



**LUCIANA DE SOUSA CASSETARI**

**TEORES DE CLOROFILA E  $\beta$ -CAROTENO EM  
CULTIVARES E LINHAGENS DE ALFACE**

**LAVRAS - MG**

**2012**

**LUCIANA DE SOUSA CASSETARI**

**TEORES DE CLOROFILA E  $\beta$ -CAROTENO EM CULTIVARES E  
LINHAGENS DE ALFACE**

Dissertação 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 Mestre.

Orientador

Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes

**LAVRAS - MG**

**2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Cassetari, Luciana de Sousa.

Teores de clorofila e  $\beta$ -caroteno em cultivares e linhagens de  
alface / Luciana de Sousa Cassetari. – Lavras: UFLA, 2012.

67 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Luiz Antonio Augusto Gomes.

Bibliografia.

1. *Lactuca sativa*. 2. Vitamina A. 3. Betacaroteno. 4. Coloração.  
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.52

**LUCIANA DE SOUSA CASSETARI**

**TEORES DE CLOROFILA E  $\beta$ -CAROTENO EM CULTIVARES E  
LINHAGENS DE ALFACE**

Dissertação 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 Mestre.

APROVADA em 12 de setembro de 2012.

Dra. Josefina Aparecida de Souza      UFLA

Dr. Ernani Clarete da Silva              UFSJ

Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes  
Orientador

**LAVRAS - MG**

**2012**

A Deus, minha família, amigos e orientadores pelo apoio, incentivo e amizade.  
Sem eles nada seria possível.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me amparar nos momentos difíceis e pelas bênçãos a mim concedidas.

O meu profundo agradecimento ao meu orientador, Luiz Antonio Augusto Gomes e a minha coorientadora, Josefina Aparecida de Souza. Sou muito grata a eles pela confiança e pelo suporte em todas as etapas desse mestrado.

Agradeço a todos meus amigos, pelo tempo e sorriso que me dedicaram ao longo desses anos.

Sou muito grata a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, especialmente Daniela, Juliana, Wilder, Ana Clara e Marcos.

Em especial, gostaria de agradecer aos meus pais Marlene e Daniel, assim como minha irmã Alice e meu namorado, Patrese, pelo amor e por sempre acreditarem em mim. Sem o amor e a compreensão de vocês, este objetivo não seria alcançado.

Às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPEMIG.

À FAEPE e à FUNDECC.

À Universidade Federal de Lavras e à Hortiagro Sementes Ltda.

A todos o meu muito obrigado!

## RESUMO

A vitamina A é um nutriente que se encontra apenas em alimentos de origem animal; já os vegetais fornecem provitaminas A, como alfa e betacaroteno e a betacriptoxantina, que podem ser biologicamente transformadas em vitamina A, em organismos animais. Entre as hortaliças mais consumidas, a alface pode ser uma importante fonte de vitamina A, a partir da seleção de cultivares com maior teor de betacaroteno nas folhas. Neste trabalho avaliaram-se 18 cultivares de alface dos tipos americana, crespa e lisa, bem como 8 linhagens derivadas do cruzamento entre uma cultivar do tipo americana ('Salinas 88') e outra de folhas lisas ('Regina 71'), quanto aos teores de clorofila, betacaroteno e características de coloração das folhas, com os objetivos de se verificar a existência de variabilidade genética, a possibilidade de existência de correlações entre as características e o potencial de utilização de cultivares de alface americana para a obtenção de novas linhagens com maior teor de betacaroteno. Foi feito um experimento em cultivo protegido, utilizando-se o delineamento de blocos casualizados com três repetições e seis plantas úteis por parcela. Na época de colheita comercial, as plantas tiveram suas folhas avaliadas para teor de clorofila, utilizando-se o SPAD. Ao mesmo tempo, amostras de folhas foram colhidas e levadas para laboratório, para análise do teor de betacaroteno, utilizando-se CLAE, assim como submetidas também à análise para coloração. Verificaram-se diferenças significativas para todas as características avaliadas, indicando a existência de variabilidade genética entre as cultivares e as linhagens, sendo a herdabilidade no sentido amplo superior a 0,80, para todas as características, o que indica a possibilidade de ganhos genéticos a partir da seleção em plantas de populações segregantes para as características consideradas. As linhagens, assim como as cultivares do tipo americana, apresentaram teores de clorofila e de betacaroteno superiores aos das cultivares do tipo crespa e lisa, indicando potencial de utilização de cultivares do tipo americana para a obtenção de novas cultivares com maior teor de betacaroteno. A correlação entre teor de betacaroteno e clorofila foi da ordem de 0,82, sugerindo a possibilidade de sucesso na seleção indireta para alto teor de betacaroteno, utilizando-se do SPAD como leitura direta para a seleção de plantas com alto teor de clorofila.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*. Vitamina A. Betacaroteno. Coloração.

## ABSTRACT

Vitamin A is a nutrient that is found only in animal foods, as vegetables provide provitamins A such as beta and alpha-carotene and beta-cryptoxanthin, which may be biologically transformed into vitamin A in animal organisms. Among the most consumed vegetables, lettuce can be an important source of vitamin A from the selection of cultivars with higher levels of beta-carotene in the leaves. In this study we evaluated 18 cultivars of lettuce types of American, crisp and smooth, and 8 strains derived from a cross between a cultivar of American type (Salinas 88) and another of plain sheets (Regina 71), for concentrations of chlorophyll, beta-carotene and staining characteristics of the leaves, with the objective of verifying the existence of genetic variability, the possibility of existence of correlations between the characteristics and potential use of lettuce cultivars to obtain new strains with higher levels of beta-carotene. The experiment was conducted in greenhouse using a randomized block design with three replications and six plants per plot. At the time of commercial harvest plants were evaluated for their leaf chlorophyll content using the SPAD. While leaf samples were collected and taken to the laboratory for analysis of the levels of beta-carotene using CLAE, as also subjected to analysis for staining. There were significant differences for all traits, indicating the existence of genetic variability among cultivars and strains, and the broad-sense heritability greater than 0.80 for all traits, indicating the possibility of genetic gains from selection in plant populations segregating for the traits considered. The lines, as well as the American type cultivars showed levels of chlorophyll and beta-carotene higher than those of type cultivars crisp and smooth, indicating potential use of American-type cultivars to obtain cultivars with higher levels of beta-carotene. The correlation between levels of beta-carotene and chlorophyll was about 0.82, suggesting the possibility of success of indirect selection for high levels of beta-carotene using the SPAD reading as direct selection of plants with high content of chlorophyll.

Keywords: *Lactuca sativa*. Vitamin A. Beta-carotene. Staining.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura química da clorofila a e b (STREIT et al., 2005) .....	17
Figura 2	Estrutura do carotenoide betacaroteno (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006) .....	21
Figura 3	Diagrama de cromacidade a* e b* (KONICA MINOLTA, 1997) ...	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores médios de clorofila (unidades SPAD), betacaroteno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) e vitamina A ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ RAE) em cultivares e linhagens de alface. UFLA, Lavras, MG, 2012.....	35
Tabela 2	Resultados de análise físico-química realizada em folhas de dezoito cultivares e oito linhagens de alface. UFLA, Lavras, MG, 2012.....	40
Tabela 3	Estimativas de parâmetros genéticos para as características avaliadas em folhas de cultivares e linhagens de alface. Lavras, UFLA, 2012 .....	42
Tabela 4	Correlação entre teores de clorofila, betacaroteno e parâmetros de cor, em cultivares e linhagens de alface. Lavras, UFLA, 2012.....	43

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
2.1	Alimentos funcionais .....	13
2.2	Dados econômicos da alface .....	15
2.3	Cor da folha de alface .....	16
2.4	Betacaroteno e vitamina A .....	19
2.5	Estimativa de parâmetros genéticos .....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	26
3.1	Avaliação no campo .....	27
3.2	Avaliação em laboratório .....	28
3.2.1	Extração dos carotenoides .....	28
3.2.2	Análise de betacaroteno .....	29
3.2.4	Cálculo do valor de vitamina A .....	30
3.2.5	Coloração da folha .....	30
3.3	Análise de dados .....	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	33
4.1	Análise instrumental da cor .....	37
5	CONCLUSÕES .....	45
	REFERÊNCIAS .....	46
	APÊNDICE .....	54

## 1 INTRODUÇÃO

A vitamina A é um nutriente que se encontra apenas em alimentos de origem animal, em diversas formas: retinol, retinil, retinal e ácido retinoico. Os vegetais fornecem provitaminas A, como alfa e betacaroteno e a betacriptoxantina, que podem ser biologicamente transformadas em vitamina A, em organismos animais. O mais ativo dos carotenoides pró-vitamínicos A é o betacaroteno, sendo também o mais distribuído em alimentos, como o menor ou como o maior constituinte carotenogênico (RODRIGUEZ-AMAYA, 1993). Populações em risco de deficiência de vitamina A, em geral, dependem de carotenoides pró-vitamínicos A, para atingirem suas recomendações diárias (ROCK et al., 1998). Segundo a World Health Organization - WHO (1995), nas Américas, cerca de 64% da vitamina A ingerida são provenientes de carotenoides pró-vitamínicos A.

Juntamente com o tomate, a alface é a hortaliça preferida para saladas, devido ao seu sabor agradável e refrescante, além da facilidade de preparo. Entre as hortaliças mais consumidas, constitui importante fonte de sais minerais, principalmente cálcio e de vitaminas, especialmente a pró-vitamina A.

Tem sido evidenciada a associação de folhas verdes mais escuras em plantas de alface com maior quantidade de pró-vitamina A, de tal forma que o teor de clorofila pode estar diretamente correlacionado com a concentração de betacaroteno, que é o precursor da vitamina A. No caso da alface do tipo americana, apesar de as folhas internas da cabeça, que normalmente são consumidas, apresentarem coloração bastante clara, as folhas externas, em geral, apresentam tonalidade de verde bastante escuro. Em cruzamentos realizados entre uma cultivar do tipo americana ('Salinas 88'), resistente aos nematoides das galhas e ao vírus do mosaico da alface (LMV), com uma cultivar de folhas

lisas, tolerante ao florescimento precoce ('Regina 71'), obtiveram-se linhagens com folhas que apresentaram coloração verde escuro bastante intensa.

Para a determinação da clorofila, a utilização de métodos padrões em laboratório, ainda que fácil, apresenta desvantagens, como coleta destrutiva do material vegetal, extração via maceração com acetona e leitura em espectrofotômetro. Com o aparecimento de medidores portáteis, a determinação de clorofila tornou-se mais fácil e rápida, sendo efetuada diretamente no campo.

A utilização de um medidor portátil para a verificação do teor de clorofila, assim como a possível associação entre a coloração das folhas da alface, o teor de clorofila e o teor de betacaroteno, poderia possibilitar maior rapidez e menores custos na seleção de plantas de alface para a obtenção de cultivares que permitissem ao consumidor a ingestão de maiores quantidades de vitamina A.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a existência de variabilidade genética para as características de cor da folha, teor de clorofila e de betacaroteno em alface, assim como a existência de correlação entre estas características, além do potencial de uma cultivar de alface do tipo americana para utilização em programas de melhoramento, para aumentar o teor de betacaroteno em novas cultivares.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Alimentos funcionais**

Na busca por uma vida mais saudável, as pessoas estão mudando seus hábitos alimentícios, acrescentando, ao seu dia a dia, o consumo de vegetais de diferentes espécies e com propriedades nutricionais complementares. Surgem, nesse contexto, os alimentos funcionais.

São chamados funcionais os alimentos ou os ingredientes que produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, além de suas funções nutricionais básicas (CARDOSO; OLIVEIRA, 2012). Estes alimentos funcionais se caracterizam por oferecer vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, podendo desempenhar papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas degenerativas (NEUMANN et al., 2000; TAIPINA; FONTS; COHEN, 2002).

Historicamente, a utilização de certos alimentos na redução do risco de doenças é considerada há milhares de anos. Hipócrates, há cerca de 2.500 anos, já pregava isso em uma de suas célebres frases, que dizia algo do tipo "faça do alimento o seu medicamento". No entanto, somente no final do último século, na década de 1990, é que começou haver um interesse renovado por esse assunto, e foi quando o termo "alimento funcional" passou a ser adotado (CARDOSO; OLIVEIRA, 2012).

Os alimentos funcionais apresentam as seguintes características:

- a) devem ser alimentos convencionais e ser consumidos na dieta normal/usual;

- b) devem ser compostos por componentes naturais, algumas vezes em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- c) devem ter efeitos positivos, além do valor básico nutritivo, que podem aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde, além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental;
- d) a alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico;
- e) pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido removido;
- f) pode ser um alimento no qual a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada;
- g) pode ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada (ROBERFROID, 2002).

Outro termo utilizado é o nutracêutico e foi introduzido pela Fundação para Inovação em Medicina, uma organização não governamental sem fins lucrativos e dedicada a promover o avanço das terapias naturais. Este termo define uma ampla variedade de alimentos e componentes alimentícios com apelos médico ou de saúde. Sua ação varia do suprimento de minerais e vitaminas essenciais até a proteção contra várias doenças infecciosas (HUNGENHOLTZ; SMID, 2002).

A diferenciação entre alimentos funcionais e nutracêuticos justifica-se devido ao pouco conhecimento desses conceitos pela população, bem como da relação entre dieta e saúde. Dispondo de maiores informações, tanto sobre o efeito benéfico de determinados alimentos como os maléficos causados pela

exposição a inúmeras substâncias inerentes à vida moderna, as pessoas poderão conferir maior importância aos alimentos que contenham substâncias benéficas à saúde. A informação contribui para uma maior aceitação dos alimentos funcionais, diferenciando-os dos nutracêuticos, os quais envolvem todos os tipos de alimentos que possuem algum efeito médico e de saúde (MORAES; COLLA, 2006).

