

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA- UFU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

TÂNIA MARTA DURÃES

**LINHAGENS DE ALFACE TROPICALIZADAS COM VANTAGENS
AGRONÔMICAS E NUTRICIONAIS**

UBERLÂNDIA

MINAS GERAIS - BRASIL

2024

TÂNIA MARTA DURÃES

**LINHAGENS DE ALFACE TROPICALIZADAS COM VANTAGENS
AGRONÔMICAS E NUTRICIONAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora: Profª. Drª. Ana Carolina Silva Siquieroli

Coorientador: Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel

UBERLÂNDIA

MINAS GERAIS - BRASIL

2024

TÂNIA MARTA DURÃES

**LINHAGENS DE ALFACE TROPICALIZADAS COM VANTAGENS
AGRONÔMICAS E NUTRICIONAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de “Mestre”.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz (ICIAG - UFU)

Prof. Dr. Donizetti Tomaz Rodrigues (UNICERP)

Prof. Dr. Fábio Janoni Carvalho (IFTM-CAMPUS UBERLÂNDIA)

Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Silva Siquieroli
IBTEC-UFU
(Orientadora)

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

D
947L
2024

Durães, Tânia Marta, 1998-
Linhagens de alface tropicalizadas com vantagens agronômicas e
nutricionais [recurso eletrônico] / Tânia Marta Durães. - 2024.

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

Modo de acesso: Internet.

Disponível em:
<http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.5197> Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

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

CDU: 631

André Carlos Francisco
Bibliotecário Documentalista - CRB-
6/3408



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 013/2024, PPGAGRO				
Data:	Trinta de julho de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:12
Matrícula do Discente:	12212AGR012				
Nome do Discente:	Tânia Marta Durães				
Título do Trabalho:	Linhagens de alface tropicalizadas com vantagens agronômicas e nutricionais				
Área de concentração:	Produção Vegetal				
Linha de pesquisa:	Melhoramento de Plantas				

Reuniu-se por videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: José Magno Queiroz Luz - UFU; Fábio Janoni Carvalho - IFTM; Donizetti Tomaz Rodrigues - UNICERP; Ana Carolina Silva Siquieroli - UFU orientadora da candidata.

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

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

Aprovada.

Essa dissertação possui mérito para ser indicada como destaque do Programa? (X)
SIM NÃO ()

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 12/08/2024, às 17:16, 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 **José Magno Queiroz Luz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/08/2024, às 11:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

 Documento assinado eletronicamente por **Fábio Janoni Carvalho, Usuário Externo**, em 19/08/2024, às 12:56, 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 **Donizetti Tomaz Rodrigues, Usuário Externo**, em 19/08/2024, às 13:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

 A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_verificar&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5584335** e o código CRC **9BDBB9D7**.

BIOGRAFIA

Tania Marta Durães nasceu no dia 17 de junho de 1998, no município de Francisco Sá-MG. Em 2021 concluiu o curso de Agronomia pela Universidade Estadual de Montes Claros, Campus Janaúba (UNIMONTES). No mesmo ano assumiu o cargo de supervisora de explorações agícolas na empresa SCHIMDT Agrícola na cadeia da bananicultura em Riachão das Neves - BA. Em 2022 ingressou no Programa de Pós-graduação em Agronomia da UFU (PPGAGRO) na linha de pesquisa de Biotecnologia Agrícola, se tornando membro do Grupo de Estudos em Melhoramento Genético de Hortaliças (GEN-HORT), sobre a orientação da Prof.^a Dr^a Ana Carolina Silva Siqueroli. Neste mesmo ano, iniciou sua carreira no sistema FAEMG/SENAR como técnica de campo no programa de assistência técnica e gerencial (ATeG) na cadeia da olericultura.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela oportunidade concedida na realização deste trabalho e por ter sido para mim o sustento em todos os momentos. A Mãe Santíssima, pela sua intercessão em toda a minha trajetória.

A minha família pelo amor e cuidado. Aos meus pais Euza e Adilson, pelas orações, amor e incentivo durante esta jornada. As minhas irmãs Hellen e Maria, pelo carinho e amizade. Por vocês cheguei até aqui.

Ao meu namorado Leandro pelo amor e companheirismo imenso, por sempre me incentivar e me fortalecer em cada momento.

A minha orientadora, Prof.^a Dr^a Ana Carolina Silva Siquieroli, pelo seu esforço incansável para a realização deste trabalho. Obrigada pela sua dedicação, profissionalismo e todo cuidado em cada etapa do experimento. Obrigada por todo o conhecimento repassado, por ser uma grande inspiração e por todo o carinho e paciência durante este tempo. Você foi crucial para que eu chegassem até aqui!

Aos membros do Grupo de Estudos em Melhoramento Genético de Hortalícias (GEN-HORT), por todo auxílio para a realização deste trabalho, especialmente a Camila, Caroline e Iury, que tanto contribuíram para execução do experimento.

Ao seu Zé da horta, por todo zelo com a área experimental.

Aos professores do Programa de Pós Graduação e Agronomia (PPGAGRO), pela contribuição em minha formação.

A minha amiga Ana Carolina, pela amizade e acolhimento durante este período.

Aos produtores rurais, por compartilharem comigo diariamente conhecimento, alegrias e dores e me incentivarem a continuar na busca de melhorias para o campo através da pesquisa.

Aos meus familiares e amigos e a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho. Vocês foram essenciais nessa caminhada!

A todos os agricultores, especialmente aos meus amados pais, José Adilson e Euza, por
me mostrarem a beleza da agricultura,

Dedico

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4 CONCLUSÕES.....	36
REFERÊNCIAS.....	37

RESUMO

DURÃES, Tânia Marta. **Linhagens de alface tropicalizadas com vantagens agronômicas e nutricionais.** 2024. 44 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 2024.

A alface é uma das hortaliças folhosas mais importantes e cultivadas no mundo. O estresse por altas temperaturas e falta de água tem influências negativas nas características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das plantas, gerando importantes impactos na produção agrícola e no desenvolvimento econômico. A presença de alimentos ricos em carotenoides e clorofilas é fundamental para prevenir sérios problemas de saúde. Esforços são necessários para que novos genótipos de alface possam ser caracterizados, permitindo o seu cultivo em condições adversas de forma sustentável. O objetivo deste trabalho foi caracterizar linhagens de alface tropicalizadas quanto suas vantagens agronômicas e nutricionais. Foram avaliadas 18 linhagens de alface e duas cultivares comerciais como testemunhas (cv. Belíssima e Grand Rapids) quanto aos teores de clorofilas e carotenoides, parâmetros agronômicos, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, dano oxidativo e atividade de enzimas antioxidantes. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 20 tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0.05$). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$) e submetidos a análise multivariada representada pelo dendrograma obtido pelo método hierárquico Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages (UPGMA). Foi gerado um mapa auto-organizável de Kohonen (SOM) para a comparação dos genótipos em função das variáveis analisadas. Foram encontradas linhagens com elevados teores de clorofilas, carotenoides, pendoamento tardio, potencial agronômico, redução da taxa de transpiração, melhor controle estomático, eficiência intrínseca do uso da água, eficiência do aparato fotossintético e reduzido estresse oxidativo. Foi possível a caracterização de alfaces biofortificadas verdes e roxas com potencial genético para expressão de características bioquímicas e fisiológicas que permitem sua adaptação a ambientes tropicais.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L., biofortificação, segurança alimentar, agricultura sustentável, ambientes tropicais.

ABSTRACT

DURÃES, Tânia Marta. **Tropicalized lettuce lines with agronomic and nutritional advantages.** 2024. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 2024.

Lettuce is one of the most important leafy vegetables cultivated worldwide. Stress due to high temperatures and lack of water has negative influences on the morphological, physiological and biochemical characteristics of plants, generating significant impacts on agricultural production and economic development. The presence of foods rich in carotenoids and chlorophylls is essential to prevent serious health problems. Efforts are needed to characterize new lettuce genotypes, allowing their cultivation under adverse conditions in a sustainable manner. The objective of this study was to characterize tropicalized lettuce lines regarding their agronomic and nutritional advantages. Eighteen lettuce lines and two commercial cultivars as controls (cv. Belíssima and Grand Rapids) were evaluated for chlorophyll and carotenoid contents, agronomic parameters, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, oxidative damage and antioxidant enzyme activity. The experimental design was randomized blocks with 20 treatments and four replicates. The data were subjected to analysis of variance using the F test ($p < 0.05$). The means were compared using the Scott-Knott test ($p < 0.05$) and submitted to multivariate analysis represented by the dendrogram obtained by the hierarchical method Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages (UPGMA). A self-organizing Kohonen map (SOM) was generated to compare the genotypes according to the variations observed. Lines with high levels of chlorophylls, carotenoids, late tasseling, agronomic potential, reduced transpiration rate, better stomatal control, intrinsic water use efficiency, photosynthetic apparatus efficiency and reduced oxidative stress were found. It was possible to characterize green and purple biofortified lettuces with genetic potential for expression of biochemical and physiological characteristics that allow their adaptation to tropical environments.

Keywords: *Lactuca sativa* L., biofortification, food security, sustainable agriculture, tropical environments.

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças mais importantes, sendo produzida e consumida em todo o mundo (Das; Bhattacharjee, 2020; Hassan et al., 2021), e juntamente o almeirão (*Cichorium intybus* L.), representa em torno de 27 milhões de toneladas produzidas em 1,23 milhões de hectares (FAOSTAT, 2024). Apresenta alto conteúdo de água de 94–95% e baixo teor calórico (Viacava et al., 2017). Seu valor nutricional se deve a compostos bioativos que geram benefícios à saúde, resultando em alta demanda e consumo global (Das; Bhattacharjee, 2020). Além disso, possui baixo custo de produção e comercialização, o que a torna acessível a toda população (Augusto et al, 2022).

As variedades de alface produzidas com potencial agronômico, incluindo mini alfaces, vêm aumentando nos últimos anos para atender às demandas dos consumidores modernos por alta qualidade e cobrir nichos de mercado (Subbarao et al., 2017; Hassan et al., 2021; Díaz-Pérez et al., 2024). Essas variedades de alface apresentam quantidades distintas de clorofila e antocianina, resultando em cores diferentes que variam do verde ao vermelho/roxo escuro (Guo et al., 2022).

As temperaturas adequadas para a produção de alface no campo variam entre 15 a 20 °C, enquanto que em um ambiente com temperatura média diária maior que 25 °C, ela tende a pendoar prematuramente do centro da roseta e causar amargor, alongamento do caule e queimaduras nas pontas sob altas temperaturas e dias longos, resultando em menor rendimento e qualidade nutricional (Al-Said et al., 2018, Hao et al., 2022).

A alta temperatura ocasiona um dos principais estresses abióticos que influencia negativamente nas características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das plantas (Al-Said et al., 2018; Mathur et al., 2018). Em adição, a falta de água é uma das catástrofes mais devastadoras e de longo alcance com impactos na produção agrícola, no desenvolvimento econômico e nos meios de subsistência humana (Wu et al., 2021; FAO, 2024). O estresse da alta temperatura e falta de água tem ocasionado distúrbios fisiológicos graves nas plantas, especialmente para vegetais de estação fria, como a alface. Pesquisas têm buscado disponibilizar novas ferramentas para propiciar a tolerância da alface a altas temperaturas durante o cultivo (Yan et al., 2021). No entanto, é necessário incrementar os estudos para a seleção de genótipos de alface

adaptados a esta condição.

