

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CAMPUS MONTE CARMELO

LARISSA COTRIN BARRADO

Dissimilaridade genética para compostos bioativos em híbridos de alfaces
biofortificadas

MONTE CARMELO – MG

2023

LARISSA COTRIN BARRADO

Dissimilaridade genética para compostos bioativos em híbridos de alfaces
biofortificadas

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado à Instituto de Ciências
Agrárias da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do grau de Engenheira
Agrônoma.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Carolina
Silva Siquieroli

Coorientador: Prof. Dr. Gabriel
Mascarenhas Maciel

MONTE CARMELO – MG

2003

LARISSA COTRIN BARRADO

Dissimilaridade genética para compostos bioativos em híbridos de alfaces
biofortificadas

Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, como requisito necessário para a obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Monte Carmelo, 08 de fevereiro de 2023

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Silva Sichieroli
Orientadora

M.Sc Heitor Franco de Sousa
Membro da Banca

M.Sc Ana Luísa Alves Ribeiro
Membro da Banca

Monte Carmelo
2023

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVO	8
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
3.1	A cultura da Alface	8
3.2	Compostos bioativos.....	9
3.2.1	Carotenoides	9
3.2.2	Clorofilas	9
3.2.3	Antocianinas	10
4	METODOLOGIA.....	10
5	RESULTADOS	13
6	CONCLUSÃO.....	15
	REFERÊNCIAS	16

AGRADECIMENTOS

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

Aos meus pais, Luciana e Adriano, que sempre me apoiaram, ajudaram e investiram para que esse sonho se tornasse realidade.

Aos meus irmãos Adriano, Lara, Laura, por todo carinho, compreensão e divertimento, por mais que distantes.

À minha família, em especial meus avós, Buba, Dal, Cidinha (*in memoriam*) e Benedito (*in memoriam*), por todo amor, apoio, carinho e torcida para que esse sonho se concretizasse.

Aos meus colegas e futuros companheiros de profissão, em especial ao meu namorado Rafael, pela amizade e companheirismo nos momentos de alegria e tristeza.

Aos professores do curso de agronomia da Universidade Federal de Uberlândia campus Monte Carmelo, por todo aprendizado adquirido durante toda graduação.

À minha orientadora Ana Carolina Silva Siquieroli, pela orientação, colaboração e ensinamentos transmitidos ao longo dessa etapa.

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

A todos aqueles que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho desta etapa em minha vida.

Muito obrigada!

RESUMO

A alface consiste na hortaliça folhosa mais consumida no Brasil. A cultura se destaca pela importância socioeconômica, por fornecer benefícios nutricionais à saúde humana. Apesar da alta relevância dos alimentos biofortificados, há poucas pesquisas visando o desenvolvimento de cultivares de alfaces ricas nesses compostos bioativos. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a dissimilaridade genética para compostos bioativos em híbridos de alfaces biofortificadas. Foram avaliados 34 híbridos e duas linhagens como testemunhas (Rubin e Uberlândia 10000) quanto ao teor de clorofila A (CA), clorofila B (CB), clorofila total (CT), antocianina (AT) e carotenoides (CN). O experimento foi realizado em delineamento em blocos casualizados com três repetições. A dissimilaridade genética foi representada pelo dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA e pelo método de otimização Tocher. Os híbridos de alface avaliados nesse trabalho, ricos em compostos bioativos, apresentaram dissimilaridade genética, possibilitando fomentar futuros programas de melhoramento.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa* L.; variabilidade, clorofila, carotenoides, antocianina.

1 INTRODUÇÃO

Dentre as hortaliças folhosas, a alface (*Lactuca sativa* L.) é considerada a mais consumida e cultivada no Brasil (DE SOUZA, 2008). Consiste em uma planta anual, originária de clima temperado, pertencente à família Asteracea. É uma espécie de alta perecibilidade e pouca resistência, e por isso, é cultivada próximo dos centros urbanos e de distribuições. Os tipos de alface que estão disponíveis no mercado nacional para consumo são Crespa, Americana, Lisa, Mimososa, Roxa, Romana e Mini (ABCSEM, 2015). No Brasil, as alfaces mais conhecidas e consumidas são as crespas e as lisas (EMBRAPA, 2009).

