



JOANA D'ARC MENDES VIEIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALFACE E
ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS PARA
PIGMENTOS FOLIARES**

**LAVRAS-MG
2021**

JOANA D'ARC MENDES VIEIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALFACE E ESTIMATIVAS DE
PARÂMETROS GENÉTICOS PARA PIGMENTOS FOLIARES**

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 Doutor.

Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes
Orientador

Prof. Dr. Marcos de Souza Gomes
Coorientador

**LAVRAS-MG
2021**

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

Vieira, Joana D'arc Mendes.

Caracterização de genótipos de alface e estimativas de parâmetros genéticos para pigmentos foliares / Joana D'arc Mendes Vieira. - 2020.

76 p. : il.

Orientador(a): Luiz Antônio Augusto Gomes.

Coorientador(a): Marcos de Souza Gomes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. *Lactuca sativa*. 2. Melhoramento genético. 3. Compostos bioativos. I. Gomes, Luiz Antônio Augusto. II. Gomes, Marcos de Souza. III. Título.

JOANA D'ARC MENDES VIEIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALFACE E ESTIMATIVAS
DE PARÂMETROS GENÉTICOS PARA PIGMENTOS FOLIARES**

**CHARACTERIZATION OF LETTUCE GENOTYPES AND ESTIMATES
OF GENETIC PARAMETERS FOR FOLIAR PIGMENTS**

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 Doutor.

APROVADA em 13 de novembro de 2020.

Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira UFLA

Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho UFLA

Dr. Valter Carvalho de Andrade Júnior UFLA

Dr. Marcos de Souza Gomes UFU

Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes
Orientador

Prof. Dr. Marcos de Souza Gomes
Coorientador

**LAVRAS – MG
2021**

A Deus, pelo Seu infinito amor e por ser presença constante em minha vida. À minha mãe Maria, meu amor, exemplo na escola da vida, pelo seu grande amor, carinho, luta e dedicação, e pelos seus esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Ao meu pai Assunção, pelo amor, carinho e incentivo a mim dedicados. Aos meus irmãos Francisca e Antônio de Assunção, pelo amor, amizade e apoio. Às minhas sobrinhas Mariana, Maria Luiza e Monalisa, pela amizade e amor. Ao Marcio Rogério, por seu amor e apoio constante.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me orientar pelo caminho da vida e pelo Seu amor incondicional.

Aos meus pais (Maria e Assunção), irmãos (Francisca e Antônio de Assunção) e sobrinhas (Mariana, Maria Luiza e Monalisa), pelo amor, apoio e incentivo durante todos esses anos.

Ao Márcio Rogério, pelo carinho, amor e incentivo durante esta caminhada.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade de realização do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes, pela orientação, pelos conhecimentos repassados e conselhos durante o doutorado.

Ao professor Dr. Marcos de Souza Gomes, que me coorientou, e contribuiu com a realização das análises químicas do experimento.

Ao Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia da UFLA, em Ijaci, Minas Gerais, por ceder as instalações para a condução dos experimentos. Em especial, ao Vicente e a todos os funcionários pelo auxílio nas atividades desenvolvidas.

A todos os colegas do Grupo de Melhoramento de Hortaliças, em especial à Sylmara, Daniele, Deborah, Andrei, Giuliana, Pedro, Gabriel, Vitor, André e Breno, que tiraram pelo menos uma hora do seu tempo para me auxiliar na condução do experimento.

A todos os membros do Núcleo de Estudos em Olericultura – NEO, pela oportunidade de exercer os cargos de coordenadora científica e coordenadora de extensão, além de poder participar de vários eventos técnicos-científicos. Agradeço especialmente ao membro Orlando, pelas sugestões na realização das análises estatísticas.

A todos os funcionários do Setor de Olericultura, Stéfany, Josimar e Luiz, por disponibilizarem o local quando foi necessário.

À secretária do programa de pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, Marli, pelo carinho e atenção durante o curso de doutorado.

Ao Professor Dr. Eduardo Mendes Ramos, pela disponibilização do colorímetro e pela boa vontade em me ajudar.

À Lethícia Bueno, pelo auxílio na realização das análises colorimétricas.

Ao professor Dr. Evaristo Mauro de Castro, pela boa vontade em disponibilizar o clorofilômetro usado no experimento.

Ao professor Dr. Antônio Chalfun Junior e ao técnico Dartagnan Godinho, pela boa vontade em disponibilizar o uso do laboratório e de equipamentos quando foram necessários.

À banca examinadora, pela prontidão e contribuições com o trabalho.

À Sabrina, pelo carinho e pela boa vontade em me ajudar na coleta de material vegetal e nas análises do experimento.

A todos os colegas que fiz em Lavras, especialmente ao Ediu, Neilton e Gracielle.

A todos os familiares e amigos que não foram citados aqui, mas torceram por mim e fazem parte da minha história.

A todos, muito obrigada. E que Deus em nome de Jesus abençoe vocês infinitamente!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Muito obrigada!

“Confia no Senhor de todo o teu coração e não te estribes no teu próprio entendimento. Reconhece-O em todos os teus caminhos, e Ele endireitará as tuas veredas. Feliz é o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire conhecimento; porque melhor é o lucro que ela dá do que o lucro da prata, e melhor a sua renda do que o ouro mais fino. Mais preciosa é do que as pérolas, e tudo o que podes desejar não é comparável a ela.”

(Provérbios 3:5-6 e 13-15, Bíblia Sagrada)

RESUMO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no mundo. A inserção deste vegetal na dieta traz importantes benefícios à saúde, especialmente devido a mistura complexa de compostos bioativos em suas folhas, tais como carotenoides, antocianinas e clorofila. O aumento nos níveis desses fitoquímicos em alface pode elevar a ingestão dos mesmos, sem exigir necessariamente um aumento no consumo. No melhoramento genético da alface é importante a obtenção de genótipos que agreguem uma série de caracteres favoráveis, tanto relacionados à sua função como alimento funcional, quanto no âmbito agrônomico. Desta forma, os objetivos neste trabalho foram avaliar os teores de antocianinas, carotenoides e clorofila em folhas de plantas de alface, correlacionando-os com caracteres colorimétricos e de escala de cor, bem como caracterizar progênies visando identificar genótipos apropriados ao mercado. Para obtenção das plantas das gerações do objeto do estudo, foi feito o cruzamento entre as cultivares contrastantes para tipo de folha, Red Star (cor vermelha, de folhas do tipo crespa e solta) e Darkland (cor verde escura do tipo romana) e as autofecundações necessárias. Em seguida, foi conduzido um experimento no qual foram utilizadas 36 plantas de cada um dos genitores e da geração F₁, 312 plantas da geração F₂ e 36 plantas de cada uma das 30 progênies F_{2:3} obtidas. Plantas dos diferentes genótipos foram distribuídas em canteiros, seguindo o delineamento em blocos completos casualizados, com três repetições. Quando as plantas atingiram a maturação comercial foram avaliadas quanto aos seguintes caracteres: teor de antocianinas totais, teor de carotenoides totais; índice de conteúdo de clorofila SPAD; coordenadas colorimétricas L*, a*, b*, croma e °hue; além de uma escala de notas para tipo de limbo, tipo de borda, tipo comercial e cor das folhas. As plantas de cada uma das progênies, em função do elevado número de plantas, foram avaliadas somente para as características baseadas em escala de notas, enquanto as outras populações foram avaliadas para todos os caracteres. Os dados coletados por meio de avaliações nos genitores e das populações F₁ e F₂ foram utilizados para estimar parâmetros genéticos, visando determinar o tipo de controle genético envolvido na expressão dos caracteres. As médias das populações foram utilizadas para se proceder a uma análise de correlação entre os caracteres. Já em relação às progênies, foi realizada a comparação de médias pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade, entre cada progênie F_{2:3} e cada um dos genitores, a fim de se confirmar o tipo de segregação. Verificou-se que houve predominantemente ação gênica do tipo dominância parcial para todos os caracteres relacionados à cor da folha de alface. A cor vermelha pode ser utilizada como auxílio em programas de melhoramento de alface para a seleção de genótipos com alto teor de antocianinas e carotenoides. O uso de colorimetria e escala de notas de cor da folha podem ser utilizados como métodos eficazes para inferir sobre o teor de antocianinas e carotenoides e índice de clorofila, devido as fortes correlações entre estes caracteres. Verificou-se uma alta herdabilidade no sentido amplo, em torno de 90% para a maioria dos caracteres, o que por sua vez, pode favorecer ganhos com a seleção fenotípica. Embora a maioria das progênies F_{2:3} ainda apresentem segregação para os caracteres agrônomicos, a progênie UFLA34 apresentou mínima variação nesses caracteres, podendo se encontrar já em maior homozigose.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*. Melhoramento genético. Compostos bioativos.

ABSTRACT

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is the most consumed leafy vegetable in the world. The insertion of this vegetable in the diet brings important health benefits, especially due to the complex mixture of bioactive compounds in its leaves, such as carotenoids, anthocyanins and chlorophyll. The increase in the levels of these phytochemicals in lettuce can increase their intake, without necessarily requiring an increase in consumption. In the genetic improvement of lettuce it is important to obtain genotypes that add a series of favorable characters, both related to its function as a functional food, and in the agronomic scope. Thus, the objectives in this work were to evaluate the levels of anthocyanins, carotenoids and chlorophyll in leaves of lettuce plants, correlating them with colorimetric and color scale characters, as well as characterizing progenies in order to identify appropriate genotypes for the market. To obtain the plants of the generations of the object of the study, a cross was made between the contrasting cultivars for leaf type, Red Star (red color, of curly and loose leaves) and Darkland (dark green color of the Roman type) and the necessary self-foundations. Then, an experiment was conducted in which 36 plants from each parent and F₁ generation were used, 312 plants from generation F₂ and 36 plants from each of the 30 F_{2:3} progenies obtained. Plants of the different genotypes were distributed in beds, following the complete randomized block design, with three replications. When the plants reached commercial maturity, they were evaluated for the following characters: total anthocyanin content, total carotenoid content; chlorophyll content index SPAD; colorimetric coordinates L*, a*, b*, chroma and °hue; besides a scale of notes for type of limbo, type of border, commercial type and color of the leaves. The plants of each of the progenies, due to the high number of plants, were evaluated only for the characteristics based on scale of notes, while the other populations were evaluated for all the characters. The data collected through evaluations on the parents and the F₁ and F₂ populations were used to estimate genetic parameters, in order to determine the type of genetic control involved in the expression of the characters. The population means were used to perform a correlation analysis between the characters. In relation to the progenies, the comparison of means was performed by the Dunnett test, at 5% probability, between each F_{2:3} progeny and each of the parents, in order to confirm the type of segregation. It was found that there was predominantly partial dominance gene action for all characters related to the color of the lettuce leaf. The red color can be used as an aid in lettuce breeding programs for the selection of genotypes with a high content of anthocyanins and carotenoids. The use of colorimetry and scale of leaf color notes can be used as effective methods to infer on the content of anthocyanins and carotenoids and chlorophyll index, due to the strong correlations between these characters. There was a high heritability in the broad sense, around 90% for most characters, which in turn, can favor gains with phenotypic selection. Although most of the F_{2:3} progenies still present segregation for agronomic traits, the UFLA34 progeny showed minimal variation in these characters, and may be already more homozygous.

Keywords: *Lactuca sativa*. Plant breeding. Bioactive compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Diagrama cromático CIE.....	26
Figura 2 - Escala de notas utilizada para avaliação da cor das folhas de alface.	45
Figura 3 - Distribuição de frequência de notas de antocianinas, carotenoides, clorofila, L*, a*, b*, croma e °hue em plantas de alface dos genótipos Darkland e Red Star e em plantas da geração F ₁ (Darkland x Red Star) e da geração F ₂ (Darkland x Red Star).	53
Figura 4 - Distribuição de frequência de notas de coloração em plantas de alface dos genótipos Darkland e Red Star e em plantas da geração F ₁ (Darkland x Red Star) e da geração F ₂ (Darkland x Red Star).	55
Figura 5 - Escala de notas utilizada para avaliação do tipo de Limbo em folhas de alface.	64
Figura 6 - Escala de notas utilizada para avaliação do tipo de borda em folhas de alface.	64
Figura 7 - Escala de notas utilizada para classificação comercial em plantas de alface.	64
Figura 8 - Escala de notas utilizada para avaliação da cor das folhas de alface.	65
Quadro 1 - Estimativa dos parâmetros genéticos.	47
Quadro 2 - Estimativa dos parâmetros genéticos.	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Escala de notas para os caracteres antocianinas, carotenoides, clorofila, L*, a*, b*, croma e °hue em folhas de alface (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	46
Tabela 2 -	Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres avaliados em folhas de alface das cultivares Red Star (P ₁), Darkland (P ₂), F ₁ ('Red Star' x 'Darkland' e na população F ₂ ('Red Star' x 'Darkland')).	48
Tabela 3 -	Coefficientes de correlação fenotípica (rF) e correlação genotípica (rG), entre caracteres analisados em folhas de alface.	50
Tabela 4 -	Resumo da análise de variância para os caracteres tipo de limbo, tipo de borda, tipo comercial e cor da folha, em 30 progênies F _{2:3} de alface, obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland, considerando como testemunhas os genitores com base no padrão dos caracteres agronômicos.	67
Tabela 5 -	Comparação de médias para os caracteres tipo de limbo, tipo de borda, tipo comercial e cor de folhas pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade, entre progênies F _{2:3} de alface e seus genitores 'Red Star' e 'Darkland'	68
Tabela 6 -	Coefficientes de correlação fenotípica (acima da diagonal) e correlação genotípica (abaixo da diagonal), entre caracteres avaliados em progênies de alface obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland.	71
Tabela 7 -	Parâmetros genéticos para caracteres agronômicos de progênies F _{2:3} de alface obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland.	72

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO 14
2	REFERENCIAL TEÓRICO 16
2.1	A cultura da alface (<i>Lactuca sativa</i> L.) 16
2.2	Compostos bioativos..... 17
2.2.1	Antocianinas..... 19
2.2.2	Carotenoides 21
2.2.3	Clorofilas 23
2.3	Colorimetria..... 24
2.4	Estimativas de parâmetros genéticos..... 28
	REFERÊNCIAS 31
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS* 37
	ARTIGO 1 - ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS PARA
	COLORIMETRIA E PIGMENTOS FOLIARES EM GENÓTIPOS DE
	ALFACE..... 38
1	INTRODUÇÃO 39
2	MATERIAL E MÉTODOS 41
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO 47
4	CONCLUSÕES 55
	REFERÊNCIAS 57
	ARTIGO 2 – PARÂMETROS GENÉTICOS E CARACTERIZAÇÃO DE
	PROGÊNIES F_{2:3} DE ALFACE ORIUNDAS DE GENÓTIPOS
	CONSTRASTANTES PARA PIGMENTOS FOLIARES 60
1	INTRODUÇÃO 61
2	MATERIAL E MÉTODOS 62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO 66
4	CONCLUSÕES 72
	REFERÊNCIAS 73
	TERCEIRA PARTE - CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 75

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Dentre as hortaliças folhosas, a alface (*Lactuca sativa* L.) tem grande importância econômica no Brasil, devido aos seus altos índices de produção e comercialização. As folhas desta planta são uma boa fonte de fibras alimentares, potássio, fósforo, cálcio e vitamina C, apresentando poucas calorias e baixo teor de sódio e lipídeos (NEPA, 2011). Além de ser uma boa fonte de nutrientes, a alface atua também como um alimento funcional, devido a complexa mistura de fitoquímicos, tais como antocianinas, carotenoides e clorofila presente nas folhas.

Nos últimos tempos tem aumentado o interesse por esses pigmentos, já que pesquisas desenvolvidas têm demonstrado, dentre outros efeitos fisiológicos, a capacidade antioxidante (LLORACH *et al.*, 2008; LÓPEZ *et al.*, 2014; STAHL; SIES, 2005). Desta forma, são de grande importância comercial, podendo ser utilizados tanto como pigmentos, quanto como antioxidantes (STREIT *et al.*, 2005). Os pigmentos na alface desempenham importantes funções fisiológicas na planta, como os processos fotossintéticos e defesa de estresse pela ação da luz, sendo que sua inserção na dieta humana está associada a benefícios à saúde, especialmente devido a ação antioxidante desses compostos (STEIDLE NETO *et al.*, 2017). Por exemplo, os carotenoides α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina são conhecidos por serem precursores de vitamina A e seu consumo está associado ao menor risco de desenvolvimento de doenças crônicas devido às suas propriedades antioxidantes (KIM *et al.*, 2016).

Em alface, o aumento nos níveis dos compostos bioativos nas folhas poderia levar à maior ingestão desses fitoquímicos, sem exigir necessariamente o aumento no consumo (MOU, 2005). Assim, tornam-se relevantes os programas de melhoramento genético que busquem elevar os teores de antocianinas, carotenoides e clorofila em alface. Por outro lado, deve-se observar que essa espécie possui uma elevada variabilidade, existindo diferentes tipos varietais, apresentando folhas de diferentes cores, formas e texturas (CARVALHO FILHO; GOMES; MALUF, 2009). Desta forma, é importante para o aumento nos níveis desses compostos, a caracterização prévia das folhas, principalmente, quando a população segregante é oriunda de genitores contrastantes para o caráter desejado.

Ao longo dos anos, o homem, por meio do melhoramento genético convencional, vem manipulando as plantas cultivadas, sendo os caracteres de interesse, determinados por certos genes, transferidos às progênes por meio de cruzamento (SARTORETTO; SALDANHA; CORDER, 2008). Deste modo, quando não ocorre a disponibilidade de genótipos que possuam os caracteres almejáveis para a produção em cultivos comerciais, tais como tamanho e

uniformidade de plantas, entre tantos outros, torna-se necessário um programa de melhoramento específico para obtê-los. Dentre outros fatores, o sucesso desses programas depende da disponibilidade de populações que apresentem variabilidade, particularmente a de natureza genética, para a obtenção de genótipos superiores em gerações originadas por hibridação de germoplasmas de interesse (AZEVEDO *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2008).

Para fins de seleção, as estimativas de parâmetros genéticos permitem conhecer a estrutura genética de populações (SANTOS *et al.*, 2018). Estes estudos e os de correlações entre caracteres a serem melhorados em plantas são de grande importância ao iniciar um programa de melhoramento, pois influenciam no estabelecimento de métodos apropriados e, assim, potencializam os ganhos aos programas (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012). Dentre os parâmetros genéticos e fenotípicos que podem contribuir para o direcionamento da seleção de genótipos de alface mais promissores, destacam-se as variâncias genotípicas e fenotípicas, as herdabilidades, os ganhos genéticos esperados, as correlações genotípicas e fenotípicas o coeficiente de variação genético, a razão CV_g/CV_e e o grau médio de dominância.

Desta forma, o objetivo neste trabalho foi estudar geneticamente a distribuição quantitativa de antocianinas, carotenoides e clorofila e sua correlação com caracteres colorimétricos e de escala de cor em uma população segregante de alface, oriunda do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland (contrastantes para coloração), bem como caracterizar progênies $F_{2,3}$ de alface visando identificar genótipos mais promissores para o mercado brasileiro, com base em caracteres agronômicos desejáveis à comercialização.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da alface (*Lactuca sativa* L.)

