



NATÁLIA SOUZA OLIVEIRA

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM ALFACE PARA
AGRICULTURA ORGÂNICA**

**LAVRAS - MG
2018**

NATÁLIA SOUZA OLIVEIRA

VARIABILIDADE GENÉTICA EM ALFACE PARA AGRICULTURA ORGÂNICA

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes
Orientador

LAVRAS - MG
2018

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Oliveira, Natália Souza.

Variabilidade genética em alface para agricultura orgânica /
Natália Souza Oliveira. - 2017.

49 p. : il.

Orientador(a): Luiz Antônio Augusto Gomes.

.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017.
Bibliografia.

1. Hortaliças. 2. Agricultura orgânica. 3. Melhoramento
participativo. I. Gomes, Luiz Antônio Augusto. . II. Título.

NATÁLIA SOUZA OLIVEIRA

VARIABILIDADE GENÉTICA EM ALFACE PARA AGRICULTURA ORGÂNICA
GENETIC VARIABILITY IN LETTUCE AIMING AT ORGANIC AGRICULTURE

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 28 de novembro de 2017.

Dr. Marcos de Souza Gomes	UFU
Dr. Ernani Clarete da Silva	UFSJ
Dr. Rovilson José de Souza	UFLA
Dr. Valter Carvalho de Andrade Júnior	UFLA

Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes
Orientador

LAVRAS - MG
2018

A Deus pela dádiva da vida e por me dar forças para seguir em frente.

À minha mãe Alba e à minha irmã Izadora por serem
minha base nos momentos em que mais preciso.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo e ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

À UFLA e, principalmente, ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de adquirir novos conhecimentos.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação, pelo incentivo e pelos ensinamentos.

Ao meu orientador Luiz Antônio pelos conhecimentos transmitidos e por ser um exemplo de dedicação, de humildade e de profissionalismo.

Ao professor Marcos pela ajuda com as análises estatísticas.

À minha família pelo apoio em todas as etapas da minha vida.

Aos amigos, que mesmo distantes, sempre me incentivaram a seguir meus sonhos.

Às amigas de república e de Lavras Danuza Araújo, Agda Prado, Letícia Cibele, Josi Félix, Érika Soares, Ana Luísa Rodrigues, Kênia Santos, Ana Luiza Vilela, Jéssica Sanches, Bruna Sayuri, Nayara Mendes, Mara Jane, Daniele Oliveira, Miryan Pires, Samira Librelon e Nayara Norrene pelos momentos de descontração e por tornaram essa jornada mais fácil e mais leve.

Ao grupo de Melhoramento de Hortaliças Cleiton Oliveira, Daniela Santos, Daniele Oliveira, Deborah Abreu, Ines Proença, Luciana Cassetari, Márcia Oliveira, Sylmara Silva, André Alvarenga, Gabriel Lasmar, Giuliana Duarte, Pedro Henrique, Raisla Mendes, Rene Medeiros e Vitor Mesquita pelo companheirismo e pela ajuda nos diversos experimentos.

Sou grata a todos que fizeram parte desta caminhada e que de alguma forma me ajudaram chegar até aqui.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O aspecto visual da alface é de fundamental importância para a aceitação dessa hortaliça pelos consumidores. Na agricultura orgânica, cada produtor, de acordo com o seu mercado, apresenta suas preferências por determinados tipos de alface. Entretanto não há disponibilidade de sementes orgânicas de alface nem de cultivares adaptadas a esse sistema de cultivo. A análise multivariada de caracteres de importância, para o melhoramento de alface, pode ser útil para verificar a variabilidade genética de plantas de alface e auxiliar na seleção de plantas com caracteres de interesse. Objetivou-se com este trabalho estudar a variabilidade genética de plantas de alface, para o sistema orgânico, utilizando as análises dos componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos. Posteriormente, foram adicionados, nas análises, dados fictícios de plantas com fenótipos de interesse para verificar graficamente a distribuição das progênies e desses fenótipos, auxiliando na seleção de progênies com os fenótipos desejados. Além dos genitores, as cultivares Colorado e Salinas 88 foram utilizadas as populações F1, F2 e progênies F2:3 oriundas desse cruzamento. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados com três repetições. As parcelas foram compostas por 12 plantas. Foram avaliados os caracteres: presença de antocianina, coloração, tipo de limbo, tipo de borda e teor de clorofila. Os dois componentes principais explicaram 75,27% da variação dos dados. Os caracteres de maior discriminação dos tratamentos foram teor de clorofila, tipos de limbo e borda. Por meio da análise dos componentes principais, observou-se a separação dos genitores Colorado e Salinas que são contrastantes. A geração F1 se localizou entre os genitores. As progênies F2:3 apresentaram maior variação fenotípica do que a geração F2. A cultivar Colorado se mostrou o genótipo mais divergente. De acordo com a análise dos agrupamentos hierárquicos, houve a formação de 5 grupos e a progênie 31 foi considerada o genótipo mais divergente. As duas metodologias foram até certo ponto similares no agrupamento de alguns genótipos e foi observada variabilidade genética na população F2 e, principalmente, nas progênies F2:3. De forma geral, as análises dos componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos, com a adição de plantas com os padrões comerciais, não foram úteis na seleção de plantas com os fenótipos de interesse, provavelmente, pelo fato de os genótipos terem sido agrupados, principalmente, com base no teor de clorofila. Entretanto a seleção visual de plantas de alface é viável por se tratar de caracteres qualitativos e, além disso, foi observada variabilidade genética nessa população, possibilitando a seleção de plantas com base na coloração e na textura das folhas.

Palavras-chave: Hortaliças. Agricultura orgânica. Melhoramento participativo.

ABSTRACT

The visual aspect of the lettuce is paramount for its acceptance by consumers. In organic agriculture, each farmer has a preference for some types of lettuce based on their market. However, there is no availability of organic seeds of lettuce nor cultivars adapted to this cropping system. The multivariate analysis of important traits for lettuce breeding would be useful to investigate the genetic variability of lettuce plants as well as to support the selection of plants with traits of interest. The present work was conducted in order to study the genetic variability of lettuce plants aiming at the organic cropping by using the principal component analysis and the hierarchical groupings. Thereafter, fictitious data of plants with phenotypes of interest were added to the analyses in order to graphically display both the distribution of progenies and the phenotypes, thus, assisting in the selection of progenies with the desired phenotypes. In addition to the parents – the cultivars Colorado and Salinas 88 –, the F1 and F2 populations along with the F2:F3 progenies from this crossing were used. A completely randomized block design with three replicates was used. The plots consisted of twelve plants. The following traits were evaluated: presence of anthocyanin, coloration, type of limb, type of border, and chlorophyll content. The two major components accounted for 75.27% of the data variation. The highest discrimination traits were chlorophyll content, types of limb, and border. By means of the principal component analysis, it was possible to observe the separation of the parents Colorado and Salinas, which are contrasting. The F1 generation was located between its parents. The F2:3 progenies had higher phenotypic variation than the F2 generation. The cultivar Colorado is the most divergent phenotype. According to the analyses of hierarchical groupings, 5 groups were formed and the progeny 31 was the most divergent genotype. Both methodologies were similar to some extent in the grouping of some genotypes, and there was genetic variability in population F2, mainly, F2:3 progenies. In general, the principal component analysis as well as the hierarchical groupings, added with plants with commercial standards, were not useful in the selection of plants with phenotypes of interest mostly because the genotypes were grouped based on their content of chlorophyll. Nevertheless, the visual selection of lettuce plants is feasible provided they are qualitative traits. Furthermore, there was genetic variability in this population, allowing the selection of plants based on their color and texture of leaves.

Keywords: Vegetables. Organic agriculture. Participatory plant breeding.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escala de notas para os caracteres comerciais: antocianina, coloração das folhas, tipo de limbo e tipo de borda	40
Figura 2 - Amostra de plantas F ₂ do cruzamento entre as cultivares Salinas 88 e Colorado mostrando variabilidade para diferentes características fenotípicas	68
Figura 3 - Visita e avaliação pelos produtores da Ecominas (Pouso Alegre)	69

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Dispersão bidimensional dos dois primeiros componentes principais	43
Gráfico 2 - Dispersão bidimensional dos dois primeiros componentes utilizando 40 tratamentos de alface	44
Gráfico 3 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana	46
Gráfico 4 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo lisa e clara.....	49
Gráfico 5 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo lisa e escura.....	50
Gráfico 6 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição dos fenótipos crespa e clara.....	51
Gráfico 7 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição dos fenótipos crespa e escura	52
Gráfico 8 - Dispersão tridimensional dos três componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição dos fenótipos lisa e clara	54
Gráfico 9 - Dispersão tridimensional dos três componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição dos fenótipos lisa e escura	55
Gráfico 10 - Dispersão tridimensional dos três componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição dos fenótipos crespa e clara	56
Gráfico 11 - Dispersão tridimensional dos três componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição dos fenótipos crespa e escura	57
Gráfico 12 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo lisa e clara	58
Gráfico 13 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo lisa e escura	59
Gráfico 14 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo crespa e clara	60
Gráfico 15 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo crespa e escura	61

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Informações dos fenótipos de plantas de alface de acordo com os principais tipos comerciais de alface 47

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	1
1 INTRODUÇÃO	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 Aspectos gerais da cultura da alface	4
2.2 Importância econômica da alface.....	5
2.3 Importância alimentar da alface	6
2.4 Principais tipos comerciais de alface	7
2.5 Coloração.....	8
2.6 Agricultura orgânica	10
2.7 Melhoramento de alface.....	11
2.8 Análise multivariada	14
SEGUNDA PARTE	20
ARTIGO: VARIABILIDADE GENÉTICA EM ALFACE PARA AGRICULTURA ORGÂNICA UTILIZANDO ANÁLISE MULTIVARIADA	20
1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVO	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Material vegetal	25
3.2 Condução do experimento	25
3.3 Delineamento experimental	26
3.4 Avaliações de caracteres comerciais	27
3.5 Avaliação instrumental do teor de clorofila	28
3.6 Análise multivariada	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5 CONCLUSÕES	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS	52

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O melhoramento de hortaliças no Brasil se desenvolveu de forma mais significativa, a partir da década de 1960, coincidindo com o advento da Revolução Verde e o surgimento de diferentes companhias de sementes. Na cultura da alface, inicialmente, houve uma contribuição expressiva de instituições públicas, tais como o Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), por intermédio dos pesquisadores Dr. Hiroshi Nagai e Cyro Paulino da Costa, respectivamente, passando, em seguida, para um trabalho mais intenso das companhias de sementes.

A partir desse período, até os dias de hoje, diversas cultivares de alface foram desenvolvidas ou introduzidas no Brasil, existindo atualmente 667 cultivares registradas no Registro Nacional de Cultivares – RNC (2017) e 72 cultivares protegidas no Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC (2017) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

As cultivares mais antigas, que provavelmente eram utilizadas pelos agricultores antes da década de 1960, deram lugar às cultivares modernas. É importante salientar que as cultivares modernas foram obtidas, por meio de programas de melhoramento, realizados em sistema convencional de manejo, buscando características que atendessem ao mercado de acordo com esse sistema de cultivo.

Mais recentemente, com o crescimento do interesse pelo cultivo em sistemas alternativos e com o estabelecimento da Lei de Produção Orgânica, lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003) e sua regulamentação, por meio do decreto nº 6.323 de 27 de dezembro de 2007 (BRASIL, 2007), tem aumentado a demanda por sementes orgânicas, as quais, na prática, não estão disponíveis aos agricultores, para suprir o mercado, nem sementes oriundas de cultivares desenvolvidas para o sistema orgânico.

A alface é uma espécie autógama, e suas cultivares são exploradas, comercialmente, na forma de linhagens puras. A variabilidade genética é relativamente pequena dentro dos tipos de alface mais cultivados (crespa, americana, lisa e romana) e entre as cultivares de cada tipo. No entanto, considerando os diferentes tipos de alface, há uma grande variação no que diz respeito a diferentes caracteres.

A coloração das folhas da alface é bastante variável; a coloração vermelha ou roxa se deve à presença de antocianina e a coloração verde se deve à presença de clorofila, que está

diretamente relacionada com os carotenoides, que são pigmentos protetores das clorofilas e precursores da vitamina A. Verifica-se que os pigmentos como as antocianinas e os carotenoides têm importante efeito antioxidante. Além da coloração, os diferentes tipos de alface apresentam variabilidade para os caracteres morfológicos como tipo de borda, tipo de limbo, formação ou não de cabeça, tamanho da planta, espessura e textura das folhas, além de resistência a diferentes patógenos.

Como a agricultura orgânica preza por maior sustentabilidade, bem como maior independência de insumos externos, em especial, aqueles de origem convencional, torna-se de grande importância o desenvolvimento de novas cultivares adaptadas a este sistema de cultivo. Neste contexto, uma possibilidade que surge é a geração de novas cultivares crioulas de alface, a partir da realização de um trabalho de melhoramento genético participativo a ser desenvolvido em parceria com melhoristas, extensionistas, agricultores e suas associações.

O melhoramento participativo visa desenvolver novas cultivares com a participação dos agricultores em algumas ou todas as etapas do programa. É necessário obter e demonstrar, para o agricultor, a variabilidade genética que pode ser gerada a partir do cruzamento entre os genótipos. A seleção é feita em vários ambientes, e os genótipos selecionados serão utilizados nos próximos ciclos de seleção até atingir a uniformidade desejada.

Como a alface apresenta vários tipos comerciais, o agrupamento de plantas de alface com a mesma textura e coloração pode facilitar o gerenciamento do programa de melhoramento, uma vez que é difícil selecionar genótipos com base em muitas informações. A separação de plantas de mesmo tipo comercial permite a eliminação de plantas repetidas ou que não sejam de interesse dos produtores, possibilitando uma redução no número de plantas a serem conduzidas pelo programa.