A importância da alface na alimentação e na saúde humana se destaca por ser uma rica fonte de vitaminas, sais minerais e carotenoides (MARTINEZ, 2016). No entanto, é possível enriquecer o valor nutricional desta hortaliça e, conseqüentemente, da alimentação com compostos bioativos como carotenoides, clorofila e antocianina. A biofortificação pode ser obtida por técnicas de biotecnologia ou por meio de programas de melhoramento genético.

Dentre os benefícios dos carotenoides como compostos bioativos para a saúde, pode-se citar suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, proteção contra danos oxidativos a componentes celulares, prevenção de doenças cardiovasculares e do câncer (VOLP, 2011). Em adição, as antocianinas e clorofilas apresentam forte ação antioxidante. As cultivares presentes no mercado apresentam baixo teor de carotenoides, que desempenham alguns papéis fundamentais na saúde humana, como a diminuição de riscos à várias doenças. Estudos feitos por Olson (1999) mostraram que esses compostos atuam removendo os radicais peróxidos, seccionando o metabolismo carcinogênico, inibindo a proliferação celular, estimulando a comunicação entre as células e aumentando a resposta imune (SOUZA, 2018).

Apesar da alta relevância dos alimentos biofortificados, há poucas pesquisas visando o desenvolvimento de cultivares de alfaces ricas em compostos bioativos no mundo. A extração dos compostos bioativos nas folhas gera um alto custo e grande demanda laboratoriais, o que se torna um obstáculo para programas de melhoramento que visam obter genótipos de alfaces biofortificadas. Assim, a dissimilaridade genética é um ponto de partida para o sucesso dos programas de melhoramento genético, sendo maximizada pelo intercruzamento dos genótipos mais divergentes, associados às características agrônômicas de interesse para a seleção (ERTIRO et al., 2013).

Para estimar a divergência genética entre indivíduos ou populações são utilizados modelos biométricos analisados por métodos estatísticos multivariados, com informações múltiplas de cada acesso, expressas em medidas de dissimilaridade.

No processo de melhoramento são avaliados vários indivíduos, buscando genótipos superiores e variabilidade para as características de interesse. Esses são destinados à recombinação, que levam à produção de novas cultivares. Os métodos de melhoramento são utilizados para identificação da diversidade genética entre os indivíduos analisados que obtém grupos com características semelhantes entre si. Os métodos UPGMA e otimização de Tocher são os mais utilizados (SILVA, 2016).

2 OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a dissimilaridade genética para compostos bioativos em híbridos de alfaces biofortificadas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A cultura da Alface

Originada da região do Mediterrâneo, a alface é uma das hortaliças folhosas mais importantes e consumidas no mundo. Possui característica herbácea, com caule diminuto, não ramificado e raiz pivotante com extrema ramificação, o que permite a exploração intensa na proximidade da inserção ao meio de cultivo (DA SILVA, 2020).

No Brasil, apresenta alta importância econômica e social (SALA & COSTA, 2012). Por conter vitaminas e sais minerais, rica em folato e com uma quantidade útil de betacaroteno, vitamina C, potássio e certos fitoquímicos, como os flavonóides e lactucina. Além da qualidade nutritiva, se destaca pela facilidade de aquisição, produção durante o ano todo e baixo custo (BARBOSA et al., 2016; KIM et al., 2016). Os programas de melhoramento genético em alface visam desenvolver cultivares produtivas, adaptadas aos ambientes, sendo tolerantes e resistentes à pragas e doenças, e principalmente com alto conteúdo nutricional.