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa de maior importância no mundo. É originária da região mediterrânea, existindo evidências de cultivo no Egito antigo (RYDER, 1999). Foi levada para a América, possivelmente em 1494, com as expedições de Cristóvão Colombo para o Novo Mundo, porém, no Brasil, sua introdução foi feita pelos portugueses em 1650 (RYDER, 1999; SALA; COSTA, 2012).

A alface pertence à família *Asteraceae*, possui porte herbáceo, suas folhas podem ser crespas ou lisas, cujo crescimento é em forma de roseta ao redor de um caule diminuto, e pode ou não formar cabeça. São plantas anuais e florescem sob temperaturas altas e dias longos, que se inicia com o pendoamento, sendo que condições ambientais de temperaturas amenas e dias curtos favorecem a etapa vegetativa do ciclo (FILGUEIRA, 2008). As temperaturas ideais para o desenvolvimento está na faixa de 15,5 e 18,3 °C, porém, podem tolerar temperaturas na faixa entre 26,6 a 29,4 °C por alguns dias, desde que as temperaturas noturnas sejam amenas (SANDERS, 2020). A tolerância ao calor gera preocupações para a escolha de cultivares para plantio, pois temperaturas acima de 20 °C, comumente, levam ao pendoamento precoce das plantas, tornando a hortaliça imprópria para o consumo pela produção de látex que confere sabor amargo às folhas (CARVALHO FILHO; GOMES; MALUF, 2009).

A alface é propagada via sementes, que botanicamente são classificadas como frutos secos, do tipo aquênio. Sua maturação fisiológica é, em média, 12 dias após a antese do florete, sendo que uma planta de alface pode produzir até 20 gramas de aquênios, dependendo do período do florescimento e do tipo varietal (COSTA; SALA, 2005 apud VILLELA, 2009). A germinação das sementes é influenciada pelos fatores genético e ambiental. Dentre os fatores ambientais estão a umidade, temperatura e luz (BERTAGNOLLI *et al.*, 2003).

A planta é rica em nutrientes e compostos bioativos. De acordo com a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (NEPA, 2011), em 100 g de folha crua de alface roxa há aproximadamente: 13 Kcal; 95,7 g de água; 0,9 g de proteínas; 0,2 g de lipídeos; 2,5 g de carboidratos, 2,0 g de fibra alimentar; 34 mg de cálcio; 9 mg de magnésio; 0,12 mg de manganês; 51 mg de fósforo; 2,5 mg de ferro; 7 mg de sódio, 308 mg de potássio; 0,04 mg de cobre; 0,2 mg de zinco; 156 RE (equivalente de retinol) de vitamina A; 13,5 mg de vitamina C total; e traços de vitamina B3 (niacina), vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina) e vitamina B6 (piridoxina).

A alface apresenta diversos formatos de cabeça, e folhas de diferentes formas, cores e texturas (CARVALHO FILHO; GOMES; MALUF, 2009; STEIDLE NETO *et al.*, 2017). A alface do tipo varietal lisa era preferida pelos consumidores brasileiros até a década de 90 (SALA; COSTA, 2012). Porém, atualmente, a alface do tipo crespa é a mais comercializada nas ceasas do país, seguida das alfaces americana, mimosa, lisa, romana e vermelha (também conhecida como alface roxa) (CONAB, 2021).

Embora as alfaces romana e vermelha sejam menos comercializadas têm apresentado tendência de aumento nos últimos anos (CONAB, 2021). O aumento no consumo de saladas prontas (*mixsalad*), constituídas da mistura de diferentes folhosas, tem levado ao aumento da demanda de alface vermelha, inclusive no Brasil, as grandes redes de fornecedores de alimentos prontos no país oferecem a *mixsalad*, similar às encontradas nos EUA (SALA; COSTA, 2005). Neste tipo de salada são utilizados diferentes tipos de alface com formas e cores atrativas, combinando as características de melhor qualidade de todas as variedades (KIM *et al.*, 2018). A alface vermelha é muito utilizada em misturas de saladas, tanto por sua cor atrativa quanto pela relação da sua cor com o alto teor de antocianinas (MULABAGAL *et al.*, 2010). Já a alface romana é bastante utilizada em saladas por apresentar excelente textura foliar e sabor mais adocicado, conquistando o paladar do consumidor (SALA; COSTA, 2012).

2.2 Compostos bioativos

Os fitoquímicos são compostos bioativos de plantas, não nutrientes, encontrados em frutas, verduras e outros tecidos vegetais, estando associados a benefícios à saúde. Em relação a estrutura química, podem ser classificados como carotenoides, compostos fenólicos, alcaloides, compostos contendo nitrogênio e compostos organossulfurados, sendo os compostos fenólicos e carotenoides os mais estudados (LIU, 2004).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário de plantas e são sintetizados durante o desenvolvimento normal e em resposta às condições de estresse, tais como infecção, ferimento e radiação UV (NACZK; SHAHIDI, 2004). Esses compostos dispõem de um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxilas e são classificados como ácidos fenólicos (ácidos hidroxibencóicos e ácidos hidroxicianamida), flavonoides (flavonóis, flavonas, flavonóis-catequinas, flavononas, antocianinas e isoflavonoides), estilbenos, cumarinas e taninos (LIU, 2004). São comuns na dieta humana, colorem frutas e verduras com tons de vermelho, azul e roxo, e estão associados à redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas (BAENA, 2015).

Há evidência que uma dieta rica em antioxidantes tem impacto positivo na saúde a longo prazo (SHEBIS *et al.*, 2013). Em uma dieta típica, os vegetais são a principal fonte de diversas classes de fitoquímicos considerados compostos antioxidantes (DOU *et al.*, 2017). Dentre as verduras, a alface apresenta atividade antioxidante devido aos fitoquímicos que possui (LLORACH *et al.*, 2008). Dentre os fitoquímicos que contribuem para esse potencial antioxidante estão as antocianinas, carotenoides e clorofilas (KIM *et al.*, 2018; LÓPEZ *et al.*, 2014).

Antioxidante pode ser definido como "qualquer substância que atrasa, previne ou remove o dano oxidativo a uma molécula alvo" (HALLIWELL, 2007, p. 1147). Por sua vez, dano oxidativo é definido como "O dano biomolecular que pode ser causado pelo ataque direto de espécies reativas de oxigênio (EROs) durante o estresse oxidativo" (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004, p. 233). Os radicais livres em consequência das reações de oxidação, podem iniciar várias reações em cadeia que, ocasionalmente, causam danos ou morte à célula, sendo perigosos para todas as células vivas, especialmente àquelas próximas a locais onde o oxigênio ativo é liberado pela fotossíntese, agindo os antioxidantes como removedores desses intermediários de radicais livres, oxidando-os e inibindo outras reações de oxidação e interrompendo as reações prejudiciais em cadeia (SHEBIS *et al.*, 2013).

Em plantas, as EROs acumulam-se nas células durante estresses ambientais e são detoxificadas por enzimas especializadas e antioxidantes pela inativação de EROs. Estes antioxidantes biológicos são compostos orgânicos pequenos ou peptídeos pequenos que podem aceitar elétrons de EROs como superóxido ou H_2O_2 e neutralizá-los. Nas células, as enzimas e os antioxidantes de detoxificação de EROs funcionam como uma rede sustentada por diversos sistemas de reciclagem de antioxidantes que reabastecem o nível de antioxidantes reduzidos, mantendo assim, um nível seguro delas nas células e, simultaneamente, permite que a célula as use para reações de transdução de sinal (TAIZ *et al.*, 2017).

Em humanos, as EROs podem ser geradas endogenamente pelo metabolismo normal, podendo causar danos oxidativos por meio de uma reação em cadeia que culmina em efeitos deletérios (HORST; MORENO, 2009). O estresse oxidativo é um fator de risco que pode levar a diversas enfermidades humanas, dentre outros fatores, em decorrência de estímulos exógenos, como a ausência de nutrição adequada, a exposição a poluição do ar, o tabagismo, a realização excessiva de exercícios físicos tanto em intensidade quanto em quantidade etc., levando a doenças letais, como o câncer, sendo importante incluir antioxidantes nas dietas (SHEBIS *et al.*, 2013; SILVA; JASIULIONIS, 2014), pois, antioxidantes alimentares com capacidade de

inativar EROs apresentam proteção contra danos oxidativos e são importantes preventivos (HORST; MORENO, 2009).

No entanto, é importante a manutenção do equilíbrio entre os antioxidantes e as moléculas de EROs. As defesas antioxidantes controlam os níveis de EROs em vez de eliminá-los. Desta forma, a produção de EROs é aproximadamente equilibrada com sistemas de defesa antioxidante em aeróbios saudáveis, e apesar do equilíbrio entre essa ‘balança’ não ser perfeito, para que ocorra algum dano mediado por EROS é necessário haver um contínuo desequilíbrio entre esses componentes (HALLIWELL, 2007). A ausência desse equilíbrio em humanos, conforme já mencionado acima, gera problemas de saúde como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas e envelhecimento prematuro (VALKO *et al.*, 2007). Em plantas, é importante manter o equilíbrio frágil dessas moléculas e antioxidantes (SHEBIS *et al.*, 2013), pois essas moléculas desempenham um papel importante de sinalização nas plantas, controlando processos como crescimento, desenvolvimento e até morte celular programada (BAILEY-SERRES; MITTLER, 2006).

A ingestão de antioxidantes naturais tem sido associada a baixa incidência de algumas doenças, como câncer e doenças cardiovasculares (SHEBIS *et al.*, 2013). Estudos apresentam os compostos antioxidantes como patrocinadores de efeitos anti-inflamatórios, anticancerígenos, antibacterianos, antitumorais ou antimutagênicos nas células (CAI *et al.*, 2004; HALLIWELL, 1994; OWEN *et al.*, 2000; XIONG *et al.*, 2013). Desta forma, mudanças de hábitos alimentares que garantam o consumo apropriado de frutas e verduras constitui estratégia eficaz, efetiva, eficiente e segura para diminuir o risco de doenças crônicas, sendo que o consumo regular de uma grande variedade de alimentos vegetais de várias cores e tonalidade podem maximizar estes efeitos benéficos (BAENA, 2015).

2.2.1 Antocianinas

As antocianinas são compostos fenólicos pertencentes a classe dos flavonóides que apresentam uma estrutura composta por dois anéis aromáticos ligados por três átomos de carbono que formam um heterociclo oxigenado (WELCH; WU; SIMON, 2008). Nas plantas, são encontradas várias antocianinas e as seis principais são a pelargonidina, a cianidina, a peonidina, a delphinidina, a petunidina e a malvidina (TANAKA; SASAKI; OHMIYA, 2008). A intensidade e tonalidade da cor e a estabilidade dessas antocianinas são propriedades muito importantes, pois são altamente influenciadas pela estrutura, pH, temperatura, luz, oxigênio (WELCH; WU; SIMON, 2008), além de fatores genéticos (GAZULA *et al.*, 2007).

As antocianinas são compostos solúveis em água que são sintetizadas no citosol e estão localizadas em vacúolos na superfície da casca de frutas, folhas e flores, sendo responsáveis por uma diversidade de cores que vão do laranja/vermelho ao violeta/ azul (TANAKA; SASAKI; OHMIYA, 2008). De modo geral, à medida que aumenta a concentração vacuolar de antocianinas, a tonalidade da cor pode ser afetada, causando a diferença entre a cor rosa e o vermelho escuro (WELCH; WU; SIMON, 2008). Segundo Ryder (1999) a cor e a intensidade vermelha da folha da alface variam com o teor de clorofila e teor de antocianina. O controle genético da cor vermelha das suas folhas são condicionadas por genes complementares C e G em associação com alelos múltiplos que intensificam a quantidade de antocianina, controlam a cor vermelha de plantas de alface, sendo o alelo R responsável pela coloração vermelha da superfície da folha que na presença do alelo i potencializa a intensidade do vermelho (THOMPSON, 1938; LINDQUIST, 1960 apud RYDER, 1999). Devido a essas relações, existe estudo que relata fortes correlações entre a concentração de antocianina e os parâmetros de cor (GAZULA *et al.*, 2007).

Esse pigmento, além de ser responsável pela variação de cores em plantas, exibem uma série de benefícios à saúde (MULABAGAL *et al.*, 2010). Em alface, por exemplo, as antocianinas, além de contribuir para a cor vermelha das folhas também são responsáveis pela maior atividade antioxidante (KIM *et al.*, 2018), de modo que as antocianinas são mais abundantes nas variedades vermelhas (LLORACH *et al.*, 2008).

Diversas são as funções desempenhadas pelas antocianinas, algumas delas se destacam, tais como a proteção à ação da luz, mecanismo de defesa, atração aos insetos, modulação da fotoinibição, potencialização da fotossíntese, além de atuarem como antioxidantes (LOPES *et al.*, 2007; MALACRIDA; MOTTA, 2006). As cores vivas e intensas que elas produzem, provavelmente são responsáveis pela atuação como atrativo para polinizadores e dispersores de sementes (EVERT; ESAU, 2013).

Os níveis de antocianina são significativamente influenciados pela genética das plantas (GAZULA *et al.*, 2007). Kim *et al.* (2018) avaliaram a composição de fitoquímicos em cultivares de alface de colorações verde, verde/vermelha e vermelhas e verificaram diferenças significativas no conteúdo de cianidina, o que foi altamente correlacionado com o conteúdo fenólico total e o potencial antioxidante das cultivares estudadas, tendo as cultivares vermelhas obtido os maiores teores. Gazula *et al.* (2007) também verificaram alta variação de teores de antocianinas em diferentes cultivares de alface de cor que variavam do verde ao vermelho escuro, de forma semelhante, foi observado o maior teor desse pigmento nas cultivares vermelhas.

A alface vermelha vem se tornando popular entre os consumidores de hortaliças. Devido ao teor de antocianina estar relacionado com a cor vermelha de alface e isso estar associado com benefícios à saúde, a seleção e obtenção de genótipos ricos nesses fitoquímicos podem auxiliar os produtores e consumidores a escolher tipos de alface com maiores benefícios funcionais (MULABAGAL *et al.*, 2010). Por exemplo, existem evidências de que a alface tem propriedades anti-inflamatória, redutora do colesterol e anti-diabéticas que são atribuídas a efeitos sinérgicos de compostos bioativos como β -caroteno e antocianina (KIM *et al.*, 2016). Em estudo realizado por Mulabagal *et al.* (2010), os autores observaram que tanto a alface vermelha, quanto a verde, tinham altas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, no entanto, a antocianina na alface vermelha foi considerada como uma fonte adicional de atividade biológica, o que pode indicar que o consumo de alface vermelha pode ofertar melhores benefícios à saúde do que a alface verde.

2.2.2 Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos responsáveis pelas cores do amarelo ao vermelho de frutas, vegetais folhosos e flores (UENOJO; MARÓSTICA JUNIOR; PASTORE, 2007). Segundo Taiz *et al.* (2017), os diferentes tipos de carotenoides encontrados nos organismos fotossintéticos são moléculas lineares com múltiplas ligações duplas conjugadas que servem tanto como pigmentos antenas, quanto como agentes fotoprotetores, sendo constituintes integrais das membranas dos tilacoides e, em geral, estão associados às proteínas que formam o aparelho fotossintetizante. A formação e degradação de carotenoides afetam a cor, o valor nutricional e o perfil de aromas de frutas e vegetais (UENOJO; MARÓSTICA JUNIOR; PASTORE, 2007). Desta forma, são analisados sob vários aspectos, tais como ação fisiológica e sua qualificação e quantificação, em decorrência da sua ampla presença em hortaliças e frutas, e da diversidade de arranjos estruturais que levam a uma variedade de funções (CAMPOS *et al.*, 2006).

Os carotenoides classificam-se em carotenos ou xantofilas, no qual os carotenos são hidrocarbonetos poliênicos com variados graus de insaturação, e as xantofilas são sintetizadas a partir dos carotenos, mediante reações de hidroxilação e epoxidação, sendo o β -caroteno e o licopeno exemplos de carotenos, ao passo que luteína e a zeaxantina são xantofilas (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006). Os carotenoides são um grupo diversificado de pigmentos lipossolúveis amplamente presentes em vegetais, porém, o organismo humano não consegue sintetizar carotenoides, assim sendo, esses vegetais constituem suas principais fontes.

Os principais carotenoides presentes na alimentação são α -caroteno, β -carotenos, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina e licopeno (ALALUF *et al.*, 2002). Dentre esses fitoquímicos, o β -Caroteno e a luteína são os mais encontrados em alface, embora, o seu conteúdo varie de acordo com os tipos de genótipos (KIM *et al.*, 2016).

Os pigmentos carotenoides desempenham funções importantes na fotossíntese e fotoproteção nos tecidos vegetais (LIU, 2004), pois atuam tanto na absorção do oxigênio singlete, quanto na de radicais livres, para interromper as reações em cadeia onde eles estão envolvidos (SILVA *et al.*, 2010). Esse papel da fotoproteção também está associado à sua atividade antioxidante (LIU, 2004), sendo bastante estudados como agentes antioxidantes em sistemas biológicos. Esses compostos proporcionam benefícios à saúde, especialmente atuando na diminuição do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, principalmente as oculares, cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Nesse sentido, o β -caroteno, a luteína e a zeaxantina são os compostos mais estudados (HORST; MORENO, 2009).

Os carotenoides são utilizados comercialmente como corantes alimentícios e em suplementos nutricionais (UENOJO; MARÓSTICA JUNIOR; PASTORE, 2007), em razão de suas propriedades como corantes naturais, antioxidantes e sua função de pró-vitamina A (HORST; MORENO, 2009). É de conhecimento que a vitamina A é um composto que se encontra apenas em alimentos de origem animal, em diversas formas: retinol, retinil, retinal e ácido retinóico (CAMPOS; ROSADO, 2005). Tendo a vitamina A importância nos processos normais de crescimento e desenvolvimento, para proteção da pele, bom funcionamento do sistema imune e para a visão (HORST; MORENO, 2009). Os carotenoides α -caroteno, β -caroteno e a β -criptoxantina são conhecidos por serem precursores de vitamina A (KIM *et al.*, 2016). A luteína e a zeaxantina são carotenoides que não possuem essa função, mas podem proteger os olhos devido a sua capacidade de absorver a luz azul (HORST; MORENO, 2009).

Nos países em desenvolvimento, dentre as principais estratégias utilizadas no combate contra a deficiência de vitamina A estão na suplementação medicamentosa, na fortificação de alimentos e nas mudanças na alimentação, incluindo maior consumo de vegetais ricos em carotenoides (CAMPOS; ROSADO, 2005), já que a sua deficiência no organismo pode levar à cegueira noturna, xerofthalmia, xerodermia e hiperqueratose folicular (SOMMER, 1995). Desta forma, os vegetais são importantes, pois fornecem pró-vitaminas A que podem ser biologicamente transformadas em vitamina A em organismos animais.

O β -caroteno é convertido a retinol por meio da ação da 15-15' β -caroteno dioxigenase (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006). A clivagem ezimática em mamíferos tem sua máxima

atividade na mucosa intestinal, então o retinol formado é absorvido conjuntamente com o retinol pré-formado ingerido com a dieta (SCOTT; RODRIQUEZ-AMAYA, 2000). O valor estimado de eficiência de conversão do β -caroteno em óleo é de 50%, ou seja, cada 2 μ g de β -caroteno em óleo fornecem 1 μ g de retinol, mas os valores de absorção em uma dieta mista de vegetais é de apenas 14% em relação ao β -caroteno em óleo. Desta forma, o Equivalente de Atividade de Retinol (RAE) corresponde a 1 μ g de retinol ou 12 μ g de β -caroteno ou 24 μ g de outros carotenoides provitamínicos (CAMPOS; ROSADO, 2005).

