2#1	66,00 c	1,80	15,20 b	22,20 a	23,90	86,00 c	41,90 a	138,10
UFU-7#1#1#1	44,08 e	1,80	20,10 a	22,30 a	23,70	100,30 a	31,60 d	79,50
UFU-75#2#2#1	70,58 c	1,50	13,30 b	21,20 a	23,90	85,70 c	42,70 a	142,60
UFU-75#3#1#1	63,00 c	1,70	12,40 b	21,30 a	23,50	80,70 c	31,40 d	78,40
UFU-190#1#2#1	27,67 f	1,30	14,30 b	15,30 b	24,90	105,30 a	26,60 e	51,10
UFU-75#1#3#1	117,58 a	1,70	22,60 a	24,50 a	23,30	96,70 b	34,30 c	94,90
UFU-189#2#2#1	38,25 e	1,20	13,10 b	15,00 b	25,10	88,00 c	29,20 e	65,90
UFU-189#2#1#1	41,08 e	1,60	17,70 a	21,00 a	26,00	91,70 b	34,60 c	96,60
UFU-199#2#1#1	89,08 b	1,10	15,30 b	21,90 a	24,10	81,00 c	42,90 a	143,80
UFU-199#5#1#1	52,42 d	2,30	18,70 a	18,70 b	24,50	108,00 a	37,90 b	115,30
UFU-206#1#6#1	49,08 d	1,90	15,80 b	22,40 a	24,70	89,00 c	28,90 e	64,20
UFU-206#1#3#1	53,50 d	1,10	14,50 b	19,30 b	26,10	81,00 c	41,40 a	135,20
UFU-117#1#1#1	24,67 f	1,30	12,20 b	16,00 b	25,20	85,30 c	18,60 g	5,70
UFU-184#2#1	69,75 c	1,90	19,80 a	24,60 a	23,70	94,30 b	35,50 c	101,70
UFU-199#1#1#1	74,92 c	1,20	15,10 b	24,40 a	23,90	86,70 c	44,70 a	154,00
cv. Belíssima	23,25 f	1,30	8,30 b	10,90 b	24,10	86,70 c	17,60 g	-
Média geral	61,33	1,60	16,00	21,00	24,40	88,20	32,50	
CV(%)	50,87	40,29	16,78	17,13	6,37	4,87	5,58	
Ks	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>	<b>0,18</b>	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>	<b>0,09</b>	
F	<b>0,02</b>	<b>0,69</b>	<b>0,06</b>	<b>0,01</b>	<b>0,09</b>	0,00	<b>0,01</b>	
F''	0,003	<b>0,08</b>	<b>0,03</b>	0,003	<b>0,25</b>	<b>0,01</b>	<b>0,08</b>	

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância. <sup>2</sup>(SR) Superioridade relativa das linhagens em relação à

testemunha cv. Belíssima quanto à variável índice SPAD/carotenoides.  $K_s$ , F,  $F^{**}$ : pressuposições dos testes Kolmogorov-Smirnov, Levene e Aditividade de Blocos; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e efeitos aditivos.

Em relação à massa fresca (MF), as linhagens UFU-199#6#1#1, UFU-75#1#3#1, UFU-199#2#3#1 e UFU-184#2#1#1 se destacaram diferenciando-se significativamente das demais linhagens, inclusive da testemunha comercial cv. Belíssima (Tabela 1). Os resultados das linhagens que se destacaram na presente pesquisa foram superiores aos encontrados por Blat et al. (2011) em relação à massa fresca de cultivares crespas de coloração roxa (Pira Roxa e Belíssima) e similares aos de diversas pesquisas já realizadas (DIAMANTE et al., 2013; SUINAGA et al., 2013; AQUINO et al., 2014; ZIECH et al., 2014; BRZEZINSKI et al., 2017). Isso indica que as linhagens do tipo crespa roxa caracterizadas neste trabalho apresentam padrão comercial.

As linhagens UFU-199#2#2#1, UFU-117#1#3#1, UFU-75#1#1#1, UFU-199#6#1#1, UFU-184#2#5#1, UFU-184#2#1#1, UFU-107#1#2#1, UFU-184#2#3#1, UFU-7#1#1#1, UFU-75#1#3#1, UFU-189#2#1#1, UFU-199#5#1#1 e UFU-184#2#1 se destacaram quanto ao número de folhas, diferenciando-se significativamente da testemunha comercial cv. Belíssima (Scott-knott,  $p \leq 0,05$ ) (Tabela 1). Valores similares para número de folhas foram encontrados por diversos autores (SANTOS et al., 2009; DIAMANTE et al., 2013; BLAT et al., 2011; AQUINO et al., 2014).

De fato, há poucas pesquisas que avaliaram o desempenho agrônômico específico de cultivares de alfaces crespas de cor roxa. No entanto pode-se observar que o desempenho agrônômico de alfaces crespas de cor verde, majoritariamente, é superior ao das cultivares de coloração roxa. Quanto ao diâmetro de planta, todas as linhagens foram superiores em relação à cv. Belíssima, destacando-se a linhagem UFU-199#6#1#1, que se diferenciou significativamente a 5% de probabilidade (Tabela 1). Esses diâmetros de plantas foram menores que os encontrados em outros estudos para cultivares de folhas verdes (SILVA et al., 2000; DIAMANTE et al., 2013; SANTI et al., 2013). Nesse contexto, sugere-se que cultivares crespas de cor verde apresentam maior potencial agrônômico em relação a cultivares do tipo crespa roxa (BECKER et al., 2015; NICK; BORÉM, 2016), sendo os dados apresentados uma possível justificativa do baixo desempenho observado em alface de cor roxa. Há relatos de que a coloração roxa está associada com maior presença de antocianina, conferindo menor taxa

fotossintética, ocasionando plantas menores (SALA; COSTA, 2016; ZHANG et al., 2016).

As linhagens UFU-7#1#1#1, UFU-190#1#2#1 e UFU-199#5#1#1 apresentaram maior tolerância ao pendramento precoce, sendo superiores à testemunha comercial (cv. Belíssima) em 13,6; 18,6 e 21,3 dias, respectivamente (Tabela 1). Temperaturas superiores ao ideal para o cultivo de alface podem proporcionar pendramento precoce, que seria o alongamento do caule e a produção de látex, deixando as folhas amargas, rígidas e antecipando o ciclo reprodutivo (LUZ et al., 2009; AQUINO et al., 2014). Isso resulta na depreciação do produto e em prejuízos financeiros.

As linhagens UFU-199#6#2#1, UFU-75#2#2#1, UFU-199#2#1#1, UFU-206#1#3#1 e UFU-199#1#1#1 apresentaram maiores valores de índice SPAD/carotenoides, sendo 138,1; 142,6; 143,8; 135,2 e 154,0%, respectivamente, superiores em relação à cultivar comercial Belíssima (Tabela 1). Diversas pesquisas têm comprovado a eficiência do SPAD por realizar leituras instantâneas, sendo uma alternativa de indicação do teor de clorofila presente na folha da planta (KLOOSTER et al., 2012). O teor de clorofila possui alta correlação com a concentração de carotenoides em alface (CASSETARI et al., 2015) e, diante disso, o SPAD pode ser utilizado para avaliar indiretamente o teor de carotenoides em alface (CASSETARI et al., 2015). Vale ressaltar apenas que, apesar da agilidade em realizar uma leitura, ocorre alta demanda de tempo para avaliar todo o experimento, dificultando as avaliações e o investimento na pesquisa.

No presente trabalho, a medição do teor de carotenoides pelo SPAD durou cerca de 32 horas. A duração do voo, o processamento e a medição da imagem duraram cinco horas. Esse tempo foi seis vezes menor quando comparado ao da técnica do SPAD. Além disso, a medida utilizando SPAD/carotenoides foi realizada em quatro plantas, enquanto o VANT possibilitou quantificar o teor de carotenoides nas dezesseis plantas da parcela experimental, sendo, portanto, quatro vezes mais eficiente. O valor da determinação dos níveis de carotenoides em laboratório usando metodologia tradicional é de alto custo, além de se tratar de um método demorado (KIMURA; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). Carotenoides sintéticos podem chegar a valores de 800 dólares por quilograma do produto, enquanto carotenoides de origem natural chegam a 2000 dólares (CASWELL; ZILBERMAN, 2000). Na tentativa de reduzir o custo da análise de carotenoide por amostra e buscar maior agilidade, Cassetari et al. (2015) observaram alta correlação entre a quantidade de carotenoides e o índice SPAD. No entanto este

método é demorado e oneroso, devido à demanda de mão de obra necessária para sua execução. Além disso, a irradiação solar influencia o resultado do índice SPAD (HOEL; SOLHAUG, 1998). Dessa forma, o intervalo entre a primeira avaliação e a última pode interferir no resultado final do índice SPAD. Nesse contexto, a fenotipagem de imagens pode ser uma excelente alternativa para determinar a quantidade de carotenoides, visando obter resultados com rapidez e custo extremamente baixo.

O sensoriamento aéreo para fenotipagem promove resultados rápidos e objetivos, sendo um processo não invasivo e de baixo custo. Resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho foram observados por Gupta et al. (2013), Zaman-Allah et al. (2015) e Kyratzis et al. (2017).

A imagem aérea permite fotografar toda a parcela experimental, e as informações de todas as plantas são coletadas ao mesmo tempo. Entre outras aplicações, o VANT pode ser usado para determinar a densidade de plantio (GNÄDINGER; SCHMIDHALTER, 2017) e obter informações sobre o desenvolvimento da área foliar ao longo do tempo, possibilitando conhecer o uso da água e o comportamento da cultura sob déficit hídrico durante os seus estágios fenológicos (POTGIETER et al., 2017).

### 3.2 Confirmação da existência de diversidade genética presente no banco de germoplasma

Além da comparação de desempenho agrônômico *per se* (Tabela 1), a separação dos genótipos em grupos distintos pelo uso de medidas de dissimilaridade pode auxiliar os melhoristas na seleção de genitores em programas de melhoramento (ARAUJO et al., 2016). As medidas de dissimilaridade genética estimadas pela distância generalizada de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ) entre os 31 tratamentos variaram entre 1,2 (UFU-75#3#2#1) e 564,4 (UFU-199#1#1#1), indicando ampla diversidade genética.

A formação de grupos representada por meio de dendrograma pelo método UPGMA (Figura 3) apresentou coeficiente de correlação cofenético de 89,0%, significativo ao teste t ( $p < 0,01$ ). Assim, pode-se afirmar que o dendrograma reproduziu de modo satisfatório a informação contida na matriz de dissimilaridade genética e conseqüentemente na formação dos grupos. A separação dos grupos foi realizada pela delimitação de uma linha de corte de 20%, estabelecida no local de ocorrência da mudança abrupta nas ramificações presentes no dendrograma (CRUZ et al., 2012). Com esse corte, os genótipos constituíram sete grupos distintos. O grupo I foi formado por quatro linhagens; o grupo II, por oito linhagens; o grupo III, por oito

linhagens; grupo IV, por uma linhagem; grupo V, por uma linhagem; grupo VI, por sete linhagens; e grupo VII, pela testemunha comercial cv. Belíssima e uma linhagem. Pode-se afirmar que o germoplasma avaliado possui diversidade genética, diferindo-se de forma majoritária em relação à cultivar Belíssima (Figura 3).

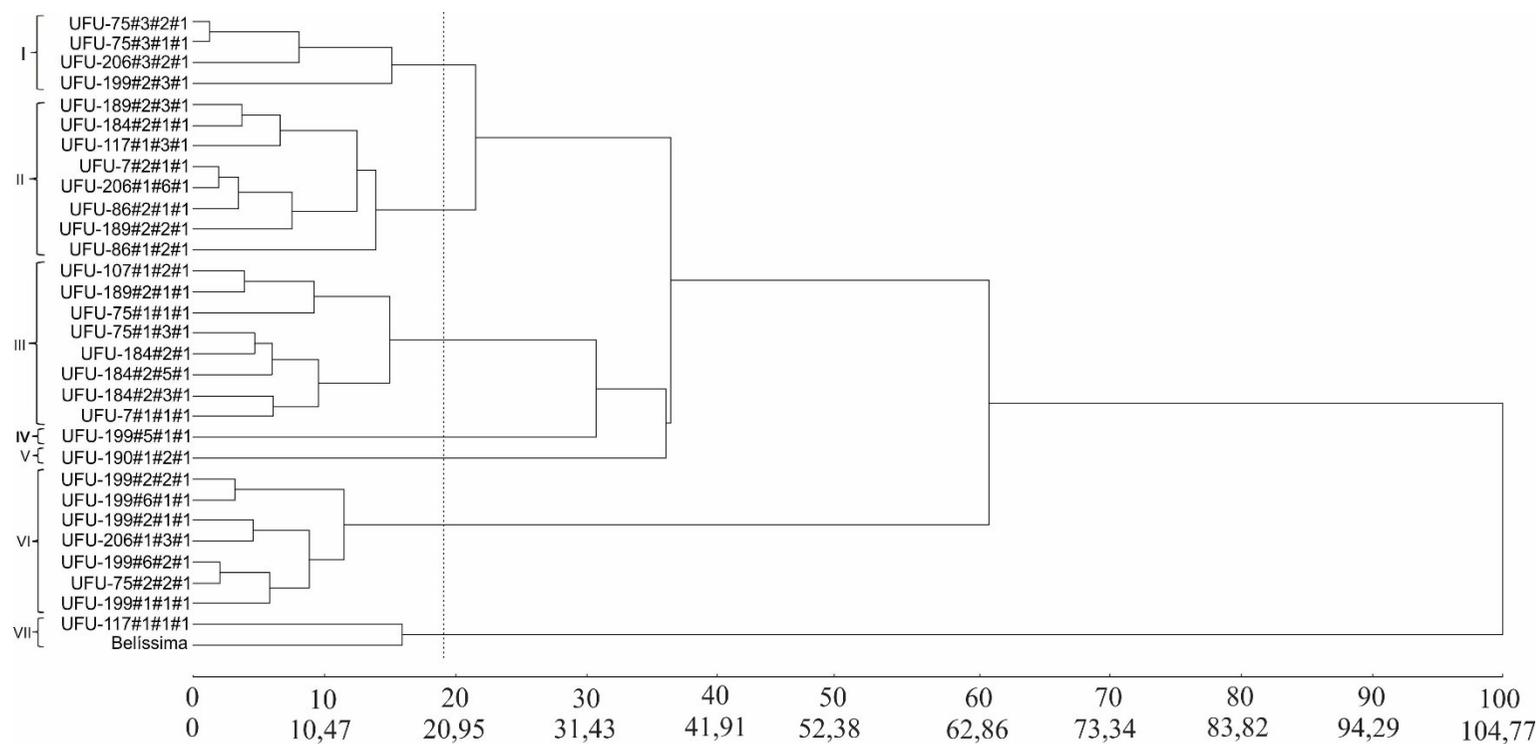


FIGURA 3 – Dendrograma da divergência genética entre 30 linhagens e a testemunha comercial cv. Belíssima obtido pelo Método Hierárquico de ligação média (UPGMA) como medida de dissimilaridade.

Para validar o uso da fenotipagem por imagem, é indispensável confirmar a existência de variabilidade genética do germoplasma. Diante disso, foi utilizada uma segunda metodologia capaz de afirmar a existência de variabilidade genética entre as 31 linhagens do experimento (Figura 4). O método de otimização Tocher gráfico permite a comparação aos pares entre as linhagens, analisando de forma minuciosa a existência de dissimilaridade genética. Valores próximos de zero são indicativos de maior similaridade (cor amarela), e valores próximos de 1 representam maior dissimilaridade genética (cor preta). Os resultados da Figura 4 mostram que existe variabilidade genética substancial entre as linhagens, o que significa que a fenotipagem da imagem pode ser usada com maior segurança.

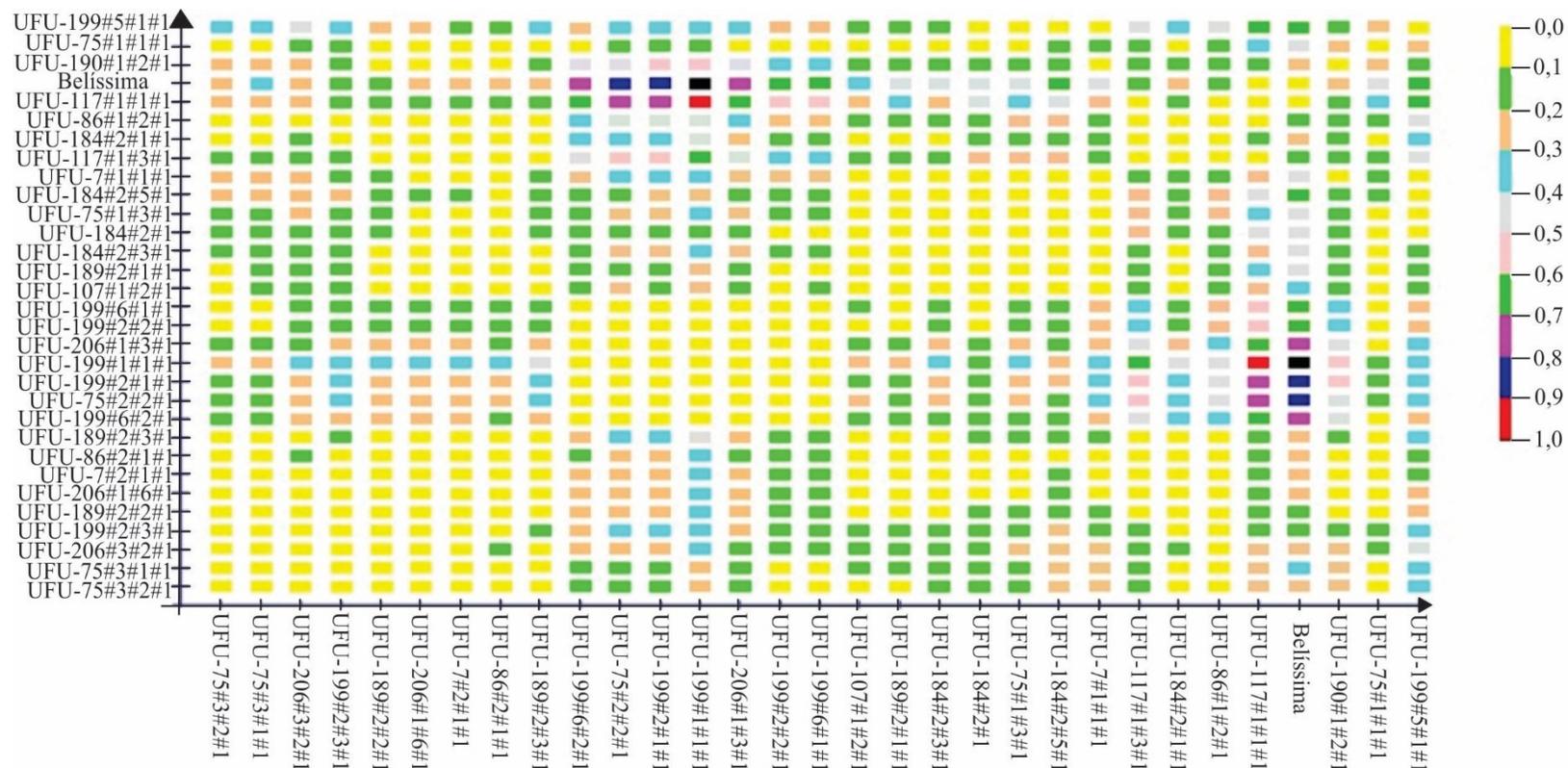


FIGURA 4 – Representação do agrupamento gerado pelo método de Otimização de Tocher gráfico, estimada a partir de sete características agrônômicas em 31 linhagens de alface crespa roxa.

Entre as sete variáveis respostas analisadas, o índice SPAD/carotenoides (CASSETARI et al., 2015) foi responsável pela maior contribuição relativa da divergência entre os genótipos, com 60,31% da variabilidade total. As características TF e MF apresentaram os menores valores para a dissimilaridade genética entre os genótipos, sendo 0,92 e 1,07, respectivamente (Tabela 2). Isso sugere semelhança entre os genótipos para essas variáveis.

TABELA 2 – Contribuição relativa de sete caracteres agrônômicos na divergência genética de 31 linhagens de alface de coloração roxa, segundo critério de Singh (1981).

Características <sup>1</sup>	S.j	S.j (%)
MF	243,55	1,07
DC	352,71	1,55
NF	2644,53	11,64
DP	1978,69	8,71
TF	208,81	0,92
SPAD/carotenoides	13697,70	60,31
DPS	3585,96	15,79

<sup>1</sup>MF: massa fresca (g); DC: diâmetro do caule (cm); NF: número de folhas; DP: diâmetro de planta (cm); TF: temperatura foliar (°C); SPAD: índice SPAD/carotenoides; DPS: dias para pendoamento após a semeadura.

### 3.3 Validação da fenotipagem por imagem na identificação da diversidade genética quanto ao teor de SPAD/carotenoides

Para validar a aplicabilidade da fenotipagem por imagem, foi necessário confirmar a variabilidade genética entre os acessos avaliados. Ao analisar a Tabela 1, foi possível verificar o desempenho *per se* dos acessos, especialmente para índice SPAD/carotenoides que variou entre o maior valor obtido pela linhagem UFU-199#1#1#1 (44,7) e o menor valor obtido pela cultivar Belíssima (17,6). A confirmação da variabilidade genética do banco de germoplasma, com base em todas as variáveis respostas, ocorreu com a obtenção do dendrograma pelo método hierárquico UPGMA (Figura 3) e pelo método de otimização Tocher gráfico (Figura 4).

A partir disso, foi necessário identificar qual variável resposta contribuiu de forma mais expressiva isoladamente. A variável que contribuiu de forma majoritária para maior diversidade genética entre as linhagens foi o índice SPAD/carotenoides (Tabela 2), sendo utilizada para se fazer a correlação com o valor médio da intensidade do canal verde (G). Assim, foi realizado um modelo de regressão linear entre os valores

médios do canal verde (G) e o índice SPAD/carotenoides. A ortoimagem gerada com a identificação dos tratamentos foi apresentada na Figura 2.

A equação de regressão linear  $G = -51,88 \times \text{SPAD} + 251,829$  foi ajustada à variável de resposta média do canal verde (G) (coeficiente de determinação = 76,25%). O modelo mostra que, à medida que o índice SPAD/carotenoides aumenta, a resposta espectral no canal verde diminui (Figura 5).

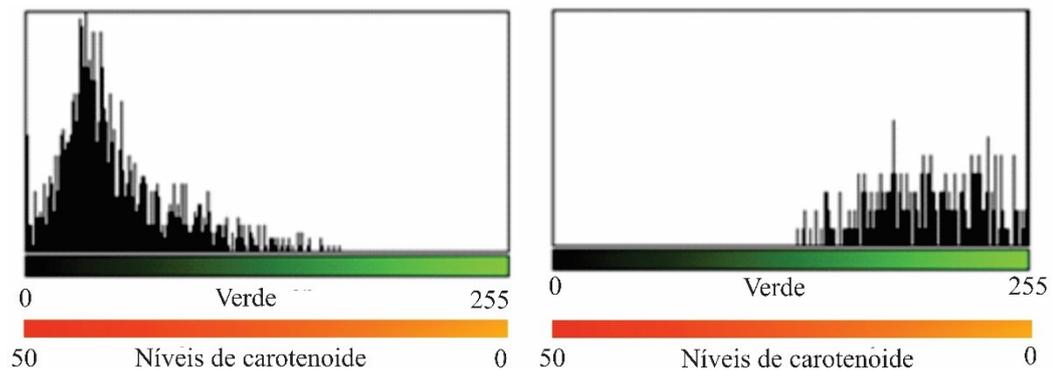


FIGURA 5 - Histograma do índice SPAD/carotenoides para a linhagem UFU-199#1#1#1 rica em carotenoides (Figura a esquerda). Histograma do índice SPAD/carotenoides da cv. Belíssima com os menores níveis de carotenoides (Figura a direita).