Vários alimentos podem ser citados como funcionais, entre eles a alface.

## **2.2 Dados econômicos da alface**

Segundo Camargo Filho e Camargo (2011), a área ocupada com o cultivo de hortaliças no Brasil é de 779 mil hectares e a produção, de 17 milhões de toneladas. A área de produção de hortaliças no Brasil, entre 1990 e 2006, cresceu 5% e a produção cresceu 63%, em função do aumento da produtividade da ordem de 54%. A produção brasileira de hortaliças cresceu 110%, entre 1999 e 2009, enquanto a população brasileira cresceu 25% e o aumento na oferta per capita de hortaliças foi de 85%. A produção de hortaliças folhosas, de flores e condimentares, acontece em 5.642 unidades de produção agrícola ou propriedades rurais, que ocuparam 399.436 hectares em 2008. Houve uma queda de 49% na área de produção, entre 1996 e 2008. A alface, a couve, o repolho, a couve-flor e o brócolis respondem por 74% da produção.

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais difundida no mundo, sendo cultivada em quase todos os países. No Brasil, ela se destaca como a folhosa de maior valor comercial, sendo a sexta em importância econômica e oitava em termos de produção (OLIVEIRA et al., 2005).

Segundo Sala e Costa (2012), a alface do tipo crespa é, hoje, o principal segmento cultivado no Brasil e a alface do tipo americana vem apresentando

maiores índices de crescimento e aceitação pelo mercado consumidor, que até a década de 1990 era dominado pelo cultivo de alface do tipo lisa.

### **2.3 Cor da folha de alface**

A coloração da alface varia de verde-amarela até verde-escura, sendo que algumas cultivares apresentam as margens arroxeadas (FILGUEIRA, 2008). Esta é uma hortaliça que apresenta como indicativo de sua qualidade a coloração verde, sendo o amarelecimento de suas folhas ocasionado pela degradação da clorofila.

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais. Estudos em uma grande variedade de plantas caracterizaram que os pigmentos clorofilianos são os mesmos. As diferenças aparentes na cor do vegetal são devido à presença e à distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenoides, os quais sempre acompanham as clorofilas (ELBE, 2000).

A clorofila relaciona-se diretamente com a atividade fotossintética nas plantas. Assim, o estado nutricional das plantas está relacionado com a qualidade e a quantidade de clorofila.

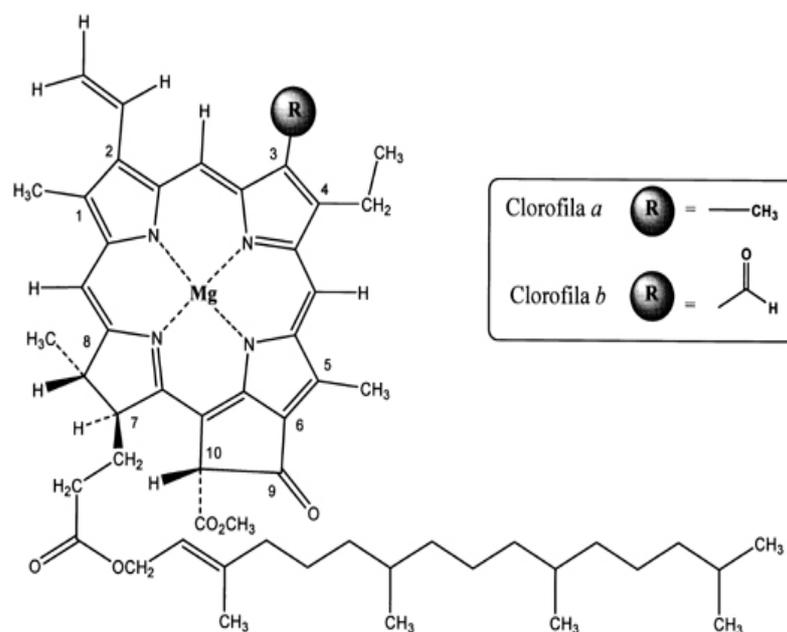


Figura 1 Estrutura química da clorofila a e b (STREIT et al., 2005)

As clorofilas (Figura 1) não são moléculas isoladas, compreendendo uma família de substâncias semelhantes, chamadas clorofilas *a*, *b*, *c* e *d*. A clorofila *a* é a mais abundante e mais importante dessa família e corresponde a, aproximadamente, 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais (GROSS, 1991).

O teor de clorofilas nas folhas é influenciado por diversos fatores bióticos e abióticos, estando diretamente relacionado com o potencial de atividade fotossintética das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2002). Portanto, sua quantificação é relevante no estudo de práticas culturais e de manejo, visando aumentar o potencial fotossintético e o rendimento das espécies frutíferas.

As folhas de alface são ricas em folato e contêm uma quantidade útil de betacaroteno, além de vitamina C, potássio e certos fitoquímicos, como os flavonoides e lactucinas (COLLINS, 2011).

Balbach (1995) cita que, em 100 g de alface com coloração de folha verde-escura, pode haver 4.500 unidades internacionais (U.I.) de vitamina A. Quanto mais escuro o verde, maior a quantidade de vitamina A.

Os métodos tradicionais de medição de clorofila na folha requerem a destruição de amostra de tecido e muito trabalho nos processos de extração e quantificação. O desenvolvimento dos medidores portáteis de clorofila permite medições instantâneas do valor correspondente ao seu teor na folha, sem destruí-la (ARGENTA et al., 2001; DWYER; TOLLENAAR; HOUWING, 1991).

O colorímetro Minolta CR (series 100; 200; 300 e 400) pode ser utilizado para essa avaliação não destrutiva da coloração em vegetais. Esse equipamento tem sensibilidade similar à do olho humano, com a vantagem de produzir a mesma leitura, independentemente da condição de iluminação do ambiente, já que utiliza uma fonte interna de luz e um sistema de compensação de leitura, constituído de dois sensores internos, um que mede a luz refletida da superfície do tecido vegetal e outro que mede a luz da fonte de iluminação. As leituras efetuadas pelo medidor portátil de clorofila correspondem ao teor relativo de clorofila presente na folha da planta. Os valores são calculados pelo equipamento com base na quantidade de luz transmitida pela folha em dois comprimentos de ondas, com diferentes absorbâncias de clorofila (MINOLTA CAMERA, 1989).

As regiões de picos de absorbâncias são o azul e o vermelho. As de baixa absorbância situam-se na região do verde e as extremamente baixas na região do infravermelho (HENDRY, 1993). A fonte de luz do equipamento gera radiação difusa (com diferentes ângulos de incidência), e o sensor interno recebe a luz refletida verticalmente pela superfície do tecido no espaço de cores L, C e  $h^\circ$  (MCGUIRE, 1992). Nesse sistema utiliza-se o mesmo diagrama do espaço de cores L, a e b. Os termos L, C e  $h^\circ$  indicam brilho ('lightness'), cromaticidade e ângulo hue, respectivamente. Os valores de  $h^\circ$  apresentam as seguintes

correspondências quanto às cores da superfície do tecido vegetal: 0°/vermelho, 90°/amarelo, 180°/verde e 270°/azul. Portanto, o valor de  $h^\circ$  do equipamento permite quantificar o teor de clorofilas em folhas (folha verde intensa, com elevado teor de clorofila, apresentando  $h^\circ$  próximo de 180°, e folha clorótica, com baixo teor de clorofila, apresentando  $h^\circ$  próximo de 90°). Em adição ao  $h^\circ$ , os valores de L permitem detectar tonalidades de verde (valores baixos correspondem à coloração verde-escura e valores altos à coloração verde-clara), enquanto os valores de C identificam a pureza da cor (valores altos indicam maior desvio a partir do ponto correspondente ao cinza, de menor C).

#### **2.4 Betacaroteno e vitamina A**

Os carotenoides, juntamente com as vitaminas, são as substâncias mais investigadas como agentes antioxidantes em sistemas biológicos. Esses agentes antioxidantes são responsáveis pelo poder curativo e preventivo de certos alimentos (CARVALHO et al., 2006).

Uma ampla definição de antioxidante é a seguinte: “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES; STAHL, 1995, p. 1316).

Os carotenoides são compostos notáveis por possuírem ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e funções variadas. Embora sejam micronutrientes, presentes em níveis muito baixos (microgramas por grama), os carotenoides estão entre os constituintes alimentícios mais importantes. São pigmentos naturais responsáveis pelas cores de amarelo a laranja ou vermelho de muitas frutas, hortaliças, gema de ovo, crustáceos cozidos e alguns peixes. São também substâncias bioativas, com efeitos benéficos à saúde, e alguns deles apresentam atividade pró-vitáminica A.

Carotenoides hidrocarboneto são denominados simplesmente de carotenos e aqueles com funções químicas oxigenadas são chamados de xantofilas (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008).

Os principais representantes dos carotenoides são os carotenos, precursores da vitamina A e o licopeno (GAZZONI, 2011). O betacaroteno e o licopeno são exemplos de carotenos, enquanto a luteína e a zeaxantina são xantofilas. Dos mais de 600 carotenoides conhecidos, aproximadamente 50 são precursores da vitamina A. Esta é um nutriente essencial para humanos, pois participa no processo da visão, do crescimento, da diferenciação de tecidos, da função imunológica, da reprodução e do desenvolvimento embrionário (INSTITUTE OF MEDICINE - IOM, 2001).

Os efeitos benéficos contra cânceres, doenças do coração e degeneração macular foram reconhecidos e estimularam intensas investigações sobre o papel desses compostos como antioxidantes (UENOJO; MARÓSTICA JÚNIOR; PASTORE, 2007).

O betacaroteno é um potente antioxidante com ação protetora contra doenças cardiovasculares. A oxidação do *low density lipoprotein*, ou LDL, é fator crucial para o desenvolvimento da aterosclerose e o betacaroteno atua inibindo o processo de oxidação da lipoproteína (AMBROSIO; CAMPOS; FARO, 2006).

O betacaroteno, o alfa-caroteno e a betacriptoxantina são pró-vitaminas A. Basicamente, a estrutura da vitamina A (retinol) é a metade da molécula do betacaroteno, com uma molécula de água adicionada no final da cadeia poliênica. Consequentemente, o betacaroteno é o carotenoide de maior potência vitamínica A e ao qual se atribui 100% de atividade. A exigência mínima para que um carotenoide tenha atividade pró-vitamínica A é ter um anel beta não substituído, com uma cadeia poliênica de 11 carbonos. Assim, o alfa-caroteno e a betacriptoxantina têm cerca de 50% da atividade pró-vitamínica A do

betacaroteno, ao passo que luteína, zeaxantina e licopeno não têm atividade (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008).

Desse modo, o betacaroteno é o metabólito vegetal mais importante como fonte de vitamina A, equivalendo a duas moléculas de retinol (THURNHAM, 2007).

Segundo Stahl e Sies (2003), os carotenoides fazem parte do sistema de defesa antioxidante em humanos e animais. Devido à sua estrutura (Figura 2), atua protegendo as estruturas lipídicas da oxidação por sequestro de radicais livres gerados no processo foto-oxidativo.

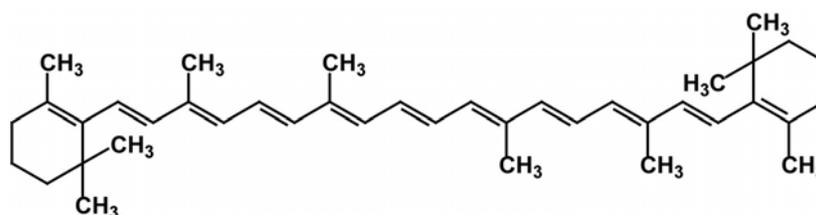


Figura 2 Estrutura do carotenoide betacaroteno (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006)

As hortaliças verdes, folhosas ou não, têm um perfil qualitativo definido, sendo a luteína, o  $\beta$ -caroteno, a violaxantina e a neoxantina os carotenoides principais. A proporção relativa destes carotenoides é razoavelmente constante, mas não as suas concentrações absolutas, as quais variam consideravelmente.

Hortaliças e frutas correspondem à categoria de alimentos na qual é encontrada grande variedade de carotenoides (HEINONEN et al., 1989), sendo que, geralmente, grandes quantidades desses pigmentos estão presentes em hortaliças folhosas verdes (OLSON, 1991).

Na indústria de alimentos, os carotenoides são utilizados principalmente como corantes, com os objetivos de repor a cor perdida durante o processamento e o armazenamento, colorir os alimentos incolores e uniformizar a coloração de

alguns produtos alimentícios (TATSCH, 2008). Industrialmente, os carotenoides, como o betacaroteno e a astaxantina, são utilizados como corantes naturais para alimentos ou adicionados em ração para a aquicultura (AKSU; EREN, 2007).

## **2.5 Estimativa de parâmetros genéticos**

É importante entender que a expressão genética é resultado da soma dos efeitos genéticos aditivos, de dominância e epistáticos, dos quais, segundo Vencovsky (1987), o parâmetro mais importante a analisar é o que corresponde à variância genética aditiva, pois ela contribui plenamente para a resposta à seleção. Por sua vez, a manifestação do genótipo de um indivíduo é resultado da contribuição trazida pelos gametas e de um efeito da combinação de dois gametas específicos que o originaram. O genótipo pode ser avaliado a partir de mensurações realizadas nos seus fenótipos, em que o seu desempenho representa o valor genotípico no ambiente que ocupa. Desse modo, o valor de um genótipo pode ser definido como o seu valor fenotípico médio, quando os genótipos se desenvolvem em diversos ambientes (COSTA, 1999).