2.2.3 Clorofilas

As clorofilas são pigmentos abundantes em plantas verdes, tais como a alface. Nas células do mesofilo existem muitos cloroplastos, onde localizam-se as clorofilas. Neste local ocorrem as duas reações importantes da fotossíntese: a etapa fotoquímica, nas membranas dos tilacóides, e a bioquímica, no estroma do cloroplasto, sendo que essas organelas, além das clorofilas, contêm outros pigmentos chamados acessórios, como os carotenoides (STREIT *et al.*, 2005). A distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenoides, os quais acompanham as clorofilas faz com que existam diferenças aparente na cor do vegetal (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000). Por exemplo, segundo Filgueira (2008) as folhas da alface apresentam variação de cor do verde-amarelo até verde-escuro, tendo algumas cultivares coloração arroxeada.

As clorofilas não são moléculas isoladas, e compreendem uma família de substâncias semelhantes. As clorofilas 'a' e 'b' são abundantes nas plantas verdes, e as 'c', 'd' e 'f' são encontradas em alguns protistas e cianobactérias (TAIZ *et al.*, 2017). A clorofila 'a' é a mais importante e a mais abundante dessa família, tal que corresponde aproximadamente a 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais (GROSS, 1991).

Segundo Taiz *et al.* (2017), todas as clorofilas têm uma estrutura de anel do tipo porfirina, sítio dos rearranjos eletrônicos que acontecem quando a clorofila é excitada e dos elétrons não pareados quando ela é oxidada ou reduzida, com um íon magnésio coordenado no centro e uma extensa cauda de hidrocarbonetos hidrofóbicos que as ancora nas membranas fotossintéticas. As diversas clorofilas possuem diferenças, principalmente nos substituintes ao redor dos anéis e nos padrões de ligações duplas.

As clorofilas são de grande importância comercial, podendo ser empregados tanto como pigmentos quanto como antioxidantes (STREIT *et al.*, 2005). Por exemplo, já foi estabelecida correlação positiva entre a concentração de clorofila em extratos vegetais e a sua capacidade de

inibir mutações (KIMM *et al.*, 1982; LAI; BUTLER; MATNEY, 1980). Segundo Lanfer-Marquez (2003), as substâncias químicas antimutagênicas podem ser capazes de agir por mecanismo relacionado com a reparação do DNA, ao retirar a substância que ocasionou a alteração do DNA, ou por uma ação prévia de antioxidante, que impede o dano ao DNA.

Embora as clorofilas sejam pigmentos sintetizados pelos vegetais e importantes para a atividade fotossintética, eles são degradados, pois ao longo do ciclo das plantas as folhas tendem a senescer, e fatores externos tais como redução de luz e mudanças de temperatura também influenciam esse caráter (BORRMANN, 2009). Em folhosas, a mudança da cor geralmente está associada ao amadurecimento, e é considerado, juntamente com a textura, um fator importante na determinação da qualidade comestível, sendo que a degradação da clorofila desmascara pigmentos que já estão presentes e também é acompanhada pela síntese de novos pigmentos (SILVA *et al.*, 2007). Outro aspecto a considerar é a existência dos plastídios que contêm concentrações altas de pigmentos carotenoides, em vez de clorofila, denominados cromoplastos, que são responsáveis pelas cores amarela, laranja ou vermelha de muitos frutos e flores, assim como das folhas envelhecidas (EVERT; ESAU, 2013).

A clorofila pode ser quantificada em plantas por alguns métodos. Em folhas a quantificação do conteúdo de clorofila pode ser realizada por maceração com acetona, ou outro solvente orgânico, e sequente leitura em espectrofotômetro, mas esse é um método destrutivo, pois resulta na coleta destrutiva do material vegetal e ainda é relativamente demorado (AMARANTE *et al.*, 2009). No entanto, existem métodos não destrutivos para a determinação da clorofila, mais simples e rápidos, que utilizam princípios ópticos baseados na absorvância e/ou refletância da luz pelas folhas (RICHARDSON; DUIGAN; BERLYN, 2002). Por exemplo, o clorofilômetro e o colorímetro, vem sendo utilizados para determinar o teor de clorofila, e se contínuem portanto em técnicas não destrutivas de quantificação deste pigmento. Silva *et al.* (2007) ao avaliarem o comportamento da mudança da cor e o teor de clorofila em folhas de alface encontraram um comportamento semelhante entre os valores das clorofilas medidos nos diferentes métodos estudados, clorofilometria (unidade SPAD), colorimetria (ângulo hue 'h°) e espectrometria ($\mu\text{g g}^{-1}$ de folha fresca).

2.3 Colorimetria

O consumo de hortaliças ricas em compostos bioativos tem aumentado devido sua relação com benefícios à saúde, de modo que se torna importante o uso de métodos mais rápidos e práticos que os quantifiquem. Ao longo dos anos, vem ocorrendo avanços tecnológicos em

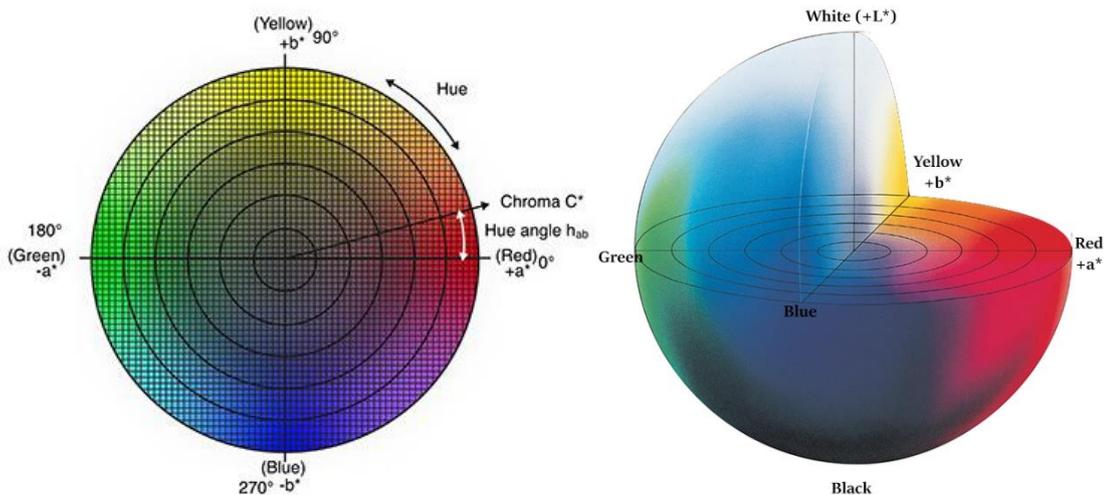
relação à quantificação destes compostos. A medição da cor pode ser utilizada como uma ferramenta indireta de analisar os pigmentos de um produto alimentício (ALVES *et al.*, 2008). Em que, através de métodos não destrutivos, mais simples e rápidos, é possível realizar a determinação da cor por intermédio de princípios ópticos, baseados na absorbância e/ou refletância da luz pelas folhas (RICHARDSON; DUGAN; BERLYN, 2002).

As cores de imagens podem ser processadas utilizando modelos de cores diferentes. Esses modelos são considerados um modelo matemático abstrato que realiza a descrição da maneira como as cores podem ser representadas. Quando um modelo é associado a uma descrição precisa de como os componentes devem ser interpretados, denomina-se espaço de cores (ou diagrama de cromaticidade) o conjunto de cores resultante. O espaço de cores normalmente adotado pelos dispositivos de aquisição de imagens é o RGB (vermelho, verde e azul), enquanto outros tipos de espaço de cores são geralmente derivados do espaço RGB usando transformações lineares ou não lineares (KONDEKAR; BODHE, 2018). Há uma organização sem fins lucrativos considerada como a autoridade na ciência de luz e cor, a *Commission Internationale de l'Eclairage* – CIE (do francês Comissão Internacional de Iluminação), que definiu três principais espaços de cor para a comunicação e expressão das cores, CIE XYZ, CIE $L^*a^*b^*$ (conhecido como espaço de cor CIELAB) e CIE L^*C^*h , ou simplesmente CIELCh (MINOLTA, 2013). Entre os diferentes espaços de cores que existem, o CIELAB foi projetado para se aproximar da visão humana (KONDEKAR; BODHE, 2018), sendo o mais utilizado e recomendado nos dias atuais para a maioria das aplicações industriais, especialmente para alimentos, pois cobre uniformemente a totalidade do espectro visível do olho humano (SANT'ANNA *et al.*, 2013). É importante salientar que o desempenho de um procedimento de análise de imagem depende da escolha do espaço de cores, mas nenhum espaço de cores pode ser considerado universal, já que as cores podem ser interpretadas e modeladas de maneiras diferentes (KONDEKAR; BODHE, 2018).

No espaço CIELAB, são estabelecidos um índice psicométrico de luminosidade (L^*) e duas coordenadas de cores, denominados índices de cromaticidade: os índices de vermelho-verde (a^*) e de amarelo-azul (b^*). No índice L^* cada cor pode ser considerada como equivalente a um membro da escala de cinza, representando o quanto mais clara ou mais escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca) (ALVES *et al.*, 2008; SANT'ANNA *et al.*, 2013). A coordenada a^* apresenta valores negativos para cores esverdeadas e valores positivos para cores avermelhadas, enquanto que a coordenada b^* apresenta valores positivos para cores amareladas e valores negativos para cores azuladas (SANT'ANNA *et al.*, 2013). Além disso, a partir dos índices de cromaticidade é possível se

obter os valores de croma (C^*), ou saturação (intensidade) da cor, e $^{\circ}hue$ (h), ou tonalidade da cor, que fornecem informações valiosas pelo espaço de cor perceptível CIELCh, sendo estes usados para responder à percepção de cores, enquanto que L^* é utilizada para responder à informação de luminância (KONDEKAR; BODHE, 2018). O C^* e o h são caracteres quantitativos e qualitativos da cor, respectivamente. Esses índices podem ser representados pelo diagrama cromático conforme a Figura 1 (MINOLTA, 2018).

Figura 1 - Diagrama cromático CIE.



Fonte: Minolta (2018).

O h é o atributo pelo qual as cores são tradicionalmente definidas como avermelhadas, esverdeadas etc., e é utilizado para estabelecer a diferença de uma determinada cor com referência à cor cinza com a mesma leveza, estando relacionado às diferenças de absorvância em diferentes comprimentos de onda (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). É matematicamente obtido a partir dos índices de cromaticidade (EQUAÇÃO 1) e, no sólido de cor, é representado pelo ângulo do vetor formado com a posição da amostra no espaço de cor (RAMOS; GOMIDE, 2017). Para a análise da tonalidade da cor, o ângulo de 0° (ou 360°) representa a cor vermelha e, girando no sentido anti-horário, tem-se, os ângulos de 90° , 180° e 270° representando tons de amarelo, verde e azul, respectivamente (ALVES *et al.*, 2008; PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). Ainda, por definição da CIE, as tonalidades podem ser assim separadas: vermelho (330° a 25°); laranja (25° a 70°); amarelo (70° a 100°); verde (100° a 200°); azul (200° a 295°) e violeta (295° a 330°) (RAMOS; GOMIDE, 2017).

$$h = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (1)$$

Em que,

h = ângulo de tonalidade (radianus);

b^* = índice de amarelo-azul; e

a^* = índice de vermelho-verde.

O croma ou saturação de cor indica a pureza da cor. Desta forma, é utilizado para determinar o grau de diferença de uma tonalidade em comparação com uma cor cinza com a mesma luminosidade, no qual quanto mais altos os valores de croma, maior é a intensidade da cor das amostras (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). A saturação está ligada diretamente à concentração do elemento corante ou pigmentante da amostras e também é calculado a partir dos índices de cromaticidade (EQUAÇÃO 2). No centro do espaço de cor estão os valores mínimos de C^* , que aumentam à medida que se caminha para as extremidades do círculo, ou seja, os valores de C^* correspondem ao comprimento do vetor no plano (a^* , b^*) (RAMOS; GOMIDE, 2017).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0,5} \quad (2)$$

Em que,

C^* = saturação;

b^* = índice de amarelo-azul; e

a^* = índice de vermelho-verde.

A cor disponibiliza aos seres humanos informações úteis sobre objetos, sendo possível realizar classificação, ordenação, inspeção, verificação e detecção do objeto (KONDEKAR; BODHE, 2018). De modo geral, a luz visível tem por definição a radiação eletromagnética capaz de ser percebida pelo olho humano, dando origem ao sentido da visão. A região visível do espectro eletromagnético se situa em torno 380 nm e 740 nm (SANTOS; PEREIRA, 2013). Apesar da cor se originar de uma absorção seletiva de radiações de luz visível por objetos, é considerada como um fenômeno psicossensorial e não físico, pois resulta da interface dos elementos fonte de luz, objeto e observador (o olho e o córtex visual no cérebro humano) (GONNET, 1998). Ainda segundo esse autor, devido a esse fenômeno, não existe cor ‘absoluta’ e por isso a análise de cores necessita que as condições de luz e observador de referência sejam primeiro fixadas. Essa premissa deve ser considerada em todos os campos relacionados à cor e, em especial, a produtos alimentícios que contenham pigmentos, tal como as antocianinas. Nos

últimos anos, os sistemas de visão em cores foram incorporados com a finalidade de automatizar essas operações (KONDEKAR; BODHE, 2018). De maneira que já existem diferentes tipos de iluminantes, e cada um é constituído por vários comprimentos de onda da luz visível, o iluminante D65 que é uma representação mais apropriada da luz do dia, é o iluminador que a CIE recomenda juntamente com o observador a 10°, sendo essencial padronizar o procedimento de análise de cores (SANT'ANNA *et al.*, 2013).

Os instrumentos de medição fazem de forma rápida e simples a quantificação dos atributos de cor. Os espectrofotômetros e colorímetros medem a luz refletida dos objetos em cada comprimento de onda ou em faixas específicas e então quantifica os dados espectrais para determinar as coordenadas de cor do objeto no espaço de cor CIELAB* e expressa a informação em termos numéricos (MINOLTA, 2013). O uso destes instrumentos tem sido considerado uma importante ferramenta para quantificação de pigmentos em frutas e hortaliças (VIEIRA *et al.*, 2019).

2.4 Estimativas de parâmetros genéticos

O melhoramento genético convencional vem manipulando geneticamente plantas cultivadas e, por meio desta técnica, as características de interesse determinadas por certos genes são transferidas à progênie por meio de cruzamento (SARTORETTO; SALDANHA; CORDER, 2008). Assim, quando não ocorre a disponibilidade de genótipos que possuam as características almejavéis para a produção do cultivo comercial, é importante a criação de um programa de melhoramento específico para obtê-los. O êxito de um programa de melhoramento depende, entre outros fatores, da disponibilidade de populações que apresentem variabilidade, particularmente a de natureza genética, para a obtenção de genótipos superiores em gerações oriundas por hibridação de germoplasma de interesse (AZEVEDO *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2008).

Os programas de melhoramento trabalham normalmente seguindo as etapas de: escolha dos genitores; cruzamentos entre genitores e obtenção de genótipos segregantes; avanço das gerações iniciais por meio de autofecundações naturais; teste de desempenho agrônômico e seleção das linhagens experimentais (LOPES *et al.*, 2002). Para esses programas, a existência de variabilidade genética na população base é fundamental para a predição dos valores genotípicos dos genótipos, sendo essa predição dependente do conhecimento do controle genético dos caracteres sob seleção e, especialmente, dos parâmetros de herdabilidade (PAIVA; RESENDE; CORDEIRO, 2002; RESENDE *et al.*, 2001).

A estimativa de parâmetros genéticos permite conhecer a estrutura genética de populações para fins de seleção (SANTOS *et al.*, 2018), sendo importante tanto para o planejamento de estratégias pontuais de melhoramento, quanto pela própria predição de valores genéticos (RESENDE *et al.*, 2001). Nesse sentido, as estimativas de parâmetros genéticos são premissas importantes para a escolha do método mais adequado de seleção e, portanto proporcionam maiores chances de sucesso no desenvolvimento de novas cultivares (ROCHA *et al.*, 2003).

Dentre os parâmetros genéticos e fenotípicos que podem contribuir para o direcionamento da seleção de plantas mais promissoras, destacam-se as variâncias genéticas, as herdabilidades, os ganhos genéticos esperados, as correlações fenotípicas e genotípicas, o coeficiente de variação genético, a razão CVg/CVe e o grau médio de dominância do gene. Esses parâmetros indicam a variabilidade genética, o grau de transmissão do componente genético na expressão dos caracteres e a existência da relação entre eles (ROCHA *et al.*, 2003).

No estudo da herança dos caracteres quantitativos e melhoramento de plantas é importante o conhecimento do número de genes envolvidos na expressão de um caráter, bem como o grau de dominância do gene, já que fornecem respectivamente a estimativa de probabilidade na obtenção de um dado genótipo em uma população segregante e, fornece a ideia de interação alélica predominante (RAMALHO *et al.*, 2012). Além da variância genética composta pelo efeito aditivo e de dominância dos genes, a herdabilidade é outra estimativa importante, pois corresponde à proporção da variabilidade total, que é de natureza genética, fornecendo a possibilidade de antever o êxito com a seleção (SILVEIRA; MAURO; CENTURION, 2006). Então, é importante que seja o mais real possível, dada sua relevância na predição de ganhos genéticos de um caráter (FERRÃO *et al.*, 2008). E, finalmente, a razão CVg/CVe , que é um índice que indica o grau de facilidade de seleção das progênes para um dado caráter, e que quando a razão estimada for igual ou maior que 1, mais favorável é o processo de seleção, pois a variação genética é a maior responsável pelos valores de CV estimados (YOKOMIZO; FARIAS NETO, 2003).

É importante ter o conhecimento da natureza e magnitude das correlações genotípicas, fenotípicas e ambientais, pois expressam as relações existentes entre os caracteres. A correlação fenotípica é estimada diretamente de medidas fenotípicas, resultando de causas genéticas e ambientais, enquanto que a correlação genotípica corresponde à porção genética da correlação fenotípica e é utilizada para orientar programas de melhoramento, por ter natureza herdável (FERREIRA *et al.*, 2003). No melhoramento, a correlação é importante para seleção indireta, a qual é realizada num dado caráter para se obter ganho em um outro, que está associado ao

primeiro (RAMALHO *et al.*, 2012). Por exemplo, Azevedo *et al.* (2014) observaram que em alface, a matéria fresca da parte aérea e o diâmetro de cabeça são indicados para a seleção indireta contra o florescimento precoce, pois reduzem o tempo dos programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS

- ALALUF, S. *et al.* Dietary carotenoids contribute to normal human skin color and UV photosensitivity. **The Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 132, n. 3, p. 399-403, 2002.
- ALVES, C.C.D.O. *et al.* Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 830-839, 2008.
- AMARANTE, C.V.T.D. *et al.* Quantificação da área e do teor de clorofilas em folhas de plantas jovens de videira 'Cabernet Sauvignon' mediante métodos não destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 3, p. 680-686, 2009.
- AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.D.A.C.E.S.; FARO, Z.P.D. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006.
- 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.
- AZEVEDO, A.M. *et al.* Parâmetros genéticos e análise de trilha para o florescimento precoce e características agrônômicas da alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 2, p. 118-124, 2014.
- BAENA, R.C. Muito além dos nutrientes: o papel dos fitoquímicos nos alimentos integrais. **Diagn Tratament**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 17-21, 2015.
- BAILEY-SERRES, J.; MITTLER, R. The roles of reactive oxygen species in plant cells. **Plant physiology**, [S.l.], v. 141, n. 2, p. 311, 2006.
- BERTAGNOLLI, C.M. *et al.* Desempenho de sementes nuas e peletizadas de alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a estresses hídrico e térmico. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 7-13, 2003.
- BORRMANN, D. **Efeito de déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores.** 2009. 125 p. Tese (Doutorado em Ciências dos alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2009.
- CAI, Y. *et al.* Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, [S.l.], v. 74, n. 17, p. 2157-2184, 2004.
- CAMPOS, F.M. *et al.* Pró-vitaminas A em hortaliças comercializadas no mercado formal e informal de Viçosa (MG), em três estações do ano. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 33-40, 2006.
- CAMPOS, F.M.; ROSADO, G.P. Novos Fatores de Conversão de Carotenóides Provitamínicos A. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 571-578, 2005.