Assim, o trabalho foi realizado com o objetivo de se obter informações, mediante a utilização da análise multivariada, a respeito da variabilidade genética de plantas de alface oriundas do cruzamento entre duas cultivares contrastantes para coloração das folhas (verde-escuro e roxa) e tipo de planta (americana e crespa), para serem utilizadas em programas de melhoramento genético participativo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da cultura da alface

A alface pertence à família Asteraceae, mesma família de hortaliças de menor participação no mercado como almeirão, catalonha, chicória, endívia, escarola e radicchio (HORTIBRASIL, 2010). Ela é conhecida como a maior família botânica entre as Angiospermas, sendo formada por cerca de 1600 a 1700 gêneros e 24000 a 30000 espécies de plantas com ocorrência em vários continentes (FUNK et al., 2005). Do ponto de vista comercial, a alface é a espécie de maior importância dessa família com 82% do volume comercializado, em 2009, seguida por escarola (11%), almeirão (3%), catalonha (2%), endívia (0,7%), chicória (0,5%) e radicchio (0,5%) (HORTIBRASIL, 2010).

No gênero *Lactuca*, existem mais de 98 espécies selvagens de alface, sendo 17 espécies encontradas na Europa, 51 na Ásia, 43 na África e 12 na América (LEBEDA et al., 2004). O Sudeste da Ásia é o centro de diversidade de algumas espécies selvagens relacionadas à *L. sativa*. As espécies *L. serriola*, *L. aculeata*, *L. scarioloides*, *L. azerbaijanica*, *L. georgica*, *L. dregeana* e *L. altaica* são morfologicamente mais parecidas com *L. sativa* e pertencem ao pool gênico primário da alface. A espécie *L. saligna* pertence ao pool gênico secundário da alface cultivada e a espécie *L. virosa* pertence ao pool gênico terciário (ZOHARY, 1991). A alface cultivada originou-se no Sudeste Asiático entre os rios Tigres e Eufrates. A espécie *L. serriola*, provavelmente, é um ancestral da *L. sativa* ou um dos seus ancestrais (VRIES, 1997). Entre as espécies de alface do gênero *Lactuca*, apenas as espécies *L. sativa*, *L. serriola*, *L. saligna* e *L. virosa* têm importância para o melhoramento genético (NAGAI, 1993).

Assim como a maioria das espécies selvagens de alface, a alface domesticada é uma espécie diploide, com $2n = 18$ cromossomos, apresentando, portanto 9 pares de cromossomos. A taxa de autofecundação é elevada, caracterizando a alface como uma espécie autógama (MOU, 2011). São utilizadas linhagens de alface, em cultivos comerciais, já que é difícil obter muitas sementes em um cruzamento e não há heterose expressiva para produtividade ou outro caráter de importância em híbridos de alface.

O ciclo da alface é considerado curto e a planta pode ser colhida com poucos dias após o transplante. O ciclo de vida se divide em período vegetativo e reprodutivo. Durante o

período vegetativo, ocorre a germinação, formação da roseta ou da cabeça. Nessa fase, o caule apresenta o tamanho diminuto. Na fase reprodutiva, ocorre o pendoamento, florescimento e formação das sementes. A maturação das sementes se dá de 12 a 14 dias após a abertura das flores (RYDER, 1996). A fase reprodutiva é marcada pelo alongamento do caule e início da produção de látex, que torna as folhas impróprias para o consumo pelo sabor amargo.

A alface é uma espécie bastante prolífica, pois produz muitas sementes. Suas inflorescências são do tipo capítulo e contêm cerca de 10 a 25 flores, cujas pétalas são amarelas e dão origem a frutos secos chamados aquênios. Suas sementes apresentam o tamanho reduzido e, em média, 1000 sementes de alface pesam um grama e podem apresentar as cores branca, marrom ou preta.

As folhas da alface são tenras e com formatos variáveis constituindo os diversos tipos comerciais. Elas crescem em forma de espiral em uma densa roseta em um caule diminuto. Alguns genótipos podem formar cabeça. A raiz pivotante possui raízes laterais horizontais grandes e são mais densas próximas à superfície do solo para maior absorção de água e nutrientes (MOU, 2008). Em condições brasileiras, a alface pode ser considerada uma planta anual, que floresce sob dias longos com altas temperaturas e vegeta, preferencialmente, em condições de dia curto e temperaturas amenas (FILGUEIRA, 2008).

2.2 Importância econômica da alface

Estima-se que o mercado mundial de sementes de hortaliças movimentou 4,6 bilhões de dólares no ano de 2014. Mais de 70% da comercialização de sementes de hortaliça se concentra na Ásia e na Europa, pelo tamanho da população da Ásia e pelo emprego de sementes com elevado potencial genético na Europa. As hortaliças tomate, cebola, pimentão, pimenta, pepino e repolho juntas representam 60% do mercado de sementes de hortaliças. A alface é responsável por 3% desse mercado (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS - ABRASEM, 2014).

No ano de 2013, o Brasil produziu 525.602 toneladas de alface. Os Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais foram os maiores produtores de alface com 31, 27 e 7% da produção, respectivamente. No Brasil, a alfavicultura é responsável por 11% da produção total de hortaliças (HORTIBRASIL, 2013) e a área destinada à alface, em 2011, foi de 79.800

ha com uma produtividade média de 16 ton/ha (CAMARGO FILHO; CAMARGO; CAMARGO, 2013).

O consumo da alface crespa predomina com, aproximadamente, 53% de participação do mercado brasileiro, seguido da alface do tipo americana com 34%, alface lisa 11% e, por último, as alfaces roxa, extra frizz e romana (SALA; COSTA, 2012). Nos últimos anos, as empresas produtoras de sementes têm apostado em novas tendências como as alfaces dos tipos mimosa e frisada. Além disso, a principal novidade são as plantas de alface colhidas precocemente que têm sido comercializadas juntamente com outras hortaliças. Esse segmento é conhecido como *baby leaf*.

2.3 Importância alimentar da alface

As hortaliças folhosas são compostas, principalmente, por água. São fontes de vitaminas, minerais, antioxidantes e fibras e fornecem compostos úteis para a realização de uma série de reações orgânicas nos indivíduos. As hortaliças verdes são conhecidas por serem fontes de nutrientes com pró-vitamina A, vitaminas B2, B5, B9, C e K, luteína, ferro, cálcio, magnésio e potássio. Auxiliam no crescimento e manutenção da pele, ossos, cabelo e visão; contribuem para os sistemas digestório, nervoso, imunológico e sexual; reduzem o colesterol e o risco de doenças vasculares (RODRIGUES, 2012).

A alface apresenta baixo valor calórico, possui fibras e importantes nutrientes como vitaminas do complexo B, vitaminas C, E, K, o carotenoide β -caroteno, que é precursor da vitamina A e alguns minerais como cálcio, ferro, potássio, manganês e selênio (USDA-ARS, 2015). Além disso, a alface é de fácil digestão e possui baixo custo. É consumida crua em saladas, sanduíches, hambúrgueres, tacos e muitos outros pratos, ou cozida como na culinária chinesa, em que o caule é tão importante quanto a folha. Por causa do volume consumido, é parte significativa na dieta americana (THE COMPOSITAE GENOME PROJECT - CGP, 2017).

No Brasil, seu consumo é mais restrito, pois é utilizada basicamente no preparo de saladas e sanduíches. Sob o ponto de vista nutricional, a alface não pode ser considerada um alimento rico, quando comparada com outras hortaliças folhosas, mas como seu consumo é elevado, torna-se um alimento importante na dieta de grande número de pessoas.

Os alimentos possuem inúmeras substâncias com potencial antioxidante como vitaminas, compostos fenólicos e minerais. As hortaliças e frutas são alimentos saudáveis e fontes baratas e naturais de antioxidantes, que protegem o organismo da ação danosa dos radicais livres. Os radicais livres, quando produzidos em excesso, podem causar danos celulares. O estresse oxidativo decorre da existência de desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes e está associado a doenças crônicas e degenerativas como câncer, doenças cardíacas e degeneração de neurônios envolvendo o processo de envelhecimento (CANNIATTI-BRAZACA, 2007).

A ação das substâncias antioxidantes é diferente no organismo e varia de acordo com o tipo, quantidade e local em que ocorre determinado radical livre, já que os danos que eles provocam são diferentes. Sua eficiência pode ser reduzida em determinadas situações. Por isso, a importância de dietas variadas e balanceadas, uma vez que as frutas e as hortaliças apresentam composição bem variada (CANNIATTI-BRAZACA, 2007).

2.4 Principais tipos comerciais de alface

A alface apresenta elevada variação fenotípica, que pode ser observada nas cultivares disponíveis no mercado com diferentes caracteres morfológicos. As cultivares de alface produzidas no Brasil atendem a diversos nichos de mercado e podem ser classificadas em vários tipos: lisa, manteiga, crespa, americana, romana, mimosa, frisada, crocante, colorida e *baby leaf*. Suas principais características são:

a) Alface lisa: apresenta folhas com bordas e limbos lisos, suas folhas são macias e não formam cabeça;

b) Alface manteiga: assim como a alface lisa, apresenta folhas com bordas e limbos lisos, entretanto suas folhas são mais tenras, possuem um aspecto oleoso e formam cabeça;

c) Alface crespa: possui limbo e bordas enrugadas, suas folhas são compridas e largas, não forma cabeça e é a alface mais consumida pelos brasileiros;

d) Alface americana: apresenta folhas imbricadas e crocantes que formam cabeça, suas nervuras são salientes, é bastante usada em hambúrgueres por ser resistente ao calor e possui maior vida de prateleira. Suas folhas internas são mais brancas, enquanto as folhas mais externas são mais verdes;

e) Alface romana: possui folhas alongadas e a nervura central pronunciada. Suas folhas formam cabeça, mas não são imbrincadas. Possui pouca participação no mercado, sendo restrita a algumas regiões do país;

f) Alface mimosa: apresenta folhas macias e bastante recortadas;

g) Alface frisada: possui folhas espessas e bastante repicadas. Suas folhas são crocantes e possuem o tamanho reduzido. Apresenta excelente qualidade visual e costuma apresentar o preço mais elevado;

h) Alface crocante: possui bordas crespas ou repicadas, folhas crocantes e grossas;

i) Alface colorida: pode apresentar folhas com diferentes texturas, essa classificação leva em consideração apenas a coloração das suas folhas. Nas cultivares que formam cabeça, apenas as folhas externas são coloridas, já que a síntese de antocianina é regulada pela luz (MOU, 2008);

j) Alface *baby leaf*: possui folhas mais alongadas e mais estreitas. Assim como suas folhas, suas nervuras são mais grossas. É colhida antecipadamente, mas ainda não existem cultivares específicas para essa finalidade no Brasil (SALA; COSTA, 2012).

Essa classificação leva em consideração o aspecto das folhas, a formação ou não de cabeça, a coloração e a finalidade das folhas.

2.5 Coloração

A coloração das folhas da alface é bastante diversificada, variando do verde-claro ao verde-escuro e, nas cultivares coloridas, podem-se observar plantas com diversas intensidades de roxo, vermelho ou diversas proporções e padrões de roxo e verde ou de vermelho e verde. A coloração pode estar associada com a presença de substâncias benéficas que protegem o organismo e previnem doenças e está relacionada com a aceitação de determinadas cultivares pelos consumidores.

A coloração verde se deve à presença da clorofila que tem a função de realizar a fotossíntese. As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, onde ocorrem as duas reações importantes: a fotoquímica, nas membranas dos tilacoides e a bioquímica, no estroma do cloroplasto. Tais organelas, além das clorofilas, contêm outros pigmentos chamados acessórios como os carotenoides, que podem ser divididos em carotenos e xantofilas (STREIT et al., 2005).

Os carotenoides são compostos químicos que possuem diversas estruturas químicas e funções. Eles podem conferir a cor amarela, laranja ou vermelha a alguns alimentos e alguns deles são precursores da vitamina A e podem apresentar atividades biológicas como o fortalecimento do sistema imunológico e a diminuição do risco de doenças degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular da retina e catarata. Dentre os carotenoides mais conhecidos, destacam-se o β -caroteno, o α -caroteno, a β -criptoxantina, o licopeno, a luteína e a zeaxantina (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; FARFAN, 2008).

Na planta, o β -caroteno tem a função de proteger a clorofila. Cassetari et al. (2015), estudando os níveis de clorofila e β -caroteno, em cultivares de alface e linhagens, provenientes do cruzamento entre as cultivares Salinas e Verônica, observaram que há correlação positiva entre os teores de clorofila e β -caroteno, ou seja, quanto mais intensa a coloração verde da alface, maiores serão os teores de β -caroteno. A seleção de plantas com maiores teores de β -caroteno pode ser feita, visualmente, facilitando a rotina de programas de melhoramento de alface.

A coloração roxa ou vermelha, por muito tempo, foi indesejada e era feita a seleção contra esse caráter. Posteriormente, foram desenvolvidos alguns tipos especiais de alface com essa coloração e com vários padrões de pigmentação (WAYCOTT et al., 1999). No Brasil, o consumo da alface colorida ainda é pequeno e existem poucas cultivares disponíveis no mercado. Essa coloração ocorre pela presença das antocianinas, que são benéficas à saúde humana e apresentam elevado potencial antioxidante. Alguns estudos preconizam que o aumento do consumo de antocianinas reduz o risco de doenças cardiovasculares (WALLACE, 2011). Além da importância para a saúde, o preço da alface colorida é maior do que o preço de cultivares de coloração verde, sendo uma boa opção para aumentar a renda dos produtores.

As antocianinas são pigmentos solúveis em água, derivadas de flavonoides da rota do ácido chiquímico. Podem ser permanentes ou transitórias. Quando transitórias, aparecem apenas em tecidos jovens ou em tecidos senescentes. Da mesma forma, podem ser ambientalmente transitórias, aparecendo e desaparecendo com mudanças no fotoperíodo, temperatura ou outros sinais. As antocianinas são metabólitos secundários e, por isso, desempenham um papel importante, na qualidade do alimento, afetando características como aparência, sabor e propriedades promotoras da saúde (CHON et al., 2012).