3.2 Compostos bioativos

3.2.1 Carotenoides

Os carotenoides consistem em um grande grupo de pigmentos presentes na natureza, com mais de 600 estruturas caracterizadas, identificados em organismos fotossintetizantes e não fotossintetizantes. As plantas são a maior fonte de carotenoides, os quais são responsáveis por conferir as cores características (UENOJO et al., 2007). O corpo humano não é capaz de produzi-los, sendo assim, depende da alimentação para adquiri-los (SOUZA, 2018).

Podem desempenhar alguns papéis fundamentais na saúde humana, apresentando efeitos benéficos contra cânceres, doenças de coração e degeneração macular. São reconhecidos como antioxidantes e reguladores de resposta do sistema imune, e são importantes precursores de vitamina A (UENOJO et al., 2007).

3.2.2 Clorofilas

As clorofilas consistem em pigmentos naturais abundantes nas plantas, localizadas nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais (DIAS, 2020). Além de captarem luz na fotossíntese, as clorofilas exercem importantes funções (SILVA et al., 2007). Existem duas formas predominantes, as clorofilas 'a' e 'b', que diferem entre si pela estrutura. Consistem em estruturas hidrofóbicas e sua principal função é a conversão de energia luminosa em energia química, processo que ocorre nos cloroplastos (ESKIN, 1990; STREIT et al., 2005).

A clorofila a consiste na mais abundante e a mais importante dessa família, correspondendo a aproximadamente 75% dos pigmentos verdes encontrados na maioria dos vegetais. A clorofila b se diferencia da clorofila a por uma pequena variação na substituição no anel pirrólico II (VOLP, 2009).

Pesquisas sobre as propriedades antioxidante e quimiopreventiva da clorofila tiveram início a partir da década de 80 (LANFER-MARQUEZ, 2003). Até então eram escassos o conhecimento do seu efeito biológico quando presente na dieta. Era considerada apenas como pigmentos responsável pela coloração verde de algas e plantas. O mecanismo para explicar a ação antioxidante ainda não foi esclarecido, mas supõe-se que a molécula da clorofila ou de seus derivados atuam como um sequestrador de radicais livres, ou de radicais peróxila, vetando o processo de autoxidação de óleos comestíveis (ENDO et al., 1984; ENDO et al., 1985).

3.2.3 Antocianinas

São flavonóides amplamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho presentes em flores e frutos (ABE et al., 2007). Quimicamente, são compostos fenólicos, solúveis em água e altamente instáveis em temperaturas elevadas.

Encontrada na alface roxa, fornecem inúmeras propriedades de promoção à saúde devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas, sendo uma importante aliada na prevenção e retardamento de doenças cardiovasculares, do câncer e doenças neurodegenerativas (CASTAÑEDA, 2009). Nas plantas apresentam diversas funções, entre elas está a atração de polinizadores de sementes e a proteção contra os danos provocados pela luz UV na folha, atuando como filtro, melhorando e regulando a fotossíntese.

4 METODOLOGIA

O experimento foi realizado 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). O clima da região é do tipo Aw-tropical, caracterizado por verão quente e úmido e inverno frio e seco, segundo classificação de Köppen (1948). Foram utilizados 34 híbridos de alface pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético de Alface Biofortificada da UFU e 2 linhagens comerciais como testemunhas (Rubin e Uberlândia 10000). Estes genótipos foram obtidos após hibridação entre as linhagens de alface biofortificadas (Tabela 1), cadastradas no Software BG α BIOFORT INPI BR512019002403-6 (MACIEL et al., 2019) (Tabela 2):

Tabela 1: Linhagens de alface biofortificadas utilizadas nos cruzamentos para obtenção dos híbridos.

Parentais	Características
UFU-189#3#4#1	verde, lisa
UFU-Biofort	verde, crespa
UFU-75#2#2#1	roxa, crespa
UFU-206#1#3#1	roxa, crespa
UFU-189#2#2#1	roxa, lisa
UFU MiniBioFort - 2015#1	roxa, lisa
UFU-215#2#2	roxa, lisa
UFU-66#4#2	verde, crespa

Tabela 2: Híbridos de alfaces biofortificadas e testemunhas avaliadas.