O índice SPAD/carotenoides para a linhagem UFU-199#1#1#1 foi de 44,7 e a média da intensidade da resposta espectral no canal G foi de 47,1. Para a cv. Belíssima, os valores para as mesmas variáveis foram 17,62 e 198,16, respectivamente. Isso mostra que quanto maior o índice SPAD/carotenoides na planta, menor a resposta no canal verde (Figura 5).

O mapa de calor foi gerado para interpretar visualmente as intensidades de correlação (Figura 6). As cores quentes (vermelhas) no mapa de calor estão associadas a altos valores de índice SPAD/carotenoides, enquanto as cores frias (azuis) estão associadas a valores baixos.

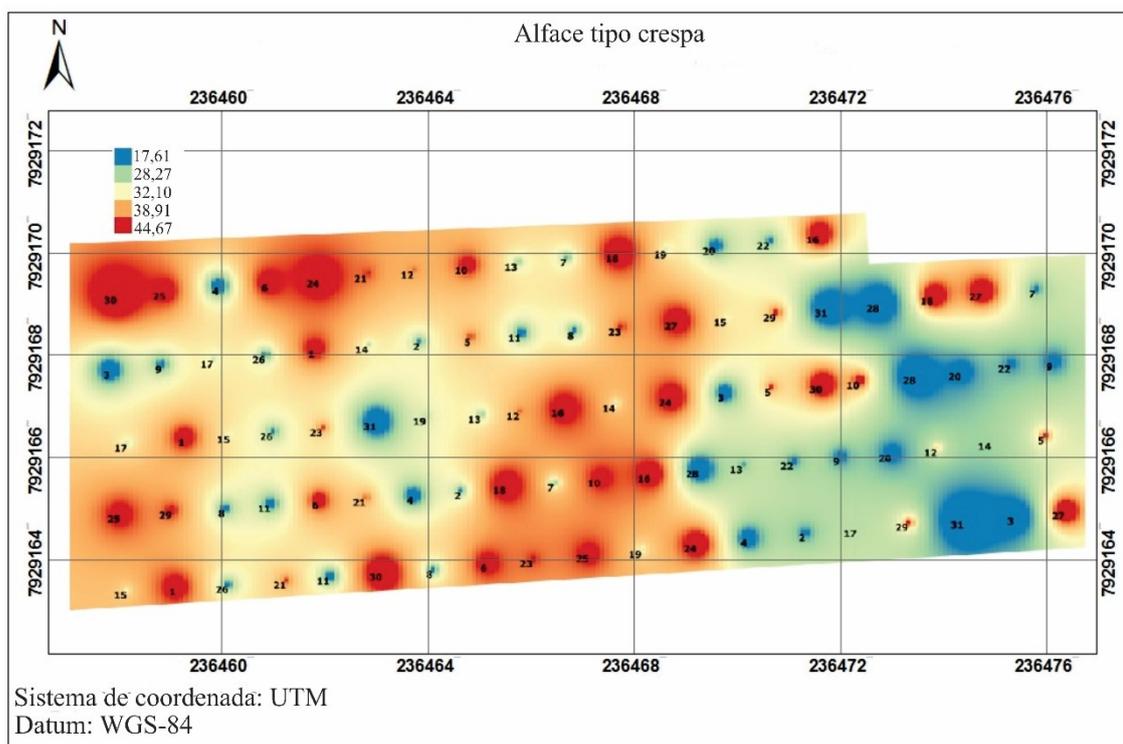


FIGURA 6 - Mapa de calor com os valores interpolados de índice SPAD/carotenoides medidos nas linhagens e cultivares do experimento. 1: UFU-199#2#2#1; 2: UFU-7#2#1#1; 3: UFU-117#1#3#1; 4: UFU-86#1#2#1; 5: UFU-75#1#1#1; 6: UFU-199#6#1#1; 7: UFU-206#3#2#1; 8: UFU-199#2#3#1; 9: UFU-189#2#3#1; 10: UFU-184#2#5#1; 11: UFU-184#2#1#1; 12: UFU-107#1#2#1; 13: UFU-86#2#1#1; 14: UFU-75#3#2#1; 15: UFU-184#2#3#1; 16: UFU-199#6#2#1; 17: UFU-7#1#1#1; 18: UFU-75#2#2#1; 19: UFU-75#3#1#1; 20: UFU-190#1#2#1; 21: UFU-75#1#3#1; 22: UFU-189#2#2#1; 23: UFU-189#2#1#1; 24: UFU-199#2#1#1; 25: UFU-199#5#1#1; 26: UFU-206#1#6#1; 27: UFU-206#1#3#1; 28: UFU-117#1#1#1; 29: UFU-184#2#1; 30: UFU-199#1#1#1; 31: Belíssima.

O uso de geotecnologias tem intensificado e auxiliado diversas pesquisas com vegetais (JOHANN et al., 2012; RISSO et al., 2012; SANTI et al., 2012; VICTORIA et al., 2012; VICENTE et al., 2012; PICOLI et al., 2013; ZAMAN-ALLAH et al., 2015; VERGARA-DÍAZ et al., 2016), exceto para alface. Pôde-se verificar, com os resultados obtidos, que o uso da fenotipagem de alto desempenho para seleção de genótipos de alface com altos teores de SPAD/carotenoides foi eficiente, podendo ser uma alternativa para auxiliar programas de melhoramento ou ações públicas, a fim de monitorar o nível de biofortificação em lavouras comerciais nos principais cinturões verdes com o uso de um VANT.

## 4 CONCLUSÕES

- 1 – O banco de germoplasma analisado possui ampla variabilidade genética.
- 2 – O uso da fenotipagem de alto desempenho apresentou alta correlação em relação à metodologia tradicional, sendo uma alternativa para identificar diferentes backgrounds genéticos em um banco de germoplasma.
- 3 – Neste estudo, utilizou-se uma câmera RGB, mas, em trabalhos futuros, pretende-se utilizar uma câmera com sensor infravermelho, com resolução espectral maior, que permitirá investigar características fenotípicas que não aparecem no espectro visível (RGB).

## REFERÊNCIAS

- ANTUNES, J. F. G. *et al.* Estimativa de área de soja por classificação de imagens normalizada pela matriz de erros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1288-1294, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900014>.
- AQUINO, C. R. de *et al.* Produção e tolerância ao pendoamento de alface-romana em diferentes ambientes. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 4, p. 558-566, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201461040016>.
- ARAÚJO, J. C. *et al.* Univariate and multivariate procedures for agronomic evaluation of organically grown tomato cultivars. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 374-380. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362016003011>.
- BECKER, C. *et al.* Nitrogen limited red and green leaf lettuce accumulate flavonoid glycosides, caffeic acid derivatives, and sucrose while losing chlorophylls,  $\beta$ -carotene and xanthophylls. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 11, e0142867, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0142867>.
- BLAT, S. F. *et al.* Desempenho de cultivares de alface crespa em dois ambientes de cultivo em sistema hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 135-138, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000100024>.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Melhoramento de Plantas**. 7 ed. Viçosa: UFV, 2017. 543 p.
- BRZEZINSKI, C. R. *et al.* Produção de cultivares de alface americana sob dois sistemas de cultivo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 64, n. 1, p. 83-89, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201764010012>.

- CASSETARI, L. S. *et al.*  $\beta$ -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1083, p. 469-474, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.60>.
- CASWELL, M.; ZILBERMAN, D. Algoculture. Presented at the 10th IIFET Conference, Corvallis, Oregon, U.S.A., p. 10. 2000.
- CASWELL, M.; ZILBERMAN, D. Algoculture. *In*: Conference International Institute of Fisheries Economics & Trade, 10<sup>th</sup>, Corvallis, 2000. **Anais** [...]. Corvallis: IIFET, 2000.
- CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2012. 514 p.
- DHONDT, S.; WUYTS, N.; INZÉ, D. Cell to whole-plant phenotyping: the best is yet to come. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 18, n. 8, p. 428-439, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.04.008>.
- DIAMANTE, M. S. *et al.* Production and resistance to bolting of loose-leaf lettuce grown in different environments. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 44, n. 1, p. 133-140, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902013000100017>.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2013. 421 p.
- GNÄDINGER, F.; SCHMIDHALTER, U. Digital counts of maize plants by unmanned aerial vehicles (UAVs). **Remote sensing**, Basel, v. 9, n. 6, p. 1-15, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/rs9060544>.
- GUPTA, S. D.; IBARAKI, Y.; PATTANAYAK, A. K. Development of a digital image analysis method for real-time estimation of chlorophyll content in micropropagated potato plants. **Plant Biotechnology Reports**, Tokyo, v. 7, n. 1, p. 91-97, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11816-012-0240-5>.
- HOEL, B. O.; SOLHAUG, K. A. Effect of irradiance on chlorophyll estimation with the minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Annals of Botany**, Oxford, v. 82, n. 3, p. 389-392, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0683>.
- JOHANN, J. A. *et al.* Estimation of summer crop areas in the state of Paraná, Brazil, using multitemporal EVI/Modis images. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1270-1278, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900015>.

- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A. Scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, Barking, v. 78, n. 3, p. 389-398, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00203-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00203-0).
- KLOOSTER, W. S. *et al.* Growth and physiology of deciduous shade trees in response to controlled-release fertilizer. **Scientia horticultrae**, Amsterdam, v. 135, p. 71-79, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.009>.
- KYRATZIS, A. C. Assessment of vegetation indices derived by UAV imagery for durum wheat phenotyping under a water limited and heat stressed mediterranean environment. **Frontiers in plant Science**, Lausanne, v. 8, n. 1114, p. 1-14, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01114>.
- LUZ, A. O. da *et al.* Resistência ao pendoamento de genótipos de alface em ambientes de cultivo. **Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 6, p. 71-82, 2009.
- MAIANI, G. *et al.* Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 53, v. 2, p. 194-218, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800053>.
- MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, Chicago, v. 27, n. 2, p. 209-220, 1967.
- NICK, C.; BORÉM, A. **Melhoramento de Hortaliças**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2016. 464 p.
- PICOLI, M. C. A. *et al.* Effect of sugarcane planting row directions on ALOS/PALSAR satellite images, **GIScience & Remote Sensing**, Basel, v. 50, n. 3, p. 349-357, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1080/15481603.2013.808457>.
- POTGIETER, A. B. *et al.* Multi-spectral imaging from an unmanned aerial vehicle enables the assessment of seasonal leaf area dynamics of sorghum breeding lines. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, n. 1532, p. 1-11, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01532>.
- RISSO, J. *et al.* Índices de vegetação Modis aplicados na discriminação de áreas de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1317-1326, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900017>.
- ROCHA, D. S.; REED, E. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância para a saúde. **Estudos, vida e saúde**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 76-85, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.18224/est.v41i1.3366>.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. Melhoramento de alface. *In*: NICK, C.; BORÉM, A. (ed.). **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. cap. 3, p.95-127.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>.

- SALA, F. C. *et al.* Reação de cultivares de alface a *Thielaviopsis basicola*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 398-400, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362008000300021>.
- SANTI, A. L. *et al.* Análise de componentes principais de atributos químicos e físicos do solo limitantes à produtividade de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1346-1357, 2012.
- SANTI, A. *et al.* Desempenho agrônômico de alface americana fertilizada com torta de filtro em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 338-343, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362013000200027>.
- SANTOS, C. L. do *et al.* Desempenho de cultivares de alface tipo crespa sob altas temperaturas em Cáceres-MT. **Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 3, p. 87-98, 2009.
- SILVA, S.; MURA, J. **Tratado de Alimentação, Nutrição e Dietoterapia**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2010. 1256 p.
- SILVA, V. F. *et al.* Comportamento de cultivares de alface em diferentes espaçamentos sob temperatura e luminosidade elevadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 183-187, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362000000300008>.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, Índia, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.
- SISTEMA DE MONITORAMENTO METEOROLÓGICO. **Cooxupé (Monte Carmelo)**. SISMET, 2018. Disponível em: <http://sismet.cooxupe.com.br:9000/dados/estacao/pesquisarDados/>. Acesso em: 14 set. 2018.
- SOUSA, C. S. *et al.* Divergência genética entre genótipos de alface por meio de marcadores AFLP. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052007000100002>.
- SOUSA, C. A. F. *et al.* Nova abordagem para a fenotipagem de plantas: conceitos, ferramentas e perspectivas. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v. 8, número especial do IV SMUD, p. 660-672, 2015. DOI: <https://doi.org/10.26848/rbgf.v8.0.p660-672>.
- SUINAGA, F. A. *et al.* **Métodos de avaliação do florescimento precoce e identificação de fontes de tolerância ao calor em cultivares de alface do grupo varietal crespa**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. 4 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortaliças/busca-de-publicacoes/-/publicacao/956376/metodos-de-avaliacao-do-florescimento-precoce-e-identificacao-de-fontes-de-tolerancia-ao-calor-em-cultivares-de-alface-do-grupo-varietal>. Acesso em: 02 jan. 2019.
- UDSEN, S. O Mercado de folhosas: números e tendências. *In*: FOLHOSAS SEMINÁRIO NACIONAL, Campinas, 2016. **Anais** [...]. Campinas: Associação Brasileira de Comércio de Sementes e Mudanças, 2016. Disponível em:

[http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/O\\_mercado\\_de\\_folhasas\\_\\_Numeros\\_e\\_Tendencias\\_-\\_Steven.pdf](http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/O_mercado_de_folhasas__Numeros_e_Tendencias_-_Steven.pdf). Acesso em: 31 dez. 2018.

VERGARA-DÍAZ, O. *et al.* A novel remote sensing approach for prediction of maize yield under different conditions of nitrogen fertilization. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, n. 666, p. 1-13, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00666>.

VICENTE, L. E. *et al.* NDVI temporal series from the SPOT vegetation sensor and SAM algorithm applied to sugarcane mapping. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1337-1345, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900019>.

VICTORIA, D. de C. *et al.* Cropland area estimates using modis NDVI time series in the state of Mato Grosso, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1270-1278, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900012>.

WALTER, A.; LIEBISCH, F.; HUND, A. Plant phenotyping: from bean weighing to image analysis. **Plant Methods**, London, v. 11, n. 14, p. 1-11, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-015-0056-8>.

ZAMAN-ALLAH, M. *et al.* Unmanned aerial platform-based multi-spectral imaging for field phenotyping of maize. **Plant Methods**, London, v. 11, n. 35, p. 1-10, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13007-015-0078-2>.

ZHANG, Y. Z. *et al.* Transcriptome analysis and anthocyanin-related genes in red leaf lettuce. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2016. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr.15017023>.

ZIECH, A. R. D. *et al.* Cultivo de alface e m diferentes manejos de cobertura do solo e fontes de adubação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 9, p. 948-954, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v18n09p948-954>.

## **CAPÍTULO II**

**FENOTIPAGEM POR IMAGEM EM GERMOPLASMA DE ALFACE COM  
DIVERSIDADE GENÉTICA PARA NÍVEIS DE CAROTENOIDES**

## FENOTIPAGEM POR IMAGEM EM GERMOPLASMA DE ALFACE COM DIVERSIDADE GENÉTICA PARA NÍVEIS DE CAROTENOIDES

### RESUMO

O desenvolvimento de alimentos biofortificados, como a alface, é objetivo frequente dos programas de melhoramento. Um obstáculo para o sucesso desses esforços é o alto custo temporal e financeiro da determinação dos constituintes foliares. A fenotipagem por imagens tem sido cada vez mais usada no melhoramento de culturas, mas não na alface. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi usar a fenotipagem por imagens para selecionar linhagens de alface com diferentes níveis de carotenoides. Foram avaliadas 22 linhagens de alface provenientes da hibridação entre as cultivares Pira 72 *versus* Uberlândia 10000, análise seguida de seis sucessivas autofecundações. Foram utilizadas como testemunhas três cultivares: cv. Grand Rapids, UFU-Biofort e Uberlândia 10000. Foi avaliado o potencial agrônomo, a comprovação da diversidade genética e uma técnica de fenotipagem por imagem. Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ). As médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). A divergência genética foi representada por dendrograma obtido pelo método hierárquico (UPGMA) e pelo método de otimização Tocher. Para verificar qual variável resposta foi a mais relevante, foi realizada a análise de contribuição relativa dos caracteres. A diversidade genética do banco de germoplasma avaliado foi maior em relação aos valores de SPAD/carotenoides. A fenotipagem por imagem foi usada com sucesso para detectar diferentes níveis de SPAD/carotenoides e pode ser uma ferramenta útil para o melhoramento de plantas. Os resultados deste estudo podem ser utilizados para prever os valores nutricionais das folhas de alface antes da comercialização.

**Palavras-chave:** Geotecnologia, biofortificação, *Lactuca sativa* L., veículo aéreo não tripulado (VANT).

## IMAGE PHENOTYPING IN LETTUCE GERMOPLASM WITH GENETIC DIVERSITY FOR CAROTENOID LEVELS

### ABSTRACT

Developing biofortified foods, such as lettuce, is a frequent goal of breeding programs. One obstacle to the success of these efforts is the high time and financial cost of determining leaf constituents. Image phenotyping has been increasingly used in crop breeding, but not in lettuce breeding. Until now, the use of image phenotyping to indirectly select carotenoid-rich lettuce inbred lines has not been reported. Therefore, this study used image phenotyping to select lettuce inbred lines with different carotenoid levels. Twenty-two inbred lettuce lines were evaluated; they resulted from the hybridization of Pira 72 and Uberlândia 10000 cultivars and six successive selfings. Grand Rapids, UFU-Biofort and Uberlândia 10000 were used as controls. The following variables were evaluated: agronomic potential, apparent genetic diversity, and image phenotyping. The data were submitted to the ANOVA F test ( $p \leq 0.05$ ), and the means were compared by the Scott-Knott test ( $p \leq 0.05$ ). Genetic divergence was represented by dendrograms constructed by UPGMA and the Tocher optimization method. The relative contribution of characters was assessed to identify the most relevant response variable. The genetic diversity of the germplasm bank was greater regarding SPAD/carotenoid values. Image phenotyping successfully detected different levels of SPAD/carotenoid levels and could be a useful tool for plant breeding. These results can help predict the nutritional values of lettuce leaves before commercialization.

**Keywords:** Geotechnology, biofortification, *Lactuca sativa* L., unmanned aerial vehicle (UAV).

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no mundo e a terceira hortaliça em maior volume de produção. A alface do tipo crespa possui maior importância econômica em relação aos tipos americana, lisa e romana (SALA et al., 2008; SALA; COSTA, 2012). O consumo dessa hortaliça pode auxiliar na prevenção de diversas doenças relacionadas ao estresse oxidativo (MAIANI et al., 2009, ROCHA; REED, 2014). Os carotenoides são responsáveis por maior parte destes benefícios à saúde (SOUSA et al., 2007; CASSETARI et al., 2015) e, nos vegetais, são os precursores da vitamina A (SILVA; MURA, 2010).

Pesquisas demonstram que há possibilidade de obtenção de genótipos de alface ricos em carotenoides (SOUSA et al., 2007; CASSETARI et al., 2015). No entanto, apesar da relevância dos alimentos biofortificados, há poucas pesquisas visando desenvolver cultivares de alface rica em carotenoides no mundo. Um dos grandes entraves para o sucesso dos programas de melhoramento visando obtenção de genótipos de alface ricos em carotenoides está relacionado com o alto custo para analisar o constituinte nas folhas. Cassetari et al. (2015) observaram alta correlação entre carotenoides e clorofila, tornando-se possível mensurar de forma indireta teores de carotenoides a partir do uso do índice SPAD. No entanto, em programas de melhoramento genético, são obtidos milhares de genótipos, podendo tornar a coleta de resultados muito demorada e inviabilizando o operacional.

O uso da fenotipagem por imagem tem sido cada vez mais utilizado em programas de melhoramento genético vegetal (BRISSEON et al., 2010; SOUSA et al., 2015), exceto em alface. Técnicas de fenotipagem por imagem buscam determinar valores qualitativos e/ou quantitativos das características em estudo e correlacioná-las ao desempenho de um genótipo em determinado ambiente (DHONDT et al., 2013). A fenotipagem de plantas tem sido associada a análises ópticas não destrutivas de características vegetais, principalmente com o uso de imagens (WALTER et al., 2015). As técnicas utilizadas atualmente em fenômica de plantas abrangem diversas áreas da ciência, incluindo a espectroscopia, com a geração de imagens (SOUSA et al., 2015).

Os veículos aéreos não tripulados (VANTs), também denominados “Drones”, possibilitam a coleta de imagens de altas resoluções espacial e temporal, permitindo o monitoramento em tempo quase real de campos de experimentação agrícola. Essas aeronaves podem embarcar diversos tipos de câmeras com sensores que capturam desde

o espectro eletromagnético visível até o espectro do infravermelho, possibilitando diversas análises das características vegetais (SOUSA et al., 2015; YANG et al., 2017). Essa combinação entre as altas resoluções espacial e temporal é um dos principais atrativos para o emprego dessa tecnologia na fenotipagem de alfaces.

As pesquisas atuais buscam correlacionar a reflectância da vegetação com características das plantas em diversas espécies vegetais (JOHANN et al., 2012; RISSO et al., 2012; SANTI et al., 2012; VICENTE et al., 2012; VICTORIA et al., 2012; PICOLI et al., 2013; MAKANZA et al., 2018), exceto para hortaliças.

Atualmente, não estão disponíveis pesquisas que utilizem técnicas de fenotipagem por imagem para auxiliar a seleção indireta de genótipos de alface ricas em carotenoides. Diante disso, o objetivo do trabalho foi selecionar linhagens de alface com potencial agrônomo e com diferentes níveis de carotenoides através da fenotipagem por imagens.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em 2018, na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" W; 873 m de altitude). As linhagens caracterizadas fazem parte do Programa de melhoramento genético de alface biofortificada e tropicalizada da UFU.

Foram avaliadas 22 linhagens de alface provenientes da hibridação entre as cultivares Pira 72 *versus* Uberlândia 10000, rica em carotenoides (SOUSA et al., 2007), análise seguida de seis sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 e 2017. O método de melhoramento utilizado para obtenção das 22 linhagens foi o genealógico. As linhagens pertencem ao banco de germoplasma de alface biofortificada da UFU (MACIEL et al. 2019b). Foram utilizadas como testemunhas três cultivares: cv. Grand Rapids, UFU-Biofort e Uberlândia 10000 (SOUSA et al., 2007), totalizando 25 tratamentos.

A semeadura foi realizada em 28 de março de 2018. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido com 200 células preenchidas com substrato comercial à base de fibra de coco. Após a semeadura, as bandejas permaneceram em casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5 m x 6 m e pé direito de 3,5 m, coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioleta, e cortinas laterais de tela branca antiafídeos. Aos 29 dias após a semeadura,

as mudas foram transplantadas para canteiros definitivos em campo. Os canteiros foram formados utilizando rotoencanteirador de 1,30 m de largura.