Assim, o grande desafio da alfacultura sempre foi a produção em clima tropical, principalmente no período do verão. O melhoramento genético proporcionou grandes avanços, como o desenvolvimento de cultivares de alface adaptadas às condições tropicais (Sala; Costa, 2012), objetivando pendoamento lento, característica fundamental para o cultivo de verão ou em áreas com temperaturas elevadas.

Como duas classes de pigmentos em plantas superiores, as clorofitas e os carotenoides são responsáveis pela absorção de luz que impulsiona a fotossíntese (Yamori, 2016). O fotossistema I (PSI), o fotossistema II (PSII) e a assimilação de CO₂ das plantas são afetados negativamente pelo estresse da alta temperatura, resultando em menor atividade de transporte de elétrons fotossintéticos e diminuição da evolução de oxigênio (Mathur; Jajoo, 2014). Assim, as informações sobre a fotossíntese são valiosas para avaliar o desempenho das plantas sob mudanças de temperatura para o melhoramento e desenvolvimento de culturas resilientes (Mishra et al., 2023; Chen et al., 2024) e ainda são escassas em alface.

A busca por alimentos nutritivos para uma vida ativa e saudável tem despertado a atenção no mundo (FAO, 2022). A presença de alimentos ricos em carotenoides pode ser fundamental para prevenir sérios problemas de saúde. A metabolização do β-caroteno proveniente de alimentos vegetais é a principal fonte de vitamina A (Lucini et al., 2012) e sua deficiência pode causar comprometimento visual e aumenta o risco de doenças graves, podendo levar a morte por infecções comuns na infância, como diarreia e sarampo (FAO, 2022).

Dessa forma, aliar alimentos que podem ser ricos em carotenoides, adaptados às condições tropicais e sabidamente acessíveis para a maior parte da população é fundamental. 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), aliando na seleção os aspectos relacionados a eficiência de troca gasosa e fotossíntese na busca de cultivares adaptadas a regiões tropicais.

O BG α BIOFORT é um importante germoplasma de alfaces biofortificadas e encontra-se cadastrado em um software (Maciel et al., 2019b). Apesar do potencial

desse germoplasma, ainda são escassos estudos que busquem aliar a biofortificação nutricional com características agronômicas, melhor aproveitamento de água e eficiência do aparato fotossintético.

Esforços são necessários para que novos genótipos de alface possam ser caracterizados e permitir o seu cultivo em condições de estresse hídrico e de elevadas temperaturas de forma sustentável. Aliada a seleção de genótipos resilientes está o cultivo de plantas com alto valor nutricional para atender à crescente demanda da população. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar linhagens de alface tropicalizadas quanto as suas vantagens agronômicas e nutricionais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de realização dos experimentos e genótipos avaliados

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).

Os genótipos utilizados fazem parte do Programa de Melhoramento Genético de Alfaces Biofortificadas da UFU, cadastradas no Software BG α BIOFORT registro no INPI nº BR512019002403-6 (Maciel et al., 2019b). As linhagens foram obtidas após hibridação entre as cultivares Pira 72 (Belíssima) *versus* Uberlândia 10.000 (rica em carotenoides (Souza et al., 2007), seguido de oito sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 a 2020, utilizando o método genealógico (Maciel et al., 2019a; Maciel et al., 2020; Clemente et al., 2021; Clemente et al., 2023; Ribeiro et al., 2023). Foram avaliadas 18 linhagens de alface cadastradas no BG α BIOFORT (Tabela 1) e duas cultivares comerciais como testemunhas (Belíssima e Grand Rapids).

Tabela 1. Linhagens de alfaces avaliadas e caracterização quanto ao segmento, a coloração das folhas e o porte.

ID	Linhagem	Segmento	Cor das folhas	Porte
1	UFU-189#3#1#1	Lisa	Verde	Normal
2	UFU-155#1#1#1	Crespa	Verde	Normal
3	UFU-120#1#1#1	Crespa	Verde	Normal

4	UFU-189#1#2#1	Lisa	Verde	Normal
5	UFU-7#1#1#1	Lisa	Roxa	Normal
6	UFU-206#3#1#1	Lisa	Verde	Normal
7	UFU-75#1#3#1	Lisa	Roxa	Normal
8	UFU-197#1#1	Lisa	Verde	Normal
9	UFU-199#2#1#1	Crespa	Roxa	Normal
10	UFU-155#1#2#1	Crespa	Verde	Normal
11	UFU-189#3#4#1	Lisa	Verde	Normal
12	UFU-189#3#2#1	Lisa	Verde	Normal
13	UFU-199#1#1#1	Crespa	Roxa	Normal
14	UFU-Biofort	Crespa	Verde	Normal
15	UFU-215#3#2	Lisa	Roxa	Mini
16	UFU-215#1#2	Lisa	Roxa	Mini
17	UFU MiniBioFort-2015#1	Lisa	Roxa	Mini
18	UFU-66#7	Lisa	Verde	Mini
19	Belíssima cv. comercial	Crespa	Roxa	Normal
20	Grand Rapids cv. comercial	Crespa	Verde	Normal

A semeadura dos 20 genótipos de alface foi realizada em 06 de abril de 2023, 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.

Quarenta e um dias após a semeadura (DAS) foi realizado o transplantio das mudas para o campo. O solo foi previamente preparado com gradagem e subsolador. Em seguida foram obtidos canteiros de 1,3 metros a partir de um rotoencanteirador. O solo apresentava as seguintes características físicas e químicas: textura argilosa 86 (> 50%); pH em $\text{CaCl}_2 = 4,9$; $\text{Ca} = 3,3 \text{ cmolc dm}^{-3}$; $\text{Mg} = 1,3 \text{ cmolc dm}^{-3}$; $\text{H} + \text{Al} = 4,9$ 87 cmolc. dm^{-3} ; $\text{CS} = 4,90 \text{ cmolc dm}^{-3}$; $\text{MOS} = 3,9 \text{ dag kg}^{-1}$; $\text{P(rem)} = 79,1 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{K} = 0,29 \text{ cmolc 88 dm}^{-3}$, $\text{CTC} = 9,80 \text{ cmolc dm}^{-3}$; e $\text{BS} = 50\%$. As temperaturas máximas e mínimas, pluviosidade e a umidade relativa do ar (UR) foram registradas durante o período de desenvolvimento do estudo (Figura 1).

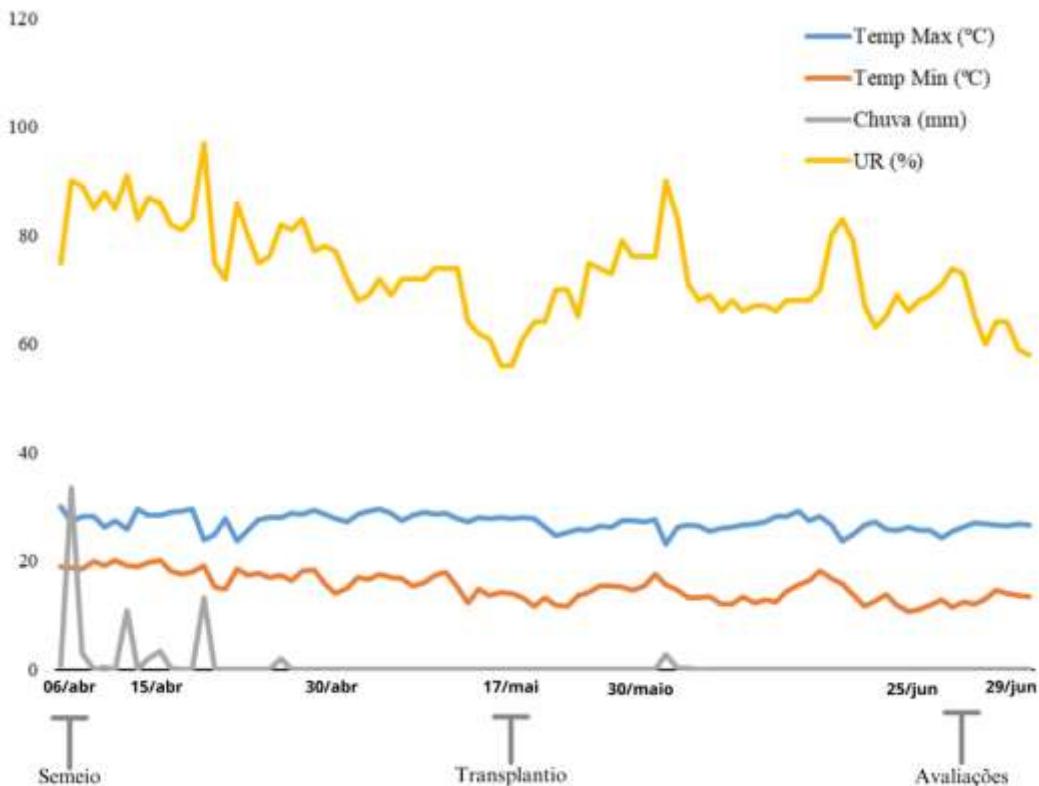


Figura 1. Climograma referente ao período de realização do experimento na cidade de Monte Carmelo, MG, Brasil. Fonte: (SISMET, 2023).

Cada parcela do experimento foi composta por doze plantas arranjadas em duas 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 quatro repetições e 80 parcelas. O cultivo foi realizado conforme recomendado para a cultura da alface (Filgueira, 2013).



Figura 2. Localização do experimento (A). Município de Monte Carmelo (B) na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia (C). Cada parcela do experimento foi composta por doze plantas arranjadas em duas linhas centrais por canteiro, totalizando 80 parcelas experimentais (D).

As etapas metodológicas adotadas no estudo estão apresentadas no fluxograma experimental (Figura 3) e buscaram a quantificação dos teores de clorofitas e carotenoides, avaliação dos parâmetros agronômicos, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* atividade das enzimas antioxidantes e avaliação do estresse oxidativo.

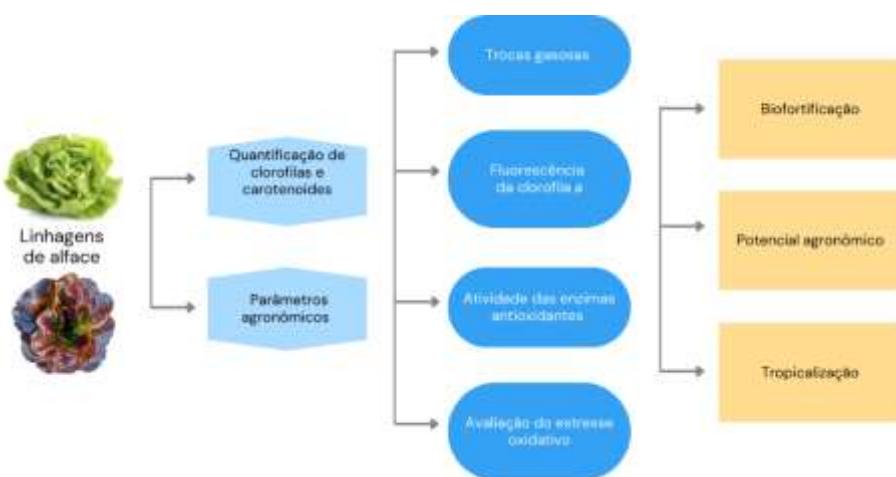


Figura 3. Fluxograma das etapas de avaliação das linhagens de alface verdes e roxas.

