

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA - UFU
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – ICIAG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

HEITOR FRANCO DE SOUSA

PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE POPULAÇÕES F2 PROVENIENTES DE
CRUZAMENTOS SIMPLES E DUPLOS DE ALFACES BIOFORTIFICADAS E
TROPICALIZADAS

UBERLÂNDIA
2025

HEITOR FRANCO DE SOUSA

PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE POPULAÇÕES F2 PROVENIENTES DE
CRUZAMENTOS SIMPLES E DUPLOS DE ALFACES BIOFORTIFICADAS E
TROPICALIZADAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Doutorado, área de concentração em Melhoramento genético, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora
Profa. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli

UBERLÂNDIA
2025

PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE POPULAÇÕES F2 PROVENIENTES DE
CRUZAMENTOS SIMPLES E DUPLOS DE ALFACES BIOFORTIFICADAS E
TROPICALIZADAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Doutorado, área de concentração em Melhoramento genético, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora
Prof. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli

Uberlândia, 26/09/2025

Banca Examinadora:

Ana Carolina Silva Siquieroli – Doutorado (UFU)

Ana Paula Oliveira Nogueira – Doutorado (UFU)

Camila Soares Oliveira – Doutorado (UFU)

Edésio Fialho dos Reis – Doutorado (UFJ)

Clarice Aparecida Megguer – Doutorado (IFGoiano)

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

S725p
2025

Sousa, Heitor Franco de, 1989-
Parâmetros genéticos e seleção de populações F₂ provenientes de cruzamentos simples e duplos de alfaves biofortificadas e tropicalizadas [recurso eletrônico] / Heitor Franco de Sousa. - 2025.

Orientadora: Ana Carolina Silva Siquieroli.

Coorientador: Gabriel Mascarenhas Maciel.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Agronomia.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2026.5003>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

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

CDU: 631

Nelson Marcos Ferreira
Bibliotecário-Documentalista - CRB-6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em
Agronomia
Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP
38400-902
Telefone: (34) 2512-6715/6716 - www.ppgagro.iciag.ufu.br - posagro@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Tese, 008/2025, PPGAGRO				
Data:	Vinte e seis de setembro de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	12:15
Matrícula do Discente:	12123AGR008				
Nome do Discente:	Heitor Franco de Sousa				
Título do Trabalho:	PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE POPULAÇÕES F2 PROVENIENTES DE CRUZAMENTOS SIMPLES E DUPLOS DE ALFACES BIOFORTIFICADAS E TROPICALIZADAS				
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: Ana Paula Oliveira Nogueira - UFU; Edésio Fialho dos Reis - UFJ; Clarice Aparecida Megguer - IF - Goiano, Ana Carolina Silva Siquieroli - orientadora do candidato e a Pesquisadora Camila Soares de Oliveira - UFU.

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

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

Aprovado.

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

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.
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 26/09/2025, às 12:17, 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 **Camila Soares de Oliveira, Técnico(a) de Laboratório**, em 26/09/2025, às 12:18, 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 **Ana Paula Oliveira Nogueira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/09/2025, às 12:19, 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 **Clarice Aparecida Megguer, Usuário Externo**, em 29/09/2025, às 12:02, 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 **Edésio Fialho dos Reis, Usuário Externo**, em 14/10/2025, às 18:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6708148** e o código CRC **D64BD275**.

Referência: Processo nº 23117.066903/2025-16

SEI nº 6708148

AGRADECIMENTOS

À delegada Crislaine Mara dos Reis e meu filho Lorenzo Franco dos Reis, pelo apoio e compreensão.

Aos meus pais Ilton Rosa de Sousa e Ronita Ribeiro Franco, pelo incentivo e inspiração.

À todos os envolvidos do grupo GenHort, pela ajuda na instalação e condução dos experimentos.

À orientadora doutora Ana Carolina Silva Siquieroli, pela paciência e dedicação.

Ao técnico Zé da horta, pelos cuidados e dedicação com os experimentos.

À técnica Camila Soares de Oliveira, pela ajuda na condução dos experimentos.

Aos docentes doutores que participaram da banca de defesa professor Edésio Fialho dos Reis, professora Ana Paula Oliveira Nogueira e Camila Soares de Oliveira.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	7
1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO II.....	31
1 INTRODUÇÃO	34
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

CAPÍTULO I

**PARÂMETROS GENÉTICOS EM POPULAÇÕES F₂ DE HÍBRIDOS SIMPLES E
DUPLOS DE ALFACES BIOFORTIFICADAS E TROPICALIZADAS**

RESUMO

A alface é uma das hortaliças folhosas mais consumidas mundialmente, com cultivo contínuo ao longo do ano. No Brasil, seu desempenho é limitado por condições tropicais, especialmente temperaturas elevadas que induzem o pendoamento precoce, comprometendo a qualidade comercial e nutricional. Simultaneamente, cresce a demanda por alimentos funcionais, impulsionando pesquisas voltadas à biofortificação da alface com compostos bioativos, obtida por meio do melhoramento genético. Este estudo teve como objetivo estimar parâmetros genéticos em populações F₂ provenientes de híbridos simples e duplos de alfaces biofortificadas e tropicalizadas, visando a seleção de populações de destaque. Foram avaliadas 15 populações F₂ e três cultivares comerciais quanto a características agronômicas e teores de bioativos. As populações híbridas apresentaram desempenho superior às testemunhas, com destaque para número de folhas, pendoamento tardio, teores de clorofila, carotenoides e antocianina, sendo que os bioativos apresentaram herdabilidade de média a alta magnitude. A análise genética revelou valores de CVG/CVA próximos a 1 para Clorofila *a* (0,93), Carotenoide (0,74) e Antocianina (0,70), indicando viabilidade de seleção genética. Os resultados confirmaram que os teores de bioativos em alface é determinada por fatores genéticos o que possibilita a identificação e seleção de populações para biofortificação e tropicalização, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L.; biofortificação; melhoramento genético; segurança alimentar.

ABSTRACT

Lettuce is one of the most widely consumed leafy vegetables worldwide, with continuous cultivation throughout the year. In Brazil, its performance is limited by tropical conditions, especially high temperatures that induce early bolting, compromising commercial and nutritional quality. At the same time, the demand for functional foods is increasing, driving research focused on the biofortification of lettuce with bioactive compounds through genetic improvement. This study aimed to estimate genetic parameters in F₂ populations derived from single and double hybrids of biofortified and tropicalized lettuces, with the goal of selecting outstanding populations. Fifteen F₂ populations and three commercial cultivars were evaluated for agronomic traits and bioactive compound content. The hybrid populations showed superior performance compared to the controls, particularly in number of leaves, delayed bolting, and higher levels of chlorophyll, carotenoids, and anthocyanins, with bioactive compounds exhibiting medium to high heritability. Genetic analysis revealed CVG/CVA values close to 1 for Chlorophyll a (0.93), Carotenoids (0.74), and Anthocyanins (0.70), indicating the feasibility of genetic selection. The results confirmed that bioactive compound content in lettuce is determined by genetic factors, enabling the identification and selection of populations for biofortification and tropicalization, contributing to the development of cultivars adapted to Brazilian edaphoclimatic conditions.

Keywords: *Lactuca sativa* L.; bioactives; genetic improvement; food security.

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças folhosas mais consumidas no mundo, sendo cultivada e disponível comercialmente durante todo o ano (Khan *et al.*, 2025). De acordo com IBGE (2017) a produção brasileira chegou aproximadamente a 671.509 toneladas, tendo o estado de São Paulo como o maior produtor nacional. A espécie é bianual, autógama com cleistogamia, com ciclo de produção curto podendo chegar a 30 dias nos meses mais quentes do ano (Hassan *et al.*, 2021).

As mudanças climáticas são atualmente, um dos problemas ambientais mais graves enfrentados pela humanidade. Suas principais manifestações são o aumento contínuo da temperatura média global e eventos climáticos extremos frequentes, impactando na produção agrícola (Yuan *et al.*, 2024). Estudos apontam que a temperatura global poderá aumentar em +2,5 °C até 2100 (Rouce *et al.*, 2023). Essas mudanças têm induzido os melhoristas a desenvolverem plantas adaptadas às alterações edafoclimáticas e tropicalizadas.

As temperaturas ideais para a produção de alface, uma cultura de origem temperada, variam entre 15 a 20 °C. Em ambientes, onde a temperatura média diária supera os 25 °C, a alface tende a pender prematuramente, resultando em produção de látex e consequente amargor. Esses fatores comprometem o consumo, rendimento e a qualidade nutricional da planta (Al-Said *et al.*, 2018; Mathur *et al.*, 2018). Neste cenário, o clima tropical brasileiro não é favorável para esta hortaliça, já que fatores climáticos podem influenciar negativamente no desenvolvimento da cultura. Para superar esse desafio, pesquisas em melhoramento genético vem objetivando o desenvolvimento de genótipos tropicalizados (Ribeiro *et al.*, 2023).

A demanda do mercado brasileiro consumidor por hortaliças vem crescendo nos últimos anos. Em Minas Gerais, a quantidade de alface comercializada em 2015 passou de 80.000 Kg para 117.552 Kg em 2024 (CONAB, 2015, 2024). Este comportamento se deve a busca por alimentos saudáveis e à crescente conscientização sobre os impactos na saúde (Kumazawa, 2002). A alface tem demonstrado ser uma importante fonte de bioativos como flavonoides, ácidos fenólicos, vitaminas e lactonas sesquiterpênicas (Kim *et al.*, 2016), exibindo vários benefícios à saúde, incluindo atividades antirradicais livres, anticancerígenas, anti-inflamatórias e antidiabéticas (Nicolle *et al.*, 2004; Noroozlo *et al.*, 2019). Portanto, considerando o consumo em larga escala e a ampla distribuição da alface,

esta folhosa é uma excelente candidata a biofortificação voltada ao aumento de bioativos, objetivando melhorias no seu valor nutricional para atender o consumidor.

Diversas pesquisas têm apresentado importantes resultados quanto a possibilidade de aumentar os teores dos bioativos como clorofila, carotenoides e antocianinas em alfaces por melhoramento genético convencional (Maciel *et al.*, 2019, 2020; Clemente *et al.*, 2021; Clemente *et al.*, 2023; Ribeiro *et al.*, 2023). No entanto, a existência de um padrão poligênico com herança aditiva, e ocorrência de segregação transgressiva para estes bioativos ainda permite maiores incrementos (Oliveira *et al.*, 2021). Estudos que busquem desenvolver híbridos simples e duplos de alface são escassos. A comercialização de sementes e o cultivo comercial de alface híbrida ainda não é uma realidade, principalmente devido aos altos custos de mão-de-obra para obtenção destas sementes. Assim, nesse trabalho, a obtenção de híbridos simples e duplos foi realizada para obter avanços genéticos e, conseqüentemente, genótipos mais adaptados com maior frequência de alelos favoráveis fixados.

Aliar características agrônômicas voltadas para a tropicalização e produtividade com elevado teor de bioativos por meio de cruzamentos específicos é essencial (Porretta; Canestrelli, 2023). Um dos entraves está relacionado à limitação de informações quanto aos parâmetros que governam a herança genética da produção de bioativos e características agrônômicas de interesse em alface. As estimativas de parâmetros genéticos possibilitam a predição de ganhos genéticos e do potencial da população a ser melhorada (Custódio *et al.*, 2012), sendo fundamentais para o estabelecimento das melhores estratégias de melhoramento (Correa *et al.*, 2012; Baldissera *et al.*, 2014; Laviola *et al.*, 2014).

Dessa forma, esse trabalho objetivou estimar parâmetros genéticos em populações F₂ provenientes de híbridos simples e duplos de alfaces biofortificadas e tropicalizadas, visando a identificação de populações de destaque para o avanço de gerações .

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" O; 873 m de altitude). O clima da região é do tipo Aw-tropical, caracterizado por verão quente e úmido e inverno frio e seco, segundo classificação de Köppen (1948). O solo é classificado como Latossolo Vermelho distrófico e apresentou as seguintes

características na camada de 0 –20 cm: textura argilosa 86 (> 50%); pH em CaCl₂ = 4,9; Ca = 3,3 cmolc dm⁻³; Mg = 1,3 cmolc dm⁻³; H + Al = 4,9 cmolc dm⁻³; SB = 4,9 cmolc dm⁻³; MO = 3,9 dag kg⁻¹; P(rem) = 7,91 mg dm⁻³; K = 0,29 cmolc dm⁻³, CTC = 9,8 cmolc dm⁻³; e V% = 50.

Os genótipos utilizados no estudo fazem parte do Programa de Melhoramento Genético de Alface Biofortificada e Tropicalizada da UFU cadastradas no software BG α BIOFORT. Foram obtidas e avaliadas 11 populações F₂ de híbridos simples e quatro populações F₂ de híbridos duplos pertencentes ao BG α BIOFORT. Como testemunhas foram utilizadas as cultivares comerciais Uberlândia 10.000, Grand Rapids e Belíssima (Pira 72), totalizando 18 tratamentos.

As linhagens parentais utilizadas na obtenção dos híbridos simples foram desenvolvidas após hibridação entre as cultivares Belíssima (Pira 72) *versus* Uberlândia 10.000, seguido de oito sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 a 2020 (Tabela 1). O método de melhoramento utilizado para a obtenção das linhagens foi o genealógico (Maciel *et al.*, 2019, 2020; Sousa *et al.*, 2021; Clemente *et al.*, 2021; Clemente *et al.*, 2023; Ribeiro *et al.*, 2023).

Tabela 1 - Descrição das sete linhagens de alfaces biofortificadas e tropicalizadas cadastradas no Software BG α BIOFORT parentais dos híbridos simples de alface.

ID	Linhagem	Tipo de folha	Cor da folha
L1	UFU - 189#2#2#1	Lisa	Verde
L2	UFU - 215#2#2	Lisa	Roxa
L4	UFU - 66#4#2	Crespa	Verde
L6	UFU - MCBiofort 2	Lisa	Roxa
L8	UFU - Biofort189E43	Lisa	Roxa
L9	UFU - 206#1#3#1	Crespa	Roxa
L10	UFU - 75#2#2#1	Crespa	Roxa

Fonte: o autor.