As propriedades funcionais de cultivares de alfaces coloridas e verdes foram comparadas e observou-se que ambas apresentam atividades antioxidantes e anti-

inflamatórias. Porém uma maior quantidade de compostos fenólicos, incluindo antocianinas presentes na alface colorida, proporciona melhores benefícios à saúde do que cultivares de alface de coloração verde (MULABAGAL et al., 2010), indicando que cultivares de alface coloridas devem ser incluídas na alimentação de pessoas que buscam uma alimentação mais saudável.

2.6 Agricultura orgânica

Conforme a Lei de Produção Orgânica, Lei nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003, considera-se produto da agricultura orgânica ou produto orgânico, seja ele *in natura* ou processado, aquele obtido em sistema orgânico de produção agropecuário ou oriundo de processo extrativista sustentável e não prejudicial ao ecossistema local. O conceito de sistema orgânico de produção agropecuária e industrial abrange o sistema ecológico, biodinâmico, natural, regenerativo, biológico, agroecológico e permacultura (BRASIL, 2003).

Tais produtos devem ser certificados por organismos credenciados no MAPA para serem comercializados. Os agricultores familiares podem comercializá-los, diretamente para os consumidores em feiras ou para o governo na merenda escolar ou para a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), sendo dispensados da certificação (BRASIL, 2017). No Brasil, atualmente, há cerca de 15 mil propriedades que adotam o sistema orgânico, certificadas e em processo de transição e 75% delas pertencem a agricultores familiares (SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS - SEBRAE, 2017).

De acordo com a Lei nº 11.326 de 24 de julho de 2006, considera-se agricultor familiar e empreendedor familiar rural aquele que pratica atividades no meio rural, com área de até quatro módulos fiscais; que utilize, predominantemente, mão-de-obra da própria família nas atividades econômicas do seu estabelecimento ou empreendimento; tenha percentual mínimo da renda familiar originada de atividades econômicas do seu estabelecimento ou empreendimento e dirija seu estabelecimento ou empreendimento com sua família. Os silvicultores, aquicultores, extrativistas, pescadores, indígenas e quilombolas, também, são considerados agricultores familiares (BRASIL, 2006).

No Brasil, a importância da agricultura orgânica é crescente, pois há a busca por uma alimentação mais saudável e livre de resíduos químicos, por isso, não é permitido o uso de

fertilizantes sintéticos de alta solubilidade, defensivos químicos, reguladores de crescimento e aditivos para a alimentação animal, compostos sinteticamente. Os agricultores buscam atingir uma maior sustentabilidade, por isso, o manejo das suas propriedades é realizado, utilizando alternativas como a utilização de esterco e adoção de práticas como a rotação de culturas, adubação verde, compostagem e controle biológico de pragas e doenças (SEBRAE, 2015).

No ano de 2008, o MAPA aprovou o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal pela Instrução Normativa nº 64. De acordo com tal instrução, há requisitos gerais dos sistemas orgânicos de produção quanto aos aspectos ambientais, às atividades econômicas e à manutenção do equilíbrio do sistema de produção. Quanto aos aspectos ambientais, os sistemas orgânicos de produção devem buscar a manutenção das áreas de preservação permanente; a atenuação da pressão antrópica sobre os ecossistemas naturais e modificados; e a proteção, a conservação e o uso racional dos recursos naturais. Por sua vez, as atividades econômicas dos sistemas orgânicos de produção devem buscar o melhoramento genético, visando à adaptabilidade às condições ambientais locais; a manutenção e a recuperação de variedades locais, tradicionais ou crioulas, ameaçadas pela erosão genética; a promoção e a manutenção do equilíbrio do sistema de produção como estratégia de promover a sanidade dos animais e vegetais; a interação da produção animal e vegetal; e a valorização dos aspectos culturais e a regionalização da produção. E, por último, quanto aos aspectos sociais, os sistemas orgânicos de produção devem buscar relações de trabalho, fundamentadas nos direitos sociais determinados pela Constituição Federal e a melhoria da qualidade de vida dos agentes envolvidos em toda a rede de produção orgânica (BRASIL, 2008).

Atualmente, com a ampla utilização das cultivares modernas, os produtores tradicionais foram perdendo suas cultivares crioulas, que eram mais adaptadas às suas condições locais. Por isso, torna-se necessário o desenvolvimento de novas cultivares crioulas, por meio do melhoramento participativo, uma vez que o resgate de acessos crioulos, em bancos de germoplasma, é burocrático e há demanda de genótipos que atendam às necessidades do mercado de produtos orgânicos e dos agricultores.

2.7 Melhoramento de alface

A alface é uma espécie autógama e grande parte dos caracteres comerciais, a serem explorados, são qualitativos. É comum, no melhoramento dessa espécie, a utilização de métodos que envolvam a hibridação dos genitores de interesse e posterior seleção de plantas, com base no fenótipo como no método genealógico, o que confere a este método alta eficiência para a seleção de caracteres mono ou oligogênicos (BORÉM; MIRANDA, 2013).

A alface teve sua origem, na região próxima ao Mar Mediterrâneo, onde o clima é ameno. O principal desafio, para o sucesso dessa cultura no Brasil, foi sua adaptação a condições tropicais e subtropicais, principalmente, aquelas relacionadas a temperaturas e precipitações elevadas e a ocorrência de patógenos nas áreas de produção (GOMES, 2014).

Até a década de 1980, predominava no Brasil o cultivo de alfaces lisa/manteiga como White Boston e San Rivale que eram importadas de países da Europa e dos Estados Unidos. Entretanto, na região Sudeste do Brasil, ocorriam temperaturas elevadas e bastantes chuvas no verão, por isso, eram comuns as perdas pela ocorrência de fungos e bactérias e do estímulo ao pendoamento precoce (SALA, 2011). Essas cultivares eram indicadas para o plantio em regiões mais frias e em estações com temperaturas mais amenas.

O melhoramento de alface se iniciou no Brasil com as instituições públicas como o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ). Os principais responsáveis por essa adaptação da alface a condições edafoclimáticas brasileiras foram o pesquisador Hiroshi Nagai e o professor Cyro Paulino da Costa, entre outros.

Na década de 1970, o pesquisador Hiroshi Nagai, por meio do cruzamento entre as cultivares Gallega de Inverno e White Boston, obteve a Série Brasil, que apresentava linhagens de alface tolerantes ao vírus do mosaico da alface (LMV – Lettuce Mosaic Virus) e com maior tolerância ao calor. O professor Cyro Paulino da Costa desenvolveu a cultivar Regina que apresenta folhas lisas com maior tolerância ao florescimento precoce e é utilizada até hoje (GOMES, 2014). Por ser uma cultivar de folhas lisas, sem formação de cabeça, sua arquitetura mais aberta não permite o acúmulo de água e as perdas são reduzidas (SALA, 2011). Essas linhagens de alface, obtidas por esses dois melhoristas, fizeram parte de programas de melhoramento que depois deram origem a outras cultivares de alface (GOMES, 2014).

Posteriormente, houve a introdução da cultivar Grand Rapids no Brasil. Sua importância se deu pela não formação de cabeça, mostrando ser mais adequada a plantios de

verão do que cultivares manteiga como a White Boston e por ser resistente ao transporte em caixas de madeira (SALA, 2011). Houve o desenvolvimento de outras cultivares crespas, tais com a cultivar Vera, obtida a partir do cruzamento entre as cultivares Verônica e Slow Bolting, que é resistente ao florescimento prematuro (DELLA VECCHIA; KOCH; KIKUCHI, 1999). Desde então, as cultivares do tipo crespa passaram a dominar o mercado brasileiro.

O plantio da alface americana teve início na década de 1970 no Brasil (SALA; COSTA, 2008). Mas foi somente, a partir da década de 1990, que houve aumento da demanda de cultivares americanas pelo mercado brasileiro, dentre outros motivos pela expansão das redes de *fast food* que exigiam plantas com cabeça compacta para serem picadas e cujas folhas fossem resistentes à temperatura do hambúrguer sem murchar. Seu cultivo tem sido limitado a regiões com elevadas temperaturas pela suscetibilidade ao pendoamento precoce que impede a formação de cabeça. Além da suscetibilidade a doenças fúngicas e bacterianas, que não ocorrem nos estados Unidos, sobretudo, na região onde a alface americana foi desenvolvida (SALA, 2011).

Em 2008, foi lançada a cultivar Gloriosa, a primeira cultivar de alface americana tropicalizada no país. Ela foi selecionada no município de Paulínia-SP, a partir de variantes aparentemente resistentes à murchadeira (*Thielaviopsis basicola*) dentro da cultivar Lucy Brown. Essa cultivar era líder de mercado e apresentava suscetibilidade a esse patógeno. Além da resistência à murchadeira, a cultivar Gloriosa é tolerante à mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vitians*) e suporta o cultivo nos períodos de elevada temperatura e pluviosidade. Sua boa cobertura foliar a protege contra os danos pela queima do sol e facilita a embalagem, transporte e manuseio durante a comercialização (SALA; COSTA, 2008).

Nos últimos anos, foram desenvolvidas pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), em parceria com a empresa Feltrin, algumas cultivares de alface com folhas mais crocantes e adaptadas ao clima tropical. A cultivar Brunela possui folhas verdes e é do tipo “frisse”. Suas folhas são crocantes e possuem bordos recortados. É resistente ao calor e à chuva e necessita de um menor espaçamento de plantio (ALFACE..., 2013). A cultivar Romanela é do tipo romana, possui folhas alongadas, nervura mais espessa e larga e coloração verde. Suas folhas são crocantes e suas bordas são crespas. A cultivar Rubinela possui folhas, cujas extremidades apresentam coloração avermelhada com alto brilho e as partes mais

internas possuem coloração verde. Suas folhas são crocantes e apresentam as bordas crespas. Possui o pendoamento mais lento. A cultivar Crocantela apresenta folhas de coloração verde com as bordas crespas. Seu porte é grande e possui resistência ao míldio (*Bremia lactucae*) (TVSITIO, 2014).

Além dos programas de melhoramento brasileiros, voltados para as condições locais, nos últimos anos, as empresas multinacionais têm desenvolvido programas globais e concentrados em estações experimentais fora do Brasil. Porém essa estratégia não tem tido sucesso, uma vez que as cultivares obtidas, muitas vezes, não são adaptadas aos sistemas de cultivos e as raças peculiares de patógenos que ocorrem no Brasil (SALA; COSTA, 2012).

Mesmo com o avanço ocorrido no melhoramento da alface, ainda há demanda por cultivares de alface mais adaptadas a temperaturas elevadas, principalmente, no verão e por novas tecnologias, para atender as necessidades dos agricultores, que buscam maiores produtividades (GOMES, 2014).

Quanto à agricultura orgânica, não são conhecidos programas de melhoramento que visem ao desenvolvimento de cultivares de alface voltadas a esse sistema produtivo. Além disso, a produção de sementes orgânicas de alface, também, não é de interesse das grandes companhias de sementes, visto que a demanda por sementes orgânicas é menor do que a demanda por sementes de alface convencionais. Entretanto a agricultura orgânica está em expansão e suas necessidades devem ser atendidas de acordo com cada realidade local.

2.8 Análise multivariada

Em razão do grande número de plantas conduzidas em programas de melhoramento e do grande número de caracteres levados em consideração, na escolha dos genótipos, tem sido utilizada a análise multivariada de dados morfológicos e agronômicos de algumas culturas. A análise desses caracteres, isoladamente, pode não ser tão interessante por não considerar as correlações existentes entre eles, por isso, a utilização da análise multivariada pode facilitar a seleção, a partir da combinação de caracteres, permitindo discriminar os genótipos mais promissores, especialmente, no contexto genético (LEDO; FERREIRA; RAMALHO, 2003).

As técnicas de análises multivariadas podem ser úteis na seleção dos melhores genitores, em programas de melhoramento, pois permitem quantificar a dissimilaridade genética desses genótipos, principalmente, quando o objetivo for a obtenção de segregantes

transgressivos e de populações de ampla variabilidade genética (BENIN et al., 2003). Essas ferramentas são importantes, também, para classificar germoplasmas, estimar a variabilidade contida em acessos, bem como analisar relações genéticas entre caracteres e genótipos vegetais melhorados (IQBAL et al., 2008).

Na predição da divergência genética, alguns métodos multivariados podem ser citados. A análise por componentes principais, por variáveis canônicas e os métodos aglomerativos têm sido as técnicas mais utilizadas (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

Na análise dos componentes principais e da análise canônica, a similaridade dos genótipos é representada, por meio da dispersão gráfica, geralmente, por meio de dois eixos cartesianos, enquanto os métodos aglomerativos dependem, basicamente, de medidas de similaridade, previamente estimadas, como a distância generalizada de Mahalanobis ou a distância euclidiana, entre outras (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012). Eles reúnem os genótipos em grupos de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre os grupos (CARGNELUTTI FILHO et al., 2008).

A análise de componentes principais e os agrupamentos hierárquicos são técnicas complementares e pode ser útil agrupar os genótipos, em grupos mais homogêneos, facilitando o gerenciamento de programas de melhoramento até que a uniformidade desejada seja alcançada.

