

ALESSANDRO AGUILAR SANCHES

**SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE ALFACE VISANDO À OBTENÇÃO DE  
POPULAÇÕES PRODUTIVAS E BIOFORTIFICADAS PARA CAROTENOIDES**

MONTE CARMELO – MG  
MINAS GERAIS – BRASIL

2023

ALESSANDRO AGUILAR SANCHES

**SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE ALFACE VISANDO À OBTENÇÃO DE  
POPULAÇÕES PRODUTIVAS E BIOFORTIFICADAS PARA CAROTENOIDES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Uberlândia, como parte das exigências do  
Programa de Pós-graduação em Agricultura e  
informações Geoespaciais para obtenção do título  
de “Mestre”.

Orientadora: Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli

Coorientador: Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel

MONTE CARMELO – MG  
MINAS GERAIS – BRASIL

2023

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

S211 Sanches, Alessandro Aguilar, 1979-  
2023 SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE ALFACE VISANDO À OBTENÇÃO DE  
POPULAÇÕES PRODUTIVAS E BIOFORTIFICADAS PARA  
CAROTENOIDES [recurso eletrônico] / Alessandro Aguilar  
Sanches. - 2023.

Orientadora: Ana Carolina Silva Siquieroli.  
Coorientador: Gabriel Mascarenhas Maciel.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de  
Uberlândia, Pós-graduação em Agricultura e Informações  
Geoespaciais.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.505>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Agronomia. I. Siquieroli, Ana Carolina Silva, 1982-,  
(Orient.). II. Maciel, Gabriel Mascarenhas, 1982-,  
(Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia.  
Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais.  
IV. Título.

CDU: 631

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**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Informações  
 Geoespaciais

Rodovia LMG 746, Km 01, s/nº, Bloco 1AMC, Sala 1A202, Monte Carmelo-MG, CEP 38.500-000  
 Telefone: (34) 3810-1033 - ppgaig@iciag.ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agricultura e Informações Geoespaciais				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico				
Data:	04/09/2023	Hora de início:	13:10	Hora de encerramento:	15:30
Matrícula do Discente:	32122AIG001				
Nome do Discente:	Alessandro Aguilar Sanches				
Título do Trabalho:	Seleção de híbridos de alface visando a obtenção de populações produtivas e biofortificadas para carotenoides				
Área de concentração:	Informações geoespaciais e tecnologias aplicadas à produção agrícola				
Linha de pesquisa:	Sistemas integrados de produção vegetal				

Reuniu-se na sala virtual a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais, assim composta: Dr. Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão (UFU), Dra. Joicy Vitória Miranda Peixoto (Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos GO), Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli (UFU) – orientadora do candidato.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, 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

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

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 **Ana Carolina Silva Siquieroli, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/09/2023, às 15:32, 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 **Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/09/2023, às 15:33, 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 **Joicy Vitória Miranda Peixoto, Usuário Externo**, em 04/09/2023, às 15:35, 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 **4792753** e o código CRC **C7DD6695**.

***Dedico***

*Primeiramente a Deus, por me dar saúde e fé para continuar minha jornada.*

*A meus pais, Osmar (in memoriam) e Angela pela educação que tive.*

*A minha esposa Simone, que tem sido meu alicerce em minha vida.*

*E a meu filho Henrique, a quem me comprometo em ser um exemplo de homem.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida dada a mim, e por sempre estar guiando meus caminhos, me direcionando em momentos que eu não poderia saber qual a melhor decisão a tomar.

Aos meus pais, Osmar (*in memoriam*) e Angela por terem me dado uma excelente educação, me preparando para a vida, e, as minhas irmãs Jane e Greicielle por todo apoio.

À minha esposa Simone e meu filho Henrique, que são meus pilares em minha vida, me dando sustentação para todas minhas decisões, e a quem dedico todo meu empenho e esforço em tudo que faço, para lhes dar o melhor possível e servir de exemplo em suas vidas.

A minha orientadora, Professora Ana Carolina Silva Siquieroli pela orientação neste trabalho, como também pelo incentivo na continuidade e término do mesmo em momentos difíceis.

Ao meu Coorientador, Professor Gabriel Mascarenhas Maciel, pelos direcionamentos na condução do projeto, como também, na finalização dele.

Aos amigos do grupo GENHORT (técnicos de laboratório e alunos) que me auxiliaram na condução e avaliação do experimento, em especial a Lucas Medeiros, que foi imprescindível do início ao fim do projeto. A Cecília Rios e Larissa Barrado pelo apoio na segunda etapa do projeto. Ao Sr. “Zé” da Horta pelos cuidados com meu experimento. Ao amigo Patrick Vieira pela ajuda durante todo o curso de Pós-graduação.

A Universidade Federal de Uberlândia, ao Instituto de Ciências Agrárias e ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais pela estrutura disponibilizada para os estudos e condução da pesquisa, a todos os professores do curso pelo ensinamento repassados a mim e aos técnicos e demais funcionários por todos os serviços prestados.

Muito obrigado a todos!!

## **BIOGRAFIA**

Alessandro Aguilar Sanches, nasceu em 06 de agosto de 1979 na cidade de Toledo - PR. Viveu no estado do Paraná até seus 10 anos, quando seus pais escolheram ir para a cidade de Monte Carmelo – MG. Seu ensino médio foi cursado na Escola Estadual Gregoriano Canedo, e, após o fim desta etapa, mudou-se para Uberlândia – MG para cursar o ensino superior. Foi aprovado como segundo colocado no vestibular para o curso de Agronomia na Universidade Federal de Uberlândia no ano de 2001, no ano de 2006 formou-se como Engenheiro Agrônomo por esta universidade. Após sua formação, iniciou sua vida profissional sempre buscando oportunidades e evolução pessoal e profissional; trabalhou em grandes empresas como Bayer, ADAMA e UPL (na área técnico/comercial) que lhe deram base para seu desenvolvimento. Casou-se em 2009 com Simone, com quem teve seu filho Henrique, constituindo assim seu bem maior, sua família. Em 2016 iniciou um novo momento profissional, assumindo a gerência comercial de Minas Gerais, em uma grande empresa de produtos biológicos do país, o que lhe deu a oportunidade de trabalhar na gestão e desenvolvimento de pessoas. Hoje, trabalha como Gerente Comercial de Minas Gerais na empresa Nooa Brasil, na liderança de uma equipe de quinze profissionais no segmento de Controle Biológico. Em agosto de 2021 iniciou seu curso de mestrado no Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais na Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ii</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>2</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>15</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>16</b>

## RESUMO

SANCHES, ALESSANDRO AGUILAR. **SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE ALFACE VISANDO À OBTENÇÃO DE POPULAÇÕES PRODUTIVAS E BIOFORTIFICADAS PARA CAROTENOIDES.** 2023, 18 páginas. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) – Universidade Federal de Uberlândia, *Campus* Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil<sup>1</sup>

A busca por novas tecnologias capazes de proporcionar benefícios para uma alimentação saudável tem sido meta mundial. A presença de alimentos ricos em carotenoides pode ser fundamental para prevenir sérios problemas de saúde. Aliar alimentos com altos teores de carotenoides e acessíveis para a maior parte da população é fundamental. A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma espécie adequada para investir em pesquisas com biofortificação a partir de melhoramento genético. Assim, o objetivo desse trabalho foi selecionar híbridos de alface visando à obtenção de populações com potencial agrônomico e biofortificadas para carotenoides. Dez linhagens de alface cadastradas no Software BG  $\alpha$  BIOFORT foram utilizadas nas hibridações. A definição da direção dos cruzamentos para obtenção dos híbridos foi planejada envolvendo duas linhagens ricas em pelo menos um dos pigmentos (clorofila e carotenoides) sendo obtidos vinte e quatro híbridos experimentais. Foram avaliados 37 genótipos (linhagens, híbridos e cultivares comerciais) em delineamento em blocos casualizados quanto aos parâmetros agrônomicos e teores de clorofila e carotenoides. Pelos resultados obtidos é possível afirmar que os híbridos 12 (UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2) e 25 (UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1) possuem potencial para obtenção de populações de duplo propósito (produtividade e biofortificada para carotenoide). O híbrido 27 (UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1) foi o que apresentou maior equilíbrio para pigmentos. Sugere-se a obtenção de populações F<sub>2</sub> dos híbridos 12, 25 e 27 visando a obtenção de novas cultivares de alfaces biofortificadas vermelhas e verdes, para os segmentos de alface crespa, americana, mini e romana.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L.; sustentabilidade; desnutrição; segurança alimentar.