O solo apresentou as seguintes características: pH (H<sub>2</sub>O) = 5,9; P disponível = 30,1 mg dm<sup>-3</sup>; K = 0,22 cmolc dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> = 2,8 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg = 1,0 cmolc dm<sup>-3</sup>; H + Al trocável = 3,40 cmolc dm<sup>-3</sup>; matéria orgânica = 4,2 dag Kg<sup>-1</sup>; Índice SMP = 3,40; Alumínio = 0,0 cmolc dm<sup>-3</sup>; CTC pH 7,0 = 7,42 cmolc dm<sup>-3</sup>; V% = 54%; saturação m% = 0%; Cobre; 2,3 mg dm<sup>-3</sup>; Zinco = 6,6 mg dm<sup>-3</sup> e Manganês = 6,6 mg dm<sup>-3</sup>. Os tratos culturais foram realizados conforme preconizado para o cultivo de alface (FILGUEIRA, 2013).

O experimento (Figura 1) foi conduzido em delineamento de blocos casualizados com três repetições. Cada parcela foi constituída por 16 plantas, separadas em quatro fileiras por canteiro no espaçamento de 0,25 m x 0,25 m, sendo avaliadas as oito plantas centrais.

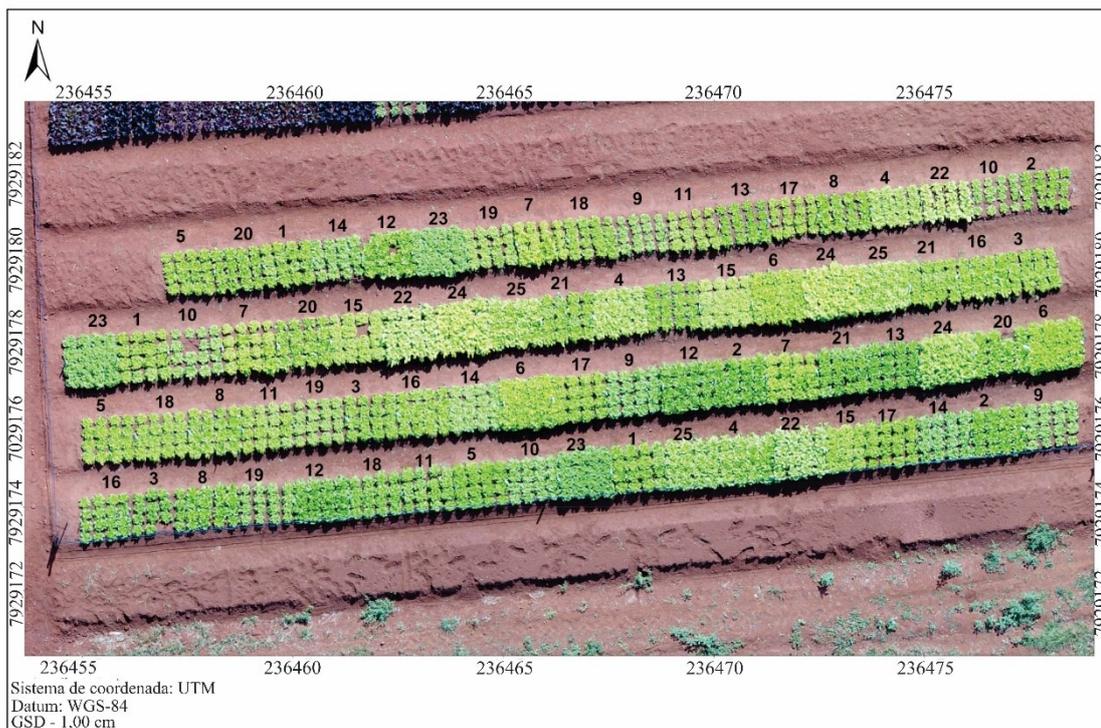


FIGURA 1. Ortoimagem aérea do experimento. 1: UFU-206#1#6#1; 2: UFU-189#3#1#1; 3: UFU-197#3#1#1; 4: UFU-125#1#1#1; 5: UFU-7#1#2#1; 6: UFU-155#1#1#1; 7: UFU-120#1#1#1; 8: UFU-189#1#2#1; 9: UFU-197#2#1#1; 10: UFU-199#3#1#1; 11: UFU-206#1#1#1; 12: UFU-206#3#1#1; 13: UFU-197#1#1; 14: UFU-197#2#2#1; 15: UFU-155#1#2#1; 16: UFU-189#3#4#1; 17: UFU-206#1#4#1; 18: UFU-125#2#2#1; 19: UFU-206#1#2#1; 20: UFU-189#3#2#1; 21: UFU-206#1#5#1; 22: UFU-040#5#5#1; 23: UFU Biofort; 24: Grand Rapids; 25: Uberlândia 10000.

A colheita foi realizada aos 35 dias após o transplântio, sendo as plantas levadas para laboratório, onde se avaliou a massa fresca total obtida pela pesagem de todas as folhas externas. O diâmetro do caule foi avaliado com auxílio de um paquímetro. Foi determinado o número de folhas comerciais pela contagem de folhas superiores a 5 cm de comprimento. O diâmetro da planta foi avaliado e expresso em centímetros.

A temperatura foliar foi obtida pelo posicionamento de um termômetro infravermelho (modelo 4000.4GL, Everest Interscience, Tucson, AZ, USA), sendo amostradas as folhas superiores, procurando-se apontar o sensor na posição central da superfície foliar. O teor de antocianinas totais foi determinado pelo método descrito por Francis (1982). A concentração de pigmentos antociânicos foi feita com base na absorvância, segundo a equação:  $At = [(Ab \times f)]/\epsilon$ , em que: At= antocianinas, mg de cianidina-3-glicosídeo  $100g^{-1}$  de massa fresca; Ab= absorvância em comprimento de onda de 535 nm; f= fator de diluição;  $\epsilon$ = coeficiente de absorvância molar da cianidina (98,2). Os resultados obtidos foram expressos em mg de cianidina-3-glicosídeo  $100g^{-1}$  de massa fresca. O índice SPAD/carotenoides (CASSETARI et al., 2015) foi obtido pelo valor médio das quatro plantas centrais de cada parcela. Foi utilizado o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030. Também foi realizada a contagem dos dias para pendoamento após semeadura (DPS).

Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), após atenderem às pressuposições de normalidade dos resíduos, homocedasticidade e aditividade de blocos testadas pelos testes de Kolmogorov-Smirnov, Levene e teste de não aditividade de Tukey, respectivamente. Diante da detecção de diferenças significativas para as variáveis, as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). Em seguida, foram realizadas análises multivariadas de dissimilaridade genética entre os genótipos pela distância generalizada de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ). A divergência genética foi representada por dendrograma obtido pelo método hierárquico *Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages* (UPGMA) e pelo método de otimização Tocher. A validação do agrupamento pelo método UPGMA foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) calculado pelo teste de Mantel (1967). A contribuição relativa dos caracteres quantitativos foi calculada segundo critério de Singh (1981). Todos os dados obtidos foram analisados com o *software* Genes v. 2015.5.0 (CRUZ, 2013).

Além de realizar a metodologia convencional proposta por Cassetari et al. (2015) pelo índice SPAD/carotenoides, foi realizada a fenotipagem por imagem usando

imagens aéreas capturadas por meio de uma câmara RGB de 20 megapixels, sensor CMOS a uma distância focal de 9 mm, montada em um veículo aéreo não tripulado (VANT), modelo Phantom 4 Advanced. As imagens foram coletadas em 4864 × 3648 pixels e armazenadas como JPEGs.

Os parâmetros utilizados no voo foram: altura de 20 metros, sobreposição longitudinal de 80% e sobreposição lateral de 75%. O voo foi realizado de modo automático com o software proprietário DroneDeploy. Com as imagens obtidas, foi gerada uma ortofoto com GSD (Ground Sample Distance – relação entre a altura de voo e o nível de detalhamento do terreno) de 1 cm, com o programa Pix4d. O histograma (canal verde) foi calculado para as imagens das duas linhagens mais contrastantes no índice SPAD/carotenoides. Cada parcela foi delimitada manualmente na ortofoto e o software ImageJ v. 1.52 foi usado para isolar a imagem RGB do canal verde.

Os valores médios de intensidade verde (G) foram calculados para cada parcela. Posteriormente, foi determinada a correlação entre os índices SPAD/carotenoides e a intensidade média do canal verde (G) (software SIGMA PLOT, significância de 5%).

O mapa de calor foi obtido pelo georreferenciamento das quatro plantas da área útil por meio de uma ortofoto. Em seguida, utilizando o valor médio obtido pelo SPAD, foi realizada a interpolação com o objetivo de extrapolar o resultado observado na área útil para a área total da parcela. O software QGis v. 3.0 foi utilizado para visualizar a distribuição geoespacial do índice SPAD/carotenoides com o mapa de calor gerado por meio da interpolação de pontos pela ponderação IDW (Inverso da Distância Ponderada) usando a função Kernel.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Avaliação agronômica do germoplasma**

No período em que se desenvolveu o experimento, março a junho, as temperaturas máximas variaram de 18,8 °C a 32,8 °C, com média máxima de 28,1 °C, e as mínimas variaram de 5,7 °C a 20,9 °C, sendo a média mínima de 16,8°C, conforme dados obtidos pelo Sismet, 2018. Essas temperaturas foram desfavoráveis ao cultivo da alface, pois a variação ótima para a cultura é de 4 °C a 27 °C (SANTOS et al., 2009).

Houve diferenças significativas pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) entre as linhagens para todas as variáveis respostas avaliadas, exceto para temperatura foliar e teor de antocianina (Tabela 1).

TABELA 1. Médias referentes à massa fresca (MF), diâmetro de caule (DC), número de folhas (NF), diâmetro de planta (DP), temperatura foliar (TF), teor de antocianina (ANT), dias para pendoamento após semeadura (DPS) e índice SPAD/carotenoides (SPAD), em linhagens de alface do tipo crespa.

Linhagens <sup>1</sup>	MF (g)	DC (cm)	NF	DP (cm)	TF (°C)	ANT	DPS (dias)	Carotenoides	SR <sup>2</sup> (%)
UFU-206#1#6#1	220,1 b	2,0 b	18,0 c	25,4 c	20,0	19,1	68,7 c	22,8 c	30,87
UFU-189#3#1#1	180,8 c	2,3 a	25,1 a	24,4 c	19,5	22,1	88,0 b	26,6 b	52,29
UFU-197#3#1#1	144,2 c	2,3 a	16,9 c	24,6 c	18,4	20,1	81,7 b	22,8 c	30,76
UFU-125#1#1#1	196,2 c	2,5 a	22,1 b	24,9 c	19,9	14,5	82,7 b	17,0 f	-2,52
UFU-7#1#2#1	196,4 c	1,9 b	24,4 b	24,2 c	20,3	16,8	94,7 a	23,4 c	34,19
UFU-155#1#1#1	277,7 a	2,5 a	26,0 a	30,5 a	19,3	16,6	64,0 d	16,8 f	-4,01
UFU-120#1#1#1	165,6 c	2,2 b	17,3 c	25,2 c	19,1	12,3	71,0 c	15,0 f	-14,15
UFU-189#1#2#1	139,0 c	2,1 b	26,3 a	23,6 c	18,5	13,1	87,0 b	26,8 b	53,26
UFU-197#2#1#1	134,8 c	2,3 a	23,2 b	24,2 c	19,8	19,4	104,0 a	23,2 c	32,93
UFU-199#3#1#1	127,3 c	1,9 b	20,5 c	22,7 c	20,6	19,2	87,3 b	23,1 c	32,30
UFU-206#1#1#1	172,2 c	2,0 b	18,4 c	23,1 c	19,4	16,9	80,0 b	21,3 d	21,76
UFU-206#3#1#1	220,7 b	2,5 a	27,7 a	24,3 c	20,9	12,4	77,0 c	29,7 a	69,93
UFU-197#1#1	148,2 c	2,3 a	25,4 a	23,3 c	20,9	13,7	94,7 a	26,6 b	52,06
UFU-197#2#2#1	155,3 c	2,5 a	22,0 b	24,1 c	20,3	20,2	96,0 a	24,1 c	37,86
UFU-155#1#2#1	244,0 b	2,5 a	19,8 c	26,2 b	20,9	17,0	89,3 b	16,1 f	-8,08
UFU-189#3#4#1	172,9 c	2,5 a	24,3 b	23,7 c	18,1	21,0	85,7 b	26,1 b	49,54
UFU-206#1#4#1	186,9 c	2,4 a	15,9 c	23,2 c	19,9	15,7	78,3 c	20,5 d	17,30
UFU-125#2#2#1	143,3 c	2,0 b	23,7 b	22,2 c	20,6	14,7	89,7 b	22,5 c	28,75
UFU-206#1#2#1	164,9 c	2,0 b	14,9 c	21,5 c	19,5	17,5	74,0 c	21,4 d	22,62
UFU-189#3#2#1	185,6 c	2,3 a	25,1 a	25,9 b	21,2	17,5	90,7 b	24,1 c	37,86
UFU-206#1#5#1	239,8 b	2,6 a	17,2 c	23,7 c	19,4	20,0	72,0 c	25,4 b	45,70
UFU-040#5#5#1	176,3 c	2,3 a	18,5 c	27,5 b	19,0	15,2	53,0 e	18,9 e	8,02
UFU-Biofort	267,2 a	2,0 b	16,1 c	27,7 b	21,2	19,8	81,0 b	28,6 a	63,46
cv. Grand Rapids	313,4 a	2,6 a	17,5 c	29,8 a	19,9	23,0	64,0 d	17,5 f	0,00
cv. Uberlândia 10000	275,4 a	2,2 a	28,5 a	26,9 b	20,2	18,2	83,0 b	19,0 e	8,53
Média geral	193,9	2,3	21,4	24,9	19,9	17,4	81,5	22,4	30,87
CV(%)	18,86	11,99	9,77	7,98	8,38	28,84	6,76	6,27	
Ks	<b>0,20</b>	<b>0,06</b>	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>	<b>0,01</b>	<b>0,20</b>	
F	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	0,00	0,00	
F <sup>''</sup>	<b>0,02</b>	<b>0,09</b>	<b>0,85</b>	<b>0,93</b>	<b>0,12</b>	<b>0,07</b>	<b>0,49</b>	<b>0,25</b>	

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância. <sup>2</sup>SR: Superioridade relativa das linhagens em relação à testemunha cv. Grand Rapids quanto à variável SPAD/carotenoides. Ks, F, F<sup>''</sup>: pressuposições dos testes Kolmogorov- Smirnov, Levene e Aditividade de Blocos; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e efeitos aditivos. ANT = teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca); Carotenoides = Índice SPAD/carotenoides.

Em relação à massa fresca (MF), a linhagem UFU-155#1#1#1 destacou-se entre as demais (277,7 g), não se diferenciando significativamente das testemunhas comerciais cv. Grand Rapids, UFU-Biofort e Uberlândia 10000 (267,2 g; 313,4 g e 275,4 g, respectivamente) (Tabela 1). Resultados do presente estudo foram superiores aos encontrados por Mógor e Câmara (2007) e Santos et al. (2009) e similares aos de diversas pesquisas já realizadas (BLAT et al., 2011; DIAMANTE et al., 2013; SUINAGA et al., 2013; ZIECH et al., 2014; BRZEZINSKI et al., 2017). Isso indica que as linhagens apresentaram padrão comercial.

As linhagens UFU-189#3#1#1, UFU-197#3#1#1, UFU-125#1#1#1, UFU-155#1#1#1, UFU-197#2#1#1, UFU-206#3#1#1, UFU-197#1#1, UFU-197#2#2#1, UFU-155#1#2#1, UFU-189#3#4#1, UFU-206#1#4#1, UFU-189#3#2#1, UFU-206#1#5#1 e UFU-040#5#5#1 foram similares às testemunhas comerciais cv. Grand Rapids e Uberlândia 10000 quanto ao diâmetro do caule (Tabela 1). Esses resultados corroboram com Brzezinski et al. (2017). Vale ressaltar que as diferenças no diâmetro de caule em diferentes genótipos podem estar associadas com variações da radiação solar e temperatura (GALBIATTI, 2007).

Referente ao número de folhas, as linhagens UFU-189#3#1#1, UFU-155#1#1#1, UFU-189#1#2#1, UFU-206#3#1#1, UFU-197#1#1 e UFU-189#3#2#1 destacaram-se apresentando número de folhas igual a 25,1; 26,0; 26,3; 27,7; 25,4 e 25,1 folhas, respectivamente, similar à cultivar rica em carotenoides (SOUSA et al., 2007) Uberlândia 10000 (28,5 folhas) e superior à testemunha comercial (cv. Grand Rapids = 17,5 folhas) (Scott-Knott,  $p \leq 0,05$ ) (Tabela 1). Avaliando quinze cultivares comerciais de alface crespa, nas condições de Cáceres-MT, Santos et al. (2009) observaram número de folhas inferior ao encontrado na presente pesquisa, sendo o valor de 13,4 folhas por planta. Em contrapartida, Diamante et al. (2013) identificaram valores similares aos do presente estudo. Vale ressaltar que diferenças no desempenho agrônômico em cultivares de alface podem ser observadas nas várias regiões do Brasil em virtude das diferentes condições ambientais (SANTOS et al., 2009; DIAMANTE et al., 2013; AQUINO et al., 2014).

O diâmetro da planta é uma característica muito relevante comercialmente. A linhagem UFU-155#1#1#1 destacou-se entre as linhagens avaliadas apresentando diâmetro de 30,5 cm, não se diferenciando da cv. Grand Rapids (29,8 cm) (Scott-knott,  $p \geq 0,05$ ) (Tabela 1). Esses resultados corroboram os obtidos por Diamante et al. (2013),

que avaliaram o desempenho agrônomo de quatro cultivares em cinco ambientes distintos e notaram valores entre 28,58 cm e 32,49 cm para DP.

Há relatos de que as condições ambientais, especialmente a luminosidade, podem interferir diretamente na expressão da antocianina e, conseqüentemente, na atividade fotossintética (GALBIATTI, 2007; SALA; COSTA, 2016; LIU et al., 2018). No presente estudo, não houve efeito significativo da temperatura foliar e dos teores de antocianina em todos os tratamentos avaliados (Tabela 1), o que indica que as condições foram similares em todos os tratamentos do experimento. Quanto ao teor de antocianina, vale ressaltar que, além da influência dos fatores ambientais, há o controle genético. Zhang et al. (2016) identificaram 34 genes envolvidos na rota metabólica das antocianinas, dando a entender o caráter quantitativo da expressão gênica, não obedecendo a uma distribuição normal do tipo de Poisson.

As linhagens UFU-7#1#2#1, UFU-197#2#1#1, UFU-197#1#1 e UFU-197#2#2#1 apresentaram pendoamento tardio, sendo indicativo de maior tolerância ao pendoamento precoce, característica desejável para o cultivo comercial. Diante disso, pode-se classificá-las como tropicalizadas.

A linhagem UFU-206#3#1#1 apresentou maior valor para índice SPAD/carotenoides (29,70), sendo 69,93% superior em relação à cv. Grand Rapids (Tabela 1). A cv. UFU-Biofort também se destacou com índice SPAD/carotenoides de 28,6, sendo 63,46% superior à cv. Grand Rapids. Vale destacar as linhagens UFU-189#3#1#1 (26,6), UFU-189#1#2#1 (26,8), UFU-197#1#1 (26,6), UFU-189#3#4#1 (26,1) e UFU-206#1#5#1 (25,4), que também foram superiores em relação à cv. Grand Rapids (52,29%; 53,26%; 52,06%; 49,54% e 45,70%, respectivamente) (Tabela 1). Essas linhagens foram definidas como biofortificadas em função da superioridade relativa na quantidade de carotenoides em relação à cultivar comercial (cv. Grand Rapids). Diversas pesquisas têm comprovado a eficiência do SPAD por realizar leituras instantâneas, sendo uma alternativa de indicação do teor de clorofila presente na folha da planta (KLOOSTER et al., 2012). O teor de clorofila possui alta correlação com a concentração de carotenoides em alface (CASSETARI et al., 2015). Assim, o SPAD pode ser utilizado para avaliar indiretamente o teor de carotenoides em alface.

### 3.2 Análise da diversidade genética presente no banco de germoplasma

Além da comparação de desempenho agrônomo individual (Tabela 1), a separação dos genótipos em grupos distintos pelo uso de medidas de dissimilaridade

pode auxiliar os melhoristas na seleção de genitores em programas de melhoramento (ARAÚJO et al., 2016). As medidas de dissimilaridade genética estimadas pela distância generalizada de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ) entre os 25 tratamentos variaram entre 2,5 (UFU-189#3#1#1) e 227,3 (UFU-197#1#1), indicando ampla diversidade genética.

A formação de grupos representada por meio de dendrograma pelo método UPGMA (Figura 2) apresentou coeficiente de correlação cofenético de 83,0%, significativo ao teste t ( $p < 0,01$ ). Assim, pode-se afirmar que o dendrograma reproduziu, de modo satisfatório, a informação contida na matriz de dissimilaridade genética e conseqüentemente na formação dos grupos. A separação dos grupos foi realizada pela delimitação de uma linha de corte de 30%, estabelecida no local de ocorrência da mudança abrupta nas ramificações presentes no dendrograma (CRUZ et al., 2012). Com esse corte, os genótipos constituíram sete grupos distintos. O grupo I foi formado por 40% dos genótipos; o grupo II, 4%; o grupo III, 4%; grupo IV, 24%; grupo V, 12%; grupo VI, 12%; e o grupo VII, pela testemunha comercial cv. Grand Rapids. Pode-se afirmar que o germoplasma avaliado apresentou diversidade genética.

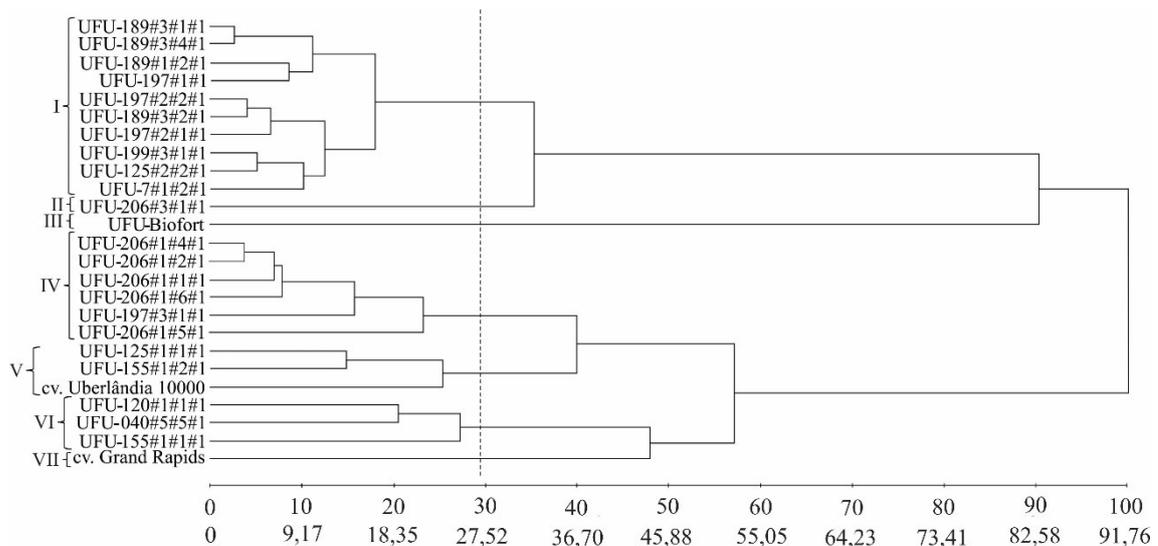


FIGURA 2. Dendrograma da divergência genética entre linhagens de alface obtidas pelo Método Hierárquico de ligação média “UPGMA” como medida de dissimilaridade.