REFERÊNCIAS

- ALFACE mais crocante e resistente é desenvolvida pela UFSCar de Araras. Disponível em: <<http://g1.globo.com/sp/sao-carlos-regiao/noticia/2013/05/alface-mais-crocante-e-resistente-e-desenvolvida-pela-ufscar-de-araras.html>>. Acesso em: 5 dez. 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Anuário 2014**: olerícolas: visão do mercado global. Brasília, 2014. 52 p.
- BENIN, G. Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 4, 2003.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. M. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: UFV, 2013. 523 p.
- BRASIL. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a Lei no 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 27 de dez. 2007. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/decreto/d6323.htm>. Acesso em: 4 ago. 2017.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=14934>>. Acesso em: 6 dez. 2017.
- BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 de dez. 2003. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/110.831.htm>. Acesso em: 4 ago. 2017.
- BRASIL. Lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006. Estabelece as diretrizes para a formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de jul. 2006. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/111326.htm>. Acesso em: 6 dez. 2017.
- BRASIL. **Orgânicos**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos>>. Acesso em: 4 dez. 2017.
- CAMARGO FILHO, W. P.; CAMARGO, F. P.; CAMARGO, A. M. M. P. **Produção da olericultura no Brasil e em São Paulo**. 2013. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/News/Default.asp?id=8308>>. Acesso em: 20 fev. 2017.
- CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Antioxidantes previnem doenças e envelhecimento. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 4, n. 7, p. 15-17, 2007.

- CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da divergência genética em cultivares de feijão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2138-2145, 2008.
- CASSETARI, L. S. et al. β -carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, Coimbra, v. 1083, p. 469-473, 2015.
- CHON, S. et al. Anthocyanin content and the activities of polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in lettuce cultivars. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Basingstoke, n. 63, v. 1, p. 45-48, 2012.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: UFV, 2012. 514 p.
- DELLA VECCHIA, P. T.; KOCH, P. S.; KIKUCHI, M. Vera: nova cultivar de alface crespa resistente ao florescimento prematuro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 171, 1999.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: UFV, 2008. 402 p.
- FUNK, V. A. et al. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. **Biologiske Skrifter**, Copenhagen, v. 55, p. 343–374, 2005.
- GOMES, L. A. A. Tecnologias para produção de alface em clima quente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 53., 2014, Palmas. **Palestras...** Brasília: ABH, 2014. p. 1-15. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_7/LuizAntonio.pdf>. Acesso em: 4 dez. 2017.
- HORTIBRASIL. Instituto Brasileiro de Qualidade em Horticultura. **Alface em números**. 2013. Disponível em: <http://www.hortibrasil.org.br/jnw/index.php?option=com_content&view=article&id=1131:alface-em-numeros&catid=64:frutas-e-hortalicas-frescas>. Acesso em: 26 dez. 2015.
- HORTIBRASIL. Instituto Brasileiro de Qualidade em Horticultura. **As famílias botânicas das hortaliças folhosas**. 2010. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br>>. Acesso em: 17 abr. 2017.
- IQBAL, Z. et al. Evaluation of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasm for some important morphological traits using multivariate analysis. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 40, n. 6, p. 2323-2328, 2008.
- LEBEDA, A. et al. Geographical Distribution of Wild Lactuca Species (Asteraceae, Lactuceae). **Botanical Review**, Bronx, v. 70, n. 3, p. 328-356, 2004.
- LEDO, C. A. S.; FERREIRA, D. F.; RAMALHO, M. A. P. Análise de variância multivariada para os cruzamentos dialélicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1214-1221, 2003.

MOU, B. Lettuce. In: PRHOENS, J.; NUEZ, F. **Vegetables I: Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae and Cucurbitaceae**. New York: Springer, 2008. c.3, p. 75-116.

MOU, B. Mutations in lettuce improvement. **International Journal of Plant Genomics**, Chicago, p. 1-7, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22287955>>. Acesso em: 3 dez. 2017.

MULABAGAL, V. et al. In vitro evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties. **Food Chemistry**, Oxford, v. 118, n. 2, p. 300-306, 2010.

NAGAI, H. Alface tipo manteiga. In: FURLANI, A. M. C.; VIÉGAS, G. P. (Ed.). **O melhoramento de plantas do Instituto Agrônomo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1993. v. 1, p. 204-221.

REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 7 dez. 2017.

RODRIGUES, P. A importância nutricional das hortaliças. **Hortaliças em Revista**, Gama, DF, v. 2, n. 2, 2012. Disponível em: <<https://www.embrapa.br>>. Acesso em: 1 maio 2017.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; FARFAN, J. A. **Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília, DF: MMA/SBF, 2008. 100 p.

RYDER, E. J. Ten lettuce genetic stocks with early flowering genes Ef-1ef-1 and Ef-2ef-2. **HortScience**, Alexandria, v. 31, n. 3, p. 473-475, 1996.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. “Gloriosa”: Cultivar de alface americana tropicalizada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 409-410, 2008.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012.

SALA, F. C. Melhoramento genético de alface. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51., 2011, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: ABH, 2011. p. 5813-5827. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_5/Fernando_sala_Melhoramento_Alface.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2017.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Agricultura orgânica: um pouco de história**. 2015. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/agricultura-organica-um-pouco-de-historia,6895438af1c92410VgnVCM100000b272010aRCRD>>. Acesso em: 6 dez. 2017.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Agroecologia: o que é agricultura orgânica?** Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-que-e-agricultura-organica,69d9438af1c92410VgnVCM100000b272010aRCRD>>. Acesso em: 4 dez. 2017

SERVIÇO NACIONAL DE PROTEÇÃO DE CULTIVARES. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_protegidas.php>. Acesso em: 7 dez. 2017.

STREIT, N. M. et al. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005. THE COMPOSITAE GENOME PROJECT. Species name: Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Overview. 2017. Disponível em: <http://compgenomics.ucdavis.edu/compositae_data.php?name=Lactuca+sativa>. Acesso em: 23 mar. 2017.

TVSÍTIO. **UFSCAR lança 3 novas variedades de alface**. 2014. Disponível em: <http://www.tvsitio.com.br/videos.asp?secao=tv_curiosidades&codigo=12>. Acesso em: 5 dez. 2017.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Agricultural Research Service. **National Nutrient Database for Standard Reference Release 28**. 2015. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3006?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=lettuce>>. Acesso em: 26 dez. 2015.

VRIES, I. M. Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrech, v. 44, p. 165-174, 1997.

WALLACE, T. C. Anthocyanins in cardiovascular disease. **Advances in Nutrition**, Rockville, v. 2, p. 1-7, 2011.

WAYCOTT, W. et al. Mapping morphological genes relative to molecular markers in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Heredity**, Edinburgh, v. 82, p. 245-251, 1999.

ZOHARY, D. The wild genetic resources of cultivated lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Euphytica**, Netherlands, v. 53, p. 31-35, 1991.

SEGUNDA PARTE

**ARTIGO: VARIABILIDADE GENÉTICA EM ALFACE PARA AGRICULTURA
ORGÂNICA UTILIZANDO ANÁLISE MULTIVARIADA**

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho estudar a variabilidade genética de plantas de alface, para o sistema orgânico, utilizando as análises dos componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos. Posteriormente, foram adicionados, nas análises, dados fictícios de plantas com fenótipos de interesse, para verificar graficamente a distribuição das progênes e desses fenótipos, auxiliando na seleção de progênes com os fenótipos desejados. Foi utilizado o delineamento em bloco casualizados com três repetições. Foram utilizados 40 tratamentos, sendo os genitores e a geração F_1 representados por um tratamento cada, a geração F_2 representada por 8 tratamentos e cada uma das 29 progênes $F_{2:3}$ representadas por um tratamento. Cada parcela foi composta por 12 plantas. No ponto de colheita, iniciaram-se as avaliações dos caracteres: presença de antocianina, coloração, tipo de limbo, tipo de borda e teor de clorofila. Dois componentes principais explicaram 75,27% da variação dos dados. Os caracteres de maior discriminação dos tratamentos foram teor de clorofila, tipos de limbo e borda. Por meio da análise dos componentes principais, observou-se a separação dos genitores Colorado e Salinas que são contrastantes. A geração F_1 se localizou entre os genitores. As progênes $F_{2:3}$ apresentaram maior variação fenotípica do que a geração F_2 , o que pode ser explicado pelo fato de se ter trabalhado com dados médios de cada tratamento. A cultivar Colorado se mostrou o genótipo mais divergente. Observando-se o dendrograma gerado, por meio da análise dos agrupamentos hierárquicos, houve a formação de 5 grupos e a progênie 31 foi considerada o genótipo mais divergente. As análises dos componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos apresentaram similaridades, no agrupamento dos genótipos e foi observada variabilidade genética na população F_2 e, principalmente, nas progênes $F_{2:3}$. De forma geral, com a adição de dados fictícios de plantas com fenótipos de interesse, os agrupamentos não foram muito eficientes, na seleção de plantas com os fenótipos desejados, provavelmente, pelo fato de os genótipos terem sido agrupados, principalmente, com base no teor de clorofila. Entretanto a seleção visual de plantas de alface é viável por se tratar de caracteres qualitativos e, além disso, foi observada variabilidade genética nessa população possibilitando a seleção de plantas com base na coloração e na textura das folhas.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*. Olericultura. Melhoramento participativo. Agricultura familiar.

GENETIC VARIABILITY IN LETTUCE AIMING AT ORGANIC AGRICULTURE BY USING MULTIVARIATE ANALYSIS

ABSTRACT

The present work aimed at studying the genetic variability in lettuce plants for organic cropping by using the principal component analyses as well as the hierarchical groupings. Subsequently, fictitious data of plants with phenotypes of interest were added to the analyses in order to graphically display the distribution of the progenies and the phenotypes, supporting the selection of progenies with the desired phenotypes. A completely randomized block design with three replicates was used. There were 40 treatments, and both the parents and F1 generation were represented by one treatment each, the F2 generation was represented by 8 treatments whereas each of the 29 F2:3 progenies were represented by a single treatment. Each plot consisted of 12 plants. From the harvesting time on, the following traits were evaluated: presence of anthocyanin, coloration, type of limb, type of border, and chlorophyll content. Two principal components accounted for 75.27% of the data variation. The most discriminating traits of treatments were chlorophyll content, type of limb and border. By means of the principal component analysis, it was possible to observe the separation of the parents Colorado and Salinas, which are contrasting. The F1 generation was located between its parents. The F2:3 progenies had higher phenotypic variation than the F2 generation, which could be explained by the fact that the means of each treatment were used for the analyses. The cultivar Colorado stood out as the most divergent genotype. By observing the dendrogram built with the analysis of hierarchical groupings, 5 groups were formed and the progeny 31 was considered to be the most divergent. The analyses of principal component as well as the hierarchical groupings had similarities in the grouping of genotypes, and there was genetic variability in F2 population, mainly, F2:3 progenies. In general, by adding fictitious data of plants with phenotypes of interest, the groupings were not useful in the selection of plants with the desired phenotypes probably because the genotypes were grouped based on the content of chlorophyll. Nevertheless, the visual selection of lettuce plants is feasible provided they are qualitative traits. Moreover, genetic variability was observed in this population, allowing the selection of plants based on their color and texture of leaves.

Keywords: *Lactuca sativa*. Olericulture. Participatory plant breeding. Family agriculture.

1 INTRODUÇÃO

O mercado de alface é bastante segmentado e, nos últimos anos, têm sido desenvolvidas cultivares com características especiais. No Brasil, há predomínio das alfaces crespa e americana, ambas de folhas verdes com participação em 53 e 34 % do mercado, respectivamente. Em menores proporções, estão as alfaces lisa, romana, mimosa e colorida. Entretanto os programas de melhoramento têm investido no desenvolvimento de novos tipos de alface como minialface, alface frisada, alface crocante e alface para o mercado de *baby leaf* (SALA; COSTA, 2012).

Pela preocupação com o meio ambiente e com a qualidade dos alimentos consumidos, o mercado de produtos orgânicos tem crescido a cada ano. Entretanto não há muitos programas de melhoramento voltados para esse mercado. Por isso, é importante que instituições públicas como as universidades estimulem o desenvolvimento de hortaliças voltadas para a agricultura orgânica e, principalmente, que haja a participação dos próprios agricultores e das suas associações nesse processo.

A alface é uma planta autógama de importância econômica para a agricultura familiar. Os cruzamentos permitem a combinação de alelos favoráveis presentes em genitores diferentes. A partir da geração F₂, é gerada variabilidade genética para diversos caracteres e pode-se realizar a seleção de plantas, de acordo com as preferências e necessidades dos agricultores familiares. No desenvolvimento de cultivares crioulas, é interessante que a seleção ocorra, nas propriedades desses agricultores, para que as cultivares sejam adaptadas às condições edafoclimáticas e sócioeconômicas desse sistema de cultivo.

A alface é uma hortaliça folhosa que apresenta diversidade fenotípica para diversos caracteres de importância econômica. Com o processo de domesticação dessa espécie, houve uma série de mudanças morfológicas como a perda de espinhos nas folhas e no caule, redução do teor de látex e do sabor amargo, aumento do tamanho da semente, redução do pendoamento, exceto para a alface de caule. O melhoramento da alface foi responsável por mudanças no tamanho, formato, cor, textura e sabor das folhas, formação de cabeça, resistência a doenças e pragas, produção e a adaptação a diferentes áreas e ambientes (MOU, 2011).

A coloração das folhas de alface é um caráter de fundamental importância na aceitação de uma cultivar pelo mercado consumidor. As cultivares verdes podem apresentar diversas

tonalidades que variam do verde-claro ao verde-escuro. Já as cultivares coloridas podem exibir a coloração roxa ou vermelha e são, ainda, mais variáveis por possuírem diferentes tonalidades e padrões de coloração de roxo/verde ou vermelho/verde nas folhas.

A coloração roxa ou vermelha se deve à presença de antocianinas, que são compostos fenólicos presentes em alguns alimentos e conferem a cor roxa ou avermelhada em frutas, hortaliças, flores e grãos. Existe uma correlação positiva entre os teores de clorofila e carotenoides na alface, por isso, a alface de coloração mais escura apresenta maiores teores de pró-vitamina A (CASSETARI et al., 2015).