- CARVALHO FILHO, J.L.S.D.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F₄ de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 37-42, 2009.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Informações agropecuárias, Prohort - Simab**. 2021. Disponível em: <http://dw.ceasa.gov.br/>. Acesso em: 04 jan. 2021.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa, MG: UFV, 2012. 514 p.
- DOU, H. *et al.* Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled environments. **Horticulturae**, [S.l.], v. 3, n. 2, p. 36, 2017.
- EVERT, R.F.; ESAU, K. **Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento**. 3. ed. São Paulo: Blucher, 2013. 728 p.
- FERRÃO, R.G. *et al.* Parâmetros genéticos em café Conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 61-69, 2008.
- FERREIRA, M.A.J.F. *et al.* Correlações genótípicas, fenotípicas e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento genético. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 438-442, 2003.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008. 421 p.
- GAZULA, A. *et al.* Anthocyanin levels in nine lettuce (*Lactuca sativa*) cultivars: influence of planting date and relations among analytic, instrumented, and visual assessments of color. **Hort Science**, [S.l.], v. 42, n. 2, p. 232–238, 2007.
- GONNET, J.-F. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited—1. A colorimetric definition using the CIELAB scale. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 63, n. 3, p. 409-415, 1998.
- GROSS, J. **Carotenoids pigment in vegetables: chlorophylls and carotenoids**. New York, USA: Van Nostrand Reinhold, 1991. 351 p.
- HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease : curiosity, cause, or consequence ? **Lancet**, [S.l.], v. 344, n. 8924, p. 721-724, 1994.
- HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, [S.l.], v. 35, n. 5, p. 1147-1150, 2007.
- HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, [S.l.], v. 142, n. 2, p. 231-55, 2004.
- HORST, M.A.; MORENO, F.S. **Funções plenamente reconhecidas de nutrientes: carotenóides**. São Paulo: ILSI Brasil., 2009. 32 p.

- KIM, D.E. *et al.* Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential. **Food Research International**, [S.l.], v. 105, p. 361-370, 2018.
- KIM, M.J. *et al.* Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 49, p. 19-34, 2016.
- KIMM, S.-W. *et al.* Antimutagenic activity of chlorophyll to direct-and indirect-acting mutagens and its contents in the vegetables. **Korean Journal of Biochemistry**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 1-7, 1982.
- KONDEKAR, V.H.; BODHE, S.K. A comprehensive investigation of color models used in image processing. **International Journal of Computer Applications**, [S.l.], v. 180, n. 22, p. 19-24, 2018.
- LAI, C.-N.; BUTLER, M.A.; MATNEY, T.S. Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, [S.l.], v. 77, n. 3, p. 245-250, 1980.
- LANFER-MARQUEZ, U.M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 227-242, 2003.
- LIU, R.H. Potential Synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.
- LLORACH, R. *et al.* Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 108, n. 3, p. 1028-1038, 2008.
- LOPES, A.C.D.A. *et al.* Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 341-348, 2002.
- LOPES, T.J. *et al.* Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.
- LÓPEZ, A. *et al.* Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: Comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gem and Mini Romaine) types. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 39-48, 2014.
- MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S.D. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.
- MINOLTA, K. **Entendendo o Espaço de Cor L*a*b***. 2013. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2013/11/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>. Acesso em: 23 fev. 2020.
- MINOLTA, K. **What is CIE 1976 Lab Color Space?** 2018. Disponível em: <https://sensing.konicaminolta.asia/what-is-cie-1976-lab-color-space/>. Acesso em: 23 fev. 2020.

MOU, B. Genetic variation of beta-carotene and lutein contents in lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [S.l.], v. 130, n. 6, p. 870-876, 2005.

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

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, [S.l.], v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos-TACO**. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161 p.

OWEN, R.W. *et al.* The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. **European Journal of Cancer**, [S.l.], v. 36, n. 10, p. 1235-1247, 2000.

PAIVA, J.R.D.; RESENDE, M.D.V.D.; CORDEIRO, E.R. Índice Multiefeitos e estimativas de parâmetros genéticos em aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 799-807, 2002.

PATHARE, P.B.; OPARA, U.L.; AL-SAID, F. A.-J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 36-60, 2013.

RAMALHO, M. *et al.* **Genética na agropecuária**. 5. ed. rev. Lavras, MG: UFLA, 2012.

RAMOS, E.; GOMIDE, L. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. 473 p.

RESENDE, M.D.V.D. *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 3, p. 185-193, 2001.

RICHARDSON, A.D.; DUGAN, S.P.; BERLYN, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, [S.l.], v. 153, n. 1, p. 185-194, 2002.

ROCHA, M.D.M. *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de caupi de tegumento branco. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 8, n. 1, 2003.

RYDER, E.J. **Lettuce, endive and chicory**. Wallingford, UK: Cab International, 1999. 208 p.

SALA, F.C.; COSTA, C.P.D. 'PIRAROXA': Cultivar de alface crespa de cor vermelha intensa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 158-159, 2005.

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

SANT'ANNA, V. *et al.* Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. **Dyes and Pigments**, [S.l.], v. 98, n. 3, p. 601-608, 2013.

SANDERS, D. **Lettuce**: Horticulture information leaflet. 2020. Disponível em: <https://content.ces.ncsu.edu/lettuce>. Acesso em: 23 fev. 2020.

SANTOS, E.R. *et al.* Estimativa de parâmetros de variação genética em progênies F₂ de soja e genitores com presença e ausência de lipoxigenases. **Nucleus**, Ituverava, v. 15, n. 1, p. 61-70, 2018.

SANTOS, L.F.; PEREIRA, C.J. Composição de cores através da calibração radiométrica e fotométrica de LEDs: teoria e experimento. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 1-8, 2013.

SARTORETTO, L.M.; SALDANHA, C.W.; CORDER, M.P.M. Transformação genética: estratégias e aplicações para o melhoramento genético de espécies florestais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 861-871, 2008.

SCOTT, K.J.; RODRIQUEZ-AMAYA, D. Pro-vitamin A carotenoid conversion factors: retinol equivalents — fact or fiction? **Food Chemistry**, [S.l.], v. 69, n. 2, p. 125-127, 2000.

SHEBIS, Y. *et al.* Natural antioxidants: function and sources. **Food and Nutrition Sciences**, [S.l.], v. 04, n. 06, p. 643-649, 2013.

SILVA, J.M.D. *et al.* Métodos de determinação de clorofila em alface e cebolinha minimamente processadas. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, [S.l.], v. 8, n. 2, p. 53-59, 2007.

SILVA, M.L.C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVEIRA, G.D.D.; MAURO, A.O.D.; CENTURION, M.A.P.D.C. Seleção de genótipos de soja para a região de Jaboticabal (SP) (Ano agrícola 2003-2004). **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 92-98, 2006.

SOMMER, A. **La carencia de vitamina A y sus consecuencias**: guía práctica para la detección y el tratamiento. 3. ed. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud, 1995.

SOUZA, M.C.M. *et al.* Variabilidade genética para características agrônômicas em progênies de alface tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 354-358, 2008.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S.l.], v. 1740, n. 2, p. 101-107, 2005.

STEIDLE NETO, A. J. *et al.* Non-destructive prediction of pigment content in lettuce based on visible-NIR spectroscopy. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 97, n. 7, p. 2015-2022, 2017.

STREIT, N.M. *et al.* As Clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. **The Plant Journal**, [S.l.], v. 54, n. 4, p. 733-49, 2008.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M.R.; PASTORE, G.M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.

VALKO, M. *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [S.l.], v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VIEIRA, L. M. *et al.* Chromatic analysis for predicting anthocyanin content in fruits and vegetables. **Food Science and Technology**, [S.l.], v. 39, n. 2, p. 415-422, 2019.

VILLELA, R.P. **Influência da temperatura na produção e qualidade fisiológica de sementes de alface**. 2009. 81 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2009.

VON ELBE, J.H.; SCHWARTZ, S.J. Colorantes. *In*: FENNEMA, O.R. (Ed.). **Química de los Alimentos**. 2. ed. Zaragoza, Espanha: Acribia, 2000. p. 773-850.

WELCH, C.R.; WU, Q.; SIMON, J.E. Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. **Current analytical chemistry**, [S.l.], v. 4, n. 2, p. 75-101, 2008.

XIONG, J. *et al.* Screening and identification of the antibacterial bioactive compounds from *Lonicera japonica* Thunb. leaves. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 138, n. 1, p. 327-33, 2013.

YOKOMIZO, G.K.-I.; FARIAS NETO, J.T.D. Caracterização fenotípica e genotípica de progênies de pupunheira para palmito. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 67-72, 2003.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS*

ARTIGO 1 - Estimativas de parâmetros genéticos para colorimetria e pigmentos foliares em genótipos de alface

RESUMO

A alface é a hortaliça folhosa de maior importância mundial, sendo considerada um alimento funcional rico em compostos bioativos, tais como carotenoides, antocianinas e clorofila, aos quais é atribuída atividade antioxidante. Desta forma, torna-se importante em programas de melhoramento genético o aumento do teor desses fitoquímicos, já que a elevação do nível desses compostos no vegetal pode elevar a ingestão dos mesmos sem necessariamente aumentar o consumo das folhas. O objetivo neste trabalho foi estudar geneticamente a distribuição quantitativa de antocianina, carotenoides e clorofila e sua correlação com caracteres colorimétricos e de escala de cor em uma população segregante de plantas F_2 de alface oriundas do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland, genitores contrastantes quanto à cor das folhas. Deste modo, foi conduzido um experimento para o estudo do controle genético, no qual foram utilizadas 36 plantas de cada um dos genitores e da geração F_1 e 312 plantas da geração F_2 . As plantas foram distribuídas em canteiros seguindo o delineamento em blocos completos casualizados, com três repetições. Quando as plantas atingiram o tamanho comercial foram avaliadas quanto aos seguintes caracteres: teor de antocianinas totais, teor de carotenoides totais; índice de conteúdo de clorofila SPAD; coordenadas colorimétricas L^* , a^* , b^* , croma e $^{\circ}$ hue; escala de notas para cor das folhas. Foram estimados parâmetros genéticos, visando determinar o controle genético envolvido na expressão dos caracteres. As médias das populações foram utilizadas para o estudo de correlação entre os caracteres. Verificou-se que houve predominantemente ação gênica do tipo dominância parcial para todos os caracteres. A cor vermelha de folhas de alface pode ser utilizada como auxílio em programas de melhoramento para a seleção de genótipos de alface com alto teor de antocianinas e carotenoides totais. O uso de colorimetria e escala de notas de cor de folha podem ser utilizados como método eficaz para inferir sobre o teor de antocianinas e carotenoides totais e índice de clorofila SPAD, em função das fortes correlações com estes caracteres.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*. Melhoramento genético. Compostos bioativos.

ABSTRACT

Lettuce is the most important leafy vegetable in the world, being considered a functional food rich in bioactive compounds, such as carotenoids, anthocyanins and chlorophyll, to which antioxidant activity is attributed. Thus, it is important in breeding programs to increase the content of these phytochemicals, since raising the level of these compounds in the plant can increase their intake without necessarily increasing leaf consumption. The objective of this work was to genetically study the quantitative distribution of anthocyanin, carotenoids and chlorophyll and their correlation with colorimetric and color scale characters in a segregating population of lettuce F_2 plants from the cross between Red Star and Darkland cultivars, contrasting parents as to the color of the leaves. In this way, an experiment was conducted to study genetic control, in which 36 plants from each parent and from the F_1 generation and 312 plants from the F_2 generation were used. The plants were distributed in beds following the complete randomized block design, with three replications. When the plants reached commercial size, they were evaluated for the following characters: total anthocyanin content,

total carotenoid content; chlorophyll content index SPAD; colorimetric coordinates L*, a*, b*, chroma and °hue; scale of notes for color of the leaves. Genetic parameters were estimated in order to determine the genetic control involved in the expression of the characters. The population means were used to study the correlation between the characters. It was found that there was predominantly partial dominance gene action for all characters. The red color of lettuce leaves can be used as an aid in breeding programs for the selection of lettuce genotypes with a high content of anthocyanins and total carotenoids. The use of colorimetry and scale of leaf color notes can be used as an effective method to infer about the total anthocyanins and carotenoids content and SPAD chlorophyll index, due to the strong correlations with these characters.

Keywords: *Lactuca sativa*. Plant breeding. Bioactive compounds.

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa de maior importância mundial, sendo consumida fresca ou em misturas de saladas prontas. Esse vegetal tem poucas calorias, sódio e lipídios, e se constitui numa boa fonte de fibra alimentar, ferro e vitamina C, além de compostos bioativos, tais como carotenoides, antocianinas e clorofila (KIM *et al.*, 2016; LÓPEZ *et al.*, 2014). Em alface, a presença desses fitoquímicos com função antioxidante são reponsáveis por efeitos benéficos a saúde (KIM *et al.*, 2018). Deste modo, esses compostos são alvo de diversos estudos nessa cultura.

Os pigmentos foliares desempenham funções fisiológicas importantes nas plantas, como processos fotossintéticos e defesa contra o estresse oxidativo (STEIDLE NETO *et al.*, 2017). Os carotenoides são pigmentos bastante comuns na natureza e recebem atenção especial por causa de seus importantes papéis como precursores de vitamina A, além de propriedade antioxidante, apresentando funções importantes na fotossíntese e fotoproteção nos tecidos vegetais. O papel de fotoproteção dos carotenoides está ligado à sua habilidade, tanto na absorção do oxigênio singleto, quanto de radicais livres para interromper as reações em cadeia onde eles estão envolvidos (SILVA *et al.*, 2010).

As antocianinas são outros pigmentos importantes em vegetais, sendo responsáveis por uma diversidade de cores que vão do laranja/vermelho ao violeta/azul, na superfície da casca de frutas, folhas e flores (TANAKA; SASAKI; OHMIYA, 2008). De modo geral, à medida que aumenta a concentração vacuolar de antocianinas, a coloração da superfície da planta se intensifica (WELCH; WU; SIMON, 2008). Existe estudo que relata fortes correlações entre a concentração de antocianina e os parâmetros de cor em alface (GAZULA *et al.*, 2007). Além

de serem responsáveis pela variação de cores em plantas, as antocianinas promovem uma série de benefícios à saúde humana, atuando como agentes antioxidantes, inibindo assim, a ação dos radicais livres (MULABAGAL *et al.*, 2010). Por exemplo, em cultivares de alface de cor verde/vermelha e vermelha existe correlação forte e positiva entre teor de antocianina e atividade antioxidante das folhas (KIM *et al.*, 2018).

As clorofilas são os pigmentos mais abundantes nos tecidos vegetais, os quais são responsáveis pela fotossíntese em plantas. A distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenoides, faz com que existam diferenças aparentes na cor da superfície dos vegetais (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000). A ingestão de vegetais verdes é considerada saudável, tendo o núcleo tetrapirrólico da clorofila, da feofitina ou mesmo de alguns derivados dessa molécula, capacidade de exercer uma atividade antioxidante e quimiopreventiva (LANFER-MARQUEZ, 2003).

Alguns estudos procuram relacionar a cor da superfície das folhas com a presença de fitoquímicos, tais como antocianina, carotenoides e clorofila (GAZULA *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2018; SAINI *et al.*, 2016; STEIDLE NETO *et al.*, 2017). Nesse contexto, o uso de colorímetros tem sido considerado uma importante ferramenta para a quantificação de compostos bioativos em frutas e hortaliças (VIEIRA *et al.*, 2019). Desta forma, o resultado da avaliação da cor pode ser utilizado como uma ferramenta para inferir indiretamente sobre os pigmentos de um produto alimentício, como alternativa aos métodos clássicos de análises destrutivas das amostras (ALVES *et al.*, 2008).

A composição de fitoquímicos em vegetais é influenciada por vários fatores pré e pós-colheita, incluindo a composição genética da planta. Em alface, a composição e quantidade de fitoquímicos dependem da escolha da cultivar, cor da folha e maturidade na colheita (LÓPEZ *et al.*, 2014). Alguns trabalhos são direcionados ao estudo de compostos bioativos em cultivares de alface de cor vermelha e verde e o seu potencial antioxidante. Em trabalho realizado por Kim *et al.* (2018) foram determinados os teores de antocianinas e carotenoides em alfaves de diferentes cores que variavam do verde ao vermelho. Foi observado que esses compostos variaram significativamente entre as cultivares e foram principalmente dependentes da cor da folha, no qual, todas as cultivares de folhas vermelhas eram ricas em carotenoides e antocianinas. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Saini *et al.* (2016), em que registraram teores mais elevados de carotenoides na alface romana vermelha do que na alface romana verde. Mou (2005) também verificou essa diferença entre diferentes cultivares de alface, no entanto, as de cor verde apresentaram maiores valores de carotenoides em relação as vermelhas.

O aumento dos níveis de fitoquímicos em alface pode melhorar a ingestão destes compostos bioativos sem exigir um aumento no consumo (MOU, 2005). Assim, torna-se importante a identificação e seleção de genótipos de alface com elevados teores de carotenoides, antocianinas e clorofila. Em programas de melhoramento que trabalham com um grande número de plantas, o uso de métodos não destrutivos baseados na cor das folhas pode ser uma ferramenta importante para explorar a potencialidade genética de genótipos de alface.

O sucesso de um programa de melhoramento genético que busca a obtenção de genótipos superiores em gerações oriundas por hibridação de germoplasma de interesse, depende, dentre outros fatores, da disponibilidade de populações que apresentem alta variabilidade, particularmente a de natureza genética (AZEVEDO *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2008). Os estudos de estimativa de parâmetros genéticos e de correlações entre caracteres a serem melhorados em plantas são de grande importância ao iniciar um programa de melhoramento, pois são premissas para a escolha do método mais adequado de seleção, o que proporciona maiores chances de êxito no desenvolvimento de novas cultivares (ROCHA *et al.*, 2003). Entre os parâmetros genéticos e fenotípicos que podem contribuir para o direcionamento da seleção de genótipos de alface mais promissores, destacam-se as variâncias genéticas e fenotípicas, as herdabilidades, os ganhos genéticos esperados, as correlações fenotípicas e genéticas e o grau médio de dominância.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar geneticamente a distribuição quantitativa de antocianina, carotenoides e clorofila e sua correlação com caracteres colorimétricos e de escala de cor em populações de alface oriundas do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland, genitores contrastantes quanto à cor das folhas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

De janeiro a dezembro de 2017 foi desenvolvido o trabalho de condução de populações de alface até a obtenção de sementes F₂. Essa etapa do experimento foi conduzida em cultivo protegido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), nas dependências do Departamento de Agricultura, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

No experimento foram utilizados como genitores as cultivares de alface Red Star e Darkland, contrastantes para tipo de folha, Red Star (cor vermelha intensa, de folhas do tipo crespa e solta) e Darkland (cor verde escura do tipo romana). Para realização dos cruzamentos, as sementes de cada cultivar foram semeadas em substrato comercial contidos em bandejas de poliestireno de 162 células, de forma escalonada para favorecer o sincronismo de florescimento.

