

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUALIDADE AMBIENTAL
MESTRADO EM QUALIDADE AMBIENTAL

JÉSSYCA GONÇALVES DUARTE

Fenotipagem de alto desempenho para pigmentos foliares em genótipos de alface verde

Uberlândia/MG

2021

JÉSSYCA GONÇALVES DUARTE

Fenotipagem de alto desempenho para pigmentos foliares em genótipos de alface verde

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Processos Ambientais.

Orientadora

Prof^a. Dr^a Ana Carolina Silva Siquieroli

Coorientador

Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel

Uberlândia/MG

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

D812f
2021 Duarte, Jéssyca Gonçalves, 1994-
Fenotipagem de alto desempenho para pigmentos foliares em
genótipos de alface verde [recurso eletrônico] / Jéssyca
GonçalvesDuarte. - 2021.

Orientadora: Ana Carolina SilvaSiquieroli.
Coorientador: Gabriel MascarenhasMaciel.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.5301>
Inclui bibliografia.

1. Qualidade ambiental. I. Siquieroli, Ana Carolina Silva, (Orient.).
II. Maciel, Gabriel Mascarenhas, (Coorient.). III. Universidade Federalde
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. IV.
Título.

CDU:574

Nelson Marcos Ferreira
Bibliotecário - CRB-6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental
 BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 2512-6717 - www.ppgmq.iciag.ufu.br - ppgmq@iciag.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Qualidade Ambiental (PPGMQ)				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 7/2021, PPGMQ				
Data:	26 de agosto de 2021	Hora início:	de 9:00	Hora encerramento:	de 12:00
Matrícula da Discente:	11912MQA013				
Nome da Discente:	JÉSSYCA GONÇALVES DUARTE				
Título do Trabalho:	FENOTIPAGEM DE ALTO DESEMPENHO PARA PIGMENTOS FOLIARES EM GENÓTIPOS DE ALFACE				
Área de concentração:	Meio Ambiente e Qualidade Ambiental				
Linha de pesquisa:	Processos Ambientais				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALFACE BIOFORTIFICADAS				
Novo título sugerido pela Banca:					

Reuniu-se por meio de web conferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental (PPGMQ), assim composta: Prof.^ª Dr.^ª Ana Carolina Silva Siquieroli (orientadora da candidata); Gabriel Mascarenhas Maciel (coorientador da candidata); Rafael Resende Finzi (UFU); Fábio Janoni Carvalho (IFTM).

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa Prof.^ª Dr.^ª Ana Carolina Silva Siquieroli apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

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

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título descrito na tabela acima. 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.

Dedico este trabalho ao meu pai Carlos José Gonçalves Dias
(*in memoriam*) a quem tenho eternas saudades

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus que me deu forças, me motivou e foi minha rocha e escudo durante os momentos mais difíceis. Sou grata, pois sem ele nada seria possível. Sou grata pelas pessoas que conheci e os ensinamentos que aprendi.

Agradeço aos meus pais Rosemeire e em especial a meu Pai Carlos (*in memoriam*) com o qual tive pouco convívio, mas sempre demonstrou seu amor por mim. Ele era um homem digno e honrado, que sempre acreditou que o mais importante na vida é o conhecimento e o estudo. A minha mãe por ter me auxiliado a realizar a rega das alfaves manualmente, muitas vezes aos domingos e feriados. A minha irmã Jeaniffer pelo apoio e incentivo durante todos esses anos, pelo amor por mim. Ao meu namorado Brener, que sempre acreditou em mim, me incentivou e me amou, se mostrando não somente um namorado, mas um companheiro, amigo e motivador, a quem amo. Aos meus sogros Adriana e Claudio que sempre demonstraram apoio e incentivo a mim, me tornando parte de sua família.

A minha orientadora Prof^a. Ana Carolina por todo ensinamento, oportunidade que me foi dada, pela ajuda para minha formação como pessoa e como profissional, pela paciência e compreensão em momentos em que eu desanimei, pelo amparo, conforto e por sempre acreditar no meu potencial, sei que a decepcionei algumas vezes, mesmo assim ela nunca desistiu de mim, sou grata a isso também. Agradeço ao meu coorientador Prof. Gabriel Mascarenhas, pelas oportunidades e ensinamentos.

Aos meus amigos e colegas Danielle, Lucas Breno, Lucas Medeiros, Andressa Clemente, Natacha, Nádia, André, Camila Soares pela ajuda nos experimentos.

Agradeço aos professores da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo e campus Glória, por cada conhecimento transferido e pela colaboração da minha formação como profissional. Agradecimentos especiais à professora Adriane e Vanessa Andaló, que além de serem ótimas profissionais são pessoas humanas, compreensíveis.

Aos técnicos administrativos e laboratoriais da UFU. Em especialmente Joicy e Rafael que me auxiliaram durante todos os experimentos. Ao Sr. José que me auxiliou a cuidar das alfaves.

Agradeço a Universidade Federal de Uberlândia (UFU), a Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPP-UFU), ao Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) e ao Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental – UFU pelo incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento sustentável e ambiental.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudos e auxílio financeiro.

“How rare and beautiful it truly is that we exist”

RYAN O’NEAL

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.	11
1 INTRODUÇÃO.	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Alface.....	14
2.2 Biofortificação.	15
2.3 Fenotipagem por imagem.	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5 CONCLUSÕES.....	28
REFERÊNCIAS	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ortofoto referente ao experimento contendo 25 genótipos de alface	19
Figura 2. Valores de temperatura média (Temp), temperatura máxima (Temp max), temperatura mínima (Temp Min) e umidade durante o período de avaliação do experimento.	22
Figura 3. Dendrograma referente a dissimilaridade genética entre os 25 genótipos a partir do Método Hierárquico de ligação média (UPGMA).	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Detalhamento dos índices de vegetação utilizados no experimento de campo.	20
Tabela 2. Médias referentes à clorofila b (CloB), clorofila total (Clo tot), caroteno (carot) e SPAD, em linhagens de alface verde do tipo crespa.	22
Tabela 3. Correlações entre pigmentos <i>versus</i> índices de vegetação	26
Tabela 4. Correlações <i>per se</i> entre pigmentos <i>versus</i> índices de vegetação.	27

RESUMO

DUARTE, JÉSSYCA GONÇALVES. **Fenotipagem de alto desempenho para pigmentos foliares em genótipos de alface verde**. 2021. 38p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

O cultivo de alface possui grande importância socioeconômica no Brasil. Por se tratar de uma hortaliça presente na alimentação, melhoristas de alface têm buscado desenvolver novas cultivares biofortificadas. Um dos entraves tem sido o alto custo das análises realizadas em laboratório aliado a demanda de tempo no campo. Objetivou-se com este trabalho a validação de técnicas por imagem a partir de Veículo Aéreo Não Tripulado (VANT) para seleção de genótipos de alface biofortificadas. O experimento foi realizado em casa de vegetação na Universidade Federal de Uberlândia no delineamento de blocos casualizados com 25 tratamentos e 4 repetições. Foram avaliados quatro diferentes índices de vegetação (NDVI, CVI, GNDVI e CIG), pigmentos foliares (clorofila a, b e total, carotenoide, luteína) e o índice Soil Plant Analysis Development (SPAD). 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 dissimilaridade genética foi representada por dendrograma obtido pelo método hierárquico Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Average (UPGMA). Foi avaliada a correlação entre os índices de vegetação *versus* pigmentos, sendo que os diferentes índices de vegetação foram capazes de mensurar de forma indireta pigmentos foliares em germoplasma de alface verde. A correlação entre os pigmentos, SPAD e o índice NDVI foi confirmada. Germoplasma de alface com ampla variabilidade genética pode interferir nos valores de correlação. Diante disso, sugere-se que os diferentes índices de vegetação sejam analisados individualmente para cada genótipo (*per se*).