Os híbridos simples resultaram do cruzamento de linhagens selecionadas para duplo propósito (produção e biofortificação). A semeadura das linhagens (Tabela 1) foi realizada 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 coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioletas. Trinta dias após a semeadura (DAS) foi

realizado o transplântio das mudas das linhagens para vasos de cinco litros, preenchidos com o mesmo substrato da sementeira, mantidos em casa de vegetação.

Ao atingir o estágio fenológico de pleno florescimento foram iniciadas as hibridações. Os botões florais das plantas de cada genitor feminino foram emasculados pela manhã a partir da técnica de despolinização e, posteriormente, realizadas as hibridações (Nagai, 1980). As sementes da geração F₁ (híbridos simples) foram colhidas, beneficiadas e armazenadas a 18°C.

A definição da direção dos cruzamentos para obtenção dos híbridos simples foi planejada envolvendo duas linhagens ricas em pelo menos um dos pigmentos (clorofila, carotenoides e antocianina), sendo obtidos onze híbridos simples experimentais (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição dos híbridos simples e duplos de alfaces biofortificadas e tropicalizadas.

ID	Híbridos simples	ID	Híbridos duplos
S1	UFU189#2#2#1 X UFU - MCBiofort 2	D1	(UFU66#4#2 x UFUBiofort189E43) X (UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2)
S2	UFU189#2#2#1 X UFU206#1#3#1		
S3	UFU215#2#2 X UFU189#2#2#1		
S4	UFU66#4#2 X UFUMCBiofort 2	D2	(UFUMCBiofort 2 x UFU75#2#2#1) X (UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1)
S5	UFUMCBiofort 2 X UFU75#2#2#1		
S6	UFUBiofort189E43 X UFU75#2#2#1		
S7	UFU206#1#3#1 X UFU189#2#2#1	D3	(UFU206#1#3#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2)
S8	UFU206#1#3#1 X UFUMCBiofort 2		
S9	UFU206#1#3#1 X UFU75#2#2#1		
S10	UFU75#2#2#1 X UFU215#2#2	D4	(UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1)
S11	UFU75#2#2#1 X UFU206#1#3#1		

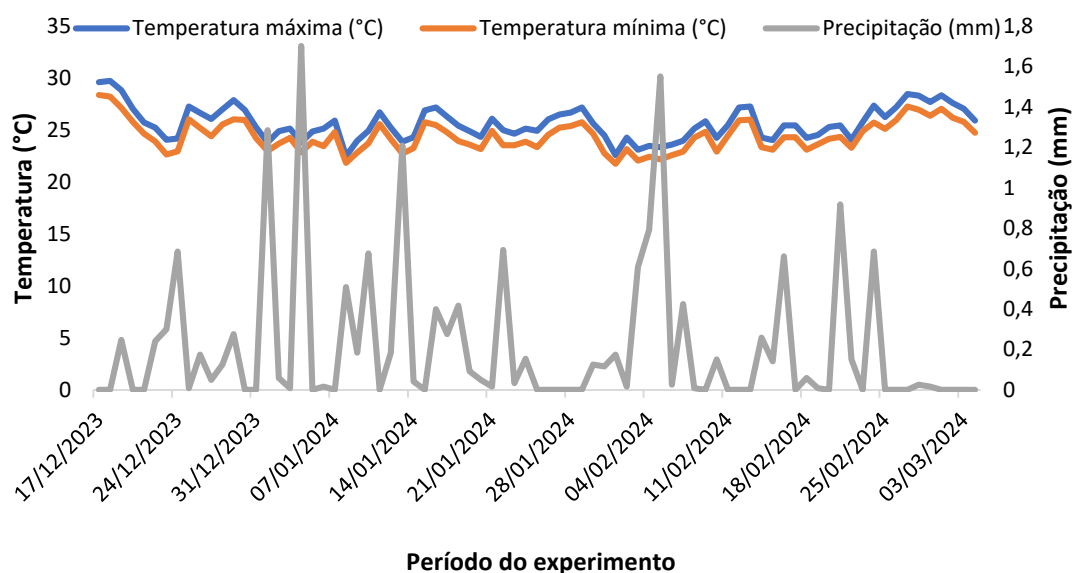
Fonte: o autor.

Os híbridos duplos foram obtidos a partir do cruzamento de híbridos simples (Tabela 2), seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente, em casa de vegetação. Posteriormente, as sementes da geração F₁ dos híbridos duplos foram colhidas,

beneficiadas e armazenadas a 18°C em câmara fria. De posse das sementes dos híbridos simples e híbridos duplos foram obtidas suas respectivas populações F₂ por meio de autofecundação.

Por fim, em dezembro de 2023 foi realizada a semeadura das populações F₂ dos híbridos simples, híbridos duplos e das cultivares comerciais Uberlândia 10.000, Grand Rapids e Belíssima (Pira 72) em bandejas 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, coberta com filme aditivado contra raios ultravioletas. Trinta e cinco DAS foi realizado o transplântio das mudas para o campo. O solo foi previamente preparado com gradagem e subsolador. Em seguida, foram construídos canteiros de 1,3 metros a partir de um rotoencanteirador. As temperaturas máximas e mínimas, e precipitação foram monitoradas durante o período de desenvolvimento do estudo (Figura 1).

Figura 1 - Condições climáticas (temperatura mínima, temperatura máxima e precipitação) nos meses de dezembro/2023 a março/2024 - período de realização do experimento.



Fonte: o autor.

Cada parcela do experimento foi composta por cinquenta plantas, arranjadas em duas linhas centrais por canteiro, com espaçamento de 0,25 x 0,25 metros. Foram avaliadas as dez plantas centrais da parcela. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com três repetições totalizando 78 parcelas e 3.900 plantas. O cultivo foi realizado conforme recomendado para a cultura da alface (Filgueira, 2013) e utilizada irrigação por gotejamento com vazão de 1,6 L·min⁻¹.

Decorridos 43 dias após o transplântio (DAT) realizou-se a colheita e as avaliações dos parâmetros agrônômicos como massa fresca (MF) (g), obtida por meio da pesagem de todas as folhas externas; diâmetro do caule (DC) (cm) e comprimento do caule (CC) (cm), avaliados com auxílio de um paquímetro; número de folhas (NF), a partir da contagem de folhas superiores a 5 cm; comprimento de folha (CF) (cm), mensurando 5 folhas superiores medianas com uma régua; e diâmetro de planta (DP) (cm), avaliados com auxílio de uma régua.

As mesmas plantas usadas para as avaliações agrônômicas descritas anteriormente 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). Para a extração de Antocianina (ANT) 0,5 g de tecido foram adicionadas a 10 ml de solução extratora (etanol 95% + ácido clorídrico 1,5 mol) na proporção (85:15). Após 24 horas de incubação em ausência de luz, foi realizada a leitura da absorbância dos sobrenadantes no Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) nos comprimentos de 645, 652 e 663nm para CloA, CloB e CloT; 470 nm para Carot e 535 nm para ANT. A partir das absorbâncias foram calculados os teores de pigmentos foliares (mg.100g⁻¹ de tecido fresco) (Francis, 1982; Witham *et al.*, 1971).

Foram estimados as seguintes variâncias e parâmetros genéticos: variância genética (Vg), variância ambiental (Va), variância fenotípica (Vf), coeficiente de variação genotípica (CVG), coeficiente de variação ambiental (CVA), coeficiente de variação fenotípica (CVF), herdabilidade de senso amplo (H2), avanço genético como a porcentagem da média (AGM), coeficiente de correlação fenotípica (r_f) e coeficiente de correlação genotípica (r_g), conforme as Equações 1 a 11:

$$Vg = \sigma_g^2 = \frac{QMt - QMe}{r} \quad \text{Eq. 1}$$

$$Va = \sigma_a^2 = \frac{QMe}{r} \quad \text{Eq. 2}$$

$$Vf = \sigma_f^2 = \sigma_g^2 + \sigma_a^2 \quad \text{Eq. 3}$$

$$CVG = \left(\frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

$$CVA = \left(\frac{\sqrt{\sigma_a^2}}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

$$CVF = \left(\frac{\sqrt{\sigma_f^2}}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

$$H2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2} \quad \text{Eq. 7}$$

$$AG = \sigma_f^2 \times H2 \times K \quad \text{Eq. 8}$$

$$AGM = \left(\frac{AG}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 9}$$

$$r_g = \frac{Cov_g(xy)}{(\sigma_{gx}^2 \times \sigma_{gy}^2)^{0,5}} \quad \text{Eq. 10}$$

$$r_f = \frac{Cov_f(xy)}{(\sigma_{fx}^2 \times \sigma_{fy}^2)^{0,5}} \quad \text{Eq. 11}$$

Onde, QMt: Quadrado Médio dos tratamentos; QMe: Quadrado Médio do erro; r: Número de repetições; σ_g^2 : Variância genotípica; σ_a^2 : Variância ambiental; σ_f^2 : Variância fenotípica; \bar{x} : Média; AG: Avanço Genético; H2: Herdabilidade de senso amplo; K: constante da intensidade de seleção a 20%; Cov_f : Covariância fenotípica da característica x e y; Cov_g : Covariância genotípica da característica x e y.

A significância das correlações genóticas e fenóticas foi determinada por meio do teste t , adotando-se o nível de significância de $p < 0,05$.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk (Shapiro e Wilk, 1965) e teste de Levene para homogeneidade de variância (Fox e Weisberg, 2019). Os dados de DC, CC e CaR foram transformados em \log_{10} , MF para raiz quadrática e NF para $1/\cos$, pois não apresentaram normalidade. Para todas as variáveis, o teste de Levene apresentou não significativo demonstrando homocedasticidade. Posteriormente, realizou-se análise de variância por meio do teste F ($p < 0.05$). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$).

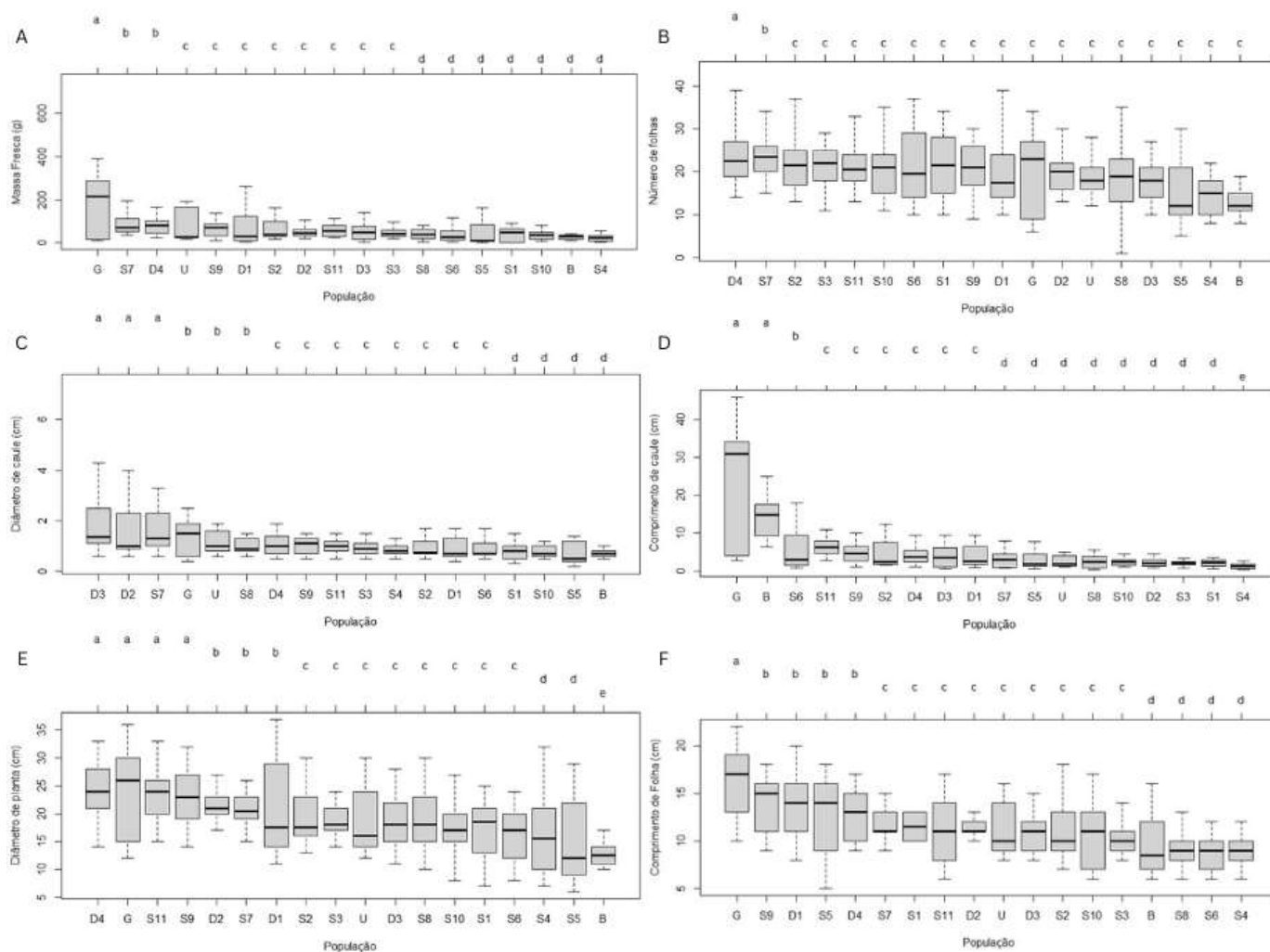
As análises estatísticas e os gráficos foram realizadas no software R versão 4.4.3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As populações F_2 de híbridos simples e duplos apresentaram diferenças significativas em todas as características agrônômicas avaliadas (Figura 2). A maioria das populações F_2 apresentou número de folhas superior ao da cultivar Grand Rapids, indicando superioridade ao padrão comercial, com destaque para os híbridos simples. O número de folhas é uma variável importante na cultura da alface, já que a folha é a parte comestível da planta, além do seu papel fundamental na produção de fotoassimilados.