---

<sup>1</sup>Orientadora: Prof. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli - UFU

## ABSTRACT

SANCHES, ALESSANDRO AGUILAR. **SELECTION OF HYBRIDS FROM LETTUCE AIMING TO OBTAIN PRODUCTIVE POPULATIONS AND BIOFORTIFIED FOR CAROTENOIDS**. 2023, 18 pages. Dissertation (Master in Agriculture and Geospatial Information) – Universidade Federal University of Uberlândia, *Campus* Monte Carmelo, Minas Gerais, Brazil

The search for new technologies capable of providing benefits for healthy eating has been a worldwide goal. Foods rich in carotenoids can be key to preventing serious health problems. Combining foods high in carotenoids and accessible to the majority of the population is essential. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is a suitable species to invest in biofortification research based on genetic improvement. The aim of this work was to select lettuce hybrids to obtain populations with agronomic potential and biofortified for carotenoids. Ten lettuce lines registered in the BG α BIOFORT software were used in the hybridizations. The definition of the direction of the crosses to obtain the hybrids involved two strains rich in at least one of the pigments (chlorophyll and carotenoids) and twenty-four experimental hybrids were obtained. A total of 37 genotypes (strains, hybrids and commercial cultivars) were evaluated in a randomized block design for agronomic parameters and chlorophyll and carotenoid content. The results showed that hybrids 12 (UFU-189#3#4#1 × UFU MC BIOFORT 2) and 25 (UFU66#4#2 × UFU-189#3#4#1) have the potential to produce dual-purpose populations (productivity and biofortified for carotenoids). Hybrid 27 (UFU66#4#2 × UFU MC BIOFORT1) displayed the best pigment balance. F<sub>2</sub> hybrids 12, 25 and 27 are thus suggested to be obtained to produce new cultivars of biofortified red and green lettuce for the curly, American, mini and romaine lettuce segments.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L.; sustainability; malnutrition; food security.

---

<sup>1</sup>Advisor: Prof. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli - UFU

## INTRODUÇÃO

A busca por acesso regular a alimentos nutritivos suficientes para o crescimento e desenvolvimento normais e para uma vida ativa e saudável tem despertado a atenção no mundo especialmente pós pandemia COVID-19 (FAO, 2022). A presença de alimentos ricos em carotenoides pode ser fundamental para prevenir sérios problemas de saúde. A metabolização do  $\beta$ -caroteno proveniente de alimentos vegetais é a principal fonte de vitamina A (Lucini et al., 2012). Sua deficiência pode causar comprometimento visual e aumenta o risco de doenças graves, além de poder levar a morte por infecções comuns na infância, como diarreia e sarampo (FAO, 2022). A deficiência desse nutriente afeta negativamente a função imunológica, favorecendo uma situação de resistência a infecções (Cardoso et al., 2020).

Dessa forma, aliar alimentos que podem ser ricos em carotenoides e sabidamente acessíveis para a maior parte da população é fundamental. Nesse contexto, a alface (*Lactuca sativa* L.) se apresenta como uma espécie adequada para investir em pesquisas com biofortificação. Essa é considerada uma hortaliça folhosa de destaque, pois além de ser a mais presente na alimentação do brasileiro (Sala & Costa, 2012) é cultivada por diversos produtores de agricultura familiar (Costa & Sala, 2005). É consumida de forma *in natura*, sendo importante fonte de fibras, terpenoides, flavonoides e fenóis (Noumedem et al., 2017). Adicionalmente, seu consumo está associado com a redução do colesterol, diabetes, processos inflamatórios e processos depressivos (Lee et al., 2009; Cheng et al., 2014; Ismail et al., 2016; Gopal et al., 2017).

Diversas pesquisas têm apresentado importantes resultados quanto a possibilidade de aumentar os teores de carotenoides em alfaces via melhoramento genético mendeliano (Maciel et al., 2019a; Maciel et al., 2020; Clemente et al., 2021; Clemente et al., 2023; Ribeiro et al., 2023). No entanto, ainda é possível alcançar maiores incrementos (Oliveira et al., 2021).

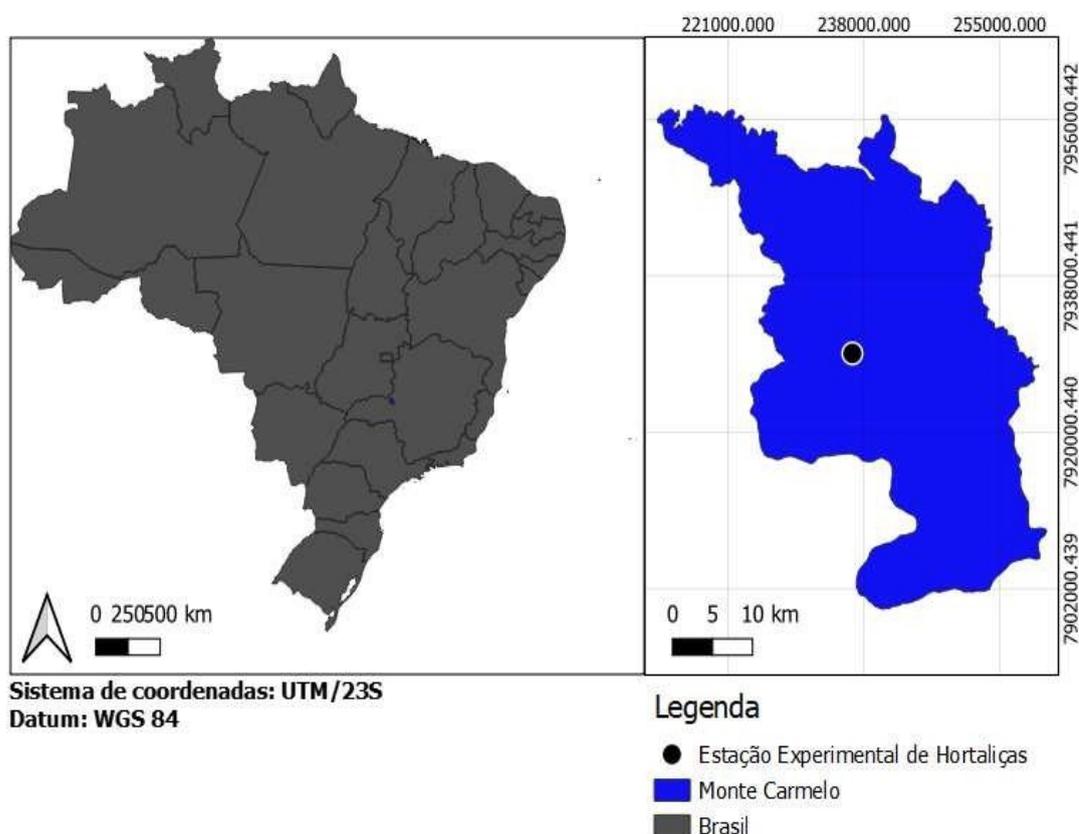
Há relatos de uma cultivar de alface do tipo lisa (Uberlândia 10000), rica em carotenoide (Souza et al., 2007). No entanto, há vários outros tipos de alface cuja ordem de importância econômica são a crespa, americana, lisa e romana (Sala & Costa, 2012). A Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Monte Carmelo, possui importante germoplasma de alfaces biofortificadas cadastradas no Software “BG  $\alpha$  BIOFORT” (Maciel et al., 2019b). Apesar do potencial desse germoplasma, sugere-se a obtenção de novas combinações híbridas para potencializar o nível de carotenoide em futuras cultivares de alface, capazes de proporcionar uma alimentação com maior qualidade nutricional.