Palavras Chaves: *Lactuca sativa* L., Fenômica, Vitamina A, Luteína

ABSTRACT

DUARTE, JÉSSYCA GONÇALVES. **High-performance phenotyping for leaf pigments in lettuce genotypes.** 2021. 38p. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG

Lettuce cultivation has great socioeconomic importance in Brazil. As it is a vegetable present in the diet, lettuce breeders have sought to develop new biofortified cultivars. One of the obstacles has been the high cost of the analyzes carried out in the laboratory, combined with the demand for time in the field. The objective of this study was the validation of imaging techniques using an Unmanned Aerial Vehicle (UAV) for the selection of biofortified lettuce genotypes. The experiment was carried out in a greenhouse at the Federal University of Uberlândia without a randomized block design with 25 treatments and 4 replications. Four different vegetation indices (NDVI, CVI, GNDVI and CIG), leaf pigments (chlorophyll a, b and total, carotenoid, lutein) and the Soil Plant Analysis Development (SPAD) index were evaluated. Data were prepared by analysis of variance using the F test ($p \leq 0.05$). Means were compared using the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). The genetic dissimilarity was represented by a dendrogram described by the hierarchical method of Unweighted Pairs-Groups Method Using the Arithmetic Mean (UPGMA). A correlation between vegetation indices versus pigments was evaluated, and the different vegetation indices were able to indirectly measure leaf pigments in green-faced germplasm. The correlation between pigments, SPAD and NDVI index was confirmed. Lettuce germplasm with wide genetic variability may interfere with correlation values. Therefore, it is suggested that the different vegetation indices be analyzed individually for each genotype (*per se*).

Keywords: *Lactuca sativa* L., Phenomics, Vitamin A, Lutein

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa da família Asteraceae de grande importância econômica no Brasil. Em 2019, seu cultivo no país ocupou aproximadamente 35.000 hectares (OLIVEIRA et al., 2019). Apesar da ampla distribuição nacional e por se tratar da folhosa mais consumida, a alface não é considerada um alimento nutritivo, devido ao seu alto teor de água (cerca de 95%) (KIM et al., 2016). No entanto, por meio de métodos de melhoramento clássico é possível obter plantas biofortificadas, ricas em diversos nutrientes (MACIEL et al., 2019; CAMEJO et al., 2020). Sendo assim, a alface biofortificada pode ser considerada uma importante fonte de carotenoides na alimentação.

O alfa e betacaroteno (provitamina A), atua na expressão gênica, no crescimento e desenvolvimento físico, na manutenção da integridade das células epiteliais e no sistema imunológico de humanos (SALES; PEDRAZA, 2013). A deficiência de vitamina A se destaca entre os principais problemas nutricionais em grande parte da população de países em desenvolvimento (JULICRISTIE, OLIVEIRA, BERGAMASCHI, 2009) e os principais grupos de risco são crianças em idade pré-escolar, gestantes e lactantes (LIRA, 2011). A falta desse nutriente pode acarretar sintomas como secura da pele, olhos e membranas mucosas, desenvolvimento atrasado e crescimento reduzido em crianças, além de cegueira noturna (NELSON; COX, 2011).

A luteína é um dos principais carotenoides existentes, sendo o segundo em maior prevalência no corpo humano (UENOJO et al., 2007). É um pigmento natural lipofílico da classe dos carotenoides que possui propriedades antioxidantes (SOBRAL et al., 2014). Atua principalmente na redução do risco de desenvolvimento da degeneração macular induzida pelo envelhecimento (DMIE) (DA CUNHA et al., 2020).

Uma alternativa viável para a suplementação de carotenoides é a implementação do consumo de alfaces biofortificadas obtidas por meio de métodos de melhoramento genético clássico. O uso destes alimentos auxilia nas deficiências de nutrientes, as quais atingem grande parte da população mundial e vem adversar a chamada fome oculta (MANOS; WILKINSON, 2016).

Apesar da facilidade e simplicidade das técnicas tradicionais de fenotipagem, estas se tornam onerosas gastando tempo, recurso financeiro e podem levar a erros experimentais. A fim de aumentar a precisão, acurácia e rapidez das mensurações fenotípicas, práticas com base em análise e processamentos de imagens digitais têm sido utilizadas como alternativa às

avaliações convencionais, por proporcionar maior confiabilidade dos resultados obtidos (CORTES et al., 2017).

A fenotipagem de larga escala conhecida como fenômica, vem permitindo a geração de grande quantidade de dados em um período relativamente menor quando comparado a métodos convencionais (SOUSA et al., 2015). Possibilita determinar os valores qualitativos ou quantitativos das características em estudo e relacioná-las ao desempenho de um genótipo em determinado ambiente (DHONDT et al., 2013). As novas técnicas de fenotipagem têm avançado em escala, precisão, reprodutibilidade e complexidade em relação às técnicas tradicionais, principalmente pelo uso de imagens geradas em plataformas automatizadas (DE SOUSA et al., 2015).

Por intermédio de drones equipados com câmeras que apresentam sensores RGB e infravermelho, com o auxílio de ferramentas computacionais, têm-se os índices de vegetação. Os índices são equações matemáticas desenvolvidas para diferentes finalidades que auxiliam na avaliação e seleção de plantas superiores. Desse modo, em imagens contendo faixas específicas do espectro visível, em que os pigmentos foliares absorvem fortemente a radiação, é possível avaliar os teores dos principais pigmentos que estão ligados diretamente à fotossíntese, como as clorofilas e os carotenoides (SOUSA, 2014).

Neste contexto, objetivou-se com este trabalho a validação de técnicas por imagem a partir de Veículo Aéreo Não Tripulado (VANT) para seleção de genótipos de alface biofortificadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alface

A alface pertence à família Asteraceae e tem como centro de origem a região Asiática. Ao redor do ano 4.500 a.C. já era conhecida no antigo Egito e chegou ao Brasil no século XVI, por meio dos portugueses. Essa hortaliça originária do Leste do Mediterrâneo foi muito popular na Roma antiga na época do Imperador Domitien e, posteriormente, dispersa em toda Europa (DAVIS et al., 1997). No continente americano foi introduzida por volta do século XV e desde 1647 é cultivada no Brasil (RYDER; WHITAKER, 1976).

Suas folhas possuem cores verdes até cores mais arroxeadas, estando presas a um pequeno caule. Suas raízes são do tipo pivotante com extrema ramificação, o que permite a exploração intensa na proximidade da inserção ao meio de cultivo (FILGUEIRA, 2013).

A produção de hortaliças é a atividade que mais se adapta aos produtores rurais familiares, em virtude de não exigir grandes áreas e maquinários modernos. Esse vegetal possui diferentes canais de mercado para comercialização (SEBRAE, 2011).

A alface é a hortaliça mais popular entre as folhosas, sendo conhecida mundialmente. O seu consumo ocorre principalmente na forma *in natura*. Esse vegetal tem sua origem no clima temperado. A sua adaptação em regiões com temperaturas elevadas tem gerado obstáculos ao seu crescimento e desenvolvimento, impedindo que a cultura expresse todo o seu potencial genético (ALMEIDA et al., 2011).