Nos programas de melhoramento e nas diversas áreas de pesquisa, geralmente, trabalha-se com um grande número de caracteres e, muitas vezes, as informações obtidas não são muito bem exploradas. A análise multivariada corresponde a um grande número de métodos e técnicas que utilizam, simultaneamente, as informações de todos os caracteres na interpretação do conjunto de dados, levando em conta as correlações existentes entre eles.

A intenção é condensar um conjunto inicial de caracteres, em um número menor de caracteres chamados componentes principais, com uma pequena perda de informações. A análise dos componentes principais é uma das técnicas da análise multivariada mais conhecidas e, em programas de melhoramento, pode poupar esforços eliminando caracteres que pouco contribuem com a distinção dos genótipos. Os métodos aglomerativos têm por finalidade reunir membros de uma população, em vários grupos, de modo que haja homogeneidade dentro de um mesmo grupo e heterogeneidade entre os diferentes grupos, segundo algum critério de similaridade ou dissimilaridade (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

Azevedo et al. (2013), visando selecionar genótipos de alface para o cultivo protegido, entre outros objetivos, utilizaram a técnica de análise multivariada para verificar a contribuição relativa de nove caracteres em alface. Os caracteres número de folhas e altura das plantas contribuíram com 81,12% da divergência genética entre os genótipos. As cultivares Regina 500, Vitória de Santo Antão, Black Seed Simpson, Lívia, Branca Boston e Romana Balão foram indicadas para serem utilizadas em cultivo protegido e como genitoras em programas de melhoramento com essa finalidade.

Diante disso, a utilização de técnicas estatísticas multivariadas, como as análises dos componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos, utilizando a distância Euclidiana como medida de dissimilaridade, possibilitam a separação dos genótipos, em grupos mais

homogêneos, permitindo, assim, um melhor gerenciamento do programa de melhoramento de alface.

2 OBJETIVO

Objetivou-se com este trabalho estudar a variabilidade genética de plantas de alface para o sistema orgânico, utilizando as análises dos componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Neste trabalho, foram utilizadas os genitores Colorado e Salinas 88, que são cultivares contrastantes, pois se diferem quanto ao tipo comercial, à coloração, à origem e à reação a doenças. A cultivar Colorado é de origem holandesa, possui folhas crespas e soltas, com coloração roxa nas extremidades e verde-clara no centro (CARVALHO FILHO; GOMES; CARVALHO, 2012) e possui resistência ao míldio (*Bremia lactucae*), pois é portadora do gene Dm 18 (ARAÚJO et al., 2014). A cultivar Salinas 88 é do tipo americana, é originária dos Estados Unidos, não forma cabeça compacta, apresenta coloração verde e bordas crespas, possui resistência a nematoides das galhas *Meloidogyne incognita* raça 1 e 2 e (CARVALHO FILHO et al., 2009; WILCKEN; GARCIA; SILVA, 2005) e ao vírus do mosaico da alface (LMV – Lettuce Mosaic Virus) (SILVA et al., 2008) e é suscetível ao míldio.

Foi feito o cruzamento entre essas duas cultivares, obtendo-se a geração F₁, que, por sua vez, foi autofecundada dando origem à geração F₂. As plantas da geração F₂ foram autofecundadas e as sementes de cada planta F₂ foram colhidas separadamente e deram origem a progênies da geração F_{2:3}.

3.2 Condução do experimento

O experimento foi conduzido na Fazenda Palmital (Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia da UFLA), localizada no município de Ijaci-MG, nos meses de

fevereiro a abril de 2016. As sementes utilizadas no experimento foram inicialmente embebidas em água e colocadas entre duas folhas de papel toalha e submetidas à temperatura de 8°C, em câmaras do tipo BOD, a fim de se garantir maior uniformidade e maior porcentagem de germinação. A maioria das sementes emitiu radícula. As plântulas e sementes foram transferidas, para bandejas plásticas de 162 células, contendo substrato comercial Carolina Padrão. Foi colocada uma camada de vermiculita em cima do substrato.

Aos 10 dias após a semeadura, foi feito o desbaste das mudas, deixando apenas uma muda por célula. Aos 21 dias após a semeadura, as mudas de alface foram transplantadas para canteiros em ambiente protegido, com cobertura plástica e sistema convencional de cultivo.

Embora o objetivo deste trabalho fosse indicar plantas de alface para os agricultores orgânicos, esse experimento, em sistema convencional, serviu para testar se as técnicas de análise multivariada seriam úteis nesse processo de agrupar plantas de mesmo tipo comercial em um mesmo grupo. Esse experimento faz parte de um projeto maior, em que os agricultores de hortaliças orgânicas puderam conhecer a variabilidade gerada, a partir do cruzamento desses dois genitores e selecionar as plantas de interesse, que deram continuidade ao programa.

Foi utilizado o espaçamento de 25x30 cm, sendo 25 cm entre linhas e 30 cm entre plantas com quatro linhas cada canteiro. A irrigação foi feita por gotejamento de acordo com as necessidades da cultura. Para reduzir a competição com plantas daninhas, utilizou-se cobertura plástica (*mulching*) e foi feita a eliminação das plantas daninhas até o estabelecimento da alface.

3.3 Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento em bloco casualizados com três repetições, sendo cada bloco disposto em um canteiro. Foram utilizados 40 tratamentos, sendo os genitores e a geração F_1 , representados por um tratamento, a geração F_2 por 8 tratamentos e cada uma das 29 progênies $F_{2:3}$ representadas por um tratamento. Os tratamentos 1, 2 e 3 correspondem aos genitores Colorado e Salinas 88 e à geração F_1 , respectivamente. Os tratamentos de 4 a 11 representam a geração F_2 e os tratamentos 12 a 40 representam cada uma das progênies $F_{2:3}$. Cada parcela foi composta por 12 plantas. Quando as plantas estavam no ponto de colheita, iniciaram-se as avaliações visuais e instrumental.

3.4 Avaliações de caracteres comerciais

Foram avaliados os caracteres presença de antocianina, coloração das folhas, tipo de limbo e tipo de borda de acordo com uma escala de notas. De acordo com a variabilidade observada nessa população e a natureza de cada caráter em estudo, foram criadas mais ou menos classes fenotípicas para cada caráter (FIGURA 1).

Figura 1 - Escala de notas para os caracteres comerciais: presença de antocianina, coloração das folhas, tipo de limbo e tipo de borda. (Continua)

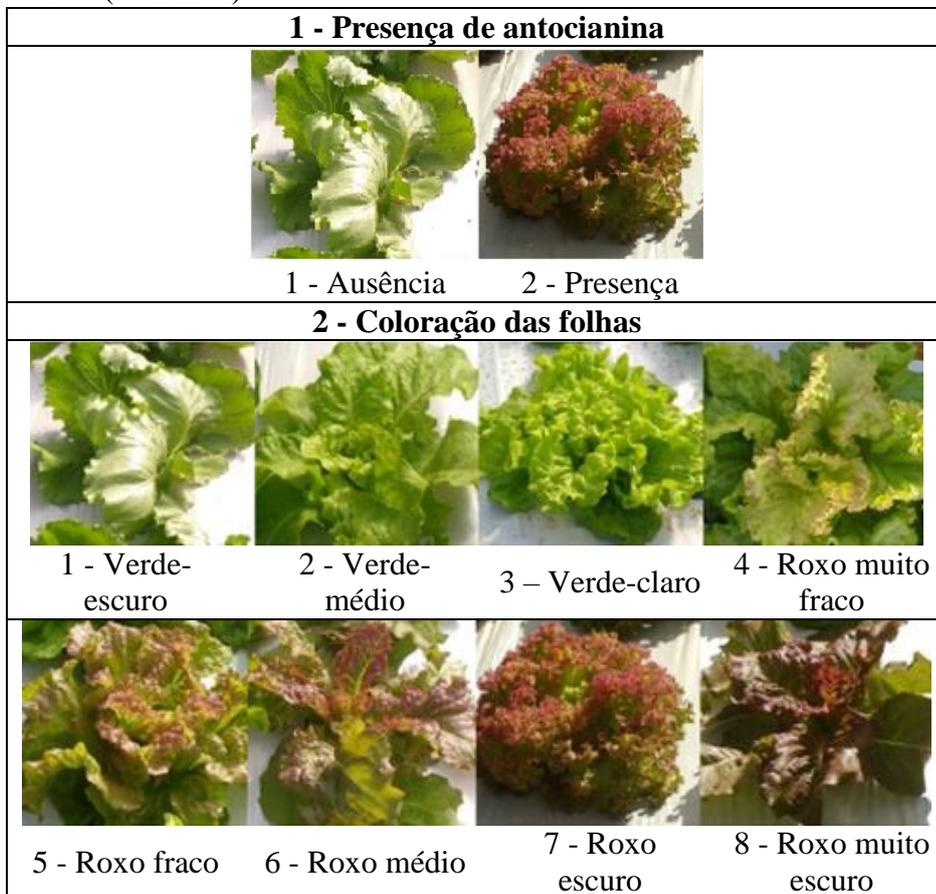
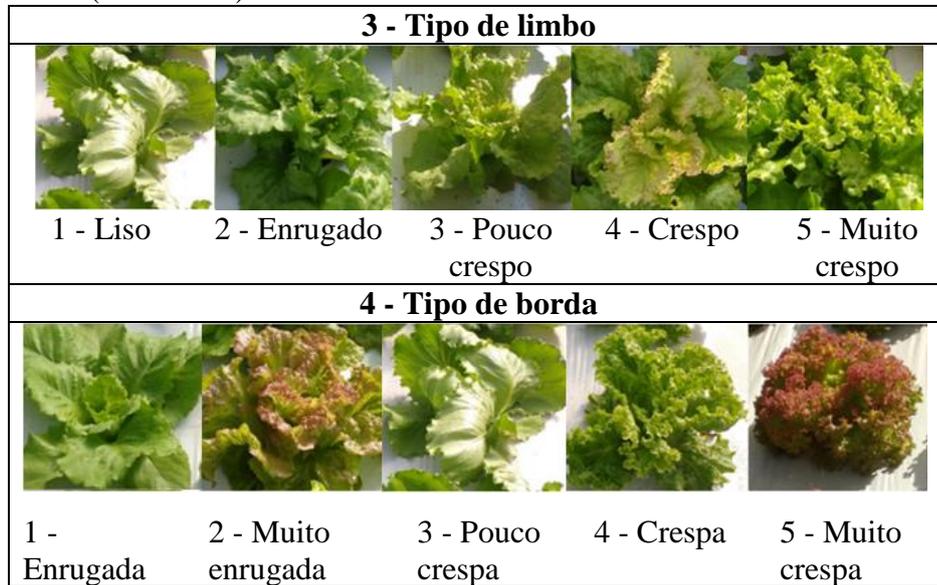


Figura 1 - Escala de notas para os caracteres comerciais: presença de antocianina, coloração das folhas, tipo de limbo e tipo de borda. (Conclusão)



Fonte: Do autor (2018).

3.5 Avaliação instrumental do teor de clorofila

Para a avaliação do teor de clorofila, foi retirada uma folha de cada planta. As leituras foram feitas no campo, utilizando o medidor portátil de clorofila SPAD, em três pontos da folha, na extremidade próxima à nervura central e à direita e à esquerda desse ponto. Procedeu-se ao cálculo da média das leituras por folha.

3.6 Análise multivariada

Os dados foram submetidos às análises de componentes principais e de agrupamentos hierárquicos, utilizando a distância Euclidiana como medida de dissimilaridade. Foi empregado o programa computacional R (R CORE TEAM, 2015).

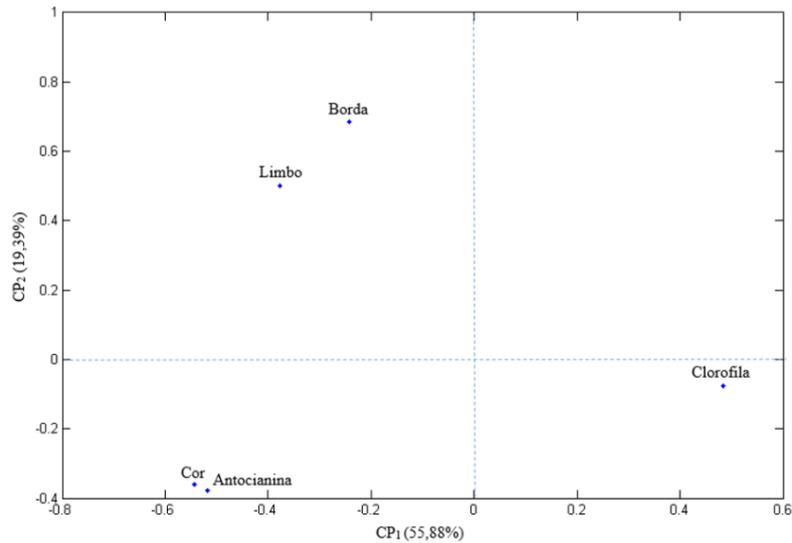
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos pela técnica dos componentes principais, observou-se que os dois componentes principais explicaram 75,27% da variação dos dados. Além disso, verificou-se que o teor de clorofila foi o caráter que mais explicou a variação dos genótipos, seguido por tipo de borda e tipo de limbo (GRÁFICO 1). Em alguns casos, a adoção dos

componentes principais pode ser útil aos programas de melhoramento por determinar os caracteres de maior discriminação dos genótipos e por possibilitar a redução de mão de obra, tempo e gastos com os programas de melhoramento com a avaliação de um menor número de caracteres (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

Tobar-Tosse et al. (2015), caracterizando cinco genótipos de soja hortaliça, por meio da análise de componentes principais, verificaram que os componentes principais 1 e 2 contribuíram com 42,9 e 16,1% da variação, respectivamente. O terceiro componente não acrescentou informação relevante ao trabalho. Os caracteres peso total de vagens por planta, produtividade estimada, número de vagens por planta, porcentagem de carboidratos, isoflavonas ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e porcentagem de proteínas foram úteis na caracterização dos genótipos. Foram selecionados dois genótipos para serem utilizados em programas de melhoramento genético da soja.

