

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

MARCOS VINÍCIUS SILVA PEREIRA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR MEIO DE ANÁLISES IN SILICO
DE GENES CHAVES DAS ROTAS METABÓLICAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS
EM ALFACE**

Monte Carmelo

2024

MARCOS VINÍCIUS SILVA PEREIRA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR MEIO DE ANÁLISES IN SILICO
DE GENES CHAVES DAS ROTAS METABÓLICAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS
EM ALFACE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli

Monte Carmelo

2024

SUMÁRIO

RESUMO	3
1 INTRODUÇÃO.....	4
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Alface.....	5
2.2 Compostos bioativos	6
2.3 Bioinformática	7
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1 Identificação das rotas metabólicas de síntese de pigmentos	7
3.2 Identificação e caracterização de genes putativos envolvidos na produção dos pigmentos não listados na literatura	8
3.3 Análises de domínios conservados e sítios ativos	8
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	9
4.1 Betacaroteno e Licopeno	9
4.2 Luteína	10
4.3 Antocianina.....	11
5 CONCLUSÕES	13
REFERÊNCIAS	13

RESUMO

Os pigmentos foliares atuam como bioativos e quando presentes na alimentação agem como precursores da vitamina A e antioxidantes, tendo papel importante na prevenção de doenças cardíacas e câncer. Considerados os seus benefícios, é recomendado que o conteúdo nutritivo das plantas seja adotado como critério de seleção no melhoramento genético. No entanto, existem diversas barreiras metodológicas que podem dificultar a quantificação de carotenoides e flavonoides por métodos convencionais. Com o desenvolvimento das tecnologias “Omics” e evolução das ferramentas de bioinformática torna-se possível fornecer uma base para pesquisas como identificação de genes e desenvolvimento de marcadores funcionais e quantitativos para compreender as bases moleculares das plantas. Neste trabalho, objetivou-se identificar e caracterizar por meio de análises *in silico* genes chaves das rotas metabólicas de compostos bioativos como betacaroteno, licopeno, luteína e antocianina em alface. Após o levantamento das rotas metabólicas responsáveis pela produção dos bioativos alvos em alface, levantou-se os pontos chaves identificando os genes, proteínas, RNAm e outros possíveis marcadores que estejam diretamente relacionados. Posteriormente, identificou-se e caracterizou-se os genes putativos envolvidos na produção dos pigmentos e análises de domínios conservados e sítios ativos. Foi possível identificar as rotas metabólicas e os genes-chave envolvidos na produção dos pigmentos e elucidação de seus domínios conservados. As ferramentas de bioinformática aplicadas no trabalho levaram a identificação de marcadores funcionais de expressão para quantificação molecular de betacaroteno, licopeno, luteína e antocianinas em alface.

Palavras-chave: Biofortificação, Bioinformática, Melhoramento genético

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça folhosa pertencente à família Asteraceae, amplamente consumida pelos brasileiros, sendo cultivada em propriedades rurais com predominância da agricultura familiar devido a sua possibilidade de produção o ano todo, suas características culinárias e aceitação cultural (ABCSEM, 2017). A alface possui grande valor alimentar e é utilizada em vários tipos de dietas e receitas, sendo consumida preferencialmente *in natura* na forma de salada (SALA E COSTA, 2012). Seu cultivo ocorre principalmente em regiões com temperaturas amenas (MARTINEZ, 2016).

Compostos bioativos são substâncias funcionais e desejáveis de origem natural ou sintética que trazem diversos benefícios à saúde (ARAÚJO, 2022). Os compostos bioativos mais conhecidos e amplamente estudados nos vegetais são os carotenoides (como o licopeno, luteína e o betacaroteno) e compostos fenólicos como flavonoides, fitoesteróis, fosfolipídeos, organossulfurados e polifenóis (ANVISA, 2019; RITA; PENA; SANCHES-SILVA, 2024).