Segundo Vencovsky e Barriga (1992), a variância fenotípica pode ser decomposta em três componentes principais, sendo eles a variação produzida pelo ambiente, a variação devido às diferenças na hereditariedade e a variação devido aos efeitos conjugados do meio e da hereditariedade. Dentre os parâmetros genéticos, a variância genética aditiva é o componente mais importante, pois é a principal causa da semelhança entre parentes. Logo, ela é o principal indicador das propriedades genéticas observadas em uma população e sua resposta à seleção. O estudo da variação total e a estimativa dos seus componentes possibilitam que o melhorista obtenham o conhecimento da estrutura genética do material em teste, a contribuição genética total para cada

caráter, bem como o progresso potencial quando da seleção por determinado método de melhoramento (FALCONER, 1981).

O sucesso de um programa de melhoramento depende, basicamente, da quantidade de variação genética e, sobretudo, do valor relativo desta em relação ao valor fenotípico total. Nos ensaios genéticos, Vencovsky (1987) salienta que podem ser calculados diferentes componentes na variação de um caráter, como variação entre plantas dentro de parcelas, variação devido às diferenças ambientais entre parcelas e variação devido às diferenças genéticas entre tratamentos/progênes.

As estimativas dos componentes de variância e de parâmetros genéticos são necessárias para a predição de valores genéticos. Segundo Resende (1999), as estimativas dos componentes de variância podem ser realizadas pelo método de quadrados mínimos, para situações de dados balanceados, ou pelo método da máxima verossimilhança restrita, para a situação de dados desbalanceados, dentre outros. Dentre os parâmetros genéticos quantitativos que mais interessam ao melhorista e que são objetos de estudos em testes de progênes, se destacam as variâncias genéticas, a herdabilidade no sentido amplo e restrito, a repetibilidade, o ganho genético e as associações entre os caracteres estudados das plantas no estágio juvenil e adulto (COSTA, 1999).

Para a estimação dos componentes de variância numa determinada condição, segundo Vencovsky (1969), é essencial que tanto os indivíduos aparentados que constituem o material experimental, como os da população base, não sejam endocruzados. Nesse sentido, Namkoong (1966) levanta restrições sobre a estimativa de variâncias genéticas aditivas da população por meio da utilização de sementes de polinização livre, devido à possibilidade de ocorrência de endogamia.

Conforme Falconer (1981), qualquer componente de variância entre grupos de indivíduos aparentados é igual à covariância dos membros deste

grupo. A variância entre médias de famílias de meios-irmãos estima, portanto, a covariância genotípica de meios-irmãos, a qual equivale a, aproximadamente, um quarto da variância aditiva.

A presença de variabilidade genética pode ser confirmada e quantificada pelo coeficiente de variação genética, que expressa a magnitude da variação genética em relação à média do caráter (RESENDE, 1991). Os coeficientes de variação genética acima de 7% são considerados altos, por Sebbenn et al. (1998).

Os estudos da variação genética entre populações naturais são fundamentais para o conhecimento da estrutura das populações e podem ser realizados eficientemente a partir do uso de testes de procedências e progênies. Os parâmetros coeficiente de variação genética entre progênies e dentro de progênies, obtidos a partir desses testes, permitem avaliar a variabilidade genética e inferir sobre o sistema de cruzamento das espécies, sendo muito utilizados para estudos genéticos iniciais com espécies nativas (KAGEYAMA, 1990; RESENDE, 1999).

A herdabilidade corresponde à proporção da variação fenotípica total, que é de natureza genética, o quociente entre as variâncias genotípicas e fenotípicas, e, por meio, dela pode-se medir a eficiência esperada da seleção no aproveitamento da variabilidade genética. O coeficiente de herdabilidade pode ser expresso no sentido restrito e amplo; no sentido amplo, expressa a proporção de variância genética em relação à variância fenotípica total observada. A herdabilidade no sentido restrito tem a finalidade de orientar o geneticista sobre a quantidade relativa da variância genética que é utilizada no melhoramento. As estimativas de herdabilidade referente aos efeitos de parcela em relação às herdabilidades entre e dentro de famílias adquirem importância maior quando se aumenta o número de indivíduos por parcelas nos testes de progênies (ALARD,

1971; FONSECA, 1979; RESENDE; FERNANDES, 1999; RESENDE; HIGA, 1994; VENCOVSKY, 1969).

A herdabilidade é uma propriedade não somente de um caráter, mas também da população e das circunstâncias de ambientes às quais os indivíduos estão sujeitos (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). O valor da herdabilidade poderá ser afetado se houver alteração em qualquer um dos componentes da variância fenotípica (FALCONER, 1981).

Tradicionalmente, o melhoramento de uma população para uma dada característica é resultado do ganho de seleção, que depende do diferencial de seleção que, por sua vez, é a diferença entre a média do grupo selecionado e a média da população original. Portanto, em processo de seleção, quanto maior for a pressão de seleção, maior será esse diferencial e, conseqüentemente, o progresso genético (PATERNIANI; MIRANDA FILHO, 1987). Martins (1999) argumenta que a possibilidade de predição de ganhos a serem obtidos por certa estratégia de melhoramento constitui uma das mais importantes contribuições da genética quantitativa ao cultivo de plantas.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizadas 18 cultivares de alface, dentre as quais materiais de folha lisa ('Regina 2000', 'Regina 71', 'Elisa', 'Babá de Verão', 'Luisa', 'Floresta', 'Lidia' e 'Everglades'), folha crespa ('Grand Rapids', 'Verônica', 'Hortência' e 'Mariane') e do tipo americana ('Salinas 88', 'Raider Plus', 'Rubete', 'Bálsamo', 'Laurel' e 'Winslow'), além de oito linhagens avançadas oriundas do programa de melhoramento de alface da Universidade Federal de Lavras, conduzidos pelo professor Luiz Antonio Augusto Gomes. Estas linhagens encontram-se na geração F<sub>4</sub>, a partir do cruzamento entre a cultivar do tipo americana Salinas 88 e a cultivar de folhas lisas Regina 71. 'Salinas 88' é resistente ao nematoide das galhas e ao vírus do mosaico da alface (LMV), enquanto 'Regina 71' é tolerante ao florescimento precoce. Estas linhagens se destacam pela coloração verde-escura de suas folhas e por serem originárias de plantas F<sub>2</sub> (Salinas 88 x Regina 71) selecionadas para resistência a LMV, nematoides das galhas e florescimento precoce, bem como por apresentarem folhas lisas e soltas.

O plantio das cultivares e linhagens foi realizado na HortiAgro Sementes S/A, no município de Ijaci (latitude 21° 10' 12''S, longitude 44°55'30''W, à altitude de 889 m), estado de Minas Gerais, no período de outubro a dezembro de 2011. O clima da região é tropical de altitude e a precipitação média anual é de 1.530 mm. A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido, com 128 células, em ambiente protegido. Após o surgimento da quinta e da sexta folhas, as mudas foram transplantadas para canteiros definitivos em estufa. O experimento foi conduzido em estufa plástica com cobertura em arco com polietileno transparente. O delineamento foi o de blocos casualizados, com três repetições. As parcelas tinham 1,20 m de largura por 1,00 m de comprimento e contaram com seis plantas por parcela, no espaçamento de 0,30 cm x 0,25 cm.

As adubações foram feitas via fertirrigação e os canteiros foram cobertos com mulching plástico, evitando-se capinas. As avaliações foram feitas na fase comercial da planta.

As análises de laboratório foram realizadas utilizando-se a infraestrutura disponível da Universidade Federal de Lavras, tais como Laboratório de Análises Químicas, no Departamento de Química e Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças, no Departamento de Ciência dos Alimentos.

### **3.1 Avaliação no campo**

Após 60 a 65 dias da semeadura, com as plantas atingindo a fase comercial, foram feitas leituras para a determinação da clorofila, utilizando-se o medidor portátil SPAD-502 (Minolta Camera Co. Ltda.). Argenta et al. (2001), analisando a correlação entre as leituras do clorofilômetro e os teores de clorofila extraídos em folhas de milho, obtiveram correlação positiva em seus resultados, utilizando o medidor portátil SPAD-502. As leituras realizadas com este equipamento podem substituir com boa precisão as determinações tradicionais do teor de clorofila em vegetais, se caracterizando como uma técnica rápida e não destrutiva.

As leituras foram feitas diretamente na folha, ainda na planta, momentos antes de se fazer a coleta para análise em laboratório. Cada leitura do SPAD equivale ao resultado médio obtido pela medida feita em quatro folhas de cada planta. Os resultados foram expressos em unidades SPAD, que equivale à media de trinta leituras.

Em seguida as folhas foram destacadas, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em refrigerador, para posterior análise em laboratório.

### **3.2 Avaliação em laboratório**

Para análise em laboratório, uma amostra de cerca de 20 g de cada material foi coletada, embalada em sacos plásticos, coberta com papel alumínio e armazenada à temperatura em torno de 5 °C a 10 °C, até a realização da etapa de extração dos carotenoides.

#### **3.2.1 Extração dos carotenoides**

O processo de extração foi realizado com base em Rodriguez-Amaya et al. (1976), com algumas modificações (CAMPOS et al., 2003). Cerca de 5 g de cada amostra de alface picada foram pesados e colocados em tubos de ensaio. Logo depois, foram adicionados 80 mL de acetona resfriada e triturou-se com o auxílio de um microtriturador.

Os extratos obtidos foram filtrados a vácuo em funil de büchner, utilizando-se papel de filtro. A extração com acetona foi repetida até o resíduo do filtro se tornar o mais incolor possível. Em seguida, o filtrado foi transferido, aos poucos, para um funil de separação, ao qual foram acrescentados 80 mL de éter de petróleo resfriado. Os pigmentos presentes na acetona foram transferidos para o éter de petróleo. A acetona foi descartada e, ainda no funil de separação, a fração do éter de petróleo foi lavada com água, por seis vezes, para retirar toda a acetona. A concentração do extrato contendo o betacaroteno foi feita da seguinte maneira: acrescentou-se 1 g de sulfato de sódio anidro ao éter de petróleo contendo o pigmento, para retirar qualquer resíduo de água que pudesse prejudicar a evaporação do material. Em seguida, o extrato foi transferido para um balão de fundo redondo e evaporado em evaporador rotativo, à temperatura de 35°C, até *secura*.

Os pigmentos foram redissolvidos em quantidade conhecida de éter de petróleo (15 mL), colocados em frascos de vidro âmbar, lacrados e armazenados, a -5 °C, até a análise dos carotenoides (no máximo 24 horas após a extração).

### 3.2.2 Análise de betacaroteno

A determinação do betacaroteno foi realizada utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O equipamento utilizado foi um HPLC Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão modelo SPD-M20A, degaseificador modelo DGU-20A<sub>3</sub>, interface modelo CBM-20A, injetor automático modelo SIL-10AF e detector de arranjo de diodos (PDA). A coluna cromatográfica empregada na análise foi uma coluna Agilent - Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) conectada a uma pré-coluna Agilent - Zorbax Eclipse XDB-C18 4-Pack (4,6 x 12,5 mm, 5 µm).

A metodologia utilizada foi a descrita por Batista et al. (2006), com algumas modificações. O método utilizado para a quantificação foi a padronização externa.

As condições cromatográficas estão descritas a seguir. O comprimento de onda empregado foi 449 nm. O fluxo utilizado em toda a análise foi de 2,0 mL min<sup>-1</sup> e o volume injetado das amostras e do padrão foi de 20 µL. A eluição foi realizada em sistema isocrático de 65:25:10 (metanol: acetato de etila:acetonitrila). O tempo de retenção médio obtido para o betacaroteno foi de 12,392±0,133 minutos. A quantificação nas amostras foi realizada por meio da construção de uma curva analítica obtida por regressão linear ( $y = 53319,69x - 13719,49$ ; em que  $y$  = área do pico e  $x$  = concentração de betacaroteno), correlacionando a área do pico versus a concentração da respectiva solução padrão, tendo o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) obtido sido de 0,9991. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estimados por meio dos

parâmetros obtidos para a curva analítica construída, sendo calculados pelas respectivas relações matemáticas:  $LD = 3DP/m$  e  $LQ = 10DP/m$  (em que  $DP$  = estimativa do desvio padrão da linha de regressão e  $m$  = coeficiente angular da linha de calibração), conforme Ribani et al. (2004). Para estes, foram encontrados os valores de 0,0026 e 0,0088  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente.

As amostras e os padrões foram filtrados em membrana de polietileno de 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore) e injetados diretamente no sistema cromatográfico. As injeções dos padrões e das amostras foram realizadas em triplicata, sendo a identidade dos analitos confirmada pelo tempo de retenção, e o perfil dos picos da amostra comparado aos dos padrões.

### **3.2.4 Cálculo do valor de vitamina A**

O cálculo do valor de vitamina A foi feito de acordo com as novas recomendações (IOM, 2001), que substituíram o equivalente de retinol (RE) pelo equivalente de atividade de retinol (RAE). Com os novos fatores de conversão, a atividade vitamínica de carotenoides pró-vitamínicos passou a ser metade da atividade de vitamina A quando se utilizava RE. Portanto, 12 mg de betacaroteno e 1 mg de retinol correspondem a 1 RAE (CAMPOS; ROSADO, 2005).

### **3.2.5 Coloração da folha**

A coloração das folhas de alface foi determinada com a ajuda do colorímetro Minolta CR-400 no modo CIE  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . A coordenada  $L^*$  representa quão mais clara ou mais escura está a folha, com valores entre 0 (totalmente preto) e 100 (totalmente branco); a coordenada  $a^*$  pode assumir valores entre -80 a +100, em que os extremos correspondem, respectivamente,

ao verde e ao vermelho; a coordenada  $b^*$  pode variar de -50 a +70, com intensidade do azul ao amarelo. As leituras foram feitas em quatro pontos distintos de cada folha de cada repetição e foram consideradas as médias de cada parcela.