Figura 2 - Comparação entre as médias dos parâmetros agrônômicos de populações F_2 de híbridos simples e duplos de alface: massa fresca (A), número de folhas (B), diâmetro de caule (C), comprimento de caule (D), diâmetro de planta (E) e comprimento de folha (F). S1: UFU189#2#2#1 X UFUBiofort189E43; S2: UFU189#2#2#1 X UFU206#1#3#1, S3: UFU215#2#2 X UFU189#2#2#1; S4: UFU66#4#2 X UFUMCBiofort 2; S5: UFUMCBiofort 2 X UFU75#2#2#1; S6: UFUBiofort189E43 X UFU75#2#2#1; S7: UFU206#1#3#1 X UFU189#2#2#1; S8: UFU206#1#3#1 X UFUMCBiofort 2; S9: UFU206#1#3#1 X UFU75#2#2#1; S10: UFU75#2#2#1 X UFU215#2#2; S11: UFU75#2#2#1 X UFU206#1#3#1; D1: (UFU - 66#4#2 x UFUBiofort189E43) X (UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2); D2: (UFUMCBiofort 2 x UFU75#2#2#1) X (UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1); D3: (UFU206#1#3#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2); D4: (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1); U: cv. Uberlândia 10.000; G: cv. Grand Rapids; e B:

cv. Belíssima (Pira 72). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0.05 de significância.



Fonte: o autor.

Estudo de Aguiar *et al.* (2025) apresentou valores para comprimento de folha de 19,9 a 22,4 cm, resultados semelhantes aos encontrados neste estudo em populações F₂ de híbridos simples e duplos de alfaca. O mesmo foi observado para massa fresca (peso de folhas) em que as populações F₂ apresentaram registros superiores aos obtidos por Saldanha; Ribeiro (2022), com valores variando de 25,39 a 195,50 gramas. Os resultados confirmaram que estas populações de híbridos simples e duplos possuem características de interesse comercial, importantes para a obtenção de novos genótipos e a continuidade do Programa de Melhoramento Genético de Alfaca.

A alta temperatura afeta consideravelmente a fisiologia da planta, ocasionando o pendomanto precoce. Esse comportamento leva ao acúmulo de látex na folha o que

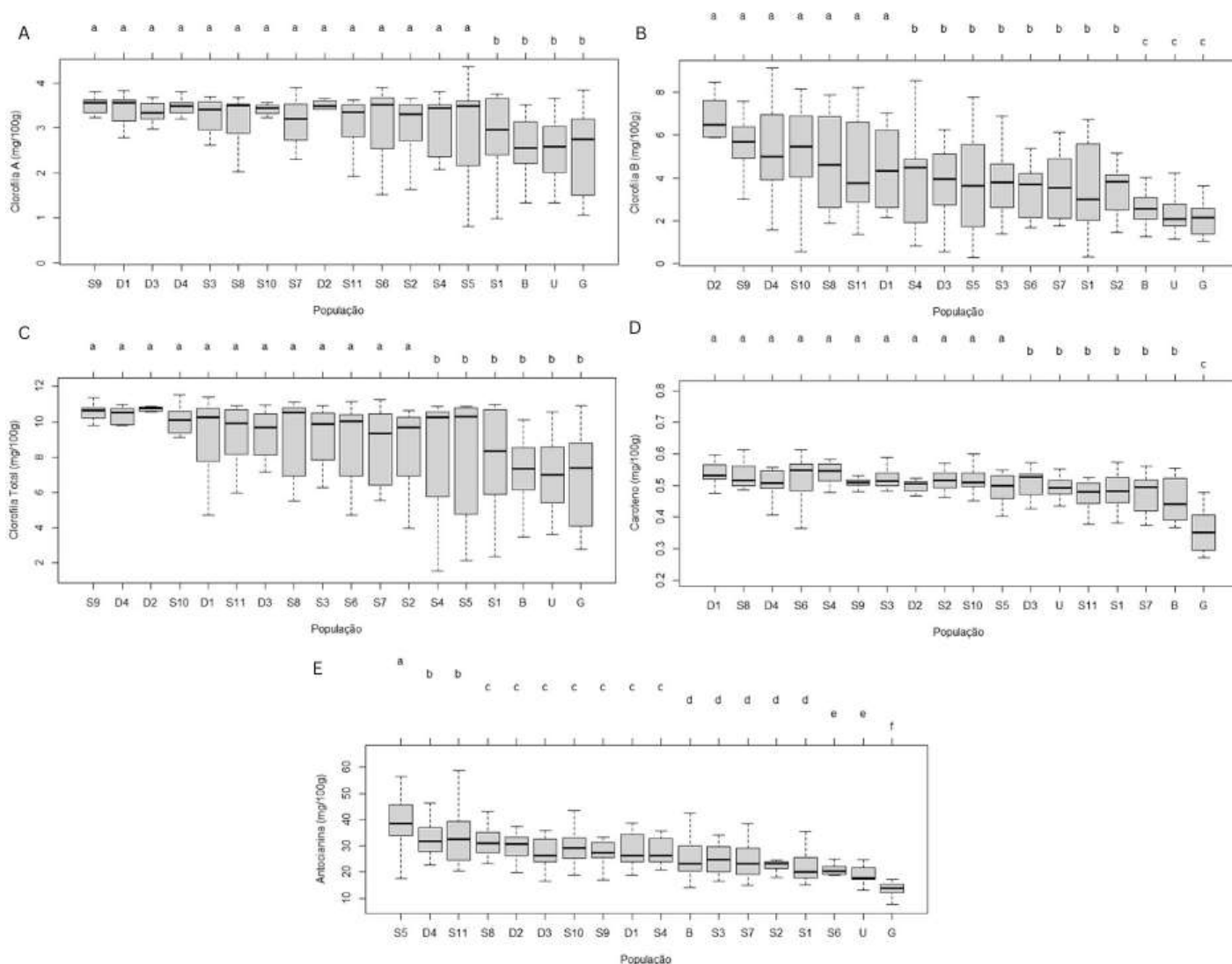
provoca queda de rendimento da colheita e no valor de venda (Zhong *et al.*, 2024). A testemunha comercial Grand Rapids se destacou para as características peso de planta, diâmetro de planta e comprimento de folha. No entanto, esta cultivar, em conjunto com a cultivar comercial Belíssima, apresentaram os maiores comprimentos de caule, característica não desejada para cultura da alface por estar relacionada ao pendoamento precoce. Todas as populações avaliadas no estudo (provenientes de híbridos simples e duplos) apresentaram pendoamento tardio, comprovando sua tropicalização, uma característica de grande interesse na produção de alfaces em ambientes tropicais como no Brasil.

Os resultados evidenciaram a existência de variabilidade genética entre híbridos simples e duplos para as características agrônômicas avaliadas, passível de exploração em programas de melhoramento de alface. Faysal *et al.* (2022) afirmaram que a riqueza genética é essencial para o melhoramento genético de uma cultura. A riqueza está relacionada com a diversidade genética, a qual está intimamente ligada a variabilidade de alelos. Dessa forma, é crucial estudos genéticos sobre a variabilidade em uma população, para identificar e selecionar alelos de interesse.

Os teores de bioativos CloA, CloB, CloT, Carot e ANT (Figura 3), foram significativamente maiores ($p < 0.05$) nas populações F₂ de híbridos simples e duplos em relação as cv. Grand Rapids, Uberlândia 10.000 e Belíssima (testemunhas).

Figura 3 - Comparação entre as médias dos bioativos Clorofila a (A), Clorofila b (B), Clorofila Total (C), Carotenoides (D) e Antocianina (E) de populações F₂ provenientes de híbridos simples e duplos de alface. S1: UFU189#2#2#1 X UFUBiofort189E43; S2: UFU189#2#2#1 X UFU206#1#3#1, S3: UFU215#2#2 X UFU189#2#2#1; S4: UFU66#4#2 X UFUMCBiofort 2; S5: UFUMCBiofort 2 X UFU75#2#2#1; S6: UFUBiofort189E43 X UFU75#2#2#1; S7: UFU206#1#3#1 X UFU189#2#2#1; S8: UFU206#1#3#1 X UFUMCBiofort 2; S9: UFU206#1#3#1 X UFU75#2#2#1; S10: UFU75#2#2#1 X UFU215#2#2; S11: UFU75#2#2#1 X UFU206#1#3#1; D1: (UFU - 66#4#2 x UFUBiofort189E43) X (UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2); D2: (UFUMCBiofort 2 x UFU75#2#2#1) X (UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1); D3: (UFU206#1#3#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2); D4: (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1); U: cv. Uberlandia 10.000; G:

cv. Grand Rapids; e B: cv. Belíssima (Pira 72). Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0.05 de significância.



Fonte: o autor.

As populações F₂ provenientes dos híbridos duplos se destacaram quanto aos teores de CloA. A clorofila é um pigmento verde e lipossolúvel com atividade antioxidante, capaz de sequestrar espécies reativas de oxigênio (Agustina *et al.*, 2021). Tem sido muito utilizadas na indústria alimentícia e farmacêutica devido as suas propriedades bioativas (Queiroz *et al.*, 2017), podendo atuar no combate a muitas doenças.

Diversas pesquisas têm observado o potencial da cultivar Uberlândia 10.000 como uma cultivar rica em carotenoides (Souza *et al.*, 2007; Maciel *et al.*, 2019, Maciel *et al.*,

2020; Sanches *et al.*, 2025). Neste estudo, as populações F₂ de híbridos simples e duplos apresentaram resultados superiores a Uberlândia 10.000 para este bioativo (Figura 3), reforçando a importância destas populações na biofortificação da alface.

Deve-se destacar a importância de incrementos de carotenoides em alfaces, assim como observado neste estudo. Os carotenoides são pigmentos tetraterpênicos responsáveis pelas cores amarela, laranja, vermelha e roxa dos vegetais e frutos (Maoka, 2020). Os principais carotenoides encontrados na alface são violaxantina, luteína e β-caroteno (Kim *et al.*, 2018, Sung Park *et al.*, 2015). Além de fornecer cor às plantas, os pigmentos estão envolvidos em processos fotossintéticos, como defesas contra a luz e estresse. Esses compostos podem ter atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas, além de reduzir o risco de doenças cardíacas (Alissa; Ferns, 2017).

Para obter incrementos em características quantitativas é preciso recombinar genótipos superiores (Borém; Miranda, 2013). Como pode ser observado, todos os genótipos avaliados foram superiores em relação as testemunhas comerciais Belíssima e Grand Rapids (Figura 3). Os resultados confirmam o potencial destas populações para o desenvolvimento de linhagens de alfaces biofortificadas.

A cor vermelha da alface é resultado do acúmulo de antocianinas, poderosos antioxidantes que neutralizam os radicais livres para diminuir o dano oxidativo (Aung Htay Naing; Kim, 2021). As antocianinas oferecem potenciais benefícios à saúde estando envolvida na prevenção de doenças cardiovasculares, prevenção do câncer, diabetes e combate à obesidade (Giampieri *et al.*, 2023). A presença deste pigmento pode ser conferida por fatores genéticos, mas também por condições de luz (Hadiga *et al.*, 2024). Neste estudo, todos os genótipos foram cultivados a campo e estiveram expostos a mesma incidência de luz solar. Estas condições permitem inferir que populações de maior destaque possuem alelos de interesse para o desenvolvimento de linhagens de alface ricas em antocianina. Em adição, é importante destacar que a maioria das populações apresentaram teores de antocianina superiores a testemunha Belíssima, uma cultivar comercial de folhas vermelhas e roxas.

Quando se analisa uma população segregante, observa-se que os caracteres de herança quantitativa apresentam distribuição contínua de fenótipos com nítidas identificações dos extremos. Com inúmeros fenótipos, torna-se difícil a separação em classes distintas. Caracteres poligênicos são influenciados pela variação do ambiente, dificultando ainda mais a identificação dos genótipos com base apenas no fenótipo

observado. Oliveira *et al.* (2021) identificaram que em alfaces ocorre um controle poligênico com ação de alelos aditivos para os bioativos.

Assim, ao estimar os parâmetros genéticos em populações F₂ segregantes de híbridos simples e duplos de alface para bioativos, observou-se uma superioridade do CVA em relação ao CVG, com destaque para CloB, CloT e ANT o que demonstra uma influência dos fatores ambientais sobre a expressão dos bioativos. Assim, confirma-se que a variabilidade fenotípica foi mais influenciada por fatores não genéticos (Tabela 3).

Tabela 3 - Estimativas de parâmetros genéticos de características agronômicas e bioativos em populações F₂ provenientes de híbridos simples e duplos em alface.

Variáveis	CVA	CVG	CVG/CVA	CVF	H2	AGM
Massa fresca (MF)	34,92	6,39	0,18	35,51	0,03	2,37
Número de folha (NF)	62,83	25,82	0,41	67,93	0,14	20,22
Diâmetro de caule (DC)	14,72	31,37	2,13	15,06	0,04	13,49
Comprimento de caule (CC)	53,65	29,96	0,55	61,45	0,23	30,10
Diâmetro de planta (DPL)	22,67	5,34	0,23	23,30	0,05	2,52
Comprimento de folha (CF)	18,76	9,78	0,52	21,16	0,21	9,31
Clorofila A (CloA)	9,63	8,97	0,93	13,16	0,47	12,59
Clorofila B (CloB)	28,15	9,45	0,33	29,70	0,10	6,20
Clorofila Total (CloT)	16,57	8,16	0,49	18,47	0,20	7,43
Caroteno (Carot)	9,04	8,14	0,90	12,22	0,44	11,18
Antocianina (ANT)	20,93	14,65	0,70	25,55	0,33	17,30

CVA – Coeficiente de Variação Ambiental; CVG – Coeficiente de Variação Genotípica; CVF – Coeficiente de Variação Fenotípica; H2 – Herdabilidade de Sentido Amplo; AGM – Avanço Genético como porcentagem da média.

Fonte: o autor.