Após o período de desenvolvimento das mudas, estas foram transplantadas para vasos, contendo substrato à base de terra de barranco, areia, húmus e adubo químico. Por ocasião do florescimento, foram feitos os cruzamentos entre as duas cultivares, utilizando-se a cultivar Red Star como genitor masculino. Cada botão floral polinizado foi identificado, amarrando-se um pedaço de lã ao mesmo. As flores ainda em estágio de botão, na iminência de abrir, tiveram seus estiletos cortados por uma gilete. Com o aumento da temperatura os estigmas da cultivar Darkland alongaram, e quando apresentaram um formato bipartido na extremidade, foram polinizados manualmente utilizando-se flores abertas da cultivar Red Star. Após o desenvolvimento e amadurecimento das sementes F_1 , as mesmas foram colhidas, limpas, embaladas em saco de papel e identificadas como sementes F_1 ('Red Star' x 'Darkland').

Em seguida as sementes F_1 ('Red Star' x 'Darkland') foram semeadas em substrato comercial contidos em bandejas de poliestireno de 162 células e deram origem às plântulas F_1 ('Red Star' x 'Darkland'), as quais foram transplantadas para vasos, contendo substrato à base de terra de barranco, areia, húmus e adubo químico, sendo cultivadas até a produção e colheita das sementes F_2 .

De outubro a dezembro de 2018, no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia do Departamento de Agricultura da UFLA - CDTT/DAG, em Ijaci, Minas Gerais, Brasil, foi conduzido um experimento para o estudo do controle genético, no qual foram utilizadas 36 plantas de cada um dos genitores, 36 plantas da geração F_1 e 312 plantas da geração F_2 . Os dados obtidos nas avaliações destes genótipos foram utilizados para as análises.

Sob cultivo protegido, as plantas foram transplantadas para canteiros com espaçamento $0,20 \times 0,25$ m entre plantas e fileiras, respectivamente, e distribuídas em delineamento em blocos completos casualizados, com três repetições, a parcela dos genitores e da geração F_1 eram constituídas por 12 plantas, enquanto que na geração F_2 possuía 104 plantas, sendo conduzidas de acordo com as recomendações adequadas para a cultura da alface.

As plantas foram avaliadas quando atingiram a fase comercial. Avaliaram-se todas as plantas da geração F_2 , enquanto para as cultivares Red Star e Darkland e plantas da geração F_1 foram utilizadas quatro plantas em cada parcela. De cada planta foi selecionada uma folha do terço médio para mensuração do índice de conteúdo de clorofila SPAD e índices de coordenadas colorimétricas. Das plantas, também foram retiradas amostras de folhas do terço médio, considerando-se aquelas que apresentavam bom estado fitossanitário. As folhas de cada planta foram identificadas e colocadas em freezer a -20 °C. Posteriormente foram levadas para o Laboratório de Química da Universidade Federal de Uberlândia, Campus – Patos de Minas, onde foram utilizadas para as análises de teor de antocianinas totais e teor de carotenoides totais.

A extração e quantificação de antocianinas foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Francis (1982). As folhas de alface liofilizadas foram trituradas e 10 mg dessa amostra foi pesada em um béquer e acrescida de 5 mL de solução extratora, constituída de etanol 95% e ácido clorídrico 1,5 mol.L⁻¹, na proporção 85:15.

A leitura de absorvância foi realizada em espectrofotômetro a 335 nm. A solução extratora foi utilizada como branco. Os resultados foram expressos em mg de antocianinas totais.100 g⁻¹ de amostra, de acordo com a fórmula: $At = Abs \times f / (\epsilon \cdot l)$; em que: At = mg de antocianinas.100 g⁻¹ de massa seca; Abs = absorvância; f = fator de diluição; ϵ = coeficiente de absorvidade molar da cianidina (98,2).

Os teores de clorofila a, b, clorofila total e carotenoides totais foram determinados pelo método de extração da acetona 80% de acordo com Lichtenthaler e Wellburn (1983). Obtiveram-se discos foliares de 1 cm de diâmetro até atingirem 0,5 g de cada folha. Após a pesagem, os discos foram transferidos para tubos de ensaio com tampa contendo 10 mL de acetona, 80% (v/v), em que permaneceram por 24 horas em câmara fria (3 °C), protegidos da luz. Ao fim desse período, filtraram-se os extratos e a solução resultante foi colocada em uma cubeta de vidro, enquanto na outra foi mantida uma amostra branca (acetona).

Efetuuou-se as leituras de absorvância das amostras em espectrofotômetro (Varian - Cary 50 Probe) nos comprimentos de onda de 645, 652 e 663 nm para as clorofilas e 470 nm para os carotenoides. Com as leituras, calcularam-se os teores de clorofila a, clorofila b, e clorofila total (WITHAM; BLAYDES; DEVLIN, 1971); e dos carotenoides (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983), conforme as equações: $Cl\ a = [(12,7 * A_{663} - 2,69 * A_{645}) * V] / 1000 * W$; $Cl\ b = [(22,9 * A_{645} - 4,68 * A_{663}) * V] / 1000 * W$; $Cl\ total = [(A_{652} * 1000) * (V / 1000 * W)] / 34,5$ e $Car = [(1000 * A_{470} - 3,27 * Cl\ a - 104 * Cl\ b) / 229] / 1000 * W$; em que: A = absorvância no comprimento de onda indicado; V = volume final (mL) do extrato (pigmentos + solução extratora); W = matéria fresca (g) do material vegetal utilizado. O teor foi expresso em mg de pigmento por g de tecido fresco (mg g⁻¹).

Os caracteres avaliados foram: índice de conteúdo de clorofila SPAD, mensurado por meio do clorofilômetro portátil modelo Minolta SPAD-502 CFL1030, e as leituras realizadas no ápice e centro de uma folha do terço mediano; a colorimetria da folha pelas coordenadas luminosidade (L*) [variação do branco (+L) ao preto (-L)], coordenadas do eixo horizontal do diagrama de cores (a*) [do vermelho (+a) ao verde (-a)], coordenadas do eixo vertical do diagrama de cores (b*) [do amarelo (+b) ao azul (-b)], índice de saturação de cor (croma = $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$) e a tonalidade da cor [°hue = $\tan^{-1}(b^*/a^*)$], mensurados com auxílio do colorímetro espectrofotômetro portátil CM-700 (Konica Minolta Sensing Inc., China) no modo de medição

SCE (componente especular excluído), com ângulo de observação de 10° e iluminante D65, foram realizadas duas medições no centro e ápice foliar, uma próxima a nervura central e outra próxima a borda, sendo que cada leitura corresponde a média de duas medições; cor das folhas, sendo as avaliações realizadas por um avaliador com base em uma escala de notas (FIGURA 2), elaborada neste trabalho de acordo com a variação de cor dos genótipos; teor de antocianinas totais e carotenoides totais pelas metodologias de Francis (1982) e Lichtenthaler e Wellburn (1983), respectivamente.

Figura 2 - Escala de notas utilizada para avaliação da cor das folhas de alface.



Fonte: Da autora (2020).

De acordo com o valor de antocianinas, carotenoides, clorofila, L^* , a^* , b^* , croma e $^{\circ}$ hue obtido para cada planta, foi estabelecido um número de classes. Para cada planta foi atribuída uma nota de 1 a 5 (TABELA 1), de acordo com a classe a que pertencia, com exceção do caráter cor da folha que já era baseado em uma escala de notas. As maiores notas correspondem aos maiores valores dos caracteres.

Tabela 1 - Escala de notas para os caracteres antocianinas, carotenoides, clorofila, L*, a*, b*, croma e °hue em folhas de alface (*Lactuca sativa* L.).

Caráter	Notas				
	1	2	3	4	5
Antocianinas	12,0 F 155,0	155,0 F 298,0	298,0 F 441,0	441,0 F 584,0	584,0 F 727,0
Carotenoides	48,0 F 106,5	106,5 F 165,0	165,0 F 223,5	223,5 F 282,0	282,0 F 340,5
Clorofila	20,0 F 26,5	26,5 F 33,0	33,0 F 39,5	39,5 F 46,0	46,0 F 52,5
L*	24,0 F 30,0	30,0 F 36,0	36,0 F 42,0	42,0 F 48,0	48,0 F 54,0
a*	-13,0 F -8,5	-8,5 F -4,0	-4,0 F 0,5	0,5 F 5,0	5,0 F 9,5
b*	0,1 F 6,6	6,6 F 13,1	13,1 F 19,6	19,6 F 26,1	26,1 F 32,6
Croma	3,0 F 9,5	9,5 F 16,0	16,0 F 22,5	22,5 F 29,0	29,0 F 35,5
°Hue	0,9 F 28,9	28,9 F 56,9	56,9 F 84,9	84,9 F 112,9	112,9 F 140,9

Teor de antocianinas totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Antocianinas; Teor de carotenoides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Carotenoides; índice de conteúdo de clorofila SPAD= Clorofila; Coordenadas de luminosidade= L*, Coordenadas do eixo horizontal do diagrama de cores= a*, Coordenadas do eixo vertical do diagrama de cores= b*, índice de saturação da cor= Croma, índice de tonalidade da cor pelo ângulo Hue= °Hue.

Fonte: Da autora (2020).

Os dados deste experimento foram utilizados para estimar parâmetros genéticos, visando determinar o tipo de controle genético envolvido na expressão dos caracteres. As médias dos valores absolutos das populações foram utilizadas para o estudo de correlação entre os caracteres.

As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas conforme o Quadro 1, mediante análises dos valores absolutos das populações realizadas no aplicativo Genes versão 1990.2019.51 (CRUZ, 2013).

Quadro 1 - Estimativa dos parâmetros genéticos.

Estimativa dos parâmetros genéticos	
Variância fenotípica - $\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2$	$\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2 = \hat{\sigma}_{F_2}^2$
Variância genotípica - $\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2$	$\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 = \hat{\sigma}_{f(F_2)}^2 - \hat{\sigma}_{m(F_2)}^2$
Variância ambiental - $\hat{\sigma}_{m(F_2)}^2$	$\hat{\sigma}_{m(F_2)}^2 = \frac{VM_{P_1} + VM_{P_2} + VM_{F_1}}{4}$
Herdabilidade no sentido amplo - h_a^2	$h_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2} = \frac{\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 + \hat{\sigma}_{m(F_2)}^2}$
Grau médio da dominância baseada em médias - k_m	$K_m = \frac{2\bar{F}_1 - (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{\bar{P}_1 - \bar{P}_2}$
Número mínimo de genes envolvidos na expressão do caráter - η	$\eta = \frac{R^2(1 + 0,5K^2)}{8\hat{\sigma}_g^2}$
Ganho por seleção - $\Delta G(\%)$	$\Delta G\% = \frac{\Delta G}{\bar{X}_o}$
Média de todos os possíveis homozigotos - m	$\hat{m} = \frac{1}{2}\bar{P}_1 + \frac{1}{2}\bar{P}_2$
Medida dos efeitos aditivos - a	$\hat{a} = \bar{P}_x - \frac{1}{2}\bar{P}_1 + \frac{1}{2}\bar{P}_2$
Medida dos desvios da dominância - d	$\hat{d} = \bar{F}_1 - \frac{1}{2}\bar{P}_1 + \frac{1}{2}\bar{P}_2$
Grau médio da dominância baseada em variâncias - k	$K = \frac{d}{a} = \sqrt{\frac{d^2}{a^2}} = \sqrt{\frac{2\hat{\sigma}_d^2}{\hat{\sigma}_a^2}}$

Fonte: Da autora (2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2, observa-se que entre os genitores a cultivar Red Star apresentou os maiores teores de antocianinas totais, carotenoides totais e coordenada a^* . Já para os caracteres índice de conteúdo de clorofila SPAD, L^* , b^* , croma, °hue e cor, a cultivar Darkland apresentou valores mais elevados. As plantas das gerações F_1 e F_2 apresentaram valores intermediários entre as cultivares Red Star e Darkland.

Os valores relacionados aos pigmentos e colorimetria estão próximos e/ou superiores com os encontrados na literatura. Gazula et al., 2007, ao avaliarem cultivares de alface de cores que variavam do verde ao vermelho escuro, observaram valores variáveis de antocianinas (115,33 a 401,40 $\mu\text{g g}^{-1}$), °hue (6,59 a 133,18) e croma (12,68 a 50,51). De forma semelhante, Kim et al. (2018) observaram variação de carotenoides totais (54,4 a 129,8 $\mu\text{g g}^{-1}$) em cultivares de alface de cores verde, verde/vermelhas e vermelhas.

Tabela 2 - Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres avaliados em folhas de alface das cultivares Red Star (P₁), Darkland (P₂), F₁ ('Red Star' x 'Darkland' e na população F₂ ('Red Star' x 'Darkland')).

Parâmetro	Caráter								
	Ant	Car	Clo	L*	a*	b*	C*	°h	Cor
\bar{P}_1	600,77	245,59	30,57	25,80	7,41	1,70	7,74	12,13	1,00
\bar{P}_2	19,43	109,82	37,77	45,04	-10,22	22,82	25,00	114,16	10,00
\bar{F}_1	41,96	125,81	33,06	38,84	-6,27	18,75	19,78	108,32	5,00
\bar{F}_2	70,18	167,95	32,79	39,48	-6,40	18,86	20,23	103,27	6,44
$\sigma^2_{f(F_2)}$	4084,63	2894,86	22,59	38,46	23,24	55,48	66,21	281,02	8,86
$\sigma^2_{g(F_2)}$	2016,18	1716,84	8,97	33,33	22,37	51,76	62,29	254,12	8,86
$\sigma^2_{m(F_2)}$	2068,45	1178,02	13,62	5,13	0,86	3,72	3,92	26,90	0,00
$h_a^2(\%)$	49,36	59,31	39,70	86,66	96,28	93,29	94,08	90,43	100,00
η	20,95	1,34	0,72	1,39	1,74	1,08	0,60	5,12	1,14
$\Delta G(\%)$	69,81	29,67	7,96	16,86	-114,18	44,73	9,28	10,04	57,07
M	310,10	177,71	34,17	35,42	-1,40	12,26	16,37	63,14	5,50
[a]	290,67	67,88	3,60	9,62	8,81	10,56	8,63	51,02	4,50
[d]	-268,14	-51,89	-1,11	3,42	-4,86	6,49	3,41	45,18	-0,50
k	-0,92	-0,76	-0,31	0,36	-0,55	0,61	0,40	0,89	0,11

Teor de antocianinas totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Ant; Teor de carotenoides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Car; Índice de conteúdo de clorofila SPAD= Clo; Coordenadas de luminosidade= L*, Coordenadas do eixo horizontal do diagrama de cores= a*, Coordenadas do eixo vertical do diagrama de cores= b*, Índice de saturação da cor, croma= C*, Índice de tonalidade da cor pelo ângulo Hue= °h; Escala de notas para cor das folhas=Cor; $\sigma^2_{f(F_2)}$ = Variância fenotípica; $\sigma^2_{g(F_2)}$ = Variância genética; $\sigma^2_{m(F_2)}$ = Variância ambiental; h_a^2 = Herdabilidade no sentido amplo; η = Número mínimo de genes envolvidos na expressão do caráter; ΔG = Ganho por seleção; M= Média de todos os possíveis homocigotos; [a] = Medida dos efeitos aditivos; [d]= Medida dos desvios da dominância; k= Grau médio da dominância baseada em variâncias.

Fonte: Da autora (2020).

O fenótipo é resultado da ação conjunta do genótipo, do ambiente e da interação entre os genótipos e o ambiente (ROCHA; VELLO, 1999). Os parâmetros genéticos de variância genotípica e herdabilidade representam a proporção da variação fenotípica que é condicionada pela variação genotípica de um dado caráter (AZEVEDO *et al.*, 2014). Em relação às estimativas das variâncias genotípicas, variâncias ambientais e variâncias fenotípicas, observou-se que os caracteres carotenoides, as coordenadas L, a*, b*, e os índices croma e °hue foram mais influenciados pelo genótipo, tendo em vista que os valores da variância genotípica foram superiores aos da variância ambiental, resultando em valores elevados para a

herdabilidade. Já os caracteres antocianinas e clorofila apresentaram valores próximos para variância ambiental e variância genotípica, exibindo os valores de 2068,45 e 2016,18 para antocianinas e 13,62 e 8,97 para clorofila, respectivamente.

Em relação à herdabilidade, considerada a proporção da variabilidade total de natureza genotípica, verificou-se que as estimativas de herdabilidade no sentido amplo para os caracteres antocianinas, carotenoides e clorofila tiveram valores medianos, mas acima dos 39%. Já os caracteres L, a*, b*, croma, °hue e cor da folha apresentaram valores superiores a 86%, indicando que o ambiente teve pouca influência na expressão do caráter, aumentando assim a possibilidade de ganhos genéticos com a seleção.

Ao lado da herdabilidade, o ganho com a seleção possui grande importância para as inferências genéticas. Ele determina o avanço conseguido com a seleção, e depende da quantidade de variabilidade genética da população base e da magnitude dos efeitos que a mascaram, tais como os componentes ambientais e a interação do genótipo com ambiente (SILVEIRA; MAURO; CENTURION, 2006). Neste trabalho, os ganhos preditos para maiores valores, considerando um esquema seletivo em que são selecionados 20% de plantas da geração F₂, observaram-se ganhos consideráveis, tendo os caracteres antocianinas, b* e cor de folhas apresentado aumento superior a 44%, enquanto o caráter a* obteve redução superior a 114%.

No estudo da herança dos caracteres quantitativos e no melhoramento de plantas, é importante o conhecimento do número de genes envolvidos na expressão de um caráter, bem como o grau de dominância do gene, já que fornecem, respectivamente, a estimativa de probabilidade na obtenção de um dado genótipo em uma população segregante e a ideia de interação alélica predominante (RAMALHO *et al.*, 2012). A estimativa do número de genes que governam o caráter variou conforme o caráter estudado neste trabalho, sendo de apenas um gene em clorofila e croma, e mais de um para os demais caracteres.

O tipo de interação alélica predominante para os parâmetros estudados pode ser estimado, sendo possível verificar a interação alélica em cada caso, devendo-se considerar os valores da medida dos efeitos aditivos [a] e da medida dos desvios da dominância [d]. De acordo com Ramalho *et al.* (2012) a razão d/a mede o grau de dominância de um gene, assim, quando esse valor é zero, há interação alélica aditiva; se for igual a 1,0, ocorre dominância completa; para valores entre zero e um, tem-se dominância parcial e acima de 1,0, ocorre sobredominância. Com isso, ao observar os valores das estimativas do grau médio de dominância obtidos no trabalho, verifica-se que houve predominantemente ação gênica do tipo dominância parcial para todos os caracteres, sendo que os valores mais próximos de zero indicam um menor grau médio de dominância.