A saturação, ou Chroma, ( $C^*$ ), define a vivacidade (próximo de 60) ou a opacidade da cor (próximo de zero) (COLOR GLOSSARY, 2011; KONICA MINOLTA, 2011). Ela é calculada por meio da equação  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  (ARIAS et al., 2000).

O Hue, ou ângulo Hue, também foi calculado e este está relacionado às diferenças de absorvância em diferentes comprimentos de onda, permitindo distinguir colorações de mesma luminosidade, sendo calculado a partir de  $\tan^{-1}(b^*/a^*)$ , quando  $a^* > 0$  e  $b^* \geq 0$ , e  $180 + \tan^{-1}(b^*/a^*)$ , quando  $a^* < 0$  (ARIAS et al., 2000). O valor hue de  $180^\circ$  representa o verde puro e o de  $0^\circ$ , vermelho puro; quanto mais próximo de  $180^\circ$  for este valor, mais verde será a cor do alimento (COLOR GLOSSARY, 2011; KONICA MINOLTA, 2011).

### 3.3 Análise de dados

Inicialmente, foi realizada a análise de variância para cada uma das características, verificando-se a existência de diferenças significativas (F). Em seguida, foi realizado um teste de médias Scott-Knott,  $\alpha=5\%$ , identificando-se as possíveis diferenças entre as cultivares.

A partir da análise de variância, foram estimados parâmetros genéticos e fenotípicos de acordo com Carvalho (2001) e Ramalho, Santos e Pinto (2008), estimando-se a herdabilidade no sentido amplo ( $h_a^2$ ), conforme segue:

$$\sigma_G^2 = 1/r(QM_T - QM_E)$$

$$\sigma_E^2 = QM_E$$

$$\sigma_F^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2$$
$$h_a^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_F^2}$$

em que

$\sigma_G^2$  = variância genética;

r = número de repetições;

QM<sub>T</sub> = quadrado médio de tratamento

QM<sub>E</sub> = quadrado médio do erro

$\sigma_E^2$  = variância do erro;

$\sigma_F^2$  = variância fenotípica;

$h_a^2$  = herdabilidade no sentido amplo

Posteriormente, foi realizada uma análise de correlação para as características de teor de clorofila e teor de betacaroteno.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SISVAR (FERREIRA, 2003).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Pelas análises de variância (Tabela 1A) verificaram-se diferenças significativas entre as cultivares, para todas as características avaliadas.

As diferenças entre os valores médios para os teores de clorofila encontrados para as cultivares e linhagens (Tabela 1) variaram de um máximo de 528 unidades SPAD, para a linhagem AFX007C-150-14, que diferiu significativamente de todas as outras cultivares e linhagens, até um mínimo de 110 unidades SPAD, para a cultivar de folhas crespas Grand Rapids (Skott-Knott, 5%). Observa-se que as cultivares e linhagens se agruparam de acordo com cinco níveis de teor de clorofila. Nos três níveis de maior teor, encontram-se, exclusivamente, alfaces do tipo americana e linhagens. Já nos dois níveis de menor teor, encontram-se classificadas todas as cultivares de folhas lisas e as de folhas crespas, além de duas cultivares do tipo americana, 'Bálsamo' e 'Raider Plus', assim como duas linhagens, AFX007C 311-23 e AFX007C 188-10.

Estes resultados indicam que a maioria das linhagens e das cultivares do tipo americana diferem significativamente das cultivares de folhas lisas e de folhas crespas, apresentando maior teor de clorofila. Este resultado, de fato, coincide com o aspecto visual destas plantas, que apresentam folhas com coloração verde mais escuro.

Quando se analisa o teor médio de betacaroteno encontrado nas folhas das cultivares e linhagens de alface (Tabela 1), verifica-se que houve uma variação entre um máximo de 3.638  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , para a linhagem AFX007C 150-14, que diferiu significativamente de todas as outras linhagens e cultivares, até um mínimo de 1.343  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , encontrado para a cultivar de folhas crespas Verônica (Scott-Knott, 5%).

À semelhança do resultado encontrado para teor de clorofila, as cultivares e as linhagens de alface se agruparam em quatro diferentes níveis para

teores de betacaroteno, de acordo com o teste de médias (Scott-Knott, 5%). À exceção da linhagem AFX007C 188-10, que foi classificada junto com as cultivares que apresentaram menores teores de betacaroteno, posicionadas no quarto nível, todas as outras linhagens e todas as cultivares de alface americana foram classificadas dentro dos três níveis de maiores teores. No terceiro nível de teor de betacaroteno (Scott-Knott, 5%), foram ainda classificadas as cultivares de folhas lisas Everglades, Babá de Verão, Elisa e Floresta. Já no quarto nível, representando os mais baixos teores de betacaroteno, foram classificadas todas as cultivares de folhas crespas, assim como as cultivares de folhas lisas Lídia, Luisa, Regina 71 e Regina 2000.

Tabela 1 Valores médios de clorofila (unidades SPAD), betacaroteno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) e vitamina A ( $\mu\text{g}/100\text{g}$  RAE) em cultivares e linhagens de alface. UFLA, Lavras, MG, 2012

<b>Cultivar</b>	<b>Tipo</b>	<b>Clorofila</b>	<b>Betacaroteno</b>	<b>Vitamina A</b>
AFX007C 150-14	Linhagem	528 a	3638 a	303,17
Laurel	Americana	453 b	2775 b	231,25
Rubete	Americana	426 b	2394 c	199,50
AFX007C 150-18	Linhagem	418 b	2344 c	195,33
Salinas 88	Americana	409 b	2658 b	221,50
Winslow	Americana	352 c	2356 c	196,33
AFX007C 140-21	Linhagem	346 c	3122 b	260,17
AFX007C 126-30	Linhagem	346 c	2123 c	176,92
AFX007C 150-02	Linhagem	325 c	2182 c	181,83
AFX007C 140-06	Linhagem	322 c	2285 c	190,42
AFX007C 311-23	Linhagem	290 d	2039 c	169,92
Everglades	Folha lisa	281 d	2155 c	179,58
Lídia	Folha lisa	270 d	1783 d	148,58
Bálsamo	Americana	254 d	2112 c	176,00
Babá de Verão	Folha lisa	253 d	1942 c	161,83
Raider Plus	Americana	247 d	2270 c	189,17
Elisa	Folha lisa	227 d	2356 c	196,33
Floresta	Folha lisa	217 d	2107 c	175,58
Regina 71	Folha lisa	184 e	1804 d	150,33
Verônica	Folha crespa	175 e	1467 d	122,25
AFX007C 188-10	Linhagem	175 e	1574 d	131,17
Luisa	Folha lisa	140 e	1695 d	141,25
Regina 2000	Folha lisa	125 e	1875 d	156,25
Mariane	Folha crespa	119 e	1746 d	145,50
Hortência	Folha crespa	113 e	1343 d	111,92
Grand Rapids	Folha crespa	110 e	1509 d	125,75

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, a 5% de significância, pelo teste Scott-Knott

Os resultados obtidos demonstram a existência de variabilidade para teores de clorofila e betacaroteno em cultivares de alface, tendo as cultivares do grupo americana e as linhagens apresentado, em média, maiores teores de betacaroteno, com valores médios de 2.427,67 e 2.413,59  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  de folha fresca ,respectivamente. Estes resultados são semelhantes aos apresentados por Campos e Rosado (2005), os quais foram de 1.482 a 2.857  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  de betacaroteno em folhas de alface.

Em resultados obtidos por Mou (2005), avaliando 44 cultivares de alface de diferentes tipos, além de sete acessos de *Lactuca serriola* e uma testemunha deficiente em clorofila, foram mostradas diferenças significativas para teores de clorofila e betacaroteno, confirmando a existência de variabilidade para os caracteres. No trabalho destes autores, as cultivares do tipo americana (“crisphead”) apresentaram os menores teores tanto de clorofila quanto de betacaroteno, não diferindo da testemunha deficiente em clorofila, que foi da ordem de 249  $\mu\text{g}/100\text{g}$ . Já as cultivares dos tipos crespa (“green leaf”) e lisa (“butterhead”) apresentaram teores mais elevados, tanto de clorofila quanto de betacaroteno, com superioridade das cultivares de folhas lisas (“butterhead”). Estes resultados diferem dos encontrados no presente trabalho, no entanto, devem-se considerar alguns aspectos, como os que se seguem.

No caso da alface americana, uma característica própria é a de que as folhas internas são imbricadas, formando uma cabeça, à semelhança do repolho. Neste caso, estas folhas internas crescem na ausência de luz, comprometendo a realização de fotossíntese e, conseqüentemente, o teor de clorofila. Mou (2009) e Mou e Ryder (2004), inclusive, citam que o menor valor nutricional da alface do tipo americana deve-se ao fato de suas folhas se fecharem, formando uma cabeça, já que a absorção de nutrientes em plantas é dependente da luz.

No trabalho citado anteriormente (MOU, 2005), as análises foram feitas a partir de amostras representadas por folhas utilizadas para consumo, tendo sido

utilizada a quarta folha interna da cabeça, que apresenta coloração bem clara. No presente trabalho, avaliaram-se as folhas externas da alface americana, que apresentam coloração verde-escura, pois um dos objetivos foi verificar o potencial de utilização deste tipo de alface na obtenção de novas cultivares, mais ricas em betacaroteno.

Quanto às cultivares de folhas crespas e lisas, as diferenças, provavelmente, devem-se às próprias diferenças genéticas entre os materiais, assim como também à influência do ambiente. No próprio trabalho de Mou (2005), verificam-se, para as mesmas cultivares, diferenças entre as avaliações feitas no verão e no outono.

Os valores de vitamina A são calculados a partir dos valores de betacaroteno, sendo diretamente proporcionais a estes. Define-se que 1 equivalente de atividade de retinol, ou 1 ERA, equivale a 1  $\mu\text{g}$  de retinol ou 12  $\mu\text{g}$  de betacaroteno. Essa equivalência assume uma absorção intestinal de um sexto de betacaroteno da dieta e eficiência de conversão de 50% (CAMPOS; ROSADO, 2005).

#### **4.1 Análise instrumental da cor**

Para melhor interpretar os resultados, na Figura 3 mostra-se o diagrama de cromaticidade.  $L^*$  indica a luminosidade com valores variando de 0 (preto) a 100 (branco), enquanto  $a^*$  e  $b^*$  representam as coordenadas cromáticas. A tonalidade (Hue) é o termo utilizado para a classificação de vermelho, amarelo, azul, etc. Por definição, o ângulo Hue se inicia no eixo de croma  $a^*$  e é expresso em graus, em que  $0^\circ$  seria  $+a^*$  (vermelho),  $90^\circ$  seria  $+b^*$  (amarelo),  $180^\circ$  seria  $-a^*$  (verde) e  $270^\circ$  seria  $-b^*$  (azul) (KONICA MINOLTA, 1997).

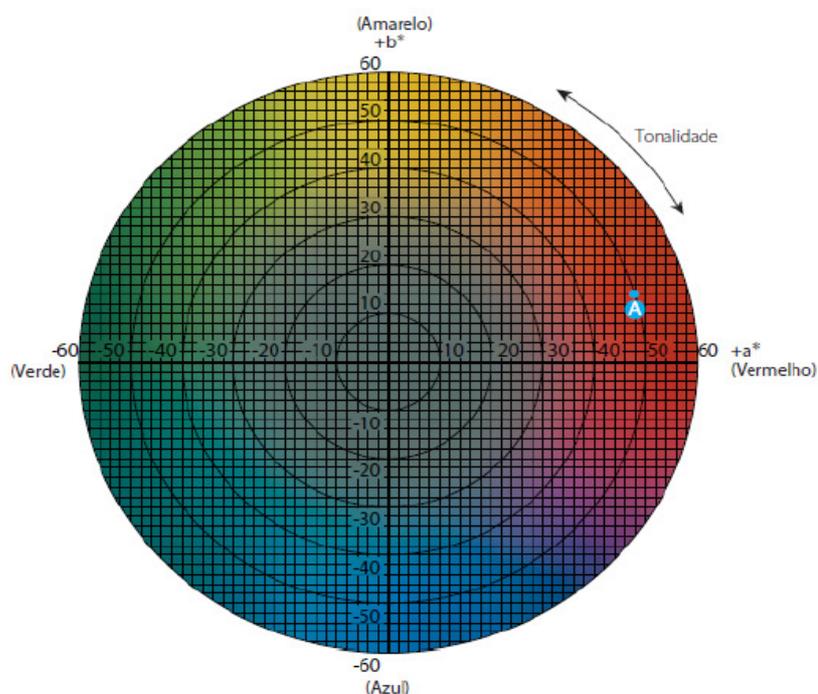


Figura 3 Diagrama de cromacidade  $a^*$  e  $b^*$  (KONICA MINOLTA, 1997)

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas realizadas nas folhas de alface são apresentados na Tabela 2.

Os valores de L diferiram estatisticamente entre os tratamentos. O valor de L varia de 0 a 100, sendo que os mais altos valores indicam maior reflectância da luz, traduzindo-se em alface de cor mais clara, o que foi possível observar principalmente nas cultivares de folha crespa e em algumas cultivares de folhas lisas, conforme o teste de médias (Scott-Knott, 5%). Todas as cultivares do tipo americana, assim como as linhagens, não diferiram estatisticamente entre si, apresentando folhas de cor mais escura, à exceção da cultivar Raider Plus e da linhagem AFX007C 188-10, que apresentaram folhas mais claras.

Maiores valores de  $a^*$  indicam coloração mais escura, como a apresentada pelas cultivares americanas, à exceção da Raider Plus, seguida pelas linhagens, à exceção da AFX007C 188-10. Todas as cultivares de folhas crespas e de folha lisa apresentaram valores de  $a^*$  inferiores (Scott-Knott, 5%), caracterizando-se como de folhas mais claras.