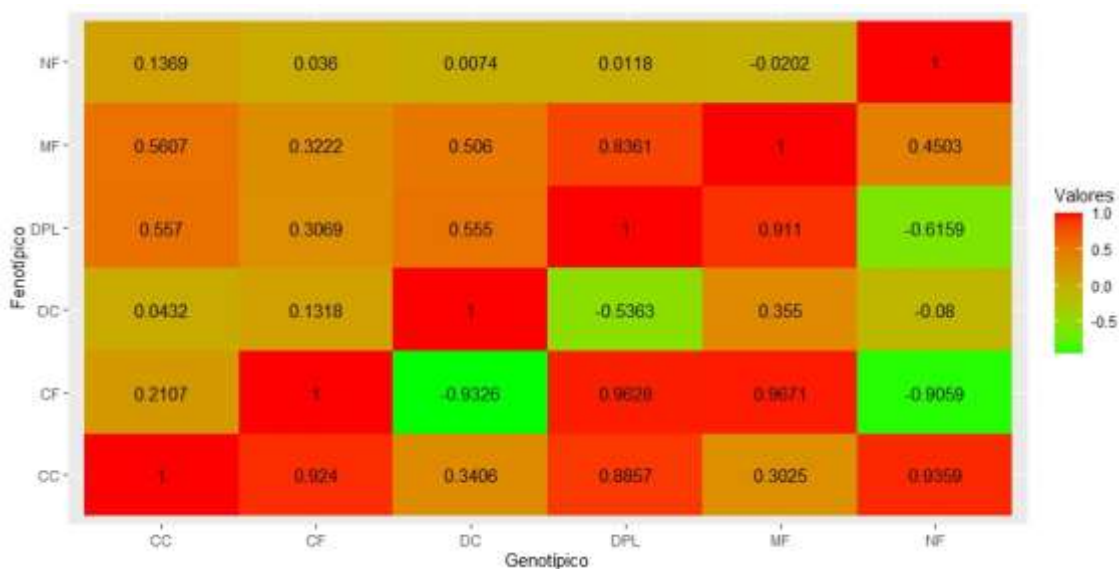
No entanto, foram observados valores de CVG/CVA próximos a 1 para CloA e Carot (0,93 e 0,90, respectivamente), o que significa que a situação é considerada favorável para a seleção genética das populações para esta característica.

Para as variáveis agronômicas MF, NF, CC, DPL e CF também observou-se uma superioridade do CVA em relação ao CVG, exceto para DC que apresentou valor superior de CVG em relação a CVA (CVG/CVA de 2,13).

Beena et al. (2021) ao avaliarem um germoplasma de arroz tolerante a altas temperaturas mencionaram que H2 é considerada baixa com valores abaixo de 0,2; moderado com valores entre 0,2 e 0,4 e alta com valores acima de 0,4. Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que CloA, Carot e AT apresentaram de alta a média herdabilidade. Em adição, estas mesmas variáveis apresentam os maiores valores para AGM. Esses resultados confirmam que os teores de bioativos em alface é determinada por fatores genéticos, tornando o processo de seleção para biofortificação baseada no fenótipo mais eficiente.

A Figura 4 apresenta os resultados das correlações fenotípicas e genotípicas das variáveis agronômicas. Valores abaixo de 0,27 não apresentaram significância para correlação fenotípica. Para a correlação genotípica, valores abaixo de 0,41 não foram significativos.

Figura 4 - Correlação fenotípica e correlação genotípica das variáveis agronômicas para as populações F₂ provenientes de híbridos simples e duplos de alface. Massa fresca (MF), diâmetro do caule (DC), comprimento do caule (CC), número de folhas (NF), comprimento de folha (CF) e diâmetro de planta (DP).



Fonte: o autor.

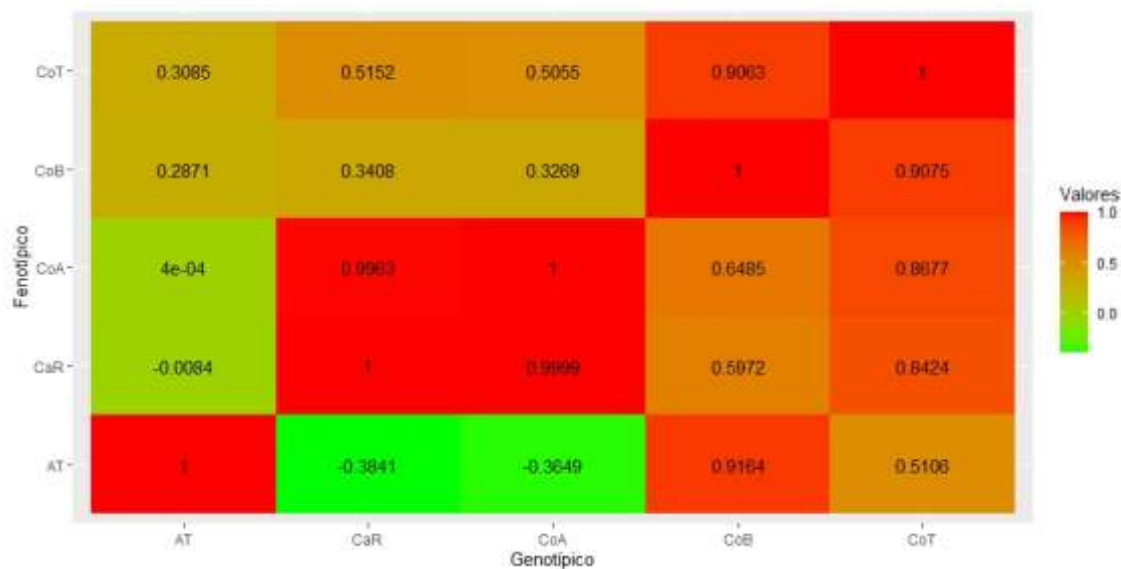
A maior correlação fenotípica foi encontrada para MF e DPL (0,83). Resultado como este já era esperado, já que ambas são variáveis relacionadas a produção. Os

resultados demonstraram que ao selecionar populações com alto DPL também é possível selecionar aquelas com alto valores para MF (Figura 4).

A correlação genotípica positiva demonstra que genes de interesse que incrementam uma característica podem favorecer a outra característica. Peixoto *et al.* (2020) ao avaliarem 22 linhagens de alface biofortificadas, obtiveram correlação genotípica positiva significativa entre DPL e MF. Sousa *et al.* (2021) ao avaliarem 91 genótipos de alface apresentaram correlação genotípica significativa para as variáveis DPL, DC e NF. No presente estudo observou-se correlações positivas significativas com destaque para DPL e CC (0,88), DPL e CF (0,96), MF e CF (0,96), MF e DPL (0,91), NF e CC (0,93). Em adição, houve uma correlação genotípica negativa significativa com destaque para DC e CF (-0,93) e NF e CF (-0,90) (Figura 5B).

A correlação fenotípica para pigmentos (Figura 5) apresentou significância com valores acima de 0,30. Observou-se correlações positivas significativas com destaque para CloA e Carot (0,99) e CloT e CloB (0,90).

Figura 5 - Correlação fenotípica e genotípica de Clorofila a, Clorofila b, Clorofila Total, Carotenoides e Antocianina para as populações F₂ provenientes de híbridos simples e duplos de alface. Clorofila a (CloA), Clorofila b (CloB), Clorofila Total (CloT), Carotenoides (Carot) e Antocianina (ANT).



Fonte: o autor.

Cassetari *et al.* (2015) ao avaliarem a correlação fenotípica entre β-caroteno e clorofila em 26 linhagens de alface, obtida de forma indireta por meio do índice SPAD,

obteve uma correlação de 0,82. Os autores sugeriram a possibilidade de sucesso da seleção indireta para alto teor de β -caroteno utilizando o SPAD como indicador de alto teor de clorofila. O presente estudo apresentou valores superiores para correlação fenotípica entre CloA e Carot (0,99) mensurados de forma direta e infere que ao selecionar plantas com altos teores de Clorofila a, também serão selecionadas aquelas com alto teor de Carot, tornando o processo de seleção mais rápido e reduzindo a mão de obra e o custo das análises laboratoriais.

A correlação genotípica para pigmentos bioativos (Figura 5), apresentou significância com valores acima de 0,60. Houve destaque para correlações positivas significativas para CloB e ANT (0,91), CloA e Carot (0,99), ClotT e Carot (0,84), CloT e CloA (0,86) e ClotT e CloB (0,90). Os resultados demonstram que os genes envolvidos ou responsáveis pelo incremento de clorofila a, Clorofila b e Clorofila total podem também ser responsáveis pelo incremento de antocianina e carotenoide, compartilhando vias metabólicas semelhantes.

4 CONCLUSÕES

As populações F₂ de híbridos simples e duplos apresentaram diferenças significativas para todas as características agronômicas e bioativos avaliadas. Os resultados confirmaram que os teores de bioativos em alface é determinada por fatores genéticos o que possibilita a identificação e seleção de populações superiores para biofortificação e tropicalização, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Fabrício Resende *et al.* Adubação organomineral com adição de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) no cultivo de alface. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.], v. 11, n. 5, p. e79919-e79919, 2025. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv11n5-074>. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/79919>. Acesso em: 12 set. 2025.
- ALISSA, Eman M.; FERNS, Gordon A. Dietary fruits and vegetables and cardiovascular diseases risk. **Critical reviews in food science and nutrition**, [s.l.], v. 57, n. 9, p. 1950-1962, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1040487>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26192884/>. Acesso em: 12 set. 2025.
- AL-SAID, Fahad *et al.* Effect of high temperature and exposure duration on stem elongation of iceberg lettuce. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 55, n. 1, 2018. DOI: <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/18.6554>, Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/324435438_Effect_of_high_temperature_and_exposure_duration_on_stem_elongation_of_iceberg_lettuce. Acesso em: 12 set. 2025.
- ANUM, Hadiqa *et al.* Regulation of anthocyanin synthesis in red lettuce in plant factory conditions: A review. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 458, p. 140111, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140111>. Disponível em: . Acesso em: 12 set. 2025.
- AGUSTINA, Sri; AIDHA, N. N.; OKTARINA, E. Extraction of antioxidants from *Chlorella vulgaris* for cosmetics. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, [s.l.], v. 1011, p. 012057, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1011/1/012057>. Disponível em: Acesso em: 12 set. 2025.
- BEENA, RADHA *et al.* Germplasm innovation for high-temperature tolerance from traditional rice accessions of Kerala using genetic variability, genetic advance, path coefficient analysis and principal component analysis. **Journal of crop science and biotechnology**, [s.l.], v. 24, n. 5, p. 555-566, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12892-021-00103-7>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12892-021-00103-7>. Acesso em: 12 set. 2025.
- BORÉM, Aluízio; MIRANDA, Glauco V.; FRITSCHÉ-NETO, Roberto. **Melhoramento de Plantas**. 6.ed. Viçosa: UFV, 2013. 523p.
- CASSETARI, Luciana Silva; GOMES, M. S.; SANTOS, D. C.; SANTIAGO, W. D.; ANDRADE, J.; GUIMARÃES, A. C.; SOUZA, J. A.; CARDOSO, M. G.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A. β -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, [s.l.], v. 1083, p. 469-474, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.60>. Disponível em: https://www.actahort.org/books/1083/1083_60.htm. Acesso em: 12 set. 2025.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Boletim Hortifrutigranjeiro safra 2015. Brasília, DF, 2015. **Conab**. Disponível em: https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/hortigranjeiros-prohort/boletim-hortigranjeiro/boletim-hortigranjeiro-2015/boletim_hortigranjeiro_abril_2015.pdf. Acesso em: 12 set. 2025.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Boletim Hortifrutigranjeiro safra 2024. Brasília, DF, 2024. **Conab**. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/hortigranjeiros-prohort/boletim-hortigranjeiro/boletim-hortigranjeiro-2024/boletim-hortigranjeiro-abril-2024z.pdf>. Acesso em: 12 set. 2025.

CORREA, Agenor Martinho *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres fenológicos e morfoagronômicos em feijão-caupi. **Revista Ceres**, [s.l.], v. 59, p. 88-94, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2012000100013>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/H6GMgK66bbMQRB5GmW7tKhJ/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 12 set. 2025.

CLEMENTE, Andressa Alves *et al.* Nutritional characterization based on vegetation indices to detect anthocyanins, carotenoids, and chlorophylls in mini-lettuce. **Agronomy**, [s.l.], v. 13, n. 5, p. 1403, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy13051403>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/13/5/1403>. Acesso em: 12 set. 2025.

CLEMENTE, Andressa Alves *et al.* High-throughput phenotyping to detect anthocyanins, chlorophylls, and carotenoids in red lettuce germplasm. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, [s.l.], v. 103, p. 102533, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2021.102533>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303243421002403>. Acesso em: 12 set. 2025.

CUSTÓDIO, Telde Natel *et al.* Meta-análise para estimativas de herdabilidade de características do desenvolvimento e produção do *Coffea canephora* Pierre. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 33, n. 1, p. 2501-2509, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Sup1p2501>. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/8009>. Acesso em: 12 set. 2025.

CRUZ BALDISSERA, Joana Neres da *et al.* Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, [s.l.], v. 13, n. 2, p. 181-189, 2014. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/5632?articlesBySameAuthorPage=2>. Acesso em: 12 set. 2025.

FAYSAL, Abu Salah Muhammad *et al.* Genetic variability, character association, and path coefficient analysis in transplant Aman rice genotypes. **Plants**, [s.l.], v. 11, n. 21, p. 2952, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11212952>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/21/2952>. Acesso em: 12 set. 2025.

FRANCIS, Joseph Frederick. Analysis of anthocyanins. *In*: MARKAKIS, Pericles. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p.181-207. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50011-1>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780124725508/anthocyanins-as-food-colors>. Acesso em: 12 set. 2025.

FILGUEIRA, Fernando Antônio Reis. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: Editora UFV, 2013.

GIAMPIERI, Francesca *et al.* Anthocyanins: What do we know until now?. **Journal of Berry Research**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 1-6, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3233/JBR-220087>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.3233/JBR-220087>. Acessado em: 12 set. 2025.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. São Paulo: Nobel, 1985. 467p.

HASSAN, Mohamed Nasser *et al.* Recent molecular and breeding strategies in lettuce (*Lactuca spp.*). **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s.l.], v. 68, n. 8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-021-01246-w>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10722-021-01246-w>. Acesso em: 12 set. 2025.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Produção agropecuária. **Ibge**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/alface/br>. Acesso em: 04 ago. 2025.