Para as avaliações de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, atividade das enzimas antioxidantes e avaliação do estresse oxidativo, que caracterizam o comportamento bioquímico e fisiológico da planta, buscou-se utilizar representantes de todos os segmentos (Tabela 1) incluindo aquelas registradas no Registro Nacional de Cultivares (RNC), sendo: duas alfaces verdes e crespas (UFU-155#1#1#1 e UFU-Biofort), uma alface verde e lisa (UFU-206#3#1#1), uma alface roxa e crespa (UFU-199#1#1#1), uma alface roxa e lisa (UFU-215#3#2), duas alfaces roxas, lisas e de porte mini (UFU-215#1#2 e UFU MiniBioFort-2015#1) e duas cv. comerciais como testemunha (Belíssima e Grand Rapids), totalizando nove cultivares.

2.2 Quantificação dos teores de clorofilas e carotenoides

Decorridos 40 dias após o transplantio, as quatro plantas centrais de cada parcela foram utilizadas para a quantificação dos teores de Clorofila *a* (CloA), Clorofila *b* (CloB), Clorofila *Total* (CloT) e carotenoides (Carot). Para a extração dos bioativos 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 foi realizada a leitura da absorbância do sobrenadante em espectrofotômetro UV-190 nos comprimentos de 645, 652 e 663nm para CloA, CloB e CloTotal; e 470 nm para Carot. A partir das absorbâncias foram calculados os teores de pigmentos foliares (mg.100g^{-1} de tecido fresco), conforme Lichtenthaler; Wellburn (1983) e Witham et al. (1971).

2.3 Avaliações dos parâmetros agronômicos

As mesmas plantas utilizadas para a extração dos bioativos descritos anteriormente foram utilizadas para as avaliações dos parâmetros agronômicos: peso da planta (PP), obtida por meio da pesagem da parte aérea da planta; 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 cinco centímetros; comprimento das folhas (CF) e diâmetro de planta (DP), avaliados com auxílio de uma régua; temperatura foliar (TF) obtida a partir do posicionamento de um termômetro infravermelho (modelo 4000.4GL, Everest Interscience, Tucson, AZ, USA) nas folhas superiores e índice SPAD obtido pelo valor médio após coleta dos dados das quatro plantas centrais de cada parcela utilizando o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030.

2.4 Trocas gasosas das linhagens de alface

As trocas gasosas das plantas foram avaliadas para registrar taxas fotossintéticas (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), e a relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (Ci/Ca , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A eficiência instantânea do uso da água

(WUE) foi obtida pela fórmula $WUE = A/E$ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$), a eficiência intrínseca do uso da água por meio da razão A/gs , e a eficiência de carboxilação foi calculada por meio de A/Ci . Essas avaliações foram realizadas em um medidor portátil de troca gasosa LI-6800 XT (Li-Cor Inc., Nebraska, EUA), entre 9h e 11h, com temperatura de bloco de 26 °C e densidade de fluxo de fótons fotossintéticos de 1.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

2.5 Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi mensurada usando o fluorômetro portátil FluorPen FP 100 (Photon Systems Instruments; Drasov, República Tcheca). Folhas jovens, totalmente expandidas e não destacadas foram previamente adaptadas ao escuro por 30 minutos para completa oxidação do sistema fotossintético de transporte de elétrons. A fluorescência mínima (F_0) foi medida a 50 μs quando todos os centros de reação FSII estão abertos, sendo definida como a etapa O, seguida pela etapa J (a 2 ms), a etapa I (a 30 ms) e a fluorescência máxima (F_m), quando todos os centros de reação PSII estão fechados, conhecido como etapa P. As variáveis de fluorescência foram utilizadas para calcular diversos índices bioenergéticos do PSII: rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m); rendimento quântico de transporte de elétrons (Φ_{IE}); rendimento quântico de dissipação de energia na forma de calor (Φ_{DC}); índice de desempenho fotossintético (Φ_{ABS}); fluxo específico de absorção de energia luminosa (ABS/RC); taxa máxima de captura de éxitons do PSII (TRo/RC); fluxo de transporte de elétrons (além de Q_a) por centro de reação com $t = 0$ ($EToRC$); fluxo específico de dissipação de energia na antena de nível de clorofila (DIo/RC).

2.6 Atividade das enzimas antioxidantes e avaliação do estresse oxidativo

A atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) foram mensuradas utilizando aproximadamente 0,2 g de tecido foliar macerado em nitrogênio líquido e homogeneizado em solução tampão de fosfato de potássio (pH 6,8). O extrato enzimático foi centrifugado a 12.000 g por 15 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi utilizado como extrato bruto (Debona et al.,

2012). A atividade da SOD (SOD - EC 1.15.1.1) foi determinada medindo a capacidade da enzima de reduzir fotoquimicamente o azul de nitrotetrazólio (NBT), segundo Del Longo et al. (1993) e determinado a 560 nm em espectrofotômetro (Evolution 60S, Thermo Fisher Scientific Inc., MA, EUA). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% da fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971).

A atividade de CAT foi determinada pela taxa de degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 240 nm durante dois minutos a 25 °C (Havir e McHale, 1987). Um coeficiente de extinção molar de $36\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ (Anderson et al., 1995) foi utilizado para calcular a atividade enzimática.

A atividade de APX foi mensurada pela taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm durante um minuto a 25°C. O coeficiente de extinção molar de $2,8\text{ mM}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ (Nakano e Asada, 1981) foi utilizado para calcular a atividade. As atividades enzimáticas foram expressas com base na concentração de proteína determinada por Bradford (1976).

O dano celular foi avaliado pela peroxidação lipídica via acúmulo de malondialdeído (MDA), conforme descrito por Cakmak e Horst (1991). Um meio de reação de 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (p/v) de ácido tricloroacético (TCA) foi adicionado a 0,3 mL do sobrenadante, incubado a 90°C por 20 minutos e depois resfriado em banho de gelo e centrifugado a 10.000 g por cinco minutos. As amostras foram lidas a 440, 532 e 600 nm em espectrofotômetro UV-VIS, e o conteúdo de MDA foi expresso como $\mu\text{mol MDA g}^{-1}$ de FW.

2.7 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a verificação dos pressupostos de normalidade dos resíduos (Kolmogorov-Smirnov), homogeneidade de variâncias (Levene) e aditividade de blocos (Teste de não aditividade de Tukey). Posteriormente foram submetidos à análise de variância por meio do teste F ($p < 0,05$). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

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).

Foi gerado um mapa auto-organizável de Kohonen (SOM) para a comparação dos genótipos em função das variáveis analisadas, utilizando arranjo de neurônios 3x3, 2000 interações para o processo de aprendizagem, raio igual a dois e topologia hexagonal.

As análises foram realizadas no software GENES software v. 1990.2021.131, integrado ao software Matlab v. R2016a (Cruz, 2016) e o software R v. 4.2.1 (R Core Team, 2024).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teores de bioativos nas linhagens de alface

Com base na ANOVA, as linhagens de alface diferiram entre si pelo teste F ($p < 0,05$) para todos os bioativos avaliados: CloA, CloB, CloTotal e Carot (Figura 4). Houve destaque para o genótipo UFU-189#3#2#1, uma alface verde e crespa, que apresentou concentrações para CloA, CloB e CloTotal 2,74, 3,19 e 3,37 vezes, respectivamente, superiores em relação a testemunha cv. Grand Rapids, também do segmento de alfaces crespas e verdes.

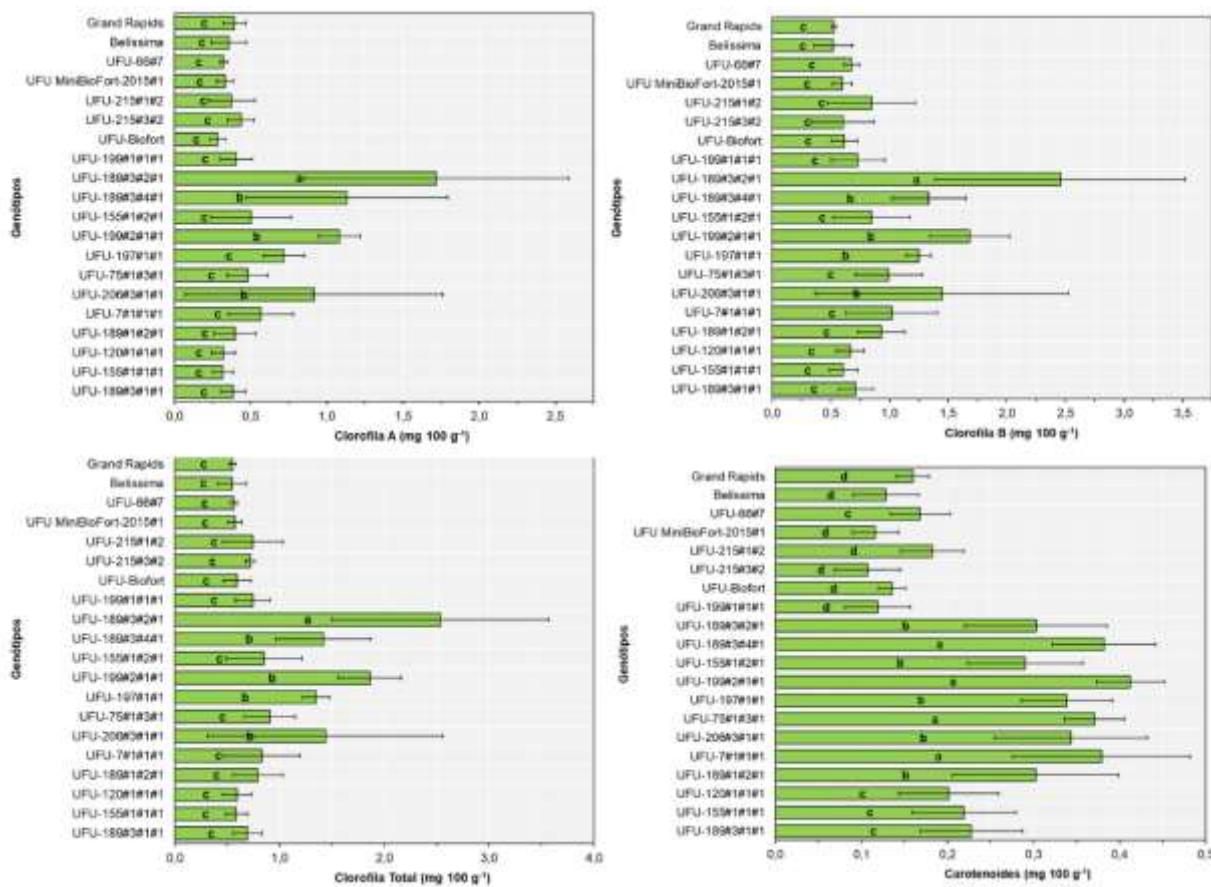


Figura 4. Teores de Clorofila *a*, Clorofila *b*, Clorofila *Total* e carotenoides nas 18 linhagens e duas cultivares comerciais de alfaces roxas e verdes. Barras com letras distintas diferem-se pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância.

O conteúdo de clorofila na planta é um indicador crucial da sua capacidade fotossintética e da modelagem do ciclo do carbono (Faticchi et al., 2019; Luo et al., 2019). Devido a relação da clorofila com o nitrogênio, esta molécula pode ser usada indiretamente para indicar o estado de saúde das plantas, produção e caracterizar o estresse induzido pela seca (Xu et al., 2021). Evidências confirmam que maiores teores de clorofila total potencializam a atividade fotossintética, e consequentemente, podem levar a incrementos relacionados a características agronômicas (Liu et al., 2019).