Valores altos para  $b^*$  indicam amostras com coloração amarelada, o que pode ser detectado nas cultivares de folha crespa e lisa, cujas médias diferiram significativamente, sendo inferiores aos valores encontrados para as cultivares do tipo americana e para as linhagens (Scott-Knott, 5%).

Os valores de Chroma ( $C^*$ ) variam de 0, para cores neutras a 60, para cores vivas, ou seja, maior intensidade de cor (MCGUIRE, 1992). Para valores de Chroma, não houve diferença significativa entre alfaces de folha crespa e lisa, à exceção da cultivar de folha lisa Everglades, tendo todas as outras apresentado maior vivacidade na cor (Scott-Knott, 5%). Já as cultivares do tipo americana foram seguidas pelas linhagens, apresentando maior opacidade na cor. Diferiram, nestes grupos, a cultivar Raider Plus e a linhagem AFX007C 188-10, que apresentaram folhas com coloração mais viva, a exemplo das cultivares de folhas lisas (Scott-Knott, 5%).

Com relação ao ângulo Hue, foi observada diferença significativa entre as amostras. Em relação aos valores de ângulo, quanto mais distante de  $90^\circ$ , representam coloração mais verde e, quanto mais próximo de  $90^\circ$ , mais amarelada é a amostra (MCGUIRE, 1992). Os valores encontrados mostram que todas as cultivares americanas, à exceção da cultivar Raider Plus, assim como todas as linhagens, à exceção das linhagens AFX007C 311-23 e AFX007C 188-10, apresentaram coloração verde mais intensa, pois diferiram significativamente das outras amostras, apresentando valores superiores para o ângulo Hue.

Tabela 2 Resultados de análise físico-química realizada em folhas de dezoito cultivares e oito linhagens de alface. UFLA, Lavras, MG, 2012

<b>Cultivar</b>	<b>Tipo</b>	<b>L</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b>C*</b>	<b>Hue</b>
Rubete	Americana	45,00 c	-10,08 a	11,83 a	15,34 d	130,43° a
Salinas 88	Americana	45,57 c	-10,87 a	13,06 a	17,00 d	129,76° a
Bálsamo	Americana	46,62 c	-10,94 a	13,30 a	17,22 d	129,41° a
Winslow	Americana	47,16 c	-11,19 a	14,30 a	17,58 d	129,55° a
Laurel	Americana	45,48 c	-11,48 a	13,45 a	17,89 d	130,48° a
AFX007C 140-06	Linhagem	46,08 c	-12,25 b	14,34 a	18,86 c	130,50° a
AFX007C 150-18	Linhagem	45,76 c	-12,38 b	14,36 a	18,96 c	130,78° a
AFX007C 126-30	Linhagem	46,13 c	-12,49 b	14,48 a	19,12 c	130,78° a
Everglades	Folha lisa	46,38 c	-12,67 d	14,24 a	19,06 c	131,78° a
AFX007C 140-21	Linhagem	46,33 c	-12,73 b	14,85 b	19,81 c	129,98° a
AFX007C 150-02	Linhagem	46,85 c	-13,14 b	15,60 b	20,40 c	130,11° a
AFX007C 150-14	Linhagem	46,07 c	-13,20 b	15,80 b	20,59 c	129,87° a
AFX007C 311-23	Linhagem	48,44 c	-13,68 b	16,70 b	21,58 c	128,69° b
Raider Plus	Americana	50,82 b	-14,09 c	17,74 c	22,66 b	128,39° b
AFX007C 188-10	Linhagem	52,92 b	-14,12 c	18,33 c	23,14 b	127,60° b
Elisa	Folha lisa	48,67 c	-15,00 c	18,14 c	23,54 b	129,56° a
Floresta	Folha lisa	47,71 c	-15,44 d	18,61 c	24,18 b	128,97° b
Lídia	Folha lisa	49,83 c	-15,56 d	19,00 c	24,55 b	129,33° a

Tabela 2, continuação

Regina 71	Folha lisa	53,49 b	-15,70 d	19,58 c	25,10 b	128,72° b
Regina 2000	Folha lisa	53,67 b	-15,78 d	19,75 c	25,27 b	128,62° b
Luisa	Folha lisa	55,16 a	-15,83 d	20,42 d	25,84 a	127,78° b
Grand Rapids	Folha crespa	55,67 a	-15,94 d	20,79 d	29,90 a	127,49° b
Hortência	Folha crespa	55,17 a	-16,23 d	21,36 d	26,82 a	127,23° b
Verônica	Folha crespa	57,27 a	-16,37 d	22,94 d	28,18 a	125,56° b
Mariane	Folha crespa	52,82 b	-17,02 e	21,60 d	27,50 a	128,23° b
Babá de Verão	Folha lisa	52,12 b	-17,40 e	21,53 d	27,72 a	128,89° b

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, a 5% de significância, pelo teste Scott Knott

Considerando-se todas as características de cor, verifica-se uma similaridade entre as cultivares do tipo americana e as linhagens de um lado, com folhas de coloração verde mais escuras, e a grande maioria das cultivares do tipo lisa e crespa de outro, com folhas de coloração verde mais clara e um pouco amareladas, especialmente as cultivares crespas. As principais exceções foram a cultivar do tipo americana Raider Plus e a linhagem AFX007C 188-10, que apresentaram folhas mais claras, assim como a linhagem AFX007C 311-23, cujo valor do ângulo Huê foi semelhante ao destas. Considerando os teores de clorofila encontrados (Tabela 1), verifica-se que estes três materiais apresentaram também menores teores de clorofila, quando comparados com as outras cultivares americanas e as linhagens.

As variações encontradas entre as diferentes cultivares indicam a existência de variabilidade para as características avaliadas. Ao se considerar as estimativas das variâncias genéticas e fenotípicas e das herdabilidades no sentido amplo, para todas as características avaliadas (Tabela 3), verificam-se valores de herdabilidade no sentido amplo relativamente altos para todas as características, acima de 82%.

Tabela 3 Estimativas de parâmetros genéticos para as características avaliadas em folhas de cultivares e linhagens de alface. Lavras, UFLA, 2012

Parâmetro	Característica						
	Betacaroteno	Clorofila	L	a*	b*	C*	Hue
$\sigma^2_G$	172920,4	3503,97	11,04	2,88	9,42	12,66	1,56
$\sigma^2_F$	209460,5	4019,3	11,88	3,23	9,71	13,1	1,82
$h^2_a$ (%)	82,55	87,17	92,92	89,16	97,01	96,64	85,71

$\sigma^2_G$  = variância genética;  $\sigma^2_F$  = variância fenotípica;  $h^2_a$  (%) = coeficiente de herdabilidade no sentido amplo

Segundo Carvalho et al. (2001), é a partir da herdabilidade que começa o estudo de um determinado caráter, para poder prever o ganho na próxima geração, para a obtenção de genótipos de desempenho superior. De acordo com

Ramalho, Santos e Pinto (2008), a herdabilidade pode ser considerada o melhor parâmetro genético utilizado pelos melhoristas, pois permite antever a possibilidade de sucesso com a seleção, uma vez que reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada.

Valores altos de herdabilidade são indicativos de que o caráter sofre pouca influência do ambiente, ampliando as possibilidades de ganho genético com a seleção. Assim, é possível obter sucesso com a seleção de plantas com maior teor de betacaroteno a partir de populações segregantes para esta característica.

As análises de correlação, tanto para teor de clorofila quanto para teor de betacaroteno, em relação aos parâmetros de cor (L, a\*, b\*, C\* e Hue), apresentam valores semelhantes e superiores a 0,60 (Tabela 4), o que indica correlação semelhante entre clorofila e betacaroteno, em relação às características de cor.

A correlação entre teor de clorofila e betacaroteno foi bastante alta, da ordem de 0,81 (Tabela 4).

Tabela 4 Correlação entre teores de clorofila, betacaroteno e parâmetros de cor, em cultivares e linhagens de alface. Lavras, UFLA, 2012

	L	a*	b*	C*	Hue	betacaroteno	Clorofila
Clorofila	-0,78	0,70	-0,73	-0,73	0,64	0,81	
Beta	-0,76	0,61	-0,67	-0,65	0,64		0,81

Este resultado foi semelhante ao encontrado por Mou (2005), quando avaliou os teores de betacaroteno, luteína e clorofila, em diferentes cultivares de alface, tanto no verão como no outono e encontrou alta correlação, com valores entre 0,93 e 0,99. Este autor sugere que altos teores de carotenoides em alface podem ser selecionados indiretamente por meio de seleção para maior teor de

clorofila ou coloração verde, o que pode facilitar sobremaneira o trabalho dos melhoristas, em função da maior facilidade e do menor custo.

## **5 CONCLUSÕES**

Existe variabilidade genética para as características de cor das folhas e teores de clorofila e betacaroteno em cultivares de alface.

Os altos valores de herdabilidade para teor de clorofila e betacaroteno indicam possibilidade de sucesso na seleção para estas características.

Devido à correlação alta e positiva entre teor de clorofila e betacaroteno, é possível utilizar a seleção indireta para betacaroteno, a partir do teor de clorofila.

Existe potencial para a utilização de alface americana, visando à obtenção de novas cultivares de alface de outros tipos, com teores mais elevados de clorofila e betacaroteno.

## REFERÊNCIAS

AKSU, Z.; EREN, A. T. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 35, p. 107-113, July, 2007.

ALARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: E. Blucher, 1971. 381 p.

AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, Z. P. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 233-243, mar./abr. 2006.

ARGENTA, G. et al. Relação da leitura do colorímetro com os teores de clorofila extraível e nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

ARIAS, R. et al. Correlation of lycopene measured by HPLC with the  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 4, p. 1697-1702, Apr. 2000.

BALBACH, A. **As hortaliças na medicina doméstica**. 26. ed. São Paulo: Vida Plena, 1995. 407 p.

BATISTA, M. A. et al. Carotenos e provitamina A em bertalha e ervas aromáticas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais, durante as quatro estações do ano. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 93-100, 2006.

CAMARGO FILHO, W. P.; CAMARGO, F. P. **Acomodação da produção olerícola no Brasil e em São Paulo, 1990-2010: análise prospectiva e tendências 2015**. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br>>. Acesso em: 10 maio 2011.

CAMPOS, F. M. et al. Teores de beta-caroteno em vegetais folhosos preparados em restaurantes comerciais de Viçosa, MG. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 163-169, jul./dez. 2003.

CAMPOS, F. M.; ROSADO, G. P. Novos fatores de conversão de carotenoides provitamínicos A. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 571-578, 2005.

CARDOSO, L. A.; OLIVEIRA, G. G. **Alimentos funcionais**. Disponível em: <[http://www.nutrijr.ufsc.br/jornal/jornal\\_eletronico\\_06-08.pdf](http://www.nutrijr.ufsc.br/jornal/jornal_eletronico_06-08.pdf)>. Acesso em: 10 mar. 2012.

CARVALHO, F. I. F. et al. **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Pelotas: UFPel, 2001. 99 p.

CARVALHO, P. G. B. de et al. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 397-404, dez. 2006.

COLLINS, A. **Lettuce**. Disponível em: <<http://www.annecollins.com/dietnutrition/lettuce>>. Acesso em: 10 fev. 2011.

COLOR GLOSSARY. Disponível em: <[http://www.sapdesignguild.org/resources/glossary\\_color](http://www.sapdesignguild.org/resources/glossary_color)>. Acesso em: 11 fev. 2011.

COSTA, R. B. **Métodos de seleção, interação genótipo x ambiente e ganho genético para o melhoramento de seringueira no Estado de São Paulo**. 1999. 145 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

DWYER, L. M.; TOLLENAAR, M.; HOUWING, L. A non destructive method to monitor leaf greenness in corn. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 71, n. 3, p. 505-509, Mar. 1991.

ELBE, J. H. von. Colorantes. In: FENNEMA, O. W. (Ed.). **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Wisconsin, 2000. p. 782-799.

FALCONER, D. S. **Introdução á genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 1981. 279 p.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**. Versão 4.2. Lavras: UFLA, 2003. Software.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2008. 421 p.

FONSECA, S. M. **Estimação e interpretação dos componentes da variação total em experimentos de melhoramento florestal**. Piracicaba: IPEF, 1979. 20 p.

GAZZONI, D. L. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2003. Disponível em:  
<<http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/2082/2024>>.  
Acesso em: 11 fev. 2011.

GROSS, J. **Pigments in vegetables, chlorophylls and carotenoids**. New York: V. N. Reinhold, 1991. 351 p.

HEINONEN, M. et al. Carotenoids in finnish foods: vegetables, fruits and berries. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Columbus, v. 37, p. 655-659, 1989.

HENDRY, G. A. Plant pigments. In: LEA, P. J.; LEEGOOD, R. C. (Ed.). **Plant biochemistry and molecular biology**. London: Bookcraft, 1993. p. 181-196.

HUNGENHOLTZ, J.; SMID, E. J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 13, n. 2, p. 497-507, Feb. 2002.

INSTITUTE OF MEDICINE. Food and Nutrition Board. **Dietary reference intakes:** for vitamin A, vitamin K, Arsenic, Boron, Cromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenium, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington: National Academy, 2001. 797 p.

KAGEYAMA, P. Y. Genetic structure of tropical tree species of Brazil. In: BAWA, K. S.; HADLEY, M. (Ed.). **Reproductive ecology of tropical forest plants**. Paris: UNESCO, 1990. p. 383-392.

KONICA MINOLTA. **Manual for chlorophyll meter SPAD 502**. Osaka, 1997. Disponível em: <<http://www.konicaminolta.com/>>. Acesso em: 10 maio 2011.