KHAN, Shumaila *et al.* Impact of amino acid supplementation on hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth and nutrient content. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 15829, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-00294-x>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-025-00294-x>. Acesso em: 12 set. 2025.

KIM, Dae-Eun *et al.* Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential. **Food Research International**, [s.l.], v. 105, p. 361-370, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.028>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996917307986>. Acesso em: 12 set. 2025.

KIM, Moo Jung *et al.* Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l.], v. 49, p. 19-34, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157516300230>. Acesso em: 12 set. 2025.

KUMAZAWA, Kikuo. Nitrogen fertilization and nitrate pollution in groundwater in Japan: Present status and measures for sustainable agriculture. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, [s.l.], v. 63, n. 2, p. 129-137, 2002. DOI:

<https://doi.org/10.1023/A:1021198721003>. Disponível em:
<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1021198721003>. Acesso em: 12 set. 2025.

LAVIOLA, Bruno Galvêas *et al.* Desempenho agrônômico e ganho genético pela seleção de pinhão-manso em três regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 49, n. 5, p. 356-363, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000500005>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/pab/a/7WHDSSyvmggTbvnY4V5yYjq/?lang=pt>. Acesso em: 12 set. 2025.

MAOKA, Takashi. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of natural medicines**, [s.l.], v. 74, n. 1, p. 1-16, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31588965/>. Acesso em: 12 set. 2025.

MATHUR, Sonal; SHARMA, Mahaveer P.; JAJOO, Anjana. Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s.l.], v. 180, p. 149-154, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.002>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29425887/>. Acesso em: 12 set. 2025.

MACIEL, Gabriel Mascarenhas *et al.* Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, [s.l.], v. 81, p. 154-160, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.016>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030324341930008X>. Acesso em: 12 set. 2025.

MACIEL, Gabriel Mascarenhas *et al.* Image phenotyping of lettuce germplasm with genetically diverse carotenoid levels. **Bragantia**, [s.l.], v. 79, p. 224-235, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190519>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/brag/a/m8PN3sfYmtmwDwtD3pdZmqj/?lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

NICOLLE, Catherine *et al.* Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 84, n. 15, p. 2061-2069, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1916>. Disponível em: onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.1916. Acesso em: 12 set. 2025.

NAGAI, Helio. Obtenção de novos cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistentes ao mosaico e ao calor. I-Brasil 48, 202 e 221. **Revista de Olericultura**, [s.l.], v. 17, p. 129-137, 1979.

NAING, Aung Htay; KIM, Chang Kil. Abiotic stress-induced anthocyanins in plants: Their role in tolerance to abiotic stresses. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 172, n. 3, p. 1711-1723, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.13373>. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33605458/>. Acesso em: 12 set. 2025.

NOROOZLO, Yaghoub Aghaye; SOURI, Mohammad Kazem; DELSHAD, Mojtaba. Stimulation effects of foliar applied glycine and glutamine amino acids on lettuce growth. **Open Agriculture**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 164-172, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0016>. Disponível em: https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/opag-2019-0016/html?lang=en&srsId=AfmBOoqId2GDsgRNExxJC_mwB3mikjMRU6ZSb7wNx c0tzVMluOdjPhG0. Acesso em: 12 set. 2025.

OLIVEIRA, Alisson Henrique Gama de *et al.* Dynamics of heritability in different characters of lettuce. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 34, n. 3, p. 514-526, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252021v34n303rc>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcaat/a/r5FJtxpHDbzdVHpwYYtGDJk/?format=html&lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

PARK, Woo Sung *et al.* Changes in carotenoid and anthocyanin contents, as well as antioxidant activity during storage of lettuce. **Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition**, [s.l.], v. 44, n. 9, p. 1325-1332, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.9.1325>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/283100304_Changes_in_Carotenoid_and_Ant_hocyanin_Contents_as_well_as_Antioxidant_Activity_during_Storage_of_Lettuce. Acesso em: 12 set. 2025.

PEIXOTO, Joicy Vitória Miranda *et al.* Comparison between non-parametric indexes in the selection of biofortified curly lettuce. **Comunicata Scientiae**, [s.l.], v. 11, p. e3351-e3351, 2020. DOI: <https://doi.org/10.14295/cs.v11i.3351>. Disponível em: <https://www.comunicatascientiae.com.br/comunicata/article/view/3351>. Acesso em: 12 set. 2025.

PORRETTA, Daniele; CANESTRELLI, Daniele. The ecological importance of hybridization. **Trends in Ecology & Evolution**, [s.l.], v. 38, n. 11, p. 1097-1108, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2023.07.003>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37620217/>. Acesso em: 12 set. 2025.

QUEIROZ, Maria Izabel; FERNANDES, A. S.; DEPRÁ, M. C.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q. Introductory Chapter: Chlorophyll Molecules and Their Technological Relevance. *In*: INTECHOPEN (Org.). **Chlorophyll: Structure, Function and Medicinal Uses**. London: IntechOpen, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5772/67953>. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/54559>. Acesso em: 12 set. 2025.

RIBEIRO, Ana Luisa Alves *et al.* Vegetation indices for predicting the growth and harvest rate of lettuce. **Agriculture**, [s.l.], v. 13, n. 5, p. 1091, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13051091>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0472/13/5/1091>. Acesso em: 12 set. 2025.

ROUNCE, David *et al.* Global glacier change in the 21st century: Every increase in temperature matters. **Science**, [s.l.], v. 379, n. 6627, p. 78-83, 2023. DOI: [10.1126/science.abo1324](https://doi.org/10.1126/science.abo1324). Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abo1324>. Acesso em: 12 set. 2025.

SALDANHA, Carlos Frederiko; RIBEIRO, Kátia Daniela. Eficácia do composto de cama de frango como adubo orgânico no cultivo de alface (*Lactuca sativa* L.) em ambiente protegido. **Sustentare**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 49-62, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5892/st.v5i1.6323>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/353664485_EFICACIA_DO_COMPOSTO_DE_CAMA_DE_FRANGO_COMO_ADUBO_ORGANICO_NO_CULTIVO_DE_ALFACE_Lactuca_sativa_L_EM_AMBIENTE_PROTEGIDO. Acesso em: 12 set. 2025.

SANCHES, Alessandro Aguilar *et al.* Selection of lettuce hybrids to generate productive carotenoid-biofortified populations. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 29, p. e278163, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v29n4e278163>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/KJgTKrKDtj8pRL6cvdfRPhM/?format=html&lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

SOUSA, Cristina Soares de *et al.* Divergência genética entre genótipos de alface por meio de marcadores AFLP. **Bragantia**, [s.l.], v. 66, p. 11-16, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052007000100002>. Disponível em: . Acesso em: 12 set. 2025.

SOUSA, Luciana Alves de *et al.* Genetic parameters and selection of biofortified lettuce genotypes based on selection indices. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 25, n. 11, p. 772-778, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n11p772-778>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/brag/a/Qjvrh8xjyRwh684wWq84KDv/?lang=pt>. Acesso em: 12 set. 2025.

SYSTAT SOFTWARE INC. **SigmaPlot: versão 12.0**. San Jose: Systat Software Inc., 2011.

WITHAM, Francis H.; BLAYDES, David F.; DEVLIN, Robert M. **Experiments in Plant Physiology**. New York: Van Nostrand Reinhold; 1971. 245 p.

YUAN, Xiangning *et al.* Impacts of global climate change on agricultural production: a comprehensive review. **Agronomy**, [s.l.], v. 14, n. 7, p. 1360, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy14071360>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/14/7/1360>. Acesso em: 12 set. 2025.

ZHONG, Mengjiang *et al.* LsFUL–LsSMU2 module positively controls bolting time in leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) under high temperature. **Plant Science**, [s.l.], v. 347, p. 112195, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112195>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016894522400222X>. Acesso em: 12 set. 2025.

CAPÍTULO II

ÍNDICE DE DISTÂNCIA GENÓTIPO-IDEÓTIPO MULTICARACTERÍSTICO (MGIDI) NA SELEÇÃO DE POPULAÇÕES F₂ DE HÍBRIDOS SIMPLES E DUPLOS DE ALFACES BIOFORTIFICADAS

RESUMO

A alface, planta herbácea anual da família Asteraceae, é amplamente cultivada devido ao seu valor nutricional e diversidade morfológica. Fatores ambientais influenciam a expressão genética, afetando os teores de bioativos como clorofilas, carotenoides e antocianinas, associados à proteção contra estresse oxidativo e à prevenção de doenças crônicas. O melhoramento genético voltado à biofortificação tem como objetivo desenvolver genótipos superiores, com alto desempenho agrônomico e valor nutricional elevado. Este estudo teve como objetivo selecionar populações F₂ de híbridos simples e duplos de alface biofortificada por meio do índice multicaracterístico MGIDI. Foram avaliadas 15 populações F₂ e três cultivares comerciais em duas épocas distintas (verão e inverno), na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia. As variáveis analisadas incluíram os teores de clorofila a (CloA), clorofila b (CloB), clorofila total (CloT), carotenoides (Carot) e antocianinas (ANT). A análise multivariada revelou dissimilaridade genética entre os genótipos, com formação de cinco grupos distintos em cada época. O índice MGIDI foi eficiente ao selecionar as populações S8, S9 e D4 (verão) e S2, S4 e S11 (inverno), com destaque para os híbridos simples. As populações selecionadas compartilham linhagens parentais com histórico de alto teor de bioativos, evidenciando o potencial dos cruzamentos realizados. Conclui-se que foi possível a seleção de populações F₂ utilizando o índice MGIDI, que contribuirão para o desenvolvimento de linhagens com elevado valor nutricional.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L., biofortificação, populações segregantes, melhoramento genético.

ABSTRACT

Lettuce, an annual herbaceous plant of the Asteraceae family, is widely cultivated due to its nutritional value and morphological diversity. Environmental factors influence genetic expression, affecting the levels of bioactive compounds such as chlorophylls, carotenoids, and anthocyanins, which are associated with protection against oxidative stress and the prevention of chronic diseases. Genetic improvement aimed at biofortification seeks to develop superior genotypes with high agronomic performance and elevated nutritional value. This study aimed to select F₂ populations of single and double hybrids of biofortified lettuce using the multi-trait MGIDI index. Fifteen F₂ populations and three commercial cultivars were evaluated in two distinct seasons (summer and winter) at the Vegetable Experimental Station of the Federal University of Uberlândia. The variables analyzed included the levels of chlorophyll a (CloA), chlorophyll b (CloB), total chlorophyll (CloT), carotenoids (Carot), and anthocyanins (ANT). Multivariate analysis revealed genetic dissimilarity among genotypes, with the formation of five distinct groups in each season. The MGIDI index was effective in selecting populations S9, D1, and D4 (summer) and S2, S4, and S8 (winter), with emphasis on single hybrids. The selected populations share parental lines with a history of high bioactive content, highlighting the potential of the performed crosses. It was concluded that the selection of F₂ populations using the MGIDI index was feasible, contributing to the development of lines with high nutritional value.

Keywords: *Lactuca sativa* L., biofortification, segregating populations, genetic improvement.

1 INTRODUÇÃO

A alface é uma planta herbácea anual pertencente ao gênero *Lactuca* da família Asteraceae (Kim *et al.*, 2016; Darqui *et al.*, 2021), com centro de origem na Europa e Sudoeste Asiático (Pitrat, 2012). Devido ao seu sabor, crocância e valor nutricional, tornou-se uma importante cultura econômica cultivada mundialmente (Zhao *et al.*, 2025). As alfaces apresentam diversidade quanto ao tipo e à coloração das folhas e, ao longo do desenvolvimento, a expressão de sua constituição genética pode ser modulada por fatores ambientais, resultando em diferenças significativas (Hayashi *et al.*, 2020).

A diversidade genética é pré-requisito em um programa de melhoramento genético (Kirankumar *et al.*, 2025), já que genes de interesse podem ser descobertos e o incremento de uma característica pode ser obtido (Fu, 2015). Por meio de técnicas de melhoramento tradicionais e modernas, juntamente com a avaliação de caracteres de interesse em um banco de germoplasma, características cruciais podem ser integradas em variedades prospectivas. Estudos têm apresentado importantes resultados quanto a possibilidade de aumentar os teores de pigmentos em alfaces por melhoramento genético, intensificando o valor nutricional desta hortaliça (Maciel *et al.*, 2019; Maciel *et al.*, 2020; Clemente *et al.*, 2023; Ribeiro *et al.*, 2023; Sanches *et al.*, 2025). No entanto, ainda é possível obter maiores incrementos para biofortificação (Oliveira *et al.*, 2021).

Pigmentos fotossintéticos como clorofila, carotenoides e antocianina são os principais alvos dos programas de melhoramento genético voltados para biofortificação de alface (Clemente *et al.*, 2021). Estão relacionados ao estado fisiológico das plantas (Lopes *et al.*, 2017), mas também demonstram ação antioxidante, detoxificação enzimática e apoptose de células tumorais (Crupi *et al.*, 2023). Esses compostos beneficiam o corpo humano, oferecendo proteção celular contra o estresse oxidativo e prevenção de doenças degenerativas, cardiovasculares, infecciosas e câncer (Braga *et al.*, 2018; Bendokas *et al.*, 2020; Crupi *et al.*, 2023). Em especial, as antocianinas são

compostos fenólicos que possuem ação contra alterações no fígado, síndrome metabólica, obesidade e células tumorais (Gonçalves *et al.*, 2021; Mazewski *et al.*, 2019).

A seleção de genótipos é uma etapa crucial nos programas de melhoramento de plantas, já que buscam a identificação de genótipos superiores que combinam alto desempenho em múltiplas características de interesse. No entanto, a seleção de genótipos seguindo múltiplas características é uma tarefa difícil (Debnath *et al.*, 2024). Índices clássicos de seleção linear, como o índice de Smith-Hazel, são comumente usados para classificar e identificar genótipos considerando múltiplas características em alface (Peixoto *et al.*, 2020; Peixoto *et al.*, 2021). No entanto, apresentam limitações como a necessidade de coeficientes de ponderação arbitrários e a sensibilidade a questões de multicolinearidade (Céron-Rojas; J. Crossa, 2018).