Devido suas propriedades bioativas, a clorofila tem sido muito usada na indústria alimentícia e farmacêutica (Queiroz et al., 2017). Sendo um pigmento verde e lipossolúvel, constituído por um tetrapirrol quelado com magnésio no centro, a clorofila atua como antioxidante, sequestrando espécies reativas de oxigênio (Agustina et al., 2021), podendo atuar no combate a muitas doenças. O consumo de vegetais ricos em

clorofila também pode prevenir a obesidade e melhorar a tolerância à glicose (Li et al., 2019). Assim, linhagens de alface ricas em clorofitas são desejadas.

Em relação ao bioativo carotenoide, as linhagens UFU-7#1#1#1 (lisa e roxa), UFU-75#1#3#1 (lisa e roxa), UFU-199#2#1#1 (crespa e roxa) e UFU-189#3#4#1 (lisa e verde) apresentaram os maiores teores (0,379, 0,371, 0,412 e 0,393 mg 100 g⁻¹, respectivamente). Quando comparadas as cultivares comerciais Belíssima (crespa e roxa) e Grand Rapids (crespa e verde) o conteúdo de carotenoide mostrou-se ser 3 vezes superior para as roxas e 2,45 vezes superior para as alfaces verdes, confirmando a caracterização destas linhagens como biofortificadas (Figura 4).

Os carotenoides, assim como as clorofitas, são fitoquímicos naturais essenciais que são consistentemente encontrados em todos os organismos fotossintéticos, incluindo os vegetais folhosos. Tanto a clorofila quanto o β-caroteno são compostos bioativos lipofílicos desejáveis em nossa dieta diária, compartilhando vias semelhantes para bioacessibilidade. O β-caroteno apresenta destaque não apenas por suas potentes propriedades antioxidantes, mas principalmente por seu papel de precursor de vitamina A (Hayes e Ferruzzi, 2020, Hayes et al., 2020, Pérez-Gálvez et al., 2020). O consumo de carotenoides na dieta pode ajudar a reduzir o risco de várias doenças crônicas e o aparecimento de doenças oculares relacionadas à idade (Milani et al., 2017).

Vale ressaltar que em plantas superiores, os carotenoides servem como componentes estruturais dos fotossistemas e desempenham papéis essenciais na coleta de luz e na fotoproteção. Além disso, eles estão envolvidos em outros bioprocessos, como atrair polinizadores e aumentar a resistência ao estresse (Nisar et al., 2015; Sun et al., 2018). Assim, os resultados apontam destaque para algumas das linhagens de alface avaliadas com qualidades nutricionais por expressarem elevados teores de bioativos como clorofitas e carotenoides.

3.2 Potencial agronômico das linhagens de alface

As linhagens de alface apresentaram diferenças significativas para todas as características agronômicas avaliadas ($p < 0,05$). Para a característica peso de planta, a maioria das linhagens apresentaram comportamento similar a cv. Grand Rapids (Figura 5A), sendo um indicativo que atingiram o padrão comercial. É importante ressaltar o comportamento dos genótipos UFU MiniBioFort-2015#1 e UFU-215#1#2 que

apresentaram baixos valores. Ambas as linhagens foram desenvolvidas para atender a uma demanda promissora do mercado para o segmento de alfaces de porte mini (Clemente et al., 2023), com vantagens comerciais como facilidade de preparo e aspecto visual diferenciado para pratos gourmet (Sala; Costa, 2012), confirmando o sucesso do programa de melhoramento.

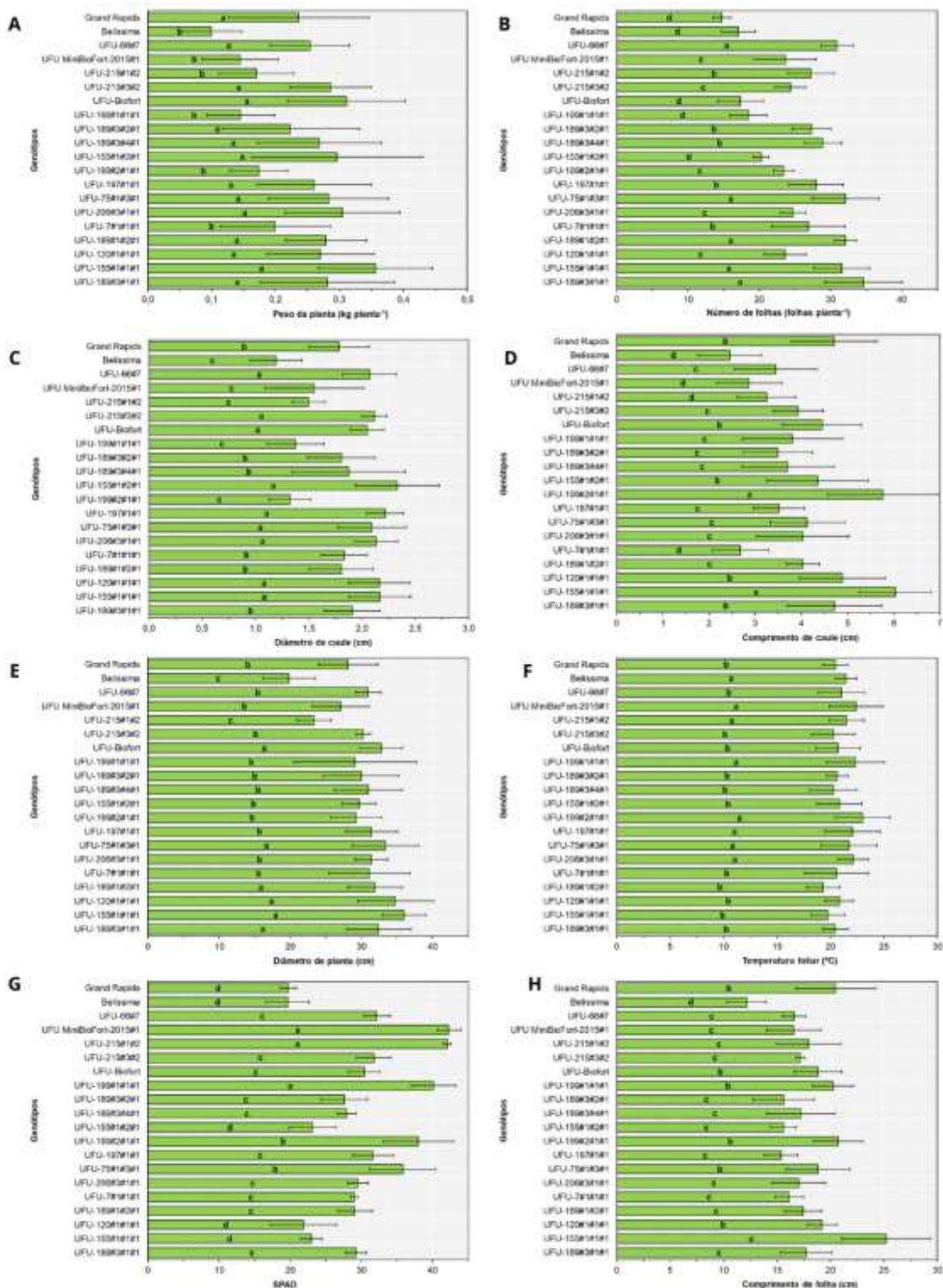


Figura 5. Médias referentes ao peso da planta (A), número de folhas (B), diâmetro de caule (C), comprimento de caule (D), diâmetro de planta (E), temperatura foliar (F), SPAD (G) e comprimento de folha (H) das 18 linhagens e duas cv. comerciais de alfaces roxas e verdes. Letras distintas, nas barras, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância.

Em relação ao número de folhas, houve destaque para as linhagens UFU-189#3#1#1 (34,6 folhas), UFU-155#1#1#1 (31,6 folhas), UFU-189#1#2#1 (32,1 folhas), UFU-75#1#3#1 (32,0 folhas) e UFU-66#7 (30,9 folhas) com valores 2,3, 2,1, 2,2, 2,2 e 2,1 vezes, respectivamente, superiores a cv. Grand Rapids (14,8) (Figura 5B). Os resultados encontrados também foram superiores aos apresentados por Cometti et al. (2019) em ambiente tropical para a cultivar Babá de Verão (26,5 folhas), Vitória de Santo Antão (29,0 folhas) e Salad Bowl (25,0 folhas). Vale destacar a importância da variável por ser a parte comercializada, além do seu papel fundamental na produção de fotoassimilados, dentre outras funções para a planta. A linhagem UFU-155#1#1#1 mostrou-se relevante por apresentar elevado número de folhas como também as folhas mais compridas (25,26 cm) em relação aos demais genótipos (Figura 5H).

Uma característica de grande interesse na produção de alfaces em ambientes tropicais como no Brasil é o pendoamento tardio. Alta temperatura é um fator ambiental que afeta consideravelmente a fisiologia da planta, o desenvolvimento, o rendimento da colheita e o valor econômico, já que pode ocasionar o pendomanto precoce das alfaces (Zhong et al., 2024). No presente estudo, as linhagens UFU MiniBioFort-2015#1 (2,86 cm), UFU-215#1#2 (3,24 cm) e UFU-7#1#1#1 (2,68 cm) apresentaram os menores comprimentos de caule e, consequentemente o desejado pendoamento tardio.

A alface desenvolve bem entre 15 e 20 °C, enquanto que, em um ambiente com temperatura média diária em torno de 25 °C, ela tende a pendoar prematuramente do centro da roseta foliar, afetando significativamente a qualidade e o rendimento da alface (Hao et al., 2022). As temperaturas médias registradas durante o desenvolvimento deste estudo atingiram 23,6 °C (Figura 2), mesmo durante as estações de outono/inverno. Portanto, as condições ambientais acabaram favorecendo o pendoamento precoce das plantas, e mesmo assim algumas linhagens foram resistentes a esta condição. Os resultados obtidos mostraram características desejáveis para uma linhagem tropicalizada.

Dos medidores portáteis de clorofila disponíveis no mercado, o SPAD-502 é o mais amplamente utilizado (Casa et al., 2015). O equipamento mede a transmitância da energia vermelha (650 nm) e do infravermelho próximo (940 nm) e fornece uma mensuração relativa do verde das folhas em uma unidade arbitrária (Markwell et al., 1995). No entanto, há relatos de que é necessária uma calibração entre os índices SPAD e a concentração real de clorofila para embasar estudos em fisiologia (Casa et al., 2015).

Assim, a concentração de clorofila foliar deve ser quantificada baseada na área foliar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Kattenborn et al., 2019). Estas informações podem explicar o comportamento das linhagens de alface avaliadas em relação ao índice SPAD. Duas das linhagens (UFU-215#1#2 e UFU MiniBioFort-2015#1) que apresentaram os maiores índices SPAD também manifestaram reduzido peso de planta (Figura 4A) e comprimento de folhas (Figura 4H), estando caracterizadas como alfaces de porte mini (Tabela 1), o que reforça a necessidade da mensuração da concentração de clorofila foliar utilizando o SPAD ser baseando na área foliar. Por esta razão, a quantificação de clorofilas (CloA, CloB e CloTotal) por métodos laboratoriais é uma importante ferramenta para a seleção de linhagens biofortificadas.

3.3 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Houve diferenças significativas entre os genótipos de alface na transpiração (*E*) e na condutância estomática (*gs*) pelo Teste F ($p < 0,05$) (Tabela 2). Os maiores valores para transpiração (*E*) foram apresentados pelas cultivares comerciais Grand Rapids (10,87 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e Belíssima (10,86 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), utilizadas como testemunhas. Essas cultivares também apresentaram os maiores valores para condutância estomática (*gs*) (0,973 e 0,952 $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente).