A alface apresenta baixo teor calórico (18 Kcal) (OHSE et al., 2001), e uma composição nutricional média a cada 100g de: 94% água; 1,3 g proteínas; 3,5 g carboidratos totais; 0,7 g fibra; 68 mg cálcio; 27 mg fósforo; 1,4 mg ferro; 264 mg potássio; 0,05 mg tiamina; 0,08 mg riboflavina; 0,4 mg niacina; 18,0 mg vitamina C. Entretanto, os teores acumulados nas folhas ainda são baixos, se comparados ao de outras hortaliças, sendo assim, o incremento na síntese e acúmulo desses metabólitos tem sido foco de estudos envolvendo a biofortificação da alface (HAWRYLAK-NOWAK, 2013)

De acordo com Henz e Suinaga (2009), as cultivares mais consumidas no país são divididas em cinco grandes grupos por tipos morfológicos: Repolhuda Lisa, representada por folhas lisas, delicadas e macias, com nervuras pouco salientes e de aspecto oleoso, formando uma cabeça compacta; Repolhuda Crespa ou Americana, com folhas crespas, consistentes e crocantes, cabeça grande e bem compacta; Solta Lisa, folhas lisas e soltas, delicadas, sem

formação de cabeça compacta; Solta Crespa: folhas grandes e crespas, textura macia e consistente, sem formação de cabeça, cor verde ou roxa; e Tipo Romana: folhas alongadas e duras, com nervuras claras, uma cabeça fofa e alongada.

2.2 Biofortificação

Os déficits nutricionais constituem um sério problema de saúde pública, afetando mais de metade da população mundial, particularmente aquelas dos países em desenvolvimento (WHO, 2018). O estado de carência de determinados nutrientes no organismo é definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como fome oculta (WHO, 2014). Órgãos como OMS, Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e Fundo das Nações Unidas para a Infância (Unicef) sugerem que para o combate à fome oculta é necessário a implementação de programas de intervenção direcionados para a fortificação de alimento (MARZULLO, 2021).

A deficiência de micronutrientes específicos como zinco, vitamina A e ferro pode resultar na redução da capacidade de trabalho, distúrbios no sistema imunológico e doenças como a anemia (NUTTI, 2021; LOUREIRO et al., 2018).

Em 1993 foram iniciados estudos voltados para a biofortificação de alimentos buscando melhorias na qualidade nutricional por meio de procedimentos como o melhoramento genético, emprego de técnicas agronômicas e da biotecnologia (LONG, BÄNZIGER, SMITH., 2004; WELCH, GRAHAM., 2005; WHITE, BROADLEY., 2005).

Uma técnica considerada importante no combate à fome oculta é a biofortificação dos alimentos por métodos de melhoramento genético convencional, ou seja, seleção e cruzamento entre plantas da mesma espécie, gerando cultivares mais nutritivas. Programas de melhoramento genético de alimentos básicos como arroz, feijão, feijão-caupi, mandioca, batata-doce, milho, abóbora e trigo vêm sendo desenvolvidos no Brasil (EMBRAPA, 2020).

Na perspectiva de produção de alimentos biofortificados com propriedades nutricionais e funcionais, dois grupos fitoquímicos são os mais visados: carotenoides e compostos fenólicos (MUZHINGI et al., 2017). No caso de carotenoides, os principais avanços foram na prospecção de novos genótipos (IORIZZO et al., 2016; MUTHUSAMY et al., 2016) e no melhoramento genético convencional (YE et al., 2000; FARRÉ et al., 2011; DA SILVA SOUZA et al., 2020).

A introdução de cultivos biofortificados com genótipos que apresentam maiores conteúdos de minerais e vitaminas poderá complementar as intervenções em nutrição existentes

e proporcionar uma maneira sustentável e de baixo custo no combate à desnutrição (CARVALHO; NUTTI, 2012). No entanto, para validação é necessário avaliar os componentes vegetais, o que tem limitado estudos nessa linha, devido ao alto custo e demanda de tempo de análises laboratoriais de componentes vegetais (MACIEL et al., 2019).

2.3 Fenotipagem por imagem

As técnicas tradicionais de fenotipagem de plantas são baseadas em características facilmente mensuráveis, como exemplo o peso, a altura e o tamanho das plantas. Medidas como estas podem ser realizadas em qualquer horário, sem protocolo, preparação prévia da amostra ou conhecimentos profundos para a obtenção e interpretação dos dados (SOUSA et al., 2015). Entretanto, estas análises são demoradas e onerosas, com alto índice de erro operacional, tornando-se necessárias técnicas modernas e mais rápidas (TSCHIEDEL, 2002).

A fenotipagem em larga-escala, denominada como fenômica, tem como objetivo empregar ferramentas computacionais derivadas da agricultura de precisão aliadas ao melhoramento de plantas (TSCHIEDEL; FERREIRA, 2002). É grande aliada a programas de melhoramento genético de plantas, especialmente aqueles voltados para a seleção, descoberta e validação de genes ou, ainda, para a seleção de genótipos com características desejáveis (SOUSA et al., 2015).

O uso da fenotipagem por imagem tem sido cada vez mais utilizado em programas de melhoramento genético vegetal (BRISSON et al., 2010; SOUSA et al., 2015). 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).

As novas técnicas de fenotipagem têm avançado muito em plataformas, metodologias, automação, georreferenciamento, controle de condições de realização dos ensaios, volume de dados coletados, softwares, precisão e acurácia, reprodutibilidade e complexidade (CANTERI et al, 2015).

É possível empregar ferramentas do sensoriamento remoto para identificar quantidades de pigmentos vegetais. Nessa técnica são utilizados sensores remotos proximais de reflectância visando estimar, por exemplo, o *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI) os quais permitem o acompanhamento e monitoramento de variações ao longo do desenvolvimento da cultura (JESUS et al., 2014). O NDVI, sendo o primeiro índice a ser descrito na literatura por

Rousse et al. (1973), se tornou com o tempo o índice mais conhecido e utilizado em aplicações na agricultura. Sua composição leva em conta a reflectância da planta nos comprimentos de onda do vermelho e do infravermelho e relaciona-se com o teor de biomassa, área foliar, estresse entre outros fatores (MAGALHÃES, 2019).

Outros índices foram sendo propostos com a utilização de diferentes bandas de cores. Um exemplo, foi o *Green Normalized Difference Vegetation* (GNDVI) proposto por Gitelson et al. (1996). É um índice adaptado do NDVI e que utiliza a banda do verde em substituição ao vermelho.

Em 1988, Huete propôs o *Vegetation Index Soil-Adjusted* (SAVI), também adaptado do NDVI. É um índice que pondera efeitos do solo exposto em imagens de sensores remotos, para ajuste do NDVI quando da não ocorrência de completa cobertura da superfície pela vegetação.

Para a obtenção desses índices é necessário a captura de imagens aéreas com câmeras dotadas de sensores como os digitais para captura de imagens RGB; sensores no visível para a captura de imagens de pigmentos; sensores no infravermelho próximo para a captura de imagens relacionadas aos índices de água; sensores no infravermelho longo para a captura de imagens térmicas e sensores para a captura de fluorescência, especialmente de clorofilas. O uso desses sensores permite o estudo de diversas características biológicas da planta como: análise do crescimento; determinação de pigmentos, como clorofilas e carotenoides; avaliação do aparato fotoquímico; temperatura da copa, para identificação de estresse hídrico e salino (SOUSA, 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de junho a setembro de 2019, na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo (18°42'43,19"S; 47°29'55,8"; 873 m de altitude).