Torna-se necessário implementar técnicas de seleção de genótipos eficazes e eficientes que possam usar dados de inúmeras variáveis para categorizar os genótipos com base em sua função, adaptabilidade e qualidade. Um desses métodos é o Índice de Distância de Genótipo-Ideótipo de Traço Múltiplo (MGIDI) (Olivoto; Nardino, 2021). É um novo indicador de seleção multivariada que incorpora diferentes características em um único valor e classifica os genótipos com base em sua distância de um genótipo ideal (Debnath *et al.*, 2024; Olivoto; Nardino, 2021). O MGIDI tem sido aplicado no melhoramento de diferentes culturas, incluindo programas voltados para ganhos em valor nutricional (Bester *et al.*, 2022; Loro *et al.*, 2023). No entanto, ainda não explorado em programas de melhoramento voltados para biofortificação na cultura da alface.

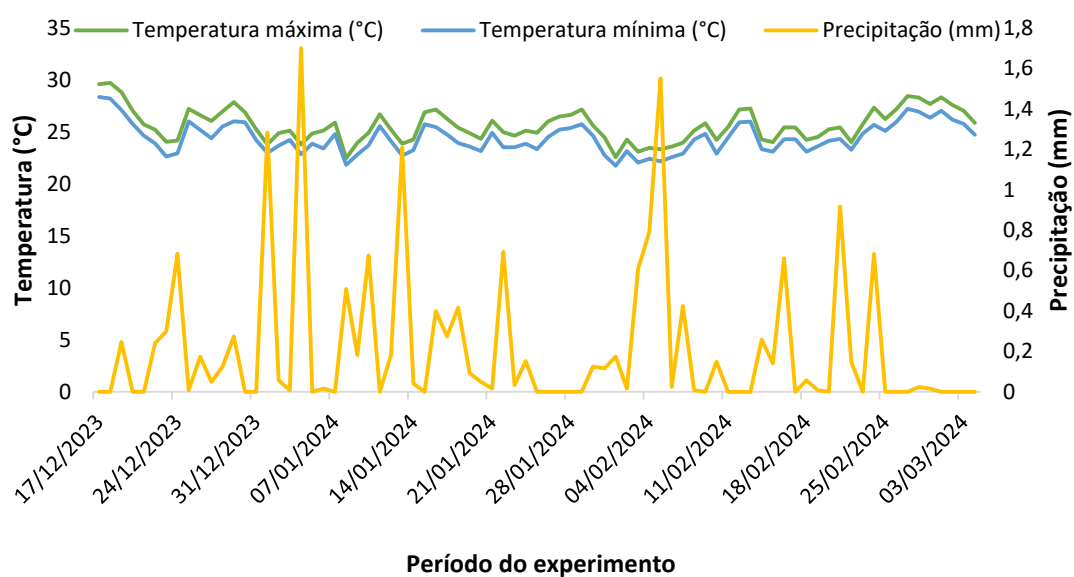
Assim, este estudo teve como objetivo a seleção de populações F₂ provenientes de híbridos simples e duplos de alfaces biofortificadas por meio do índice multicaracterístico MGIDI, que contribuirão para o desenvolvimento de linhagens com elevado valor nutricional.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os dois experimentos foram conduzidos em duas épocas distintas: verão (experimento 1) e inverno (experimento 2), ambos desenvolvidos na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo (18°42'43,19" S; 47°29'55,8" O; 873 m de altitude). O clima da região é do tipo

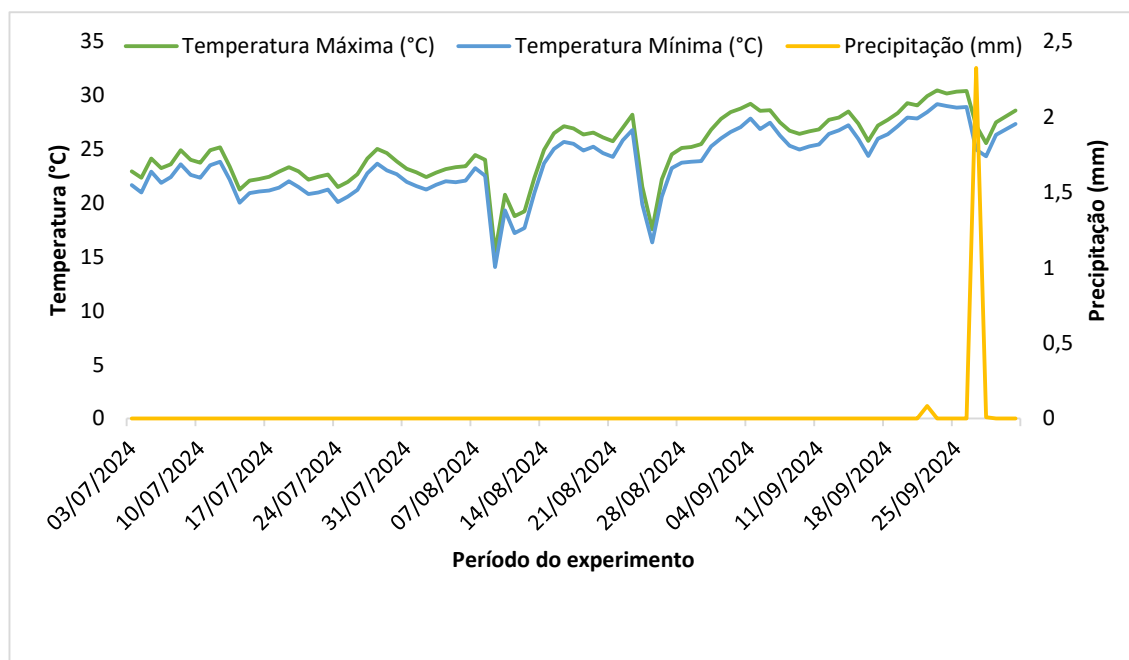
Aw-tropical, caracterizado por verão quente e úmido e inverno frio e seco, segundo classificação de Köppen (1948). As temperaturas máximas e mínimas e precipitação foram monitoradas durante o período de desenvolvimento dos experimentos 1 e 2 (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - Condições climáticas (temperatura mínima, temperatura máxima e precipitação) nos meses de dezembro/2023 a março/2024 - período de realização do experimento 1 – verão.



Fonte: o autor.

Figura 2 - Condições climáticas (temperatura mínima, temperatura máxima e precipitação) nos meses de julho/2024 a outubro/2024 - período de realização do experimento 2 – inverno.



Fonte: o autor.

Os genótipos utilizados no estudo fazem parte do Programa de Melhoramento Genético de Alface Biofortificada e Tropicalizada da UFU cadastradas no software BG α BIOFORT. Foram desenvolvidas e avaliadas 11 populações F₂ provenientes de híbridos simples e quatro populações F₂ de híbridos duplos pertencentes ao BG α BIOFORT. Como testemunhas foram utilizadas as cultivares comerciais Uberlândia 10.000, Belíssima (Pira 72) e Grand Rapids, totalizando 18 tratamentos.

As linhagens parentais utilizadas na obtenção dos híbridos simples foram desenvolvidas após hibridação entre as cultivares Belíssima (Pira 72) *versus* Uberlândia 10.000, seguido de oito sucessivas autofecundações realizadas entre 2013 a 2020. O método de melhoramento utilizado para a obtenção das linhagens foi o genealógico (Maciel *et al.*, 2019; Maciel *et al.*, 2020; Sousa *et al.*, 2021; Clemente *et al.*, 2021; Clemente *et al.*, 2023; Ribeiro *et al.*, 2023).

Os híbridos simples resultaram do cruzamento de linhagens que foram semeadas 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 coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioletas. Trinta dias após a semeadura (DAS) foi realizado o

transplântio das mudas das linhagens para vasos de cinco litros, preenchidos com o mesmo substrato da sementeira, mantidos em casa de vegetação. Ao atingir o estágio fenológico de pleno florescimento foram iniciadas as hibridações. Os botões florais das plantas de cada genitor feminino foram emasculados pela manhã de acordo com a técnica de despolinização e, posteriormente realizadas as hibridações (Nagai, 1980). As sementes da geração F₁ (híbridos simples) foram colhidas, beneficiadas e armazenadas a 18°C em câmara fria (Tabela 1).

Tabela 1 - Descrição dos híbridos simples e duplos de alfaces biofortificadas.

ID	Híbridos simples	ID	Híbridos duplos
S1	UFU189#2#2#1 X UFUMCBiofort 2	D1	(UFU66#4#2 x UFUBiofort189E43) X (UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2)
S2	UFU189#2#2#1 X UFU206#1#3#1		
S3	UFU215#2#2 X UFU189#2#2#1		
S4	UFU66#4#2 X UFUMCBiofort 2	D2	(UFUMCBiofort 2 x UFU75#2#2#1) X (UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1)
S5	UFUMCBiofort 2 X UFU75#2#2#1		
S6	UFUBiofort189E43 X UFU75#2#2#1		
S7	UFU206#1#3#1 X UFU189#2#2#1	D3	(UFU206#1#3#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2)
S8	UFU206#1#3#1 X UFUMCBiofort 2		
S9	UFU206#1#3#1 X UFU75#2#2#1		
S10	UFU75#2#2#1 X UFU215#2#2	D4	(UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1)
S11	UFU75#2#2#1 X UFU206#1#3#1		

Fonte: o autor.

Os híbridos duplos foram obtidos a partir do cruzamento de híbridos simples (Tabela 1), seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente, em casa de vegetação. Posteriormente, as sementes da geração F₁ dos híbridos duplos foram colhidas, beneficiadas e armazenadas a 18°C. De posse das sementes dos híbridos simples e híbridos duplos foram obtidas as respectivas populações F₂ por meio de autofecundação das plantas.

A sementeira das populações F₂ dos híbridos simples, híbridos duplos e das cultivares comerciais Uberlândia 10.000, Belíssima (Pira 72) e Grand Rapids ocorreu em

dois períodos. No experimento 1 (verão) o semeio foi realizado em 17/12/2023 e no experimento 2 (inverno) em 03/07/2024, em bandejas 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, coberta com filme aditivado contra raios ultravioletas. Trinta e cinco DAS foi realizado o transplântio das mudas para o campo. O solo foi previamente preparado com gradagem e subsolador. Em seguida, foram construídos canteiros de 1,3 metros a partir de um rotoencanteirador. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distrófico e apresentou as seguintes características na camada de 0 – 20 cm: textura argilosa 86 (> 50%); pH em CaCl₂ = 4,9; Ca = 3,3 cmolc dm⁻³; Mg = 1,3 cmolc dm⁻³; H + Al = 4,9 cmolc dm⁻³; SB = 4,9 cmolc dm⁻³; MO = 3,9 dag kg⁻¹; P(rem) = 7,91 mg dm⁻³; K = 0,29 cmolc dm⁻³, CTC = 9,8 cmolc dm⁻³; e V% = 50.

Cada parcela dos experimentos 1 e 2 foi composta por cinquenta plantas, arranjadas em duas linhas centrais por canteiro, com espaçamento de 0,25 x 0,25 metros. Foram avaliadas as dez plantas centrais da parcela. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com três repetições totalizando 51 parcelas e 2.550 plantas para cada experimento. O cultivo foi realizado conforme recomendado para a cultura da alface (Filgueira, 2013) e utilizada irrigação por gotejamento com vazão de 1,6 L·min⁻¹.

Decorridos 45 dias após o transplântio (DAT), realizou-se a colheita e a quantificação dos teores de Clorofila a (CloA), Clorofila b (CloB), Clorofila Total (CloT) e carotenoides (Carot) e antocianina (ANT). Para a extração de ANT adicionou-se a 0,5 g de tecido vegetal uma solução composta por etanol 95% e ácido clorídrico 1,5 mol (85:15). Já para CloA, CloB, CloT e Carot adicionou-se uma solução de éter de petróleo e acetona (1:1). Após 24 horas de reação em ausência de luz, realizou-se a leitura da absorbância dos extratos sobrenadantes no Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA), nos comprimentos de 645, 652 e 663nm para ChlA, ChlB e ChlTotal; 470 nm para Carot e 535 nm para ANT. A partir das absorbâncias foram calculados os teores de pigmentos foliares (mg.100g⁻¹ de tecido fresco) (Francis, 1982; Witham *et al.*, 1971).

A análise multivariada foi realizada com o objetivo de caracterizar a dissimilaridade entre as populações F₂ de híbridos simples e duplos e as cultivares comerciais a partir do dendrograma utilizando o método de agrupamento Ward.D2. Trata-se de um agrupamento hierárquico que utiliza o aumento da distância euclidiana ao quadrado (variância) como medida de proximidade, para a fusão de grupos. Este método

minimiza a variância total dentro do grupo a cada passo, produzindo grupos compactos e tipicamente esféricos. Para a análise foi utilizado o software R versão 4.4.0.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk (Shapiro e Wilk, 1965), ao teste de Levene para homogeneidade de variância (Fox e Weisberg, 2019) e transformados para raiz quadrática para se aproximarem da normalidade estatística.