Os bioativos possuem funções distintas, podendo auxiliar na proteção contra diversos tipos de doenças no organismo humano. A ingestão de betacaroteno (pró-vitamina A) é essencial para o desenvolvimento do tecido epitelial e saúde da visão (ENNA e BYLUND, 2008; VERRUCK *et al.*, 2019). Já o licopeno é um poderoso antioxidante que auxilia no combate ao câncer, doenças cardíacas e respiratórias (TIAN *et al.*, 2016).

A bioinformática é uma das ferramentas atualmente utilizadas para desenvolver estudos acerca dos bioativos (SHARAFI *et al.*, 2019). As tecnologias ômicas tem gerado uma grande quantidade de dados sobre genes, RNAs, elementos reguladores, proteínas e vias metabólicas em um curto período de tempo (DEBNATH *et al.*, 2010), o que gera demandas para aplicações desta ferramenta.

Assim, a identificação *in silico* pode servir para quantificar os carotenoides e flavonoides utilizando métodos de bioinformática mais precisos já que os métodos convencionais de extração e quantificação destas moléculas apresentam alguns obstáculos (CUNHA *et al.*, 2010; WONDRACEK *et al.*, 2012; TEIXEIRA e STRINGHETA, 2008). A utilização dos bancos de dados pode possibilitar a identificação de genes chaves nas rotas metabólicas dos compostos bioativos, permitindo assim a descrição de possíveis marcadores funcionais para a sua expressão genética.

Estudos para identificação de genes chaves das rotas metabólicas de bioativos ainda são escassos. Avanços de pesquisas como aqui apresentada pode auxiliar no preenchimento destas

lacunas. Assim, o presente estudo teve como objetivo a identificação e caracterização por meio de análises *in silico* genes-chave das rotas metabólicas de compostos bioativos como betacaroteno, licopeno, luteína e antocianina em alface.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alface

A alface é originária do leste do mar Mediterrâneo, mais precisamente no antigo Império Sumério por volta do ano 4.000 A.C. Posteriormente, por volta do ano 2.000 A.C., a hortaliça passou a ser cultivada também em território egípcio. Na Grécia antiga, Hipócrates, o pai da medicina ocidental, estudou sobre os efeitos calmantes da alface. No Império Romano, a alface já era amplamente comercializada e consumida. Posteriormente, ao longo dos anos, pesquisadores como John Gerard, começaram a descrever as diferentes cultivares de alfaces. Em 1597, foi possível a descrição de oito tipos distintos de alfaces. Já no ano de 1866 existiam mais de 65 tipos de alfaces catalogadas.

A alface é uma hortaliça folhosa frequentemente cultivada em todo o mundo, bastante consumida e comercializada no Brasil (GUIMARÃES *et al.*, 2019; SILVA, *et al.*, 2020). Esta hortaliça possui grande importância econômica e social por ser cultivada em propriedades familiares (KAPOULAS, KOUKOUNARAS, LLIC, 2017). O sucesso do cultivo da alface no mundo se deu devido a escolha de cultivares mais adaptadas ao clima e ao solo de cada local, permitindo aumento na produção da cultura (AQUINO *et al.*, 2014).

As cultivares mais produzidas em território brasileiro são classificadas como crespa, americana, lisa, romana, vermelha, mimosa, entre outras (GUIMARÃES *et al.*, 2019).

2.2 Compostos bioativos

Os compostos bioativos são moléculas orgânicas de baixa massa molecular que apresentam uma ampla diversidade química que varia de acordo com sua função biológica nos seres vivos (ARAÚJO, 2022). Esses compostos presentes em diversos vegetais possuem diversas características bioquímicas que auxiliam na melhoria da saúde humana, atuando

muitas vezes na prevenção de doenças como diabetes, câncer e doenças cardiovasculares (TIAN *et al.*, 2016).

Dentre os vários compostos bioativos existentes, pode-se destacar os compostos fenólicos que são os principais componentes antioxidantes em vegetais e que representam a maior categoria de compostos fitoquímicos (ANGELO; JORGE, 2007). Possuem papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos vegetais e animais, além da redução do risco de desenvolvimento de patologias, como arteriosclerose e câncer (RAMARATHNAM *et al.*, 1995).