Foram avaliadas 23 linhagens de alface tipo crespa e lisa com folhas verdes pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético de alface Biofortificada e Tropicalizada da UFU. As linhagens são provenientes da hibridação entre as cultivares belíssima *versus* Uberlândia 10000, rica em carotenoide (SOUZA et al., 2008) seguido de sete sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 a 2018. O método de melhoramento utilizado foi o genealógico. Foi utilizada como testemunha a cv. Grand Rapids (tipo crespa com folhas verdes) totalizando 25 tratamentos e quatro repetições em delineamento de blocos casualizados.

A semeadura foi realizada em 29 de junho de 2019. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido com 200 células preenchidas com substrato comercial a base de fibra de coco. Após a semeadura as bandejas permaneceram em casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5 m x 6 m e pé direito de 3,5 metros coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioleta, e cortinas laterais de tela branco anti-afídeos.

Aos 37 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 implantar o experimento foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0 - 20 cm e analisadas no Laboratório de Fertilidade do Solo da Universidade Federal de Uberlândia. O resultado da análise físico-química está descrito a seguir: textura argilosa (> 50%); pH em CaCl₂ = 4,9; SOM = 3,9 dag kg⁻¹; P(rem) = 79,1 mg dm⁻³; K = 0,29 cmol-dm⁻³; Ca = 3,3 cmolc dm⁻³; Mg = 1,3 cmolcdm⁻³; H + Al = 4,9 cmol.cdm⁻³; SB = 4,90 cmol.cdm⁻³; CEC = 9,80 cmolcdm⁻³; BS% = 50.

Os tratos culturais foram realizados conforme preconizado para o cultivo de alface (FILGUEIRA, 2013). A análise do solo, requisitos e as recomendações para a cultura de Ribeiro et al. (1999) foram utilizados para calcular os fertilizantes necessário para o plantio, cobertura e calagem.

O experimento foi constituído por parcelas com 20 plantas (Figura 1), separadas em cinco fileiras por canteiro no espaçamento de 0,25 m x 0,25 m, sendo avaliadas as oito plantas centrais.



Figura 1. Ortofoto referente ao experimento contendo 25 genótipos de alface, sendo: 4= UFU-206#1#6#1, 8= UFU BIOFORT189E8, 9= UFU-197#3#1#1, 10= UFU-125#1#1#1, 11= UFU-7#1#2#1, 12= UFU BIOFORT155E12, 21= UFU BIOFORT120E21, 22= UFU BIOFORT189E22, 23= UFU-197#2#1#1, 24= UFU-199#3#1#1, 28= UFU-206#1#1#1, 32= UFU BIOFORT206E32, 34= UFU-197#1#1, 36= UFU-197#2#2#1, 39= UFU BIOFORT155E39, 43= UFU-189#3#4#1, 44= UFU-206#1#4#1, 45= UFU-125#2#2#1, 46= UFU-206#1#2#1, 48= UFU BIOFORT189E48, 51= UFU-206#1#5#1, 52= UFU-040#5#5#1, 53= UFU MC BIOFORT1, 54= Grand Rapids e 55= Uberlândia 10000.

Após o décimo oitavo dia após o transplante no campo foi realizado o voo para obtenção das imagens. Os parâmetros utilizados no voo foram: altura de 20 metros, sobreposição longitudinal de 80% e sobreposição lateral de 75%. O voo foi realizado com o auxílio automático do software proprietário DroneDeploy. As imagens obtidas foram processadas no software Pix4Dmapper para geração da ortoimagem. A calculadora raster do software Quantum GIS 3.10.0 (QGIS Development Team, Open Source Geospatial Foundation) foi utilizada para calcular os índices de vegetação (Tabela 1). Para o cálculo do índice médio de cada parcela, as imagens foram segmentadas, removendo os valores dos pixels referentes ao solo no software ImageJ ®.

Tabela 1. Detalhamento dos índices de vegetação utilizados no experimento de campo.

Índice de vegetação	Equação ¹	Referência
Chlorophyll Index Green (CIG)	$NIR/G-1$	Gitelson et al. (2003)
Chlorophyll vegetation index (CVI)	$N*R/G^2$	Vincini et al. (2008)
Green Normalized Difference Vegetation Index (GNDVI)	$(NIR-G)/(NIR+G)$	Gitelson et al. (1996)
Normalized Difference Vegetation Index (NDVI)	$(NIR-R)/(NIR+R)$	Rouse et al. (1974)

¹NIR= banda do infravermelho próximo; G= banda do verde; R= banda do vermelho.

Os índices de vegetação testados (Tabela 1) derivaram de imagens capturadas por uma câmera de canais RGN (vermelho + verde + infravermelho próximo) (Survey3 MAPIR) acoplada a um drone DJI Phantom 4 Advanced.

Decorridos 35 dias após o transplântio foram coletados os valores do índice SPAD por meio da leitura realizada nas quatro plantas centrais de cada parcela, obtendo-se o valor médio das leituras. Foram realizadas quatro leituras por planta, evitando-se as nervuras e higienizando-se as folhas previamente com um papel toalha limpo. Foi utilizado o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030.

A colheita foi realizada aos 35 dias após o transplântio. Foram coletadas subamostras das plantas de cada genótipo para quantificação de pigmentos.

A extração de carotenoides totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Lichtenthaler e Wellburn (1983) com adaptações em relação a massa e volume de reagente. As folhas de cada planta foram lavadas e trituradas com auxílio de um mixer de modo que as partículas atingissem em média 10 mm de tamanho. Foram pesadas 0,5 g de folhas trituradas e adicionou-se 2,5 ml de acetona P.A. e 2,5 ml de éter de petróleo P.A. Essas amostras foram acondicionadas em tubos de ensaio fechados por 24h na ausência de luz. Após este período foram verificadas as absorvâncias das amostras em espectrofotômetro UV-190. Com os resultados, calculou-se os teores de clorofila a clorofila b e clorofila total (WITHAM et al., 1971), e dos carotenoides (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983).

Para extração de luteína foi seguido o protocolo de Chen et al. (2016) com adaptações onde inicialmente foi pesado 0,5 g de triturado de folhas frescas de alface, adicionou-se 2 mL de Tetrahidrofurano e 1 mL de KOH à 10%. Adicionou-se 2mL de éter de petróleo e incubou-se à 25°C por 24h na ausência de luz. Após este período foi adicionado Na₂SO₄ a 25% e em

seguida, 2mL de álcool etílico absoluto. O sobrenadante foi lido em um leitor de microplaca da marca Thermo Scientific™ Multiskan™ FC e assim, obtidos as absorbâncias e calculado os teores de luteína.

Os dados obtidos no trabalho foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). As médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Os teores de clorofila a, b e total foram utilizadas na análise de divergência genética, representada por dendrograma obtido pelo método UPGMA, a fim de apurar e caracterizar o germoplasma de alfaces da UFU. Em adição, foi realizada as correlações de Pearson comparando os pigmentos *versus* índices de vegetação. Todos os dados obtidos foram analisados utilizando-se o software Genes v. 2015.5.0 (CRUZ, 2013).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de avaliação (agosto a setembro), a temperatura máxima foi de 36°C (média = 29°C). Valores como esses são considerados acima da faixa ideal para o desenvolvimento da cultura da alface que está entre 15,5 °C a 18,3 °C, apesar de tolerarem faixas entre 26,6 °C a 29,4 °C, desde que as temperaturas noturnas sejam baixas (SANDERS, 2013). Não houve ocorrência de precipitação e a demanda hídrica foi realizada via irrigação.