Pelo método Tocher, também foi possível identificar variabilidade genética no germoplasma avaliado, no entanto não houve coerência com o método UPGMA. O método Tocher formou oito grupos distintos (Tabela 2).

TABELA 2. Representação do agrupamento gerado pelo método de Otimização de Tocher com base na distância de Mahalanobis, estimada a partir de oito características agronômicas.

Grupos	Indivíduos
I	UFU-206#1#1#1, UFU-206#1#2#1, UFU-206#1#4#1, UFU-206#1#6#1, UFU-199#3#1#1, UFU-125#2#2#1, UFU-7#1#2#1, UFU-197#2#1#1, UFU-197#2#2#1, UFU-189#3#2#1, UFU-189#3#1#1, UFU-197#1#1
II	UFU-125#1#1#1, UFU-155#1#2#1, cv. Uberlândia 10000
III	UFU-197#3#1#1, UFU-189#3#4#1, UFU-206#1#5#1
IV	UFU-120#1#1#1, UFU-040#5#5#1
V	UFU-155#1#1#1, cv. Grand Rapids
VI	cv. UFU-Biofort
VII	UFU-206#3#1#1
VIII	UFU-189#1#2#1
Total	25 genótipos de alface

O índice SPAD/carotenoides (CASSETARI et al., 2015) foi responsável pela maior contribuição relativa da divergência entre os genótipos, com 35,84% da variabilidade total. Esse fato é confirmado ao analisar o maior valor (29,70) e o menor valor (15,00) do índice SPAD/carotenoides obtido pelos genótipos (Tabela 1). O número de folhas foi a segunda variável resposta com maior importância e contribuiu com 23,81% da variabilidade genética, indicativo de que essa variável resposta também possui maior amplitude entre os genótipos avaliados. Em seguida, foi possível observar maior variabilidade em relação ao número de dias para início do pendoamento (22,26%). Pode-se afirmar que há variação em relação à adaptação das linhagens e testemunhas em relação às condições tropicais. Em contrapartida, o diâmetro de caule contribuiu com apenas 1,76%, indicativo de homogeneidade entre os genótipos quanto a esse quesito (Tabela 3).

TABELA 3. Contribuição relativa de oito caracteres agronômicos na divergência genética de 25 linhagens de alface de coloração verde, segundo critério de Singh (1981).

Características <sup>1</sup>	S.j	S.j (%)
MF	2182,06	11,39
DC	338,56	1,76
NF	4559,97	23,81
DP	351,38	1,83
TF	340,08	1,77
Índice SPAD/carotenoides	6864,18	35,84
ANT	249,56	1,30
DPS	4264,71	22,26

<sup>1</sup>MF: massa fresca (g); DC: diâmetro do caule (cm); NF: número de folhas; DP: diâmetro de planta (cm); TF: temperatura foliar (°C); ANT: teor de antocianina; DPS: dias para pendoamento após semeadura; SPAD: índice SPAD/carotenoides.

### 3.3 Validação da fenotipagem por imagem na identificação da diversidade genética quanto ao teor de SPAD/carotenoides

Para validar a aplicabilidade da fenotipagem por imagem, foi necessário confirmar a variabilidade genética entre os acessos avaliados. A fenotipagem por imagem é uma técnica que pode ser amplamente aplicada no melhoramento genético, podendo ser utilizada na seleção genômica, prospecção de genes, caracterização de germoplasma, no mapeamento de QTLs (Quantitative trait loci) e na seleção fenotípica, visando o aumento na produtividade, a resistência a estresses abióticos e bióticos, além da obtenção de alimentos biofortificados (ARAUS; CAIRNS, 2014; FRITSCHENETO; BORÉM, 2016; MACIEL et al., 2019a). Essa técnica é de baixo custo, permite obter resultados de todos os genótipos estudados de forma rápida e objetiva, sendo um método não invasivo (GUPTA et al., 2013; ZAMAN-ALLAH et al., 2015; KYRATZIS et al., 2017; MACIEL et al., 2019a).

Ao analisar a tabela 1, foi possível verificar o desempenho individual dos acessos, especialmente para índice SPAD/carotenoides, que variou em amplitude de 14,70 entre o maior e menor valor. A confirmação da variabilidade genética do banco de germoplasma, com base em todas as variáveis respostas, foi confirmada com a obtenção do dendrograma pelo método hierárquico UPGMA (Figura 2) e pelo método de otimização Tocher (Tabela 2). A partir disso, foi necessário identificar qual variável resposta contribuiu de forma mais expressiva isoladamente. A variável que contribuiu de forma majoritária para maior diversidade genética entre os acessos foi o índice SPAD/carotenoides (Tabela 3). Diante dos resultados, foi possível definir de forma

precisa qual foi a variável resposta prioritária para aplicar a geotecnologia (índice SPAD/carotenoides), obter a ortoimagem (Figura 1), mapa de calor com valores interpolados (Figura 3) e finalmente correlacionar os resultados de índice SPAD/carotenoides *versus* a intensidade média do nível do canal G (canal verde).

Ao observar o mapa de calor, obtido pela interpolação dos valores de índice SPAD/carotenoides medidos no experimento, a escala representa o maior valor em cores quentes (vermelho) e os menores valores em tons mais claros, sendo o menor valor representado pela cor azul (Figura 3).

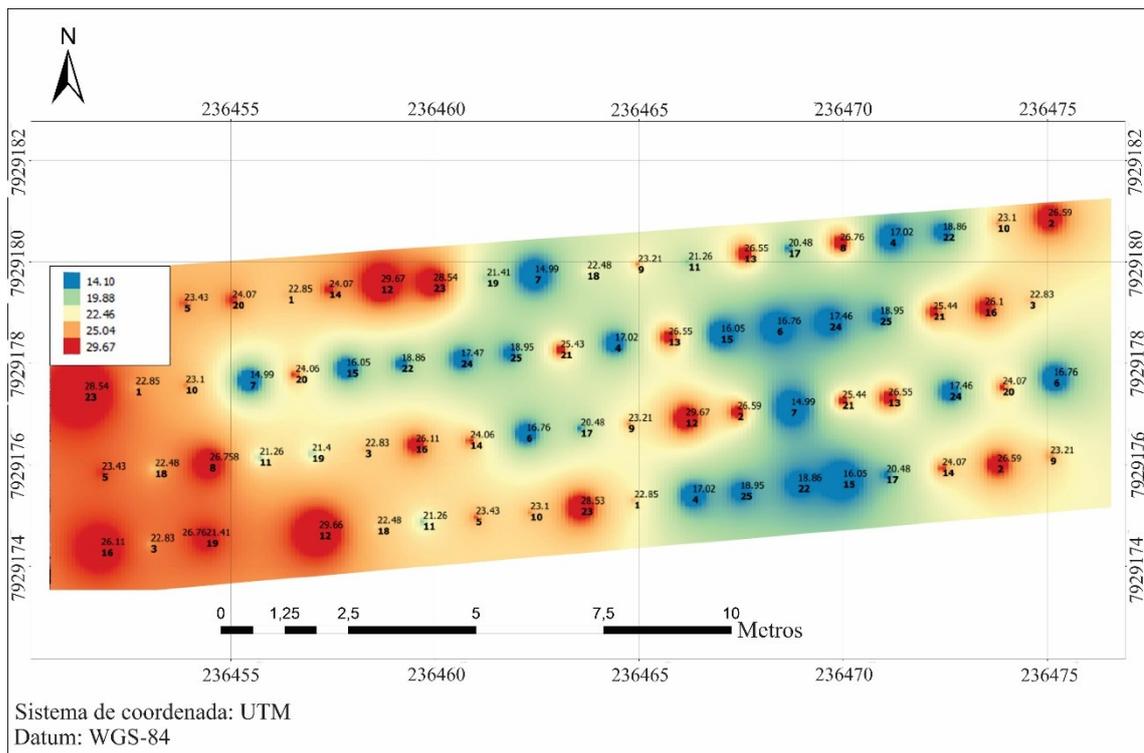


FIGURA 3. Mapa de calor com os valores interpolados de índice SPAD/carotenoides medidos nas linhagens e cultivares do experimento. 1: UFU-206#1#6#1; 2: UFU-189#3#1#1; 3: UFU-197#3#1#1; 4: UFU-125#1#1#1; 5: UFU-7#1#2#1; 6: UFU-155#1#1#1; 7: UFU-120#1#1#1; 8: UFU-189#1#2#1; 9: UFU-197#2#1#1; 10: UFU-199#3#1#1; 11: UFU-206#1#1#1; 12: UFU-206#3#1#1; 13: UFU-197#1#1; 14: UFU-197#2#2#1; 15: UFU-155#1#2#1; 16: UFU-189#3#4#1; 17: UFU-206#1#4#1; 18: UFU-125#2#2#1; 19: UFU-206#1#2#1; 20: UFU-189#3#2#1; 21: UFU-206#1#5#1; 22: UFU-040#5#5#1; 23: UFU Biofort; 24: Grand Rapids; 25: Uberlândia 10000

Ao analisar os histogramas referentes às linhagens de maior e menor valor para índice SPAD/carotenoides (UFU-206#3#1#1 e UFU-120#1#1#1, respectivamente), foi possível verificar que a linhagem UFU-206#3#1#1, cujo valor para índice SPAD/carotenoides foi 29,70 (Tabela 1), obteve média de valor na banda verde de

192,43. Em contrapartida, a linhagem UFU-120#1#1#1, cujo valor do índice SPAD/carotenoides foi 15,00, obteve valor médio na banda verde de 224,63 (Figura 4).

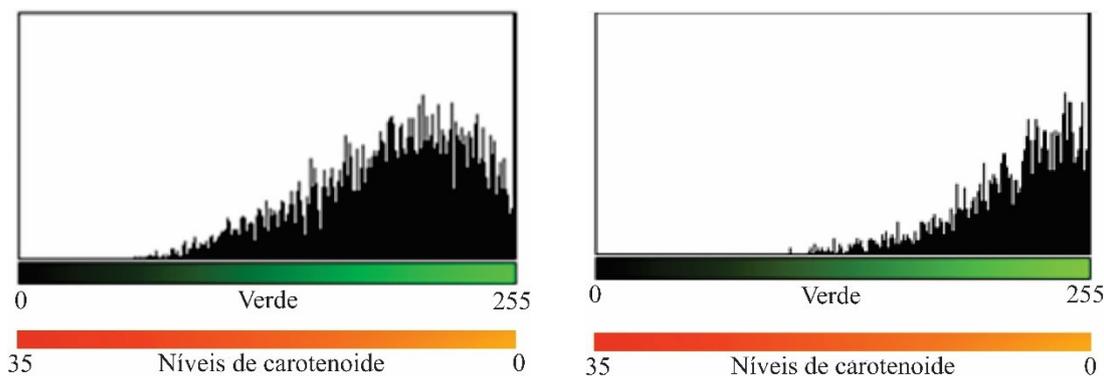


FIGURA 4. Histograma do índice SPAD/carotenoides para a linhagem UFU-206#3#1#1 rica em carotenoides (figura à esquerda). Histograma do índice SPAD/carotenoides para a linhagem UFU-120#1#1#1 com os menores níveis de carotenoides (figura à direita).

A linhagem UFU-206#3#1#1 revelou, na escala de cores, o menor valor, sendo a linhagem mais escura na banda verde. Já a linhagem UFU-120#1#1#1 apresentou maior valor de brilho na banda verde, sendo a linhagem mais clara (Figura 4). Esse resultado demonstra que quanto maior o índice SPAD/carotenoides na planta, menor é a resposta no canal verde.

Após realizar análise de correlação comparando índice SPAD/carotenoides *versus* intensidade média do nível do canal G, foi obtida a equação de regressão  $G = -0,4427x \text{ SPAD} + 116,390$ , com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9391. Houve alta correlação entre as variáveis índice SPAD/carotenoides *versus* intensidade média do nível do canal G com valor 96,90% para coeficiente de correlação. De fato, há relatos do uso de geotecnologias com sucesso nas culturas da soja, do milho, da cana-de-açúcar, de pastagens e fruticultura (JOHANN et al., 2012; RISSO et al., 2012; SANTI et al., 2012; VICTORIA et al., 2012; VICENTE et al., 2012; PICOLI et al., 2013; ZAMAN-ALLAH et al., 2015; VERGARA-DÍAZ et al., 2016; COUPEL-LEDROU et al., 2019; JAYASINGHE et al., 2019; COSTA; NUNES; AMPATZIDIS, 2020). No entanto pesquisas com hortaliças, especialmente com fenotipagem por imagem em alface, são escassas.

## 4 CONCLUSÕES

1. O banco de germoplasma avaliado neste estudo é geneticamente divergente, principalmente em relação aos níveis de SPAD/carotenoides.
2. A fenotipagem por imagem foi utilizada com sucesso para detectar diferentes níveis de SPAD/carotenoides no germoplasma e pode ser útil em programas de melhoramento.
3. Os resultados deste estudo podem ser utilizados para prever os valores nutricionais do conteúdo de carotenoides em folhas de alface antes da comercialização.

## REFERÊNCIAS

- AQUINO, C. R. *et al.* Produção e tolerância ao pendoamento de alface-romana em diferentes ambientes. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 4, p. 558-566, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201461040016>.
- ARAÚJO, J. C. *et al.* Univariate and multivariate procedures for agronomic evaluation of organically grown tomato cultivars. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 374-380, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362016003011>.
- ARAUS, J. L.; CAIRNS, J. E. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 19, n. 1, p. 52-61, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.09.008>.
- BLAT, S. F. *et al.* Desempenho de cultivares de alface crespa em dois ambientes de cultivo em sistema hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.29, n. 1, p. 135-138, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000100024>.
- BRISSEON, N. *et al.* Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 119, n. 1, p. 201-212, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.07.012>.
- BRZEZINSKI, C. R. *et al.* Produção de cultivares de alface americana sob dois sistemas de cultivo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 64, n. 1, p. 83-89, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201764010012>.
- CASSETARI, L. S. *et al.*  $\beta$ -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1083, p. 469-474, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.60>.
- COSTA, L.; NUNES, L.; AMPATZIDIS, Y. A new visible band index (vNDVI) for estimating NDVI values on RGB images utilizing genetic algorithms. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdam, v. 172, p. 1-13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105334>.

- COUPEL-LEDRU, A. *et al.* Multi-scale high-throughput phenotyping of apple architectural and functional traits in orchard reveals genotypic variability under contrasted watering regimes. **Horticulture Research**, London, v. 6, n. 52, p. 1-15, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0137-3>.
- CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2012. 514 p.
- DHONDT, S.; WUYTS, N.; INZÉ, D. Cell to whole-plant phenotyping: the best is yet to come. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 18, n. 8, p. 428-439, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.04.008>.
- DIAMANTE, M. S. *et al.* Production and resistance to bolting of loose-leaf lettuce grown in different environments. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 44, n. 1, p. 133-140, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902013000100017>.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2013. 421 p.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. *In*: MARKAKIS, P (ed.). **Anthocyanins as food colors**. Cambridge: Academic Press, 1982. cap. 7, p. 181-206. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50011-1>.
- FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Fenômica: como a fenotipagem de próxima geração está revolucionando o melhoramento de plantas**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2016. 216 p.
- GALBIATTI, J. A. *et al.* Fertilização e qualidade da água de irrigação no crescimento e desenvolvimento da alface. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 2, p. 185-192, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v8i2.8368>.
- GUPTA, S. D.; IBARAKI, Y.; PATTANAYAK, A. K. Development of a digital image analysis method for real-time estimation of chlorophyll content in micropropagated potato plants. **Plant Biotechnology Reports**, Tokyo, v. 7, n. 1, p. 91-97, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11816-012-0240-5>.
- JAYASINGHE, C. *et al.* An object-based image analysis approach to assess persistence of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in pasture breeding. **Agronomy**, Basel, v. 9, n. 9, p. 1-11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy9090501>.
- JOHANN, J. A. *et al.* Estimation of summer crop areas in the state of Paraná, Brazil, using multitemporal EVI/Modis images. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1270-1278, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900015>.

KLOOSTER, W. S. *et al.* Growth and physiology of deciduous shade trees in response to controlled-release fertilizer. **Scientia horticulturae**, Amsterdam, v. 135, p. 71-79, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.009>.

LIU, Y. *et al.* Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in Solanaceous vegetables: a review. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, n. 6, p. 1-17, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00052>.

KYRATZIS, A. C. Assessment of vegetation indices derived by UAV imagery for durum wheat phenotyping under a water limited and heat stressed mediterranean environment. **Frontiers in plant Science**, Lausanne, v. 8, n. 1114, p. 1-14, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01114>.

MACIEL, G. M. *et al.* Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, Enschede, v. 81, p. 154-160, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.016>.

MACIEL, G. M. *et al.* **Programa de computador BG a Biofort**. Depositante: Universidade Federal de Uberlândia. BR512019002403-6. Depósito: 01 fev. 2019. Concessão: 23 out. 2019b.

MAIANI, G. *et al.* Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 53, n. 2, p. 194-218, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800053>.

MAKANZA, R. *et al.* High-throughput phenotyping of canopy cover and senescence in maize field trials using aerial digital canopy imaging. **Remote Sensing**, Basel, v. 10, n. 2, p. 1-13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/rs10020330>.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, Chicago, v. 27, n. 2, p. 209-220, 1967.

MÓGOR, A. F.; CÂMARA, F. L. A. Produção de alface em sistema orgânico em sucessão a aveia preta, sobre palha, e diferentes coberturas do solo. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 239-245, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v8i3.9535>.

PICOLI, M. C. A. *et al.* Effect of sugarcane planting row directions on ALOS/PALSAR satellite images. **GIScience & Remote Sensing**, Basel, v. 50, n. 3, p. 349-357, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1080/15481603.2013.808457>.

RISSO, J. *et al.* Índices de vegetação Modis aplicados na discriminação de áreas de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1317-1326, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900017>.

ROCHA, D. S.; REED, E. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância para a saúde. **Estudos, vida e saúde**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 76-85, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.18224/est.v41i1.3366>.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. da. Melhoramento de alface. *In*: NICK, C.; BORÉM, A. (ed.). **Melhoramento de hortaliças**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2016. cap. 3, p. 95-127.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>.

SALA, F. C. *et al.* Reação de cultivares de alface a *Thielaviopsis basicola*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 398-400, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362008000300021>.

SANTI, A. L. *et al.* Análise de componentes principais de atributos químicos e físicos do solo limitantes à produtividade de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1346-1357, 2012.

SANTOS, C. L. do *et al.* Desempenho de cultivares de alface tipo crespa sob altas temperaturas em Cáceres-MT. **Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 3, p. 87-98, 2009.

SILVA, S.; MURA, J. **Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2010. 1256 p.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, Índia, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.

SISTEMA DE MONITORAMENTO METEOROLÓGICO - Cooxupé (Monte Carmelo). Disponível em: <http://sismet.cooxupe.com.br:9000/dados/estacao/pesquisarDados/>. Acesso em: 14 set. 2018.

SOUSA, C. S. *et al.* Divergência genética entre genótipos de alface por meio de marcadores AFLP. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052007000100002>.

SOUSA, C. A. F. *et al.* Nova abordagem para a fenotipagem de plantas: conceitos, ferramentas e perspectivas. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v. 8, p. 660-672, 2015. Número especial do IV SMUD. DOI: <https://doi.org/10.26848/rbgf.v8.0.p660-672>.

SUINAGA, F. A. *et al.* **Métodos de avaliação do florescimento precoce e identificação de fontes de tolerância ao calor em cultivares de alface do grupo varietal crespa**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. 4 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalias/busca-de-publicacoes/-/publicacao/956376/metodos-de-avaliacao-do-florescimento-precoce-e-identificacao-de-fontes-de-tolerancia-ao-calor-em-cultivares-de-alface-do-grupo-varietal>. Acesso em: 02 jan. 2019.

VERGARA-DÍAZ, O. *et al.* A novel remote sensing approach for prediction of maize yield under different conditions of nitrogen fertilization. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, n. 666, p. 1-13, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00666>.

- VICENTE, L. E. *et al.* NDVI temporal series from the SPOT vegetation sensor and SAM algorithm applied to sugarcane mapping. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1337-1345, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900019>.
- VICTORIA, D. de C. *et al.* Cropland area estimates using modis NDVI time series in the state of Mato Grosso, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 9, p. 1270-1278, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900012>.
- WALTER, A.; LIEBISCH, F.; HUND, A. Plant phenotyping: from bean weighing to image analysis. **Plant Methods**, London, v. 11, n. 14, p. 1-11, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-015-0056-8>.
- YANG, G. *et al.* Unmanned Aerial Vehicle Remote Sensing for Field-Based Crop Phenotyping: Current Status and Perspectives. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, n. 1111, p. 1-26, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01111>.
- ZAMAN-ALLAH, M. *et al.* Unmanned aerial platform-based multi-spectral imaging for field phenotyping of maize. **Plant Methods**, London, v. 11, n. 35, p. 1-10, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-015-0078-2>.
- ZHANG, Y. Z. *et al.* Transcriptome analysis and anthocyanin-related genes in red leaf lettuce. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2016. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr.15017023>.
- ZIECH, A. R. D. *et al.* Cultivo de alface e m diferentes manejos de cobertura do solo e fontes de adubação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 9, p. 948-954, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v18n09p948-954>.

## **CAPÍTULO III**

### **SELEÇÃO DE LINHAGENS DE ALFACE CRESPA BIOFORTIFICADA COM BASE EM ÍNDICES NÃO PARAMÉTRICOS**

## SELEÇÃO DE LINHAGENS DE ALFACE CRESPA BIOFORTIFICADA COM BASE EM ÍNDICES NÃO PARAMÉTRICOS

### RESUMO

Índices de seleção podem ser utilizados para a análise simultânea de caracteres, aumentando a eficiência do melhoramento na escolha de genótipos que atendam às exigências do mercado e do consumidor. Apesar de ser uma técnica aplicada em diversas culturas, estudos em linhagens de alface são escassos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de índices de seleção na escolha de linhagens de alface crespa biofortificada com características agronômicas favoráveis. O experimento foi realizado em 2018, na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Monte Carmelo (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" O; 873 m de altitude). O delineamento foi em blocos completos casualizados com três repetições e 25 genótipos de alface do tipo crespa (22 linhagens provenientes da hibridação entre as cultivares Pira 72 *versus* Uberlândia 10000 e 3 cultivares comerciais – cv. Grand Rapids, UFU-Biofort e Uberlândia 10000). As linhagens fazem parte do programa de melhoramento de alface biofortificada da UFU. Foram avaliados a massa verde total (g), o diâmetro do caule (cm), número de folhas comerciais, diâmetro da planta (cm), a temperatura foliar (°C), o índice SPAD, teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca) e o pendoamento (dias após a semeadura). Para as estimativas dos ganhos de seleção, foram selecionados 10 genótipos com as metodologias de seleção direta e indireta, índice clássico, índice da soma de “ranks”, índice base de Willians e o índice multiplicativo. Os índices da soma de “ranks” de Mulamba e Mock e o multiplicativo de Subandi permitiram os maiores ganhos totais para as características analisadas em alface crespa biofortificada. Esses índices foram similares na seleção dos genótipos.