A comercialização de sementes e cultivo comercial de alface híbrida ainda não é uma realidade no mundo. Um dos maiores entraves está no alto custo para obtenção de sementes híbridas. Assim, nesse trabalho, a obtenção de híbridos foi realizada para obter avanços genéticos, genótipos mais adaptados com maior concentração de frequência de alelos favoráveis fixados. Para carotenoides, há relatos que o caráter seja controlado por poligenes e ação genica aditiva (OLIVEIRA et al., 2021).

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi selecionar híbridos de alface visando à obtenção de populações produtivas e biofortificadas para carotenoides.

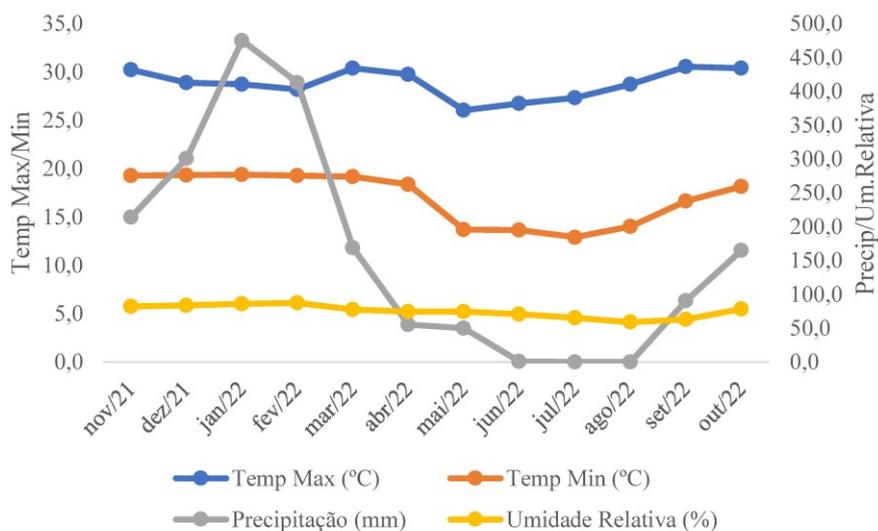
## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia-UFU, campus Monte Carmelo, MG, (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" O; 873 m de altitude) (Figura 1).



**FIGURA 1.** Localização do experimento, Monte Carmelo-MG.

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). Durante a realização do experimento foram monitoradas as condições do ambiente (Figura 2).



**FIGURA 2.** Condições climáticas (temperatura máxima e mínima, precipitação e umidade relativa), nos meses de novembro/2021 a outubro/2022, período de realização do experimento.

Os genótipos utilizados fazem parte do Programa de Melhoramento Genético de Hortaliças Biofortificadas da UFU, cadastradas no Software BG  $\alpha$  BIOFORT INPI BR512019002403-6 (Maciel et al., 2019b). As linhagens foram obtidas após hibridação entre as cultivares Pira 72 *versus* Uberlândia 10000, seguido de sete sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 a 2019. Foi utilizado o método genealógico para a obtenção das linhagens (MACIEL et al., 2019a; MACIEL et al., 2020; SOUSA et al., 2021; CLEMENTE et al., 2021; CLEMENTE et al., 2023; RIBEIRO et al., 2023).

A presente pesquisa foi dividida em duas etapas, sendo a primeira realizada a partir da semeadura das dez linhagens biofortificadas para vários pigmentos (Tabela 1) com objetivo de obtenção dos híbridos de alface.

**TABELA 1.** Descrição das dez linhagens de alfaces biofortificadas cadastradas no Software BG  $\alpha$  BIOFORT pré-selecionadas para obtenção de híbridos de alface.

ID	Linhagens	Tipo	Cor	Pigmento em destaque	Referência
1	UFU197#1#1	Lisa	verde	Carotenoide	MACIEL et al., 2020; CLEMENTE et al., 2023
2	UFU MC BIOFORT1	Crespa	Verde	Clorofila	MACIEL et al., 2020; CLEMENTE et al., 2023
3	UFU MC BIOFORT 2	Crespa	Vermelha	Carotenoide	MACIEL et al., 2019b; CLEMENTE et al., 2023
4	UFU75#2#2#1	Crespa	Vermelha	Clorofila	MACIEL et al., 2019b; CLEMENTE et al., 2023
5	UFU66#7	Lisa	Vermelha	Carotenoide	MACIEL et al., 2019b; CLEMENTE et al., 2023
6	UFU189#2#2#1	Lisa	Vermelha	Clorofila	MACIEL et al., 2019b; CLEMENTE et al., 2023
7	UFU206#1#3#1	Lisa	Vermelha	Clorofila	MACIEL et al., 2019b; CLEMENTE et al., 2023
8	UFU66#4#2	Crespa	Verde	Carotenoide	MACIEL et al., 2020; CLEMENTE et al., 2023
9	UFU-189#3#4#1	Crespa	Verde	Carotenoide	MACIEL et al., 2020; CLEMENTE et al., 2023
10	UFU215#2#2	Lisa	Vermelha	Clorofila	MACIEL et a., 2019b; CLEMENTE et al., 2023

A semeadura das dez linhagens (Tabela 1) foi realizada em 22 de novembro de 2021 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 5 x 6 metros e pé direito de 3,5 metros coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioletas.

Trinta dias após a semeadura (DAS) foi realizado o transplântio das mudas para vasos de cinco litros, preenchidos com o mesmo substrato da semeadura, mantidos em casa de vegetação. Ao atingir o estágio fenológico de pleno florescimento foi iniciada as hibridações. A definição da direção dos cruzamentos para obtenção dos híbridos foi planejada envolvendo duas linhagens ricas em pelo menos um dos pigmentos (clorofila e carotenoides) (Tabela 1), sendo planejado e obtido vinte e quatro híbridos experimentais (Tabela 2).

**TABELA 2.** Híbridos experimentais obtidos a partir do cruzamento entre linhagens biofortificadas para carotenoide e/ou clorofila.

<b>ID</b>	<b>Híbridos</b>	<b>Presumivelmente biofortificado para</b>
11	UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1	Clorofila
12	UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2	Carotenoide
13	UFU75#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2	Carotenoide e clorofila
14	UFU-189#3#4#1 x UFU75#2#2#1	Carotenoide e clorofila
15	UFU206#1#3#1 x UFU189#2#2#1	Clorofila
16	UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT 2	Carotenoide
17	UFU206#1#3#1 x UFU MC BIOFORT 2	Carotenoide e clorofila
18	UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2	Clorofila
19	UFU215#2#2 x UFU206#1#3#1	Clorofila
20	UFU215#2#2 x UFU MC BIOFORT 2	Carotenoide e clorofila
21	UFU215#2#2 x UFU189#2#2#1	Clorofila
22	UFU189#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2	Carotenoide e clorofila
23	UFU-189#3#4#1 x UFU206#1#3#1	Carotenoide e clorofila
24	UFU66#7 x UFU MC BIOFORT 2	Carotenoide
25	UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1	Carotenoide
26	UFU-189#3#4#1 x UFU189#2#2#1	Carotenoide e clorofila
27	UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1	Carotenoide e clorofila
28	UFU66#7 x UFU215#2#2	Carotenoide e clorofila
29	UFU MC BIOFORT1 x UFU75#2#2#1	Clorofila
30	UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1	Clorofila
31	UFU MC BIOFORT 2 x UFU75#2#2#1	Carotenoide e clorofila
32	UFU MC BIOFORT 2 x UFU206#1#3#1	Carotenoide
33	UFU189#2#2#1 x UFU206#1#3#1	Clorofila
34	UFU MC BIOFORT 2 x UFU189#2#2#1	Carotenoide e clorofila

Aos 110 DAS, as dez linhagens apresentaram florescimento pleno. Diante disso, para a obtenção da geração F<sub>1</sub>, os botões florais das plantas de cada linhagem do genitor feminino foram emasculados antes do nascer do sol a partir da técnica de despolinização e hibridação (NAGAI, 1980), e posteriormente, foram lavados com água utilizando um borrifador. Decorridos 157 DAS, as sementes da geração F<sub>1</sub> (híbridas) e dos parentais masculino e feminino

(autofecundação natural) foram colhidas, beneficiadas, identificadas e armazenadas em sacos de papel a 18°C.