Outro destaque é dado ao grande grupo dos carotenoides, que nas plantas apresentam função na absorção de luz e fotoprotetores contra danos oxidativos, além de desempenhar alguns papéis fundamentais na saúde humana, sendo essenciais para a visão. O beta-caroteno foi reconhecido ainda no século XX como a principal fonte de vitamina A. Mais recentemente, efeitos benéficos dos carotenoides contra cânceres, doenças do coração e degeneração macular foram reconhecidos e estimularam as pesquisas sobre o papel desses compostos como antioxidantes e como reguladores de resposta imune (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPES, 2000),

2.3 Bioinformática

A bioinformática, uma área da biotecnologia, é utilizada como ferramenta nas mais diversas pesquisas científicas, principalmente devido suas aplicações na agricultura como na melhoria da produtividade e qualidade dos alimentos, que também podem contribuir para a área da saúde (ARAÚJO *et al.*, 2008). Assim, é a principal ferramenta na identificação de genes chaves em rotas metabólicas e também na exploração de compostos bioativos, facilitando a busca por informações importantes sobre diferentes moléculas, o que podem auxiliar na cura, atenuação ou na minimização de sintomas e causas de alguma doença (OLIVA, 2008).

As análises *in vitro* consistem em selecionar os compostos de interesse a partir de bancos de dados virtuais. São três tipos de banco de dados que são utilizados nessa área, como experimentos de genoma funcional, sequências genômicas e estruturas macromoleculares. Porém, também pode ser utilizado outros tipos de dados aplicados, dependendo assim da característica de cada pesquisa, como por exemplo, vias metabólicas, árvores filogenéticas, entre outros (OLIVA, 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Identificação das rotas metabólicas de síntese de pigmentos

Para realizar as identificações das rotas metabólicas foram consultados os bancos de dados MetaCyc (<https://metacyc.org/>), NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>) e Rhea (<https://www.rhea-db.org/>). Uma vez identificados os pontos-chave das rotas metabólicas de síntese de pigmentos (bioativos) foram definidos os genes, proteínas, RNAm e outros possíveis marcadores que estão ligados a produção ou armazenamento dos pigmentos na cultura da alface, seja essa ligação sendo direta ou indireta.

3.2 Identificação e caracterização de genes putativos envolvidos na produção dos pigmentos não listados na literatura

Para a identificação de marcadores-chave nas rotas metabólicas de síntese de pigmentos em alface que não estejam descritos na literatura foram realizadas buscas em bancos de dados por meio do acesso livre da internet, visando utilizar sempre critérios como similaridade e palavras-chave.

A busca tinha como alvo principal, genes relacionados a enzimas e fatores de transcrição envolvidos em rotas metabólicas de síntese dos pigmentos, para organismos modelo ou próximos evolutivamente.

As sequências dos genes ortólogos foram extraídas do banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) e utilizadas como moldes para a busca, a fim de identificar as sequências referidas destes genes no genoma da alface.

Comparações foram realizadas entre as possíveis sequências de proteínas envolvidas na produção dos pigmentos encontradas no organismo modelo e proteoma “non redundant” das espécies selecionadas a partir do uso da plataforma *Basic Local Alignment Search Tool Protein - Blastp* (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) com *e-value* menor ou igual a e^{-10} e *p.ident* maiores que 50%. Foram selecionadas as proteínas de melhor combinação de cada *query* e *match* correspondentes.

Após os filtros, todas as proteínas selecionadas foram revisadas em literatura e em anotações manuais e automáticas de bancos de dados do *UniProt* (<https://www.uniprot.org/>) e

também do KEGG: *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (<https://www.genome.jp/kegg/>), pesquisando também sobre suas respectivas funções.