**Palavras-chave:** Alimentos biofortificados, *Lactuca sativa* L., ganhos de seleção, índices de seleção.

## SELECTION OF BIOFORTIFIED LEAF LETTUCE LINES BASED ON NONPARAMETRIC INDICES

### ABSTRACT

Selection indices can be applied to simultaneous analysis of traits and increase the efficiency of breeding in choosing the genotypes that meet the needs of the market and consumers. This technique is applied to several cultures, but few studies have investigated lettuce lines. For this reason, this study assessed the efficiency of selection indices in choosing biofortified leaf lettuce lines with desirable agronomic traits. The experiment was carried out at the Vegetable Experiment Station of the Federal University of Uberlândia (UFU), Monte Carmelo campus, in 2018. The experiment was designed in full randomized blocks of three repetitions with 25 leaf lettuce genotypes (22 hybrid lines from cultivars Pira 72 *versus* Uberlândia 10000 and 3 commercial cultivars –Grand Rapids, UFU-Biofort, and Uberlândia 10000). The lines are part of UFU's biofortified lettuce breeding program and were assessed for the total green mass (g), stem diameter (cm), commercial leaves count, plant diameter (cm), foliar temperature (°C), SPAD index, anthocyanin content (mg of cyanidin-3-glycoside 100g<sup>-1</sup> fresh dough), and bolting (days after sowing). To estimate selection gains, 10 genotypes were assessed using direct and indirect selection, the traditional index, the rank summation index, the Willians' base index, and the multiplicative index. Mulamba and Mock's rank summation index and Subandi's multiplicative index provided the highest total gains for the traits assessed in biofortified leaf lettuce. Both indices were similar in selecting genotypes.

**Keywords:** Biofortified foods, *Lactuca sativa* L., selection gains, selection indexes.

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo. O consumo *per capita* de alface é inferior apenas ao de batata (BRZEZINSKI et al., 2017; KIM et al., 2018). A alface do tipo crespa é a mais importante economicamente quando comparada aos tipos americana, lisa e romana (SALA; COSTA, 2012; KIM et al., 2018).

A alface é uma fonte rica de nutrientes como carotenoides, ácido ascórbico e compostos fenólicos (LÓPEZ et al., 2014). Os carotenoides auxiliam na prevenção de várias doenças associadas ao estresse oxidativo, sendo precursores da vitamina A (ROCHA; REED, 2014; CASSETARI et al., 2015). A alteração nos hábitos alimentares da população, a busca por alimentação saudável e a maior qualidade de vida afetam diretamente a demanda do mercado por uma alface de melhor qualidade nutricional.

Pesquisas visando a obtenção de alfaces biofortificadas ainda são incipientes (CASSETARI et al., 2015; JACINTO et al., 2019; SOUSA et al., 2019; SILVEIRA et al., 2019). Um dos maiores entraves está em conseguir manter, de forma viável, em um mesmo indivíduo, boas características agronômicas e altos teores de carotenoides (MACIEL et al., 2019b). Majoritariamente, a seleção em linhagens de alface tem sido realizada por meio de análise univariada (SON; OH, 2012; RESENDE et al., 2017; TEZZA; MINUZZI, 2019), sendo o produto final superior em apenas uma ou poucas características. Diante dessa limitação, faz-se necessário avaliar possíveis metodologias otimizadoras capazes de aumentar a eficiência durante a seleção. Alternativamente, uma possibilidade para aumentar a chance de êxito em programas de melhoramento é praticar a seleção simultânea de um grupo de caracteres de relevância econômica, aplicando-se índices de seleção (VASCONCELOS et al., 2010; TERRES et al., 2015; BIZARI et al., 2017; TASSONE et al., 2019). Esses índices possibilitam a combinação linear ótima em um conjunto de informações provenientes da unidade experimental, permitindo realizar com eficiência a seleção simultânea de caracteres (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014).

A utilização de índices não paramétricos pode auxiliar na seleção de linhagens de alface aliando boas características agronômicas e maior qualidade nutricional. Diversas pesquisas comprovaram a eficiência da aplicação desses índices na seleção de indivíduos superiores em programas de melhoramento genético (CRUZ, 2013; TERRES et al., 2015; BIZARI et al., 2017; CANDIDO et al., 2017; VIEIRA et al., 2017), exceto

em alface. Dessa forma, objetivou-se, com este trabalho, avaliar a eficiência de diferentes índices de seleção para selecionar linhagens de alface crespa biofortificada, do banco de germoplasma da Universidade Federal de Uberlândia, com boas características agronômicas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em 2018, na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" O; 873 m de altitude). As temperaturas mínima e máxima, no período em que foi desenvolvido o experimento, foram, respectivamente, de 16,23 °C e 27,49 °C, com umidade relativa média de 75,47% e precipitação média de 1,27 mm. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições.

Foram avaliadas 22 linhagens de alface provenientes da hibridação entre as cultivares Pira 72 (Belíssima) *versus* Uberlândia 10000 (rica em carotenoide) (Souza et al., 2007), análise seguida de seis sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 e 2017. O método de melhoramento utilizado para obtenção das 22 linhagens foi o genealógico. Essas linhagens fazem parte do Programa de Melhoramento Genético de Alface Biofortificada da UFU, sendo toda a genealogia armazenada no Software "BG  $\alpha$  BIOFORT", número de registro BR512019002403-6 no INPI (MACIEL et al., 2019a). Foram utilizadas, como testemunhas, três cultivares: cv. Grand Rapids, UFU-Biofort e Uberlândia 10000 (Souza et al., 2007), totalizando 25 tratamentos.

A semeadura foi realizada em 28 de março de 2018. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido, com 200 células contendo substrato comercial à base de fibra de coco. Após a semeadura, as bandejas foram alocadas em casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5 m x 6 m e pé direito de 3,5 m, coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioleta, e cortinas laterais de tela branca antiafídeos. As mudas de alface foram transplantadas para canteiros definitivos em campo aos 29 dias após a semeadura. Os canteiros de 1,30 m de largura foram formados utilizando o rotoencanteirador.

O solo da área experimental apresentou as seguintes características: pH (H<sub>2</sub>O) = 5,9; P disponível = 30,1 mg dm<sup>-3</sup>; K = 0,22 cmolc dm<sup>-3</sup>; Ca = 2,8 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg = 1,0 cmolc dm<sup>-3</sup>; H + Al trocável = 3,40 cmolc dm<sup>-3</sup>; matéria orgânica = 4,2 dag Kg<sup>-1</sup>; Índice SMP = 3,40; Alumínio = 0,0 cmolc dm<sup>-3</sup>; CTC pH 7,0 = 7,42 cmolc dm<sup>-3</sup>; V (%) = 54;

m (%) = 0%; Cobre = 2,3 mg dm<sup>-3</sup>; Zinco = 6,6 mg dm<sup>-3</sup> e Manganês = 6,6 mg dm<sup>-3</sup>. Os tratos culturais foram realizados conforme preconizado para o cultivo de alface (FILGUEIRA, 2013).

As parcelas do experimento foram constituídas por 16 plantas, distribuídas em quatro fileiras por canteiro em espaçamento de 0,25 m x 0,25 m. Foram avaliadas as oito plantas centrais da parcela. A colheita das plantas foi realizada aos 35 dias após o transplântio, sendo caracterizados a massa verde total (g), o diâmetro do caule (cm), número de folhas, diâmetro da planta (cm), a temperatura foliar (°C), o índice SPAD (*Soil Plant Analysis Development*), teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca) e o pendoamento (dias após a semeadura).

## 2.1 Características analisadas

A massa verde total (MV) foi obtida por meio da pesagem de todas as folhas externas. O diâmetro do caule (DC) foi avaliado com auxílio de um paquímetro. O número de folhas comerciais (NF) foi determinado pela contagem de folhas superiores a 5 cm de comprimento. O diâmetro da planta (DP) foi avaliado e expresso em centímetros. A temperatura foliar (TF) foi obtida a partir do posicionamento de um termômetro infravermelho (modelo 4000.4GL, Everest Interscience, Tucson, AZ, USA), sendo amostradas as folhas superiores, procurando-se apontar o sensor na posição central da superfície foliar.

Os teores de antocianinas totais (ANT) foram determinados pelo método descrito por Francis (1982). A concentração de pigmentos antociânicos foi efetuada com base na absorvância, segundo a equação:  $At = \frac{(Abs*f)}{\epsilon}$ , em que: At= antocianinas (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca); Abs= absorvância em comprimento de onda de 535 nm; f= fator de diluição;  $\epsilon$ = coeficiente de absorvância molar da cianidina (98,2).

O índice SPAD (Cassetari et al., 2015) foi obtido pelo valor médio dos dados provenientes das quatro plantas centrais de cada parcela. Foi utilizado o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030. Também foi realizada a contagem dos dias para emissão do pendão floral (pendoamento da planta em dias após semeadura).

## 2.2 Análise estatística

Foi realizada a análise de variância ( $F = 0,05$ ), obtendo-se os quadrados médios das características avaliadas (QMG) e o coeficiente de variação (CV). Também foram determinados o coeficiente de variação genética (CVg), a relação entre o coeficiente de variação genética (CVg) e o ambiental (CVe) –  $CVg/CVe$ , e o coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ ) para cada variável analisada no experimento. O  $H^2$  foi determinado conforme o seguinte estimador:

$$H^2 = \frac{\hat{\sigma}_g}{QMG/r} \qquad \hat{\sigma}_g = \left( \frac{QMG - QMR}{r} \right)$$

em que:  $H^2$  = coeficiente de determinação genotípica;  $\hat{\sigma}_g$  = componente quadrático genético; QMG = quadrado médio de genótipos; QMR = quadrado médio do resíduo e  $r$  = número de repetições.

A correlação fenotípica ( $r_f$ ), a correlação genotípica ( $r_g$ ) e os índices de seleção foram determinados para os caracteres que apresentaram resultado significativo na análise de variância. As correlações fenotípicas e genotípicas foram determinadas, respectivamente, por meio dos estimadores:

$$r_f = \frac{PMG_{xy}}{\sqrt{QMG_x * QMG_y}} \qquad r_g = \frac{\hat{\sigma}_{gxy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{gx}^2 * \hat{\sigma}_{gy}^2}}$$

em que: PMG= produto médio associado aos genótipos, QMG= quadrado médio dos genótipos, X e Y= caracteres analisados,  $\hat{\sigma}_{gxy}$ = estimador da covariância genotípica entre os caracteres X e Y,  $\hat{\sigma}_{gx}^2$  e  $\hat{\sigma}_{gy}^2$ = estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres X e Y, respectivamente (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

Para as estimativas dos ganhos de seleção, foram selecionados 10 genótipos (40% dos genótipos estudados) com as metodologias de seleção direta e indireta (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012); índice clássico, proposto por Smith (1936) e Hazel (1943) (SH); índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock (1978) (MM), índice base de Willians (1962) (W) e o índice multiplicativo (Subandi et al., 1973). O critério de seleção utilizado para todos os índices de seleção analisados foi aumentar a MV, o DC, NF, SPAD e PEND e reduzir DP. O peso econômico adotado foi o coeficiente de variação genética de cada variável, conforme recomendado por Cruz, Regazzi e Carneiro (2012). As análises estatísticas foram realizadas no programa Genes v. 2015.5.0 (CRUZ, 2013).

O ganho esperado pela seleção direta (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012) no  $i$ -ésimo caráter ( $GS_i$ ) pode ser estimado pela equação:

$$GS_i = (X_{si} - X_{oi})h_i^2 = DS_i h_i^2$$

em que:  $X_{si}$  = média das linhagens selecionadas para o caráter  $i$ ;  $X_{oi}$  = média original da população;  $DS_i$  = diferencial de seleção realizado na população;  $h_i^2$  = herdabilidade do caráter  $i$ .

O ganho indireto (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012) no caráter  $j$ , pela seleção no caráter  $i$ , foi dado por:

$$GS_{j(i)} = DS_{j(i)} h_i^2$$

em que:  $DS_{j(i)}$  = diferencial de seleção indireto obtido por meio da média do caráter dos indivíduos cujas superioridades foram evidenciadas com base em outro caráter, sobre o qual se pratica a seleção direta.

O índice clássico proposto por Smith e Hazel (SMITH, 1936; HAZEL, 1943) foi determinado pela combinação linear realizada entre os caracteres analisados. Esse foi estimado pelo índice de seleção (I) e o agregado genotípico (H) descrito a seguir:

$$I = b_1 y_1 + b_2 y_2 + \dots + b_n y_n = \sum_{i=1}^n b_i y_i = y' b$$

$$H = a_1 g_1 + a_2 g_2 + \dots + a_n g_n = \sum_{i=1}^n a_i g_i = g' a$$

Em que:  $n$ : número de caracteres analisados;

$b$ : vetor de dimensão  $1 \times n$  dos coeficientes de ponderação do índice de seleção a ser estimado;

$y'$ : matriz de dimensão  $n \times p$  de valores fenotípicos dos caracteres;

$a$ : é o vetor de dimensão  $1 \times n$  de pesos econômicos previamente estabelecidos;

$g$ : matriz de dimensão  $n \times p$  de valores genéticos desconhecidos dos  $n$  caracteres considerados;

$p$ : número de famílias ou progênies analisadas.

A matriz de dimensão  $n \times n$  de variâncias e covariâncias fenotípicas é representada por  $P$ . Já a matriz de dimensão  $n \times n$  de covariâncias genéticas entre os caracteres é dada por  $G$ . O vetor  $b$  é estimado por  $b = P^{-1}Ga$ , sendo  $P^{-1}$  a inversa da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas entre os caracteres. O ganho esperado para o caráter  $j$  foi calculado por:

$$\Delta g_{j(i)} = DS_{j(i)} h_j^2$$

em que  $\Delta g_{j(I)} = g_{j(I)}$ : ganho esperado para o caráter  $j$ , com a seleção baseada no índice  $I$ ;  $DS_{j(I)}$ : diferencial de seleção do caráter  $j$ , com a seleção baseada no índice  $I$ ; e  $h_j^2$ : herdabilidade do caráter  $j$ .

O índice baseado na soma de ranks (MULAMBA; MOCK, 1978) não precisa das estimativas de variâncias e covariâncias fenotípicas e genotípicas, tampouco da atribuição de pesos econômicos aos caracteres estudados (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). Esse índice organiza os genótipos de forma hierárquica, pela atribuição de valores absolutos mais elevados àqueles de melhor desempenho. Esse processo é realizado para cada característica analisada. Posteriormente, é efetuada a soma das ordens de cada genótipo referente a cada caráter estudado, resultando no índice de seleção descrito abaixo:

$$I = r_1 + r_2 + \dots + r_n$$

sendo  $I$  o valor do índice para determinado indivíduo ou família,  $r_j$  é a classificação (rank) de um indivíduo em relação à  $j$ -ésima variável e  $n$  representa o número de variáveis consideradas no índice. O método permite que sejam atribuídos pesos diferentes, conforme especificado pelo melhorista, para ordenar a classificação das variáveis. Dessa forma, os pesos econômicos foram dados por:

$$I = p_1 r_1 + p_2 r_2 + \dots + p_j r_n$$

em que  $p_j$ : peso econômico atribuído ao  $j$ -ésimo caráter.

O índice base de Willians (1962) é estabelecido pela combinação linear dos valores fenotípicos médios dos caracteres, os quais são ponderados pelos respectivos pesos econômicos. O índice é dado por:

$$I = a_1 y_1 + a_2 y_2 + \dots + a_n y_n = \sum_{i=1}^n a_i y_i = y'a$$

em que  $y$  são as médias e  $a$  são os pesos econômicos dos caracteres analisados.

No índice multiplicativo (SUBANDI et al., 1973), é pressuposto que o índice seja diretamente proporcional à variável analisada, ou inversamente, conforme os critérios do melhorista. O índice é determinado por:

$$I_{Ei} = \log \prod_{j=1}^m (X_{ij} - K_j) = \log[(X_{i1} - K_1)(X_{i2} - K_2) \dots (X_{in} - K_n)]$$

em que  $I_{Ei}$  representa o índice multiplicativo;  $X_{ij}$  corresponde à média do caráter  $j$  mensurado no genótipo  $i$ ;  $K_j$  denota o menor valor selecionável:

$\left[ K_j = \frac{n(\text{mín.}X_{ij}) - \text{máx.}X_{ij}}{n-1} \right]$ ;  $n$  equivale ao número de genótipos;  $\text{mín.}X_{ij}$  e  $\text{máx.}X_{ij}$  correspondem, respectivamente, à menor e à maior média do caráter  $j$ .

Para o índice da distância genótipo-ideótipo (Cruz, 2006), foram estimados os valores de média, máximo e mínimo para cada variável. Considerou-se  $X_{ij}$  como o valor fenotípico médio do  $i$ -ésimo genótipo em relação à  $j$ -ésima característica. O valor  $Y_{ij}$  representa o valor fenotípico médio transformado e  $C_j$  é uma constante relativa à depreciação da média do genótipo. Dessa forma, o  $LI_j$  refere-se ao limite inferior, relativo à característica  $j$ , a ser apresentado pelo genótipo,  $LS_j$  é o limite superior a ser apresentado pelo genótipo e  $VO_j$  consiste no valor ótimo a ser apresentado pelo genótipo, sob seleção.

$$\text{Se } \begin{cases} LI_j < X_{ij} < LS_j \rightarrow Y_{ij} = X_{ij} \\ X_{ij} < LI_j \rightarrow Y_{ij} = X_{ij} + VO_j - LI_j - C_j \\ X_{ij} > LS_j \rightarrow Y_{ij} = X_{ij} + VO_j - LS_j + C_j \end{cases}$$

Na metodologia, considerou-se  $C_j = LS_j - LI_j$ . O valor  $C_j$  certificou que qualquer resultado de  $X_{ij}$  dentro do intervalo de variação em torno do ótimo resultasse em um valor de  $Y_{ij}$  com magnitude próxima do valor ótimo ( $VO_j$ ). A transformação  $X_{ij}$  foi realizada visando reduzir os valores fenotípicos fora do intervalo. Os valores de  $Y_{ij}$  obtidos por transformação foram padronizados e ponderados pelos pesos atribuídos a cada característica, obtendo os valores  $y_{ij}$ , conforme descrito abaixo:

$$y_{ij} = \sqrt{a_j} \frac{y_{ij}}{S(y_j)}$$

em que  $S(y_j)$ : desvio-padrão dos valores fenotípicos médios obtidos por meio da transformação;  $a_j$ : peso ou valor econômico da característica. Também foi preciso a padronização e ponderação de  $VO_j$  conforme indicado:  $VO_{ij} = \sqrt{a_j} \frac{VO_j}{S(y_j)}$ . Foram calculados os valores do índice (DGI) expressos pelas distâncias entre os genótipos e o ideótipo, conforme especificado:  $I_{DGI} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{j=1}^n (y_{ij} - vo_j)^2}$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada variabilidade genética entre os genótipos de alface do tipo crespa biofortificada para os caracteres MV, DC, NF, DP, SPAD e PEND ao nível de 1% pelo

teste F (Tabela 1), demonstrando a possibilidade de selecionar linhagens superiores. Não foi possível detectar diferença significativa para as características de TF e ANT. Esse resultado deu-se provavelmente devido aos genótipos estarem submetidos a uma mesma condição ambiental. Steidle Neto et al. (2017) encontraram diferentes teores de ANT em genótipos de alface cultivados em diferentes ambientes.

TABELA 1 – Quadrados médios, coeficientes de variância e parâmetros genéticos de variáveis analisadas em linhagens de alface.

Variáveis <sup>1</sup>	QMG <sup>2</sup>	H <sup>2</sup> (%)	CVg (%)	CVg/CVe	CV (%)
MV	7759,92 <sup>**</sup>	82,76	23,86	1,27	18,86
DC	0,15 <sup>*</sup>	51,00	7,06	0,59	11,99
NF	50,82 <sup>**</sup>	91,42	18,42	1,88	9,77
DP	14,52 <sup>**</sup>	72,77	7,54	0,94	7,99
TF	2,30 <sup>ns</sup>	-	-	-	8,40
SPAD	48,26 <sup>**</sup>	95,96	17,57	2,81	6,24
ANT	26,55 <sup>ns</sup>	-	-	-	28,84
PEND	410,23 <sup>**</sup>	92,60	13,81	2,04	6,76

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); DC= diâmetro do caule (cm); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); TF= temperatura foliar (°C); SPAD= Índice SPAD; ANT= teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca); PEND= pendoamento (dias após a semeadura). <sup>2</sup>QMG: quadrado médio dos genótipos; H<sup>2</sup>: coeficiente de determinação genotípica; CVg: coeficiente de variação genética; CVe: coeficiente de variação experimental; CV: coeficiente de variação geral; \*\* e \* significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F; ns: não significativo.

Os coeficientes de variação (CV) oscilaram entre valores de 6,24 para SPAD e 28,84 para ANT. A distribuição do CV possibilita definir faixas de valores que direcionam o pesquisador quanto à credibilidade e validade dos experimentos realizados (STORCK et al., 2011). Em experimentos de campo, o valor de CV inferior a 10% é considerado baixo, entre 10% e 20%, médio, entre 20% e 30%, alto, e superior a 30% é visto como muito alto (PIMENTEL-GOMES, 2009). No presente trabalho, 62,5% das variáveis apresentaram baixo CV, demonstrando maior precisão experimental e menor valor do erro residual na análise de variância.

O coeficiente de variação genética (CVg) teve valores entre 7,06% observados em DC e 23,86% caracterizados em MV (Tabela 1). O CVg é um parâmetro importante,

possibilitando conhecer a magnitude da variabilidade genética existente na população para todos os caracteres em análise (LEITE et al., 2015). Souza et al. (2008), caracterizando progênies de alface tolerantes ao calor, observaram valores de CVg de 6,39% para DP, 6,97% para NF, 13,45% para peso fresco das folhas e 25,94% para PEND. No presente trabalho, os valores de CVg identificados foram: DP = 7,54%; PEND = 13,81% e NF = 18,42% (Tabela 1). Essa diferença nos valores de CVg de ambos estudos pode ser atribuída aos genótipos e às condições em que o experimento foi conduzido.

O CVg não permite uma estimativa completa das variações herdáveis; portanto, é necessário que haja uma estimativa do coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ ) ou da herdabilidade do caráter (THAKUR; KUMAR; KUMAR, 2016). O conhecimento do  $H^2$  possibilita realizar uma estimativa do ganho genético a ser alcançado e estabelece a melhor estratégia para ser utilizada no programa de melhoramento genético (BALDISSERA et al., 2014). Os valores de  $H^2$  variam conforme as variáveis analisadas, sendo considerados altos os resultados superiores a 70% (RAMALHO et al., 2012).

Os maiores valores de  $H^2$  foram obtidos para os caracteres SPAD, PEND, NF e MV, sendo, respectivamente, de 95,96%, 92,60%, 91,42% e 82,76%, considerados altos. Queiroz et al. (2014) e Silva et al. (2019) também encontraram altos valores de herdabilidade (95,65% e 96%, respectivamente) para número de folhas. Esses resultados sugerem perspectiva de sucesso pela seleção fenotípica, o que pode ser confirmado por meio da relação CVg/CVe observados nas mesmas variáveis, que apresentaram valores superiores a um (Tabela 1). Quando o resultado da razão CVg/CVe for maior ou igual a um, a variação genética disponível é a principal responsável pela variação estimada dos dados experimentais (LEITE et al., 2015).