Com os resultados do experimento, verificou-se que houve segregação transgressiva para todos os caracteres, devido à existência de valores em plantas da geração F₂ fora do intervalo obtido nos genitores. No trabalho foi possível identificar plantas F₂ com valores superiores ao do genitor que apresentou maior valor para os caracteres teor de carotenoides (27 plantas), clorofila (40 plantas), L* (57 plantas), b* (118 plantas), croma (112 plantas), °hue (41 plantas) e nota de cor (7 plantas). Esse resultado é relevante para programas de melhoramento genético, pois facilita a seleção de genótipos superiores em populações segregantes.

Não foram observadas correlações significativas entre todos os caracteres avaliados (TABELA 3), porém, os valores apresentaram alta magnitude. As estimativas dos coeficientes de correlação genotípica apresentaram valores elevados, com correlações acima de 91% para a maioria dos caracteres, à exceção de Ant x Cor (-0,855), Clo x a* (-0,881), Clo x b* (0,870), Clo x H (0,776) e Cor x H (0,860). Estes resultados são considerados bastante favoráveis, pois fornecem o conhecimento da natureza e magnitude das correlações entre os caracteres. A correlação genotípica corresponde à porção genética da correlação fenotípica, sendo empregada para orientar programas de melhoramento por ser de natureza herdável (FERREIRA *et al.*, 2003). Geralmente, os seus valores variam de -1 a 1 e, quanto mais próximo do módulo 1, mais forte é a correlação (LOPES *et al.*, 2002).

Tabela 3 - Coeficientes de correlação fenotípica (rF) e correlação genotípica (rG), entre caracteres analisados em folhas de alface.

Caráter		L*	a*	b*	C	°h	Cor
Ant	rF	-0,957*	0,983*	-0,989**	-0,963*	-1,000**	-0,850
	rG	-0,964*	0,988**	-0,997**	-0,974*	-1,004	-0,855
Car	rF	-0,948	0,954*	-0,951*	-0,951*	-0,944	-0,869
	rG	-1,035	1,044	-1,043	-1,051	-1,024	-0,955*
Clo	rF	0,872	-0,816	0,794	0,862	0,716	0,945
	rG	0,956*	-0,881	0,870	0,947	0,776	1,014
Cor	rF	0,965*	-0,931	0,918	0,959*	0,859	-
	rG	0,967*	-0,932	0,919	0,961*	0,860	-

**/*: Significativo respectivamente a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t (P<0,01 e P<0,05). Teor de antocianinas totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Ant; Teor de carotenoides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Car; índice de conteúdo de clorofila SPAD= Clo; Coordenadas de luminosidade= L*, Coordenadas do eixo horizontal do diagrama de cores= a*, Coordenadas do eixo vertical do diagrama de cores= b*, índice de saturação da cor= C, índice de tonalidade da cor pelo ângulo Hue= °h; Escala de notas para coloração das folhas=Cor.

Fonte: Da autora (2020).

O uso de colorímetros tem sido considerado uma importante ferramenta para quantificação de alguns compostos bioativos, tais como as antocianinas, em frutas e hortaliças (VIEIRA *et al.*, 2019). Alguns estudos associam o conteúdo de compostos bioativos em alface

a medidas indiretas, como colorimetria e avaliação visual das folhas (GAZULA *et al.*, 2007). A escala de notas de cor utilizada neste experimento fornece dados importantes sobre a cor da folha em alface. Valores próximos de 1, indicam que as folhas tendem a ser avermelhadas, já quando estão mais próximos de 10, as folhas são mais esverdeadas. Os colorímetros fornecem dados colorimétricos importantes, por exemplo, os valores de L* representam o quanto mais clara ou mais escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca), enquanto a* indica cores esverdeadas para valores negativos e cores avermelhadas para os positivos. Já b* apresenta valores positivos para cores amareladas e valores negativos para cores azuladas (ALVES *et al.*, 2008; SANT'ANNA *et al.*, 2013). Valores de $^{\circ}$ hue expressam a tonalidade da cor, para o qual valores mais próximos de 0° correspondem a tonalidade mais vermelha, e os mais próximos de 180° a tonalidade mais verde e, finalmente, o croma indica a pureza da cor, ou seja, quanto mais altos os valores de croma, maior é a intensidade da cor (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013).

As correlações genéticas entre o caráter a* e os teores de antocianinas e carotenoides apresentaram valores positivos e superiores a 98%. Tendo em vista o interesse no acréscimo nos valores dos teores de antocianinas e carotenoides, pode-se prever que a seleção praticada baseada naquele caráter provoca mudanças no sentido desejado, ou seja, quanto mais vermelha a folha maior a quantidade desses pigmentos. Assim, a avaliação colorimétrica pode ajudar a inferir o conteúdo de antocianina e carotenoide. De forma semelhante, Kim *et al.* (2018) e Saini *et al.* (2016) também observaram que cultivares de alface de cor vermelha apresentam acúmulo significativamente maior de antocianinas e carotenoides do que cultivares verdes. Em contrapartida, Mou (2005) encontrou maiores teores de carotenoides em cultivares de alface de cor verde. Em estudo realizado por Mulabagal *et al.* (2010), os autores observaram que tanto a alface vermelha quanto a verde tinham altas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, no entanto, a antocianina na alface vermelha foi considerada como uma fonte adicional de atividade biológica, o que pode indicar que o consumo de alface vermelha pode ofertar melhores benefícios à saúde do que a alface verde.

No trabalho foram observadas correlações genéticas negativas e superiores a 85% entre os caracteres L*, b*, croma, $^{\circ}$ hue e cor da folha, com os teores de antocianinas e carotenóides. Em consequência disso, os maiores níveis desses pigmentos estão correlacionados com baixos valores daqueles caracteres. Sendo assim, as folhas de alface ricas em antocianinas serão mais escuras, de tonalidades mais avermelhada e cores mais opacas. Em estudo com cultivares de alface de cores que variavam do verde ao vermelho, Kim *et al.* (2018) verificaram que o acúmulo de antocianina torna as folhas mais vermelhas do que verdes e que a quantidade

acumulada determina a intensidade e o grau de vermelhidão, assim como a influência na maior atividade antioxidante das folhas, o seu consumo pode contribuir na redução do estresse oxidativo relacionado às doenças. Já Vieira *et al.* (2019) observaram que valores de L*, croma e °hue apresenta correlação com o conteúdo total de antocianina de alguns extratos fenólicos de frutas e vegetais, no qual o valor desses caracteres apresenta correlação negativa com esse pigmento, indicando que seu valor diminui quando o conteúdo total de antocianina aumenta. De maneira semelhante, Gazula *et al.* (2007) verificaram que em alface o aumento de antocianinas diminui o valor de °hue e aumenta intensidade da coloração vermelha baseada em observação visual.

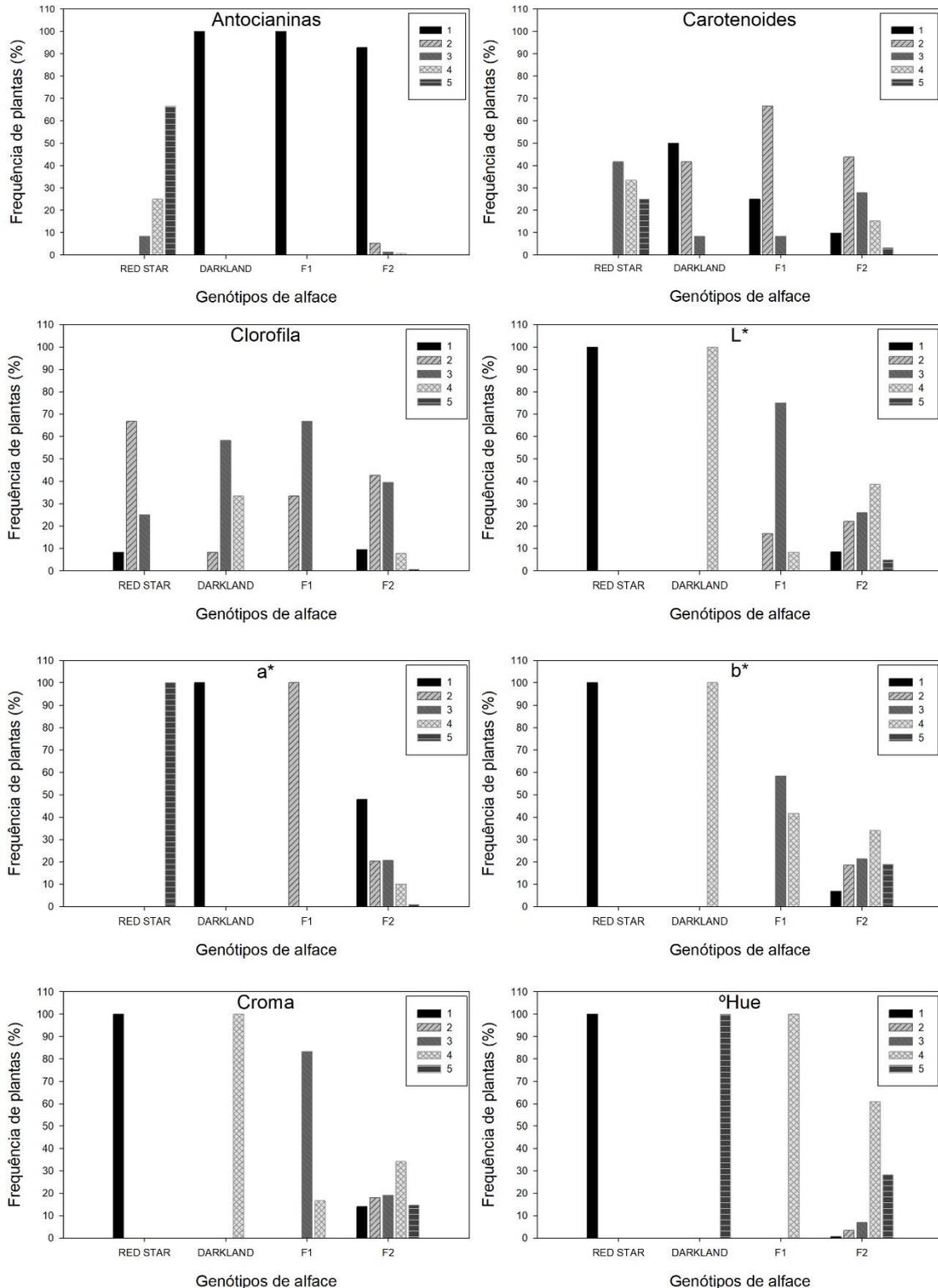
Com exceção ao caráter a*, houve correlação positiva entre clorofila e os demais caracteres. Desta forma, folhas de alface tendem a ser mais claras, de tonalidade verde e com cores mais vívidas com o aumento nos níveis de clorofila.

Outro aspecto a se considerar, é que a cor das folhas baseada em notas apresentou correlações superiores a 86% para todos os caracteres, que com exceção de a* foram todas positivas. Ou seja, folhas com notas baixas de cor tendem a ser mais escuras, de tonalidade vermelha e cor mais opaca. Além disso, por estar relacionada com caracteres obtidos via colorímetro, se torna uma técnica barata e simples que pode ser utilizada em programas de melhoramento genético, principalmente nas etapas iniciais, no qual ainda se trabalha com um número grande de plantas.

Portanto, o uso de colorimetria mediante o uso de colorímetros e/ou escala de notas para selecionar plantas de alface pela cor da folha, pode ser utilizada numa seleção indireta a favor dos caracteres antocianina, carotenoides e clorofila, por apresentar correlação alta com esses pigmentos, contituindo-se, portanto, em métodos alternativos mais rápidos, simples, de menor custo, sem a necessidade de utilizar reagentes específicos.

Ao considerar a distribuição de plantas dos genótipos de alface em classes (FIGURA 3), observa-se que com exceção de antocianinas, a segregação das plantas F₂ abrangeu todas as classes, com distribuição variável de valores. É possível identificar um número de plantas relativamente superior nas classes intermediárias, corroborando com os dados da Tabela 2, na qual é ilustrado a dominância parcial do caracteres.

Figura 3 - Distribuição de frequência de notas de antocianinas, carotenoides, clorofila, L*, a*, b*, croma e °hue em plantas de alface dos genótipos Darkland e Red Star e em plantas da geração F₁ (Darkland x Red Star) e da geração F₂ (Darkland x Red Star).



Teor de antocianinas totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Antocianinas; Teor de carotenoides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)= Carotenoides; Índice de conteúdo de clorofila SPAD= Clorofila; Coordenadas de luminosidade= L*, Coordenadas do eixo horizontal do diagrama de cores= a*, Coordenadas do eixo vertical do diagrama de cores= b*, Índice de saturação da cor= Croma, Índice de tonalidade da cor pelo ângulo hue= °Hue.

Fonte: Da autora (2020).

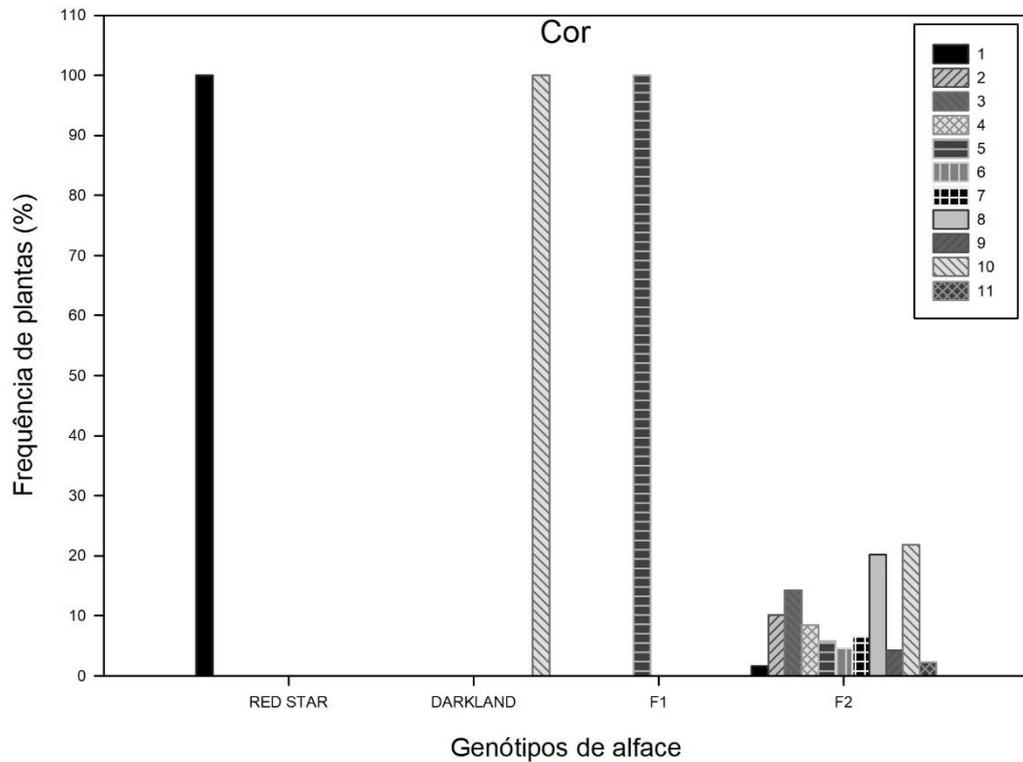
É possível verificar que os genitores são contrastantes em relação aos caracteres antocianinas, carotenoides e clorofila, porém observou-se uma pequena variação dentro de cada genitor, com exceção do caráter antocianina para a cultivar Darkland. Esse resultado provavelmente se deve à influência ambiental.

Em relação aos teores de antocianinas, a cultivar Red Star apresentou maiores teores, tendo as plantas da geração F₁ e F₂ sido distribuídas em sua maioria nas classes de menores teores, efeito justificado pela existência da alta dominância (-0,92) no sentido de diminuição do caráter. Já em relação ao teor de carotenoides e índice de clorofila, houve uma distribuição das plantas das gerações filiais nas classes intermediárias com tendência aos menores valores, justificados pelo grau médio de dominância de -0,76 e -0,31, respectivamente.

Devido à mínima variância ambiental nos genitores os caracteres colorimétricos se enquadram em apenas uma classe cada. Sendo que as plantas das gerações filiais geralmente foram distribuídas em classes intermediárias, ocorrendo normalmente uma tendência de maior porcentagem de plantas das gerações F₁ e F₂ a favor das classes à qual pertencia a cultivar Darkland. A magnitude dessa tendência dependeu do grau médio de dominância e da natureza de aumento ou decréscimo do caráter, em que houve elevação nos valores dos caracteres L*, b*, croma e °hue, com graus de dominância positivo. Porém, ocorrendo o oposto aos caracteres antocianinas, carotenoides, clorofila e a*, os quais apresentaram grau de dominância negativos.

Em relação à cor das folhas por escala de notas (FIGURA 4), observou-se que os genitores e plantas da geração F₁ se enquadram em apenas uma classe cada. Tendo os genótipos Red Star, Darkland e plantas F₁ notas 1 (vermelho muito escuro), 10 (verde escuro) e 5 (Verde médio com bordas vermelho clara), respectivamente. Já as plantas F₂ apresentaram cores desde o vermelho muito escuro até o verde claro. Esse comportamento pode ser justificado pelo grau de dominância intermediário (0,50) do caráter e pela sua natureza de aumentar os valores.

Figura 4 - Distribuição de frequência de notas de coloração em plantas de alface dos genótipos Darkland e Red Star e em plantas da geração F₁ (Darkland x Red Star) e da geração F₂ (Darkland x Red Star).



Escala de notas de cor: 1= vermelho muito escuro; 2= Vermelho escuro; 3= Vermelho médio; 4= Vermelho claro; 5= Verde médio com bordas vermelho clara; 6= Verde muito escuro com bordas vermelho média; 7= Verde médio com bordas vermelho escura; 8= Verde com traços de vermelho claro; 9= Verde muito escuro; 10= Verde escuro; 11= Verde claro.

Fonte: Da autora (2020).

4 CONCLUSÕES

Os teores de antocianinas e carotenoides em folhas de alface são condicionados por mais de um gene com dominância parcial.

A cor vermelha das folhas de alface pode ser utilizada como um indicador em programas de melhoramento para a seleção indireta de genótipos com alto teor de antocianinas e carotenoides totais.

O aumento na intensidade da cor vermelha nos genótipos de alface é indicativo de maiores teores de antocianinas.

O uso de colorimetria e escala de notas de cor em folhas de alface podem ser utilizados como métodos eficazes de prever os teores de antocianinas e carotenoides totais e o índice de conteúdo de clorofila SPAD devido às fortes correlações com estes caracteres.

Os elevados valores de herdabilidade no sentido amplo e a ocorrência de segregação transgressiva dos caracteres estudados, facilitam a seleção de genótipos superiores em população segregante em programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS

- ALVES, C.C.D.O. *et al.* Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 830-839, 2008.
- 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.
- AZEVEDO, A.M. *et al.* Parâmetros genéticos e análise de trilha para o florescimento precoce e características agrônômicas da alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 2, p. 118-124, 2014.
- CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- FERREIRA, M.A.J.F. *et al.* Correlações genóticas, fenotípicas e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento genético. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 438-442, 2003.
- FRANCIS, F.J. **Analysis of anthocyanins**. Anthocyanins as food colors. New York, USA: Academic Press, 1982. 280 p.
- GAZULA, A. *et al.* Anthocyanin levels in nine lettuce (*Lactuca sativa*) cultivars: influence of planting date and relations among analytic, instrumented, and visual assessments of color. **Hort Science**, [S.l.], v. 42, n. 2, p. 232-238, 2007.
- KIM, D.E. *et al.* Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential. **Food Research International**, [S.l.], v. 105, p. 361-370, 2018.
- KIM, M.J. *et al.* Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 49, p. 19-34, 2016.
- LANFER-MARQUEZ, U.M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 227-242, 2003.
- LICHTENTHALER, H.K.; WELLBURN, A.R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, [S.l.], v. 11, n. 5, p. 591-592, 1983.
- LOPES, A.C.D.A. *et al.* Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 341-348, 2002.
- LÓPEZ, A. *et al.* Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: Comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gem and Mini Romaine) types. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 39-48, 2014.