Tabela 2. Valores médios das trocas gasosas das linhagens e cultivares comerciais de alfaces roxas e verdes em Monte Carmelo, Minas Gerais, 2023.

Genótipos	<i>E</i>	<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>A/Gs</i>	<i>A/E</i>	<i>A/Ci</i>	<i>Ci/Ca</i>
UFU-155#1#1#1	7,29 b	18,20 a	0,48 b	38,68 a	2,53 a	0,06 a	0,80 a
UFU-206#3#1#1	5,61 b	12,88 a	0,36 b	38,17 a	2,42 a	0,04 a	0,81 a
UFU-199#1#1#1	4,11 b	11,89 a	0,25 b	54,84 a	3,21 a	0,04 a	0,74 a
UFU-Biofort	8,22 b	18,78 a	0,58 b	32,63 a	2,29 a	0,06 a	0,86 a
UFU-215#3#2	7,81 b	18,82 a	0,57 b	36,01 a	2,48 a	0,06 a	0,81 a
UFU-215#1#2	5,60 b	15,87 a	0,35 b	45,93 a	2,83 a	0,05 a	0,77 a
UFU MiniBioFort-2015#1	7,41 b	16,34 a	0,53 b	32,15 a	2,25 a	0,05 a	0,83 a
cv. Belíssima	10,86 a	17,30 a	0,95 a	18,57 a	1,64 a	0,05 a	0,89 a
cv. Gran Rapids	10,88 a	17,41 a	0,97 a	18,50 a	1,65 a	0,05 a	0,89 a
CV %	21,95	16,1	29,65	32,9	27,27	20,06	7,02
<i>p</i>	0,002**	0,060 ^{ns}	0,001**	0,034*	0,119 ^{ns}	0,278 ^{ns}	0,0665 ^{ns}

Transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (A), taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B), condutância estomática (gs , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (C), eficiência instantânea do uso da água (A/E , $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol H}_2\text{O}^{-1}$) (D), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs) (E), eficiência de carboxilação (A/Ci) (F) e relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (Ci/Ca) (G). Letras distintas, nas barras, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a *0,05 e **0,01 de significância.

Os resultados indicam que as linhagens de alface apresentaram menor taxa de transpiração em consequência do melhor controle estomático. As linhagens UFU-199#1#1#1, UFU-206#3#1#1 e UFU-215#1#2 apresentaram uma redução na taxa de transpiração (E) de 66,2, 48,3 e 48,4%, respectivamente, em relação as cultivares comerciais (Grand Rapids e Belíssima). Uma menor taxa de transpiração (gs) se deve a menor condutância estomática sendo 74,0, 62,1 e 63,8% inferior em relação as cultivares comerciais.

Os estômatos encontram-se em um ciclo contínuo de abertura e fechamento em resposta a sinais externos e internos para manter um equilíbrio entre a assimilação de CO_2 e a perda de água pela transpiração (Yamori et al., 2020). Existe uma variação considerável na anatomia estomática, bioquímica e características comportamentais que impactam na cinética e magnitude de gs e, portanto, na troca gasosa entre a planta e a atmosfera (Faralli et al., 2019). Explorar os potenciais genéticos das linhagens UFU-199#1#1#1, UFU-206#3#1#1 e UFU-215#1#2 como parentais para o desenvolvimento de novas cultivares de alface com características estomáticas favoráveis por meio do melhoramento genético, pode fornecer genótipos potencialmente mais eficientes no uso de água com a capacidade de manter e/ou maximizar o rendimento produtivo em ambientes tropicais.

As taxas de transpiração são influenciadas por distintos parâmetros biofísicos (temperatura, déficit de pressão de vapor de água e radiação líquida) e condutância estomática (Kirschbaum; McMillan, 2018). Nesse estudo, durante as avaliações de trocas gasosas, a temperatura ambiente foi de 16,5 °C e UR de 70%, não sendo impulsionadores de uma alta transpiração das plantas em campo. Nestas condições, a linhagem UFU-199#1#1#1 apresentou uma redução da transpiração por meio dos estômatos e um incremento de 195,3% para eficiência intrínseca do uso da água (A/gs).

Importante destacar que as linhagens biofortificadas, mesmo com significativas reduções na abertura dos estômatos (gs), apresentaram uma taxa fotossintética (A) e eficiência da carboxilação (A/Ci) semelhantes as cultivares comerciais. Embora gs e a A estejam frequentemente correlacionadas (Faralli et al., 2019), esses resultados indicam

que as linhagens apresentam aparatos genéticos que permitem a entrada de CO₂ no interior da célula e sua assimilação pela enzima RuBP de forma mais eficiente, comprovando sua tropicalização.

Uma das formas de avaliar os efeitos não estomáticos do processo fotossintético é por meio da avaliação da eficiência fotoquímica por meio da emissão da fluorescência da clorofila *a* (Tabela 3). Avaliando o desempenho estrutural do PSII e da melhoria no transporte de elétrons para a fotossíntese, observou-se um destaque para o rendimento quântico potencial do PSII (Fv/Fm) nas linhagens UFU-199#1#1#1 (0,81), UFU-215#1#2 (0,83) e UFU MiniBioFort-2015#1 (0,79). Esta relação mostra a capacidade com que a luz absorvida pelas moléculas de clorofila possam reduzir a quinona A (Q_A). Assim, valores em torno de 0,75 a 0,85, mostram elevada eficiência do aparato fotossintético associado ao PSII (Strasser; Strasser, 1995). Em adição, Fv/Fm é um indicador útil para selecionar plantas tolerantes ao estresse no melhoramento (Pettenuzzo et al., 2022).

Tabela 3. Valores médios das fluorescência da clorofila *a* das linhagens e cv. comerciais de alfaces roxas e verdes.

Genótipos	Fo	Fv/Fm	Phi_Eo	Phi_Do	Pi_ABS	ABS/RC	TRo/RC	ETo/RC	DIo/RC									
UFU-155#1#1#1	12852,33	b	0,79	b	0,41	b	0,22	a	2,02	b	2,86	b	2,24	b	1,22	a	0,62	b
UFU-206#3#1#1	12754,83	b	0,79	b	0,40	b	0,22	a	1,44	b	2,86	b	2,24	b	1,16	a	0,63	b
UFU-199#1#1#1	6685,17	c	0,81	a	0,53	a	0,19	b	4,81	a	1,78	d	1,44	d	0,77	b	0,34	c
UFU-Biofort	15995,17	a	0,77	b	0,45	b	0,24	a	1,78	b	3,20	a	2,44	a	1,42	a	0,76	a
UFU-215#3#2	12651,83	a	0,80	b	0,46	b	0,21	a	2,67	b	2,90	a	2,28	a	1,30	a	0,62	a
UFU-215#1#2	7000,33	c	0,83	a	0,55	a	0,17	b	5,44	a	1,82	d	1,50	d	1,04	b	0,32	c
UFU MiniBioFort-2015#1	8984,83	c	0,79	a	0,51	a	0,21	b	3,98	a	2,11	d	1,66	d	1,06	b	0,45	c
cv. Belíssima	10450,33	b	0,78	b	0,42	b	0,22	a	2,92	b	2,51	b	1,95	b	1,04	b	0,56	b
cv. Grand Rapids	8880,50	c	0,79	b	0,44	b	0,21	a	2,14	b	2,34	c	1,84	c	1,01	b	0,50	b
CV %	14,37		1,84		7,91		6,98		23,06		10,17		9,62		16,28		14,63	

Fluorescência mínima (Fo), fluorescência máxima (Fm), rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm); rendimento quântico de transporte de elétrons (Phi_Eo); rendimento quântico de dissipação de energia na forma de calor (Phi_Do); índice de desempenho fotossintético (PiABS); fluxo específico de absorção de energia luminosa (ABS/RC); taxa máxima de captura de excitons do PSII (TRo/RC); fluxo de transporte de elétrons por centro de reação com t = 0 (ETo/RC); fluxo específico de dissipação de energia na antena de nível de clorofila (DIo/RC). Letras distintas, nas barras, diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância.

Essas mesmas linhagens apresentaram os menores valores para Fo (6685, 7000,33 e 8984,83, respectivamente). Em adição, apresentaram os maiores valores de rendimento quântico para o transporte de elétrons (Phi_Eo) e eficiência fotossintética

(Pi_ABS) e os menores valores para fluxo de absorção de energia luminosa (ABS/RC), taxa máxima de captura de éxitons do PSII (TRo/RC) e fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (ETo/RC). Em resposta as maiores Pi_ABS, estas linhagens exibiram os menores valores para rendimento quântico de dissipação de energia (Phi_Do) e na energia total dissipada por centro de reação (Dio/RC). Importante destacar que estas mesmas linhagens, com exceção da UFU-199#1#1#1, também apresentaram baixas taxas de transpiração e condutância estomática (Tabela 2), porém taxa fotossintética (A) e eficiência da carboxilação (A/Ci) semelhantes a todos os demais genótipos, incluindo as cv. comerciais.

Em relação ao índice SPAD as linhagens UFU-215#1#2 e UFU MiniBioFort-2015#1, anteriormente citadas, se destacaram dentre os demais genótipos, apresentando os maiores valores (42,02 e 42,21, respectivamente).

O aparelho fotossintético converte energia transitória da luz em energia química nas membranas tilacóides dos cloroplastos (Yamori, 2016). É possível inferir que as características genéticas destas linhagens, que apresentam altos conteúdos de clorofila os quais determinam seu aparato fotossintético, podem também estar regulando a utilização da luz para o seu desempenho em ambientes tropicais. Devido aos altos valores de Fv/Fm, existem indicativos de que a quantidade de luz absorvida (baixos valores de Fo) não foram suficientemente danosas ao PSII, no entanto foram capazes de aumentar o desempenho fotossintético (Pi_ABS). As altas eficiências fotossintética (A e Pi_ABS) podem também estar associadas aos maiores índices de pigmentos cloroplastídicos (SPAD) melhorando a interceptação de luz e a utilização da energia na cadeia transportadora de elétrons (Phi_Eo). O aumento de Phi_Eo indicou que estas linhagens tem a capacidade de aumentar o transporte linear de elétrons, mas sem aumento correspondente da dissipação de calor (Phi_Do). Valores baixos em TRo/RC indicam que ocorre a reoxidação de Q_A, já que são capazes de transferir elétrons para os aceitadores de elétrons de quinona secundária (Q_B) do PSII de forma eficiente, não levando à perda de energia na dissipação (Mathur et al., 2011, Yan et al., 2021). Os baixos valores de ABS/RC, ETo/RC e Dio/Rc podem inferir não haver extresse oxidativo no aparato fotossintético.

Assim, estas linhagens possuem a capacidade de otimizar a absorção e utilização da intensidade de luz que chega no PSII a partir da expressão de características bioquímicas e fisiológicas que permitem sua adaptação a ambientes

tropicais. Em adição, as linhagens UFU-215#1#2 e UFU MiniBioFort-2015#1 apresentaram pendoamento tardio, comprovando sua tropicalização.

Com um comportamento fotoquímico oposto, estão as linhagens UFU-Biofort e UFU-215#3#2, para as quais observou-se os maiores valores para Fo, acompanhados por altos valores de Phi_Do, ABS/RC, TRo/RC, ETo/RC e Dio/RC (Tabela 3). As cv. comerciais Belíssima e Grand Rapids, apesar de não apresentarem as maiores Fo, exibiram valores mais altos para Phi_Do. Para estes genótipos há indicativos de que a redução da eficiência fotoquímica dos fotossistemas ocasionou uma superexcitação da moléculas antena na coleta de luz e levando ao estresse oxidativo (Gururani et al., 2015; Takeuchi et al., 2022).

As trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* também foram avaliados de forma multivariada e apresentaram CCC de 92% (Figura 6). Esse valor indica um correlação positiva muito alta entre a representação gráfica (dendrograma) e a matriz de dissimilaridade (Mukaka, 2016) tornando possível a execução de inferências por meio da análise visual do dendrograma.

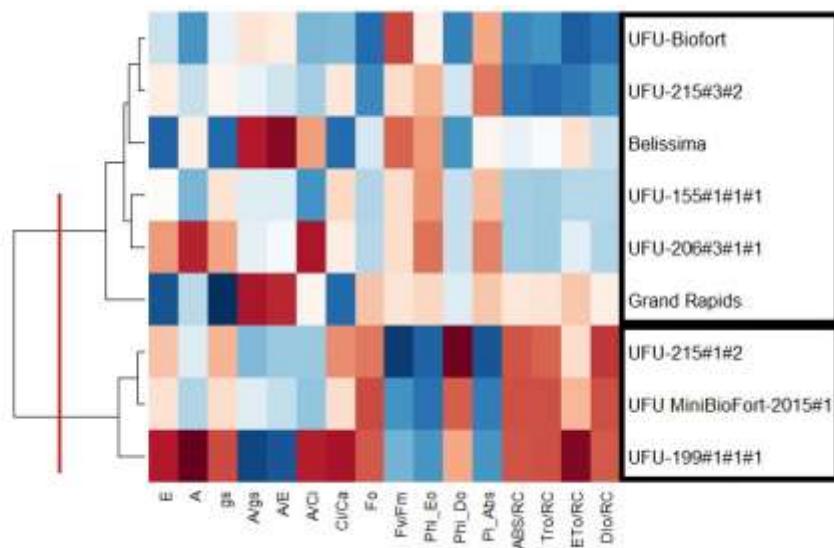


Figura 6. Mapa de calor dos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* das linhagens e cultivares comerciais de alfaces roxas e verdes. Cores mais azuladas indicam que o genótipo apresentou maior resposta em relação a variável analisada e cores mais avermelhadas menores respostas. Transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs), eficiência instantânea do uso da água (A/E ,

$\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$), eficiência de carboxilação (A/Ci), relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (Ci/Ca), fluorescência mínima (Fo), fluorescência máxima (Fm), rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm); rendimento quântico de transporte de elétrons (PhiEo); rendimento quântico de dissipação de energia na forma de calor (PhiDo); índice de desempenho fotossintético (PiABS); fluxo específico de absorção de energia luminosa (ABS/RC); taxa máxima de captura de excitons do PSII (TRo/RC); fluxo de transporte de elétrons por centro de reação com $t = 0$ (EToRC); fluxo específico de dissipação de energia na antena de nível de clorofila (DIO/RC).

As informações apresentadas no mapa de calor (Figura 6) confirmam os resultados da análise univariada (Tabelas 2 e 3). Adotou-se o ponto de corte no dendrograma em 41%, seguindo o critério proposto por Mojena (1977). Houve a formação de dois grupos distintos. O primeiro grupo foi composto por quatro linhagens (UFU-Biofort, UFU-215#3#2, UFU-155#1#1#1 e UFU-206#3#1#1), além de Belíssima e Grand Rapids; e o segundo grupo foi formado por três linhagens (UFU-215#3#2, UFU MiniBioFort-2015#1 e UFU-199#1#1#1).

A análise multivariada confirmou a existência de dois grupos com comportamentos contrastantes em relação a trocas gasosas, transpiração, aproveitamento da água, eficiência fotossintética, eficiência do aparato fotossintético, desempenho fotossintético e dissipação de energia e calor, assim como apresentaram as análises univariadas. A representação visual do mapa de calor permitiu confirmar que no banco de germoplasma deste estudo existem genótipos capazes de otimizar a absorção de CO_2 e a intensidade de luz que chega no PSII, em conjunto ao melhor aproveitamento de água, a partir da expressão de características bioquímicas e fisiológicas que permitem sua adaptação a ambientes tropicais.

3.4 Danos celulares e atividade antioxidante de enzimas de defesa

A avaliação do perfil enzimático das linhagens e cultivares comerciais apresentado na forma de mapa de calor (Figura 7) permitiu uma definição de dois grupos, separando as linhagens de alfaces biofortificadas (grupo 1) das cv. comerciais (grupo 2).

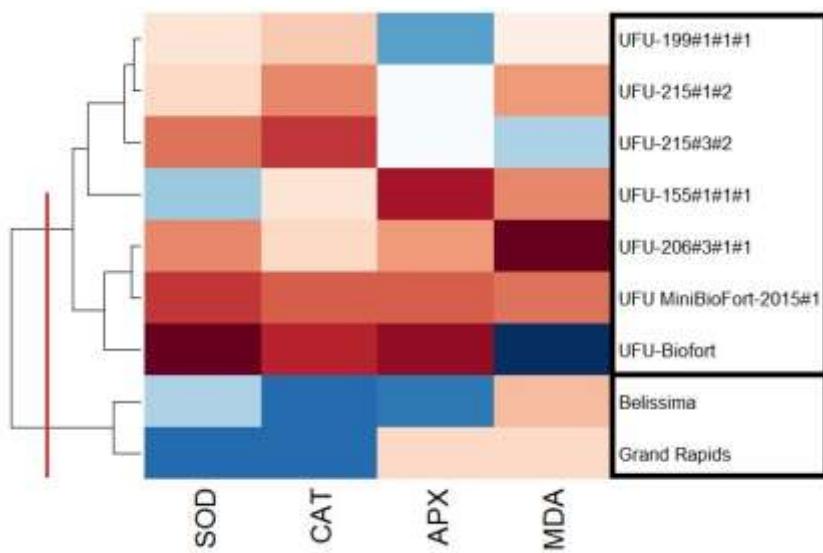


Figura 7. Mapa de calor da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD, $\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína), catalase (CAT, $\mu\text{mol/min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína), ascorbato peroxidase (APx, $\mu\text{mol/min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e malonaldeído (MDA, mmol/g de MF) das linhagens e cv. comerciais de alface roxas e verdes. Cores mais azuladas indicam que o genótipo apresentou maior resposta em relação a varável analisada e cores mais avermelhadas menores respostas.

As cultivares comerciais apresentaram destaque para alta expressão de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APx) mesmo não demonstrando altos valores para peroxidação lipídica (MDA), que indicariam danos oxidativos ao seu aparato fotossintético. Já dentre as linhagens (grupo 1), os genótipos UFU-Biofort e UFU-215#3#2 apresentaram a maior expressão de MDA, confirmando dano oxidativo, provavelmente devido a elevada dissipação de energia na forma de calor e de energia (PhiDo e DIo/RC), acompanhados por altos valores de Fo, ABS/RC, TRo/RC e ET_o/RC (Tabela 3). No entanto, este comportamento não ativou expressão das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APx.

É importante enfatizar que o estresse abiótico (incluindo o fator temperatura) aumenta a produção e o acúmulo de ROS nos tecidos vegetais, causando estresse oxidativo, resultando em danos oxidativos a várias vias fisiológicas, bioquímicas e moleculares, incluindo peroxidação lipídica que leva a produção de MDA, danos à

membrana celular e degradação do DNA e da clorofila (Farouk et al., 2020; Shalaby et al., 2023).

As linhagens UFU-215#3#2, UFU MiniBioFort-2015#1 e UFU-199#1#1#1, que se destacaram quanto aos parâmetros de trocas gasosas e florescência da clorofila *a* (Figura 6) apresentaram baixos valores para todas as enzimas (SOD, CAT e APX) e MDA, reforçando a ausência de estresse oxidativo no aparato fotossintético e capacidade gênica de expressar características bioquímicas e fisiológicas que permitem sua adaptação a ambientes tropicais.

Para evitar desequilíbrios oxidativos induzidos pelo estresse, as plantas geralmente aumentam tanto a atividade das enzimas antioxidantes quanto a dissipação térmica do excesso de luz absorvida (Vital et al., 2022). No estudo, foi verificado um outro caminho adotado pelos genótipos. Para reduzir o estresse oxidativo e evitar danos oxidativos graves em plantas estressadas, o ROS acumulado deve ser reduzido pela ativação do sistema de defesa antioxidante, incluindo enzimas antioxidantes (Shalaby et al., 2023). Assim, a atividade de APX pode ser um marcador potencial para programas de melhoramento para obter plantas mais tolerantes as condições tropicais, como apresentado pela linhagem UFU-199#1#1#1 que demonstrou elevada expressão desta enzima.

3.5 Comportamento dos genótipos por Redes Neurais

Para avaliar o comportamento dos genótipos em função do conteúdo de clorofilas e carotenoides (bioativos) e parâmetros agronômicos, construiu-se o mapa auto-organizável de Kohonen (Figura 8).

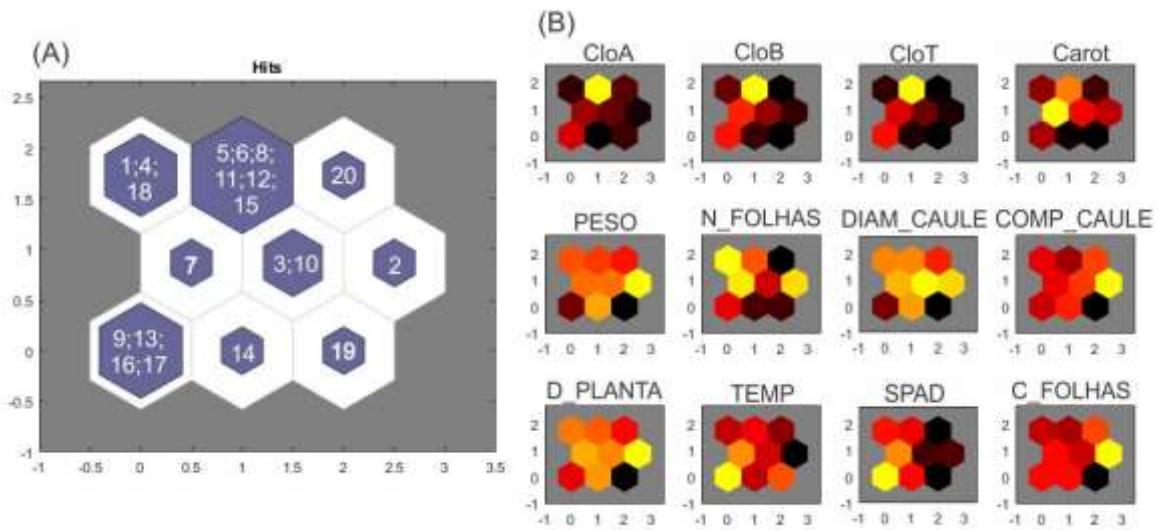


Figura 8. Mapa auto-organizável de Kohonen (SOM), identificando a alocação dos genótipos de alface em cada neurônio em função das características agronômicas, agrupamento (3x3 de raio 2 e 2000 épocas) utilizando uma rede neural artificial (A). Influência dos pesos das variáveis de entrada na rede neural artificial para a definição dos agrupamentos. Cores mais claras representam maior efeito da variável no grupo determinado pelo neurônio (B). 1: UFU-189#3#1#1; 2: UFU-155#1#1#1; 3: UFU-120#1#1#1; 4: UFU-189#1#2#1; 5: UFU-7#1#1#1; 6: UFU-206#3#1#1; 7: UFU-75#1#3#1; 8: UFU-197#1#1; 9: UFU-199#2#1#1; 10: UFU-155#1#2#1; 11: UFU-189#3#4#1; 12: UFU-189#3#2#1; 13: UFU-199#1#1#1; 14: UFU-Biofort; 15: UFU-215#3#2; 16: UFU-215#1#2; 17: UFU MiniBioFort-2015#1; 18: UFU-66#7; 19: Belíssima cv. comercial; 20: Grand Rapids cv. Comercial.