As correlações entre caracteres contribuem para a compreensão da ação gênica. Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que a correlação genotípica foi superior à fenotípica. Os caracteres que apresentaram correlação genotípica positiva foram MV e DP (0,80), NF e PEND (0,48) e SPAD e PEND (0,44) (Tabela 2).

TABELA 2 – Correlações genotípicas (G) e fenotípicas (F) em seis caracteres avaliados em linhagens alface.

Caráter <sup>1</sup>		MV	DC	NF	DP	SPAD	PEND
1	G	1,00	0,48	-0,12	0,80 <sup>++</sup>	-0,29	-0,50 <sup>+</sup>
	F	1,00	0,38	-0,03	0,77 <sup>**</sup>	-0,26	-0,47 <sup>*</sup>
2	G		1,00	0,15	0,50	-0,16	-0,30
	F		1,00	0,10	0,38	-0,15	-0,18
3	G			1,00	-0,02	0,30	0,48 <sup>+</sup>
	F			1,00	0,05	0,27	0,43 <sup>*</sup>
4	G				1,00	-0,47 <sup>+</sup>	-0,57 <sup>++</sup>
	F				1,00	-0,40 <sup>*</sup>	-0,49 <sup>*</sup>
5	G					1,00	0,44 <sup>+</sup>
	F					1,00	0,39 <sup>*</sup>
6	G						1,00
	F						1,00

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); DC= diâmetro do caule (cm); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); SPAD= Índice SPAD; PEND= pendoamento (dias após a semeadura). <sup>\*\*</sup>, <sup>\*</sup> correlação fenotípica significativa respectivamente a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t. <sup>++</sup>, <sup>+</sup> Correlação genotípica significativa respectivamente a 1 e 5%, pelo método de *bootstrap* com 5000 simulações.

A correlação genotípica positiva entre NF e PEND e SPAD e PEND pode facilitar o processo de seleção, pois a escolha de plantas com maior NF e índice SPAD permitirá a obtenção de plantas mais tolerantes ao pendoamento precoce. A diferença mínima entre as estimativas de correlação genotípica e fenotípica fornece o conhecimento do quanto os fatores ambientais influenciam as características analisadas (THAKUR et al., 2016). Dessa forma, a diferença entre os valores de correlação genotípica e correlação fenotípica apresentada pelas variáveis analisadas neste estudo indica que os fatores ambientais têm menor influência na expressão desses caracteres. A seleção com base nesses caracteres certamente afetará a melhoria das características agrônomicas desejáveis em alface. Resultados semelhantes foram obtidos em outros trabalhos, como Souza et al. (2008) e Thakur et al. (2016), que obtiveram valores superiores para correlação genotípica, comparada ao resultado da correlação fenotípica entre caracteres.

A seleção direta consiste na obtenção de ganhos máximos em um único caráter sobre o qual o melhorista pratica a seleção (CRUZ, 2013; CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). No presente estudo, a seleção direta promoveu maiores ganhos individuais quando comparados aos da seleção indireta (Tabela 3).

TABELA 3 – Estimativas de ganhos de seleção (GS%) obtidos para seis caracteres avaliados, pela seleção direta (valores em negrito) e indireta em genótipos de alface.

Variáveis <sup>1</sup>	GS (%)					
	MV	DC	NF	DP	SPAD	PEND
MV	<b>21,84</b>	10,6	0,03	-12,36	-1,42	-12,15
DC	1,34	<b>4,90</b>	-0,21	-0,96	0,64	-1,39
NF	1,45	1,59	<b>18,17</b>	-2,30	8,40	9,25
DP	4,25	1,68	-0,06	<b>-5,27</b>	-1,21	-2,42
SPAD	-3,17	-1,69	7,64	6,04	<b>16,15</b>	5,46
PEND	-4,39	-2,04	4,48	3,38	5,88	<b>12,09</b>
Total	21,32	15,04	30,05	-11,47	28,44	10,84

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); DC= diâmetro do caule (cm); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); SPAD= Índice SPAD; PEND= pendoamento (dias após a semeadura). Critério favorável de seleção: aumento para MV, DC, NF, SPAD e PEND e redução para DP. Valores em negrito correspondem ao ganho pela seleção direta.

Os maiores ganhos obtidos com a seleção direta foram para as variáveis MV (21,84%), NF (18,17%), SPAD (16,15%) e PEND (12,09%). O caráter DC apresentou o menor ganho individual (4,90%) pela seleção direta (Tabela 3), o que condiz com o seu baixo CVg (7,06%) (Tabela 1). O maior DC está associado ao aumento de resistência da planta ao acamamento (CHEN et al., 2014). O índice SPAD está diretamente associado com o teor de clorofila existente nas folhas das plantas, que é positivamente relacionado à capacidade fotossintética da planta (KLOOSTER et al., 2012; SON; OH, 2012; CASSETARI et al., 2015), refletindo em aumento de produtividade.

A seleção direta para NF promoveu ganhos indiretos para MV (1,45%), DC (1,59%), SPAD (8,40%), aumentou o tempo para PEND (9,25%) e reduziu o DP (-2,30%) (Tabela 3). Essa foi a melhor estratégia de seleção indireta, pois reduziu o DP sem afetar de forma negativa as demais características. Existe uma tendência, no Brasil, similar ao que já é praticado nos Estados Unidos e na Europa, de se consumir as folhas

de alface embaladas e processadas (SALA; COSTA, 2012). Assim, plantas que possuem maior NF comerciais são desejáveis para atender tal demanda (SUINAGA et al., 2013).

O PEND precoce induzido pelas altas temperaturas do período de verão no Brasil aumenta as perdas de alface, refletindo no aumento de preço e na redução da oferta do produto no mercado. A comercialização de alface é realizada normalmente em caixas de plástico ou de madeira, praticamente sem sistema de refrigeração, para manter a qualidade do produto (SALA; COSTA, 2012). Assim, há preferência pelas plantas com menor DP, visando evitar danos e perdas na qualidade do produto durante o processo de acondicionamento.

Os índices de seleção, diferentemente da seleção direta, possibilitam realizar a seleção simultânea por meio da combinação de vários caracteres, aumentando a chance de êxito no programa de melhoramento (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). O índice de Mulamba e Mock apresentou resultado idêntico ao índice multiplicativo de Subandi. Estes demonstraram os maiores ganhos para NF (13,68%), índice SPAD (12,04%), PEND (6,11%) e redução no ganho para DP (-1,44%). Esses dois índices também foram responsáveis pelo maior valor de ganho total (30,42%) (Tabela 4), além de selecionarem os mesmos genótipos. A seleção direta para NF foi similar na escolha de 70% de genótipos (UFU-206#3#1#1; UFU-189#3#1#1; UFU-197#1#1; UFU-7#1#2#1; UFU-189#3#2#1; Uberlândia 10000 e UFU-189#3#4#1) elegidos pelos índices anteriores (Tabela 5).

TABELA 4 – Estimativas de ganhos de seleção (GS%) obtidos pelo índice clássico proposto por Smith (1936) e Hazel (1943) (SH), índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock (1978) (MM), índice base de Willians (1962) (W), índice multiplicativo de Subandi (1973) (M) e índice baseado na distância genótipo-ideótipo (Cruz, 2006) (GI) em 25 genótipos de alface.

Índice <sup>1</sup>	GS (%)						
	MV	DC	NF	DP	SPAD	PEND	Total
SH	21,84	1,34	1,45	4,25	-3,17	-4,39	21,32
MM	-1,07	1,10	13,68	-1,44	12,04	6,11	30,42
W	21,39	0,94	2,73	4,54	-0,15	-3,48	25,97
M	-1,07	1,10	13,68	-1,44	12,04	6,11	30,42
GI	-7,0	-1,74	-4,40	-1,61	-2,99	0,92	-16,82

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); DC= diâmetro do caule (cm); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); SPAD= Índice SPAD; PEND= pendoamento (dias após a semeadura).

Resultados semelhantes foram obtidos por Terres et al. (2015), ao estimarem os ganhos genéticos por meio de índices de seleção em populações híbridas de batata. Esses autores observaram que as estimativas dos ganhos totais foram superiores no índice de Mulamba e Mock e no índice multiplicativo de Subandi. Esses índices foram os que mais proporcionaram equilíbrio na distribuição de ganhos de seleção para os genótipos de alface avaliados no presente trabalho.

O índice SH apresentou o maior ganho para MV (21,84%) (Tabela 4), com valor idêntico ao encontrado por meio da seleção direta (Tabela 3). Em segundo lugar, o índice W promoveu o ganho para MV de 21,39%. Esses dois índices demonstraram o segundo e terceiro maiores ganhos totais, sendo 21,32% e 25,97%, respectivamente (Tabela 4). No entanto ambos índices apresentaram valores negativos de ganho para os caracteres SPAD (-3,17% para SH e -0,15% em W) e PEND (-4,39% em SH e -3,48 para W) (Tabela 4).

O índice SH selecionou 90% dos genótipos indicados pelo índice W (Tabela 5). A diferença foi observada na escolha do genótipo UFU-125#1#1#1 pelo índice SH, enquanto o genótipo UFU-189#3#2#1 foi selecionado pelo índice W.

TABELA 5 – Indicação dos dez genótipos superiores de alface pelo índice clássico proposto por Smith (1936) e Hazel (1943), índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock (1978), índice base de Willians (1962), índice multiplicativo de Subandi et al. (1973) (M) e índice baseado na distância genótipo-ideótipo (GI).

Índices de seleção	Genótipos de alface selecionados
Seleção direta para número de folhas comerciais	UFU-206#3#1#1; UFU-189#3#1#1; UFU-197#1#1; UFU-7#1#2#1; UFU-189#3#2#1; Uberlândia 10000; UFU-189#3#4#1; UFU-189#1#2#1; UFU-155#1#1#1; UFU-125#2#2#1
Smith (1936) e Hazel (1943)	Grand Rapids; Uberlândia 10000; UFU Biofort; UFU-155#1#1#1; UFU-155#1#2#1; UFU-206#1#5#1; UFU-206#3#1#1; UFU-206#1#6#1; UFU-7#1#2#1 e UFU-125#1#1#1
Willians (1962)	Grand Rapids; Uberlândia 10000; UFU Biofort; UFU-155#1#1#1; UFU-155#1#2#1; UFU-206#1#5#1; UFU-206#3#1#1; UFU-206#1#6#1; UFU-7#1#2#1 e UFU-189#3#2#1
Mulamba e Mock (1978)	UFU-206#3#1#1; UFU-189#3#1#1; UFU-197#1#1; UFU-7#1#2#1; UFU-189#3#2#1; Uberlândia 10000; UFU-189#3#4#1; UFU-197#2#2#1; UFU-189#1#2#1 e UFU-206#1#5#1
Subandi et al. (1973)	UFU-206#3#1#1; UFU-189#3#1#1; UFU-197#1#1; UFU-7#1#2#1; UFU-189#3#2#1; Uberlândia 10000; UFU-189#3#4#1; UFU-197#2#2#1; UFU-189#1#2#1 e UFU-206#1#5#1
Genótipo-ideótipo	UFU-7#1#2#1; UFU-125#1#1#1; UFU-189#3#2#1; UFU-206#1#6#1; UFU-189#3#1#1; UFU-199#3#1#1; UFU-206#1#4#1; UFU-120#1#1#1; UFU-206#1#1#1 e UFU-197#3#1#1

O índice base de Willians (1962) é equivalente ao índice clássico proposto por Smith e Hazel (1943), quando as variâncias e covariâncias fenotípicas forem determinadas predominantemente por fatores genéticos (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). Cândido et al. (2017), analisando os índices de Mulamba e Mock, Elston e Schwarzbach, em alface obtiveram ganhos positivos para as características analisadas por meio do primeiro índice aplicado. Esses autores associaram o resultado positivo obtido por meio do índice de Mulamba e Mock à sua forte correlação com os demais índices estudados e à facilidade em ser obtido. Este índice tem sido sugerido por outros autores (VASCONCELOS et al., 2010; TERRES et al., 2015; BIZARI et al. 2017).

O índice GI promoveu ganhos de seleção positivos somente para PEND (0,92%) (Tabela 4). Dos 10 genótipos selecionados, cinco (UFU-199#3#1#1; UFU-206#1#4#1; UFU-120#1#1#1; UFU-206#1#1#1 e UFU-197#3#1#1) não foram encontrados na seleção dos demais índices estudados neste trabalho. A linhagem de alface comum na

seleção de todos os índices foi a UFU-7#1#2#1 (Tabela 5). Isso mostra que, independentemente dos índices de seleção utilizados, a mesma linhagem foi selecionada. Vieira et al. (2016), trabalhando com híbridos de morango, também encontraram semelhança nos genótipos selecionados pelos índices da soma de “ranks” de Mulamba e Mock (1978), índice baseado na distância genótipo-ideótipo (Cruz, 2006) e no índice clássico proposto por Smith (1936) e Hazel (1943).

#### 4 CONCLUSÕES

1. Os índices da soma de “ranks” de Mulamba e Mock e o multiplicativo de Subandi permitiram os maiores ganhos totais para as características analisadas. Esses índices foram similares quanto aos genótipos selecionados.
2. A seleção direta para NF promoveu os maiores ganhos indiretos para SPAD e pendoamento, reduzindo o DP.

#### REFERÊNCIAS

- BALDISSERA, J. N. C. *et al.* Genetics factors related with the inheritance in autogamous plant populations. **Revista de Ciências Agroveterinárias = Journal of Agroveterinary Sciences**, Lages, v. 13, n. 2, p. 181-189, 2014.
- BIZARI, E. H. *et al.* Selection indices for agronomic traits in segregating populations of soybean. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 110-117, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20170012>.
- BRZEZINSKI, C. R. *et al.* Produção de cultivares de alface americana sob dois sistemas de cultivo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 64, n. 1, p. 83-89, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201764010012>.
- CANDIDO, W. S. *et al.* Selection of loose-leaf lettuce breeding lines based on non-parametric indexes. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 16, n. 40, p. 1984-1989, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16176>.
- CASSETARI, L. S. *et al.*  $\beta$ -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1083, p. 469-474, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.60>.
- CHEN, C. C. *et al.* Effects of light quality on the growth, development and metabolism of rice seedlings (*Oryza sativa* L.). **Research Journal of Biotechnology**, Indore, v. 9, n. 4, p. 15-24, 2014.

- CRUZ, C. D. **Programa GENES**: biometria. 1. ed. Viçosa: UFV, 2006. 382 p.
- CRUZ, C. D. Genes: A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2014. 668 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2012. 514 p.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. rev. ampl. Viçosa: UFV, 2013. 421 p.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. *In*: MARKAKIS, P (ed.). **Anthocyanins as food colors**. Cambridge: Academic Press, 1982. cap. 7, p. 181-206. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50011-1>.
- HAZEL, L. N. The genetic basis for constructing selection indexes. **Genetics**, Cambridge, v. 28, n. 6, p. 476-490, 1943.
- JACINTO, A. C. P. *et al.* Genetic diversity, agronomic potential and reaction to downy mildew in genotypes of biofortified mini lettuce. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 1, p. 1-10, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039939>.
- KIM, D. E. *et al.* Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential. **Food Research International**, Ottawa, v. 105, 361-370, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.028>.
- KLOOSTER, W. S. *et al.* Growth and physiology of deciduous shade trees in response to controlled-release fertilizer. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 135, 71-79, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.009>.
- LEITE, W. D. S. *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres agrônômicos em genótipos de soja. **Nativa**, Sinop, v. 3, n. 4, p. 241-245, 2015. DOI: <https://doi.org/10.14583/2318-7670.v03n04a03>.
- LÓPEZ, A. *et al.* Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: Comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gem and Mini Romaine) types. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 33, n. 1, p. 39-48, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.10.001>.
- MACIEL, G. M. *et al.* Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, Enschede, v. 81, p. 154-160, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.016>.

- MACIEL, G. M. *et al.* Programa de computador BG a Biofort. Depositante: Universidade Federal de Uberlândia. BR512019002403-6. Depósito: 01 fev. 2019. Concessão: 23 out. 2019a.
- MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Citology**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 40-51, 1978.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: Fealq, 2009. 451 p.
- QUEIROZ, J. P. S. *et al.* Estabilidade fenotípica de alfaces em diferentes épocas e ambientes de cultivo. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 276-283, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000200007>.
- RAMALHO, M. A. P. *et al.* **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. ed. Lavras: Editora UFLA, 2012. 522 p.
- RESENDE, G. M. *et al.* Adaptação de genótipos de alface crespa em condições semiáridas. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 11, n. 1, p. 1145-1154, 2017. DOI: <https://doi.org/10.7127/rbai.v11n100553>.
- ROCHA, D. S.; REED, E. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância para a saúde. **Estudos, vida e saúde**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 76-85, 2014. DOI: <https://doi.org/10.18224/est.v41i1.3366>.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>.
- SILVA, O. M. P. *et al.* Adaptability and phenotypic stability of lettuce cultivars in a semiarid region. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 2, p. 552-558, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252019v32n228rc>.
- SILVEIRA, A. J. *et al.* Genetic dissimilarity between lettuce genotypes with different levels of carotenoids biofortification. **Nativa**, Sinop, v. 7, n. 6, p. 656-660, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.31413/nativa.v7i6.7331>.
- SMITH, H. F. A discriminant function for plant selection. **Annals of Eugenics**, Londres, v. 7, n. 3, p. 240-250, 1936. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1936.tb02143.x>.
- SON, K. H.; OH, M. M. Leaf shape, growth, and antioxidant phenolic compounds of two lettuce cultivars grown under various combinations of blue and red light-emitting diodes. **HortScience**, Alexandria, v. 48, n. 8, p. 988-995, 2013. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.8.988>.
- SOUSA, C. S. D. *et al.* Divergência genética entre genótipos de alface por meio de marcadores AFLP. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052007000100002>.

SOUSA, L. A. *et al.* Agronomic potential of biofortified crisphead lettuce (*Lactuca sativa*) and its reaction to Root-knot nematodes. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 13, n. 5, p. 773-779, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.21475/ajcs.19.13.05.p1565>.

SOUZA, M. C. M. *et al.* Variabilidade genética para características agronômicas em progênies de alface tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 354-358, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362008000300012>.

STEIDLE NETO, A. J. *et al.* Non-destructive prediction of pigment content in lettuce based on visible-NIR spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 97, n. 7, p. 2015-2022, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8002>.

STORCK, L. *et al.* Experimentação vegetal. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2011. 198 p.

SUBANDI, W.; COMPTON, A.; EMPIG, L. T. Comparison of the efficiencies of selection indices for three traits in two variety crosses of corn. **Crop Science**, Madison, v. 13, n. 2, p. 184-186. 1973. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300020011x>.

SUINAGA, F. A. *et al.* **Desempenho produtivo de cultivares de alface crespa**. Brasília: Embrapa hortaliças, 2013. 15 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/956025/desempenho-produtivo-de-cultivares-de-alface-crespa>. Acesso em: 22 jan. 2020.

TASSONE, G. A. T. *et al.* Simultaneous selection in coffee progenies of Mundo Novo by selection indices. **Coffee Science**, Lavras, v. 14, n. 1, p. 83-92, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.25186/cs.v14i1>.

THAKUR, M.; KUMAR, R.; KUMAR, S. Studies on genetic variability, correlation and path analysis in lettuce (*Lactuca sativa* L.) under protected conditions. **Journal of Applied and Natural Science**, New York, v. 8, n. 4, p. 1924-1930, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.31018/jans.v8i4.1064>.

TERRES, L. R. *et al.* Estimativas de ganhos genéticos por diferentes índices de seleção em três populações híbridas de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 305-310, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620150000300005>.

TEZZA, G.; MINUZZI, R. B. Caracterização da emissão foliar de cultivares de alface crespa em função da soma térmica. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, Recife, v. 4, n. 2, p. 140-145, 2019. DOI: <https://doi.org/10.24221/jeap.4.2.2019.2409.140-145>.

VASCONCELOS, E. S. *et al.* Estimativas de ganho genético por diferentes critérios de seleção em genótipos de alface. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 2, p. 205-210, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000200011>.

VIEIRA, S. D. *et al.* Selection of experimental strawberry (*Fragaria x ananassa*) hybrids based on selection indices. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16019052>.

WILLIAMS, J. S. The evaluation of a selection index. **Biometrics**, Princeton, v. 18, n. 3, p. 375-393,1962.

## **CAPÍTULO IV**

**TRIAGEM DE ALFACE BIOFORTIFICADA, CRESPA E ROXA: PARÂMETROS GENÉTICOS, ÍNDICE DE SELEÇÃO E ANÁLISE DE TRILHA**

# TRIAGEM DE ALFACE BIOFORTIFICADA, CRESPA E ROXA: PARÂMETROS GENÉTICOS, ÍNDICE DE SELEÇÃO E ANÁLISE DE TRILHA

## RESUMO

A seleção de genótipos por meio da análise univariada possui como limitação decisões isoladas entre os caracteres em estudo. Uma alternativa para aumentar a eficiência durante a seleção em programas de melhoramento é à utilização de índices não paramétricos. No entanto é escasso o conhecimento dessas técnicas em germoplasma de alface. Dessa forma, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar parâmetros genéticos e a eficiência de diferentes índices de seleção para selecionar linhagens de alface biofortificada, crespa e roxa com potencial agrônomo aliado a boas características nutricionais. O experimento foi realizado em 2018, na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Monte Carmelo. O delineamento foi em blocos completos casualizados com três repetições e 31 genótipos de alface do tipo crespa e pigmentação roxa (30 linhagens provenientes da hibridação entre as cultivares Belíssima *versus* Uberlândia 10000 - rica em carotenoides) e a cv. Belíssima. Essas linhagens fazem parte do programa de melhoramento de alface biofortificada da UFU. Foram avaliados a massa verde total (g), o diâmetro do caule (cm), número de folhas, diâmetro da planta (cm), a temperatura foliar (°C), o índice SPAD, teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca) e o pendoamento (dias após a semeadura). Para as estimativas dos ganhos de seleção, foram selecionados 12 genótipos por meio de índices de seleção. O índice clássico proposto por Smith e Hazel e o índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock proporcionaram os maiores ganhos de seleção em alface biofortificada. O coeficiente de determinação genotípica para número de folhas, teor de antocianina, pendoamento e índice SPAD é de alta magnitude.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L., antocianina, alimento biofortificado, índices de seleção, variabilidade genética.