\_\_\_\_\_. **Precise color communication**. Disponível em: <<http://www.konicaminoltaeurope.com/pcc/en>>. Acesso em: 13 jan. 2011.

MARTINS, I. S. **Comparação entre métodos uni e multivariados aplicados na seleção em *Eucalyptus grandis***. 1999. 94 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1999.

MCGUIRE, R. D. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, Alexandria, v. 21, p. 1254-1255, 1992.

MINOLTA CAMERA. **Manual for chlorophyll meter SPAD 502**. Osaka: Minolta, 1989. 22 p.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MOU, B. Genetic variation of beta-carotene and lutein contents in lettuce. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 130, n. 6, p. 870-876, Apr. 2005.

\_\_\_\_\_. Nutrient content of lettuce and its improvement. **Current Nutrition & Food Science**, Cleveland, v. 5, n. 4, p. 242-248, Oct. 2009.

MOU, B.; RYDER, E. J. Relationship between the nutritional value and the head structure of lettuce. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 637, n. 2, p. 361-367, 2004.

NAMKOONG, G. Inbreeding effects on estimation of genetic additive variance. **Forest Science**, Madison, v. 22, p. 2-12, 1966.

NEUMANN, P. et al. Alimentos saudáveis, alimentos funcionais, fármacos alimentos, nutracêuticos... você já ouviu falar? **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 19-23, 2000.

OLIVEIRA, F. L. et al. Produção e valor agroecônômico no consórcio entre cultivares de coentro e de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 184-188, abr./jun. 2005.

OLSON, J. A. Vitamin A. In: MACHLIN, L. J. (Ed.). **Handbook of vitamins: nutritional, biochemical and clinical aspects**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: M. Dekker, 1991. p. 1-57.

PATERNIANI, E.; MIRANDA FILHO, J. B. Melhoramento de populações. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Coord.). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 217-265.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 4. ed. Lavras: UFLA, 2008. 463 p.

RESENDE, M. D. V. Correções nas expressões do progresso genético com seleção em função da amostragem finita dentro de famílias de populações e implicações no melhoramento florestal. **Boletim Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 22/23, p. 61-77, 1991.

\_\_\_\_\_. **Predição de valores genéticos, componentes de variância, delineamentos de cruzamento e estrutura de populações no melhoramento florestal**. 1999. 420 f. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

RESENDE, M. D. V.; FERNANDES, J. S. C. Procedimento BLUP individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. **Revista de Matemática e Estatística**, Marília, v. 17, n. 1, p. 87-109, 1999.

RESENDE, M. D. V.; HIGA, A. R. Maximização da eficiência da seleção em testes de progênies de *Eucalyptus* através da utilização de blocos de todos os efeitos do modelo matemático. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 28/29, p. 37-55, 1994.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, set./out. 2004.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, New York, v. 34, n. 2, p. 105-110, 2002. Supplement.

ROCK, C. L. et al. Bioavailability of beta-Carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, n. 5, p. 913-916, May 1998.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: CHARALAMBOUS, F. (Ed.). **Shelf life of foods and beverages chemical, biological, physical and nutritional aspects**. Amsterdam: Elsevier Science, 1993. p. 547-589.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. **Annals of Botany**, Oxford, v. 40, p. 615-624, 1976.

\_\_\_\_\_. **Fontes brasileiras de carotenoides:** tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos. 2. ed. Brasília: MMA/SBF, 2008. 99 p.

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

SEBBENN, A. M. et al. Parâmetros genéticos na conservação da cabreúva *Myroxylon peruiferum* L.F. Allemão. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 53, p. 31-38, 1998.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, Elmsford, v. 24, n. 6, p. 345-351, 2003.

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

TAIPINA, M. S.; FONTS, M. A. S.; COHEN, V. H. Alimentos funcionais: nutraceuticos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 100, p. 28-29, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3<sup>rd</sup> ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002. 690 p.

TATSCH, P. O. **Produção de carotenóides em meio sintético por *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636 em biorreator**. 2008. 99 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada, Erechim, 2008.

THURNHAM, D. I. Bioequivalence of b-carotene and retinol. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 87, n. 1, p. 13-39, Jan. 2007.

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

VENCOVSKY, R. Genética quantitativa. In: KERR, W. E. (Ed.). **Melhoramento e genética**. São Paulo: Melhoramentos, 1969. p. 17-38.

\_\_\_\_\_. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alogamas. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 79-84, 1987.

VENCOSVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global prevalence of vitamin A deficiency**. Geneva, 1995. Disponível em: <<http://www.who.int/vmnis/vitamina/prevalence/report/en/index.html>>. Acesso em: 12 maio 2011.

## APÊNDICE

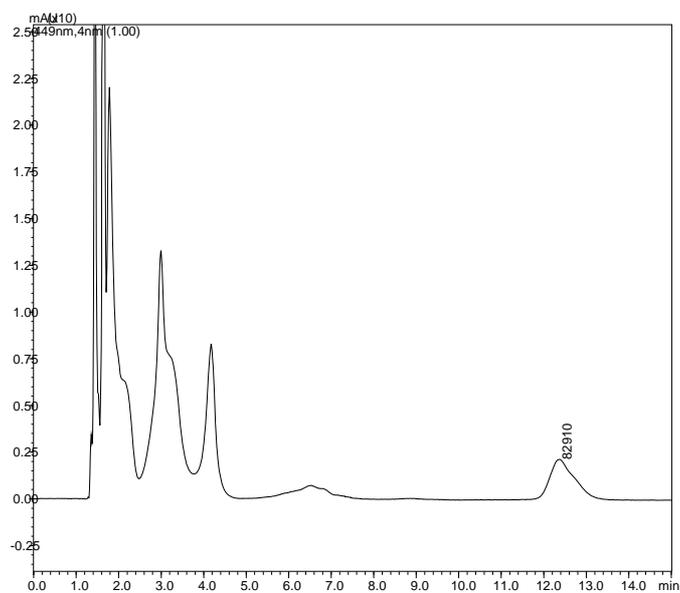


Figura 1 Cromatograma CLAE – AFX007C 150-14

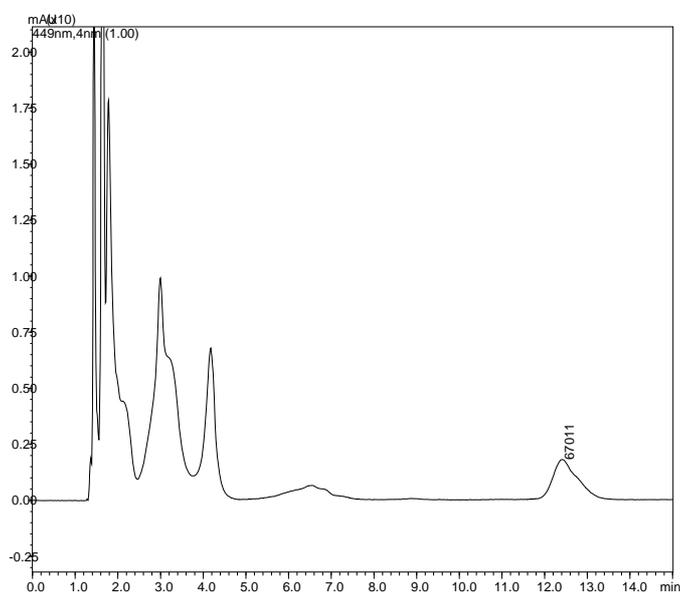


Figura 2 Cromatograma CLAE – AFX007C 140-21



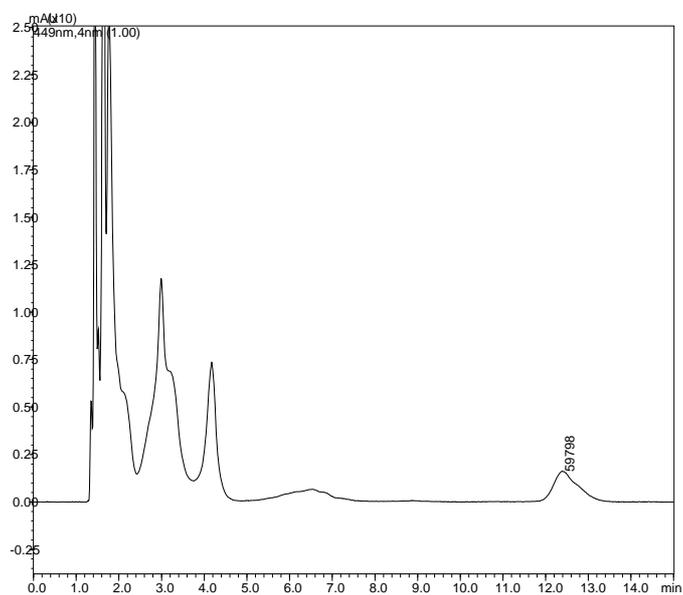


Figura 5 Cromatograma CLAE - 'Raider Plus'

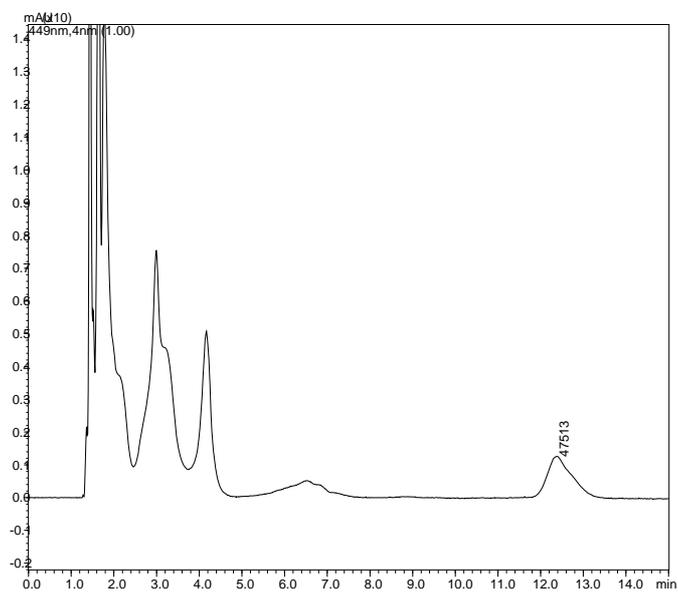


Figura 6 Cromatograma CLAE - 'Bálsamo'

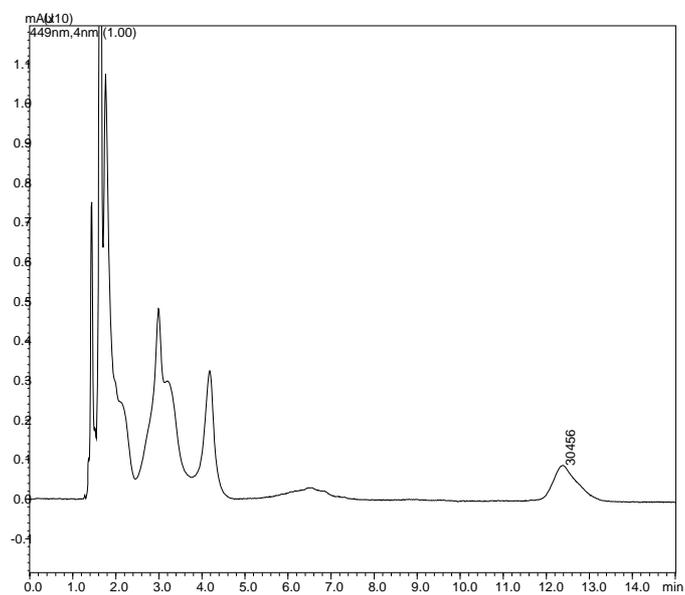


Figura 7 Cromatograma CLAE – ‘Floresta’

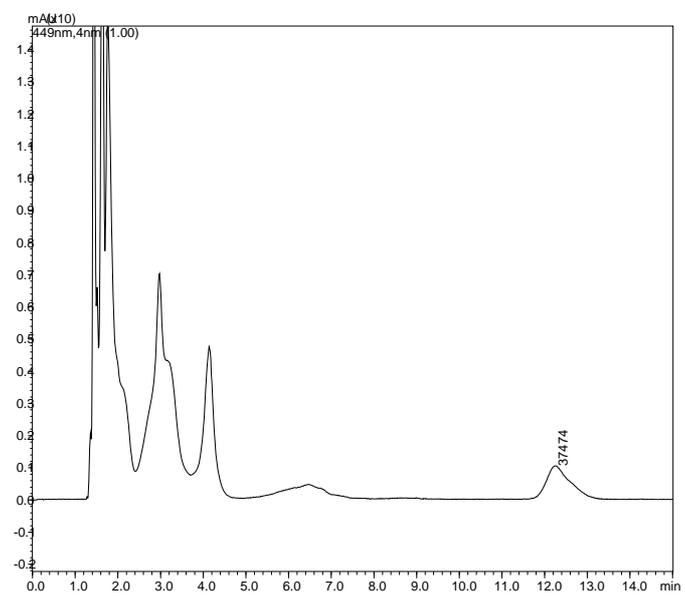


Figura 8 Cromatograma CLAE – ‘Mariane’