3.3 Análises de domínios conservados e sítios ativos

As sequências das prováveis proteínas preditas envolvidas na síntese dos pigmentos foram submetidas a uma análise de domínio conservado no HMMER - *Biosequence analysis using profile hidden Markov Models* (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/>) e utilizando a ferramenta *Conserved Domain Database* (CDD-Search) (MARCHILER-BAUER *et al.*, 2017) para juntar evidências de que a função dessas proteínas putativas seja a mesma das proteínas descritas no organismo-modelo ou evolutivamente próximo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todas essas ferramentas de pesquisa possibilitaram a busca de compostos e a visualização de suas respectivas origens metabólicas de forma geral ou específica para alface. As buscas foram realizadas para a determinação das rotas metabólicas de betacaroteno, licopeno, luteína e antocianina.

4.1 Betacaroteno e Licopeno

As buscas no banco de dados KEGG levaram a rota de síntese de betacaroteno (Figura1). Verifica-se que uma das enzimas de destaque é a licopeno beta ciclase (ID de acesso: AT3G10230). Essa enzima foi identificada em *A. thaliana* e no genoma da alface foi possível encontrá-la sendo traduzida pelo gene CrtL-b. Apresenta como função catalizar a adição de um anel beta a cada terminação de moléculas de gama-caroteno, convertendo-o em beta-caroteno.

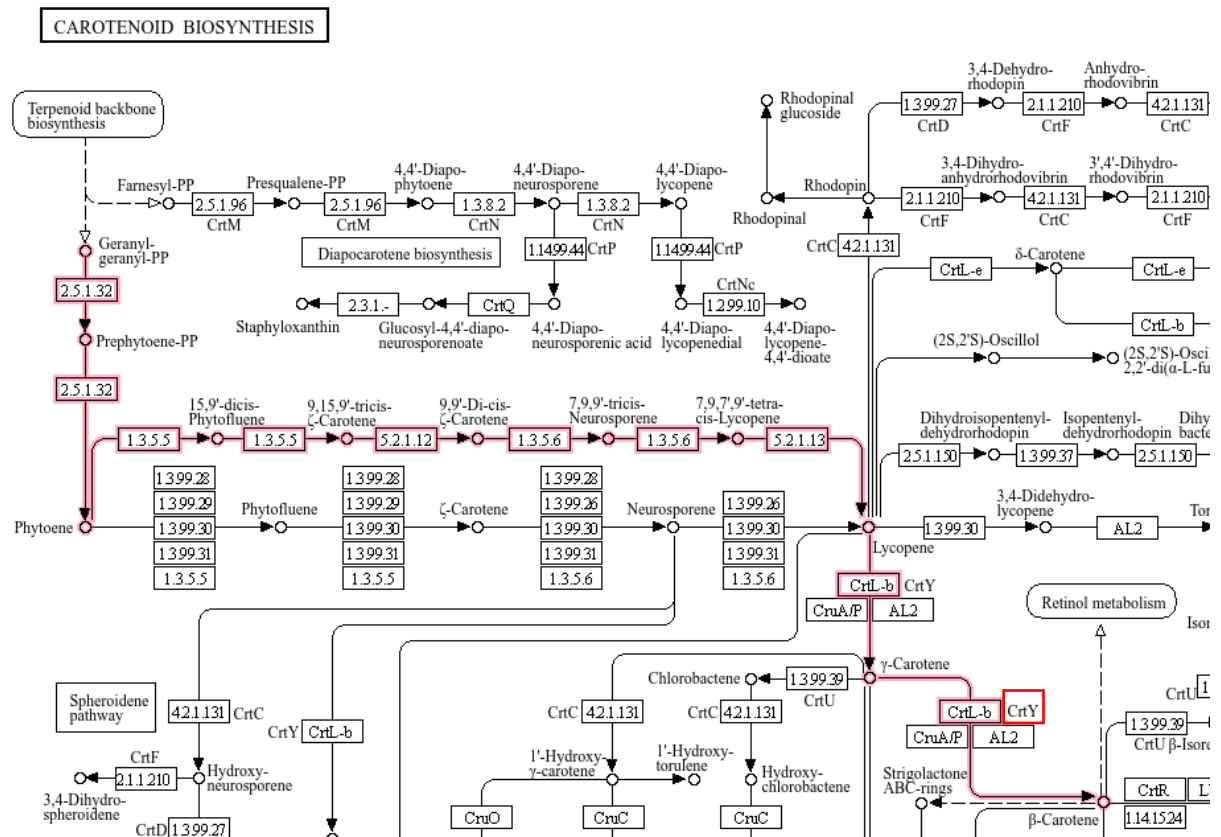


Figura 1. Rota metabólica para a biossíntese de carotenoide em *A. thaliana*.