## BIOFORTIFIED RED LEAF LETTUCE SCREENING: GENETIC PARAMETER, SELECTION INDEX, AND PATH ANALYSIS

### ABSTRACT

Selecting genotypes by univariate analysis is constrained by isolated decisions in the traits assessed. An alternative to increase the selection efficiency in breeding programs is to use nonparametric indices. However, little is known about such technique applied to lettuce germplasm. For this reason, this study aimed to assess genetic parameters and the efficiency of different indices to select lines of biofortified lettuce with agronomic potential and good nutritional characteristics. The experiment was conducted at the Experimental Vegetable Station of the Federal University of Uberlândia (UFU), Monte Carmelo campus, in 2018. The experiment was arranged in a completely randomized block design with three repetitions and 31 red leaf lettuce genotypes, comprising the cultivar Belíssima, and 30 lines from hybridization between Belíssima and Uberlândia 10000 (rich in carotenoids). The traits assessed were total green mass (g), stem diameter (cm), leaf count, plant diameter (cm), foliar temperature (°C), SPAD index, anthocyanin content (mg of cyanidin-3-glycoside 100g<sup>-1</sup> fresh dough), and bolting (days after sowing). To estimate selection gains, 12 genotypes were selected by selection indices. Smith and Hazel's traditional index and Mulamba and Mock's rank summation index provided the highest selection gains in biofortified lettuce. The coefficient of genotypic determination for leaf count, anthocyanin content, bolting, and SPAD index was high in magnitude.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L., anthocyanin, biofortified food, nonparametric indices, genetic variability.

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo, sendo considerada saudável devido à presença de carotenoides, compostos fenólicos, antioxidantes, minerais, vitaminas A, C e K e alto teor de fibras (SYTAR et al., 2018; CAMEJO et al., 2020). A mudança dos hábitos alimentares e a maior preocupação com a saúde afeta de forma direta a demanda por alface de maior qualidade nutricional.

O melhoramento genético proporcionou grandes avanços na alficultura, como a criação de cultivares de alface adaptadas às condições tropicais (CARVALHO FILHO et al., 2011) e ricas em carotenoides (CASSETARI et al., 2015; MACIEL et al., 2019a; MACIEL et al., 2019b). Conseqüentemente, o efeito da necessidade de busca por muitas características em um indivíduo tem promovido alta complexidade durante a seleção. A seleção de linhagens de alface tem sido realizada principalmente por meio de análise univariada (DALASTRA et al., 2016; SUBLETT; BARICKMAN; SAMS, 2018; CECCHERINI; LIMA; SALA, 2020), sendo o produto final selecionado em função de uma variável resposta *per se*. Diante dessa limitação, são necessários métodos que aumentem a eficiência e o sucesso nos programas de melhoramento de alface. Uma alternativa é a avaliação simultânea de caracteres por meio de índices não paramétricos (BIZARI et al., 2017; TASSONE et al., 2019; SILVA et al., 2020). Além disso, as estimativas de parâmetros genéticos como coeficiente de determinação genotípica e ganho genético (Kumar et al., 2015) e a correlação entre caracteres são indicadores confiáveis para o incremento de características por meio da seleção em um determinado material genético.

O estudo de correlações é uma medida de associação entre caracteres e não possibilita concluir sobre a relação de causa e efeito. Por isso, é importante realizar a análise de trilha, que investiga se a relação entre duas variáveis é de causa e efeito ou determinada pela influência de outros caracteres (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014).

Várias pesquisas comprovaram a eficiência da utilização dos métodos de análise de trilha e índice de seleção visando compreender as relações direta e indireta entre as variáveis de importância agrônômica e selecionar linhagens superiores (RODRIGUES et al., 2010; VIEIRA et al., 2017; NITHYA et al., 2020; SILVA et al., 2020), exceto em germoplasma de alface biofortificada. Assim, enfatiza-se a importância do presente

trabalho, visto que os resultados podem auxiliar na escolha das análises mais indicadas na triagem de genótipos de alface com bons atributos agronômicos aliados ao valor nutricional. As informações obtidas contribuirão para o desenvolvimento de novas cultivares e linhagens com boas características agronômicas e qualidade nutricional, auxiliando futuros programas de melhoramento.

Dessa forma, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar parâmetros genéticos e a eficiência de diferentes índices para a seleção de linhagens de alface biofortificada, crespa e roxa com potencial agronômico aliado a boas características nutricionais.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em 2018, na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" W; 873 m de altitude). O delineamento foi em blocos completos casualizados com três repetições e 31 tratamentos. Foram avaliadas 30 linhagens de alface crespa do tipo roxa, provenientes da hibridação entre as cultivares Belíssima (Pira 72) *versus* Uberlândia 10000, rica em carotenoides (SOUZA et al., 2007), análise seguida de seis sucessivas autofecundações, realizadas entre 2013 e 2017, mais o controle, que foi a cultivar Belíssima. Essas linhagens fazem parte do Programa de Melhoramento Genético de Alface Biofortificada da UFU, sendo toda a genealogia armazenada no Software "BG α BIOFORT" registrado no INPI BR512019002403-6 (MACIEL et al., 2019a).

A semeadura foi efetuada em 28 de março de 2018. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido com 200 células preenchidas com substrato comercial à base de fibra de coco. Após a semeadura, as bandejas foram alocadas em casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5 m x 6 m e pé direito de 3,5 m, coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioleta, e cortinas laterais de tela branco antiafídeos. Aos 29 dias decorrentes da semeadura, realizou-se o transplântio das mudas para canteiros definitivos em campo. Os canteiros foram formados utilizando rotoencanteirador de 1,30 m de largura.

O solo da área experimental apresentou as seguintes características na profundidade de 0-20 cm: textura argilosa (> 50%); pH (CaCl<sub>2</sub>) = 4,9; MO = 3,9 dag kg<sup>-1</sup>; P (rem) = 79,1 mg dm<sup>-3</sup>; K = 0,29 cmolc dm<sup>-3</sup>; Ca = 3,3 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg = 1,3 cmolc

$\text{dm}^{-3}$ ;  $\text{H} + \text{Al} = 4,90 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{SB} = 4,90 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{CEC} = 9,80 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{V} (\%) = 50$ . Os tratos culturais foram realizados conforme preconizado para o cultivo de alface (FILGUEIRA, 2013).

As parcelas experimentais foram constituídas por 16 plantas, distribuídas em quatro fileiras por canteiro no espaçamento de 0,25 m x 0,25 m, sendo avaliadas as oito plantas centrais. A colheita foi realizada aos 35 dias após o transplântio e as plantas foram levadas para o laboratório, onde foram avaliadas as seguintes características: massa verde total (g), diâmetro do caule (cm), número de folhas, diâmetro da planta (cm), temperatura foliar ( $^{\circ}\text{C}$ ), índice SPAD (Soil Plant Analysis Development), teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo  $100\text{g}^{-1}$  de massa fresca) e o pendoamento (dias após a semeadura).

## 2.1 Características analisadas

A massa verde total (MV) foi obtida pela pesagem de todas as folhas externas. O diâmetro do caule (DC) foi mensurado com auxílio de um paquímetro. O número de folhas comerciais (NF) foi quantificado pela contagem de folhas superiores a 5 cm de comprimento. O diâmetro da planta (DP) foi avaliado e expresso em centímetros. A temperatura foliar (TF) foi obtida pelo posicionamento de um termômetro infravermelho (modelo 4000.4GL, Everest Interscience, Tucson, AZ, USA), sendo amostradas as folhas superiores, procurando-se apontar o sensor na posição central da superfície foliar.

Os teores de antocianinas totais (ANT) foram quantificados pelo método descrito por Francis (1982). A concentração de pigmentos antociânicos foi realizada com base na absorvância, conforme a equação:  $At = \frac{(Abs * f)}{\epsilon}$ , em que: At= antocianinas (mg de cianidina-3-glicosídeo  $100\text{g}^{-1}$  de massa fresca); Abs= absorvância em comprimento de onda de 535 nm; f= fator de diluição;  $\epsilon$ = coeficiente de absorvância molar da cianidina (98,2).

O índice SPAD (CASSETARI et al., 2015) foi determinado pelo valor médio dos dados provenientes das quatro plantas centrais de cada parcela. Foi utilizado o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030. Também foi efetuada a contagem dos dias para emissão do pendão floral (PEND – pendoamento da planta em dias após semeadura).

## 2.2. Análise estatística

Os quadrados médios dos genótipos (QMG) referentes às características avaliadas e o coeficiente de variação (CV) foram obtidos pela Análise de Variância ( $\alpha \leq 0,05$ ). Também foram calculados o coeficiente de variação genética (CVg), a relação entre o coeficiente de variação genética (CVg) e o ambiental (CVe) – CVg/CVe e o coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ ) para cada variável analisada no experimento. O  $H^2$  foi determinado conforme o seguinte estimador:

$$H^2 = \frac{\hat{\sigma}_g}{QMG/r} \qquad \hat{\sigma}_g = \left( \frac{QMG - QMR}{r} \right)$$

em que  $H^2$  = coeficiente de determinação genotípica;  $\hat{\sigma}_g$  = componente quadrático genético; QMG = quadrado médio de tratamentos (genótipos); QMR = quadrado médio do resíduo e  $r$  = número de repetições.

As correlações fenotípicas ( $r_f$ ) e genotípicas ( $r_g$ ) e os índices de seleção foram determinados para os caracteres que apresentaram resultado significativo na análise de variância. A correlação fenotípica e a correlação genotípica foram obtidas, respectivamente, por meio dos estimadores:

$$r_f = \frac{PMG_{xy}}{\sqrt{QMG_x * QMG_y}} \text{ e } r_g = \frac{\hat{\sigma}_{gxy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{g_x}^2 * \hat{\sigma}_{g_y}^2}}$$

em que: PMG = produto médio associado aos genótipos, QMG = quadrado médio dos genótipos, X e Y = caracteres analisados,  $\hat{\sigma}_{gxy}$  = estimador da covariância genotípica entre os caracteres X e Y, e  $\hat{\sigma}_{g_x}^2$  e  $\hat{\sigma}_{g_y}^2$  = estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres X e Y, respectivamente (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014).

As variâncias e covariâncias genotípicas obtidas deram origem à matriz de correlações genotípicas entre os caracteres. Essa matriz foi submetida à análise de multicolinearidade conforme Montgomery, Peck e Vining (2012). Após ser detectada multicolinearidade fraca, foi realizada análise de trilha com os caracteres significativos observados na análise de variância. A análise de trilha foi realizada considerando um único diagrama causal, ou seja, a variável principal (NF) em função de cinco componentes primários: MV, DP, ANT, SPAD e PEND.

Para as estimativas dos ganhos de seleção, foram selecionados 12 genótipos (38,70% dos genótipos estudados) por meio das seguintes metodologias: seleção direta e indireta (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012); índice clássico, proposto por Smith (1936) e Hazel (1943); índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock (1978) e índice

base de Willians (1962). O ganho esperado pela seleção direta (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012) no  $i$ -ésimo caráter ( $GS_i$ ) foi obtido pela equação:

$$GS_i = (X_{si} - X_{oi})h_i^2 = DS_i h_i^2$$

em que  $X_{si}$  = média das linhagens selecionadas para o caráter  $i$ ;  $X_{oi}$  = média original da população;  $DS_i$  = diferencial de seleção realizado na população; e  $h_i^2$  = herdabilidade do caráter  $i$ .

O ganho indireto (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012) no caráter  $j$ , pela seleção no caráter  $i$ , foi dado por:

$$GS_{j(i)} = DS_{j(i)} h_i^2$$

em que  $DS_{j(i)}$  = diferencial de seleção indireto obtido por meio da média do caráter dos indivíduos cujas superioridades foram evidenciadas com base em outro caráter, sobre o qual se realiza a seleção direta.

O índice clássico proposto por Smith e Hazel (SMITH, 1936; HAZEL, 1943) é estimado por uma combinação linear realizada entre os caracteres analisados. Esse foi determinado pelo índice de seleção ( $I$ ) e o agregado genotípico ( $H$ ) descrito a seguir:

$$I = b_1 y_1 + b_2 y_2 + \dots + b_n y_n = \sum_{i=1}^n b_i y_i = y' b$$

$$H = a_1 g_1 + a_2 g_2 + \dots + a_n g_n = \sum_{i=1}^n a_i g_i = g' a$$

em que  $n$ : número de caracteres analisados;  $b$ : vetor de dimensão  $1 \times n$  dos coeficientes de ponderação do índice de seleção a ser estimado;  $y'$ : matriz de dimensão  $n \times p$  de valores fenotípicos dos caracteres;  $a$ : vetor de dimensão  $1 \times n$  de pesos econômicos previamente estabelecidos;  $g$ : matriz de dimensão  $n \times p$  de valores genéticos desconhecidos dos  $n$  caracteres considerados; e  $p$ : número de famílias ou progênes analisadas.

A matriz de dimensão  $n \times n$  de variâncias e covariâncias fenotípicas foi representada por  $P$ . Já a matriz de dimensão  $n \times n$  de covariâncias genéticas entre os caracteres foi dada por  $G$ . O vetor  $b$  foi estimado por  $b = P^{-1} G a$ , sendo  $P^{-1}$  a inversa da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas entre os caracteres. O ganho esperado para o caráter  $j$  foi determinado por:

$$\Delta g_{j(i)} = DS_{j(i)} h_j^2$$

em que  $\Delta g_{j(I)} = g_{j(I)}$ : ganho esperado para o caráter  $j$ , com a seleção baseada no índice  $I$ ;  $DS_{j(I)}$ : diferencial de seleção do caráter  $j$ , com a seleção baseada no índice  $I$ ; e  $h_j^2$ : herdabilidade do caráter  $j$ .

O índice baseado na soma de ranks (Mulamba e Mock, 1978) não necessita das estimativas de variâncias e covariâncias fenotípicas e genotípicas, tampouco da atribuição de pesos econômicos aos caracteres estudados (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). Esse índice hierarquiza os genótipos pela atribuição de valores absolutos mais elevados àqueles de melhor desempenho, considerando cada característica analisada. Posteriormente, é realizada a soma das ordens de cada genótipo referente a cada caráter estudado, resultando no índice de seleção descrito abaixo:

$$I = r_1 + r_2 + \dots + r_n$$

em que  $I$  é o valor do índice para determinado indivíduo ou família;  $r_j$  é a classificação (rank) de um indivíduo em relação a  $j$ -ésima variável;  $n$  é o número de variáveis consideradas no índice. Esse método possibilita que sejam atribuídos pesos diferentes para ordenar a classificação das variáveis, conforme especificado pelo melhorista. Dessa forma, os pesos econômicos foram dados por:

$$I = p_1 r_1 + p_2 r_2 + \dots + p_n r_n$$

em que  $p_j$  é o peso econômico atribuído ao  $j$ -ésimo caráter.

O índice base de Willians (WILLIANS, 1962) estabelece um índice dado pela combinação linear dos valores fenotípicos médios dos caracteres, os quais são ponderados pelos respectivos pesos econômicos. O índice é dado por:

$$I = a_1 y_1 + a_2 y_2 + \dots + a_n y_n = \sum_{i=1}^n a_i y_i = y' a$$

em que  $y_1, \dots, y_n$  são as médias e  $a_1, \dots, a_n$  são os pesos econômicos dos caracteres estudados.

O critério de seleção utilizado para todos os índices de seleção analisados foi aumentar a massa verde (MV), o diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), SPAD (índice SPAD) e pendoamento (PEND) e reduzir o diâmetro da planta (DP). O peso econômico adotado foi o coeficiente de variação genética de cada variável, conforme recomendado por Cruz, Regazzi e Carneiro (2012). As análises estatísticas foram realizadas no programa Genes v. 2015.5.0 (CRUZ, 2013).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As linhagens de alface apresentaram variabilidade genética entre si para os caracteres MV, NF, DP, SPAD, ANT e PEND ao nível de 5% para MV e 1% para as demais variáveis pelo teste de F, indicando a possibilidade de se realizar a seleção de linhagens superiores para o melhoramento genético. Não foi detectada diferença entre os genótipos de alface estudados para DC e TF (Tabela 1). Dessa forma, o DC e a TF foram excluídos das demais análises estatísticas realizadas por não possibilitarem ganhos genéticos na seleção de genótipos superiores (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

TABELA 1 – Quadrados médios, coeficientes de variância e parâmetros genéticos de variáveis analisadas em 31 linhagens de alface roxa.

Variáveis <sup>1</sup>	QMG <sup>2</sup>	H <sup>2</sup> (%)	CVg (%)	CVg/CVe	CV (%)
MV	1478,7579*	41,19	24,58	0,48	50,87
DC	0,2789 <sup>ns</sup>	-	-	-	40,29
NF	30,6663**	76,46	17,46	1,04	16,78
DP	36,2838**	64,32	13,28	0,78	17,13
TF	1,4892 <sup>ns</sup>	-	-	-	6,37
SPAD	139,7560**	97,65	20,76	3,72	5,58
ANT	371,5967**	81,55	32,79	1,21	27,01
PEND	165,2882**	88,85	7,93	1,63	4,87

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); DC= diâmetro do caule (cm); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); TF= temperatura foliar (°C); SPAD= Índice SPAD; ANT= teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca); PEND= pendoamento (dias após a semeadura). <sup>2</sup>QMG= quadrado médio dos genótipos; H<sup>2</sup>= coeficiente de determinação genotípica; CVg= coeficiente de variação genética; CVe= coeficiente de variação experimental; CV= coeficiente de variação geral; \*\* e \* significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F; ns= não significativo.

O DC e TF são características influenciadas pelo ambiente e também pelo genótipo (BLEYAERT et al., 2012). Provavelmente, os genótipos de alface caracterizados no presente trabalho não apresentaram diferença quanto a essas características, por serem cultivados numa mesma condição ambiental. Plantas de alface com maior DC apresentam melhor resistência ao acamamento (CHEN et al., 2014). A

temperatura foliar é um dos indicadores fisiológicos que fornecem a informação da condição hídrica das plantas. O aumento da temperatura foliar é correlacionado à baixa transpiração das plantas ( $r = -0,95$ ), sendo a transpiração o principal mecanismo de perda de calor desses organismos (Morales et al., 2015), refletindo negativamente na produtividade.

A existência de variabilidade genética foi confirmada pelo coeficiente de variação genética (CVg). O CVg observado apresentou variação entre 7,93% para PEND e 32,79% em ANT (Tabela 1). As maiores estimativas para o CVg foram constatadas em MV (24,58%) e ANT (32,79%), indicando que esses caracteres entre todas as variáveis analisadas apresentaram a maior variabilidade genética, permitindo a realização da seleção. Essa estimativa permite conhecer a magnitude da variabilidade genética presente em uma população para todas as variáveis analisadas (LEITE et al., 2016).

As variáveis analisadas neste trabalho apresentaram CV entre 4,87% para PEND e 50,87% obtido em MV. Os maiores valores de CV foram observados nas variáveis MV (50,87%) e DC (40,29%) (Tabela 1). Esse resultado sugere uma alta dispersão dos dados experimentais em relação às diferenças genética e fenotípica, ou que os caracteres são altamente influenciados pelas condições ambientais (LEITE et al., 2016). Chen et al. (2014) avaliaram o desenvolvimento de alface submetida a diferentes fontes de luz. Esses autores relataram incremento de massa verde e seca e maior diâmetro do caule em plantas submetidas à luz fluorescente mais LED vermelho, seguido por luz fluorescente mais LED azul, e valores menores para as mesmas variáveis ao utilizarem luz monocromática com LED vermelho ou azul. Sublett, Barickman e Sams (2018), estudando o efeito do ambiente e de nutrientes sob o rendimento e a qualidade da alface em hidroponia, observaram que as plantas cultivadas na primavera apresentaram maior DC e MV quando comparadas às produzidas nas estações de verão e outono. Os autores relataram que os diferentes níveis de condutividade elétrica da solução nutritiva afetaram o conteúdo de biomassa e água das plantas.

O valor de CV inferior a 10%, em experimentos de campo, é considerado baixo, entre 10% e 20%, médio, entre 20% e 30%, alto, e superior a 30% é visto como um valor alto (PIMENTEL-GOMES, 2009). No presente estudo, foram obtidos 37,5% de variáveis com baixo CV e 25% apresentando médio CV, evidenciando maior precisão experimental e menor valor do erro residual na análise de variância.

A razão CVg/CVe apresentou valores superiores à unidade para as variáveis NF (1,04), ANT (1,21), PEND (1,63) e SPAD (3,72) (Tabela 1). A razão CVg/CVe de valor igual ou superior a 1 informa que a variação genética disponível é a principal responsável pela variação estimada dos dados experimentais (LEITE et al., 2016).

O CVg não possibilita uma estimativa completa das variações herdáveis, sendo necessário calcular o coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ ) ou a herdabilidade do caráter (THAKUR; KUMAR; KUMAR, 2016). O coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ ) equivale à proporção da variância genética existente na variância fenotípica total (RAMALHO et al., 2012, CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). Essa estimativa permite mensurar as diferenças associadas à genética do indivíduo por meio da caracterização do seu fenótipo.

Os resultados de  $H^2$  variam com os caracteres analisados, sendo considerados de alta magnitude os valores superiores a 0,70 (RAMALHO et al., 2012). Foram encontrados altos valores de  $H^2$  para as mesmas variáveis que apresentaram a razão CVg/CVe superior a 1. O valor do  $H^2$  para NF foi de 76,46%, ANT, de 81,55%, PEND, de 88,85% e SPAD, de 97,65% (Tabela 1). Esse resultado indica perspectiva de êxito ao se realizar a seleção por meio de observação do fenótipo da planta. Caracteres com altos  $H^2$  indicam alto componente da fração herdável da variação (componente genético) em suas expressões fenotípicas, demonstrando que a obtenção de ganhos pode ser alcançada por meio da seleção visual (ANDRADE et al., 2010; SILVA et al., 2019). Entretanto altos valores de  $H^2$  nem sempre indicam alto ganho genético. O  $H^2$  com avanço genético deve ser utilizado na predição da seleção de genótipos superiores. Em outros estudos realizados em alface, foram encontrados altos valores de  $H^2$  para os caracteres NF (AZEVEDO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2019; SILVA et al., 2019) e ANT (OLIVEIRA et al., 2019), corroborando os resultados do presente trabalho.

As estimativas de correlações genotípica e fenotípica permitem, ao melhorista, estimar ganhos de seleção para uma característica de difícil mensuração (CARVALHO FILHO et al., 2011). Para a interpretação de correlações, é necessário considerar os seguintes aspectos: a magnitude, a direção e a sua significância (NOGUEIRA et al., 2012). Valores de coeficiente de correlação positivo indicam a tendência de uma variável aumentar em função do incremento de outra. Já valores negativos de correlação sugerem redução de uma determinada característica em função do aumento de outra.

Observou-se correlação genotípica positiva entre MV e NF (0,62), MV e DP (0,86), NF e DP (0,66), NF e PEND (0,62), DP e SPAD (0,60), DP e ANT (0,47) e

SPAD e ANT (0,82). Já a correção fenotípica positiva foi caracterizada entre MV e NF (0,67), MV e DP (0,85), NF e DP (0,70), NF e PEND (0,46), DP e SPAD (0,47) e entre SPAD e ANT (0,73) (Tabela 2).

TABELA 2 – Correlações genotípicas (G) e fenotípicas (F) em seis caracteres avaliados em linhagens de alface roxas.

Caráter <sup>1</sup>		MV	NF	DP	SPAD	ANT	PEND
1	G	1,00	0,62 <sup>+</sup>	0,86 <sup>++</sup>	0,34	0,08	0,09
	F	1,00	0,67 <sup>**</sup>	0,85 <sup>**</sup>	0,21	-0,60	-0,07
2	G		1,00	0,66 <sup>++</sup>	0,35	-0,03	0,62 <sup>++</sup>
	F		1,00	0,70 <sup>**</sup>	0,30	-0,09	0,46 <sup>**</sup>
3	G			1,00	0,60 <sup>++</sup>	0,47 <sup>+</sup>	0,01
	F			1,00	0,47 <sup>**</sup>	0,24	-0,08
4	G				1,00	0,82 <sup>++</sup>	0,005
	F				1,00	0,73 <sup>**</sup>	0,01
5	G					1,00	-0,19
	F					1,00	-0,11
6	G						1,00
	F						1,00

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); SPAD= Índice SPAD; ANT= teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca); PEND= pendoamento (dias após a semeadura). <sup>\*\*</sup> e <sup>\*</sup>=correlação fenotípica significativa respectivamente a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste t. <sup>++</sup> e <sup>+</sup>=Correlação genotípica significativa respectivamente a 1% e 5%, pelo método de *bootstrap* com 5000 simulações.