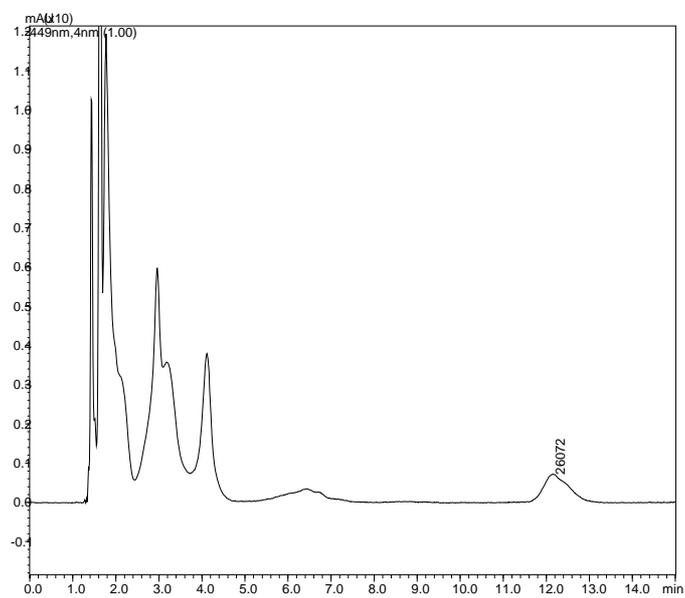


Figura 9 Cromatograma CLAE - 'Luisa'

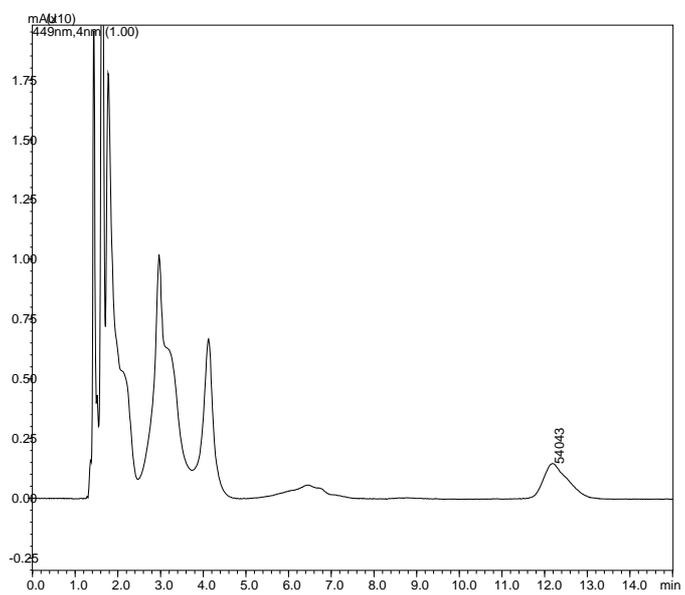


Figura 10 Cromatograma CLAE - AFX007C 150-02

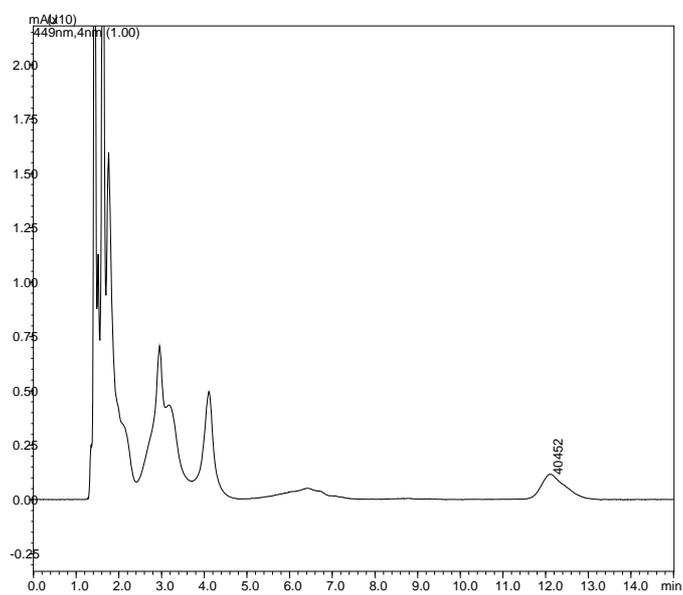


Figura 11 Cromatograma CLAE – 'Lidia'

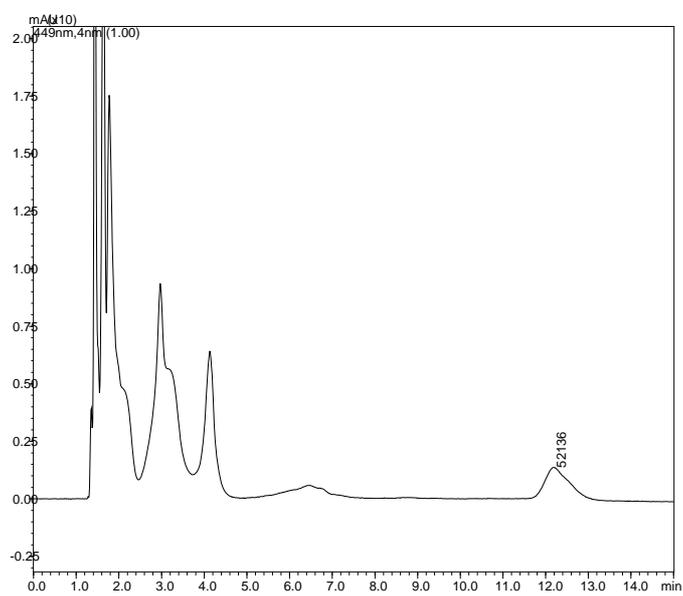


Figura 12 Cromatograma CLAE – 'Elisa'

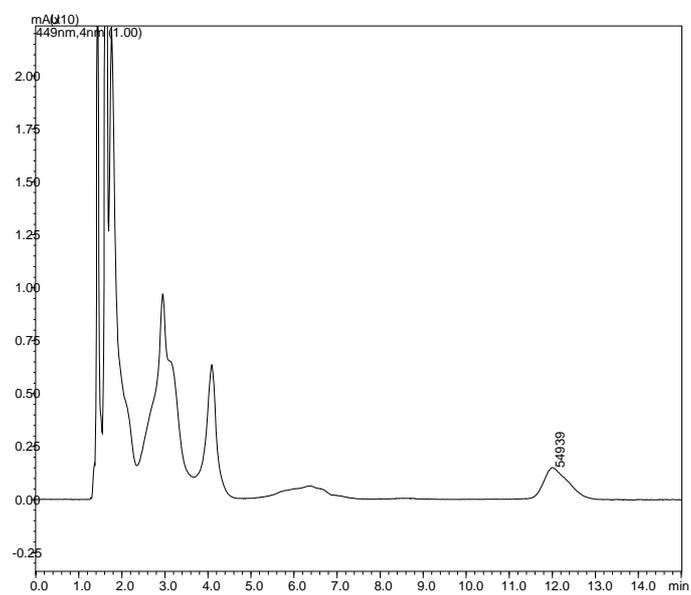


Figura 13 Cromatograma CLAE – AFX007C 311-23

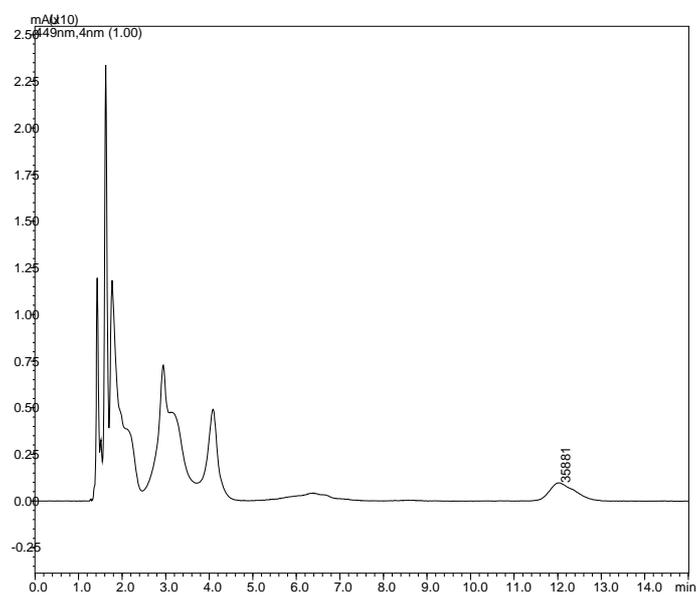


Figura 14 Cromatograma CLAE – 'Regina 2000'

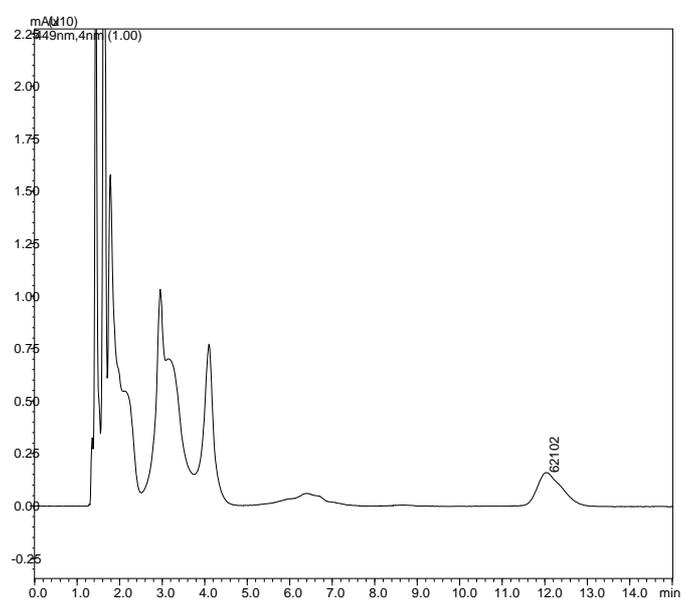


Figura 15 Cromatograma CLAE – ‘Winslow’

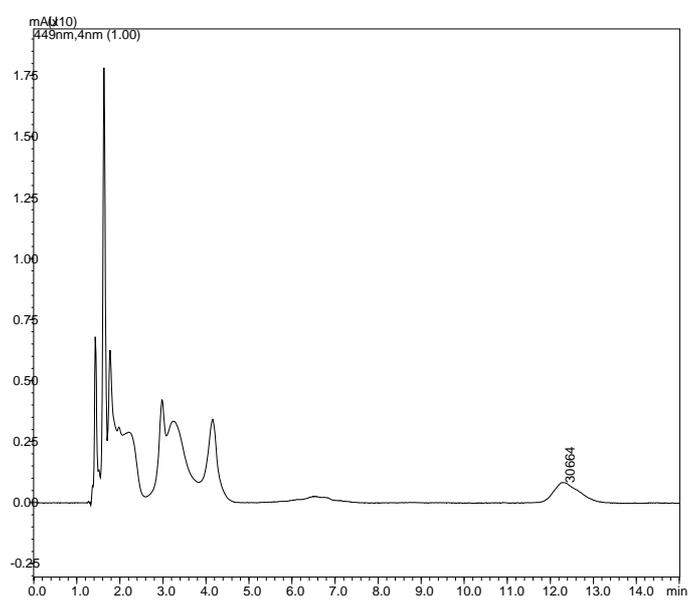


Figura 16 Cromatograma CLAE – AFX007C 188-10

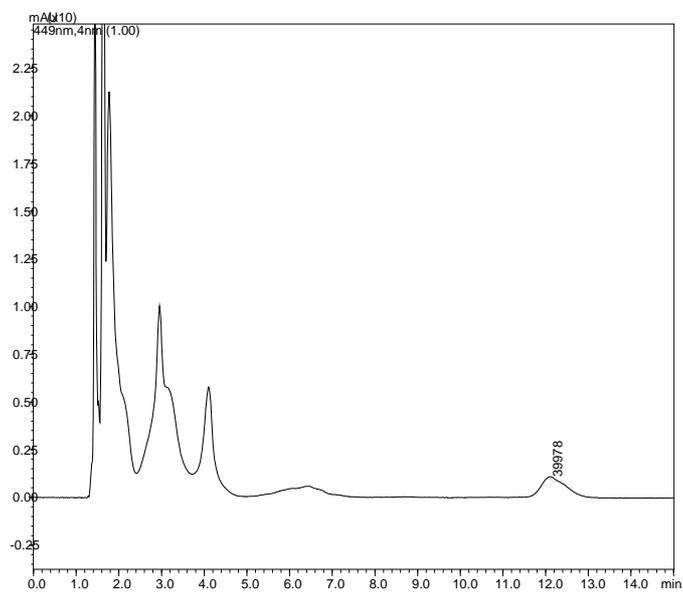


Figura 17 Cromatograma CLAE – AFX007C 126-30

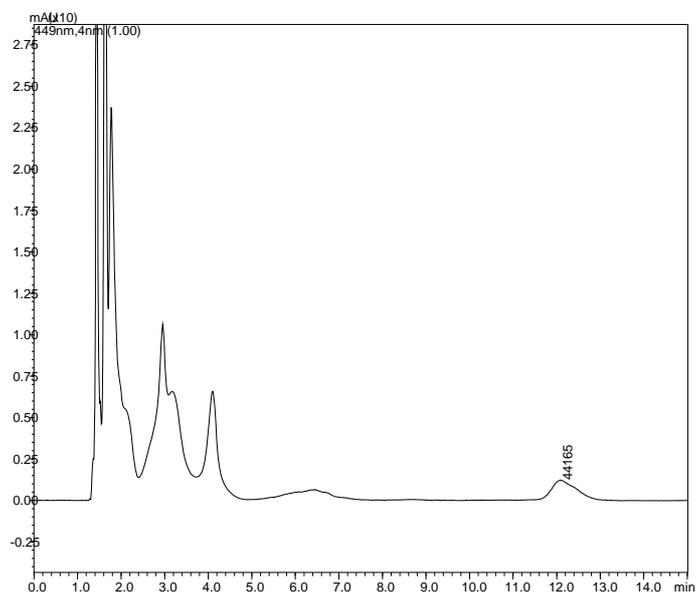


Figura 18 Cromatograma CLAE – AFX007C 150-18

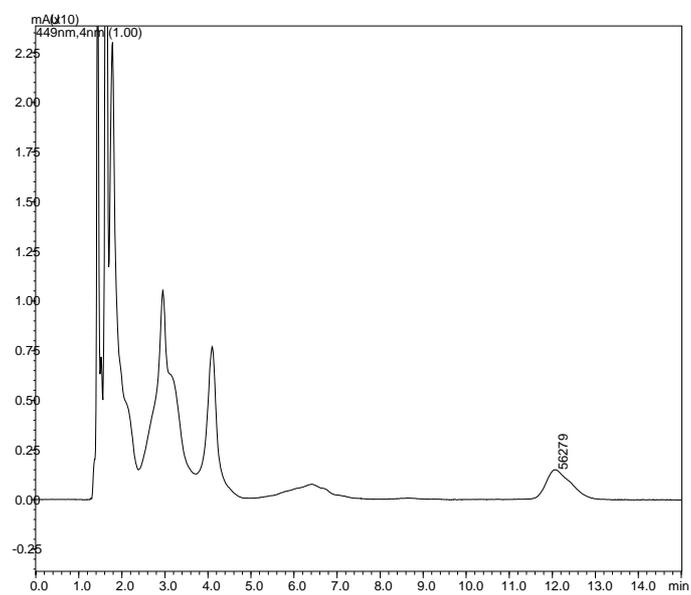


Figura 19 Cromatograma CLAE - 'Rubete'