A segunda etapa da pesquisa consistiu na semeadura em 07 de julho de 2022, das dez linhagens (parentais masculinos e femininos), vinte e quatro híbridos experimentais (Tabela 2) e três cultivares comerciais de alface (Grand Rapids, Uberlândia 10000 e Rubinela), totalizando trinta e sete tratamentos que foram avaliados quanto aos parâmetros agrônômicos e teores de clorofila e carotenoides.

A produção de mudas ocorreu de forma similar a primeira etapa. O transplântio ocorreu aos 30 DAS no campo. O solo foi previamente preparado com gradagem e subsolador. Em seguida foram obtidos canteiros com 20 metros de comprimento por 1,3 metros de largura, a partir de um rotoencanteirador. Cada parcela do experimento foi composta por doze plantas arranjadas em quatro linhas centrais por canteiro. O espaçamento utilizado foi de 0,25 x 0,25 metros. Foram avaliadas as quatro plantas centrais. O delineamento experimental realizado foi em blocos casualizados com três repetições e 111 parcelas.

Decorridos 49 DAS foi realizada a colheita e realizadas as avaliações dos parâmetros agrônômicos: massa fresca (MF), obtida por meio da pesagem de todas as folhas externas; diâmetro do caule (DC) e comprimento do caule (CC), avaliados com auxílio de um paquímetro; número de folhas (NF), a partir da contagem de folhas superiores a 5 cm; diâmetro de planta (DP), avaliados com auxílio de uma régua; e temperatura foliar (TF) obtida a partir do posicionamento de um termômetro infravermelho (modelo 4000.4GL, Everest Interscience, Tucson, AZ, USA) nas folhas superiores. O índice SPAD (Cassetari et al., 2015) foi obtido pelo valor médio após coletar os dados das quatro plantas centrais de cada parcela utilizando o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030.

Para extração de clorofila e carotenoides foi adicionado a 0,5 g de tecido vegetal uma solução composta por éter de petróleo e acetona (1:1). Após 24 horas de incubação em ausência de luz realizou-se a leitura da absorbância do sobrenadante em espectrofotômetro UV-190 nos comprimentos de 645, 652 e 663nm para clorofila A, clorofila B e clorofila total, respectivamente; e 470 nm para carotenoide total. A partir das absorbâncias foram calculados os teores de pigmentos foliares ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de tecido fresco), conforme Cassetari et al. (2015).

Os dados foram submetidos a testes de pressuposição da análise de variância (ANOVA) de normalidade dos resíduos (Kolmogorov-Smirnov), homogeneidade de variâncias (Levene) e aditividade de blocos (Teste de não aditividade de Tukey). As médias foram obtidas e apresentadas por Box plot. Os dados também foram submetidos a análise multivariada com o

objetivo de caracterizar a dissimilaridade entre tratamentos e variáveis a partir de dendrograma de mapa de calor. A matriz de dissimilaridade foi obtida pela distância de Mahalanobis, sendo a dissimilaridade genética representada pelo dendrograma obtido pelo método hierárquico Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages (UPGMA). O agrupamento de UPGMA foi validado pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) calculado pelo teste de Mantel (1967). A contribuição relativa dos caracteres avaliados foi calculada conforme critério de Singh (1981). Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do software R 3.6 (R Core Team, 2023).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todo programa de melhoramento genético vegetal busca a obtenção de novas cultivares superiores, distintas, homogêneas e estáveis em relação a cultivares comerciais (RNC, 2023). O sucesso para obtenção de populações melhoradas depende *a priori* de uma avaliação criteriosa dos híbridos (F<sub>1</sub>) que darão origem as populações F<sub>2</sub>. Diante disso, é fundamental que exista superioridade dos híbridos em relação a cultivares comerciais. Foi possível observar efeitos significativos ( $\alpha=0,01$ ,  $\alpha=0,05$ , teste F) ao comparar o grupo dos híbridos em relação as testemunhas comerciais (cultivares Grand Rapids e Rubinela) para as variáveis clorofila *a* e índice SPAD (Tabela 3).

**TABELA 3.** Estimativa de contrastes de interesse para clorofilas *a*, clorofila *b*, clorofila total, carotenoides e índice SPAD.

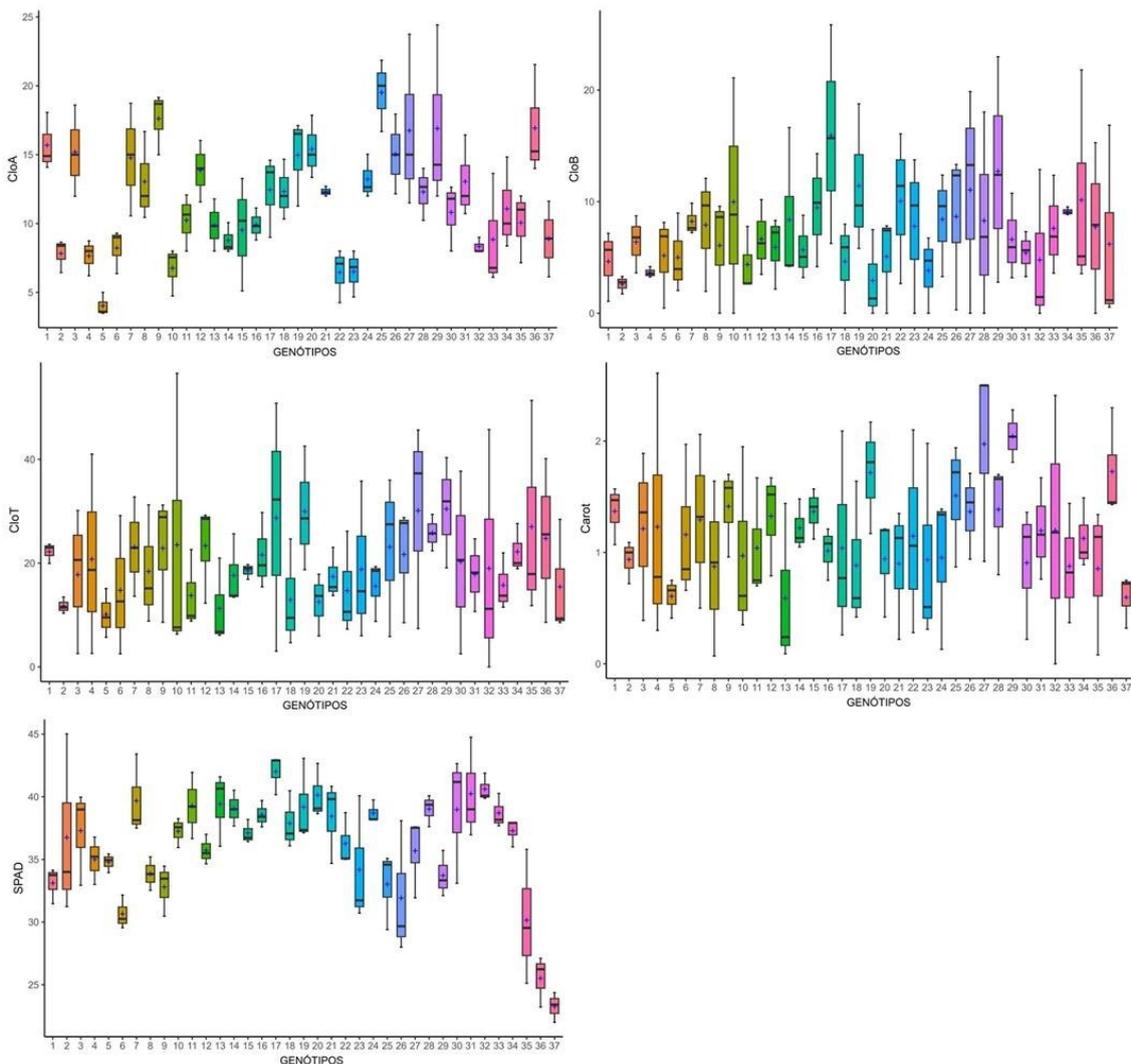
Contraste de interesse		Estimativa de contraste <sup>(x)</sup>				
		CloA	CloB	CloT	Carot	SPAD
C1	Híbridos vs Linhagens	0,93 <sup>ns</sup>	1,73 <sup>ns</sup>	1,59 <sup>ns</sup>	0,087 <sup>ns</sup>	2,59**
C2	Híbridos vs U.10.000	-4,9 <sup>ns</sup>	-0,035 <sup>ns</sup>	-4,64 <sup>ns</sup>	-0,53 <sup>ns</sup>	12,19**
C3	Híbridos vs comerciais	2,54*	0,47 <sup>ns</sup>	1,11 <sup>ns</sup>	0,46 <sup>ns</sup>	11,0**