Genótipos	Parentais
1	UFU-206#1#3#1 x UFU-75#2#2#1
2	UFU-189#3#4#1 x UFU MiniBioFort - 2015#1
4	UFU-75#2#2#1 x UFU MiniBioFort - 2015#1
5	Rubin
6	UFU-189#3#4#1 x UFU-75#2#2#1
7	UFU-206#1#3#1 x UFU-189#2#2#1
11	UFU-75#2#2#1 x UFU-206#1#3#1
12	UFU MiniBioFort - 2015#1 x UFU-75#2#2#1
14	UFU-66#4#2 x UFU MiniBioFort - 2015#1
15	UFU-206#1#3#1 x UFU MiniBioFort - 2015#1
18	UFU-75#2#2#1 x UFU-215#2#2
19	UFU-215#2#2 x UFU-206#1#3#1
21	UFU MiniBioFort - 2015#1 x UFU-206#1#3#1
22	UFU-215#2#2 x UFU MiniBioFort - 2015#1
23	Uberlândia 10000
24	UFU-189#2#2#1 x UFU-206#1#3#1
27	UFU-215#2#2 x 1
28	UFU-189#2#2#1 x UFU MiniBioFort - 2015#1
29	UFU-189#3#4#1 x UFU-206#1#3#1
30	UFU-66#7 x UFU MiniBioFort - 2015#1
31	UFU-66#4#2 x UFU-189#3#4#1
32	Grand Rapids
33	UFU-189#3#4#1 x UFU-189#2#2#1
34	UFU-66#4#2 x UFU-Biofort
35	UFU-66#7 x UFU-215#2#2
36	UFU MiniBioFort - 2015#1 x UFU-189#2#2#1
37	UFU-Biofort x UFU-75#2#2#1
38	UFU-66#7 x UFU-189#2#2#1
39	UFU MiniBioFort - 2015#1 x 2
40	UFU-189#2#2#1 x UFU-75#2#2#1
41	UFU-Biofort x UFU-206#1#3#1
42	UFU-Biofort x UFU-189#3#4#1
43	UFU-189#3#4#1 x UFU-215#2#2

44	UFU-Biofort x UFU MiniBioFort - 2015#1
45	UFU-66#7 x UFU-206#1#3#1
46	UFU-Biofort x UFU-215#2#2
47	UFU-66#4#2 x UFU-215#2#2

A semeadura foi realizada no dia 07/07/2022 em bandejas de poliestireno expandido com 200 células preenchidas com substrato comercial a base de fibra de coco. Após semeadura, as bandejas permaneceram em casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5x6 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.

Trinta dias após a semeadura (DAS) foi realizado o transplântio das mudas para o campo (Figura 1). Foram realizados além dos tratamentos culturais recomendados por Filgueira (2013), o tutoramento das plantas para impedir o tombamento. Cada parcela do experimento foi composta por 16 plantas, separadas em quatro fileiras por canteiro no espaçamento de 0,25 m x 0,25 m, adotando-se o delineamento experimental de blocos casualizados, com três repetições.

Para a avaliação do conteúdo dos pigmentos antocianina total (AT), clorofila A (CA), clorofila B (CB), clorofila total (CT) e carotenoides (CN) foram coletadas três folhas do terço médio de quatro plantas centrais de cada parcela. Essas folhas foram encaminhadas ao laboratório, ainda frescas onde foi retirada a nervura central, e posteriormente, trituradas.

Para AT foi adicionado ao tecido vegetal uma solução composta por etanol 95% e ácido clorídrico (85:15). Já para CA, CB, CT e CN foi adicionada uma solução de éter de petróleo e acetona (1:1). Após 24 horas de reação em ausência de luz foi realizada a leitura da absorbância dos extratos sobrenadantes em espectrofotômetro digital modelo UV-5100. A partir das absorbâncias foram calculados os teores (mg.100g⁻¹ de tecido fresco) de AT (FRANCIS, 1982); os teores de CA, CB e CT (WITHAM et al., 1971) e de CN (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983).