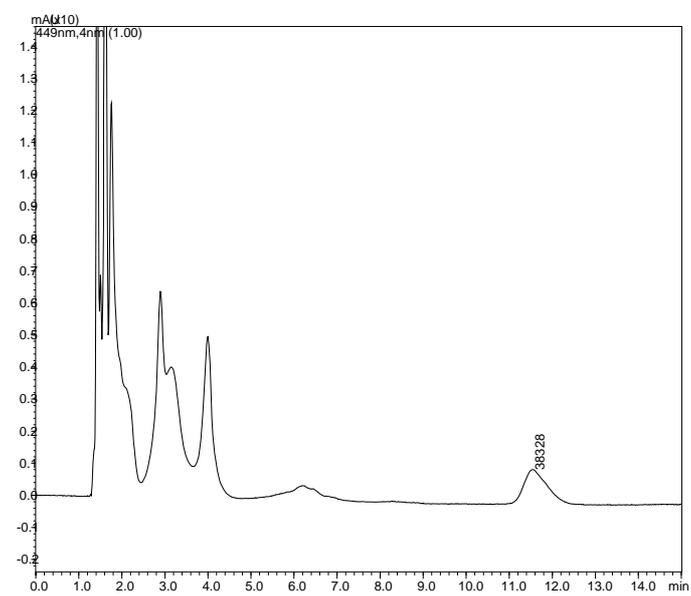


Figura 20 Cromatograma CLAE - 'Regina 71'

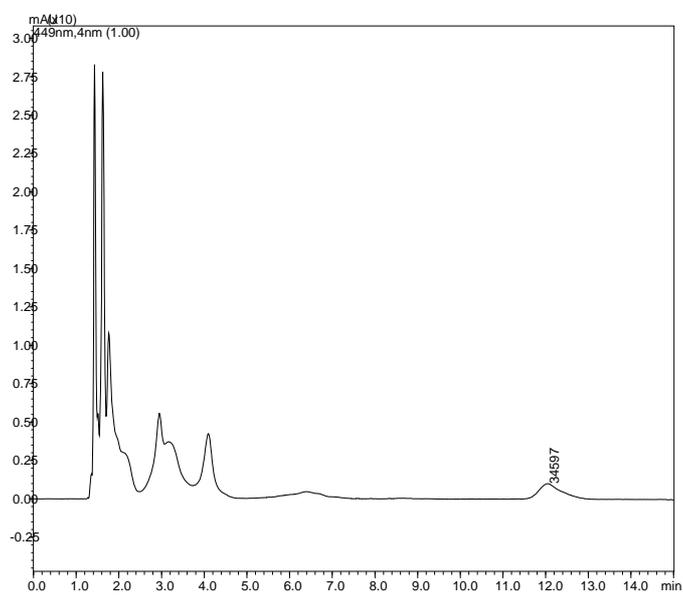


Figura 21 – Cromatograma CLAE – ‘Everglades’

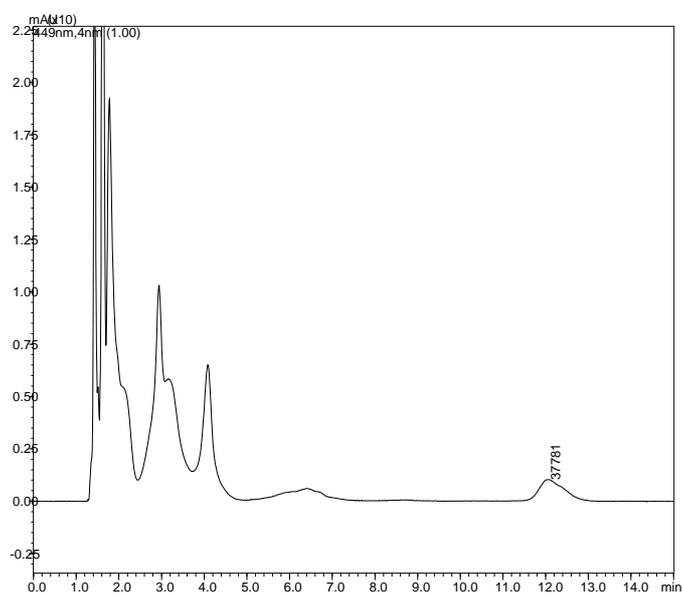


Figura 22 Cromatograma CLAE – AFX007C 140-06

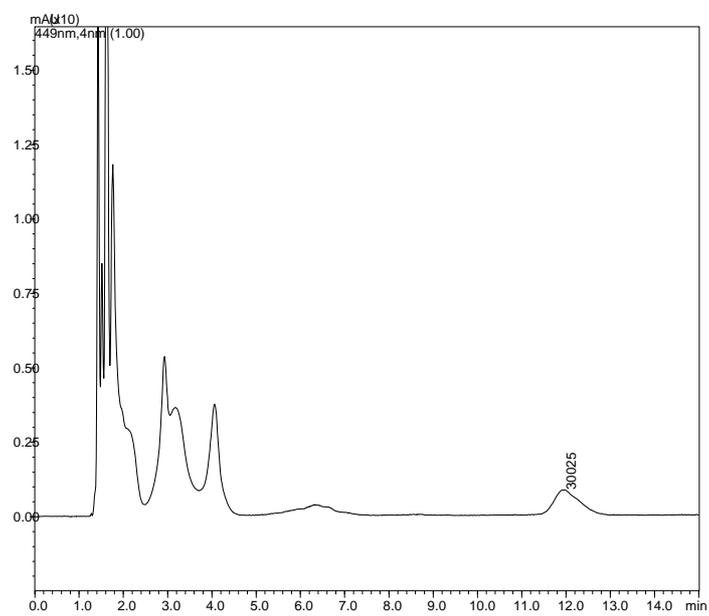


Figura 23 Cromatograma CLAE – ‘Verônica’

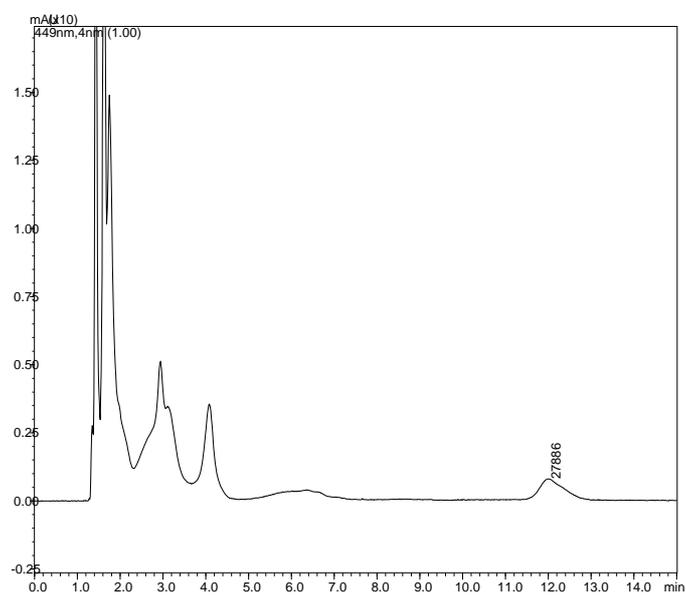


Figura 24 Cromatograma CLAE – ‘Grand Rapids’

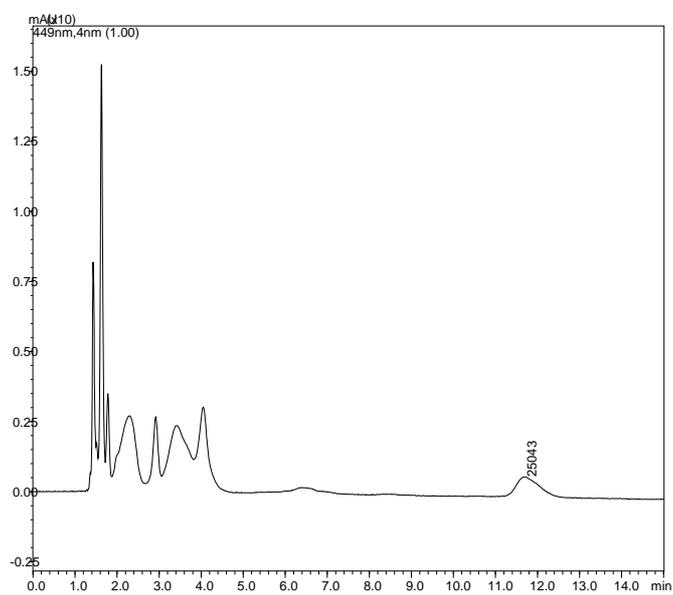


Figura 25 Cromatograma CLAE – 'Hortensia'

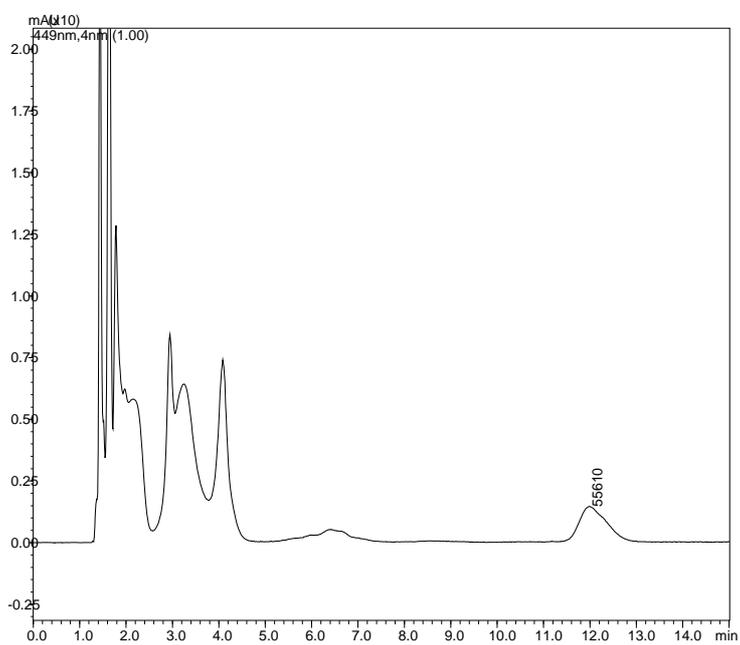


Figura 26 Cromatograma CLAE – 'Salinas 88'

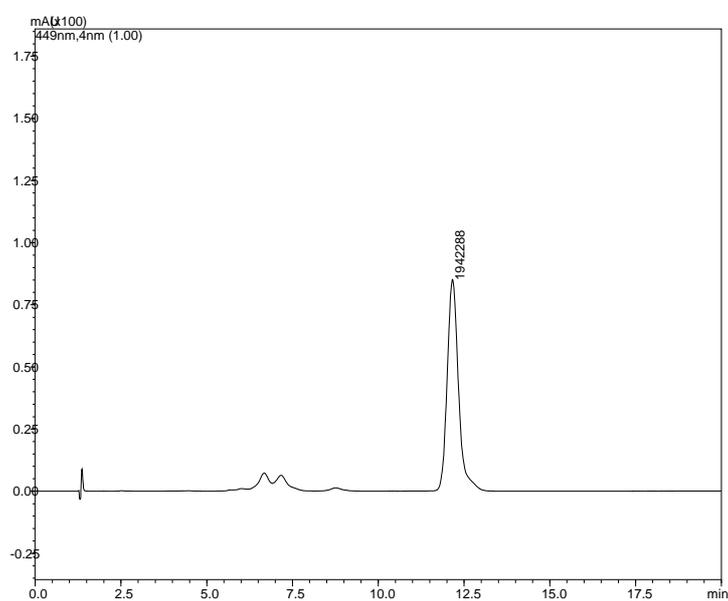


Figura 27 Cromatograma CLAE – Padrão

Tabela 1A Resumo das análises de variância para as características avaliadas em folhas de alface. Lavras, UFLA, 2012

FV	GL	QM						
		Betacaroteno	Clorofila	L	a	b	C	Hue
Grupo	3	535052,98*	11027.26*	33,98*	9,02*	28,55*	38,43*	4,94*
Bloco	2	94303,07 <sup>ns</sup>	1547.83 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	0,42 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,66 <sup>ns</sup>
Erro	6	38943,19	515.34	0,84	0,35	0,29	0,44	0,26
CV(%)		9,46	7,72	1,84	4,36	3,13	3,03	0,40
MG		2086,92	293,97	49,74	13,60	17,24	22,07	128,93

MG= média geral; \*= significativo, a 5% de probabilidade; ns= não significativo