<sup>(x)</sup> \*\*, \* e <sup>ns</sup> = significativo  $\alpha=0,01$ ,  $\alpha=0,05$  e não significativo, respectivamente, pelo teste de Scheffé. C1: contraste 1; C2: contraste 2; C3: contraste 3. <sup>1</sup>CloA: clorofila *a*; CloB: clorofila *b*; CloT: clorofila total; Carot: carotenoide e SPAD: índice SPAD/carotenoide.

É importante ressaltar que o índice SPAD possui correlação positiva com carotenoides (CASSETARI et al., 2015), sendo uma forma indireta para quantificar este pigmento. A superioridade dos híbridos em relação às testemunhas comerciais para as variáveis clorofila *a* e SPAD é um indicativo que existem majoritariamente efeitos aditivos. Há relatos que o

controle genético do caráter clorofila *a* e SPAD/carotenoides é quantitativo de ação gênica aditiva (OLIVEIRA et al., 2021). Os híbridos foram similares em relação as linhagens em todas as variáveis, exceto para o índice SPAD (Tabela 3). A cultivar Uberlândia 10000 é referência para programas de melhoramento por ser rica em carotenoide (SOUZA et al., 2007; MACIEL et al., 2019a, MACIEL et al., 2020). A Uberlândia 10000 apresentou similaridade em relação aos híbridos para as variáveis clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides. Em contrapartida, os híbridos foram superiores (12,19\*\*) em relação a cultivar Uberlândia 10000 para o índice SPAD/carotenoide se diferenciando significativamente a 1% de probabilidade pelo teste F (Tabela 3). Oliveira et al. (2021) identificaram a ocorrência de segregação transgressiva na geração F<sub>2</sub> em alfaces biofortificadas. Esses resultados reforçam o potencial dos híbridos para obtenção de futuras populações.

O desempenho *per se* dos híbridos, linhagens, cultivares comerciais e a cultivar rica em carotenoide Uberlândia 10000 (Souza et al., 2007) foram comparados quanto ao índice SPAD/carotenoide, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoide (Figura 3).



**FIGURA 3.** Comparação entre híbridos, linhagens e cultivares comerciais em relação a Uberlândia 10000. 1- UFU197#1#1; 2- UFU MC BIOFORT1; 3- UFU MC BIOFORT 2; 4- UFU75#2#2#1; 5- UFU66#7; 6- UFU189#2#2#1; 7- UFU206#1#3#1; 8- UFU66#4#2; 9- UFU-189#3#4#1; 10- UFU215#2#2; 11- UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1; 12- UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2; 13- UFU75#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2; 14- UFU-189#3#4#1 x UFU75#2#2#1; 15- UFU206#1#3#1 x UFU189#2#2#1; 16- UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT 2; 17- UFU206#1#3#1 x UFU MC BIOFORT 2; 18- UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2; 19- UFU215#2#2 x UFU206#1#3#1; 20- UFU215#2#2 x UFU MC BIOFORT 2; 21- UFU215#2#2 x UFU189#2#2#1; 22- UFU189#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2; 23- UFU-189#3#4#1 x UFU206#1#3#1; 24- UFU66#7 x UFU MC BIOFORT 2; 25- UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1; 26- UFU-189#3#4#1 x UFU189#2#2#1; 27- UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1; 28- UFU66#7 x UFU215#2#2; 29- UFU MC BIOFORT1 x UFU75#2#2#1; 30- UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1; 31- UFU MC BIOFORT 2 x UFU75#2#2#1; 32- UFU MC BIOFORT 2 x UFU206#1#3#1; 33- UFU189#2#2#1 x UFU206#1#3#1; 34-UFU MC BIOFORT 2 x UFU189#2#2#1; 35- Rubinela; 36- Uberlândia 10000 e 37- Grand Rapids. <sup>1</sup>CloA: clorofila a; CloB: clorofila b; CloT: clorofila total; Carot: carotenoide e SPAD: índice SPAD/carotenoide.

A clorofila está relacionada diretamente a atividade fotossintética, desta forma, o estado nutricional da planta está diretamente relacionado a quantidade e qualidade de clorofila (Cassetari et al., 2015). As clorofilas pertencem a uma família de substâncias semelhantes, chamadas de clorofila *a*, *b*, *c* e *d*, sendo a clorofila *a* a mais abundante e importante desta família, correspondente a, aproximadamente, 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais (GROSS, 1991).

Em relação aos quantitativos de clorofila *a* ficou evidente a superioridade da cultivar Uberlândia 10000 (Souza et al., 2007) em relação as testemunhas comerciais. Pôde-se observar que os híbridos foram majoritariamente similares em relação a cultivar Uberlândia 10000 e superiores em relação as testemunhas comerciais (Figura 3).