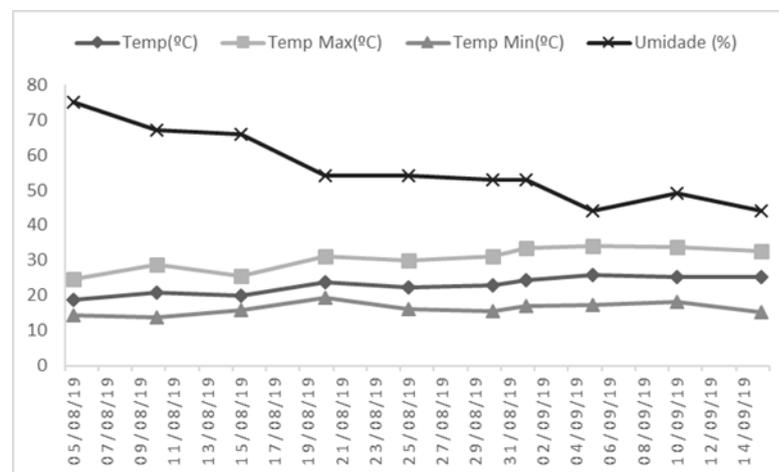


Figura 2. Valores de temperatura média (Temp), temperatura máxima (Temp max), temperatura mínima (Temp Min) e umidade durante o período de avaliação do experimento.

Houve diferenças significativas pelo teste F ($p \leq 0,05$) entre as linhagens para as variáveis respostas avaliadas, exceto para clorofila a e luteína (Tabela 2).

Tabela 2. Médias referentes à clorofila b (CloB), clorofila total (Clo tot), caroteno (carot) e SPAD, em linhagens de alface verde do tipo crespa. Monte Carmelo, UFU, 2021

Genótipo	CloB	Clo tot	Carot	SPAD
	(mg/100g)	(mg/100g)	(mg/100g)	
UFU-206#1#6#1	2,38 b	8,05 c	0,29 b	23,40 c
UFU BIOFORT189E8	2,90 a	8,96 b	0,35 a	24,97 b
UFU-197#3#1#1	2,33 b	8,15 c	0,34 a	21,61 c
UFU-125#1#1#1	2,07 b	7,63 d	0,30 b	17,98 d
UFU-7#1#2#1	2,33 b	8,15 c	0,35 a	23,16 c
UFU BIOFORT155E12	1,23 b	6,28 d	0,28 b	17,66 d
UFU BIOFORT120E21	1,83 b	6,59 d	0,25 b	17,26 d

UFU BIOFORT189E22	2,70 a	7,97 a	0,34 a	28,18 a
UFU-197#2#1#1	1,51 b	7,42 b	0,31 b	24,40 b
UFU-199#3#1#1	2,00 b	8,40 b	0,35 a	25,43 b
UFU-206#1#1#1	1,72 b	6,82 c	0,28 b	20,18 c
UFU BIOFORT206E32	3,20 a	10,22 a	0,41 a	29,38 a
UFU-197#1#1	3,52 a	10,63 a	0,39 a	29,68 a
UFU-197#2#2#1	2,04 b	7,06 c	0,29 b	22,03 c
UFU BIOFORT155E39	1,86 b	7,46 d	0,27 b	17,33 d
UFU-189#3#4#1	2,93 a	9,73 b	0,36 a	25,58 b
UFU-206#1#4#1	3,50 a	6,84 c	0,23 b	20,50 c
UFU-125#2#2#1	2,07 b	7,83 c	0,31 b	21,58 c
UFU-206#1#2#1	1,91 b	8,41 c	0,33 a	22,67 c
UFU BIOFORT189E48	1,74 b	6,35 c	0,28 b	21,22 c
UFU-206#1#5#1	2,50 b	8,06 b	0,34 a	24,33 b
UFU-040#5#5#1	3,49 b	7,47 c	0,34 a	22,71 c
UFU MC BIOFORT1	2,04 b	10,60 a	0,36 a	28,77 a
Grand Rapids	1,39 b	5,40 d	0,25 b	18,85 d
Uberlândia 10000	1,94 b	8,40 d	0,30 b	19,27 d
CV(%)	36,05	20,01	16,92	11,29

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância.

Seis genótipos apresentaram maiores teores de clorofila b em relação às testemunhas (cv. Grand Rapids e Uberlândia 10000): UFU BIOFORT189E8, UFU BIOFORT189E22, UFU BIOFORT206E32, UFU-197#1#1, UFU-189#3#4#1 e UFU-206#1#4#1. Para o teor de clorofila total, quatro genótipos se destacaram: UFU BIOFORT189E22, UFU BIOFORT206E32, UFU-197#1#1 e UFU MC BIOFORT1, diferenciando significativamente da variedade comercial cv. Grand Rapids e o genitor Uberlândia 10000 (Scott-Knott, $p \leq 0,05$).

Estudos realizados por Lee (1988) mostraram que o teor de clorofila varia muito entre as espécies. Além disso, de acordo com Engel e Poggiani (1991), a eficiência fotossintética está ligada ao teor de clorofila das plantas, afetando o crescimento e influenciando na sua adaptabilidade aos diversos ambientes.

Os pigmentos fotossintéticos desempenham papel fundamental na fisiologia da planta. As clorofilas a e b estão presentes em todos os organismos que realizam fotossíntese, sendo pigmentos fundamentais, com destaque para a clorofila a, na fase fotoquímica (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Os genótipos UFU BIOFORT189E8, UFU-197#3#1#1, UFU-7#1#2#1, UFU BIOFORT189E22, UFU-199#3#1#1, UFU BIOFORT206E32, UFU-197#1#1, UFU-

189#3#4#1, UFU-206#1#2#1, UFU-206#1#5#1, UFU-040#5#5#1 e UFU MC BIOFORT1 apresentaram melhores teores de carotenoides (Scott-knott, $p \leq 0,05$) (Tabela 2) entre os 25 genótipos avaliados.

Os carotenoides, com função de pigmentos acessórios na fotossíntese, podem também atuar como agentes antioxidantes frente à aceleração da produção de etileno e da respiração celular (VALKO et al., 2004), protegendo, juntamente com o incremento do teor de clorofilas, e, conseqüentemente, favorecendo a manutenção da coloração esverdeada da planta (ZAICOVSKI et al., 2008).

A presença dos carotenoides (alfa e betacaroteno), considerados como provitamina A, na alimentação humana, pode favorecer o crescimento e desenvolvimento físico, a manutenção da integridade das células epiteliais e do sistema imunológico (SALES; PEDRAZA, 2013). Entre os problemas nutricionais de grande parte da população de países em desenvolvimento, a deficiência de vitamina A se destaca (JULICRISTIE, OLIVEIRA, BERGAMASCHI, 2009).

Os genótipos UFU BIOFORT189E22, UFU BIOFORT206E32 e UFU-197#1#1 apresentaram estatisticamente as melhores médias para clorofila b, clorofila total e carotenoides, apresentando-se como promissores na seleção de linhagens de alface biofortificadas.