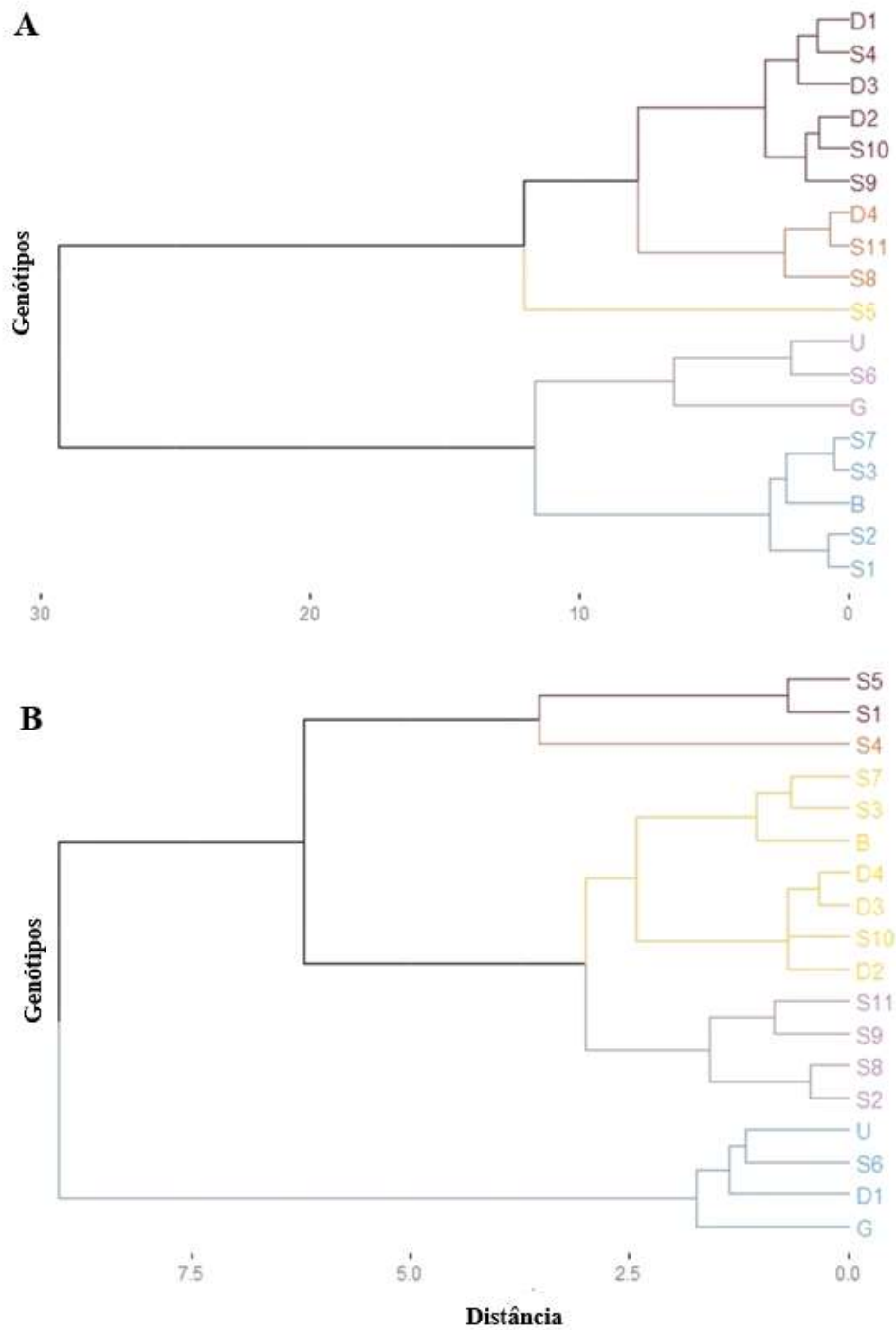
Baseado na busca da biofortificação de alface, as populações foram selecionados para um ideótipo com altos teores de bioativos. O índice MGIDI foi utilizado para selecionar genótipos com valores máximos (ganhos positivos) para clorofila, carotenoides e antocianina, adotando-se valores máximos e mínimos de 100 e 0, respectivamente, após reprogramação para obtenção de ganhos positivos, conforme proposto por Olivoto; Nardino (2021). As análises estatísticas e gráficos foram realizados o software R, versão 4.4.3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dissimilaridade genética entre os genótipos avaliados na estação de verão, representada pelo dendrograma, resultou na formação de cinco grupos (Figura 3A). A definição dos grupos foi definida a partir de uma linha de corte estabelecida onde ocorrem mudanças abruptas nos níveis do dendrograma (Cruz; Carneiro; Regazzi, 2014).

Figura 3 - Dendrograma euclidiano com método de agrupamento Ward.D2 das populações F₂ dos híbridos simples e duplos de alfaces biofortificadas quanto a Clorofila a, Clorofila b, Clorofila Total, carotenoides e antocianina. (A) Experimento 1 – verão; (B) Experimento 2 – inverno. Os grupos foram separados por cores. S1: UFU189#2#2#1 X UFUBiofort189E43; S2: UFU189#2#2#1 X UFU206#1#3#1, S3: UFU215#2#2 X UFU189#2#2#1; S4: UFU66#4#2 X UFUMCBiofort 2; S5: UFUMCBiofort 2 X UFU75#2#2#1; S6: UFUBiofort189E43 X UFU75#2#2#1; S7: UFU206#1#3#1 X UFU189#2#2#1; S8: UFU206#1#3#1 X UFUMCBiofort 2; S9: UFU206#1#3#1 X UFU75#2#2#1; S10: UFU75#2#2#1 X UFU215#2#2; S11: UFU75#2#2#1 X UFU206#1#3#1; D1: (UFU - 66#4#2 x UFUBiofort189E43) X (UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2); D2: (UFUMCBiofort 2 x UFU75#2#2#1) X (UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1); D3: (UFU206#1#3#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU75#2#2#1 x

UFUMCBiofort 2); D4: (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1); U: cv. Uberlândia 10.000; B: cv. Belíssima (Pira 72) e G: cv. Grand Rapids.



Fonte: o autor.

O grupo I foi formado por seis populações F₂, sendo três populações de híbridos simples (S4, S10 e S9) e três populações de híbridos duplos (D1, D3 e D2). Neste grupo foram inseridos 75% das populações provenientes de híbridos duplos. O grupo II foi formado por três populações, sendo uma proveniente de híbrido duplo (D4) e duas provenientes de híbridos simples (S11 e S8). O Grupo III foi formado apenas pela população proveniente do híbrido simples S5. O grupo IV foi composto por três populações, sendo uma população de híbrido simples (S6) e as cultivares comerciais Uberlândia 10.000 e Grand Rapids (testemunhas). Por fim, o grupo V foi formado por cinco populações, sendo quatro provenientes de híbridos simples (S7, S3, S2 e S1) e a cultivar comercial Belíssima (testemunha).

O dendrograma confirma a variabilidade genética entre as populações de híbridos e as testemunhas comerciais. As populações que mais se distanciaram das cultivares comerciais foram as dos grupos I, II e III, com destaque para a população F₂ do híbrido duplo D1. As distâncias evidenciaram a variabilidade entre as populações dos híbridos e as testemunhas comerciais.

Nenhumas das populações dos híbridos duplos foram agrupadas com as cultivares comerciais. As cultivares Uberlândia 10.000 e Belíssima foram os parentais iniciais que deram origem as linhagens utilizadas na obtenção dos híbridos. Os resultados confirmam a eficiência das hibridações ao gerar variabilidade entre os genótipos.

O dendrograma do experimento 2 – inverno, apresentou diferentes agrupamentos dos genótipos (Figura 3B). Também foi observada a formação de cinco grupos, estabelecido com uma linha de corte onde ocorrem mudanças abruptas nos níveis do dendrograma (Cruz; Carneiro; Regazzi, 2014). No entanto, as composições dos grupos foram diferentes.

O grupo I foi formado por duas populações F₂ de híbridos simples (S5 e S1). O grupo II foi formado apenas pela população do híbrido simples S4. O Grupo III foi formado por seis populações (S3, S7, S10, D2, D3 e D4) e a cultivar comercial Belíssima. Novamente, as populações dos híbridos duplos (D4 e D3) foram agrupadas em um mesmo grupo. O grupo IV foi formado por quatro populações provenientes de híbridos simples (S2, S8, S9 e S11). Já o grupo V foi composto por duas populações (S6 e D1) e as cultivares comerciais Uberlândia 10.000 e Grand Rapids (testemunhas). Novamente foi observado uma similaridade da população S6 com Uberlândia 10.000 e Grand Rapids.

No experimento 1 - verão, a população do híbrido duplo D1 havia sido a população mais distante das cultivares comerciais. No experimento 2 – inverno, a população D1 foi em conjunto com S6, as populações que mais se assemelharam as cultivares comerciais.

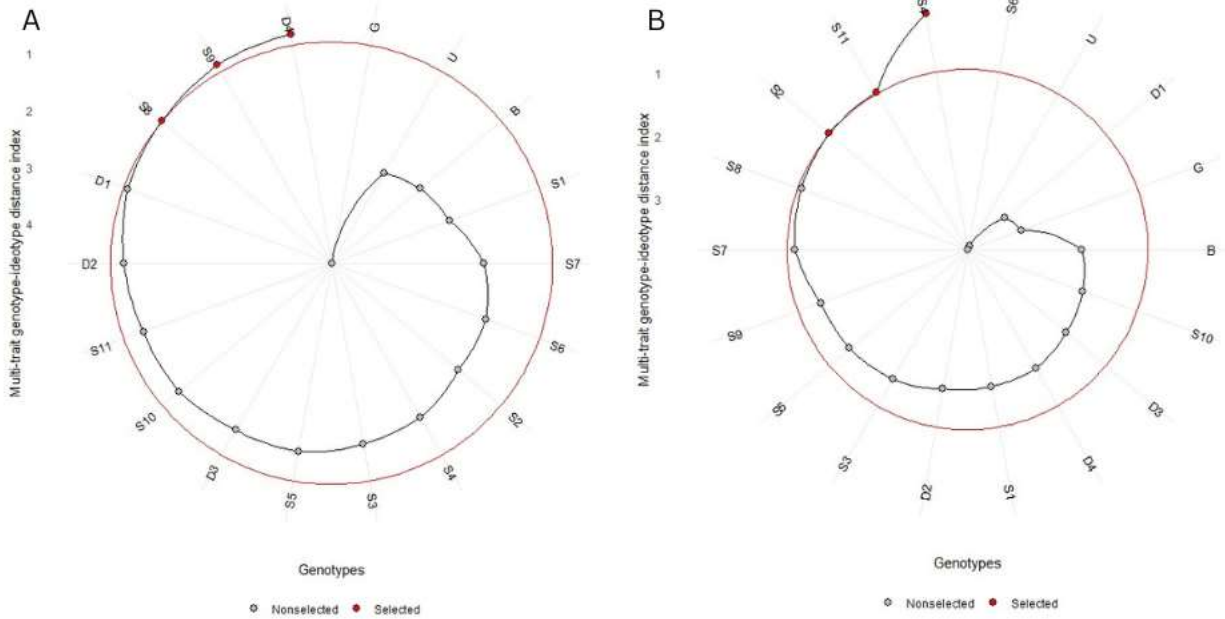
O método Ward é o método mais indicado para avaliar dados de alta dispersão, como é o caso do presente estudo que buscou analisar populações F₂, etapa de maior variabilidade genética em um programa de melhoramento (Xinyi, 2022). O dendrograma fornecido pelo método é informativo e sugere clusters bem distribuídos (Gere, 2023).

Os resultados demonstram uma diferença no padrão de agrupamento dos genótipos entre os experimentos de verão e inverno, provavelmente ocasionado pela influência ambiental sobre a expressão dos bioativos pelas plantas. Os pigmentos vegetais desempenham papéis essenciais na fotossíntese, capturando a luz solar, regulando o metabolismo, auxiliando na defesa da planta, contribuindo para o crescimento e protegendo contra danos foto-oxidativos (Ghosh *et al.*, 2021). A biossíntese destes pigmentos, em especial a antocianina, é fortemente afetada pela intensidade da luz (Zhang *et al.*, 2018). Como resultado, o rendimento das plantas é significativamente prejudicado pelo estresse, causado principalmente por fatores ambientais (Jarin *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2023). Esses estresses podem alterar as taxas de crescimento e o desenvolvimento em níveis agrônômicos, fisiológicos e bioquímicos (Zafar *et al.*, 2024) interferindo na absorção e no transporte de compostos, levando a deficiências nutricionais nas plantas (Tariq *et al.*, 2023).

A utilização do índice de seleção de MGIDI para avaliar a expressão de CloA, CloB, CloT, Carot e ANT nas populações F₂ de híbridos no experimento 1 – verão, permitiu selecionar as populações S8 e S9, provenientes de híbrido simples e D4, provenientes dos híbridos duplos (Figura 4A).

Figura 4 - Seleção de populações dos híbridos simples e duplos de alfaces biofortificadas pelo método de distância multitraço genótipo-ideótipo (MGIDI) quanto a Clorofila a, Clorofila b, Clorofila Total, Carotenoides e Antocianina. (A) Experimento 1 – verão. (B) Experimento 2 – inverno. S1: UFU189#2#2#1 X UFUBiofort189E43; S2: UFU189#2#2#1 X UFU206#1#3#1, S3: UFU215#2#2 X UFU189#2#2#1; S4: UFU66#4#2 X UFUMCBiofort 2; S5: UFUMCBiofort 2 X UFU75#2#2#1; S6: UFUBiofort189E43 X UFU75#2#2#1; S7: UFU206#1#3#1 X UFU189#2#2#1; S8: UFU206#1#3#1 X UFUMCBiofort 2; S9: UFU206#1#3#1 X UFU75#2#2#1; S10:

UFU75#2#2#1 X UFU215#2#2; S11: UFU75#2#2#1 X UFU206#1#3#1; D1: (UFU - 66#4#2 x UFUBiofort189E43) X (UFU75#2#2#1 x UFU215#2#2); D2: (UFUMCBiofort 2 x UFU75#2#2#1) X (UFU75#2#2#1 x UFU206#1#3#1); D3: (UFU206#1#3#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2); D4: (UFU75#2#2#1 x UFUMCBiofort 2) X (UFU206#1#3#1 x UFU75#2#2#1); U: cv. Uberlândia 10.000; B: cv. Belíssima (Pira 72) e G: cv. Grand Rapids.



Fonte: o autor.

As cv. Grand Rapids, Uberlândia 10000 e Belíssima foram os genótipos que apresentaram os menores valores de seleção em relação populações F₂ dos híbridos simples e duplos no experimento 1 – verão. A hibridação entre híbridos simples para formar os híbridos duplos tem potencial para incrementar o teor de bioativos, possibilitando o desenvolvimento de populações potenciais para o desenvolvimento de linhagens de alface biofortificadas para clorofila, carotenoides e antocianina adaptadas ao clima de verão.

As populações selecionadas para verão (Figura 4A) possuem como parentais de seus cruzamentos as linhagens de alface biofortificadas UFU206#1#3#1, UFUMCBiofort

2 e UFU-75#2#2#1. Estas linhagens apresentaram destaque para biofortificação para clorofilas, carotenoides e antocianina nos estudos de Clemente *et al.* (2021).