Gráfico 1 - Dispersão bidimensional dos dois primeiros componentes principais.



Fonte: Do autor (2018).

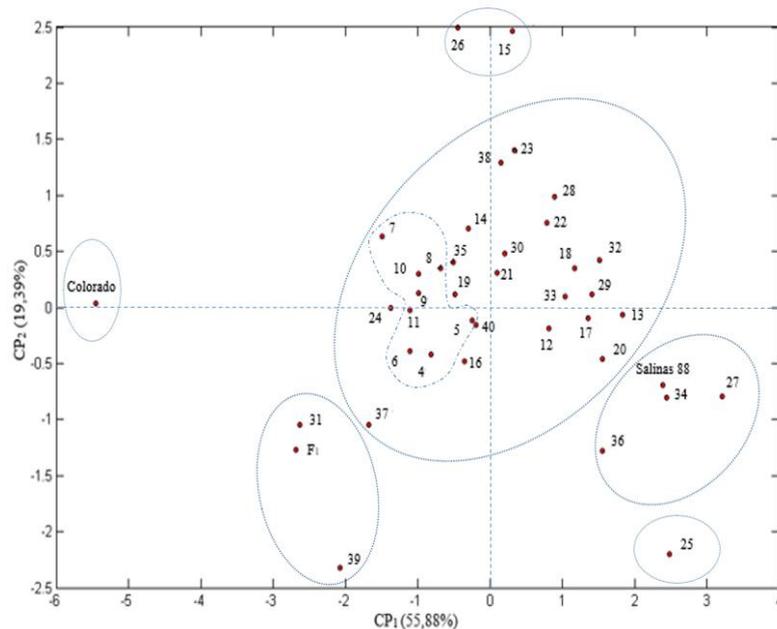
A análise dos componentes principais foi utilizada, também, para verificar a dispersão dos tratamentos. Pode-se observar o afastamento dos genitores Colorado e Salinas, representados pelos tratamentos 1 e 2, respectivamente. Esse resultado era esperado por serem cultivares com fenótipos contrastantes. A cultivar Colorado se mostrou ser o tratamento mais diferente de todos. A geração F_1 , que corresponde ao número 3, ficou localizada entre os genitores (GRÁFICO 2).

Os tratamentos 4 a 11 representam a geração F_2 . Embora fosse esperado que essa geração apresentasse uma ampla variabilidade fenotípica, os dados iniciais correspondiam à média de três parcelas de 12 plantas. Como a geração F_2 é segregante, cada parcela apresenta plantas diferentes umas das outras, logo as médias de todos os tratamentos da geração F_2 tendem a ser próximas e isso pode explicar uma menor variabilidade fenotípica dessa geração (GRÁFICO 2).

As progênies $F_{2:3}$ apresentaram maior variação do que a geração F_2 , o que pode ser explicado pelo fato de que cada progênie da geração $F_{2:3}$ é descendente de uma mesma planta F_2 . Logo as plantas de uma mesma progênie são mais aparentadas entre si e tendem a apresentar fenótipos parecidos. Por se tratar de dados médios de plantas aparentadas de uma mesma progênie, as diferentes progênies tendem a ficar dispersas, já que refletem a distribuição de uma geração segregante. As progênies 31, 37, 39, 25, 36, 27, 34, 15 e 26

foram as mais divergentes, indicando possibilidade de sucesso na obtenção de linhagens de alface voltadas para o sistema orgânico (GRÁFICO 2).

Gráfico 2 - Dispersão bidimensional dos dois primeiros componentes utilizando 40 tratamentos de alface.



Fonte: Do autor (2018).

A partir do dendrograma, pode-se notar o agrupamento dos genótipos em cinco grupos maiores. O grupo I foi formado apenas pela progênie 31, que apresenta plantas com as cores verde-médio, verde-claro, roxo muito fraco, roxo fraco e roxo médio (GRÁFICO 3). Quanto à textura das folhas, não foi observada variação. Essa progênie apresentou baixo teor de clorofila.

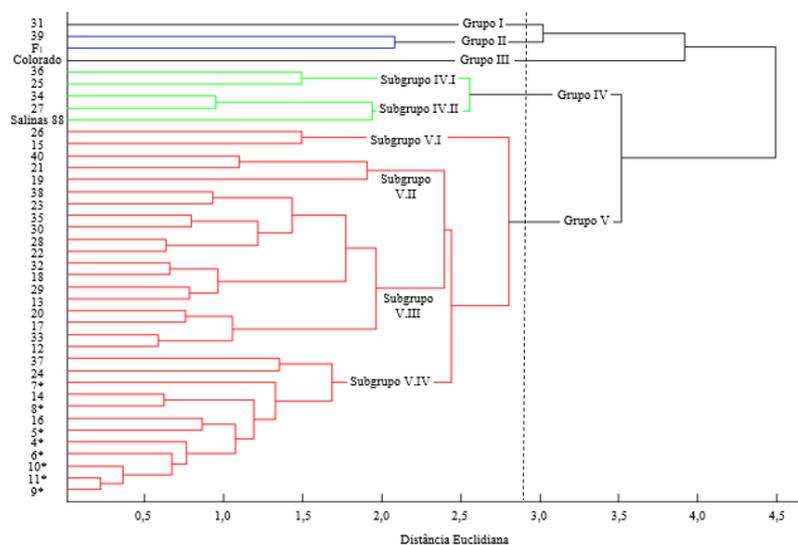
Segundo Sala (2011), muitos diferentes tons de verde existem em alface, bem como um número relativo de mutantes deletérios, causando vários modelos de deficiência de clorofila. Muito destes tipos têm sido identificados geneticamente. Todos têm mostrado que a redução da coloração verde (baixo teor de clorofila) é em razão da presença de um alelo recessivo.

Além da manifestação genotípica, o teor de clorofila nas folhas é influenciado por diversos fatores bióticos e abióticos (TAIZ; ZAIGER, 2002). Isso faz com que tanto as condições de cultivo quanto o genótipo do indivíduo sejam responsáveis pela manifestação da coloração das plantas avaliadas.

O grupo II foi composto pela progênie 39 e pela geração F₁ (GRÁFICO 3). Visualmente não houve variação morfológica dentro das plantas da geração F₁, enquanto as plantas da progênie 39 variaram quanto à textura e à coloração. De forma geral, as plantas da progênie 39 são mais escuras do que as plantas da geração F₁ e a textura das folhas desses dois tratamentos também diferiu.

O grupo III foi representado apenas pela cultivar Colorado que possui folhas roxas e o menor teor de clorofila de todos os tratamentos. O grupo IV foi composto pela cultivar Salinas e por quatro progênies. O grupo V foi formado por 23 progênies e toda a geração F₂. Os grupos IV e V foram divididos em subgrupos. Os subgrupos V.I e V.II são formados por duas e três progênies, respectivamente. O subgrupo V.III é o mais numeroso englobando 15 progênies. Verifica-se que todas as plantas da geração F₂ foram agrupadas no subgrupo V.IV (GRÁFICO 3).

Gráfico 3 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana.



Fonte: Do autor (2018).

Se forem comparados os resultados obtidos com as análises dos componentes principais e do agrupamento hierárquico, verifica-se que o agrupamento dos genótipos apresentou semelhanças, por esses testes serem complementares. A cultivar Colorado foi agrupada isoladamente. Os genitores e a geração F₁ ficaram localizados, em grupos diferentes, e a geração F₁ ficou mais próxima do genitor Colorado. Os oito tratamentos que representam a geração F₂ foram agrupados próximos.

Como o intuito de selecionar progênies, de acordo com as preferências do mercado consumidor, foram feitas análises de componentes principais e de agrupamentos hierárquicos adicionando, em cada análise, dados fictícios de plantas com fenótipos de interesse. Foram inseridas, nas análises, as quatro combinações lisa clara, lisa escura, crespa clara e crespa escura (TABELA 1). As progênies selecionadas podem ser indicadas, para dar início ao programa de melhoramento, para os produtores orgânicos que se interessarem por algum desses tipos comerciais. Os quatro fenótipos adicionados, nas análises, apresentaram as seguintes características:

Tabela 1 - Informações dos fenótipos de plantas de alface de acordo com os principais tipos comerciais de alface.

Tipos	Caracteres				
	Antocianina	Cor	Borda	Limbo	Teor de clorofila
Lisa e Clara	Ausente	Verde-clara	Mais lisa	Menos ondulado	Médio
Lisa e escura	Ausente	Verde-escura	Mais lisa	Menos ondulado	Alto
Crespa e clara	Ausente	Verde-clara	Mais crespa	Mais ondulado	Médio
Crespa e escura	Ausente	Verde-escura	Mais crespa	Mais ondulado	Alto

Fonte: Do autor (2018).

Ao comparar o gráfico bidimensional dos 40 tratamentos (GRÁFICO 2) com os gráficos gerados, a partir da adição dos quatro fenótipos de interesse, observa-se que o gráfico para o fenótipo lisa e clara foi o que menos apresentou alterações na disposição dos genótipos. A progênie 36 foi a que mais se aproximou do fenótipo de interesse (GRÁFICO 4).

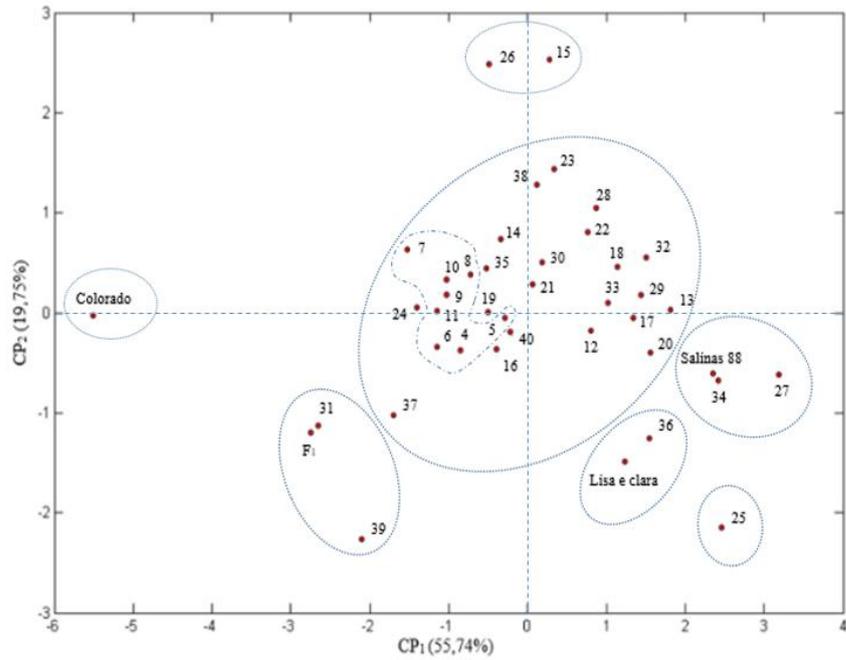
A adição do fenótipo lisa e escura, também, não causou grandes mudanças na distribuição dos genótipos. O tratamento mais próximo foi a progênie 25, mas também não se enquadra no tipo comercial proposto (GRÁFICO 5).

A inclusão do fenótipo crespa e clara não causou muitas alterações, na distribuição dos genótipos, mas se distanciou da maioria das progênies. A progênie que mais se assemelhou a esse fenótipo foi a progênie 26 (GRÁFICO 6).

O fenótipo crespa e escura foi o que causou mais alterações na disposição dos genótipos e, além disso, localizou-se bem distante das progênies, sugerindo que esse deve ser o fenótipo mais difícil de ser encontrado nessa população (GRÁFICO 7).

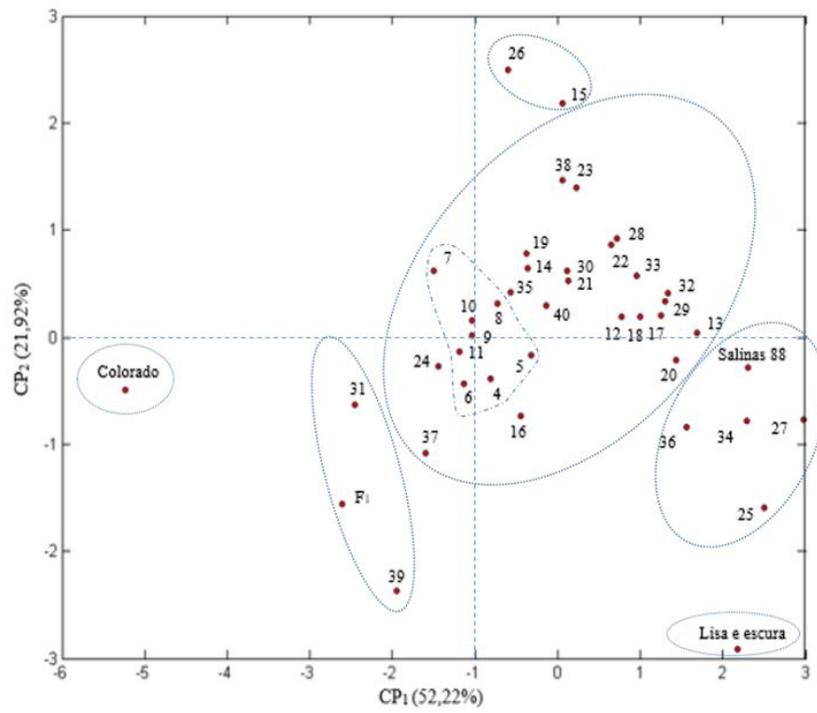
Com a adição dos fenótipos lisa e clara, lisa e escura, crespa e clara e crespa e escura, as análises dos dois componentes principais explicaram 75,49%; 74,14%; 77,14% e 73,34% da variação observada, respectivamente. Entretanto essa metodologia não apresentou o resultado esperado, ou seja, não foi muito eficiente na identificação de progênies com os fenótipos de interesse, uma vez que, nessa população, havia cerca de cinco progênies de folhas crespas que poderiam ter se localizado próximas ao fenótipo crespa (GRÁFICOS 4, 5, 6 e 7).