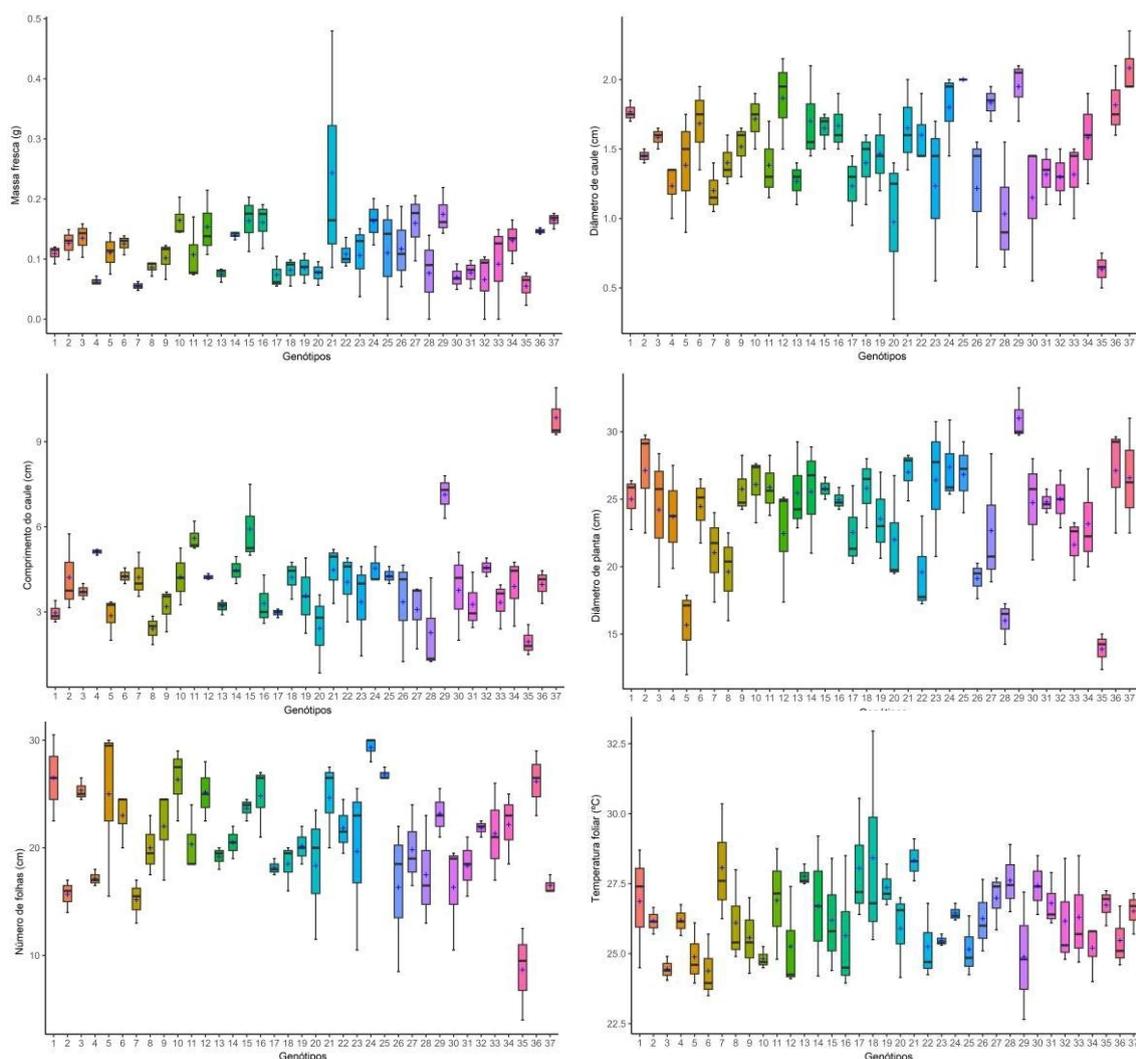
Em menor magnitude é possível observar que para clorofila *b* os híbridos também apresentaram de forma majoritária os maiores valores merecendo destaque o híbrido 17 (UFU206#1#3#1 x UFU MC BIOFORT 2) (Figura 3).

Para clorofila total os híbridos 17 (UFU206#1#3#1 x UFU MC BIOFORT 2) e 27 (UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1) foram superiores em relação as testemunhas comerciais, linhagens e Uberlândia 10.000 (Figura 3). O híbrido 27 (UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1) foi o que apresentou o maior equilíbrio para os pigmentos quando comparado as testemunhas comerciais e Uberlândia 10000 (Figura 3).

O teor de carotenoides, obtido pela quantificação em laboratório, deixa evidente que a cultivar Uberlândia 10000 é de fato rica neste pigmento (Figura 3). Diversas pesquisas têm observado o potencial da cultivar Uberlândia 10000 (Souza et al., 2007; Maciel et al., 2019a, Maciel et al., 2020). Apesar de ser notório que Uberlândia 10000 é biofortificada é preciso ressaltar que essa cultivar de alface é do tipo lisa. No Brasil, a preferência dos consumidores é para cultivares do tipo crespa (Sala & Costa, 2012), reforçando a importância de se buscar novas alternativas para obtenção de populações de alfaces superiores.

Diversas pesquisas têm avaliado e comparado diferentes genótipos de alface (Maciel et al., 2019a; Clemente et al., 2023). No entanto, para obter incrementos em características quantitativas é preciso recombinar indivíduos superiores (Borém & Miranda, 2013). Os resultados obtidos para índice SPAD, um preditor para carotenoide (Cassetari et al. 2015), deixa evidente que os parentais masculinos e femininos utilizados para obtenção dos híbridos nessa pesquisa são biofortificados. Como pode ser observado, todos os híbridos e linhagens foram superiores no teor de carotenoides em relação às testemunhas comerciais (Figura 3).

Além da importância da biofortificação em alface é preciso que a planta apresente bom desempenho agrônômico (Maciel et al., 2019a). Para tanto, experimentos são realizados comparando linhagens experimentais com cultivares comerciais (Ribeiro et al., 2023). Os resultados de massa fresca, diâmetro e comprimento do caule, número de folhas, diâmetro de planta e temperatura foliar obtidos nessa pesquisa foram apresentados na Figura 4.