Utilizando o método SOM foi observado dissimilaridade entre os genótipos. Foram definidos nove neurônios, permitindo a formação de oito grupos distintos (Figura 8A). O grupo um (linha I e coluna I) foi composto pelas linhagens UFU-199#2#1#1, UFU-199#1#1#1, UFU-215#1#2 e UFU MiniBioFort-2015#1. O grupo dois (linha I e coluna II) foi composto por UFU-Biofort. O grupo três (linha I e coluna III) pela cv. comercial Belíssima. O grupo quatro (linha II e coluna I) pelas linhagens UFU-120#1#1#1 e UFU-155#1#2#1. O grupo cinco (linha II e coluna III) pela linhagem UFU-155#1#1#1. O grupo seis (linha III e coluna I) por UFU-189#3#1#1, UFU-189#1#2#1 e UFU-66#7. O grupo sete (linha III e coluna II) foi formado pelo maior número de genótipos: UFU-7#1#1#1, UFU-206#3#1#1, UFU-197#1#1, UFU-

189#3#4#1, UFU-189#3#2#1 e UFU-215#3#2. Por fim, o grupo oito (linha III e coluna III) pela cv. comercial Grand Rapids.

Foi possível observar que o grupo um apresentou destaque para índice SPAD; o grupo quatro para número de folhas e teor de carotenoides; o grupo cinco para diâmetro de caule; o grupo seis apresentou destaque para diâmetro de planta, comprimento das folhas, peso da planta e número de folhas; o grupo sete para número de folhas e o grupo oito, o mais numeroso, para CloA, CloB e CloTotal (Figura 8B).

Ademais, para avaliar o comportamento dos genótipos quanto as variáveis de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, enzimas antioxidantes e dano oxidativo construiu-se um segundo mapa auto-organizável de Kohonen (Figura 9).

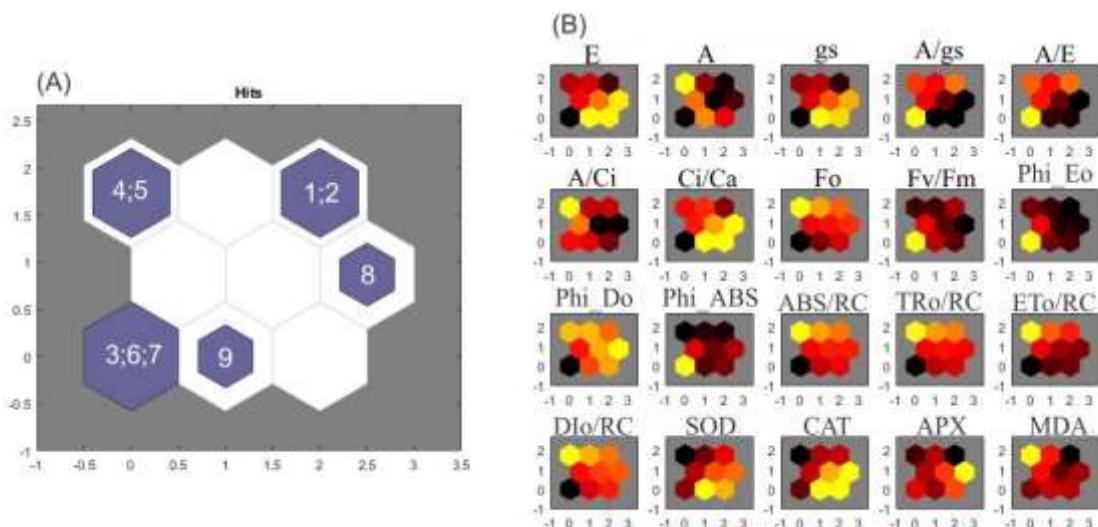


Figura 9. Mapa auto-organizável de Kohonen (SOM), identificando a alocação dos genótipos de alface em cada neurônio em função das características de desempenho fotossintético e enzimático, agrupamento (3x3 de raio 2 e 2000 épocas) utilizando uma rede neural artificial (A). Influência dos pesos das variáveis de entrada na rede neural artificial para a definição dos agrupamentos. Cores mais claras representam maior efeito da variável no grupo determinado pelo neurônio (B). 1: UFU-155#1#1#1; 2: UFU-206#3#1#1; 3: UFU-199#1#1#1; 4: UFU-Biofort; 5: UFU-215#3#2; 6: UFU-215#1#2; 7: UFU MiniBioFort-2015#1; 8: Belíssima cv. comercial; 9: Grand Rapids cv. comercial.

Foram definidos inicialmente nove neurônios pelo método SOM, mas quatro destes neurônios não alocaram nenhum genótipo, permitindo a formação de cinco grupos distintos (Figura 9A). O grupo um (linha I e coluna I) foi composto pelas linhagens UFU-199#1#1#1, UFU-215#1#2 e UFU MiniBioFort-2015#1; o grupo dois (linha I e coluna II) foi composto pela cv. comercial Grand Rapids. O grupo três (linha II e coluna III) pela cv. comercial Belíssima; o grupo quatro (linha III e coluna I) pelas linhagens UFU-Biofort e UFU-215#3#2; e o grupo cinco (linha III e coluna III) pelas linhagens UFU-155#1#1#1 e UFU-206#3#1#1.

Foi possível observar que para definição do grupo um houve maior influência das variáveis Phi_ABS, Fv/Fm, Phi_Eo, A/gs e A/E. O grupo dois apresentou destaque para SOD, CAT, Ci/Ca, E e gs. O grupo três para CAT, APX, Phi_Do, Ci/Ca e E. E finalmente, o grupo quatro apresentou destaque para Dio/RC, MDA, ABS/RC, Tro/RC, Eto/RC, A/Ci, FO e A (Figura 9B).

As linhagens UFU-215#3#2, UFU MiniBioFort-2015#1 e UFU-199#1#1#1, novamente foram agrupadas apresentando destaque quanto aos parâmetros de trocas gasosas, aproveitamento de água e fluorescência da clorofila *a* (Figura 9), reforçando sua capacidade de adaptação a ambientes tropicais.

4. CONCLUSÕES

A linhagem UFU-189#3#2#1 apresentou os mais elevados teores de CloA, CloB e CloTotal. Em relação ao bioativo carotenoide, as linhagens UFU-7#1#1#1, UFU-75#1#3#1, UFU-199#2#1#1 e UFU-189#3#4#1 apresentaram os maiores teores, confirmando sua caracterização como biofortificadas.

Todas as linhagens apresentaram potencial agronômico com ênfase para UFU MiniBioFort-2015#1, UFU-215#1#2 e UFU-7#1#1#1 que apresentaram pendoamento tardio.

As linhagens UFU-199#1#1#1, UFU-206#3#1#1 e UFU-215#1#2 apresentaram uma redução na taxa de transpiração e melhor controle estomático, sendo que UFU-199#1#1#1 também mostrou maior eficiência intrínseca do uso da água.

As linhagens UFU-215#3#2, UFU MiniBioFort-2015#1 e UFU-199#1#1#1 se destacaram quanto aos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, e

apresentaram baixa atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX e reduzido dano oxidativo (MDA), reforçando a ausência de produção de ROS.

Foi possível a caracterização de alfaces biofortificadas verdes e roxas com potencial genético para expressão de características bioquímicas e fisiológicas que permitem sua adaptação a ambientes tropicais.

REFERÊNCIAS

- AGUSTINA, S.; AIDHA, N.N.; OKTARINA, E. Extraction of antioxidants from *Chlorella vulgaris* for cosmetics. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, v. 1011, 012057, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1011/1/012057>.
- AL-SAID, F.; HADLEY, P.; PEARSON, S.; KHAN, M.M.; IQBAL, Q. Effect of high temperature and exposure duration on stem elongation of iceberg lettuce. *Pak J Agric Sci*, v. 55, n. 1, pp. 95-101, 2018.
- ANDERSON, M.D. et al. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology*, v.109, n.4, p.1247-1257, 1995.
- AUGUSTO, J. et al. Production of organic American lettuce under doses of basaltic rock powder, organic compost, and efficient microorganisms. *Agrarian*, v. 15, e15153, 2022.
- BEAUCHAMP, C. e FRIDOVICH, I (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assays applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44: 277-287.
- BRADFORD, M.M. (1976) *Anal. Biochem.* 72: 248-25. Sarath, G. de la Motte, R. S., Wagner, F. W., (1989) *Proteolytic enzymes: a practical approach.* p.25.
- CAKMAK, I., HORST, J.H. Effects of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant.* Copenhagen, v. 83, n. , p. 463-468, 1991.
- CASA, R.; CASTALDI, F.; PASCUCCI, S.; PIGNATTI, S. Chlorophyll estimation in field crops: an assessment of handheld leaf meters and spectral reflectance measurements. *J. Agric. Sci.*, v. 153, n. 5, pp. 876-890, 2015.
- CHEN, S. et al. Stress-induced delay of the I-P rise of the fast chlorophyll a fluorescence transient in tomato. *Sci Hortic*, v. 326, 112741, 2024. DOI: 10.1016/j.scienta.2023.112741.
- CLEMENTE, A. A.; MACIEL, G. M.; SIQUIEROLI, A. C. S.; GALLIS, B. d. 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*, v. 13, n. 1403, 2023. DOI: <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. *Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinformation*, v. 103, p. 102533, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2021.102533>.

COMETTI, N. N.; GALON, K.; BREMENKAMP, D. M. Behavior of four lettuce cultivars in hydroponic cultivation in a tropical environment. *Rev. Eixo*, Brasília, v. 8, pp. 114-122, 2019.

CRUZ, C. D. GENES. Programa Genes - Ampliado e integrado aos aplicativos R, Matlab e Selegen. *Acta Sci. Agron.*, Maringá, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

DAS, R.; BHATTACHARJEE, C. Lettuce: Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables. In: BHATTACHARJEE, C. (Ed.). Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables. Academic Press, 2020, pp. 143-157. DOI: 10.1016/b978-0-12-812780-3.00009-x.

DEBONA, D., Rodrigues, F.A., Rios, J.A., Nascimento, K.J.T., 2012. Biochemical changes in the leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 102, 1121–1129.

DEL LONGO, O. T.; GOINZ'ZLEZ, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defenses under hyperoxic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential to drought. *Plant Cell Physiology*, Oxford, v. 37, n. 7, p. 1023-1028, 1993.

DÍAZ-PÉREZ, M. et al. Commercial quality of 'little gem' lettuce hearts. *J Agric Food Res*, v. 16, 101168, 2024. DOI: 10.1016/j.jafr.2024.101168.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of Food Security and Nutrition in the World 2022. Available at: <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cc0639en>. Acesso em: XX de junho de 2024.

FAO. Water Scarcity: One of the greatest challenges of our time. 2024. Available at: <https://www.fao.org/newsroom/story/Water-Scarcity-One-of-the-greatest-challenges-of-our-time/en>. Accesso em: 14 de junho de 2024.