Gráfico 4 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição dos fenótipos lisa e clara.



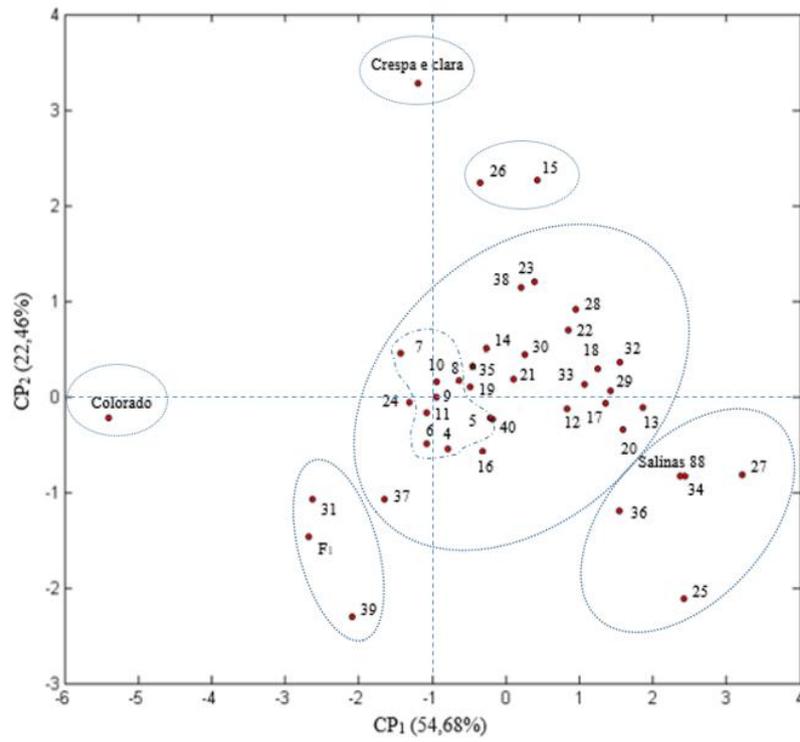
Fonte: Do autor (2018).

Gráfico 5 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo lisa e escura.



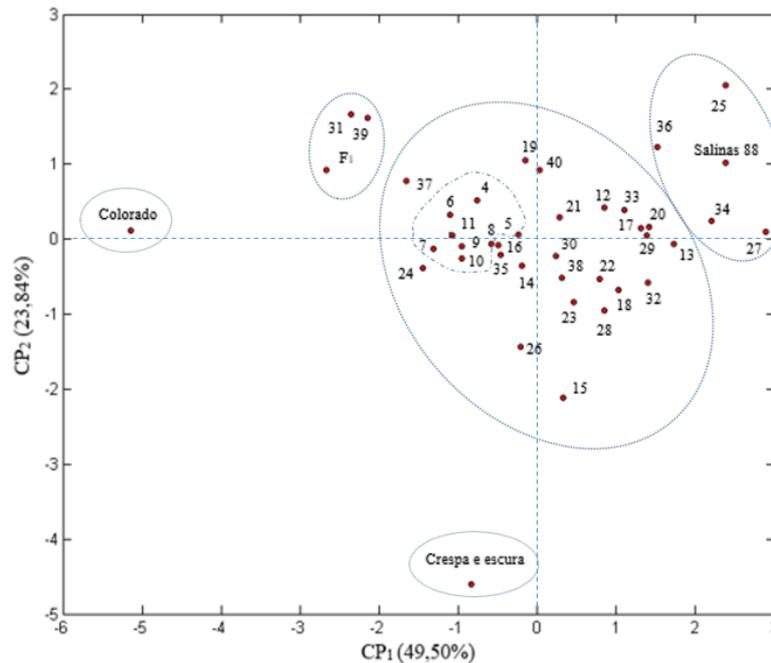
Fonte: Do autor (2018).

Gráfico 6 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo crespa e clara.



Fonte: Do autor (2018).

Gráfico 7 - Dispersão bidimensional dos dois componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo crespa e escura.



Fonte: Do autor (2018).

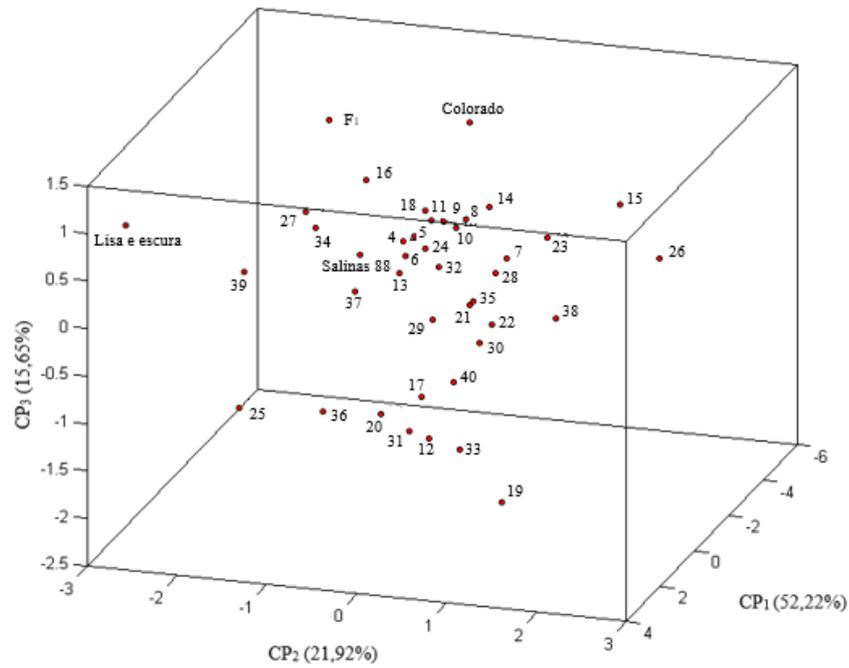
Em estudos de divergência genética, os dois componentes principais têm sido utilizados, quando eles explicam pelo menos 80% da variação total. Quando esse limite não é atingido, nos dois primeiros componentes, a análise é complementada com a dispersão gráfica em relação ao terceiro e quarto componentes (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012). Por isso, foi feita também a análise dos três componentes principais.

Com a adição dos fenótipos lisa e clara, lisa e escura, crespa e clara e crespa e escura, as análises dos três componentes principais explicaram 91,36; 89,79; 91,71 e 88,39% da variação observada, respectivamente. Se comparada à análise bidimensional, a adição dos quatro fenótipos geraram gráficos mais variados. As progênies 36 e 20 se localizaram mais perto do fenótipo lisa e clara (GRÁFICO 8). Nenhuma progênie ficou próxima do fenótipo lisa e escura (GRÁFICO 9). A progênie 26 ficou mais próxima do fenótipo crespa e clara (GRÁFICO 10). A progênie 24 se localizou mais perto do fenótipo crespa e escura (GRÁFICO 11).

Embora a análise dos três componentes principais tenha explicado maiores porcentagens da variação observada, em relação à análise de dois componentes principais, ela

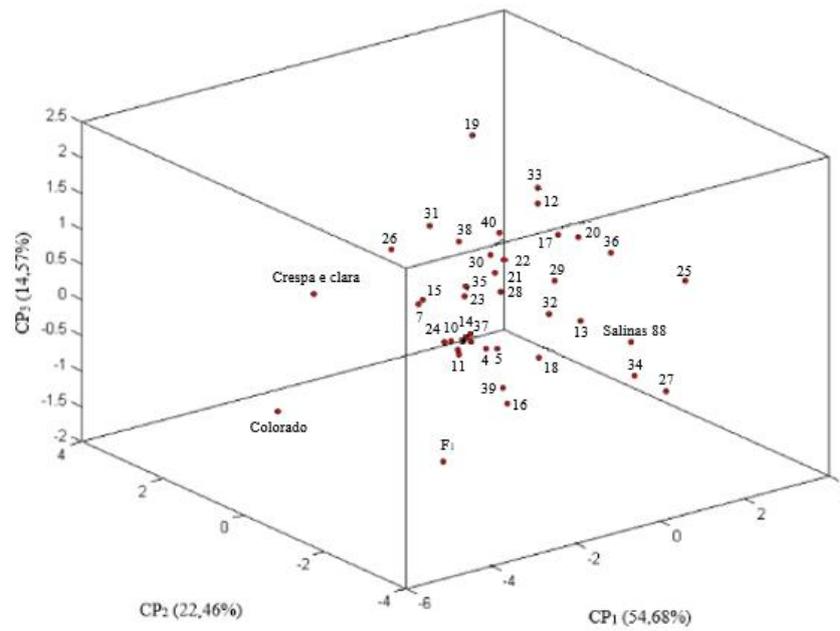
também não foi muito útil na seleção de progênes com os fenótipos de interesse (GRÁFICOS 8, 9, 10 e 11), mas apresentaram resultados semelhantes, pois ambas indicaram as progênes 36 e 26 com a adição dos fenótipos lisa e clara e crespa e clara, respectivamente.

Gráfico 9 - Dispersão tridimensional dos três componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo lisa e escura.



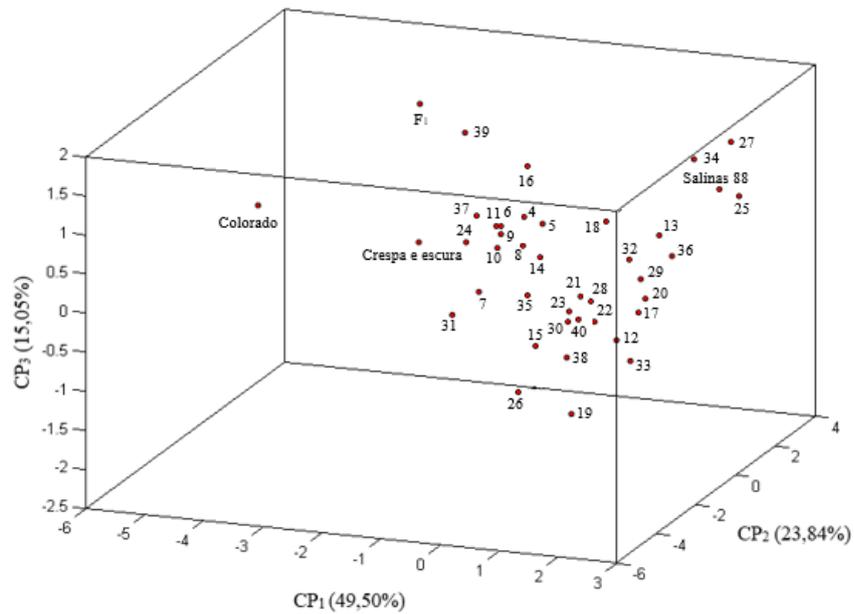
Fonte: Do autor (2018).

Gráfico 10 - Dispersão tridimensional dos três componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo crespa e clara.



Fonte: Do autor (2018).

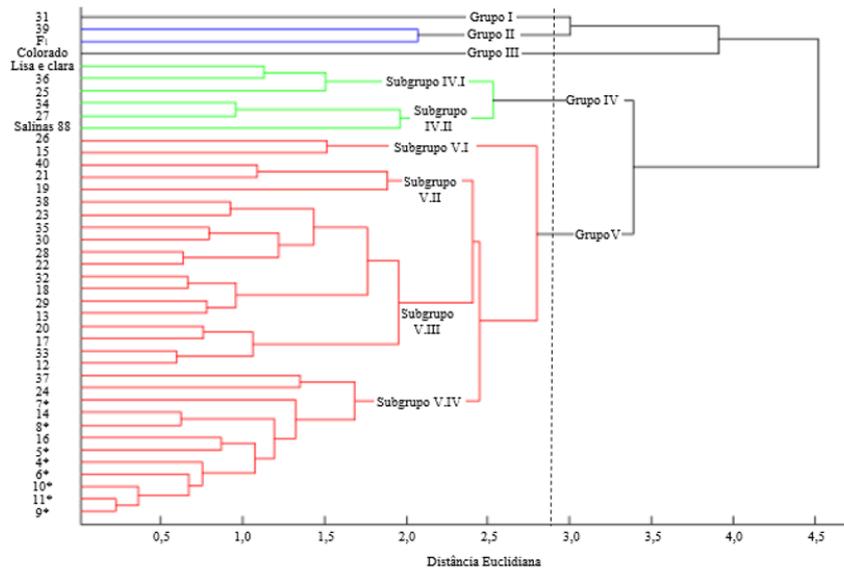
Gráfico 11 - Dispersão tridimensional dos três componentes principais para os 40 tratamentos de alface com adição do fenótipo crespa e escura.



Fonte: Do autor (2018).

Com a adição de um tratamento de fenótipo lisa e clara (GRÁFICO 12), o agrupamento dos genótipos foi similar à análise original e indicou que a progênie 36 deve ser selecionada.