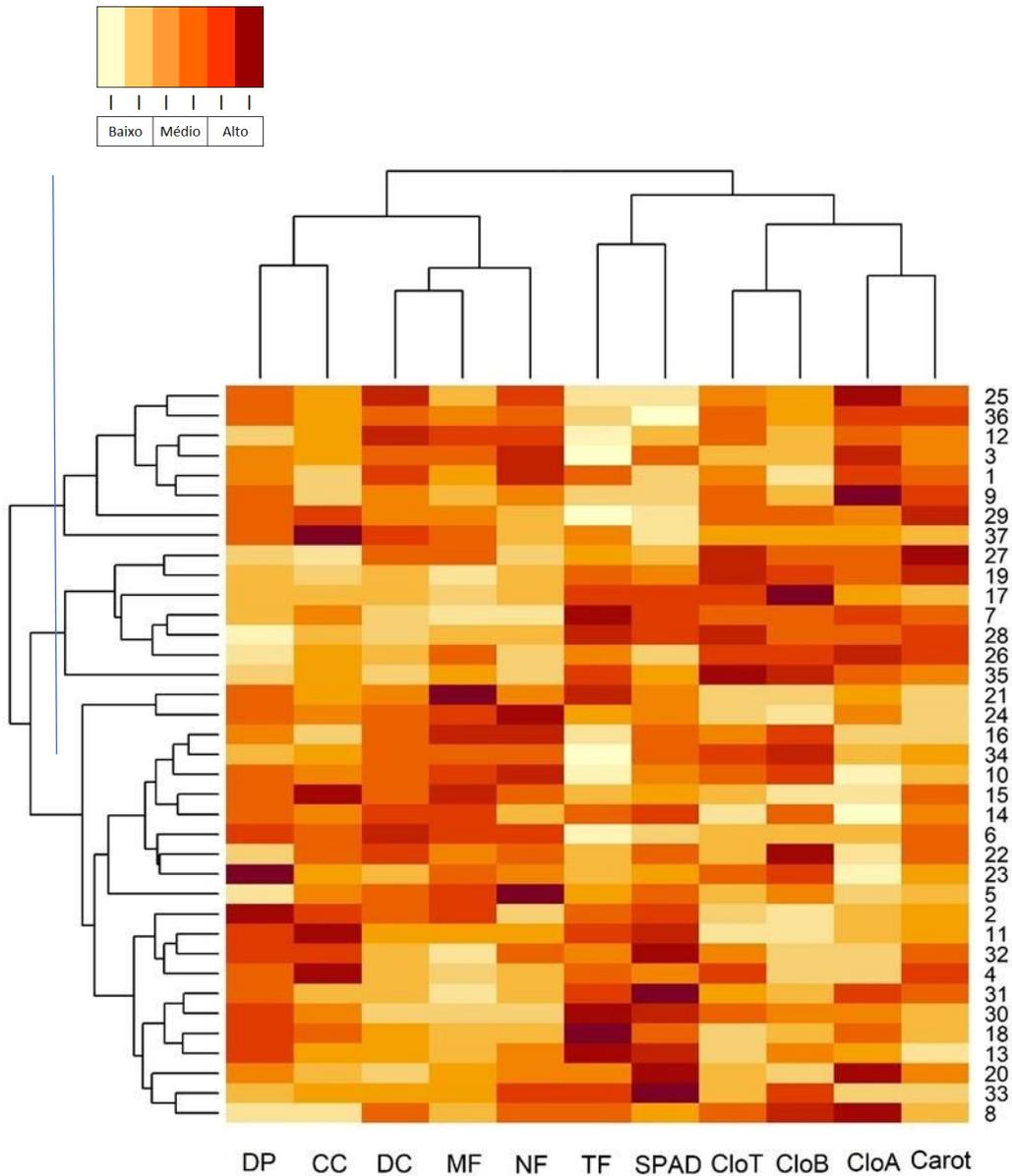


**FIGURA 4.** Desempenho agrônômico de híbridos, linhagens e cultivares comerciais em relação a Uberlândia 10000. 1- UFU197#1#1; 2- UFU MC BIOFORT1; 3- UFU MC BIOFORT 2; 4- UFU75#2#2#1; 5- UFU66#7; 6- UFU189#2#2#1; 7- UFU206#1#3#1; 8- UFU66#4#2; 9- UFU-189#3#4#1; 10- UFU215#2#2; 11- UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1; 12- UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2; 13- UFU75#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2; 14- UFU-189#3#4#1 x UFU75#2#2#1; 15- UFU206#1#3#1 x UFU189#2#2#1; 16- UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT 2; 17- UFU206#1#3#1 x UFU MC BIOFORT 2; 18- UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2; 19- UFU215#2#2 x UFU206#1#3#1; 20- UFU215#2#2 x UFU MC BIOFORT 2; 21- UFU215#2#2 x UFU189#2#2#1; 22- UFU189#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2; 23- UFU-189#3#4#1 x UFU206#1#3#1; 24- UFU66#7 x UFU MC BIOFORT 2; 25- UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1; 26- UFU-189#3#4#1 x UFU189#2#2#1; 27- UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1; 28- UFU66#7 x UFU215#2#2; 29- UFU MC BIOFORT1 x UFU75#2#2#1; 30-

UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1; 31- UFU MC BIOFORT 2 x UFU75#2#2#1; 32- UFU MC BIOFORT 2 x UFU206#1#3#1; 33- UFU189#2#2#1 x UFU206#1#3#1; 34- UFU MC BIOFORT 2 x UFU189#2#2#1; 35- Rubinela; 36- Uberlândia 10000 e 37- Grand Rapids.

Os híbridos foram similares em relação as linhagens e cultivares comerciais para todas as variáveis agronômicas. Este resultado indica que além de se apresentarem como potenciais híbridos para obtenção de populações melhoradas quanto à biofortificação, também seguem o padrão agronômico. Estes resultados agronômicos corroboram com pesquisas que avaliaram alfaces biofortificadas (Maciel et al., 2019a; Clemente et al., 2023; Ribeiro et al., 2023), assegurando que de fato os híbridos possuem potencial para obtenção de populações.

As variáveis agronômicas e pigmentos foram avaliadas de forma multivariada e apresentaram CCC de 90% (Figura 5).



**FIGURA 5.** Mapa de calor dos teores de pigmentos foliares e parâmetros agrônômicos de híbridos, linhagens e cultivares comerciais. 1- UFU197#1#1; 2- UFU MC BIOFORT1; 3- UFU MC BIOFORT 2; 4- UFU75#2#2#1; 5- UFU66#7; 6- UFU189#2#2#1; 7- UFU206#1#3#1; 8- UFU66#4#2; 9- UFU-189#3#4#1; 10- UFU215#2#2; 11- UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1; 12- UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2; 13- UFU75#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2; 14- UFU-189#3#4#1 x UFU75#2#2#1; 15- UFU206#1#3#1 x UFU189#2#2#1; 16- UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT 2; 17- UFU206#1#3#1 x UFU MC BIOFORT 2; 18- UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2; 19- UFU215#2#2 x UFU206#1#3#1; 20- UFU215#2#2 x UFU MC BIOFORT 2; 21- UFU215#2#2 x UFU189#2#2#1; 22- UFU189#2#2#1 x UFU MC BIOFORT 2; 23- UFU-189#3#4#1 x UFU206#1#3#1; 24- UFU66#7 x UFU MC BIOFORT 2; 25- UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1; 26- UFU-189#3#4#1 x UFU189#2#2#1; 27- UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1; 28- UFU66#7 x UFU215#2#2; 29- UFU MC BIOFORT1 x UFU75#2#2#1; 30- UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1; 31- UFU MC BIOFORT 2 x UFU75#2#2#1; 32- UFU MC BIOFORT 2 x UFU206#1#3#1; 33- UFU189#2#2#1 x

UFU206#1#3#1; 34- UFU MC BIOFORT 2 x UFU189#2#2#1; 35- Rubinela; 36- Uberlândia 10000 e 37- Grand Rapids. <sup>1</sup>MF: massa fresca (g); DC: diâmetro do caule (cm); CC: comprimento do caule (cm); NF: número de folhas; DP: diâmetro de planta (cm); TF: temperatura foliar (°C); SPAD: índice SPAD/carotenoide; CloA: clorofila a; CloB: clorofila B; CloT: clorofila total e Carot: carotenoide.

Como pode ser observado no dendrograma (Figura 5) é possível afirmar que o germoplasma avaliado possui ampla variabilidade genética. O primeiro grupo foi composto pelos genótipos 25, 36, 12, 3, 1, 9, 29 e 37, isto é, três híbridos, três linhagens, a cultivar Uberlândia 10000 (rica em carotenoide) e cultivar comercial Grand Rapids. Estes resultados indicam que os híbridos 12 (UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2) e 25 (UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1) aliam os quesitos de biofortificação e potencial agrônômico. Há coerência dos resultados, pois de fato, para número de folhas e diâmetro de planta esses híbridos apresentaram boa performance (Figura 4). De forma similar, os mesmos híbridos se destacaram para todos os pigmentos (Figura 3). Pelo mapa de calor (Figura 5) é possível observar cores mais quentes para pigmentos e para variáveis agrônômicas. Estes resultados são confirmados ao analisar a cultivar comercial 37 (Grand Rapids) que apresenta majoritariamente cores mais frias (Figura 5). Há relatos de variabilidade genética em alface biofortificada (Clemente et al., 2021), mas objetivando a comparação de linhagens e cultivares comerciais. A avaliação de híbridos de alface para obtenção de populações potenciais visando biofortificação e potencial agrônômico é escasso.

O segundo grupo foi constituído pelos genótipos 27, 19, 17, 7, 28, 26 e 35, isto é, cinco híbridos, uma linhagem e uma testemunha comercial (cv. Rubinela) (Figura 5). O terceiro grupo foi formado pela maioria dos genótipos (21, 24, 16, 34, 10, 15, 14, 6, 22, 23, 5, 2, 11, 32, 4, 31, 30, 18, 13, 20, 33 e 8) sendo 16 híbridos e seis linhagens.

A contribuição relativa de caracteres referente a pigmentos (índice SPAD/carotenoide, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides) foi superior a 30% (Tabela 4).

**TABELA 4.** Contribuição relativa de onze caracteres para dissimilaridade genética (S.j) entre 37 genótipos de alface biofortificada.

<b>Características<sup>1</sup></b>	<b>S.j (%)</b>
Clorofila <i>a</i>	14,7
Clorofila <i>b</i>	2,03
Clorofila total	0,00
Carotenoides	2,62
Massa fresca	2,15
Número de folhas	13,26
Diâmetro do caule	7,36
Comprimento do caule	34,37
Diâmetro da planta	8,16
Temperatura foliar	2,56
Índice SPAD	12,74

<sup>1</sup>MF: massa fresca (g); DC: diâmetro do caule (cm); CC: comprimento do caule (cm); NF: número de folhas; DP: diâmetro de planta (cm); TF: temperatura foliar (°C); SPAD: índice SPAD/carotenoide; CloA: clorofila a; CloB: clorofila b; CloT: clorofila total e Carot: carotenoide.