As linhagens UFU BIOFORT189E22, UFU BIOFORT206E32, UFU-197#1#1 e UFU MC BIOFORT1 apresentaram os maiores valores de índice SPAD (Scott-knott, $p \leq 0,05$) (Tabela 2). O índice SPAD está correlacionado com a eficiência fotossintética que pode levar ao incremento de produtividade agrícola. Esta relação está diretamente relacionada com o aproveitamento da radiação disponível por esses pigmentos (SILVA et al., 2014).

Para validar a utilização da fenotipagem de alto desempenho, faz-se necessário comprovar a existência de variabilidade genética entre os genótipos caracterizados (Maciel et al., 2019). No presente estudo, foi confirmada a variabilidade genética entre as linhagens de alface verde (Figura 3).

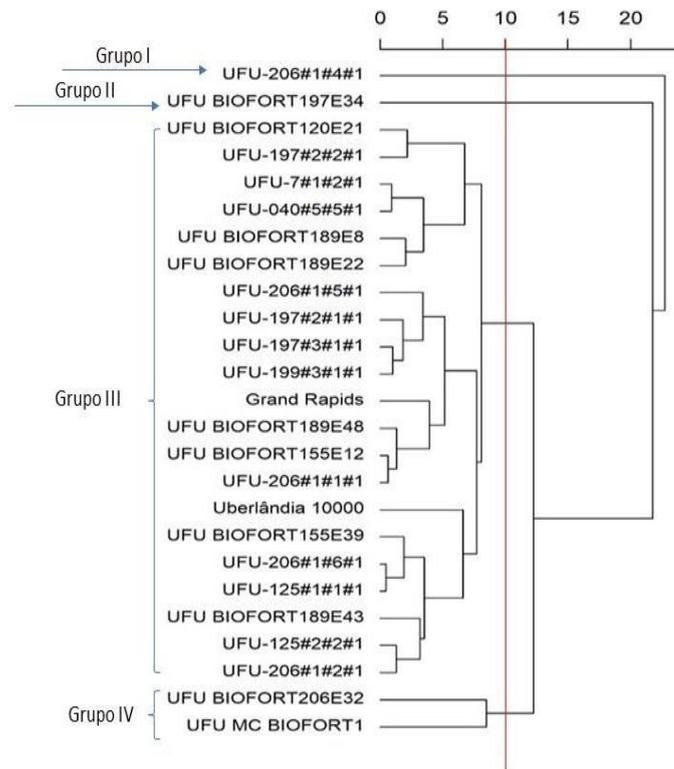


Figura 3. Dendrograma referente a dissimilaridade genética entre os 25 genótipos a partir do Método Hierárquico de ligação média (UPGMA).

Em bancos de germoplasma, estudos de divergência genética são importantes para possibilitar o monitoramento, visando sua conservação, manejo e/ou melhoramento (IVANI, 2010). Tais estudos são obtidos por meio de análises multivariadas, pois envolvem vários caracteres, podendo ser interpretados por métodos de agrupamentos hierárquicos (FARIA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2006).

O dendrograma UPGMA apresentou correlação frenética de 0,858 (teste t, $p < 0,05$). Esse resultado indica maior confiabilidade na conformação de grupos identificada visto que o dendrograma reflete satisfatoriamente os dados da matriz e os agrupamentos subsequentes. A linha de corte foi traçada aos 10 % de dissimilaridade genética estabelecendo em pontos de mudanças abrupta nos ramos do dendrograma (Cruz et al., 2012). Observou-se a formação de quatro grupos. Os grupos I e II foram compostos por 1 linhagem em cada; o grupo III por 21 linhagens; e o grupo IV por 2 linhagens.

O índice de vegetação NDVI apresentou as maiores correlações para clorofila a (52%), clorofila total (52%) e SPAD (42%) (Tabela 3). Este índice vem sendo uma ferramenta útil, rápida e não destrutiva para o monitoramento do vigor vegetativo (SILVA et al., 2015a), estimativa do índice de área foliar (IAF) (SILVA et al., 2015a) e para acessar o estado fisiológico da planta (SILVA et al., 2015b). Os resultados obtidos indicam que o índice espectral NDVI se mostrou eficiente como indicativo para teor de clorofila em genótipos de alface.

Tabela 3. Correlações entre pigmentos *versus* índices de vegetação. Monte Carmelo, UFU, 2021.

	CloA	CloB	Clo total	Carot	Luteína	SPAD	NDVI	CVI	GNDVI	CIG
Clo A		0,51	0,95	0,82	-0,19	0,43	0,52	-0,24	0,00	-0,10
Clo B			0,63	0,30	-0,15	0,46	0,37	-0,11	0,07	-0,01
Clo total				0,78	-0,25	0,48	0,52	-0,21	0,03	-0,07
Carot					0,07	0,51	0,39	-0,07	0,16	0,05
Luteína						0,05	-0,07	0,11	0,09	0,09
SPAD							0,42	0,04	0,32	0,19
NDVI								-0,59	-0,40	-0,55
CVI									0,82	0,91
GNDVI										0,97
CIG										

Teste f significativo a 0,5%

Adicionalmente, altas correlações foram obtidas entre os clorofila a *versus* carotenoides (82%) e clorofila total *versus* carotenoides (78%). Sugere-se que as altas correlações encontradas estejam relacionadas a função associada destes pigmentos no metabolismo vegetal que por sua vez, está intimamente ligado à atividade fotossintética (TAIZ, ZIEGER, 2013).

Vale ressaltar que para as análises de correlação foram utilizados os dados obtidos dos 25 genótipos em conjunto (Tabela 3). Ao realizar o cálculo da correlação utilizando os genótipos individualizados, torna-se possível maior estabilidade dos valores e correlações mais acreditadas sem efeitos da variabilidade genética. Diante disso, fica evidente que pode existir maior desempenho de um índice para um genótipo específico (Tabela 4).

Tabela 4. Correlações *per se* entre pigmentos *versus* índices de vegetação. Monte Carmelo, UFU, 2021

UFU BIOFORT189E22				
	NDVI	CVI	GNDVI	CIG
ClorofilaA	0.65	-0.75	-0.77	-0.71
ClorofilaB	-0.06	-0.08	-0.12	-0.02
Clorofilatotal	0.55	-0.65	-0.68	-0.61
carotenoide	0.00	-0.13	-0.17	-0.08
Luteína	-0.79	0.70	0.67	0.74
SPAD	0.35	-0.23	-0.19	-0.28
UFU BIOFORT206E32				
	NDVI	CVI	GNDVI	CIG
ClorofilaA	0.40	-0.81	-0.48	-0.63
ClorofilaB	0.79	-0.99	-0.84	-0.92
Clorofilatotal	0.31	-0.75	-0.39	-0.55
carotenoide	0.60	-0.92	-0.67	-0.79
Luteína	0.99	-0.92	-1.00	-0.99
SPAD	0.98	-0.94	-0.99	-1.00
Grand Rapids				
	NDVI	CVI	GNDVI	CIG
ClorofilaA	0.88	-0.49	-0.82	-0.78
ClorofilaB	0.88	-0.49	-0.82	-0.78
Clorofilatotal	0.88	-0.49	-0.82	-0.78
carotenoide	0.88	-0.49	-0.82	-0.78
Luteína	-0.88	0.49	0.82	0.78
SPAD	0.56	-0.91	-0.64	-0.69
Uberlândia 10000				
	NDVI	CVI	GNDVI	CIG
ClorofilaA	-0.21	0.59	0.91	0.82
ClorofilaB	-0.02	0.42	0.81	0.69
Clorofilatotal	0.96	-0.76	-0.34	-0.51
carotenoide	-0.96	0.99	0.80	0.90
Luteína	-0.98	0.97	0.74	0.85
SPAD	0.94	-1.00	-0.85	-0.93

5 CONCLUSÕES

Os diferentes índices de vegetação analisados foram capazes de mensurar de forma indireta pigmentos foliares em germoplasma de alface verde. A correlação entre os pigmentos foliares, SPAD e o índice NDVI foi confirmada.