Fonte: <https://www.genome.jp/pathway/map00906+M00097>

A partir do conhecimento prévio sobre a relação da biossíntese do betacaroteno por meio do licopeno beta ciclase tanto em *L. sativa* e *A. thaliana*, foi utilizada a sequência de aminoácidos desta enzima em *A. thaliana* (NCBI ID: NP_187634) como referência para a busca no genoma da alfaca com o uso da ferramenta “blastp” do site UniProt. Foi encontrada uma proteína putative (A0A9R1VK41_LACSA) apresentadas na Tabela 1 e Figura 2.

Tabela 1. Sítios conservados das proteínas putativas selecionadas de licopeno beta-ciclase.

#	ID	Nome	Espécie	aa	Domínio Conservado	Trecho Conservado
1	111904093	Licopeno beta-ciclase	<i>L.sativa</i>	505	PLN02463	60 a 503
2	NP_187634.1	Licopeno beta-ciclase	<i>A.thaliana</i>	501	PLN02463	55 a 501

Length	505	Last updated	2023-09-13 v1																						
Mass (Da)	56,791	Checksum ⁱ	4035018F8976DE92																						
MDSLLRTHSS	18	FELHAINRF	28	AGNATTLSSS	38	KSQIHETRF	48	PKKPHLKWGH	58	GGCCVKASSS	68	ALLELVPEIK	78	KELDFELPL	88	YDPSKGLVVD	98	LVVVGGGPGSG	108	LAVAQVSDA	118	GLTVCSIDPS	128	PQQIWPNNYG	138
VWDFEAMD	148	LLDCLDTTWS	158	SAVVYINENS	168	PKNLGRPYGR	178	VNRKQLKSKM	188	LKCCISNGVK	198	FHQAKVIKVI	208	HEELKSLIIC	218	NDGVTIQATL	228	VLDATGF5RS	238	LVQYDKPYNP	248	GYQVAYGILA	258	EVEEHPFDVD	268
KMLFMDWRDS	278	HLNNNPEIKE	288	RNSKIPTFLY	298	AMPFSSNRIF	308	LEETSLVARP	318	GLKFEDIQER	328	MVCRCLKHLGI	338	KVKSIEEDER	348	CVIPMGGPLP	358	VLPQRLVIGI	368	GTAGMVPST	378	GYMVARTLAA	388	APIVAKSIIH	398
YLNSEKTVSG	408	TDLSAGIWRD	418	LWPIERRRQR	428	EFFCFGMDLL	438	LKLDLEGTRR	448	FFDAFFDLEP	458	RYWHGFLSSR	468	LFLPELMTFG	478	LSLFGRASNT	488	CRLDMMVNGT	498	LPLGTMINNL	508	VQDR			

Figura 2. Sequência da enzima licopeno beta-ciclase em *Lactuca sativa*.

4.2 Luteína

A partir das buscas realizadas na plataforma MetaCyc pode-se determinar a rota de biossíntese da luteína em *A. thaliana*. O substrato zeinoxantina é convertido em luteína pela ação catalítica da enzima caroteno epsilon-monooxigenase (LUT1) (Figura 3).