MOU, B. Genetic variation of beta-carotene and lutein contents in lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [S.l.], v. 130, n. 6, p. 870-876, 2005.

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

PATHARE, P.B.; OPARA, U.L.; AL-SAID, F.A.-J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 36-60, 2013.

RAMALHO, M. *et al.* **Genética na agropecuária**. 5. ed. rev. Lavras, MG: UFLA, 2012.

ROCHA, M.D.M. *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de caupi de tegumento branco. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 8, n. 1, 2003.

ROCHA, M.D.M.; VELLO, N.A. Interação genótipos e locais para rendimento de grãos de linhagens de soja com diferentes ciclos de maturação. **Bragantia**, Campinas, v. 58, n. 1, p. 69-81, 1999.

SAINI, R.K. *et al.* Characterization of nutritionally important phytoconstituents in minimally processed ready-to-eat baby-leaf vegetables using HPLC–DAD and GC–MS. **Journal of Food Measurement and Characterization**, [S.l.], v. 10, n. 2, p. 341-349, 2016.

SANT'ANNA, V. *et al.* Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. **Dyes and Pigments**, [S.l.], v. 98, n. 3, p. 601-608, 2013.

SILVA, M.L.C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVEIRA, G.D.D.; MAURO, A.O.D.; CENTURION, M.A.P.D.C. Seleção de genótipos de soja para a região de Jaboticabal (SP) (Ano agrícola 2003-2004). **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 92-98, 2006.

SOUZA, M.C.M. *et al.* Variabilidade genética para características agronômicas em progênies de alface tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, Brasília,, v. 26, n. 3, p. 354-358, 2008.

STEIDLE NETO, A.J. *et al.* Non-destructive prediction of pigment content in lettuce based on visible-NIR spectroscopy. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 97, n. 7, p. 2015-2022, 2017.

TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. **The Plant Journal**, [S.l.], v. 54, n. 4, p. 733-49, 2008.

VIEIRA, L.M. *et al.* Chromatic analysis for predicting anthocyanin content in fruits and vegetables. **Food Science and Technology**, [S.l.], v. 39, n. 2, p. 415-422, 2019.

VON ELBE, J.H.; SCHWARTZ, S. . Colorantes. *In*: FENNEMA, O.R. (Ed.). **Química de los Alimentos**. 2. ed. Zaragoza, Espanha: Acribia, 2000. p. 773-850.

WELCH, C.R.; WU, Q.; SIMON, J.E. Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. **Current analytical chemistry**, [S.l.], v. 4, n. 2, p. 75-101, 2008.

WITHAM, F.H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. **Experiments in plant physiology**. D. Van Nostrand Company. New York, USA, 1971. p. 55-58.

ARTIGO 2 – Parâmetros genéticos e caracterização de progênies F_{2:3} de alface oriundas de genótipos contrastantes para pigmentos foliares

RESUMO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa de maior importância mundial, possuindo uma grande variabilidade quanto à forma, textura e cor da folha. Os programas de melhoramento exploram essa variabilidade genética em busca de genótipos superiores com caracteres almejáveis. O objetivo deste trabalho foi caracterizar progênies F_{2:3} de alface oriundas do cruzamento entre as cultivares Red Star (cor vermelha, do tipo crespa de folhas soltas) e Darkland (cor verde escura, do tipo romana), visando identificar genótipos apropriados ao mercado brasileiro com base em caracteres agrônômicos desejáveis à comercialização. O delineamento utilizado foi de blocos completos casualizados, com três repetições. Avaliaram-se 32 tratamentos, sendo as cultivares Red Star e Darkland e mais 30 progênies F_{2:3} oriundas do cruzamento entre essas cultivares. Quando as plantas atingiram o tamanho comercial foram avaliadas quanto aos seguintes caracteres: tipo de limbo, tipo de borda, tipo comercial e cor da folha. As avaliações foram feitas por um avaliador, utilizando-se uma escala de notas para cada caráter. Os dados coletados nas avaliações foram submetidos à análise de variância, após isso, as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade, sendo a nota de cada progênie comparada com as notas médias de cada um dos genitores. Todos os caracteres apresentaram herdabilidade acima de 91% e variância ambiental baixa, o que beneficia a seleção fenotípica. Embora a maioria das progênies F_{2:3} ainda apresente grande variabilidade para os caracteres agrônômicos, a progênie UFLA34 apresentou comportamento inverso, ocorrendo mínima variação nesses caracteres.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*. Melhoramento genético. Seleção fenotípica.

ABSTRACT

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is the most important leafy vegetable in the world, with great variability in the shape, texture and color of the leaf. Breeding programs exploit this genetic variability in search of superior genotypes with desirable traits. The objective of this work was to characterize lettuce F_{2:3} progenies from the cross between the cultivars Red Star (red color, curly type of loose leaves) and Darkland (dark green color, Roman type), aiming to identify appropriate genotypes for the Brazilian market based on desirable agronomic traits for commercialization. The design used was complete randomized blocks, with three replications. 32 treatments were evaluated, being the cultivars Red Star and Darkland and another 30 F_{2:3} progenies from the crossing between these cultivars. When the plants reached commercial size, they were evaluated for the following characters: type of leaf, type of border, commercial type and leaf color. The evaluations were made by an evaluator, using a scale of grades for each character. The data collected in the evaluations were submitted to analysis of variance, after that, the averages were compared by Dunnett's test, at 5% probability, with the score of each progeny compared with the average scores of each parent. All characters showed heritability above 91% and low environmental variance, which benefits the phenotypic selection. Although the majority of F_{2:3} progenies still show great variability for agronomic traits, the UFLA34 progeny showed the opposite behavior, with minimal variation in these characters.

Keywords: *Lactuca sativa*. Plant breeding. Phenotypic selection.

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) teve origem na região mediterrânea, existindo evidências de seu cultivo no Egito antigo (RYDER, 1999). Atualmente, é a hortaliça folhosa mais importante, sendo apreciada por pessoas do mundo inteiro. Normalmente é consumida na forma fresca ou em mistura de saladas prontas, tendo papel como alimento funcional devido a possuir uma mistura complexa de compostos bioativos com atividades antioxidantes, tais como antocianinas, carotenoides e clorofilas (KIM *et al.*, 2016; LÓPEZ *et al.*, 2014).

A alface possui uma elevada variabilidade, apresentando diversos formatos de cabeça, e folhas de diversas cores, formas e texturas (CARVALHO FILHO; GOMES; MALUF, 2009; STEIDLE NETO *et al.*, 2017). No Brasil, até a década de 90, a alface lisa era preferida pelos consumidores brasileiros (SALA; COSTA, 2012), mas atualmente, a alface crespa é a mais comercializada nas ceasas do país, seguida das alfases americana, mimosa, lisa, romana e vermelha (CONAB, 2021).

Embora as alfases romana e vermelha sejam menos comercializadas no Brasil têm apresentado tendência de aumento nos últimos anos (CONAB, 2021). No país o aumento no consumo de saladas prontas, constituídas da mistura de diferentes folhosas, tem levado ao aumento da demanda de alface vermelha (SALA; COSTA, 2005). Em mistura de saladas são utilizados diferentes tipos de alface com formas e cores atrativas, combinando as características de melhor qualidade de todas as variedades (KIM *et al.*, 2018). Nas quais a alface vermelha é bastante utilizada tanto por sua cor atrativa quanto pela relação da sua cor com o alto teor de antocianinas (MULABAGAL *et al.*, 2010). Neste tipo de salada, a alface romana também é apreciada devido apresentar folhas com excelente crocância, sabor mais adocicado, que conquistam o paladar do consumidor (SALA; COSTA, 2012; ZHAN *et al.*, 2013).

Quando não há disponibilidade de genótipos que possuam todos os caracteres almejavéis para a produção em cultivo comercial, como tamanho e uniformidade de plantas, torna-se necessário um programa de melhoramento genético específico para obtê-los. O êxito desses programas é influenciado pela disponibilidade de populações que apresentem alta variabilidade. Por outro lado, nas etapas de seleção de plantas com base no desempenho agrônômico, torna-se necessário obter genótipos com padrões dos caracteres almejavéis. Em alface, a caracterização do tipo de folha é essencial para identificação e seleção de genótipos,

principalmente quando a população segregante é oriunda de parentais contrastantes para o caráter desejado (CARVALHO FILHO; GOMES; MALUF, 2009).

Para fins de seleção, a estimativa de parâmetros genéticos permite conhecer a estrutura genética de populações (SANTOS *et al.*, 2018). Deste modo, torna-se importante na escolha do método mais adequado de seleção, favorecendo a obtenção de genótipos superiores. Entre os parâmetros genéticos e fenotípicos que podem contribuir para o direcionamento da seleção de genótipos de alface mais promissores, destacam-se as variâncias genéticas e fenotípicas, as herdabilidades, as correlações fenotípicas e genéticas, o coeficiente de variação genético, e a razão CV_g/CV_e .

Com o presente trabalho objetivou-se caracterizar progênies $F_{2:3}$ de alface oriundas do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland, visando identificar genótipos apropriados ao mercado brasileiro com base em caracteres agrônômicos desejáveis à comercialização.

2 MATERIAL E MÉTODOS

De janeiro a dezembro de 2017 foi desenvolvido o trabalho de condução de populações de alface até a obtenção de sementes F_2 , e de março a setembro de 2018 obteve-se as sementes $F_{2:3}$. Essas etapas do experimento foi conduzida em cultivo protegido, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), nas dependências do Departamento de Agricultura, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

As cultivares de alface Red Star e Darkland foram utilizadas como genitores por serem contrastantes quanto à cor e o tipo de folhas. A cultivar Red Star apresenta folhas do tipo crespas soltas, com cor vermelha intensa. Já a cultivar Darkland é do tipo romana, de folhas verdes escuras. Para realização dos cruzamentos, as sementes de cada cultivar foram semeadas em substrato comercial contidos em bandejas de poliestireno de 162 células, de forma escalonada para favorecer o sincronismo de florescimento. Após o período de desenvolvimento das mudas, estas foram transplantadas para vasos, contendo substrato à base de terra de barranco, areia, húmus e adubo químico. Por ocasião do florescimento foram realizados os cruzamentos entre as duas cultivares, utilizando-se a cultivar Red Star como genitor masculino. Cada botão floral polinizado na cultivar Darkland foi identificado, amarrando-se um pedaço de lã ao mesmo. Antes do sol nascer, com o dia ainda escuro, flores da cultivar Darkland ainda em estágio de botão, na iminência de abrir, tiveram seus estiletes cortados por uma gilete. Com o aumento da temperatura os estigmas se alongaram, e quando apresentaram um formato bipartido na

extremidade foram polinizados utilizando-se flores abertas da cultivar Red Star, que foram esfregadas diretamente nas flores emasculadas da cultivar Darkland. Após o desenvolvimento e amadurecimento das sementes F₁, as mesmas foram limpas, secas e armazenadas.

Logo após, as sementes F₁ foram semeadas em substrato comercial contidos em bandejas de poliestireno de 162 células e deram origem a plântulas F₁. As mudas foram transplanadas para vasos contendo substrato à base de terra de barranco, areia, húmus e adubo químico, onde permaneceram até produção e colheita das sementes F₂.

Posteriormente, em bandejas de poliestireno de 162 células contendo substrato comercial foram semeadas sementes F₂. Após o período de desenvolvimento das mudas, estas foram transplantadas para vasos contendo substrato comercial, onde permaneceram até produção e colheita de forma individualizada das sementes F_{2:3}.

De outubro a dezembro de 2018, no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia do Departamento de Agricultura da UFLA - CDTT/DAG, em Ijaci, Minas Gerais, Brasil, foi conduzido um experimento para seleção fenotípica. Foram utilizadas 36 plantas de cada um dos genitores e 36 plantas de cada uma das 30 progênes F_{2:3}.

Sob cultivo protegido, as plantas foram transplantadas para canteiros com espaçamento 0,20 × 0,25 m entre plantas e fileiras, respectivamente, no qual foi adotado delineamento em blocos completos casualizados, com três repetições, a parcela dos genitores e das progênes eram contituídas por 12 plantas. As plantas foram conduzidas de acordo com o recomendado para a cultura da alface (FILGUEIRA, 2008).

Todas as plantas foram avaliadas quanto aos seguintes caracteres: tipo de limbo, tipo de borda, tipo comercial e cor das folhas. As avaliações foram realizadas por um avaliador, utilizando-se uma escala de notas para cada caráter (FIGURAS 5, 6, 7 E 8), elaborada neste trabalho de acordo com a variação de cor e forma da alface.

Figura 5 - Escala de notas utilizada para avaliação do tipo de Limbo em folhas de alface.



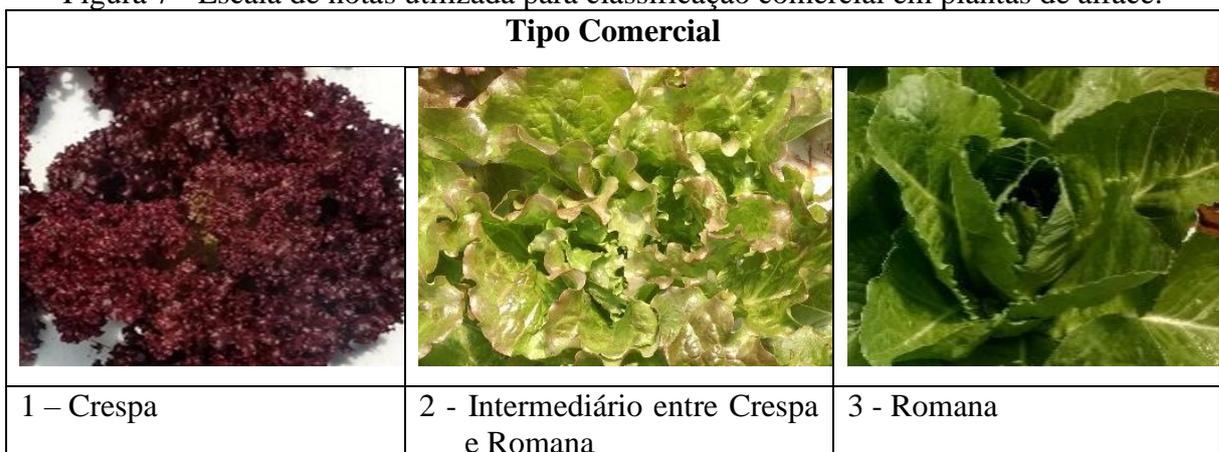
Fonte: Da autora (2020).

Figura 6 - Escala de notas utilizada para avaliação do tipo de borda em folhas de alface.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 7 - Escala de notas utilizada para classificação comercial em plantas de alface.



Fonte: Da autora (2020)

Figura 8 - Escala de notas utilizada para avaliação da cor das folhas de alface.



Fonte: Da autora (2020).

Os dados deste experimento foram utilizados para estimar parâmetros genéticos, assim como as médias das populações para estudo de correlação entre os caracteres. As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas conforme o Quadro 2.

Quadro 2 - Estimativa dos parâmetros genéticos.

Estimativa dos parâmetros genéticos	
Variância fenotípica (média)	$\hat{\sigma}_f^2 = \frac{QMG}{r}$
Variância genotípica (média)	$\hat{\sigma}_g^2 = \frac{QMT - QMR}{K}$
Variância ambiental (média)	$\hat{\sigma}_e^2 = \frac{QMR}{r}$
Herdabilidade no sentido amplo baseado na média de família	$h^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_f^2}$
Correlação interclasse	$\hat{\rho} = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_e^2}$
Coefficiente de variação genético	$CV_g \% = \frac{(100 \sqrt{\hat{\sigma}_g^2})}{m}$
Razão CV_g/CV	$CV_g/CV = \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_e^2}}$

Fonte: Da autora (2020).

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e depois as médias comparadas pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade, sendo a nota de cada progênie comparada com as notas médias de cada um dos genitores. Todas as análises foram realizadas no aplicativo Genes versão 1990.2019.51 (CRUZ, 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância (TABELA 4), para todos os caracteres agrônômicos avaliados foi observada diferença significativa, indicando variabilidade entre os materiais avaliados. Quanto aos coeficientes de variação, não ultrapassaram o valor de 10,09%, os quais são considerados baixos e retratam pouca sensibilidade em relação às variações experimentais não controláveis, demonstrando uma boa precisão do experimento.

Tabela 4 - Resumo da análise de variância para os caracteres tipo de limbo, tipo de borda, tipo comercial e cor da folha, em 30 progênies F_{2:3} de alface, obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland, considerando como testemunhas os genitores com base no padrão dos caracteres agronômicos.

FV	GL	Quadrado Médio			
		Lim	Bor	Tip	Cor
Blocos	2,00	0,11	0,01	0,02	7,42
Genótipos	31,00	3,32**	0,90**	0,37**	22,59**
Progênies F _{2:3} (P)	29,00	2,58**	0,75**	0,19**	19,55**
Testemunhas (Te)	1,00	24,00**	66,00**	6,00**	121,50**
P vs Te	1,00	4,26**	0,22*	0,02ns	12,02**
Resíduo	62,00	0,15	0,04	0,02	0,26
Média Geral		3,82	2,19	1,94	6,87
Média da Progênies F _{2:3}		3,87	2,20	1,94	6,96
Média Testemunhas		3,00	2,00	2,00	5,50
CV(%)		10,09	9,33	6,42	7,47

**/*: Significativo respectivamente a 1% e 5% de probabilidade pelo teste de F (P<0,01 e P<0,05). Tipo de limbo= Lim; Tipo de borda= Bor; Tipo comercial= Tip; Cor da folha= Cor.

Fonte: Da autora (2020).

O teste de Dunnett, ao comparar a média de cada progênie com a média de cada um dos genitores, permite inferir, para cada caráter, se a progênie se encontra ainda segregante (quando não difere significativamente de nenhum dos genitores) ou se encontra em provável homozigose semelhante a um ou outro genitor (quando não difere significativamente de um e difere do outro).

Verifica-se que as progênies UFLA01; UFLA02; UFLA17; UFLA19; UFLA22; UFLA 29; UFLA41 e UFLA42 não diferiram significativamente pelo teste de Dunnett (5%) de nenhum dos dois genitores (TABELA 5) para os caracteres, demonstrando que se encontram ainda segregantes. Isto indica que são necessários mais ciclos de autofecundação para a fixação dos diferentes caracteres em cada uma destas progênies.

Tabela 5 - Comparação de médias para os caracteres tipo de limbo, tipo de borda, tipo comercial e cor de folhas pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade, entre progênes F_{2:3} de alface e seus genitores ‘Red Star’ e ‘Darkland’.