Foram realizadas análises multivariadas de dissimilaridade genética entre os genótipos baseadas na distância generalizada de Mahalanobis, D_{ii}^2 . A dissimilaridade genética foi representada por dendrograma obtido pelo método hierárquico Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages (UPGMA) e pelo método de otimização de Tocher. Todos os dados obtidos foram analisados utilizando-se o software Genes (CRUZ, 2013).

5 RESULTADOS

De uma forma geral, os genótipos de alface apresentaram dissimilaridade genética e constituíram diferentes grupos de acordo com os métodos de agrupamento UPGMA e método de otimização Tocher (Figura 2 e Tabela 3, respectivamente).

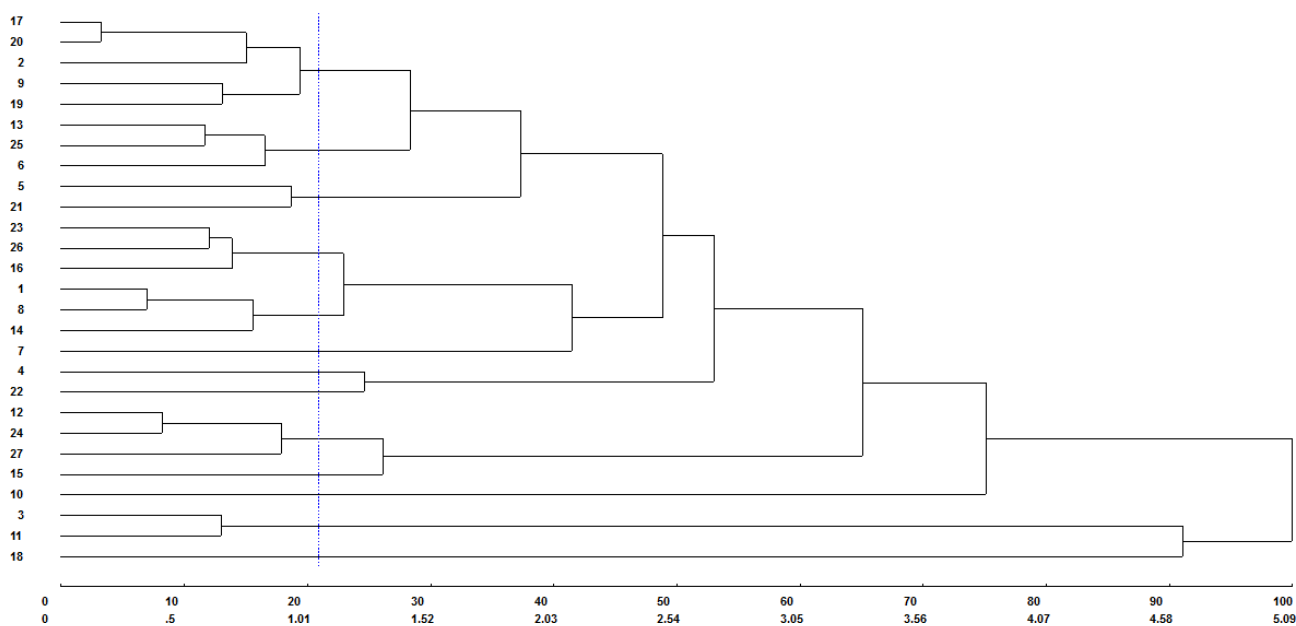


Figura 2: Dendrograma da dissimilaridade genética entre os 34 híbridos de alface biofortificada e 2 linhagens utilizadas como testemunhas (Rubin e Uberlândia 10000), obtido pelo Método Hierárquico de ligação média (UPGMA) como medida de dissimilaridade.

Tabela 3: Agrupamento formado por 34 híbridos de alface biofortificada e 2 linhagens utilizadas como testemunhas (Rubin e Uberlândia 10000) obtido pelo método de otimização Tocher.