De maneira geral, os valores de correlação genotípica e fenotípica ficaram próximos (Tabela 2), indicando menor influência de fatores ambientais e maior atuação de fatores genéticos na expressão dos caracteres. Resultados semelhantes foram observados em outros trabalhos realizados com a cultura da alface (SOUZA et al., 2008); THAKUR et al., 2016). A diferença mínima entre as estimativas de correlação genotípica e fenotípica confere o entendimento do quanto os fatores ambientais influenciam as características analisadas (THAKUR et al., 2016; NITHYA et al., 2020).

A análise de trilha é um importante meio para identificar as causas diretas e indiretas da interação entre os caracteres (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). Essa

análise apresenta uma crítica das forças particulares envolvidas na correlação, além de medir a importância relativa de cada fator causal (NITHYA et al., 2020).

O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) da análise de trilha foi de 83,28% e o efeito residual de 40,89% (Tabela 3). Isso demonstra que a variável básica (NF) está sendo explicada por 83,28% das variáveis explicativas.

TABELA 3 – Estimativas dos efeitos diretos e indiretos dos caracteres primários sobre a variável principal número de folhas.

Efeito	Estimativa
Massa verde	
Direto sobre o número de folhas	0,08
Indireto via diâmetro da planta	0,55
Indireto via teor de Antocianina	0,02
Indireto via SPAD	0,05
Indireto via pendoamento	-0,03
<b>Total</b>	<b>0,66</b>
Diâmetro da planta	
Direto sobre o número de folhas	0,64
Indireto via massa verde	0,06
Indireto via teor de Antocianina	-0,09
Indireto via SPAD	0,11
Indireto via pendoamento	-0,04
<b>Total</b>	<b>0,70</b>
Índice SPAD	
Direto sobre o número de folhas	0,24
Indireto via massa verde	0,01
Indireto via diâmetro da planta	0,30
Indireto via teor de Antocianina	-0,27
Indireto via pendoamento	0,004
<b>Total</b>	<b>0,30</b>
Teor de antocianina	
Direto sobre o número de folhas	-0,37
Indireto via massa verde	-0,004
Indireto via diâmetro da planta	0,15
Indireto via SPAD	0,18
Indireto via pendoamento	-0,05
<b>Total</b>	<b>-0,08</b>
Pendoamento	
Direto sobre o número de folhas	0,47
Indireto via massa verde	-0,005
Indireto via diâmetro da planta	-0,05
Indireto via teor de Antocianina	0,04
Indireto via SPAD	0,002
<b>Total</b>	<b>0,45</b>
<sup>1</sup> R <sup>2</sup>	0,8328
Efeito residual	0,4089

<sup>1</sup>R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação do modelo de trilha com um único diagrama causal.

Os componentes primários diâmetro da planta (0,64) e pendoamento (0,47) apresentaram altas magnitudes dos efeitos diretos sobre a variável principal NF. Esses valores foram superiores ao efeito residual (0,4089), demonstrando ser um resultado relevante. As demais variáveis explicativas apresentaram valores baixos de estimativa direta, sendo inferiores ao efeito residual. Esse resultado evidencia que os esforços na seleção indireta para índice SPAD e teor de antocianina pode não resultar em ganhos para NF. O efeito indireto da massa verde via diâmetro da planta, e vice-versa, sobre o número de folhas foi positivo, sendo o valor 0,55 (Tabela 3). Esse resultado deve-se ao aumento da massa verde com o incremento em DP, sendo o contrário também verdadeiro (DIAMANTE et al., 2013; AZEVEDO et al., 2014). Os demais efeitos indiretos foram relativamente baixos (Tabela 3).

A correlação fenotípica positiva entre o NF e DP e o NF e PEND demonstra semelhança entre o coeficiente de trilha e o de correlação (Tabelas 2 e 3). Esse resultado sugere que o número de folhas por planta interfere no período de emissão do pendão floral mais tardio. O NF é uma característica importante tanto para o produtor quanto para o mercado, dando indícios da adaptação do material genético ao ambiente. Essa característica pode ser influenciada pelo local de cultivo, além do componente genético (DIAMANTE et al., 2013). Em outros trabalhos, os autores observaram que os genótipos de alface que continham o maior NF também apresentaram maior DP (DIAMANTE et al., 2013; CECCHERINI; LIMA; SALA, 2020), corroborando os resultados do presente estudo.

A seleção direta permite a obtenção de ganhos máximos em um único caráter sobre o qual o melhorista realiza a seleção (CRUZ, 2013; CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). No entanto as associações desse caráter com outras variáveis analisadas podem resultar em ganhos favoráveis ou desfavoráveis em caracteres de importância secundária que não foram considerados no processo de seleção (CRUZ, 2013). Os maiores ganhos obtidos por meio da seleção direta foram observados em ANT (29,88%), SPAD (20,41%), MV (15,61%) e NF (15,27%). As mesmas variáveis também apresentaram os maiores valores para ganho total, sendo SPAD (51,66%), ANT (35,04%), MV (28,29%) e NF (26,00%) (Tabela 4).

TABELA 4 – Estimativas de ganhos de seleção (GS%) obtidos pelas seleções direta e indireta para seis caracteres avaliados em genótipos de alface.

Variáveis <sup>1</sup>	GS (%)					
	MV	NF	DP	SPAD	ANT	PEND
MV	<b>15,61</b>	9,37	-13,64	2,26	-3,73	0,0
NF	8,47	<b>15,27</b>	-9,17	3,83	-4,36	8,6
DP	8,96	5,83	<b>-9,97</b>	4,06	1,37	0,02
SPAD	0,21	2,78	-9,07	<b>20,41</b>	13,14	-0,46
ANT	-3,65	-11,00	-9,50	20,90	<b>29,88</b>	-8,17
PEND	-1,31	3,75	0,79	0,20	-1,26	<b>7,53</b>
Total	28,29	26,00	-50,56	51,66	35,04	7,52

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); SPAD= Índice SPAD; ANT= teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca); PEND= pendoamento (dias após a semeadura). Critério favorável de seleção: aumento para MV, NF, SPAD, ANT e PEND e redução para DP. Valores em negrito correspondem ao ganho pela seleção direta.

A ANT consiste em composto fenólico encontrado em abundância em alfaves de coloração vermelho-púrpura (SYTAR et al., 2018). Esse pigmento confere benefícios à saúde, como a prevenção de doenças cardiovasculares (CASSIDY, 2018), neurodegenerativas, alergias, osteoporose entre outras (LI et al., 2017), além de possuir efeitos antidiabéticos e contribuir na melhora da síndrome metabólica (CHENG et al., 2014). O índice SPAD possui correlação positiva com os teores de clorofila e nitrogênio presentes na folha (CASSETARI et al., 2015; PEIXOTO et al., 2017), sendo diretamente associado à melhoria da capacidade fotossintética da planta, refletindo em incremento de produtividade. A MV e o NF são indicativos da adaptabilidade dos genótipos em relação ao ambiente. O NF é um atributo genético, sendo alterado conforme o desenvolvimento da planta, do cultivar e do ambiente (DALASTRA et al., 2016).

A variável PEND apresentou o menor ganho individual (7,53%) pela seleção direta (Tabela 4), o que condiz com o seu baixo CVg (7,93%). Essa variável também demonstrou o menor ganho total (7,52%) (Tabela 1). As consequências do florescimento precoce na alface (PEND) são o alongamento do caule da planta, a redução no número de folhas, a produção de látex, que confere sabor amargo à folha e

torna-a imprópria para o consumo, e menores peso e tamanho da planta, resultando em um produto de baixa qualidade (NICK; BORÉM, 2016).

A seleção direta para NF contribuiu com ganhos indiretos para MV (9,37%), DP (5,83%), SPAD (2,78%) e PEND (3,75%). No entanto esse método promoveu ganho negativo para ANT (-11,0%) (Tabela 4). A comercialização de alface no Brasil é realizada normalmente em caixas de plástico ou de madeira, praticamente sem refrigeração, o que permite manter a qualidade do produto (SALA; COSTA, 2012). Dessa forma, tem-se preferência por plantas com menor DP, na tentativa de reduzir as perdas na qualidade do produto durante o seu acondicionamento.

A seleção direta para SPAD promoveu ganhos indiretos para MV (2,26%), NF (3,83%), DP (4,06%), ANT (20,90%) e PEND (0,20%) (Tabela 4). Essa foi a melhor estratégia de seleção indireta, pois possibilitou baixo incremento no DP e permitiu ganhos positivos para os demais caracteres analisados, além de apresentar o maior ganho total.

Os principais fatores que interferem diretamente ou indiretamente no ganho de seleção são a intensidade de seleção, as características genéticas da população e as condições ambientais (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014; SILVA et al., 2020). A maior variabilidade existente na população aumenta a chance de ganho com a seleção de genótipos superiores (BIZARI et al., 2017). No entanto a alta pressão seletiva implica no aumento de riscos de redução da variabilidade genética, refletindo no comprometimento de ganhos em ciclos sucessivos (HAMAWAKI et al., 2012). Os resultados obtidos por Terres et al. (2015) em batata e Silva et al. (2020) em milho doce corroboram os obtidos no presente estudo. Esses autores também encontraram, nas variáveis analisadas, altos ganhos com a seleção direta e também perdas indiretas.

Os índices de seleção, diferentemente da seleção direta, possibilitam realizar a seleção simultânea de vários caracteres de importância econômica, aumentando a chance de sucesso no melhoramento genético (BIZARI et al., 2017; TASSONE et al., 2019). Esses índices possibilitam várias combinações provenientes da unidade experimental (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014).

O índice SH promoveu o maior ganho total (61,55%) e, em sequência, o índice de MM (59,59%). Ambos promoveram ganhos positivos para todas as variáveis analisadas (Tabela 5).

TABELA 5 – Estimativas de ganhos de seleção (GS%) obtidos pelo índice clássico proposto por Smith e Hazel (SH), índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock (MM) e índice base de Willians (W) em genótipos de alface.

Índice <sup>1</sup>	GS (%)						Total
	MV	NF	DP	SPAD	ANT	PEND	
SH	5,66	6,91	5,67	19,70	22,26	1,35	61,55
MM	5,57	8,31	6,06	17,02	20,53	2,10	59,59
W	12,03	7,61	8,27	12,13	16,22	-0,42	55,84

<sup>1</sup>MV= massa verde (g); NF= número de folhas; DP= diâmetro da planta (cm); SPAD= Índice SPAD; ANT= teor de antocianina (mg de cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de massa fresca); PEND= pendoamento (dias após a semeadura).

O índice de W detectou o menor ganho total (55,84%), apresentando ganho negativo para PEND (-0,42) (Tabela 5). Esse índice, no presente estudo, é considerado um método ineficiente, pois foi o índice que promoveu o maior ganho para DP e redução no PEND. O índice SH apresentou os maiores ganhos para SPAD (19,70%) e ANT (22,26%) (Tabela 5). Esse índice apresentou 75% de similaridade de genótipos selecionados em comparação ao que ocorreu na seleção direta para SPAD. Os genótipos selecionados foram UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-199#2#2#1; UFU-184#2#1; UFU-199#5#1#1; UFU-184#2#5#1; UFU-206#1#3#1 (Tabela 6).

TABELA 6 - Indicação dos doze genótipos superiores de alface roxa por seleção direta, índice clássico proposto por Smith (1936) e Hazel (1943), índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock (1978) e índice base de Willians (1962).

Índices de seleção	Genótipos selecionados
Seleção direta para SPAD	UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-199#2#2#1; UFU-184#2#1; UFU-199#5#1#1; UFU-184#2#5#1; UFU-206#1#3#1; UFU-199#6#1#1; UFU-75#1#1#1 e UFU-189#2#1#1
Índice clássico (SH)	UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-199#2#2#1; UFU-184#2#1; UFU-199#5#1#1; UFU-184#2#5#1; UFU-206#1#3#1; UFU-184#2#3#1 e UFU-75#1#3#1
Índice da soma de “ranks” MM)	UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-184#2#3#1; UFU-199#2#2#1; UFU-75#1#3#1; UFU-199#5#1#1; UFU-184#2#5#1; UFU-7#1#1#1 e UFU-75#1#1#1
Índice base (W)	UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-199#2#2#1; UFU-184#2#3#1; UFU-75#1#3#1; UFU-184#2#1; UFU-7#1#1#1; UFU-199#2#3#1 e UFU-184#2#1#1.

O índice SH selecionou 75% dos genótipos selecionados pelo índice W (UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-199#2#2#1; UFU-184#2#3#1; UFU-75#1#3#1; UFU-184#2#1) (Tabela 6). A diferença entre esses dois índices foi caracterizada na escolha dos genótipos UFU-199#5#1#1; UFU-184#2#5#1 e UFU-206#1#3#1 pelo índice SH e UFU-7#1#1#1; UFU-199#2#3#1 e UFU-184#2#1#1 pelo índice W (Tabela 6). Os genótipos UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1 e UFU-199#2#2#1 foram selecionados por todos os índices analisados neste trabalho (Tabela 6).

Os índices SH e de MM, com a seleção direta, apresentaram 66,66% de coerência nos genótipos selecionados (UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-199#2#2#1; UFU-199#5#1#1; UFU-184#2#5#1) (Tabela 6). Maciel et al. (2019b), caracterizando o mesmo banco de germoplasma estudado no presente trabalho, por meio de análise univariada, observaram excelentes características agrônômicas e nutricionais nos mesmos genótipos. Esse resultado sugere a capacidade promissora de utilização dessas linhagens em futuros programas de melhoramento genético.

O índice base de Willians (1962) é similar ao índice clássico proposto por Smith e Hazel (1943), quando as variâncias e covariâncias fenotípicas forem definidas predominantemente por fatores genéticos (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). Vieira et al. (2017), estudando índices de seleção em morango, concluíram que os índices de MM e SH promoveram os maiores ganhos em morango. Esse resultado corrobora os encontrados no presente trabalho.

#### 4 CONCLUSÕES

1. O índice clássico proposto por Smith e Hazel e o índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock proporcionaram os maiores ganhos de seleção em alface biofortificada.
2. O índice clássico proposto por Smith e Hazel, o índice da soma de “ranks” de Mulamba e Mock e o método de seleção direta apresentaram coerência na escolha dos genótipos UFU-199#1#1#1; UFU-199#6#1#1; UFU-199#6#2#1; UFU-75#2#2#1; UFU-199#2#1#1; UFU-199#2#2#1; UFU-199#5#1#1; UFU-184#2#5#1.
3. O coeficiente de determinação genotípica para número de folhas, teor de antocianina, pendoamento e índice SPAD possui alta magnitude.

4. O efeito direto do diâmetro da planta e do pendoamento sobre a variável principal número de folhas é positivo.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, F. N. *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi avaliados para feijão fresco. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2, p. 253-258, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902010000200012>.
- AZEVEDO, A. M. *et al.* Parâmetros genéticos e análise de trilha para o florescimento precoce e características agronômicas da alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 2, p. 118-124, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000200006>.
- BIZARI, E. H. *et al.* Selection indices for agronomic traits in segregating populations of soybean. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 110-117, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20170012>.
- BLEYAERT, P. *et al.* Evaluation of a sensor for online measurements of stem diameter variations of leafy vegetables. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 927, n. 927, p. 571-579, 2012. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.927.70>.
- CAMEJO, D. *et al.* Artificial light impacts the physical and nutritional quality of lettuce plants. **Horticulture, environment and biotechnology**, Suwon, v. 61, p. 69-82, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13580-019-00191-z>.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. *et al.* Parâmetros populacionais e correlação entre características da resistência a nematóides de galhas em alface. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 1, p. 46-51, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i1a819>.
- CASSETARI, L. S. *et al.*  $\beta$ -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1083, p. 469-474, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.60>.
- CASSIDY, A. Berry anthocyanin intake and cardiovascular health. **Molecular Aspects of Medicine**, Oxford, v. 61, p. 76-82, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.05.002>.
- CHEN, C. C. *et al.* Effects of light quality on the growth, development and metabolism of rice seedlings (*Oryza sativa* L.). **Research Journal of Biotechnology**, Indore, v. 9, n. 4, p. 15-24, 2014.
- CHEN, X. L. *et al.* Growth and quality responses of ‘Green Oak Leaf’ lettuce as affected by monochromic or mixed radiation provided by fluorescent lamp (FL) and light-emitting diode (LED). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 172, n. 9, p. 168-175, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.04.009>.

- CHENG, D. M. *et al.* Polyphenol rich rutgers scarlet lettuce improves glucose metabolism and liver lipid accumulation in diet induced obese C57BL/6 mice. **Nutrition**, Burbank, v. 30, n. 7-8, p. 52-58, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.02.022>.
- CECCHERINI, G. J.; LIMA, T. J. L.; SALA, F. C. Different tray cell volumes for lettuce grown in conventional and hydroponic system. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 1, p. 1-6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190491>.
- CRUZ, C. D. Genes: A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p.271-276, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2014. 668 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2012, 514 p.
- DALASTRA, G. M. *et al.* Características produtivas de cultivares de alface mimosa, conduzida sob diferentes níveis de sombreamento, no inverno. **Scientia Agraria Paranaensis**, Acrelândia, v. 15, n. 1, p. 15-19, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n1p15-19>.
- DIAMANTE, M. S. *et al.* Produção e resistência ao pendoamento de alfaces tipo lisa cultivadas sob diferentes ambientes. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 133-140, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902013000100017>.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. rev. ampl. Viçosa: UFV, 2013. 421 p.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. *In*: MARKAKIS, P (ed.). **Anthocyanins as food colors**. Cambridge: Academic Press, 1982. cap. 7, p. 181-206. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50011-1>.
- HAZEL, L. N. The genetic basis for constructing selection indexes. **Genetics**, Cambridge, v. 28, n. 6, p. 476-490. 1943.
- HAMAWAKI, O. T. *et al.* Genetic parameters and variability in soybean genotypes. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 3, n. 2, p. 76-83, 2012. DOI: <https://doi.org/10.14295/cs.v3i2.192>.
- KUMAR, R. *et al.* Variability and character association studies in garden pea (*Pisum sativum* var. *hortense* L.) during winter season at mid hills of Himachal Pradesh. **Legume Research**, Karnal, v. 38, n. 2, p. 164-168, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5958/0976-0571.2015.00051.X>.
- LEITE, W. S. *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos, correlações e índices de seleção para seis caracteres agronômicos em linhagens F8 de soja. **Comunicata**

**Scientiae**, Bom Jesus, v. 7, n. 3, p. 302-310, 2016. DOI:  
<https://doi.org/10.14295/CS.v7i3.1176>.

LI, D. *et al.* Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 57, n. 8, p. 1729-1741, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1030064>.

MACIEL, G. M. *et al.* Programa de computador BG a Biofort. Depositante: Universidade Federal de Uberlândia. BR512019002403-6. Depósito: 01 fev. 2019. Concessão: 23 out. 2019a.

MACIEL, G. M. *et al.* Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, Enschede, v. 81, p. 154-160, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.016>.

MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A.; VINING, G. G. **Introduction to linear regression analysis**. 5.ed. New York: John Wiley, 2012. 661 p.

MORALES, R. G. F.; RESENDE, L. V.; BORDINI, I. C.; GALVÃO, A. G.; REZENDE, F. C. Caracterização do tomateiro submetido ao déficit hídrico. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 16, n. 1, p. 9-17, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v16i1.41042>.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Citology**, Alexandria, v. 7, p. 40-51, 1978.

NICK, C.; BORÉM, A. **Melhoramento de Hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. 464 p.

NITHYA, N. *et al.* Genetic variability, heritability, correlation coefficient and path analysis of morphophysiological and yield related traits of rice under drought stress. **Chemical Science Review and Letters**, Salem, v. 9, n. 33, p. 48-54, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.37273/chesci.cs142050122>.

NOGUEIRA, A. P. O. *et al.* Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 877-888, 2012.

OLIVEIRA, A. H. G. de *et al.* Estimates of genetic parameters of pigments and agronomic traits in green and purple lettuce. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 43, n. e013219, p. 1-8, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-7054201943013219>.

PEIXOTO, J. V. M. *et al.* Characterization of processing tomato lines as the physiological and production characteristics. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 33, n. 4, p. 850-860. DOI: <http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v33n4a2017-36705>.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: Fealq, 2009. 451 p.

- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. dos; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: Editora UFLA, 2012, 522 p.
- RODRIGUES, G. B. *et al.* Análise de trilha de componentes de produção primários e secundários em tomateiro do grupo Salada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 2, p. 155-162, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000200006>.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>.
- SILVA, O. M. dos P. *et al.* Adaptability and phenotypic stability of lettuce cultivars in a semiarid region. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 2, p. 552-558, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n228rc>.
- SILVA, I. G. *et al.* Prediction of genetic gain in sweet corn using selection indexes. **Journal of crop science and biotechnology**, Seoul, v. 23, n. 2, p. 191-196, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12892-019-0334-0>.
- SMITH, H. F. A discriminant function for plant selection. **Annual Eugenics**, Londres, v. 7, n. 3, p. 240-250, 1936. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1936.tb02143.x>.
- SOUSA, C. S. *et al.* Divergência genética entre genótipos de alface por meio de marcadores AFLP. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052007000100002>.
- SOUZA, M. C. M. *et al.* Variabilidade genética para características agrônômicas em progênies de alface tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 354-358, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362008000300012>.
- SUBLETT, W. L.; BARICKMAN, T. C.; SAMS, C. E. The effect of environment and nutrients on hydroponic lettuce yield, quality, and phytonutrients. **Horticulturae**, Basel, v. 4, n. 4, p. 1-15, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae4040048>.
- SYTAR, O. *et al.* Shift in accumulation of flavonoids and phenolic acids in lettuce attributable to changes in ultraviolet radiation and temperature. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 239, p. 193-204, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.020>.
- TASSONE, G. A. T. *et al.* Simultaneous selection in coffee progenies of Mundo novo by selection indices. **Coffee Science**, Lavras, v. 14, n. 1, p. 83-92, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.25186/cs.v14i1>.
- TERRES, L. R. *et al.* Estimativas de ganhos genéticos por diferentes índices de seleção em três populações híbridas de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 305-310, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620150000300005>.

THAKUR, M.; KUMAR, R.; KUMAR, S. Studies on genetic variability, correlation and path analysis in lettuce (*Lactuca sativa* L.) under protected conditions. **Journal of Applied and Natural Science**, Jwalapur, v. 8, n. 4, p. 1924-1930, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.31018/jans.v8i4.1064>.

VIEIRA, S. D. *et al.* Selection of experimental strawberry (*Fragaria x ananassa*) hybrids based on selection indices. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16019052>.

WILLIAMS, J. S. The evaluation of a selection index. **Biometrics**, Princeton, v. 18, p. 375-393, 1962. DOI: <http://dx.doi.org/10.2307/2527479>.