Progênes	Lim		Bor		Tip		Cor	
UFLA01	3,14	ns	1,64	ns	1,81	ns	5,58	ns
UFLA02	2,94	ns	1,94	ns	1,97	ns	4,69	ns
UFLA04	5,00	*	3,00	*	2,64	ns	8,58	ns
UFLA05	5,00	*	2,36	ns	2,03	ns	3,31	ns
UFLA07	4,81	*	2,19	ns	2,00	ns	7,14	ns
UFLA12	4,51	*	2,66	*	2,06	ns	9,61	*
UFLA13	3,75	ns	2,19	ns	2,00	ns	9,72	*
UFLA14	4,34	*	2,46	ns	2,00	ns	7,98	ns
UFLA15	3,92	ns	2,14	ns	1,97	ns	9,89	*
UFLA16	4,80	*	2,68	*	2,06	ns	4,76	ns
UFLA17	2,69	ns	1,67	ns	1,75	ns	5,03	ns
UFLA18	2,64	ns	1,38	+	1,77	ns	3,61	ns
UFLA19	2,83	ns	1,61	ns	1,67	ns	6,33	ns
UFLA20	3,72	ns	2,03	ns	2,00	ns	9,69	*
UFLA22	2,69	ns	1,69	ns	1,78	ns	5,06	ns
UFLA24	4,67	*	2,97	*	2,06	ns	3,83	ns
UFLA29	4,00	ns	2,00	ns	2,00	ns	8,61	ns
UFLA30	4,42	*	2,33	ns	2,06	ns	3,06	ns
UFLA31	4,25	*	2,64	*	2,08	ns	9,75	*
UFLA34	1,67	+	1,31	+	1,06	+	10,81	*
UFLA37	4,75	*	2,97	*	2,17	ns	6,16	ns
UFLA38	4,53	*	2,33	ns	1,94	ns	6,81	ns
UFLA39	3,06	ns	1,78	ns	1,83	ns	9,83	*
UFLA40	4,22	*	2,06	ns	2,00	ns	7,75	ns
UFLA41	3,77	ns	2,40	ns	1,89	ns	3,8	ns
UFLA42	3,14	ns	1,51	ns	1,86	ns	8,62	ns
UFLA45	5,00	*	3,00	*	2,14	ns	2,58	ns
UFLA46	4,69	*	2,64	*	2,08	ns	9,78	*
UFLA47	4,72	*	2,53	*	1,94	ns	6,31	ns
UFLA48	2,43	ns	1,82	ns	1,61	ns	10,17	*
Testemunhas								
Red Star	1,00	+	1,00	+	1,00	+	1,00	+
Darkland	5,00	*	3,00	*	3,00	*	10,00	*
CV (%)	10,09		9,33		6,42		7,47	

* – Significativamente igual à ‘Darkland’ (Dunnett, $p < 0,05$), + – Significativamente igual à ‘Red Star’ (Dunnett, $p < 0,05$), ns – Não difere significativamente à ‘Darkland’ e Red Star (Dunnett, $p < 0,05$). Tipo de limbo= Lim; Tipo de borda= Bor; Tipo comercial= Tip; Cor de folha= Cor.

Fonte: Da autora (2020).

Ao se considerar os caracteres em geral, verifica-se uma diversidade de respostas da maioria das progênes, o que seria esperado, já que os diferentes caracteres são controlados por

genes independentes, segregando, portanto, independentemente. Pode-se verificar, ainda, uma maior homozigose das progênies em relação aos caracteres apresentados pela cultivar Darkland do que em relação à Red Star. Esta tendência pode, eventualmente, ser devida ao número de progênies, apenas trinta, que provavelmente não conseguiu contemplar a diversidade de segregação para os genes envolvidos em todos os caracteres na geração F₂, com base nas escalas de notas estabelecidas.

Quando se considera o tipo de limbo, observa-se que a progênie UFLA-34 apresentou a menor nota (1,67), sendo a única que não diferiu significativamente da cultivar Red Star, mostrando-se, portanto, homozigota para limbo crespo. Já as progênies UFLA04, UFLA05, UFLA07, UFLA12, UFLA14, UFLA16, UFLA24, UFLA30, UFLA31, UFLA37, UFLA38, UFLA40, UFLA45, UFLA46, UFLA47 obtiveram notas que variaram de 4,22 a 5,00 não diferindo da cultivar Darkland, apresentando-se, portanto, homozigotas para limbo liso. Em estudo realizado em progênies F₄ de alface, oriundas entre o cruzamento envolvendo as cultivares ‘Regina 71’ e ‘Salinas 88’, contrastantes quanto ao tipo de limbo, foi possível a seleção de progênies de limbos lisos e limbos pouco enrugados (CARVALHO FILHO; GOMES; MALUF, 2009).

Em relação ao tipo de borda as progênies UFLA18 e UFLA34 se apresentaram como homozigotas para borda do tipo repicada, se assemelhando ao genitor ‘Red Star’, com notas respectivamente de 1,38 e 1,31. Já as progênies UFLA04, UFLA12, UFLA16, UFLA24, UFLA31, UFLA37, UFLA45, UFLA46 e UFLA47 apresentaram notas que variaram de 2,64 a 3, com padrão de bordas lisas, podendo ser consideradas homozigotas para este caráter, semelhantes ao outro genitor, cultivar Darkland. As outras progênies se apresentaram como segregantes para este caráter. Carvalho Filho; Gomes e Maluf (2009) observaram que progênies F₄ de alface resultantes do cruzamento entre as cultivares ‘Regina 71’ e ‘Salinas 88’ (contrastantes quanto ao tipo de borda) apresentam plantas tanto de bordas lisas quanto de bordas enrugadas.

Quando avaliado o tipo comercial, a progênie UFLA34 apresentou nota 1,06 correspondente ao padrão do tipo crespa assemelhando-se a cultivar Red Star. As demais progênies apresentaram médias intermediárias entre o tipo crespa e romana, com notas que variaram de 1,61 a 2,64, se mostrando, desta forma, segregantes. Atualmente, o tipo crespa corresponde ao principal segmento comercializado no Brasil em oposição a alface lisa, que é o quarto tipo varietal mais comercializado (CONAB, 2021).

Na avaliação da cor das folhas, as progênies UFLA12, UFLA13, UFLA15, UFLA20, UFLA31, UFLA34, UFLA39, UFLA46 e UFLA48 obtiveram notas a partir de 9,61, não

diferindo significativamente da cultivar Darkland de coloração verde escuro, sendo assim, consideradas homozigotas para esta característica. As demais progênies apresentaram maior variação nas tonalidades de cores entre o verde e o vermelho com notas médias intermediárias (2,58 a 8,62) aos dois genitores, não diferindo significativamente das cultivares Red Star e Darkland, sendo portanto, segregantes.

A única progênie que se apresentou como homozigota para todos os caracteres foi a UFLA34, com limbo crespo, borda repicada e tipo comercial crespa (semelhante à cultivar Red Star), porém, de coloração verde média (semelhante à cultivar Darkland). Infere-se aqui a possibilidade de seleção de uma nova cultivar comercial de alface do tipo crespa de folhas verdes.

A alface de cor verde ainda é mais comercializada no Brasil, mas a de cor vermelha tem apresentado potencial de crescimento (CONAB, 2021), principalmente, devido à sua grande utilização em mistura de saladas prontas, tanto por ter uma cor atraente, quanto pela sua alta capacidade antioxidante proporcionada por compostos bioativos, tais como antocianinas e carotenoides (KIM *et al.*, 2018; LLORACH *et al.*, 2008). Devido à segregação para diferentes caracteres das progênies apresentada neste trabalho, tornam-se necessários mais ciclos de autofecundação, com seleção de plantas dentro das progênies, para fixação dos diferentes caracteres de acordo com o interesse comercial.

É importante ter o conhecimento da natureza e magnitude das correlações genotípicas, fenotípicas e ambientais. Os valores da correlação podem variar de $-1,0$ a $1,0$, quanto mais próximo do módulo 1, mais forte é a correlação (LOPES *et al.*, 2002). No trabalho foram observadas correlações significativas entre os caracteres avaliados, com exceção do caráter cor das folhas com os demais caracteres (TABELA 6). Ainda observou-se a existência de correlação forte e positiva (90,10 %) entre os caracteres tipo de limbo e tipo de borda. De maneira semelhante, Silva (2018), ao caracterizar progênies $F_{2:4}$ de alface oriundas do cruzamento entre as cultivares Salinas 88 e Colorado, verificou que os caracteres tipo de borda e tipo de limbo apresentam correlação genotípica (78,16 %). Do mesmo modo, ocorreu correlação alta para o caráter tipo comercial com os caracteres tipo de limbo e tipo de borda, com valores de 83,50 % e 79,70 %, respectivamente. É importante ter o conhecimento da natureza e magnitude dessas correlações já que a correlação genotípica corresponde à porção genética da correlação fenotípica e, é utilizada para orientar programas de melhoramento, por ter natureza herdável (FERREIRA *et al.*, 2003). Uma vez que nas etapas iniciais dos programas de melhoramento são utilizados um número enorme de plantas, o uso do tipo de limbo e do tipo

de borda como indicativos para a seleção do tipo comercial desejável pode reduzir o tempo para obtenção de uma nova cultivar em programas de melhoramento.

Tabela 6 - Coeficientes de correlação fenotípica (acima da diagonal) e correlação genotípica (abaixo da diagonal), entre caracteres avaliados em progênies de alface obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland.

Caráter	Lim	Bor	Tip	Cor
Lim	-	0,887**	0,817**	-0,198
Bor	0,901**	-	0,775**	-0,163
Tip	0,835**	0,797**	-	-0,150
Cor	-0,207	-0,172	-0,163	-

**/*: Significativo respectivamente a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t ($P < 0,01$ e $P < 0,05$). Tipo de limbo= Lim; Tipo de borda= Bor; Tipo comercial= Tip; Cor da folha= Cor.

Fonte: Da autora (2020).

Quando se avaliou a herdabilidade no sentido amplo (TABELA 7), verificou-se valores acima de 90% para todos os caracteres, o que normalmente favorece a obtenção de elevados ganhos com a seleção, já que esse parâmetro corresponde à proporção da variabilidade total (fenotípica), que é de natureza genotípica, indicando a possibilidade de antever o êxito com a seleção (SILVEIRA; MAURO; CENTURION, 2006). Os valores elevados de herdabilidade encontrados neste trabalho são um indício da pouca influência do ambiente em relação à resposta destes caracteres no experimento, o que pode ser confirmado pela baixa variância ambiental (TABELA 7).

O coeficiente de variação genético (CVg) é um parâmetro que permite inferir sobre a magnitude da variabilidade presente na população em diferentes caracteres estudados (FERRÃO *et al.*, 2008). A razão entre CVg e o coeficiente de variação ambiental (CVe) pode ser usada na seleção de progênies, pois é um índice que indica o grau da facilidade de seleção para um dado caráter. Quando a razão estimada for igual ou maior que 1,0, mais favorável é o processo de seleção, pois a variação genética é a maior responsável pelos valores de CV estimados (YOKOMIZO; FARIAS NETO, 2003). Deste modo, como as avaliações das progênies para todos os caracteres apresentaram valores da razão CVg/CVe superiores a 1,0, pode-se inferir maior facilidade na obtenção de ganhos por seleção.

Tabela 7 - Parâmetros genéticos para caracteres agronômicos de progênies F_{2:3} de alface obtidas a partir do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland.

Parâmetros genéticos e ambientais	Lim	Bor	Tip	Cor
Variância fenotípica (média)	0,859	0,249	0,062	6,516
Variância genotípica (média)	0,810	0,235	0,057	6,428
Variância ambiental (média)	0,049	0,014	0,005	0,088
Herdabilidade (US: média da família) - %	94,250	94,428	91,604	98,654
Correlação intraclasse (US: parcela)- %	84,530	84,960	78,433	96,067
Coefficiente de variação genético (%)	23,255	22,053	12,269	36,419
Razão CV _g /CV _e	2,338	2,377	1,907	4,942
$r(1 - (1 / f))^{0.5}$	0,977	0,977	0,979	0,994

Tipo de limbo= Lim; Tipo de borda= Bor; Tipo comercial= Tip; Cor de folha= Cor; US= Unidade de seleção.
Fonte: Da autora (2020).

4 CONCLUSÕES

A maioria das progênies ainda apresenta segregação para os diferentes caracteres, tipo de limbo, e borda, tipo comercial e coloração de folhas.

São necessários mais ciclos de autofecundação e seleção para identificar genótipos homozigotos com caracteres agronômicos desejáveis.

A progênie UFLA34 apresenta-se como promissora para obtenção de nova cultivar de alface do tipo comercial crespa de folhas soltas.

A alta herdabilidade no sentido amplo para todos os caracteres, associada a valores de relação C_{vg}/C_{ve} elevados, favorecem o sucesso na seleção.

REFERÊNCIAS

- CARVALHO FILHO, J.L.S.D.; GOMES, L.A. A.; MALUF, W. R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F₄ de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 37-42, 2009.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Informações agropecuárias, Prohort - Simab**. 2021. Disponível em: <http://dw.ceasa.gov.br/>. Acesso em: 04 jan. 2021.
- CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- FERRÃO, R.G. *et al.* Parâmetros genéticos em café Conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 61-69, 2008.
- FERREIRA, M.A.J.F. *et al.* Correlações genóticas, fenotípicas e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento genético. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 438-442, 2003.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008. 421 p.
- KIM, M.J. *et al.* Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 49, p. 19-34, 2016.
- KIM, D.E. *et al.* Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential. **Food Research International**, [S.l.], v. 105, p. 361-370, 2018.
- LLORACH, R. *et al.* Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 108, n. 3, p. 1028-1038, 2008.
- LOPES, A.C.D.A. *et al.* Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 341-348, 2002.
- LÓPEZ, A. *et al.* Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: Comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gem and Mini Romaine) types. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 39-48, 2014.
- MULABAGAL, V. *et al.* In vitro evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 118, n. 2, p. 300-306, 2010.
- RYDER, E.J. **Lettuce, endive and chicory**. Wallingford, UK: Cab International, 1999. 208 p.
- SALA, F.C.; COSTA, C.P.D. Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012.

SANTOS, E. R. *et al.* Estimativa de parâmetros de variação genética em progênes F₂ de soja e genitores com presença e ausência de lipoxigenases. **Nucleus**, Ituverava, v. 15, n. 1, p. 61-70, 2018.

SILVA, S. **Caracterização de progênes de alface quanto à tolerância ao vírus do mosaico do alface e ao nematoide das galhas e características agronômicas em sistema orgânico**. 2018. 82 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2018.

SILVEIRA, G.D.D.; MAURO, A.O.D.; CENTURION, M.A.P.D.C. Seleção de genótipos de soja para a região de Jaboticabal (SP) (Ano agrícola 2003-2004). **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 92-98, 2006.

STEIDLE NETO, A.J. *et al.* Non-destructive prediction of pigment content in lettuce based on visible-NIR spectroscopy. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 97, n. 7, p. 2015-2022, 2017.

YOKOMIZO, G.K.-I.; FARIAS NETO, J.T.D. Caracterização fenotípica e genotípica de progênes de pupunheira para palmito. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 67-72, 2003.

ZHAN, L. *et al.* Light exposure during storage preserving soluble sugar and l-ascorbic acid content of minimally processed romaine lettuce (*Lactuca sativa L. var. longifolia*). **Food Chemistry**, [S.l.], v. 136, n. 1, p. 273-278, 2013.

TERCEIRA PARTE - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A alface (*Lactuca Sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil. A sua inserção na dieta está associada a benefícios à saúde, devido a presença de compostos bioativos em suas folhas, tais como carotenoides, antocianinas e clorofilas.

A alface possui uma enorme variabilidade quanto à forma, textura, borda e cor de folhas. Atualmente, o tipo varietal crespa vem sendo preferido pelos consumidores brasileiros. No entanto, existe um grande potencial de crescimento para os tipos romana e vermelha, tanto pelo sabor agradável e presença de compostos bioativos em suas folhas, quanto pela tendência a serem utilizados em mistura de saladas prontas.

No melhoramento genético clássico, quando não ocorre a disponibilidade de genótipos que possuam caracteres qualitativos e quantitativos almejáveis para a produção comercial, tais como teor de fitoquímicos, cor e uniformidade de plantas, tornando-se necessário um programa de melhoramento específico para obtê-los. O êxito destes programas depende da existência de variabilidade nas populações base, pois favorece a ocorrência de avanços ao realizar a seleção de plantas.

Com isso, neste trabalho, estudou-se geneticamente a distribuição quantitativa de antocianinas, carotenoides e clorofila e sua correlação com caracteres colorimétricos e escala de notas para cor de folha em uma população segregante de plantas F_2 de alface oriunda do cruzamento entre a cultivar Red Star, de cor vermelha, e a cultivar Darkland, de cor verde escura. Também caracterizou-se progênies $F_{2:3}$ de alface oriundas desse mesmo cruzamento, visando identificar genótipos apropriados ao mercado brasileiro com base em caracteres agronômicos desejáveis à comercialização.

Na primeira fase do experimento foi realizado o cruzamento entre os genitores para obtenção da geração F_1 . Quando a planta selecionada da geração F_1 alcançou a fase reprodutiva, ocorreu então a autofecundação natural e as sementes resultantes foram colhidas, obtendo-se, assim, as sementes F_2 . Já na segunda fase do experimento, 48 plantas F_2 foram selecionadas e na fase reprodutiva ocorreu a autofecundação natural. As sementes obtidas foram colhidas de forma individualizada e deram origem as plantas das progênies $F_{2:3}$. E finalmente, na terceira fase, foi conduzido um experimento para o estudo do controle genético e seleção fenotípica, no qual foram utilizadas 36 plantas de cada um dos genitores e da geração F_1 , 312 plantas da geração F_2 e 36 plantas de cada uma das 30 progênies da geração $F_{2:3}$. Os valores obtidos nas avaliações foram utilizados para as análises.

Com o experimento foi possível verificar que os teores de antocianinas e carotenoides em folhas de alface são condicionados por mais de um gene com dominância parcial. E que a cor vermelha de folhas de alface pode ser utilizada como auxílio em programas de melhoramento para a seleção de genótipos com alto teor de antocianinas e carotenoides totais. Também foi observado que os caracteres relacionados à cor de folha, obtidos por meio de colorímetro e escala de nota, podem ser indicados para a seleção indireta a favor do teor de antocianinas e carotenoides totais e índice de conteúdo de clorofila SPAD, devido às fortes correlações com esses caracteres. Desta forma, programas que buscam desenvolver novas cultivares de alface com altos níveis dos fitoquímicos antocianinas, carotenoides e clorofila, poderão utilizar esses métodos, já que apresentam vantagem sobre os métodos de análise destrutiva de amostras, por ter baixo custo, sem necessidade de utilização de reagentes especializados, além de serem mais rápidos e simples.

Também foi possível observar que a maioria das progênies $F_{2:3}$, oriundas do cruzamento entre as cultivares Red Star e Darkland apresentaram segregação para os diferentes caracteres, tipo de limbo, e borda, tipo comercial e cor de folhas, sendo ainda preciso avançar mais gerações, devido ao consequente aumento da homozigose nas progênies. Apesar disso, a progênie UFLA34 apresentou-se promissora para obtenção de nova cultivar de alface do tipo comercial crespa de folhas soltas. Outro benefício encontrado, foi que todos os caracteres apresentaram herdabilidade ampla acima de 91% e variância ambiental baixa, o que favorece ganhos genéticos com a seleção fenotípica. Desta forma, com o avanço das gerações será possível obter uma maior uniformidade de plantas quanto aos caracteres almejáveis, sendo possível selecionar genótipos de alface dos tipos crespa e romana, tanto de cor vermelha quanto de cor verde.