Grupo	Genótipos
I	17 20 2 9 25 6 13 1 8 22 19 5 12 21 16 26 23
II	3 11
III	24 27 15
IV	14
V	18
VI	7
VII	10
VIII	4

A análise do dendrograma permite que o pesquisador analise o grau de similaridade existente entre os genótipos. A definição dos grupos é realizada de forma subjetiva, estabelecendo um corte onde ocorre mudanças abruptas de níveis no dendrograma e pelo conhecimento que o pesquisador possui dos genótipos analisados (RESENDE et al., 2015; RIBEIRO, 2019). Pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA houve a formação de 13 grupos distintos, com o ponto de corte em 21% (Figura2).

O grupo I foi formado pelos genótipos 17, 20, 2, 9 e 19. Já o grupo II, pelos genótipos 13, 25 e 6. O grupo III foi formado apenas pelos genótipos 5 e 21. O grupo IV pelos genótipos 23, 26 e 16. O grupo V, pelos genótipos 1, 8 e 14. O grupo VI foi formado apenas pelo genótipo 7. O grupo VII foi formado apenas pelo genótipo 4. O grupo VIII pelo genótipo 22, o grupo IX pelos genótipos 12, 24 e 27, o grupo X apenas pelo genótipo 15, assim como o grupo XI, com apenas o genótipo 10. O grupo XII, pelos genótipos 3 e 11. E por fim, o grupo XIII, com apenas o genótipo 18.

Houve a formação 13 grupos pelo método UPGMA, apresentando um coeficiente de correlação cofenética (CCC) de 0,68. Diferente do método de Tocher, no qual houve a formação de apenas 8 grupos. Essa divergência de grupos entre os dois métodos também foi observada em Silveira (2018). O ideal é que o melhorista compare os diferentes métodos de análise multivariada em busca da diversidade genética entre os genótipos (CRUZ et al., 2014).

Pelo método de Tocher, o grupo I foi formado pela maioria dos genótipos, sendo eles 17, 20, 2, 9, 25, 6, 13, 1, 8, 22, 19, 5, 12, 21, 16, 26, e 2. Já o grupo II, pelos genótipos 3 e 11. O grupo III, pelos genótipos 24, 27 e 15. O grupo IV, apenas pelo genótipo 14, o grupo V, apenas pelo genótipo 18 e o grupo VI, pelo genótipo 7. Já o grupo VII foi formado apenas pelo genótipo 10. E por fim, o grupo VIII com apenas o genótipo 4.

Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que o método de agrupamento UPGMA foi mais eficiente devido à maior diversidade de grupos formados. O sucesso de um programa de melhoramento genético depende, entre outros fatores, da disponibilidade de populações que apresentem alta variabilidade genética para as características sob seleção, ou seja, dissimilaridade genética entre elas, assim como obtido nesse estudo. Estas populações, para culturas em avançados estágios de melhoramento, como no caso da alface, geralmente são obtidas a partir do inter cruzamento de alguns genitores (AZEVEDO, 2013).

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que houve dissimilaridade genética para compostos bioativos nos híbridos de alfaces biofortificadas avaliados.

REFERÊNCIAS

- ABE et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 394- 400, 2007.
- AZEVEDO et al. Seleção de genótipos de alface para cultivo protegido: divergência genética e importância de caracteres. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 260-265, 2013.
- BARBOSA et al. Comparação da contaminação de alface (*Lactuca sativa*) proveniente de dois tipos de cultivo. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n. 2, p. 231-242, 2016.
- CASTAÑEDA, L. M. F. Antocianinas: o que são? onde estão? como atuam. **Porto Alegre**, 2009.
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S.; REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3 ed, Viçosa, v. 2, 668 p., 2014.
- 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.
- SILVA et al. Teor de clorofila, carotenoides e índice SPAD na alface (*Lactuca sativa*) em função de lâminas de irrigação e níveis salinos. **Revista Ciência Agrícola**, v. 18, p. 19-22, 2020.
- SOUZA et al. Variabilidade genética para características agronômicas em progênies de alface tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 354-358, 2008.
- DIAS et al. Determinação de Teores de Clorofilas e Carotenoides em Alface, Rúcula e Cebolinha. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 3100-3107, 2020 OK
- Eskin, N.A.M. *Biochemistry of Foods*. 2 nded. California, 1990, 557p
- ENDO, Y.; USUKI, R.; KANEDA, T. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.62, n.9, p.1387-1390, 1985.
- ENDO, Y.; USUKI, R.; KANEDA, T. Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.61, n.4, p.781-784, 1984.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. rev. ampl. Viçosa: UFV. 421p. 2013.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. **Anthocyanins as food colors**, 1, 280p. 1982.