Foi possível verificar divergência genética no banco de germoplasma de alfaces verdes biofortificadas e tropicalizadas da UFU.

A utilização de índices de vegetação em germoplasma de alface verde com ampla variabilidade genética pode interferir nos valores de correlação. Diante disso, sugere-se que os diferentes índices de sejam analisados individualmente para cada genótipo (*per se*).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T. B. F. et al. Avaliação nutricional da alface cultivada em soluções nutritivas suprimidas de macronutrientes doi: 10.5007/2175-7925.2011v24n2p27. **Biotemas**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 1-10, 3 jun. 2011. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). <http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2011v24n2p27.2011>
- BRISSEON, N. et al. Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. **Field Crops Research**, v. 119, n. 1, p. 201-212, 2010.
- 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, J. L. V. DE; NUTTI, M. R. **Biofortificação de produtos agrícolas para nutrição humana**. 2012.
- CASSETARI, L. de S. Teores de clorofila e β -caroteno em cultivares e linhagens de alface. 2012. 68 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Agronomia/fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- CASSETARI, L. S. et al. β Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, n. 1083, p. 469-473, 2015. DOI:<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.60>.
- CHEN, C. et al. Production, extraction and stabilization of lutein from microalga *Chlorella sorokiniana* MB-1. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 500-505, 2016.
- CORTES, D. F. M. et al. Modelassisted phenotyping by digital images in papaya breeding program. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 4, p. 294-302, 2017.
- CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Sci. Agron.**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- DA CUNHA, C. T. et al. Extração e caracterização por espectroscopia da luteína a partir de flores *Tagetes* spp. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 46030-46035, 2020.
- SILVA, S. M. A. et al. Changes in flavonoid and carotenoid profiles alter volatile organic compounds in purple and orange cherry tomatoes obtained by allele introgression. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 4, p. 1662-1670, 2020.
- SOUSA, C. A. F. et al. Nova abordagem para a fenotipagem de plantas: conceitos, ferramentas e perspectivas. **Rev. Bras. Geogr. Fásica**, v. 8, n. IV SMUD, p. 660-672, 2015.
- DAVIS, R. M. et al. Compendium of lettuce diseases. St. Paul: **The American Phytopathological Society**. 1997.
- DHONDT, S.; WUYTS, N.; INZÉ, D. Cell to whole-plant phenotyping: the best is yet to come. **Trends in Plant Science** v. 18, n. 8, p. 428-439, 2013.

EMBRAPA. **Plantas biofortificadas têm alta produtividade e fornecem alimentos enriquecidos**. 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2246805/plantas-biofortificadas-tem-alta-produtividade-e-fornecem-alimentos-enriquecidos>. Acesso em: 10 mar. 2021.

EMBRAPA. **Rede BioFORT**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/biofort>. Acesso em: 01 out. 2021.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.3, n.1, p.39-45, Jun. 1991.

FARIA, P. N. et al. Métodos de agrupamento em estudo de divergência genética de pimentas. *Horticultura Brasileira*, v. 30, n. 3, p. 428-432, 2012. IVANI, S. de A. Caracteres quantitativos de interesse para a determinação da variação genética em populações de *Oenocarpus bacaba* Mart., (Arecaceae) no Amapá. 2010. 51 f. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FARRÉ, G. et al. **Nutritious crops producing multiple carotenoids—a metabolic balancing act**. *Trends in plant science*, v. 16, n. 10, p. 532-540, 2011.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. rev. ampl. Viçosa: UFV, 2013. 421p.

GITELSON, A., KAUFMAN, Y., MERZLYAK, M. Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS. **Remote Sensing of Environment**, 58, 289 – 298. 1996.

GITELSON, A. A.; GRITZ, Y.; MERZLYAK, M. N. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. **Journal of Plant Physiology**, vol. 160, n. 3, p. 271-282, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00887>.

GITELSON, A. A.; MERZLYAK, M. N.; LICHTENTHALER, H. K. Detection of red edge position and Chlorophyll. **Journal Plant of Physiology**, vol. 148, n.3-4, p. 501-508, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(96\)80285-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80285-9).

GRAHAM, R. D. et al. Nutritious subsistence food systems. **Advances in Agronomy**, v. 92, p.1-74, 2007.

HAWRYLAK-NOWAK, B. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. **Plant Growth Regulation**, v. 70, n. 2, p. 149-157, 2013.

HENZ, G. P., SUINAGA, F. A. **Comunicado Técnico**. v. 75. EMBRAPA. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/783588/tipos-de-alface-cultivados-no-brasil>. Acesso em: 10 jun. 2019. 2009.

HUMPLÍK, J. F. et al. Automated phenotyping of plant shoots using imaging methods for analysis of plant stress responses – a review, 2015. **Plant Methods** 11, 1-10.

IORIZZO, M. et al. A high-quality carrot genome assembly provides new insights into carotenoid accumulation and asterid genome evolution. **Nature genetics**, v. 48, n. 6, p. 657, 2016.

JESUS, M. H. et al. Variação do índice de vegetação por diferença normalizada em milho em função do potencial produtivo e densidade de plantas. In: Congresso Brasileiro de Agricultura de Precisão, 2014, São Pedro, **Resumos...**São Pedro: SBEA, 2014. CD-ROM.

JULICRISTIE, M. O.; OLIVEIRA, N. S.; BERGAMASCHI, D. P. Concentrações de vitamina A no leite humano e características socioeconômicas e nutricionais maternas: resultados de estudos brasileiros. **Rev Bras Saúde Mater Infant.**, v.9, p.11-20, 2009.

KIM, M. J. et al. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 49, p.19-34, jun. 2016.

LEE, D.W. Simulating forest shade to study the development ecology of tropical plants: Juvenile growth in three vines in India. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, 4:281-92, 1988.

LI, L. Z. Q.; HUANG, D. Uma revisão das técnicas de imagem para fenotipagem de plantas. **Sensores** , v. 14, n. 11, pág. 20078-20111, 2014.

LICHTENTHALER, H.; WELLBURN, A. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, n. 603, p. 591-592, 1983.

LIRA, L. Q. et al. Perfil de retinol no soro e colostro de puérperas atendidas em maternidade pública brasileira e sua associação com características maternas e obstétricas. **Rev Paul Pediatr.**, v.29, n. 4, p.515-2, 2011.

LONG, J. K. ; BÄNZIGER, M.; SMITH, M. Diallel análise da densidade de grãos de ferro e zinco em consanguíneos de milho adaptados à África Austral. **Crop Science** , v. 44, n. 6, pág. 2019-2026, 2004.

LOUREIRO, M. P. et al. Biofortificação de alimentos: problema ou solução? **Segurança Alimentar e Nutricional**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 66-84, 2 ago. 2018. Universidade Estadual de Campinas. <http://dx.doi.org/10.20396/san.v25i2.8652300>.

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, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.016>.