Entre os pigmentos, as maiores contribuições relativas de caracteres foram apresentadas pela clorofila *a* e carotenoide a partir de análise indireta por índice SPAD apresentando 14,7 e 12,74%, respectivamente (Tabela 4). Para as variáveis agrônômicas, o comprimento de caule foi o parâmetro que mais contribuiu para a dissimilaridade genética apresentando 34,37%. Essa informação reforça o fato de que as linhagens utilizadas no estudo, como parentais dos híbridos, pertencem ao um germoplasma de alfaces tropicalizadas, apresentando pendoamento tardio, diferente do que ocorreu com cultivares comerciais avaliadas (Tabela 4).

## CONCLUSÕES

1. Os híbridos 12 (UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2) e 25 (UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1) possuem potencial para obtenção de populações de duplo propósito (produção e biofortificada para carotenoides).

2. O híbrido 27 (UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1) apresenta maior equilíbrio para pigmentos.
3. Sugere-se a obtenção de populações F<sub>2</sub> dos híbridos 12 (UFU-189#3#4#1 x UFU MC BIOFORT 2), 25 (UFU66#4#2 x UFU-189#3#4#1) e 27 (UFU66#4#2 x UFU MC BIOFORT1) visando a obtenção de novas cultivares biofortificadas vermelhas e verdes, para os segmentos de alface crespa, americana, mini e romana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORÉM, A.; MIRANDA, G. **Melhoramento de Plantas**. 6.ed. Viçosa: UFV, 2013. 523p.

CASSETARI, L. S.; GOMES, M. S.; SANTOS, D. C.; SANTIAGO, W. D.; ANDRADE, J.; GUIMARÃES, A. C.; SOUZA, J. A.; CARDOSO, M. G.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A.  $\beta$ -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, v. 1083, p. 469-474, 2015. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.60>

CARDOSO, A. L.; KITAOKA, E.; AZEVEDO, M.; RIBEIRO, R.; TUMAS, R.; ZAMBERLAN, P. Nutrição adequada e proteção do sistema imunológico na época da Covid-19. Associação de pediatria de São Paulo, 2020. <https://www.spsp.org.br/2020/05/08>. Accessed on: September 2023.

CHENG, D. M.; POGREBNIYAK, N.; KUHN, P.; POULEV, A.; WATERMAN, C.; ROJAS-SILVA, P.; JOHNSON, W. D.; RASKIN, I.; Polyphenol-rich Rutgers Scarlet Lettuce improves glucose metabolism and liver lipid accumulation in diet-induced obese C57BL/6 mice. **Nutrition**, v.30, p. 52-58, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.02.022>

CLEMENTE, A. A.; MACIEL, G. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; GALLIS, R. B. A.; LUZ, J. M. Q.; SALA, F. C.; PEREIRA, L. M.; YADA, R. Y. Nutritional characterization based on vegetation indices to detect anthocyanins, carotenoids, and chlorophylls in mini-lettuce. **Agronomy-Basel**, v. 13, p. 1-16, 2023. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051403>

CLEMENTE, A. A.; MACIEL, G. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; GALLIS, R. B. A.; PEREIRA, L. M.; DUARTE, J. G. High-throughput phenotyping to detect anthocyanins, chlorophylls, and carotenoids in red lettuce germplasm. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 103, p. 102533, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2021.102533>

COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacultura brasileira (artigo de capa). **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 398-400, 2005.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of Food Security and Nutrition in the World 2022**. Available on: <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cc0639en> . Accessed on: June 2023.

GOPAL, S. S.; LAKSHMI, M. J.; SHARAVANA, G.; SATHAIAH, G.; SREERAMA, Y. N.; BASKARAN, V. LACTUCAXANTHIN: A potential anti-diabetic carotenoid from lettuce (*Lactuca sativa*) inhibits  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activity in vitro and in diabetic rats. **Food Function**, v. 8, p. 1124-1131, 2017. <https://doi.org/10.1039/c6fo01655c>

GROSS, J. **Pigments in vegetables, chlorophylls and carotenoids**. New York: V. N. Reinhold, 1991. 351 p.

ISMAIL, H.; DILSHAD, E.; WAHEED, M. T.; SAJID, M.; KAYANI, W. K.; MIRZA, B. Transformation of *Lactuca sativa* L. with rol C gene results in increased antioxidant potential and enhanced analgesic, anti-inflammatory and antidepressant activities in vivo. **3 Biotech**, v. 6, p. 1-11, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0533-4>

KÖPPEN, W. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. Fondo de Cultura Económica. México. 1948. 479p.

LEE, J. H.; FELIPE, P.; YANG, Y. H.; KIM, M. Y.; KWON, O. Y.; SOK, D. E.; H. KIM, H. C.; KIM, M. R. Effects of dietary supplementation with red-pigmented leafy lettuce (*Lactuca sativa*) on lipid profiles and antioxidant status in C57BL/6J mice fed a high-fat high-cholesterol diet. **British Journal of Nutrition**, v.101, p. 1246–1254, 2009. <https://doi.org/10.1017/S0007114508073650>

LUCINI, L.; PELLIZZONI, M.; BAFFI, C.; MOLINARI, G. P. Rapid determination of lycopene and  $\beta$ -carotene in tomato by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 1297-1303, 2012. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4698>

MACIEL, G. M.; GALLIS, R. B. A.; BARBOSA, R. L.; PEREIRA, L. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; PEIXOTO, J. V. M. Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 81, p. 154-160, 2019a. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.016>

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

MACIEL, G. M.; GALLIS, R. B. A.; BARBOSA, R. L.; PEREIRA, L. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; PEIXOTO, J. V. M. Image phenotyping of lettuce germplasm with genetically diverse carotenoid levels. **Bragantia**, v. 8, p. 1-12, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190519>

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

NAGAI, H. Obtenção de novos cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistentes ao mosaico e ao calor. **Revista de Olericultura**, v.18. p.14-21. 1980.

NOUMEDEM, J. A. K.; DJEUSSI, D. E.; HRITCU, L.; MIHASAN, M.; KUETE, V. *Lactuca sativa*. In: Victor, K. Medicinal spices and vegetables from Africa: therapeutic potential

against metabolic, inflammatory, infectious and systemic diseases. **Massachusetts: Academic Press**, 2017, p. 437-449. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00020-0>

OLIVEIRA, A. H. G.; MACIEL, G. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, E. C. D. Dynamics of heritability in different characters of lettuce. **Revista Caatinga**, v. 34, p. 514–526, 2021. <https://doi.org/10.1590/1983-21252021v34n303rc>

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available on: <http://www.R-project.org/>. Accessed on: 10 junho de 2023.

RIBEIRO, A. L. A.; MACIEL, G. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; LUZ, J. M. Q.; GALLIS, R. B. A.; ASSIS, P. H. S.; CATAO, H. C. R. M.; YADA, R. Y. Vegetation Indices for Predicting the Growth and Harvest Rate of Lettuce. **Agriculture**, v. 13, p. 1-16, 2023. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051091>

RNC – **Registro Nacional de Cultivares**. CultivarWeb. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Available on: [https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares\\_registradas.php](https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php). Accessed on: June 2023.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Hortic Bras**, v. 30, p. 187-194, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>

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

SOUZA, C. S.; BONETTI, A. M.; GOULART FILHO, L. R.; MACHADO, J. R. A.; LONDE, L. N.; BAFFI, M. A.; RAMOS, R. G.; VIEIRA, C. U.; KERR, W. E. Divergência genética entre genótipos de alface por meio de marcadores AFLP. **Bragantia**, v. 66, p. 11-16, 2007.

SOUSA, L. A.; MACIEL, G. M.; CEZAR, J. F.; BELOTI, I. F.; CARDOSO, D. B. O.; SIQUIEROLI, A. C. Genetic parameters and selection of biofortified lettuce genotypes based on selection índices. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, p. 772-778, 2021. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n11p772-778>