FREIRE, T. M.; MORAIS, G. O.; ZANARDI, A. M. Clorofila a, b e totais da alface crespa em diferentes cultivos. In: **Congresso Técnico Científico de Engenharia e Agronomia CONTECC.Palmas/TO**. 2019. p. 1-4.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. A. Tipos de alface cultivados no Brasil. **EmbrapaHortaliças- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2009.

MARQUEZ, U. M. L. O papel da clorofila na alimentação humana: umarevisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, p. 227-242, 2003.

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.

MACIEL, G. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; GALLIS, R. B. A.; PEREIRA, L. M.; SALES, V. F. Programa de computador BG a Biofort. Depositante: Universidade Federal de Uberlândia. BR512019002403-6. Depósito: 01 fev. 2019. Concessão: 23 out.

MARTINEZ, D. G.; MARTINS, BHS; FEIDEN, A. Valor nutricional docultivo de alface hidropônico. **Revista Brasileira de Energias Renováveis, Cascavel**, v.5, n. 4, p. 481-489, 2016.

NETO et al. Produtividade de alface em função de condições de sombreamento e temperatura e luminosidade elevadas. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 189-192, 2005.

OLSON, M. A lógica da ação coletiva: os benefícios públicos e uma teoria dos grupos sociais. 16. ed. Rio de Janeiro: UDESP, 1999.

PEIXOTO et al. Parâmetros genéticos e índices de seleção para alface roxa biofortificada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, 2021.

RESENDE, M.D.V. Genética Quantitativa e de Populações. 1ed. Produção independente,463p., 2015.

RIBEIRO, A. L. A. R. Tomateiro tipo salada: crescimento determinado, alto teor de açúcares e resistente ao ácaro rajado. 2019.

RUSSO, A.; SANT'ANNA, M. Uso racional da Vitamina C (Ácido Ascórbico). Cebrim Informa, International Union of Pure and Applied Chemistry 2013. Disponível em: Acesso em: 20 dez. 2017

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alficultura brasileira. **Horticultura brasileira**, v. 30, p. 187-194, 2012.

SILVA et al. Dissimilaridade genética e definição de gruposde recombinação em progênes de meios-irmãos de milho-verde. **Bragantia**, v. 75, p. 401-410, 2016.

SILVA, J. M; ONGARELLI, M. G; AGUILA, J. S. D; SASAKI, F. F; KLUGE, R. A. Métodos dedeterminação de clorofila em alface e cebolinha minimamente processadas. **Rev. Iber. TecnologíaPostcosecha**. Vol8(2):53-59. 2007.

SILVEIRA et al. Potencial agrônômico e dissimilaridade genética entregenótipos de alface ricos em carotenoides. 2018.

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

SOUSA et al. Dissimilaridade, parâmetros genéticos, índices deseção e resistência a *Meloidogyne* spp. em alface biofortificada. 2020.

SOUZA, T. Q. **Atividade prática no ensino de biologia: os carotenóides e a saúde humana.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso.

UENOJO, M.; JUNIOR, M.R.M; PASTORE, G. M..Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30, p. 616-622, 2007.

VOLP, A.C.P; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Carotenóides: pigmentos naturais como compostos bioativos. **Revista Brasileira Nutrição Clínica**, v. 26, n. 4, p. 291-8, 2011.

VOLP, A.C.P.; RENHE, I.R.T.; STRINGUETA, P.C.. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.