MAGALHÃES, L. P. et al.. Índice de vegetação ajustado ao solo - SAVI adaptado: proposta para caracterizar cobertura vegetal do solo. **Anais..** São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2019.

MANOS, M. G. L.; WILKINSON, J. Mapeamento de Controvérsias Sócio-técnicas: o Caso da Biofortificação de Alimentos Básicos no Brasil. **CIAIQ2016**, v. 3, 2016.

MARZULLO, Y. O. T. Biofortificação com selênio na batata-doce. **Dissertação de mestrado**, - Universidade Estadual Paulista (UNESP). Boatucatumay. 2021.

MUTHUSAMY, V. et al. Genetic analyses of kernel carotenoids in novel maize genotypes possessing rare allele of β -carotene hydroxylase gene. **Cereal Research Communications**, v. 44, n. 4, p. 669-680, 2016.

MUZHINGI, T. et al. Genetic variation of carotenoids, vitamin E and phenolic compounds in Provitamin A biofortified maize. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 3, p. 793-801, 2017.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

NUTTI M. Entrevista: Marília Nutti. **Aditivos Ingredientes** [internet] Disponível em: http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201601/2016010171360001453470224.pdf. Acesso: 15 de novembro de 2021.

OHSE, S. et al. Quality of Lettuce Cultivars Grown in Hydroponic Solution. **Scientia**, p. 181–185, 2001.

OLIVEIRA, M. S. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 7, p. 1133-1140, 2006.

PEDRAZA, D. F.; ROCHA, A.C. D.; SALES, M. C. Deficiência de micronutrientes e crescimento linear: revisão sistemática de estudos observacionais. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, p. 3333-3347, 2013.

RIBEIRO, A. C; GUIMARÃES, P. T. C; ALVAREZ, V. H. **5ª Aproximação - Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Editora

ROUSE, J. W., HAAS, R. H., SCHELL, J. A.; DEERING, D.W. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. In **3rd ERTS Symposium**, NASA SP-351 I, pp. 309–317. 1974.

RYDER, E. J.; WHITAKER, T. N. Lettuce In: SIMMONDS, N. W. Evolution of crop plants. New York: **Longman Group**, 1976.

SALES, M. C; PEDRAZA, D. F. Parâmetros bioquímicos do estado nutricional de micronutrientes e seu significado para as ações de saúde pública. **Rev Espaço Saúde**. v.14, n.1-2, p.94-103, 2013.

SANDERS, D. C. **Lettuce production**. Disponível em: <https://horticulture.ces.ncsu.edu/publications/>. Acesso em 10 de setembro de 2013.

SEBRAE. **Alface passo-a-passo**. 2011. Disponível em: https://ibrahort.org.br/uploads/1/0/1/9/101976270/cartilha_alface_passo-a-passo.pdf. Acesso em: 01 out. 2020.

SILVA, A. M. da. **Comparação de resultados do uso de fertilizantes minerais com fertilizantes organominerais biotecnológicos**. 2019. 35 pag. Monografia (especialização) - Universidade Federal do Paraná. Especialização em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas. 2019.

SILVA, E. C.; MIRANDA, J.R. P.; ALVARENGA, M. A. R. Concentração de nutrientes e produção do tomateiro podado e adensado em função do uso de fósforo, de gesso e de fontes de nitrogênio. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 19, n. 1, p. 64- 69, 2001.

SILVA, L.C.; FILHO, M. P. S.; AGUIAR, F. A.; NAVES, V. L.; LIRA, J. M. S.; RAMBAL, S., MOUILLOT, F. BARBOSA, J.P.R.A.D.; Uso do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) na avaliação do desenvolvimento de cafeeiros do sul de Minas Gerais. **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Curitiba-PR, Anais. Brasília, D.F.: Embrapa Café, 2015a.

SILVA, L.C.; FILHO, M. P. S.; MENDOÇA, A. M. C.; AGUIAR, F. A.; LIRA, J. M. S.; NAVES, V. L.; RAMBAL, S.; BARBOSA, J.P.R.A.D.; Ampliando o conhecimento nas relações folha-dossel de cafeeiros através da associação de trocas gasosas e índice de vegetação. IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Curitiba-PR, **Anais**. Brasília, D.F.: Embrapa Café, 2015b.

SILVA, M. A; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. L. F. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.

SILVA, P.C.F. da. Propriedades antioxidantes in vitro de uvas branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados. 2003. 138 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003

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

SOBRAL, D. et al. Quantificação e porcentagem de recuperação de luteína adicionada na fabricação de queijo prato esférico. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 6, p. 405-414, 2014.

SOUSA, C. A. F. de. Fenotipagem de plantas: uma nova abordagem para um velho problema. Embrapa Agroenergia-**Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2014. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/991030/1/cot06.pdf>. Acesso em: 20 setembro 2021

SOUSA, C. A. F. et al. Nova abordagem para a fenotipagem de plantas: conceitos, ferramentas e perspectivas (New approach for plant phenotyping: concepts, current tools and perspectives). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, p. 660-672, 2015.

SOUSA, C. A. F. Fenotipagem de plantas: as novas técnicas que estão surgindo para atender aos desafios atuais e futuros. **Brasília: Embrapa**, 2014. 6 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1005843/1/Fenotipagem.pdf>. Acesso em: 12 set. 2020.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TSCHIEDEL, M.; FERREIRA, M. F. Introdução à agricultura de precisão: conceitos e vantagens. **Cienc. Rural**. v. 32, n. 1, pág. 159-163, fevereiro de 2002.. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000100027> .

UENOJO, M. et al. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 616-622, jun. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422007000300022>. UFV, Viçosa, Minas Gerais,1999.

VALKO, M., et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 266, p. 37-56, 2004.

VINCINI, M.; FRAZZI, E.; D'ALESSIO, P. A broad-band leaf chlorophyll index at the canopy scale. **Precis. Agric.**, vol. 9, p. 303-319, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11119-008-9075-z>

WALTER, A., LIEBISCH, F., HUND, A. Plant phenotyping: from bean weighing to image analysis. **Plant Methods** 11, 14. 2015

WELCH, R. M. ; GRAHAM, R. D. Melhoramento para micronutrientes em culturas de alimentos básicos a partir da perspectiva da nutrição humana. **Journal of experimental botany** , v. 55, n. 396, pág. 353-364, 2004.

WHITE, P. J. ; BROADLEY, M. R. Biofortificando culturas com elementos minerais essenciais. **Tendências em ciência de plantas** , v. 10, n. 12, pág. 586-593, 2005.

WITHAM, F. H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. Experiments in plant physiology. New York: D. V. **Nostrand**, 1971. 58 p.

World Health Organization. World Health Statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. **Geneva**: WHO, 2018. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272596>. Acesso em 20 out 2021.

YE, X. et al. Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. **Science**, v. 287, n. 5451, p. 303-305, 2000.

ZAICOVSKI, C. B. Caracterização de frutas nativas da Região Sul da América do Sul quanto à presença de compostos bioativos, da atividade antioxidante e da atividade antiproliferativa frente à celular tumoral, RS, Pelotas. 2008, 91f. **Tese** (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Carolina Silva Siquieroli, Presidente**, em 26/08/2021, às 11:12, 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 26/08/2021, às 11:12, 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 **Rafael Resende Finzi, Técnico(a) de Laboratório**, em 26/08/2021, às 11:12, 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 26/08/2021, às 11:17, 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, informando o código verificador **2944194** e o código CRC **42058D85**.