Para o experimento 2 – inverno, o índice de seleção MGIDI selecionou as populações S2, S4 e S11, provenientes de híbridos simples (Figura 4B), que possuem como parentais as mesmas linhagens já destacadas para o experimento 1 - verão (UFU206#1#3#1, UFUMCBiofort 2 e UFU-75#2#2#1). A população S11, resultado da hibridação entre as linhagens UFU-206#1#3#1 X UFU-75#2#2#1, tem os mesmos parentais da população S9 (selecionada para verão), com alternância entre os genitores masculinos e femininos. Dessa forma, pode-se inferir que cruzamentos entre estas linhagens podem desenvolver genótipos superiores para biofortificação.

O MGIDI tem sido aplicado com sucesso em vários estudos que visam melhorar o desempenho, a qualidade e a adaptabilidade em programas melhoramento de plantas. Tem sido utilizado em diversas culturas, como inhame-do-mato, inhame-d'água, cevada, mandioca, pepino, lentilha, milho, arroz, feijão-de-arroz, soja, trigo, grão-de-bico, feno-grego, feijão-preto, quinoa, sorgo, aveia-preta, gergelim, feijão-verde e berinjela. A maioria dos estudos se concentrou na seleção de genótipos baseado em características agronômicas. No entanto, poucos estudos têm avaliado características de qualidade nutricional (Debnath *et al.*, 2024), como objetivou o presente trabalho.

A análise de agrupamento do experimento 2 - inverno (Figura 3B) demonstraram que as populações F₂ dos híbridos simples S2 e S11 foram agrupados em um único grupo. As mesmas populações foram selecionadas por meio do índice MGIDI no experimento 2 – inverno (Figura 4B). Os resultados sugerem que as metodologias de análises multivariadas foram eficientes em selecionar populações potenciais para biofortificação.

4 CONCLUSÃO

O dendrograma confirma a variabilidade genética entre as populações de híbridos e as testemunhas comerciais. A utilização do índice de seleção MGIDI para avaliar a expressão de clorofila, carotenoide e antocianina nas populações F₂ de híbridos no experimento 1 – verão, possibilitou a seleção das populações S8, S9 e D4. Para o experimento 2 – inverno, o índice de seleção MGIDI possibilitou a seleção das populações S2, S4 e S11. Estas populações poderão contribuir para o desenvolvimento de linhagens com elevado valor nutricional.

REFERÊNCIAS

- BESTER, Adriano Udich *et al.* Genetic contributions to productivity and nutritional aspects in cassava crops. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, [s.l.], v. 16, n. 2, 2022. DOI: <https://doi.org/10.17584/rcch.2022v16i2.14090>. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S2011-21732022000200013&script=sci_abstract. Acesso em: 12 set. 2025.
- BENDOKAS, Vidmantas *et al.* Anthocyanins: From plant pigments to health benefits at mitochondrial level. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s.l.], v. 60, n. 19, p. 3352-3365, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1687421>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31718251/>. Acesso em: 12 set. 2025.
- BRAGA, Anna Rafaela Cavalcante *et al.* Bioavailability of anthocyanins: Gaps in knowledge, challenges and future research. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l.], v. 68, p. 31-40, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.031>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157517301850>. Acesso em: 12 set. 2025.
- CÉRON-ROJAS, J. Jesus; CROSSA, José. **Linear Selection Indices in Modern Plant Breeding**. Springer Nature, 2018, 256 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-91223-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-91223-3>. Acesso em: 12 set. 2025.
- CLEMENTE, Andressa Alves *et al.* High-throughput phenotyping to detect anthocyanins, chlorophylls, and carotenoids in red lettuce germplasm. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, [s.l.], v. 103, p. 102533, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2021.102533>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303243421002403>. Acesso em: 12 set. 2025.
- CLEMENTE, Andressa Alves *et al.* Nutritional characterization based on vegetation indices to detect anthocyanins, carotenoids, and chlorophylls in mini-lettuce. **Agronomy**, [s.l.], v. 13, n. 5, p. 1403, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy13051403>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/13/5/1403>. Acesso em: 12 set. 2025.
- CRUZ, Cosme Damião; CARNEIRO, Pedro Crescênio Souza; REGAZZI, Adair José. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3. ed. Viçosa: Ed. da UFV, 2014. v. 2, 668 p.
- CRUPI, Pasquale *et al.* Overview of the potential beneficial effects of carotenoids on consumer health and well-being. **Antioxidants**, [s.l.], v. 12, n. 5, p. 1069, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12051069>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/5/1069>. Acesso em: 12 set. 2025.

DARQUI, Flavia Soledad *et al.* Peculiarities of the transformation of Asteraceae family species: the cases of sunflower and lettuce. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 12, p. 767459, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.767459>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2021.767459/full>. Acesso em: 12 set. 2025.

DEBNATH, Pinki *et al.* A novel multi trait genotype ideotype distance index (MGIDI) for genotype selection in plant breeding: Application, prospects, and limitations. **Crop Design**, [s.l.], v. 3, n. 4, p. 100074, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropd.2024.100074>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772899424000235>. Acesso em: 12 set. 2025.

FILGUEIRA, Fernando Antônio Reis. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. rev. ampl. Viçosa: UFV. 2013.

FRANCIS, Joseph Frederick. Analysis of anthocyanins in foods. *In*: Markakis, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. cap. 9, p. 181-207. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50011-1>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/227918544_Anthocyanins_as_food_colorants_-_A_review. Acesso em: 12 set. 2025.

FU, Yong-Bi. Understanding crop genetic diversity under modern plant breeding. **Theoretical and Applied Genetics**, [s.l.], v. 128, n. 11, p. 2131-2142, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2585-y>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26246331/>. Acesso em: 12 set. 2025.

GEBREYOHANNES, Adane *et al.* Finger millet (Eleusine coracana) improvement: Challenges and prospects—A review. **Plant Breeding**, [s.l.], v. 143, n. 3, p. 350-374, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbr.13169>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbr.13169>. Acesso em: 12 set. 2025.

GERE, Attila. Recommendations for validating hierarchical clustering in consumer sensory projects. **Current Research in Food Science**, [s.l.], v. 6, p. 100522, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100522>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2665927123000904>. Acesso em: 12 set. 2025.

GONÇALVES, Ana C. *et al.* Dietary effects of anthocyanins in human health: A comprehensive review. **Pharmaceuticals**, [s.l.], v. 14, n. 7, p. 690, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14070690>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8308553/>. Acesso em: 12 set. 2025.

GHOSH, Susmita *et al.* Micro and nanoencapsulation of natural colors: A holistic view. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s.l.], v. 193, n. 11, p. 3787-3811, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03631-8>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34312787/>. Acesso em: 12 set. 2025.

HAYASHI, Eri *et al.* Phenotypic analysis of germination time of individual seeds affected by microenvironment and management factors for cohort research in plant factory. **Agronomy**, [s.l.], v. 10, n. 11, p. 1680, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy10111680>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/11/1680>. Acesso em: 12 set. 2025.

JARIN, Aysha Siddika *et al.* Drought stress tolerance in rice: physiological and biochemical insights. **International Journal of Plant Biology**, [s.l.], v. 15, n. 3, p. 692-718, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijpb15030051>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2037-0164/15/3/51>. Acesso em: 12 set. 2025.

KIM, Moo Jung *et al.* Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l.], v. 49, p. 19-34, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157516300230>. Acesso em: 12 set. 2025.

LOPES, Daniela de Carvalho *et al.* Spectral indices for non-destructive determination of lettuce pigments. **Food Analytical Methods**, [s.l.], v. 10, n. 8, p. 2807-2814, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0853-y>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-017-0853-y>. Acesso em: 12 set. 2025.

LORO, Murilo Vieira *et al.* Wheat grain biofortification for essential amino acids. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 58, p. e02860, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2023.v58.02860>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/86gpgFNt3ggkFJdkqtSVZ6w/?format=html&lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

MACIEL, Gabriel Mascarenhas *et al.* Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, [s.l.], v. 81, p. 154-160, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2019.05.016>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030324341930008X>. Acesso em: 12 set. 2025.

MACIEL, Gabriel Mascarenhas *et al.* Image phenotyping of lettuce germplasm with genetically diverse carotenoid levels. **Bragantia**, [s.l.], v. 79, p. 224-235, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190519>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/brag/a/m8PN3sfYmtmwDwtD3pdZmqj/?lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

MAZEWSKI, Candice; KIM, Morgan Sanha; GONZALEZ DE MEJIA, Elvira. Anthocyanins, delphinidin-3-O-glucoside and cyanidin-3-O-glucoside, inhibit immune checkpoints in human colorectal cancer cells in vitro and in silico. **Scientific reports**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 11560, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47903-0>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-47903-0>. Acesso em: 12 set. 2025.

NAGAI, Helio. Obtenção de novos cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistentes ao mosaico e ao calor. I-Brasil 48, 202 e 221. **Revista de Olericultura**, [s.l.], v. 17, p. 129-137, 1979. Disponível em: http://www.cpatsa.embrapa.br/public_eletronica/downloads/OPB1004.pdf. Acesso em: 12 set. 2025.

OLIVEIRA, Alisson Henrique Gama de *et al.* Dynamics of heritability in different characters of lettuce. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 34, n. 3, p. 514-526, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252021v34n303rc>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcaat/a/r5FJtxpHDbzdVHpWYYtGDJk/?format=html&lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

OLIVOTO, Tiago; NARDINO, Maicon. MGIDI: Toward an effective multivariate selection in biological experiments. **Bioinformatics**, [s.l.], v. 37, n. 10, p. 1383-1389, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa981>. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/37/10/1383/5998663>. Acesso em: 12 set. 2025.

PEIXOTO, Joicy Vitória Miranda *et al.* Comparison between non-parametric indexes in the selection of biofortified curly lettuce. **Comunicata Scientiae**, [s.l.], v. 11, p. e3351-e3351, 2020. DOI: <https://doi.org/10.14295/cs.v11i.3351>. Disponível em: <https://www.comunicatascientiae.com.br/comunicata/article/view/3351>. Acesso em: 12 set. 2025.

PEIXOTO, Joicy Vitória Miranda *et al.* Genetic parameters and selection indexes for biofortified red leaf lettuce. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 56, p. e02431, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2021.v56.02431>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/ph4CZhBpwGDftZtCTmNYF7j/?lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

PITRAT, Michel. Vegetable crops in the Mediterranean Basin with an overview of virus resistance. **Advances in Virus Research**, [s.l.], v. 84, p. 1-29, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394314-9.00001-4>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22682164/>. Acesso em: 12 set. 2025.

RIBEIRO, Ana Luisa Alves *et al.* Vegetation indices for predicting the growth and harvest rate of lettuce. **Agriculture**, [s.l.], v. 13, n. 5, p. 1091, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13051091>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0472/13/5/1091>. Acesso em: 12 set. 2025.

SANCHES, Alessandro Aguilar *et al.* Selection of lettuce hybrids to generate productive carotenoid-biofortified populations. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 29, p. e278163, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v29n4e278163>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/KJgTKrKDtj8pRL6cvdfRPhM/?format=html&lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

SOUSA, Luciana Alves de *et al.* Genetic parameters and selection of biofortified lettuce genotypes based on selection indices. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e**

Ambiental, [s.l.], v. 25, n. 11, p. 772-778, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n11p772-778>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/X7DqqsMCXCM6sJyJfZcqt/?lang=en>. Acesso em: 12 set. 2025.

SUTHAR, Kirankumar P. *et al.* Genetic diversity analysis in Finger millet through RAPD and ISSR marker. **Ecological Genetics and Genomics**, p. 100350, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.egg.2025.100350>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2405985425000291>. Acesso em: 12 set. 2025.

TARIQ, Akash *et al.* Regulation of metabolites by nutrients in plants. **Plant ionomics: sensing, signaling, and regulation**, p. 1-18, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119803041.ch1>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119803041.ch1>. Acesso em: 12 set. 2025.

XINYI, Chen. Comparison between Complete and Ward's Linkage Method in Hierarchical Clustering Analysis on Cancer Omics Dataset. *In: 2022 10th International Conference on Bioinformatics and Computational Biology (ICBCB)*. IEEE, 2022. p. 73-77. DOI: <https://doi.org/10.1109/ICBCB55259.2022.9802487>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/361497139_Comparison_between_Complete_and_Ward's_Linkage_Method_in_Hierarchical_Clustering_Analysis_on_Cancer_Omics_Dataset. Acesso em: 12 set. 2025.

WITHAM, Francis Hubbard; BLAYDES, David Fairchild; DEVLIN, Robert Michael. **Experiments in plant physiology**. New York: Van Nostrand Reinhold Co. 1971.

ZAFAR, Sadia *et al.* Insights into trehalose mediated physiological and biochemical mechanisms in *Zea mays* L. under chromium stress. **BMC Plant Biology**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 783, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05514-6>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39152388/>. Acesso em: 12 set. 2025.

ZHAO, Yue *et al.* YOMASK: An instance segmentation method for high-throughput phenotypic platform lettuce images. **Computers and Electronics in Agriculture**, [s.l.], v. 230, p. 109868, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2024.109868>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168169924012596>. Acesso em: 12 set. 2025.

ZHANG, Yanzhao *et al.* Transcriptome profiling of anthocyanin-related genes reveals effects of light intensity on anthocyanin biosynthesis in red leaf lettuce. **PeerJ**, [s.l.], v. 6, p. e4607, 2018. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.4607>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29666761/>. Acesso em: 12 set. 2025.

ZHANG, Pan; LI, Daoliang. Automatic counting of lettuce using an improved YOLOv5s with multiple lightweight strategies. **Expert Systems with Applications**, [s.l.], v. 226, p. 120220, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2023.120220>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0957417423007224>. Acesso em: 12 set. 2025.

ZHANG, Haiyang *et al.* Evolutionary analysis of respiratory burst oxidase homolog (RBOH) genes in plants and characterization of ZmRBOHs. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 24, n. 4, p. 3858, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24043858>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/3858>. Acesso em: 12 set. 2025.