FARALLI, M.; MATTHEWS, J.; LAWSON, T. Exploiting natural variation and genetic manipulation of stomatal conductance for crop improvement. *Curr Opin Plant Biol*, v. 49, pp. 1-7, 2019. DOI: 10.1016/j.pbi.2019.01.003.

FAROUK, S.; ELHINDI, K.M.; ALOTAIBI, M.A. Silicon supplementation mitigates salinity stress on *Ocimum basilicum* L. via improving water balance, ion homeostasis, and antioxidant defense system. *Ecotoxicol Environ Saf*, v. 206, Article 111396, 2020. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111396.

FATICHI, S.; PAPPAS, C.; ZSCHEISCHLER, J.; LEUZINGER, S. Modelling carbon sources and sinks in terrestrial vegetation. *New Phytol.*, v. 221, pp. 652-668, 2019.

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

GUO, Y.; ZHANG, H.; SHAO, S.; SUN, S.; YANG, D.; LV, S. Anthocyanin: A review of plant sources, extraction, stability, content determination and modifications. *Int J Food Sci Technol*, v. 57, n. 12, pp. 7573-7591, 2022.

GURURANI, M.A.; VENKATESH, J.; TRAN, L.S. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Mol Plant*, v. 8, n. 9, pp. 1304-1320, 2015.

HAO, J.; YANG, J.; LIU, X.; PAN, G.; LI, Y.; ZHANG, X.; HAN, Y.; FAN, S.; ZHOU, Z. Molecular basis of high temperature-induced bolting in lettuce revealed by multi-omics analysis. *BMC Genomics*, v. 23, p. 580, 2022.

HASAN, M.N.; MEKKAWY, S.A.; MAHDY, M.; SALEM, K.F.M.; TAWFIK, E. Estratégias moleculares e de melhoramento recentes em alface (*Lactuca* spp.). *Genet Resour Crop Evol*, v. 68, pp. 3055-3079, 2021. DOI: 10.1007/s10722-021-01246-w.

HAVIR, E. A.; MC HALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, Rockville, v. 84, p. 450-455, 1987.

HAYES, M.; FERRUZZI, M.G. Update on the bioavailability and chemopreventative mechanisms of dietary chlorophyll derivatives. *Nutr. Res.*, v. 81, pp. 19-37, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.06.010>.

HAYES, M.; POTTORFF, M.; KAY, C.; VAN DEYNZE, A.; OSORIO-MARIN, J.; LILA, M.A.; IORRIZO, M.; FERRUZZI, M.G. In vitro bioaccessibility of carotenoids and chlorophylls in a diverse collection of spinach accessions and commercial cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, v. 68, pp. 3495-3505, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00158>.

KATTENBORN, T.; SCHIEFER, F.; ZARCO-TEJADA, P.; SCHMIDTLEIN, S. Advantages of retrieving pigment content [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$] versus concentration [%] from canopy reflectance. *Remote Sens. Environ.*, v. 230, p. 111195, 2019.

KIRSCHBAUM, Miko UF; McMILLAN, Andrew MS. Warming and elevated CO₂ have opposing influences on transpiration. Which is more important? *Curr For Rep*, v. 4, pp. 51-71, 2018. DOI: 10.1007/s40725-018-0073-8.

LI, Y.; CUI, Y.; LU, F.; WANG, X.; LIAO, X.; HU, X.; ZHANG, Y. Beneficial effects of a chlorophyll-rich spinach extract supplementation on prevention of obesity and modulation of gut microbiota in high-fat diet-fed mice. *J. Funct. Foods*, v. 60, p. 103436, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103436>.

LICHTENTHALER, H.; WELLBURN, A. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, v. 603, p. 91-592, 1983.

LIU, C.; LIU, Y.; LU, Y.; LIAO, Y.; NIE, J.; YUAN, X.; CHEN, F. Use of a leaf chlorophyll content index to improve the prediction of above-ground biomass and productivity. *PeerJ*, v. 6, p. e6240, 2019. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.6240>.

LUCINI, L.; PELLIZZONI, M.; BAFFI, C.; MOLINARI, G.P. Rapid determination of lycopene and β -carotene in tomato by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *J Sci Food Agric*, v. 92, pp. 1297-1303, 2012.

LUO, X.; CROFT, H.; CHEN, J.M.; HE, L.; KEENAN, T.F. Improved estimates of global terrestrial photosynthesis using information on leaf chlorophyll content. *Glob Chang Biol.*, v. 25, pp. 2499-2514, 2019.

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. BG a Biofort computer program. Applicant: Universidade Federal de Uberlândia. BR512019002403-6. Deposit: Feb. 01, 2019. Granted: Oct. 23, 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. Disponível em: <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.

MARKWELL, J.; OSTERMAN, J.C.; MITCHELL, J.L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynth. Res.*, v. 46, n. 3, pp. 467-472, 1995.

MATHUR, S.; ALLAKHVERDIEV, S.I.; JAJOO, A. Analysis of high temperature stress on antenna size dynamics and reduction of lateral heterogeneity of photosystem II in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Biochim Biophys Acta*, v. 1807, pp. 22-29, 2011.

MATHUR, S.; JAJOO, A. Alterations in photochemical efficiency of photosystem II in wheat plant on hot summer day. *Physiol Mol Biol Plants*, 2014, pp. 1-5.

MATHUR, S.; SHARMA, M.P.; JAJOO, A. Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. *J Photochem Photobiol B*, v. 180, pp. 149-154, 2018.

MILANI, A.; BASIRNEJAD, M.; SHAHBAZI, S.; BOLHASSANI, A. Carotenoids, biochemistry, pharmacology and treatment. *Br. J. Pharmacol.*, v. 174, pp. 1290-1324, 2017.

MISHRA, A.; MISHRA, K.B.; SURA, K.; VESELA, B.; KLEM, K.; URBAN, O. Non-photochemical quenching in natural accessions of *Arabidopsis thaliana* during cold acclimation. *Environ Exp Bot*, v. 211, 2023, Article 105372.

MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. *Comput J.* 1977, pp. 359-363.

MUKAKA, M.M. Statistics Corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med. J.*, PMC 3576830. Retrieved on January 4, 2016.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NISAR, N.; LI, L.; LU, S.; KHIN, N.C.; POGSON, B.J. Carotenoid metabolism in plants. *Mol. Plant*, v. 8, pp. 68-82, 2015.

OLIVEIRA, A.H.G. et al. Dynamics of heritability in different characters of lettuce. *Rev Caatinga*, v. 34, n. 3, pp. 514-526, 2021. DOI: 10.1590/1983-21252021v34n303rc.

PÉREZ-GÁLVEZ, A.; VIERA, I.; ROCA, M. Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants (Basel)*, v. 9, p. 505, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>.

PETTENUZZO, S.; CAPPELLIN, L.; GRANDO, M.S.; COSTANTINI, L. Phenotyping methods to assess heat stress resilience in grapevine. *J Exp Bot*, v. 73, n. 15, pp. 5128-5148, 2022.

QUEIROZ, M. I.; FERNANDES, A. S.; DEPRÁ, M. C.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q. Introductory Chapter: Chlorophyll Molecules and Their Technological Relevance Chlorophyll. In: INTECHOPEN. *Chlorophyll: Structure, Function and Medicinal Uses*. IntechOpen, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5772/67953>.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <http://www.R-project.org/>. Accessed on: 10 June 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.

SALA, F.C.; COSTA, C.P. da. Retrospective and trend of Brazilian lettuce cultivation. *Hortic Bras*, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>.

SHALABY, O. A. Moringa leaf extract increases tolerance to salt stress, promotes growth, increases yield, and reduces nitrate concentration in lettuce plants. *Scientia Horticulturae*, v. 325, 2024, Article 112654. ISSN 0304-4238. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112654>.

SHALABY, O.A.E.S.; FARAG, R.; IBRAHIM, M.F. Effect of hydrogen sulfide and hydrogen peroxide on growth, yield and nutrient content of broccoli plants grown under saline conditions. *Sci Hortic*, v. 316, Article 112035, 2023. DOI: 10.1016/j.scienta.2023.112035.

SISMET. Sistema de monitoramento meteorológico Cooxupé. 2022. Disponível em: <https://sismet.cooxupe.com.br:9000/>. Acesso em: 17 de agosto de 2022.

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.

STRASSER, B.J.; STRASSER, R.J. Measuring Fast Fluorescence Transients to Address Environmental Questions: The JIP-Test. In: MATHIS, P. (Ed.). Photosynthesis: From Light to Biosphere. Dordrecht: KAP Press, 1995. p. 977-980. Available at: http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-0173-5_1142.

SUBBARAO, K.V.; DAVIS, R.M.; GILBERTSON, R.L.; RAID, R.N. (Eds.). Compendium of Lettuce Diseases and Pests (2nd ed.). American Phytopathological Society, 2017. DOI: 10.1094/9780890545782.

SUN, T.; YUAN, H.; CAO, H.; YAZDANI, M.; TADMO, Y.; LI, L. Carotenoid metabolism in plants, the role of plastids. *Mol. Plant*, v. 11, pp. 58-74, 2018.

TAKEUCHI, .; CHE, Y.; NAKANO, T.; MIYAKE, T.; IFUKU, K. The ability of P700 oxidation in photosystem I reflects chilling stress tolerance in cucumber. *J Plant Res*, v. 135, n. 5, pp. 681-692, 2022.

VIACAVA, G.E. et al. Characterization of phenolic compounds in green and red oak-leaf lettuce cultivars by UHPLC-DAD-ESI-QToF/MS using MSE scan mode. *J Mass Spectrom*, v. 52, n. 12, pp. 873-902, 2017.

VITAL, R.G.; MÜLLER, C.; FREIRE, F.B.S. et al. Metabolic, physiological, and anatomical responses of soybean plants under water deficit and high temperature conditions. *Sci Rep*, v. 12, 16467, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-21035-4.

XU, J.; VOLK, T.A.; QUACKENBUSH, L.J.; STEHMAN, S.V. Estimation of shrub willow leaf chlorophyll concentration across different growth stages using a hand-held chlorophyll meter to monitor plant health and production. *Biomass and Bioenergy*, v. 150, 106132, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106132>.

WITHAM, F. H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. Experiments in Plant Physiology; New York: Van Nostrand Reinhold, 1971. 245p.

WU, D.; LI, Z.; ZHU, Y.; LI, X.; WU, Y.; FANG, S. A new agricultural drought index for monitoring the water stress of winter wheat. *Agric. Water Manag.*, Volume 244, 2021, 106599. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106599>.

YAMORI, W. Photosynthesis and respiration. In: KOZAI, T.; NIU, G.; TAKAGAKI, M. (Eds.). *Plant Factory: An Indoor Vertical Farming System for Efficient Quality Food Production*. Academic Press, 2016, pp. 141-148.

YAMORI, W.; KUSUMI, K.; IBA, K.; TERASHIMA, I. Increased stomatal conductance induces rapid changes to photosynthetic rate in response to naturally fluctuating light conditions in rice. *Plant Cell Environ.*, v. 43, n. 5, pp. 1230-40, 2020.

YAN, Zhengnan et al. Leaf anatomy, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of lettuce as influenced by arbuscular mycorrhizal fungi under high temperature stress. *Scientia Horticulturae*, v. 280, 2021, p. 109933. ISSN 0304-4238. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109933>.

ZHONG, M.; WANG, H.; HAO, X.; LIU, C.; HAO, J.; FAN, S.; HAN, Y. LsFUL-LsSMU2 module positively controls bolting time in leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) under high temperature. *Plant Science*, 2024, p. 112195. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112195>.