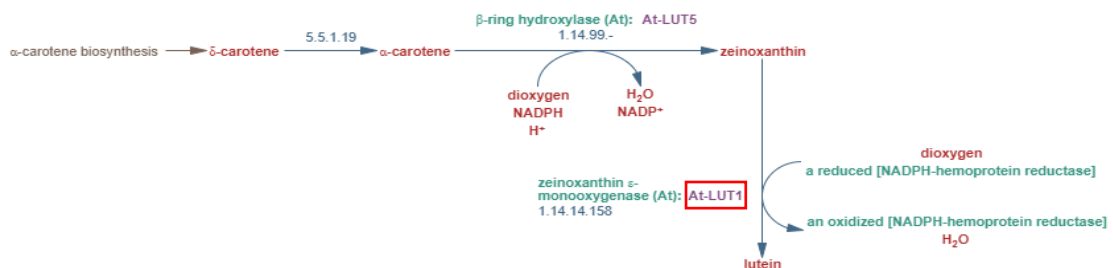


Figura 3. Biossíntese da luteína em *Lactuca sativa*.

Fonte: <https://metacyc.org/META/NEW-IMAGE?type=PATHWAY&object=PWY-5947>

Após os alinhamentos utilizando a ferramenta *blastp* foram encontrados dois candidatos que satisfizeram os parâmetros propostos na metodologia desse estudo. Foram selecionadas proteínas que compartilhavam o domínio conservado do organismo modelo e que estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2. Sítios conservados das proteínas putativas selecionadas de caroteno epsilon-monooxigenase.

#	ID	Nome	Espécie	aa	Domínio Conservado	Trecho
---	----	------	---------	----	--------------------	--------

1	PLY84850.1	Hypothical protein LSAT_1X52661	<i>L.sativa</i>	541	PLN02936	61 a 536
2	XP_023764664.1	Carotene epsilon-monooxygenase	<i>L.sativa</i>	555	PLN02936	61 a 547

4.3 Antocianina

Por meio da utilização do banco de dados Uniprot foram reunidas informações importantes sobre antocianinas presentes em *A.thaliana* (Tabela 3). Foi possível identificar enzimas de destaque nas rotas metabólicas como a Malonil-CoA:antocianidina 5-O-glicosídeo-6-O-maloniltransferase, traduzida pelo gene 5MAT e que atua sob as quatro antocianinas nativas (A3, A7, A6 e A10) de *A. thaliana*.

Tabela 3. Sítios conservados das proteínas putativas selecionadas de antocianina.

#	ID	Nome	Espécie	aa	Domínio Conservado	Trecho
1	Q9LJB4.1	Malonil-CoA:antocianidina 5-O-glicosídeo-6-O-maloniltransferase	<i>A. thaliana</i>	449		
2	Q0WW21.2	UDP-glicosiltransferase 75C1	<i>A.thaliana</i>	456		12 a 454
3	XP_023756595.1	UDP-glicosiltransferase 75C1	<i>L.sativa</i>	442		
4	XP_023756583.1	UDP-glicosiltransferase 75C1	<i>L.sativa</i>	495		4 a 469
5	XP_023756581.1	UDP-glicosiltransferase 75C1	<i>L.sativa</i>	447		8 a 447
6	XP_023748666.1	UDP-glicosiltransferase 75C1	<i>L.sativa</i>	437		5 a 433

Essa enzima atua como catalisadora da malonização do resíduo cianidina 5-O-glicose (Figura 4) utilizando malonil-CoA como doador do grupo malonil. Essa doação ocorre para a modificação das antocianinas no organismo da *A.thaliana*.

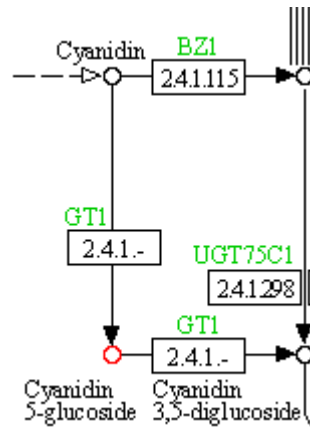


Figura 4. Rota metabólica para biossíntese da cianidina 5-O glicosídeo em *A. thaliana*.
Fonte: <https://www.genome.jp/pathway/ath00942>

Também foi identificada a enzima UDP-glicosiltransferase 75C1 (Tabela 3), que é uma das responsáveis pela biossíntese de antocianina, atuando como catalisadora da glicosilação de antocianinas a partir de UDP-glicose.