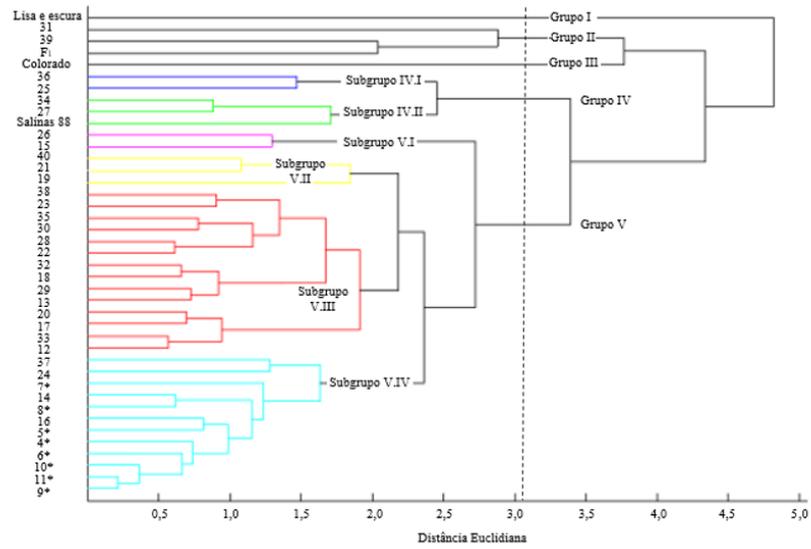
Gráfico 12 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo lisa e clara.



Fonte: Do autor (2018).

A adição do fenótipo lisa e escura (GRÁFICO 13) indicou que nenhuma progênie atende a essa necessidade dos produtores.

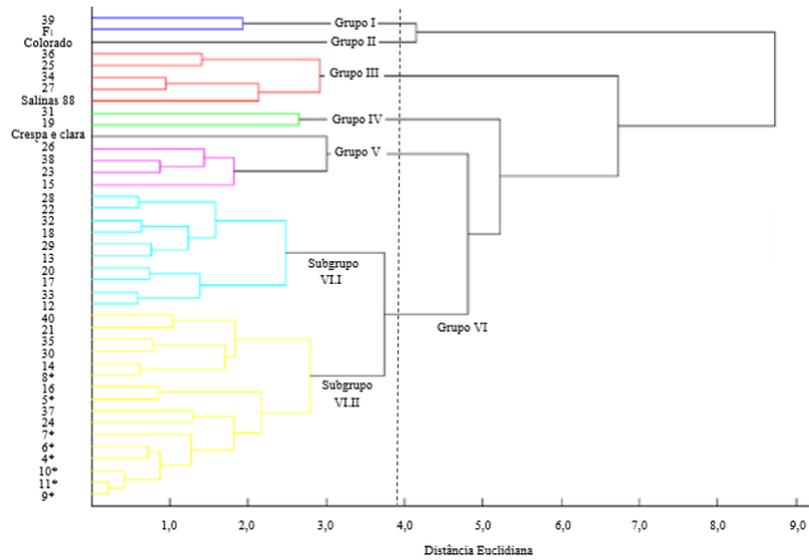
Gráfico 13 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo lisa e escura.



Fonte: Do autor (2018).

A adição do fenótipo crespa clara (GRÁFICO 14) alterou a sequência dos genótipos e consequentemente o agrupamento. As progênes 26, 38, 23 e 15 se mostraram mais similares.

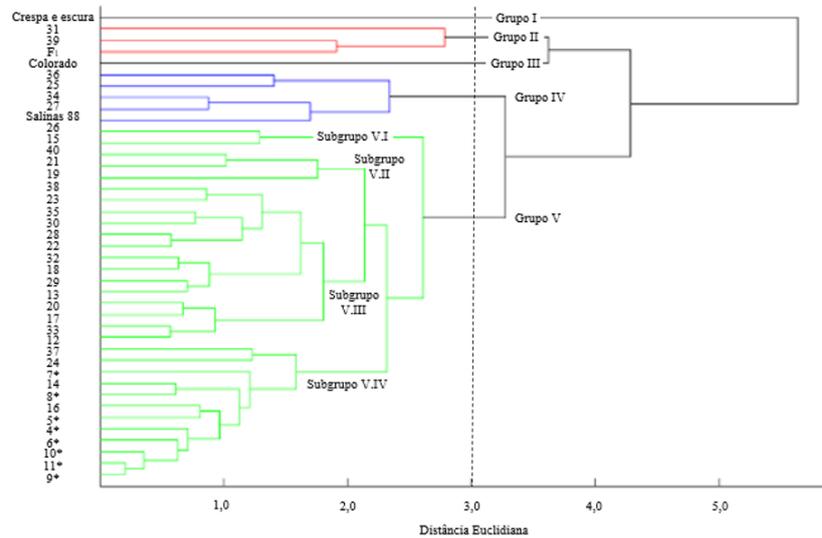
Gráfico 14 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo crespa e clara.



Fonte: Do autor (2018).

O fenótipo crespa escura (GRÁFICO 15), também, ficou classificado separadamente de outros grupos, o que indica que esse fenótipo também vai ser mais difícil de ser obtido.

Gráfico 15 - Dendrograma de similaridade entre 40 genótipos de alface com base na matriz de distância Euclidiana com adição do fenótipo crespa e escura.



Fonte: Do autor (2018).

Embora as análises dos dois e três componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos tenham apresentado alguns resultados similares, como a indicação das progênies 36 e 26, tais técnicas não foram muito adequadas, para a seleção de plantas com os fenótipos de interesse, já que o teor de clorofila foi considerado o caráter mais importante na discriminação dos genótipos.

O teor de clorofila é um caráter importante, para o melhoramento da alface, porque está relacionado com a coloração das folhas que é um atributo relevante, pois os consumidores preferem cultivares crespas de coloração mais clara. A clorofila também está correlacionada, positivamente, com o teor de β -caroteno das folhas de alface, que é benéfico à saúde humana. Entretanto esse caráter é mais influenciado pelo ambiente e não tem tanta importância quanto caracteres relacionados à textura das folhas.

Durante as primeiras etapas de um programa de melhoramento, devem-se selecionar indivíduos com base nos caracteres mono ou oligogênicos. Com o avanço de gerações, a ênfase pode ser dada a caracteres um pouco mais complexos, que devem ser avaliados somente a partir da geração em que as linhagens expressarem uniformidade genética (BORÉM; MIRANDA, 2013). Por isso, a avaliação do teor de clorofila pode ser realizada, após a obtenção de linhagens de alface com padrão comercial, em vez de ser feita nas fases iniciais do programa.

Outro fator que dificultou a seleção de plantas com os fenótipos de interesse foi trabalhar com os dados médios de cada tratamento, em vez de trabalhar com informações de plantas individuais. Além disso, apesar de as plantas possuírem variabilidade, não houve seleção de plantas com padrão comercial na geração F_2 , o que pode dificultar a aceitação dessas progênies pelos agricultores.

Acredita-se que os caracteres avaliados no presente estudo sejam governados por um pequeno número de genes com pouca influência do ambiente, então, a seleção visual de plantas individuais deve ser útil à obtenção de genótipos de interesse, para os agricultores orgânicos, uma vez que houve uma ampla variabilidade fenotípica nas gerações F_2 e $F_{2:3}$.

5 CONCLUSÕES

Há variabilidade genética para todos os caracteres em estudo.

Dois componentes principais explicaram 75,27% da variação dos dados e os caracteres de maior discriminação dos tratamentos foram teor de clorofila, tipo de limbo e tipo de borda.

As análises dos componentes principais e dos agrupamentos hierárquicos apresentaram similaridades no agrupamento dos genótipos.

A seleção visual de plantas das gerações F_2 e $F_{2:3}$ pode ser útil, principalmente, para a obtenção de linhagens com folhas de textura mais crespa e de coloração roxa, visando à agricultura orgânica.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. C. et al. Reação de resistência ao míldio e seleção de genótipos nacionais resistentes em população F₂ de alface americana. **Revista Agrogeoambiental**, Inconfidentes, v. 6, n. 2, p. 11-19, 2014.
- AZEVEDO, A. M. et al. Seleção de genótipos de alface para cultivo protegido: divergência genética e importância de caracteres. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 260-265, 2013.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. M. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: UFV, 2013. 523 p.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Inheritance of resistance of 'Salinas 88' lettuce to the rootknot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 37-42, 2009.
- CARVALHO FILHO, J. L. S.; GOMES, L. A. A.; CARVALHO, R. R. C. Incidência de galhas de *Meloidogyne incognita* raça 1 em progênies de F2:3 ('Salinas 88' x 'Colorado') de alface. **Scientia Plena**, São Cristovão, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2012.
- CASSETARI, L. S. et al. β -Carotene and chlorophyll levels in cultivars and breeding lines of lettuce. **Acta Horticulturae**, Lisboa, n. 1083, p. 469-473, 2015.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: UFV, 2012. v. 1, 514 p.
- MOU, B. Mutations in lettuce improvement. **International Journal of Plant Genomics**, Chicago, p. 1-7, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22287955>>. Acesso em: 3 dez. 2017.
- R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, 2015. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 2 dez. 2017.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012.
- SALA, F. C. Melhoramento genético de alface. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51., 2011, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: ABH, 2011. p. 5813-5827. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_5/Fernando_sala_Melhoramento_Alface.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2017.
- SILVA, R. R. et al. Linhagens de alface-crespa para o verão resistentes ao *Meloidogyne javanica* e ao vírus mosaico-da-alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1349-1356, 2008.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002. 690 p.

TOBAR-TOSSE, D. E. et al. Caracterização de genótipos de soja-hortaliça por análise de componentes principais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 7, p. 1214-1219, 2015.

WILCKEN, S. R. S.; GARCIA, M. J. M.; SILVA, N. Resistência da alface tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 2, p. 267-271, 2005.

AGRADECIMENTOS

A CAPES, ao CNPq e à FAPEMIG pelo suporte financeiro, à Ufla e à HortiAgro pelo apoio em infraestrutura para realização dos trabalhos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização deste trabalho permitiu avançar em um aspecto importante, no contexto do melhoramento de hortaliças, em particular na cultura da alface.

Historicamente os produtores de alface no Brasil utilizaram, desde o período colonial, cultivares que foram trazidas, principalmente, pelos portugueses e que aqui foram naturalmente se adaptando e sendo selecionadas por eles próprios. Relatos do século XVI evidenciam que a alface já era utilizada nas hortas brasileiras. Em meados da década de 1580 até por volta de 1590, o Padre Fernão Cardim, jesuíta que percorreu os Colégios da Congregação desde o Nordeste do Brasil até São Vicente, em São Paulo, ao escrever os “Tratados da Terra e Gente do Brasil” ressaltou a grande “variedade de legumes e hortaliças”, inclusive, a alface, existentes no Brasil naquele momento, referindo-se não somente àqueles que eram nativos, mas também aos que estavam sendo produzidos, a partir de sementes vindas de outras partes do mundo, principalmente, de Portugal. Assim, é de se acreditar que diferentes cultivares de alface, cujas sementes eram produzidas pelos próprios agricultores, foram cultivadas desde então, até a década de 1950, quando a industrialização do país levou a uma mudança na agricultura.

Verifica-se que, a partir da década de 1960, com o avanço do melhoramento genético de hortaliças, inicialmente realizado por instituições públicas e depois por empresas privadas do ramo de sementes, houve uma mudança neste mercado. O produtor passou a utilizar sementes de cultivares, oriundas dos programas de melhoramento das empresas, que se encontravam disponíveis no mercado. As sementes próprias deixaram de ser utilizadas e mantidas pelos agricultores. Com isto, a variabilidade genética disponível hoje, nestas cultivares, é relativamente pequena, principalmente, considerando cada grupo ou tipo de alface.

Os agricultores que trabalham em sistemas alternativos são dependentes de uma oferta de sementes de cultivares com pouca variabilidade e que foram, por muitos anos, selecionadas em condições de cultivo convencional.

Atender aos princípios de sustentabilidade social, econômica e ambiental, com maior independência na utilização de insumos, especialmente, de origem convencional, é um aspecto imperativo para este agricultor. Assim, torna-se de grande importância contribuir para que ele possa caminhar, no sentido de alcançar estes objetivos, o que se acredita possa ser realizado, mediante o desenvolvimento de um trabalho compartilhado, com a participação direta do agricultor.

Com a realização deste trabalho, foi possível, mediante o cruzamento entre cultivares de alface contrastantes, uma crespa de folha solta e coloração arroxeadada e outra de folha crespa repolhuda e coloração verde-escuro, constatar a possibilidade de gerar variabilidade para se proceder à seleção.

Em plantas da geração F₂ (FIGURA 2), foi possível visualizar a variabilidade fenotípica existente, a partir do cruzamento entre as cultivares Salinas 88 e Colorado, para características como coloração e tipos de borda e limbo foliares.

Figura 2 - Amostra de plantas da geração F₂ do cruzamento entre as cultivares Salinas 88 e Colorado.



Fonte: Do autor (2018).

Os produtores puderam, mediante visitas à área de plantio (FIGURA 3), participar de discussões sobre o desenvolvimento do trabalho, com participação ativa nas avaliações fenotípicas das plantas, de acordo com as características de interesse. Nestes momentos de discussão, foram apresentadas as características da espécie, sistema de reprodução, tipo de cultivar mais utilizada, dinâmica das populações segregantes, ao longo das gerações de autofecundação, entre outros.

Figura 3 - Visita e avaliação pelos produtores da Ecominas (Pouso Alegre).



Fonte: Do autor (2018).

Pode-se considerar que os resultados obtidos e apresentados vão além dos aspectos técnicos científicos. Foi possível ao agricultor entender e visualizar a possibilidade de se resgatar variabilidade genética mediante o cruzamento entre materiais contrastantes. Foi possível visualizar as diferenças e as possibilidades de seleção a partir desta variabilidade. Está sendo possível entender que, para algumas espécies, não há como resgatar variedades antigas, ou variedades crioulas. É necessário resgatar variabilidade genética, para que, utilizando-se da seleção, seja possível gerar novas variedades crioulas.

Assim, este trabalho pode servir como um modelo para contribuir ao desenvolvimento de novas cultivares de alface adaptadas a sistemas orgânicos, agroecológicos, biodinâmicos e naturais, mediante a adoção de uma prática de pesquisa participativa, com experimentos realizados nas condições das propriedades, envolvendo a instituição de pesquisa, os agricultores e os extensionistas, que, normalmente, atuam nestas áreas.