As buscas no banco de dados MetaCyC levou a identificação da enzima antocianina aciltransferase (ID G-17979) no organismo modelo *A. thaliana*, que pode estar atuando na síntese de antocianina sob condição de estresse na planta. Também foi identificada a enzima antocianina sinapoiltransferase (ID O64810). O gene AT2G23000 foi relacionado a tradução de uma sinapoilglicose: malato-O-sinapoiltransferase. Sabe-se que é expresso em folhas senescentes onde observa-se acúmulo de antocianina. Por esse motivo, é um gene bastante associado a produção de antocianina no organismo modelo *A. thaliana* (Figura 5).

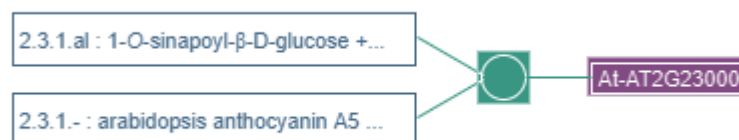


Figura 5. Ação da antocianina sinapoiltransferase em *A. thaliana*.
Fonte: <https://metacyc.org/gene?orgid=META&id=AT2G23000-MONOMER>

5 CONCLUSÕES

As ferramentas de bioinformática utilizadas levaram a identificação de marcadores funcionais de expressão que podem ser utilizados para quantificação molecular de betacaroteno, licopeno, luteína e antocianina em alface.

REFERÊNCIAS

- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 1 jan. 2007. Doi: <https://doi.org/10.53393/rial.2007.66.32841>. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32841>. Acesso em: 19 nov. 2024.
- ANVISA. Alegações de propriedade funcional aprovadas. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas_anvisa.pdf>. Acesso em: 07 set. 2023.
- AQUINO, C. R. DE *et al.* Produção e tolerância ao pendoamento de alface-romana em diferentes ambientes. **Revista Ceres**, v. 61, n. 4, p. 558–566, ago. 2014. Doi: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201461040016>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/LGLZ5N4MwHs4YNfvbMKZHTc/>. Acesso em: 19 nov. 2024.
- ARAÚJO, N. D. *et al.* A Era da Bioinformática: Seu Potencial e suas Implicações para as Ciências da Saúde. **Estudos de Biologia**, v.30, n. 70/72, p. 143-148, 27 nov. 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/267748258>. Acesso em: 22 set. 2022.
- ARAÚJO, C. F. Moléculas bioativas – *Limnoperna fortunei* – Mexilhão Dourado. 2022. 102f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2022. Disponível em: <https://www.repositorio.ufop.br/items/26339c9c-2268-4e4a-a50e-b7a379dbcf2e>. Acesso em: 25 nov. 2024.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMERCIO DE SEMENTES E MUDAS – ABCSEM. 2017. **Dados do setor**. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/dados-do-setor> . Acesso em: 19 nov. 2024.
- CUNHA, C. P. Da *et al.* Ensaio comparativo para extração de carotenoides. **Anais da XX Jornada de Iniciação Científica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, ISSN 1809-1342, 2010. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/873616/1/2010067.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2024.
- DEBNATH, M.; PANDEY, M.; MALIK, C. P. Analyzing the potentiality of *Jatropha* using “Omics Technology”. **The Journal of Plant Science Research**, v. 26, p. 29-51, 2010. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/202093486_Analysing_the_potentiality_of_Jatropha_using_Omics_Technology. Acesso em: 19 nov. 2024.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPES, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains--characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000. Doi: 10.1080/10408690091189257. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10850526/>. Acesso em: 19 nov. 2024.

ENNA, S. J.; BYLUND, D. B. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. [S.l.]: Elsevier, 2008.

FRAUCHES, N.; Efeitos de extratos de jabuticaba, jamelão e jambo sobre linhagem de adenocarcinoma de cólon humano HT-29. **Universidade federal do estado do Rio de Janeiro**, 2017. Disponível em: https://www.unirio.br/ccbs/nutricao/ppgan_pt/dissertacoes-e-teses/dissertacoes-e-teses-defendidas/2020/2017/efeito-de-extratos-de-jabuticaba-jamelao-e-jambo-sobre-linhagem-de-adenocarcinoma-de-colon-humano-ht-29. Acesso em: 19 nov. 2024.

GUIMARÃES, C. M., CUNHA, F. F., SILVA, F. C. S., ARAÚJO, E. D., GUIMARÃES, A. B. F., MANTOVANI, E. C., & SILVA, D. J. H. Agronomic performance of lettuce cultivars submitted to different irrigation depths. **Plos One**, 14(12), e0224264, 2019. Doi: 10.1371/journal.pone.0224264. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0224264>. Acesso em: 07 set. 2023.

KAPOULAS, N., KOUKOUNARAS, A., & ILIĆ, Z. S. Nutritional quality of lettuce and onion as companion plants from organic and conventional production in north Greece. **Scientia Horticulturae**, 219, 310-318, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.03.027>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423817301899?via%3Dihub>. Acesso em: 19 nov. 2024.

MARTINEZ, D., MARTINS, B., FEIDEN, A. VALOR NUTRICIONAL DO CULTIVO DE ALFACE HIDROPÔNICO. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, [S. l.], v. 5, n. 4, 2016. DOI: 10.5380/rber.v5i4.45633. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/rber/article/view/45633>. Acesso em: 25 nov. 2024.

OLIVA, G. Bioinformática: Perspectivas na Medicina. **Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural, Instituto de Física de São Carlos**, São Paulo, jan. 2008. Disponível em: <http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/260/251>. Acesso em: 22 set. 2022.

RAMARATHNAM, N. et al. The contribution of plant food antioxidants to human health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 3, p. 75-82, mar. 1995. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)88967-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88967-0). Disponível em: <https://colab.ws/articles/10.1016%2FS0924-2244%2800%2988967-0>. Acesso em: 19 nov. 2024.

RITA, A.; PENA, A.; SANCHES-SILVA, A. Unveiling the potential of bioactive compounds in vegetable and fruit by-products: Exploring phytochemical properties, health benefits, and industrial opportunities. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, Vol. 48, p.100938, 1 mai. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2024.100938>. Disponível em: <https://pdf.sciencedirectassets.com/314642/1-s2.0-S2452223624X00048/1-s2.0-S2452223624000592/main.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjE>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. DA. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187–194, jun. 2012. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/CBjR93vn5NKt4Z9BLMWWYDJ/?lang=pt>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SHARAFI, R.; JOUZANI, G. S. “Omics Technologies” and Biodiesel Production. *In*: TABATABAEI, M.; AGHBASHLO, M. (Org.). **Biodiesel: From production to combustion**. Karaj: Springer, p. 219-239, 2019.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 1 jan. 2008. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/3052/305226703009.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2024.

TIAN, X. *et al.* Fast Determination of Lycopene Content and Soluble Solid Content of Cherry Tomatoes Using Metal Oxide Sensors Based Electronic Nose. **Acta Alimentaria**, v. 45, n. 2, p. 182-189, jun. 2016. Doi: : 10.1556/AAlim.2015.0006. Disponível em: <https://akjournals.com/doi/10.1556/aalim.2015.0006>. Acesso em: 19 nov. 2024.

VERRUCK, S.; PRUDENCIO, E. S.; SILVEIRA, S. M. Da. Compostos Bioativos com Capacidade Antioxidante e Antimicrobiana em Frutas. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, v. 4, n. 1, p. 111-124, 2019. Doi: <https://doi.org/10.5965/24473650412018111>. Disponível em: <https://revistas.udesc.br/index.php/revistacsbea/article/view/13312>. Acesso em: 19 nov. 2024.

WONDRACEK, D. C. *et al.* Saponification influence in carotenoid determination in Cerrado passion fruit. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 180-184, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000100031>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/phLSHzDqq65zW3TwzbHwLnF/abstract/?lang=en>. Acesso em: 19 nov. 2024.